

# CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'EFFICACITE D'UNE FLORE DE BARRIERE INDEFINIE (AVIGUARD©) CONTRE LES SALMONELLES SUR DES POULETS LABELS DU SUD-OUEST

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2003  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**Stéphanie CASTAGNOS**

Née, le 29 mai 1977 à BAYONNE (Pyrénées-Atlantiques)

---

**Directeur de thèse : M. le Docteur Jean-Luc GUERIN**

---

**JURY**

PRESIDENT :  
**M. Henri DABERNAT**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :  
**M. Jean-Luc GUERIN**  
TOULOUSE  
**M. Pierre SANS**  
TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de

# INTRODUCTION

## 1<sup>ère</sup> PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

### A- Les Salmonelles

- 1- Caractéristiques générales des Salmonelles
  - 1.1 Taxonomie et nomenclature
  - 1.2 Caractères bactériologiques et biochimiques
  - 1.3 Structure antigénique et division en sérovars
  - 1.4 Habitat et rôle pathogène
  
- 2- Pathogénie et symptômes associés aux Salmonelles
  - 2.1 Pathogénie
  - 2.2 Signes cliniques chez l'Homme
    - 2.2.1 Symptômes dus aux sérovars spécifiques
    - 2.2.2 Les troubles digestifs
    - 2.2.3 Les manifestations extra-digestives
    - 2.2.4 Isolement des sérotypes
    - 2.2.5 Données sur les Toxi-Infections Alimentaires en France
  - 2.3 Signes cliniques chez les volailles
    - 2.3.1 Sérotypes les plus fréquemment rencontrés
    - 2.3.2 Poules pondeuses
      - 2.3.2.1 Salmonellose due à *Salmonella gallinarum pullorum*
      - 2.3.2.2 Salmonellose due aux autres sérotypes
    - 2.3.3 Poulets de chair
      - 2.3.3.1 Salmonellose due à *Salmonella gallinarum pullorum*
      - 2.3.3.2 Salmonellose due à d'autres sérotypes
    - 2.3.4 Lésions
    - 2.3.5 Diagnostic
  
- 3- Epidémiologie
  - 3.1 Sources
  - 3.2 Transmission
    - 3.2.1 Verticale ou transovarienne
    - 3.2.2 Horizontale
  
- 4- Prophylaxie appliquée à la filière avicole
  - 4.1 Prophylaxie sanitaire
    - 4.1.1 Au couvoir
    - 4.1.2 Dans les élevages
      - 4.1.2.1 Décontamination des aliments
      - 4.1.2.2 Décontamination de l'environnement
    - 4.1.3 Dans les industries agroalimentaires
  - 4.2 Bases réglementaires
  - 4.3 Prophylaxie médicale

### B- Les flores de barrière

1. Le concept de Nurmi
2. Modes de fonctionnement de la flore d'exclusion
3. Les différentes flores
4. Modes d'administration
  - 4.1 Par spray
  - 4.2 Dans l'eau de boisson
  - 4.3 *In ovo*
5. Indications
6. Facteurs modifiant l'efficacité
  - 6.1 Facteurs extrinsèques
  - 6.2 Facteurs intrinsèques
7. Etudes
  - 7.1 Mesures de l'efficacité
  - 7.2 Expérimentales
  - 7.3 Sur le terrain

## **2<sup>ème</sup> PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE**

### **A- Matériel et méthodes**

- 1- Période de l'étude
- 2- Les élevages : situation et sélection
- 3- Les poulets
- 4- Flore de barrière
- 5- Analyses bactériologiques
- 6- Application de la flore de barrière
- 7- Prélèvements
- 8- Analyses bactériologiques
- 9- Fiche d'enregistrement

### **B- Résultats**

- 1- Isolement des Salmonelles
  - 1.1 Sur les fonds de boîte
    - 1.1.1 Recherche de Salmonelles sur les fonds de boîte

1.1.2 Cas où les fonds de boîte sont positifs

1.2 Sur les pédichiffonnettes

1.2.1 Recherche de Salmonelles sur les pédichiffonnettes

1.2.2 Cas où les pédichiffonnettes sont positives

1.2.3 Suivi d'un élevage dans le groupe témoin

1.2.4 Suivi d'un élevage dans le groupe traité

1.2.5 Cas de deux sites d'élevages appartenant au même éleveur

2- Résultats zootechniques

**C- Discussion**

**CONCLUSION**

## Table des illustrations

Tableau 1 : Caractères biochimiques du genre *Salmonella*.

Tableau 2 : Caractères différentiels des sept sous-espèces de *Salmonella*.

Tableau 3 : Nombre de foyers de toxi-infections alimentaires selon les différents agents causaux à la Direction Départementale de l'Action Sanitaire et Sociale (DDASS), aux Directions des Services Vétérinaires (DSV) et au Centre National de Référence des Salmonelles (CNR) en France en 1998.

Tableau 4 : Sérotypes de Salmonelles isolés en 2000 à partir d'aliments destinés à l'Homme.

Tableau 5 : Toxi-Infections Alimentaires dues aux Salmonelles en France en 1997 selon l'aliment responsable.

Tableau 6 : Classement des sérovars communs à l'Homme et aux Volailles selon leur nombre d'isolement.

Figure 1 : Cycle simplifié de la transmission des Salmonelles dans la filière avicole.

Figure 2 : Prélèvements obligatoires prévus par le plan de surveillance et de lutte contre les Salmonelles

Tableau 7 : Bactéries présentes dans une flore définie issue de cæca de poulets adultes.

Tableau 8 : Principaux agents pathogènes recherchés dans les flores de barrière.

Tableau 9 : Répartition des élevages dans les différents groupements de production.

Tableau 10 : Sérotypes de Salmonelles présents dans quelques élevages sélectionnés avant le début de l'étude.

Tableau 11 : Incidence des Salmonelles sur les fonds de boîte et les pédichiffonnettes.

Tableau 12 : Résultats en pourcentages des prélèvements de fonds de boîte ou de pédichiffonnettes des élevages traités par la flore de barrière et des élevages témoins.

Figure 3 : Pourcentage de prélèvements positifs en Salmonelles sur les fonds de boîte et en ante mortem dans les groupes témoins et les groupes traités par la flore de barrière.

Tableau 13 : Résultats techniques moyens dans les élevages traités par la flore de barrière et les élevages témoins.

Figure 4 : Résultats techniques moyens dans les élevages traités par la flore de barrière et les élevages témoins.

## **Table des annexes**

Annexe 1 : Procédure de prélèvement dans les élevages.

Annexe 2 : Principales étapes du protocole de recherche des Salmonelles en laboratoire.

Annexe 3 : Modèle de la fiche d'enregistrement.

Annexe 4 : thèse imprimée en 20 exemplaires et gravée sur un CD Rom

## INTRODUCTION

La tendance actuelle est à l'utilisation raisonnée des antibiotiques dans les filières de productions animales. C'est pourquoi, des méthodes alternatives sont mises au point telles que la phytothérapie ou la vaccination pour soigner des affections bactériennes. En ce qui concerne la lutte contre les Salmonelles, agents responsables de toxi-infections alimentaires, une méthode a été conçue. Il s'agit de l'exclusion compétitive ou flore de barrière.

Le concept d'exclusion compétitive est une approche dans la prévention de l'infection par des bactéries pathogènes de Volailles (Salmonelles, Clostridies, E. coli).

Cela implique une ingestion, la plus précoce possible dans la vie de l'oiseau, d'une flore intestinale normale issue de poulets *Specific Pathogen Free*. Le but est que l'implantation de cette flore se fasse avant celle d'éventuelles bactéries pathogènes.

Une étude a été menée en conditions réelles visant à mettre en évidence l'efficacité d'une flore de barrière indéfinie contre la colonisation par des Salmonelles de poulets labels dans la région Aquitaine. Cette étude s'est déroulée sur une année et sur un total de soixante neuf élevages de type label.

Dans cette perspective, nous verrons dans un premier temps des généralités sur les Salmonelles puis sur les flores de barrière. Puis nous aborderons, dans un second temps l'étude à proprement parler.

# 1<sup>ère</sup> partie : Etude bibliographique

## A-LES SALMONELLES

### 1-Caractéristiques des salmonelles

#### 1.1 Taxonomie et nomenclature

Les salmonelles sont des bactéries appartenant à la famille des Enterobacteries et au genre *Salmonella*.

Selon KAUFFMANN, le genre *Salmonella* était divisé en quatre sous-genres à partir de certains caractères biochimiques (dulcitol, lactose, orthonitrophenyl-â D galactopyranoside, salicine, gélatine, malonate, d-tartrate et KCN) (GLEDEL 1996, Tableau 1).

Chaque sérotype est ainsi considéré comme une espèce. Mais les travaux de Le Minor et Popoff, qui ont utilisé les caractères phénotypiques et génomiques, ont permis de démontrer que le genre *Salmonella* n'est constitué que d'une unique espèce qui est *Salmonella choleraesuis* (ou *enterica*).

Cette espèce est sous-divisée en 7 sous-espèces dont *S. bongori* qui a été déclarée comme étant une espèce à part entière. Leurs caractères différentiels sont résumés dans le Tableau 2.

En résumé, le genre *Salmonella* comprend deux espèces : *S. enterica* et *S. bongori*.

Les sous-espèces se classent comme suit :

Sous-espèce I : *S. choleraesuis* subsp *enterica*

Sous-espèce II : *S. choleraesuis* subsp *salamae*

Sous-espèce IIIa : *S. choleraesuis* subsp *arizonae*

Sous-espèce IIIb : *S. choleraesuis* subsp *diarizonae*

Sous-espèce IV : *S. choleraesuis* subsp *houtenae*

Sous-espèce V : *S. choleraesuis* subsp *bongori* (constitue une Espèce)

Sous-espèce VI : *S. choleraesuis* subsp *indica*

La nomenclature conforme au code qui devrait indiquer le nom d'espèce, le nom de sous-espèce avant le sérovar est inutilisable en pratique courante en raison de sa longueur.



Tableau N°1:Caractères biochimiques du genre *Salmonella* (GLEDEL 1996)

Tests	Réaction	Tests	Réaction
Motilité	+ (1)	Fermentation de :	
Réduction des nitrates	+	Glucose avec gaz (2)	+
Oxydase	-	Mannitol	+
Catalase	+	Maltose	+
Uréase	-	Lactose (3)	-
Indole	-	Saccharose (3)	-
Production d'H <sub>2</sub> S	+	Salicin	-
Utilisation du citrate	+	Adonitol	-
Malonate de sodium	-	Dulcitol	+
Croissance sur KCN	-	Lysine décarboxylase (3)	+
Rouge de méthyle	+	Arginine dihydrolase	+
VP (4)	-	Ornithine décarboxylase	+
Gélatinase	-	Désamination de la phénylalanine	-
ONPG (5)	-	Tétrathionate réductase	+

- (1) sauf *Salmonella* Gallinarum  
 (2) sauf les sérovars Typhi et Gallinarum  
 (3) certaines souches atypiques peuvent fermenter le lactose (ex : Seftenberg) ou le saccharose ou ne pas décarboxyler la lysine. Les *Salmonella arizonae* peuvent fermenter le lactose.  
 (4) VP : Voges-Proskauer  
 (5) ONPG : orthonitrophenyl-â D galactopyranoside  
 (6) KCN: cyanure de potassium

Tableau N°2: Caractères différentiels des sept sous-espèces de *Salmonella* (d'après Le Minor et Popoff, 1987)

	Sous-espèces						
	I	II	IIIa	IIIb	IV	V	VI
Dulcitol	+	+	-	-	-	+	(1)
ONPG (2 heures)	-	-	+	+	-	+	(1)
Malonate	-	+	+	+	-	-	-
Gélatinase	-	+	+	+	+	-	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	-
Culture sur KCN	-	-	-	-	+	+	-
d-tartrate	+	-	-	-	-	-	-
Galacturonate	-	+	-	+	+	+	+
ã-glutamyltransférase	+	+	-	+	+	+	+
â-glucuronidase	(1)	(1)	-	+	-	-	(1)
Mucate	+	+	+	-(70%)	-	+	+
Salicine	-	-	-	-	+	-	-
Lactose	-	-	-(75%)	+(75%)	-	-	(1)
Lyse par le phage 01	+	+	-	+	-	(1)	+
Habitat de la majorité des souches	Animaux à sang chaud		Essentiellement chez animaux à sang froid et environnement				

- (1) : résultats variables  
 + : 90% de résultats positifs  
 - : 90% de résultats négatifs

Pour une utilisation plus commode de la nomenclature de ces différentes sous-espèces, on peut écrire *Salmonella* Typhimurium à la place de *Salmonella enterica* subsp *enterica* sérovar typhimurium.

Ainsi, *Salmonella* Enteritidis, *S. Paratyphi*, ou encore *S. Typhimurium* ne sont que de simples sérovars de la sous-espèce *Salmonella enterica* subsp *enterica*.

## 1.2 Caractères bactériologiques et biochimiques

Les salmonelles sont des bacilles Gram-, de dimension moyenne (0.5 µm de diamètre et 3 µm de long), jamais sporulés, parfois encapsulés et présentant les caractères suivants :

-poussant facilement sur milieu ordinaire

-aérobies facultatifs

-fermentant le glucose

-mobiles avec une ciliature péritriche (sauf *Salmonella Gallinarum* qui est toujours immobile)

-oxydase négatif

-réduisant les nitrates en nitrites

Sur un milieu gélosé, les colonies formées sont larges, épaisses, blanc-grisâtre et en forme de coupole.

Les salmonelles sont des bactéries mésophiles ; elles peuvent se développer entre +5°C et +47°C avec un optimum de croissance autour de 35-37°C.

Un traitement de pasteurisation (72°C pendant 15s) détruit les salmonelles dans le lait. Une température de réfrigération de 5°C inhibe seulement leur croissance mais ne les tue pas. Par contre, un traitement de congélation tue une partie et inhibe le développement des autres (GLEDEL, 1992).

Les salmonelles se développent pour des valeurs de pH situées entre 4.5 et 9 avec un optimum se situant autour de la neutralité.

Les salmonelles sont des bactéries capables de résister dans le milieu extérieur et notamment les litières grâce à leur résistance à la déshydratation.

## 1.3 Structure antigénique et division en sérovars

On peut distinguer les sérotypes des salmonelles selon leur structure antigénique.

### **Antigène O ou somatiques :**

Ce sont les antigènes somatiques. Ils sont spécifiques de la paroi bactérienne. Ils sont composés de lipopolysaccharides (LPS) et représentent l'endotoxine de ces bactéries.

Le LPS est composé de différentes parties :

- le lipide A : responsable des effets toxiques
- le core : constitue la partie basale
- une chaîne latérale polysidique: comprend des unités répétitives de 4 à 5 sucres et des parties variables permettant de distinguer les différents antigènes O. Une même chaîne latérale peut ainsi porter 2 à 5 déterminants antigéniques (BERCHE et al, 1988).

On classe les déterminants antigéniques en facteurs majeurs et en facteurs mineurs, mais seuls les facteurs majeurs ont un intérêt diagnostique (GLEDEL, 1996).

Les facteurs majeurs sont des déterminants communs à un sérotype donné. Les facteurs mineurs sont le résultat de l'ajout d'un nouveau déterminant antigénique à des souches possédant déjà un facteur majeur (addition d'un radical à un sucre de la chaîne polysidique, modification de la liaison covalente entre deux sucres,...) (BERCHE et al, 1988).

Les agglutinations obtenues avec un sérum anti-O apparaissent lentement, sont granulaires et difficilement dissociables (GLEDEL 1996).

Il existe des formes Rough (ou R) et des formes de transition (ou T) qui peuvent perdre des chaînons saccharidiques spécifiques ce qui entraîne une perte partielle ou totale de leur spécificité antigénique. De plus, ces souches perdent leur pouvoir pathogène et sont facilement phagocytées. Leurs cultures sont auto-agglutinables en eau physiologique ou mieux en eau hyper salée à 20‰ de NaCl.

La classification des sérotypes se fait selon le groupe antigénique O (exemples : groupes O1, O2, O4,...), puis, au sein d'un même groupe, par les antigènes flagellaires.

### **Antigène K ou d'enveloppe :**

Ces antigènes, peu répandus parmi les salmonelles, forment une mince capsule glycolipidique qui recouvre le LPS (BERCHE, 1988). Ils masquent donc l'agglutination O, qui se révélera après un chauffage de 10 minutes à 100°C ou 1 heure à 60°C.

L'antigène de virulence (Vi) se retrouve fréquemment chez *Salmonella* Typhi, plus rarement chez *Salmonella* Paratyphi C et exceptionnellement chez *Salmonella* Dublin.

### **Antigène H ou flagellaire :**

Il est encore appelé antigène flagellaire car il se trouve sur les flagelles des bactéries dont la composition en acides aminés est constante pour un type antigénique.

L'agglutination H est rapide, floconneuse et facilement dissociable (GLEDEL, 1996).

L'antigène H peut être exprimé selon deux spécificités. On dit alors que c'est un antigène diphasique. Ces phases sont codées par deux gènes de structure qui déterminent la séquence primaire de la flagelline qui est la protéine spécifique du flagelle (BERCHE et al, 1988). Bien que certains sérotypes soient monophasiques (*S. Typhi*, *S. Enteritidis*,...), la plupart des souches possèdent ces deux gènes mais un seul s'exprimera lors de la mise en culture.

On révèle la seconde phase en bloquant la phase dominante par un immunosérum dirigé contre les antigènes de l'autre phase sur des milieux sélectifs (gélose molle). C'est la technique de l'inversion de phase.

Les sérotypes peuvent ensuite être divisés en biotypes (caractéristiques biochimiques), en lysotypes (sensibilité aux bactériophages), en antibiotypes (sensibilité aux antibiotiques) ou en colicinotypes (sensibilité aux bactériocines).

## **1.4 Habitat et rôle pathogène**

### **Habitat :**

Les salmonelles sont répandues dans le milieu extérieur à partir des excréta car ce sont surtout des bactéries parasites du tube digestif des vertébrés. Le sol est un milieu où leur survie est possible pendant plusieurs semaines à plusieurs mois à condition que la température et l'humidité soient favorables (LE MINOR et VERON, 1990).

Mise à part la sous-espèce *enterica* qui est adaptée aux animaux à sang chaud, dont l'Homme, les autres sous-espèces se retrouvent chez des animaux à sang froid comme les reptiles, les batraciens ou les tortues (GRIMONT. et al, 1994).

### Rôle pathogène :

Certaines salmonelles sont exclusivement pathogènes pour l'Homme ou pour l'animal (SCANLAN, 1988) :

- ✓ Homme : *Salmonella* Typhi : fièvre typhoïde
- ✓ Bovins : *Salmonella* Abortusbovis : avortements  
*Salmonella* Dublin : salmonellose, avortement
- ✓ Porcs : *Salmonella* Choleraesuis: septicémie  
*Salmonella* Typhisuis : salmonellose
- ✓ Equins : *Salmonella* Abortusequi: avortement
- ✓ Ovins : *Salmonella* abortusovis : avortement
- ✓ Volailles: *Salmonella* Gallinarum Pullorum : pullorose

La très grande majorité des salmonelles est ubiquiste comme *Salmonella* Typhimurium qui sera pathogène pour l'Homme, les Volailles, les Bovins,...Ce sont ces bactéries qui sont responsables des Toxi-Infections Alimentaires. Elles entraînent des troubles graves chez les individus dont les défenses naturelles sont affaiblies ou si une quantité importante de bactéries est ingérée. Cependant, une bactériémie est exceptionnelle (LE MINOR L. et VERON M., 1990).

Dans l'espèce humaine, on retrouve parfois des porteurs sains de salmonelles pathogènes ; ce sont souvent des sujets en convalescence. Ces individus excrètent parfois des salmonelles dans les fèces de façon intermittente. Ce sont alors des porteurs inapparents. Le portage sain, quant à lui, peut être limité au tube digestif ou être systémique avec des bactéries hébergées dans les monocytes et les macrophages où elles survivent et se multiplient.

De nombreuses espèces animales hébergent des salmonelles pouvant être pathogènes pour l'Homme. Dans le cas des poules, les œufs sont contaminés au moment de la ponte. A ce stade, seule la coquille est contaminée. Mais les salmonelles peuvent pénétrer à l'intérieur de l'œuf au niveau de micro fêlures ou à l'occasion de variations de température pendant le stockage durant lequel elles se multiplieront. La contamination humaine se fait au moment de la consommation des œufs.

## **2- Pathogénie et symptômes associés aux salmonelles**

### **2.1 Pathogénie**

Les salmonelles sont des bactéries entéropathogènes invasives qui pénètrent dans l'intestin par la bordure en brosse des entérocytes. Puis, elles rejoignent la *lamina propia* de la jonction iléo-caecale où elles déclenchent une réaction inflammatoire. La phagocytose y a été parfois observée chez des poussins contaminés expérimentalement (TURNBULL, 1973). Une autre voie de pénétration est représentée par les cellules M des plaques de Peyer (EUZEBY, 1997).

Les bactéries peuvent se circonscrire à la sous-muqueuse et aux nœuds lymphatiques mésentériques dans lesquels elles seront finalement phagocytées (BERCHE et al, 1988). L'antigène Vi protège les bactéries de l'action opsonisante du complément (EUZEBY, 1997).

C'est la réaction inflammatoire aiguë de l'iléon et du cæcum qui est à l'origine des troubles digestifs observés.

### **2.2 Signes cliniques chez l'homme**

#### **2.2.1 Symptômes dus aux sérovars spécifiques**

Les sérovars uniquement pathogènes pour l'homme tels *S. Typhi* ou *S. Paratyphi* sont, en France, des maladies d'importation. Ce sont les fièvres typhoïdes. La contamination s'effectue par ingestion d'eau ou d'aliment souillés par des matières fécales. C'est pourquoi les pays en voie de développement où les conditions d'hygiène sont précaires sont touchés par cette maladie. Les signes cliniques observés sont des troubles digestifs graves (vomissements, diarrhée) accompagnés d'une forte fièvre. Les fièvres typhoïdes entraînent une mortalité importante.

#### **2.2.2 Les troubles digestifs**

Les salmonelles ont été responsables de 71.2% des cas de Toxi-Infections Alimentaires où les agents responsables ont été déterminés en France en 1998 (Cf. Tableau 3 BOUVET et GRIMONT, 1999).

L'incubation est courte, de 12 à 24 heures après l'ingestion d'aliments contaminés. (BERCHE et al, 1988). Il s'agit d'une gastro-entérite aiguë avec de la fièvre, des vomissements et de la diarrhée parfois sanglante. Ces manifestations régressent généralement en une semaine environ. Le traitement est le plus souvent symptomatique

Tableau N°3: Nombre de foyers de toxi-infection alimentaires selon les différents agents causaux déclarés à la Direction départementale de l'Action Sanitaire et Sociale (DDASS), aux Direction des Services Vétérinaires (DSV) et au Centre National de Référence des salmonelles (CNR) en France en 1998 (BOUVET et GRIMONT, 1999)

Agent causal	Foyers déclarés aux DDASS ou DSV				Foyers signalés au CNR	
	N foyers	% (c)	N malades	% (c)	N foyers	% (d)
<i>Salmonella</i> dont	267	71.2	2614	59.6	747	93.4
Enteritidis	142	53.2	1538	35.1	446	59.7
Typhimurium	45	16.8	279	6.4	143	19.1
Heidelberg	5	1.9	48	1.1	20	2.7
Virchow	8	3	98	2.2	23	3.1
Hadar	7	2.6	72	1.6	25	3.3
Autres sérotypes (a)	20	7.5	343	7.8	80	10.7
Sérotypes indéterminés	40	15	236	5.4	10	1.3
<i>Clostridium perfringens</i>	18	4.8	673	15.3		
<i>Staphylococcus aureus</i>	48	12.8	687	15.7		
<i>Bacillus cereus</i>	7	1.9	92	2.1		
Histamine	13	3.5	173	3.9		
Autres agents (b)	22	5.9	144	3.3	53	
TOTAL agents déterminés	375	56.6	4383	47.6	800	
TOTAL agents suspectés	228	34.5	4005	43.5	0	
TOTAL agents inconnus	59	8.9	812	8.8	0	
TOTAL	662		9200		800	

- (a) *Arizonae* (1), *Bovismorbificans* (5), *Dublin* (1), *Infantis* (5), *Muechen* (2), *Newport* (2), *Paratyphi B* (1), *Typhi* (1), *Venziana* (1),...
- (b) *Campylobacter* (2), toxine D SP (1), *Shigella* (DO TIAC : 4, CNRSS: 53), toxique (2), *Trichinella pseudospiralis* (1), *Trichinella spiralis* (1)
- (c) Pour les différents agents : % par rapport au total des agents déterminés
- (d) Pour les sérotypes des salmonelles : % par rapport au total des salmonelles

car un traitement antibiotique a tendance à augmenter la fréquence et la durée du portage (GLEDEL et al, 1988). La gravité est liée à l'importance de la déshydratation surtout chez les vieillards et les nourrissons. Cependant, la mortalité est faible et intervient chez des sujets fortement débilisés.

La dose infectante est élevée : elle est supérieure à  $10^8$  salmonelles (BERCHE et al, 1988).

### **2.2.3 Les manifestations extra-digestives**

Elles surviennent chez des personnes atteintes de maladies intercurrentes ou immunodépressives. Les salmonelles pourront alors provoquer des septicémies, des infections ostéo-articulaires, des endocardites, des atteintes artérielles sur anévrisme, des cholécystites, etc....(GLEDEL, 1996)

### **2.2.4 Isolement des sérotypes**

Afin de réaliser une enquête épidémiologique, il est nécessaire d'isoler le germe. La coproculture est une méthode indiquée en cas de Toxi-Infections Alimentaires. C'est aussi la méthode employée pour le dépistage des porteurs sains chez les personnes travaillant dans les cuisines centrales ou les industries agroalimentaires (AVRIL et al, 1988).

### **2.2.5 Données sur les Toxi-Infections Alimentaires en France et causes de contamination**

Sur 662 foyers de Toxi-Infection Alimentaires recensés en France en 1998 par les Directions départementales de l'Action Sanitaire et Sociale (DDASS), les Directions des Services Vétérinaires (DSV) et au Centre National de Référence des salmonelles (CNR), 69% sont dus aux salmonelles (Tableau 3).

De 1989 à 1999, le nombre de cas de salmonellose varie de 16000 à 20000 cas par an. (BOUVET et GRIMONT, 1999). En 1997, 851 foyers de salmonellose ont été identifiés soit 76% de tous les foyers de Toxi-Infection Alimentaires comptabilisés.

Les quatre sérovars les plus fréquemment rencontrés sont Enteritidis, Typhimurium, Hadar et Virchow et représentent plus de 80% des cas de salmonellose (Tableau 4).

De 1991 à 1995, *Salmonella* Enteritidis est le sérovar le plus fréquemment rencontré chez l'Homme en Grande Bretagne avec 60.5% des isollements devant *Samonella* Typhimurium (18.1%) et *Salmonella* Virchow (HUMPHREY, 2000). Aux Etats-Unis,



Tableau N°4: Sérotypes de salmonelles isolés en 2000 à partir d'aliments destinés à l'Homme (Réseau salmonelles)

Sérotypes	Viandes et abats					Autres types d'aliments						Total hygiène des aliments
	Bovin	Volaille	Porc	Autre	Total	Charcuterie	Ovo-produits	Produits laitiers	Eaux	Autres	Total	
TYPHIMURIUM	77	<b>199</b>	201	20	497	191	<b>8</b>	19	0	33	251	748
DERBY	29	<b>78</b>	121	4	232	105	<b>1</b>	1	0	18	125	357
HADAR	4	<b>218</b>	1	3	226	8	<b>1</b>	0	0	7	16	242
NEWPORT	5	<b>211</b>	1	1	218	3	<b>0</b>	0	0	9	12	230
ENTERITIDIS	12	<b>79</b>	1	5	97	10	<b>78</b>	5	0	26	119	216
VIRCHOW	3	<b>115</b>	4	0	122	73	<b>0</b>	6	0	7	86	208
BREDENEY	14	<b>128</b>	22	0	164	20	<b>0</b>	1	0	9	30	194
HEIDELBERG	11	<b>155</b>	3	0	169	7	<b>0</b>	2	0	10	19	188
INDIANA	7	<b>137</b>	2	0	146	5	<b>0</b>	9	0	2	16	162
INFANTIS	19	<b>40</b>	45	1	105	22	<b>1</b>	21	0	11	55	160
ANATUM	15	<b>30</b>	16	0	61	17	<b>3</b>	9	0	30	59	120
KOTTBUS	0	<b>98</b>	0	1	99	7	<b>0</b>	2	0	2	11	110
BRANDENBURG	18	<b>16</b>	26	1	61	32	<b>0</b>	1	0	2	35	96
SAINTPAUL	4	<b>74</b>	1	0	79	2	<b>0</b>	0	0	3	5	84
AGONA	5	<b>53</b>	0	1	59	1	<b>0</b>	4	0	8	13	72
Autres sérotypes	131	<b>187</b>	96	13	427	98	<b>9</b>	42	2	238	395	822
TOTAL	354	<b>1818</b>	540	50	2762	601	<b>107</b>	122	2	415	1247	4009

*Salmonella* Enteritidis et *Salmonella* Typhimurium sont aux deux premières places, avec environ 22% chacune (HUMPHREY, 2000).

L'importance prise par les salmonelles dans les Toxi-Infections Alimentaires ont conduit à l'inscription des infections de genre *Gallus gallus* par *Salmonella* Enteritidis ou *Salmonella* Typhimurium, sur la liste des maladies réputées contagieuses (décret du 27 février 1995).

## **2.3 Signes cliniques chez les volailles**

### **2.3.1 Sérotypes les plus fréquemment rencontrés**

D'après une étude réalisée par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), le pourcentage de cæca de poulets de chair contenant des salmonelles est passé de 16.8% en 1999 à 12.5% en 2000. Les principaux sérovars rencontrés par ordre décroissant d'importance sont : Heidelberg, Hadar, Newport et Infantis (VIENOT, 2001(a)). On note que la prévalence de *Salmonella* Virchow a diminué de 6% de 1999 à 2000 en passant de 10% à 4%.

*Salmonella* Enteritidis est le principal sérovar isolé chez l'Homme. La contamination de l'Homme par ce sérovar est associée pour l'essentiel à une consommation d'œufs ou d'ovoproduits (Tableau 5). Par contre, ce sérovar est rarement retrouvé en filière chair où il occupe seulement la cinquième place en 2000 (Tableau 6).

Les quatre sérovars les plus fréquemment rencontrés chez les volailles appartiennent aux dix premiers sérovars isolés chez l'Homme. Ce sont, de plus, des sérovars peu habituels dans les autres filières de production animale. Les produits issus de l'aviculture sont donc une source importante de contamination de l'Homme par les salmonelles.

### **2.3.2 Poules pondeuses**

#### **2.3.2.1 Salmonellose due à *Salmonella Gallinarum Pullorum***

On distingue deux formes cliniques de salmonellose, une forme chronique et une forme aiguë.

La forme aiguë ou « typhose de la poule » se présente par une atteinte grave de l'état général avec de l'abattement, de la fièvre et une cyanose intense des appendices céphaliques. De plus, l'atteinte de l'appareil digestif se traduit par une diarrhée jaune-vert

Tableau N°5: Toxi-Infections Alimentaires dues aux salmonelles en France en 1997 selon l'aliment responsable (source DGAL) (LE BOUCHER, 1999)

	S.Enteritidis (%)	Autres salmonelles (%)
Lait et produits laitiers	1.7	4
<b>Œufs et ovoproduits</b>	<b>84.7</b>	<b>49 (a)</b>
Viande	3.5	14
Volailles	1.7	13
Poissons et fruits de mer	1.7	4
Autres aliments	0.8	5
Aliments non retrouvés	5.9	11

(a) : le plus souvent, ce sont les mayonnaises qui ont été la cause

Tableau N°6: Classement des sérovars communs à l'Homme et aux Volailles selon leur nombre d'isollements (source Afssa-Ploufragan) (VIENOT, 2001)

Sérovars	Classement en humaine	Nombre d'isollements Chez l'homme en 1999	Classement en volailles de chair	
			1999	2000
Enteritidis	1	4579	7	5
Typhimurium	2	4386	9	10
Hadar	3	880	3	2
Virchow	4	376	5	7
Heidelberg	5	298	1	1
Infantis	6	283	4	4
Newport	7	186	2	3
Derby	8	163	Non isolé	Non isolé
Brandenburg	9	161	Non isolé	Non isolé

striée de sang. Enfin, les poules adultes présentent des symptômes respiratoires caractérisés par des râles, de la dyspnée et du jetage spumeux.

La forme chronique est la conséquence d'une pullorose contractée par le poussin. L'atteinte de l'appareil génital entraîne un retard à l'ovulation donc une chute de ponte, une inflammation des voies génitales (ovarite, salpingite) conduisant à une fibrose cicatricielle et une imperméabilité de l'oviducte d'où des pontes intra abdominales et des péritonites.

Selon KINDE et al 1996, chez des poules pondeuses, la chute de ponte atteint 8% sur une période de six mois.

### **2.3.2.2 Salmonellose due aux autres sérotypes**

La maladie peut évoluer de façon inapparente avec des animaux porteurs sains mais néanmoins porteurs de salmonelles (LECOANET, 1992). Le problème principal n'est pas l'atteinte clinique éventuelle des animaux mais le risque de contamination des œufs et des carcasses. En effet, certains parquets de reproducteurs peuvent paraître cliniquement normaux malgré l'isolement de *Salmonella* Enteritidis à partir des fèces ou de la litière.

Les épisodes aigus en conditions naturelles sont rares. Les oiseaux atteints présentent de l'inappétence mais consomment plus d'eau. Ils sont apathiques et ont une diarrhée suivie de déshydratation (SNOEYENBOS et WILLIAMS, 1991).

### **2.3.3 Poulets de chair**

#### **2.3.3.1 Salmonellose due à *Salmonella gallinarum pullorum***

On observe tout d'abord une diminution de l'éclosabilité dès le sixième jour et après le quinzième jour d'incubation, associée à une mortalité en coquille (BRUGERE-PICOUX, 1992).

Une infection *in ovo* entraîne un pic de mortalité vers les 4 et 5<sup>ème</sup> jours tandis que le pic de mortalité lors d'une infection post-natale survient vers le 15<sup>ème</sup> jour.

Chez les poulets de chair, on distingue deux formes de pullorose dont l'atteinte est principalement limitée au tractus digestif :

- la forme aiguë qui se caractérise par une atteinte de l'état général des oiseaux (fort abattement, somnolence, plumes ébouriffées, yeux mi-clos,..), une diarrhée blanche, crayeuse qui a la particularité de se coller aux pourtours de l'anus allant jusqu'à l'obstruer.

- la forme subaiguë à chronique : l'infection se localise à l'appareil ostéo-articulaire avec des arthrites tibio-métatarsiennes ou se traduit par des torticolis ou des oedèmes sous-cutanés. Cette forme pénalise fortement les résultats technico-économiques du lot infecté avec un taux de mortalité ou de non-valeurs économiques de 10 à 20%.

### **2.3.3.2 Salmonellose due aux autres sérotypes**

Les poussins infectés par les différents sérotypes de salmonelles dont *Salmonella* Typhimurium présentent des signes non spécifiques tels que la tête basse, les plumes ébouriffées, les yeux mi-clos et les ailes tombantes. La consommation d'aliment chute tandis que celle d'eau augmente. Les sujets atteints ont une diarrhée aqueuse et se regroupent autour des sources de chaleur. Une cécité est parfois observée (SNOEYENBOS et WILLIAMS, 1991).

La mortalité due à l'infection par *Salmonella* Typhimurium varie de 1.7% à 10.6% dans les quinze premiers jours de vie (PADRON, 1990). *Salmonella* Enteritidis PT4 entraîne la mort de 2% des poulets et une morbidité de 6% dans les 48 premières heures (Mc ILROY et al, 1989). Le taux de mortalité dépend des conditions d'environnement, le sérotype de salmonelles ainsi que de la présence d'infections intercurrentes (SNOEYENBOS et WILLIAMS, 1991). De plus, une forte proportion des survivants restera porteurs sains et excréteurs.

### **2.3.4 Lésions**

Les poussins sont déshydratés et émaciés (BRUGERE-PICOUX, 1992 ; POPPE, 2000).

Sur les poussins, on constate la persistance et l'infection du sac vitellin, une typhlite catarrhale, une entérite, des foyers de nécrose hépatique ainsi que des pétéchies sur le foie et la rate qui sont hypertrophiés et congestionnés.

Chez les adultes, on peut voir des lésions hépatiques de dégénérescence et de cholestase (foie de couleur bronze). Les lésions de l'appareil génital sont des ovaro-salpingites et des péritonites dues aux pontes intra abdominales.

### 2.3.5 Diagnostic

Le diagnostic bactériologique est plus aisé sur des formes aiguës comme celles du poussin que sur les formes chroniques, où les bactéries restent localisées à certains organes (gonades, foie, articulations). De plus, l'excrétion des salmonelles est intermittente dans les formes chroniques ce qui augmente le nombre de faux négatifs surtout si les cultures ne sont faites qu'à partir d'écouvillons cloacaux ou de litière (LECOANET, 1992).

Les analyses effectuées dans le cadre du dépistage systématique des parquets de reproducteurs ou de pondeuses d'œufs de consommation selon l'arrêté du 26 octobre 1998, font appel à la bactériologie ainsi que les contrôles ante-mortem sur les poulets de chair qui permettent un éventuel ordre d'abattage.

Le diagnostic bactériologique comporte quatre étapes :

- pré-enrichissement : l'échantillon est mis en culture dans de l'eau peptonée et mis à incuber pendant 24 heures à 35-37°C. Le pré-enrichissement permet le développement de toutes les bactéries.
- enrichissement : les milieux de culture utilisés sont sélectifs (bouillon sélénite cystine, bouillon Rappaport-Vassiliadis,...). Ils sont mis à incuber à 42°C.
- isolement : il est réalisé sur gélose (géloses Hektoen, salmonelle-Shigelle, gélose au vert brillant et au rouge de phénol,...). Les colonies de salmonelles sont repérées selon leurs caractéristiques de forme et de taille.
- Identification biochimique et sérologique

En ce qui concerne le diagnostic sérologique, plusieurs techniques peuvent être utilisées telles que l'agglutination rapide sur lame, l'agglutination lente en tube et l'immuno-absorption à enzyme conjuguée (ELISA).

La sérologie permet de rechercher les anticorps anti-salmonelles qui ont été synthétisés lors d'une contamination. Les immunoglobulines M (Ig M) ne sont pas toujours détectées car elles disparaissent rapidement. Les Ig Y (équivalent des Ig G chez les oiseaux) apparaissent au bout de deux semaines et atteignent un pic vers 5 semaines; leur persistance est plus longue (EUZEBY, 1997). On peut détecter les animaux excréteurs ou non de bactéries contrairement à la bactériologie. Cependant, un résultat positif en sérologie sera confirmé par la bactériologie (EUZEBY, 1997). La sérologie est donc intéressante dans le cas du portage sain où l'excrétion est intermittente. La technique

ELISA, dont les antigènes sont constitués de lipopolysaccharides de *Salmonella* Enteritidis et de *Salmonella* Typhimurium, a une spécificité relativement bonne mais offre des résultats beaucoup plus tardifs que la bactériologie (ALASSANE, 2001).

La détection sérologique a l'avantage de pouvoir utiliser le même sérum que celui employé pour la recherche d'anticorps mycoplasmaïque. De plus, les kits utilisés présentent quelques problèmes de spécificité d'où un nombre important de faux positifs (PROUX et al, 1994).

Le lysotypage est également intéressant d'un point de vue épidémiologique puisque l'on peut arriver à caractériser différentes souches d'un même sérotype.

Pour *Salmonella* Enteritidis, il existe le lysotype phage type 4 (PT4) qui est un lysotype très invasif, capable de traverser la grappe ovarienne puis d'infecter les ovules.

Le lysotype *Salmonella* Typhimurium DT 104 est, quant à lui, résistant à 5 antibiotiques différents.

### **3- Epidémiologie**

#### **3.1 Sources**

L'ubiquité des salmonelles fait que l'on peut les trouver dans différents milieux.

Les salmonelles sont disséminées dans l'environnement à partir des déjections des animaux excréteurs. On peut donc les retrouver à toutes les étapes de la filière qui vont des troupeaux reproducteurs aux abattoirs en passant par les couvoirs et les élevages. Leur résistance à une large gamme de pH et un grand intervalle de température font que leur résistance leur permet de contaminer aussi bien les parcours ou les bâtiments que l'aliment ou les incubateurs en passant par le matériel d'abattage (COLIN, 1992).

#### **3.2 Transmission**

##### **3.2.1 Verticale ou transovarienne**

La transmission verticale des salmonelles peut se faire selon trois modalités (EUZEBY, 1997) :

- ✓ Infection des follicules ovariens avec certains sérovars, comme Enteritidis, Typhimurium et Heidelberg. La fréquence de contamination est faible. 1% des œufs pondus par une poule infectée seront contaminés.

- ✓ Contamination rétrograde des œufs en formation, par remontée des bactéries du cloaque
- ✓ Contamination par souillure des coquilles avec les fèces. La pénétration des bactéries à travers la coquille est d'autant plus importante que la cuticule est endommagée par un lavage, un grattage ou par une fêlure.

La capacité de survie et de multiplication des salmonelles dans les macrophages de la poule reproductrice est une des causes de la transmission verticale de ces bactéries aux œufs. On considère que dans un parquet de reproductrices infectées, 5‰ œufs sont contaminés verticalement (en moyenne moins de 1‰) (HUMBERT et SALVAT, 1997). Cependant, il semblerait qu'un embryon contaminé par un faible nombre de *Salmonella* Enteritidis ne puisse vivre plus de quelques jours. Mais, les bactéries peuvent continuer à se développer alors que les embryons sont morts en produisant des gaz de fermentation qui mettront la coquille sous tension. Par conséquent, le transfert de ces œufs de l'incubateur vers l'éclosoir va être délicat et la rupture de la coquille entraînera une contamination massive de l'environnement immédiat (HUMBERT, 1995).

### 3.2.2 Horizontale

Une contamination horizontale peut survenir à l'intérieur du couvoir, dans l'élevage ou à l'abattoir.

Le mode probable d'une contamination horizontale des œufs à couver est le refroidissement des œufs fraîchement pondus dont la coquille est contaminée (COX et al 2000). Le passage de la température corporelle de la mère à une température ambiante crée une rétraction des tissus et une dépression dans l'œuf entraînant les salmonelles vers l'intérieur. Ensuite, il n'y a aucun moyen de prévenir l'invasion de l'intérieur de l'œuf, d'autant plus que la température élevée des incubateurs permet une multiplication rapide des salmonelles.

Après avoir placé des œufs ne contenant pas de salmonelles parmi des œufs infectés expérimentalement, on a isolé des salmonelles dans le tube digestif de 44% des poussins issus des œufs préalablement sains (CASON et al 1994). Cela prouve que dans un couvoir



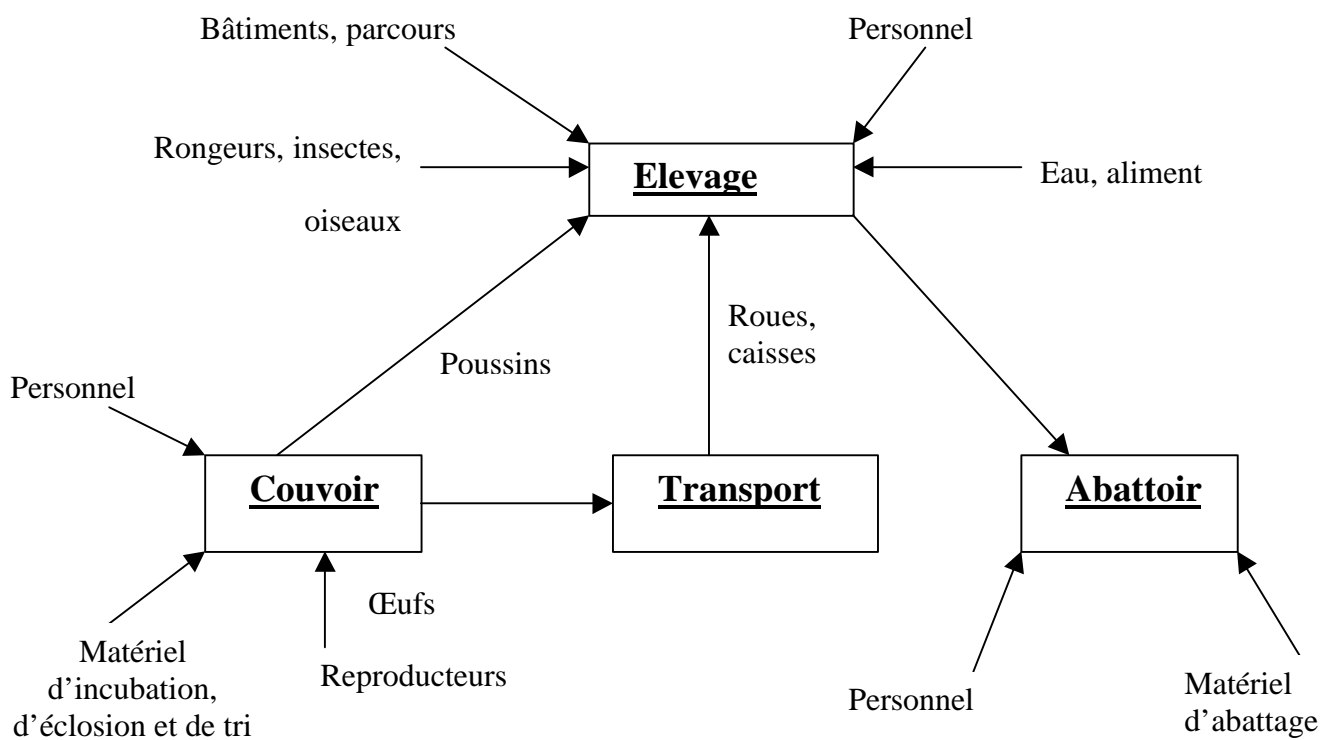


Figure N°1: Cycle simplifié de la transmission des salmonelles dans la filière avicole

contaminé, les salmonelles peuvent atteindre l'appareil digestif des poussins avant qu'ils n'arrivent dans l'élevage.

Des supports inanimés telles les chambres d'incubation et d'éclosion, les tapis de tri ou encore les boîtes de transport peuvent aussi être à l'origine d'une contamination horizontale.

Dans l'élevage, même si le poussin arrive exempt de salmonelles, une contamination reste possible avec un bâtiment mal nettoyé et mal désinfecté, malgré un vide sanitaire. Les oiseaux sauvages, les rongeurs et les insectes (ténébrions, poux, mouches) sont aussi des vecteurs ; de même que l'aliment s'il n'est pas thermisé.

Une eau provenant d'un captage privé peut contenir des salmonelles *a fortiori* si les eaux de ruissellement qui alimentent le forage traversent un champ où ont été épandus des fumiers souillés.

Enfin, les poussins déjà contaminés avant leur arrivée dans l'élevage seront une source importante par l'intermédiaire de leurs déjections et contribueront à l'augmentation du niveau de contamination des bâtiments d'élevage (COLIN, 1992).

Les salmonelles induisent un portage qui est dose-dépendant. Plus la dose infectante est élevée, plus on retrouvera de sujets positifs. Néanmoins, les poulets élevés sur une litière usagée sont moins susceptibles que ceux élevés sur une litière neuve (GUSTAFSON et al, 1984).

A l'intérieur des abattoirs, les risques de contamination croisée sont grands au vu de la mécanisation de l'abattage. En effet, l'eau du bain d'échaudage devient rapidement un bon milieu de culture pour les salmonelles, surtout si la température de l'eau est inférieure à 52-53°C (COLIN, 1992). Ensuite, les doigts de caoutchouc de la plumeuse peuvent transmettre des bactéries sur la surface des carcasses de nombreuses volailles. Une éviscération mal réalisée (rupture du tube digestif) va non seulement contaminer la carcasse, mais encore toutes les carcasses qui suivront jusqu'au prochain nettoyage de la machine. Enfin, le personnel, par l'intermédiaire de ses mains et les instruments qu'il emploie (couteaux, gants de fer...) sont de bons vecteurs (COLIN, 1992).

La figure 1 résume les sources et les modes de contamination par les salmonelles dans la filière avicole.

## **4- Prophylaxie appliquée à la filière avicole**

### **4.1 Prophylaxie sanitaire**

Les principales règles de prophylaxie sanitaire sont édictées dans l'arrêté du 26 octobre 1998.

#### **4.1.1 Au couvoir**

La conception même du couvoir fait partie des aspects de la lutte anti-salmonelles. Elle doit respecter plusieurs principes qui sont :

- ✓ La marche en avant
- ✓ La progression du secteur sain vers le secteur souillé avec un retour en arrière interdit
- ✓ La compartimentation des secteurs
- ✓ Le non-entrecroisement des circuits

Les procédures de nettoyage et de désinfection sont rendues plus efficaces grâce à des surfaces lisses, non poreuses, des angles arrondis et du matériel amovible. Le personnel doit revêtir une tenue spéciale dans un sas prévu à cet effet à l'entrée du couvoir et comprenant le nécessaire pour assurer une hygiène corporelle impeccable.

#### **4.1.2 Dans les élevages**

Les élevages, de la même façon que les couvoirs, doivent être conçus de telle manière que les sources de contamination soient limitées au maximum. Tout d'abord, les bandes de Volailles doivent être conduites selon le mode tout plein tout vide et tous les oiseaux doivent avoir le même âge.

L'accès à l'élevage se limite au personnel travaillant sur le site et des passages sont aménagés pour les véhicules de transport des oiseaux ou de l'aliment. Le personnel doit aussi revêtir une tenue spécifique dans un sas prévu à cet effet à l'entrée du bâtiment.

Avant l'arrivée des oiseaux, le bâtiment est nettoyé puis désinfecté et doit avoir subi un vide sanitaire. Le sol sera de préférence imperméable, les parois lisses et les angles arrondis pour ne pas que de la matière organique s'accumule. La dératisation et la désinsectisation doivent être régulières car les rongeurs et les insectes sont de bons vecteurs de salmonelles.

La qualité microbiologique de l'eau doit être conforme aux normes de potabilité ; c'est pourquoi les contrôles seront réguliers, qui plus est, si l'approvisionnement est réalisé à partir d'un captage privé. Une chloration de l'eau peut être envisagée par précaution afin de décontaminer l'eau.

En ce qui concerne les précautions que l'on peut prendre avec l'aliment, une acidification de celui-ci peut contribuer à rendre le pH du contenu intestinal peu propice au développement des salmonelles. L'ajout d'acide formique ou d'acide propionique dans un aliment contaminé par des salmonelles diminue le taux d'infection des poulets. L'acidification a également un effet préventif en vue d'une future recontamination de l'aliment (HINTON et LINTON, 1988).

La thermisation, qui consiste à appliquer un traitement thermique à l'aliment, est aussi une méthode permettant l'élimination des bactéries dans l'aliment. Ce procédé étant trop onéreux pour les volailles de chair, il n'est utilisé que pour les reproducteurs.

#### **4.1.3 Dans les industries agroalimentaires**

L'Homme peut être porteur de salmonelles, soit parce qu'il est malade et dans ce cas il présentera des signes cliniques soit parce qu'il est porteur sain et alors, il ne le sait peut-être pas car aucun symptôme ne sera apparent. Par conséquent, le portage sain agit de manière insidieuse dans la contamination des denrées.

La réglementation oblige les personnes ayant des troubles digestifs à ne pas préparer de repas jusqu'à leur rétablissement et elles doivent subir une visite médicale validée par un certificat d'aptitude pour reprendre leur emploi (HUMPHREY, 2000). Par ailleurs, le dépistage des porteurs sains est réalisé tous les ans lors d'une visite médicale qui comprend une coproculture.

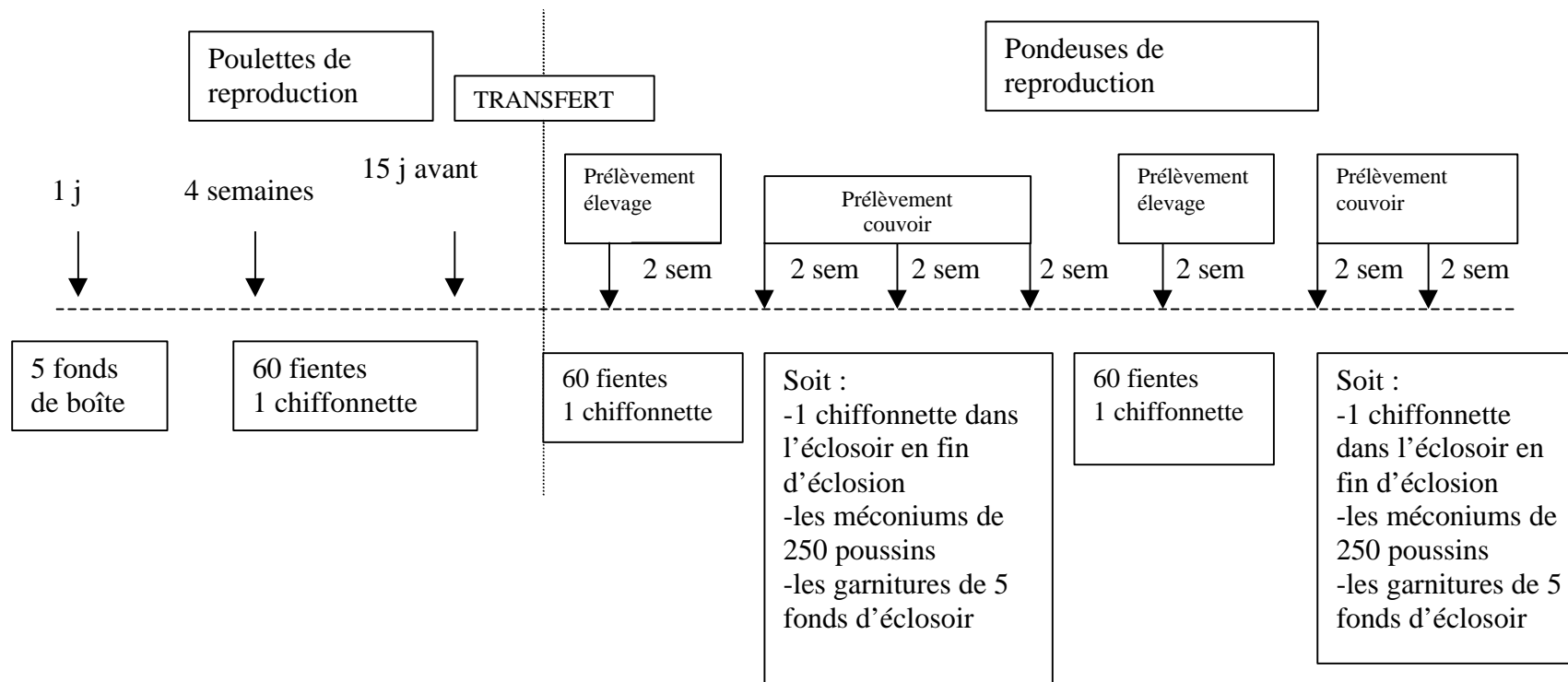
Par ailleurs, le froid inhibe la multiplication des salmonelles à des températures inférieures à +5°C. Il sera donc important de conserver les denrées à risque, notamment toutes les préparations à base d'œufs crus à une température inférieure à +5°C.

En l'absence de rupture de la chaîne du froid, le nombre de salmonelles présentes sur les carcasses est généralement faible et une cuisson appropriée à cœur suffira à les détruire (EUZEBY, 1997).

Enfin, la conception de l'abattoir doit respecter les mêmes règles de circulation des produits, du matériel et du personnel que celles du couvoir.

Figure N°2: Prélèvements obligatoires prévus par le plan de surveillance et de lutte contre les salmonelles

**1. Troupeaux de reproducteurs en filière chair et ponte d'œufs de consommation**



La mayonnaise est un aliment permettant la survie de *Salmonella* Enteritidis PT4. Dans une pièce à 23°C, ces bactéries meurent rapidement à pH 3-3.5 mais peuvent se multiplier rapidement à pH 4. A 4-8°C, la croissance est lente à pH 3.5-4 mais les bactéries meurent rapidement à pH 3 (HUMPHREY, 1990).

Concernant le personnel travaillant dans les cuisines, il est important qu'il soit responsabilisé vis-à-vis du risque salmonellique. La prévention des contaminations croisées passe par un lavage soigneux des mains, un entreposage approprié des denrées, le nettoyage des cuisines mais aussi par l'apprentissage des risques existants lors de l'utilisation d'œufs crus ou peu chauffés (HUMPHREY, 2000).

#### **4.2 Bases réglementaires**

Elles sont données par l'arrêté du 26 octobre 1998 qui traduit en droit français la Directive européenne 92/117/CEE du 17 décembre 1992.

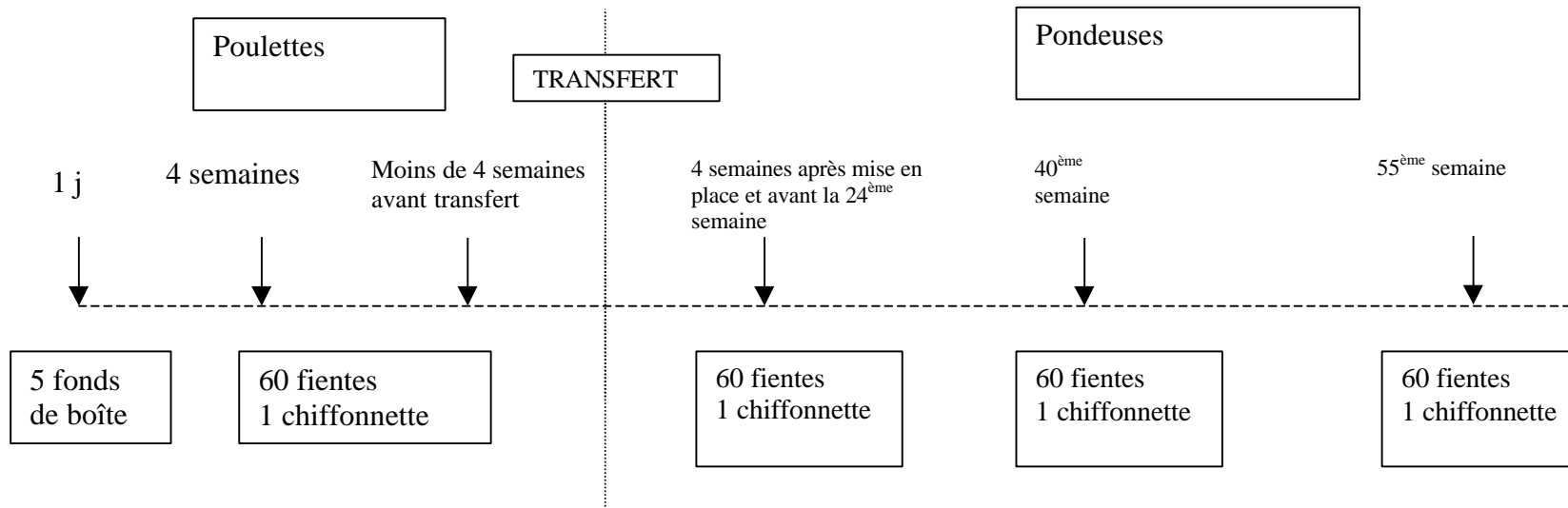
Cet arrêté définit les mesures de prophylaxie et de police sanitaire à mettre en place lorsqu'un cas est avéré en filière ponte d'œufs de consommation et en filière chair. Antérieurement, à cet arrêté, il existait le Contrôle Officiel Hygiénique et Sanitaire (COHS) de 1991 qui engageait des éleveurs volontaires, contre des aides financières, à mettre leur établissement en conformité avec des normes définies. Ces éleveurs devaient par ailleurs effectuer des auto-contrôles en vue du dépistage des salmonelles et à déclarer le cas échéant les cas positifs. Ensuite, les troupeaux étaient abattus moyennant une subvention si *Salmonella* Enteritidis avait été isolée.

L'arrêté du 26 octobre 1998 stipule que *Salmonella* Enteritidis et *Salmonella* Typhimurium sont recherchées systématiquement dans tous les troupeaux de volailles de plus de 250 oiseaux (Cf. Figure 2). Seule *Salmonella* Enteritidis est recherchée dans tous les troupeaux de poules pondeuses d'œufs de consommation. Les prélèvements comprennent des fientes ou des chiffonnettes pour les poules pondeuses ou des garnitures de fonds d'éclosoir ou du méconium pour les couvoirs. Ces prélèvements sont réalisés sous la responsabilité d'un vétérinaire sanitaire et les analyses bactériologiques sont effectuées par un laboratoire accrédité COFRAC (Comité français d'Accréditation).

Dans le cas d'une suspicion salmonellique, un arrêté de mise sous surveillance des troupeaux est pris par le préfet. Il implique que jusqu'à la confirmation ou l'infirmité de la suspicion, les troupeaux identifiés seront séquestrés et isolés, les œufs seront mis à part

Figure N°2: (suite)

**2. Troupeaux de rente en filière ponte d'œufs de consommation**



**Remarque:**

Le prélèvement de fientes peut être remplacé par :

- soit 1 pédichiffonnette pour les Volailles élevées au sol
- soit 1 chiffonnette sur les tapis de fientes ou sur au minimum 20 fonds de cage par rangée

ou vendus après avoir subi un traitement thermique suffisant pour détruire les salmonelles. En cas de confirmation, le préfet prend un arrêté portant déclaration d'infection qui suppose l'abattage des troupeaux infectés.

La levée de l'arrêté n'est permise qu'après élimination du troupeau, désinfection, vide sanitaire et des contrôles microbiologiques négatifs.

Une participation financière de l'Etat comprenant des indemnités d'abattage est attribuée aux éleveurs à condition que ceux-ci adhèrent à une Charte. Cette Charte indique les normes d'installation, d'aménagement des locaux, de fonctionnement et d'hygiène à mettre en place. En outre, elle soumet l'éleveur à la tenue d'un cahier d'élevage. Il y est inscrit toutes les opérations de nettoyage, désinfection, dératisation, désinsectisation, prophylaxies, actes thérapeutiques, prélèvements et résultats d'analyse ainsi que les performances et la mortalité des lots. Ce cahier d'élevage est une garantie de la traçabilité des lots.

### **4.3 Prophylaxie médicale**

Afin de prévenir une pénétration des salmonelles à l'intérieur de l'œuf, on peut réaliser un trempage des œufs ou une injectin *in ovo*. Le trempage consiste à faire pénétrer des molécules bactéricides à l'intérieur de l'œuf. Les molécules utilisées sont le chlore, les ammoniums quaternaires, des composés iodés, des antibiotiques,... (HUMBERT, 1994). Cependant, l'efficacité est limitée car il faut avoir une maîtrise parfaite du procédé et toutes les bactéries ayant traversé la coquille ne sont pas détruites (HUMBERT, 1994).

En outre, la vaccination est un moyen prophylactique de lutte contre des agents pathogènes (bactéries, virus, parasites). On recherche une diminution de l'excrétion des agents pathogènes ainsi que le nombre de porteurs sains, donc une diminution de la transmission verticale.

L'efficacité des vaccins tués dans la prévention contre une infection n'a jamais été décrite (HUMBERT, 1994). Les vaccins vivants présentent une virulence résiduelle dont les souches peuvent coloniser et persister dans des organes comme le foie ou la rate pendant 3 à 5 semaines. De plus, ils entraînent une protection pour le sérotype avec lequel ils ont été fabriqués (HUMBERT, 1994).

En France, il existe un vaccin disposant d'une Autorisation de Mise sur le Marché. En Allemagne et en Grande-Bretagne, la vaccination est généralisée avec l'utilisation de



vaccins inactivés ou vivants (LE BOUCHER, 1999). En France, la vaccination des reproducteurs est interdite en filière ponte ainsi qu'à l'étage grand-parental en filière chair. La vaccination a un intérêt à l'étage de la sélection autant en filière chair qu'en filière ponte d'œufs de consommation. Elle est aussi utile dans les parquets de poules pondeuses d'œufs de consommation car le but est dans ce cas de diminuer au maximum le nombre d'œufs contaminés (CHATENET, 2000). Par contre, il n'existe aucune justification technique ou économique de vacciner des poulets de chair en engraissement (LE BOUCHER, 1999).

Enfin, la vaccination a l'inconvénient majeur d'empêcher la distinction, lors de sérologies, entre les oiseaux infectés et les vaccinés. De plus, en diminuant l'excrétion, le dépistage est rendu plus difficile et les troupeaux contaminés seront identifiés plus tardivement (CHATENET, 2000).

Néanmoins, les recours aux antibiotiques demeurent nécessaires dans certains cas. Lors d'une salmonellose clinique survenant sur des poulets en engraissement, il est utile de réaliser un antibiogramme afin d'éviter un éventuel échec thérapeutique.

Parmi les molécules efficaces contre les salmonelles, on trouve : l'ampicilline, la gentamicine, la colistine, les quinolones,...

Un traitement antibiotique n'interrompt que pendant une durée de 3 à 4 semaines la transmission horizontale ou verticale, ainsi que le portage digestif (HUMBERT, 1994). En outre, un usage non raisonné, c'est-à-dire sans antibiogramme, ou trop souvent répété, augmente le risque d'antibiorésistance.

Enfin, une voie de recherche dans la lutte contre les salmonelles se trouve dans la sélection génétique. PROTAIS et al 1996 ont étudié la sensibilité et la susceptibilité de 4 lignées de poules à *Salmonella* Enteritidis. Trois d'entre elles ont un degré de résistance supérieur à la quatrième. La cause est inconnue et pourrait être attribuée à des gènes majeurs. Cependant, d'autres études sont nécessaires pour rechercher l'origine de cette résistance.

Mais, une nouvelle voie dans la lutte contre les salmonelles a été découverte. Elle est basée sur les principes d'écologie microbienne qui peuvent exister dans le tube digestif des volailles. Il s'agit des flores de barrière qui sont constituées d'un ensemble de bactéries

d'origine digestive destinées à empêcher l'implantation de bactéries pathogènes dans le tube digestif.

## **B- LES FLORES DE BARRIERE**

### **1-Le concept de Nurmi**

Le tube digestif est fréquemment soumis à des agressions dues à des bactéries pathogènes. Face à cela, il dispose de différents moyens de défense (HUMBERT, 1993) :

- une protection via la paroi intestinale : renouvellement rapide des cellules, sécrétion de mucus représentant un obstacle et renfermant des substances bactéricides, cellules immunitaires des plaques de Peyer
- compétition avec les bactéries de la flore digestive : elle s'oppose à la multiplication et à l'implantation de bactéries pathogènes ou étrangères ainsi qu'à leur translocation

C'est à partir de ce deuxième moyen de défense que NURMI et RANTALA en 1973 ont proposé le concept de flore de barrière ou flore d'exclusion (competitive exclusion en anglais). Ce concept repose sur les bases suivantes :

- ✓ Une seule salmonelle peut infecter le poussin de un jour.
- ✓ Les oiseaux plus âgés sont davantage résistants à l'infection par les salmonelles grâce à leur flore digestive, particulièrement celle des cæca et du côlon mais probablement aussi celles des autres portions du tractus digestif.
- ✓ Les poussins couvés par leur mère sont probablement colonisés rapidement par la microflore digestive de l'adulte.

- ✓ Les conditions actuelles de production font que les poules couveuses ont été remplacées par des couvoirs dont l'environnement sanitaire ne permet pas une transmission de la flore adulte.
- ✓ A l'arrivée des poussins dans l'élevage, le bâtiment est propre et désinfecté ce qui empêche la flore autochtone adulte de coloniser le tractus digestif des poussins.
- ✓ L'administration d'une flore intestinale d'adultes procure à un jeune poussin une résistance immédiate à une infection par  $10^3$  à  $10^8$  salmonelles.

Depuis, PIVNICK et NURMI en 1982, ont ajouté deux principes au concept initial :

- ✓ La flore intestinale adulte peut provenir d'une suspension de fèces, de contenu cæcal ou d'une culture anaérobie de ce contenu. On peut l'administrer par gavage, par l'eau de boisson, dans la nourriture ou par nébulisation.
- ✓ La flore doit provenir d'une espèce homologue à celle de l'animal traité bien qu'un traitement issu de poulets protège les dindes et vice-versa.

## **2-Modes de fonctionnement de la flore d'exclusion**

Les flores d'exclusion agissent selon un mode combiné de quatre facteurs.

Les bactéries composant la flore de barrière agissent tout d'abord comme une barrière physique. Des compétitions se créent entre la flore d'exclusion et la flore pathogène pour les sites de fixation à l'épithélium digestif permettant la translocation. Les bactéries constituent un véritable « feutrage » recouvrant la muqueuse du tube digestif (SOERJADI et al, 1981). La muqueuse des poulets traités est colonisée précocement par des bactéries adhérentes interconnectées avec des fibres (SOERJADI et al, 1982).

D'autre part, la flore de barrière, par l'intermédiaire de son métabolisme, crée un environnement hostile à la croissance des bactéries pathogènes. La réduction du nombre

de *Salmonella* Typhimurium dans le contenu cæcal est corrélée positivement avec des concentrations élevées en acide propionique et en acides gras volatils totaux que les bactéries constituantes de la flore d'exclusion ont synthétisé (CORRIER et al 1995 (b)). De plus, les concentrations en acides gras volatils dans les contenus cæcaux sont un bon indicateur de l'établissement et de la croissance des bactéries anaérobies des flores d'exclusion (CORRIER et al, 1995(a)). L'acide propionique est même le principal produit final de certains genres comme *Propionibacterium* ou *Veillonella* (CORRIER et al 1995(b)).

Les salmonelles peuvent être inhibées *in vitro* sur gélose avec *Bacteroides hypermegas* et *Bifidobacterium* spp. Cette inhibition serait due à la production d'acides gras volatils couplée à une diminution de pH (BARNES et al 1979).

De plus, il semblerait que les bactériocines, sécrétées par les bactéries de la flore de barrière, joueraient un rôle dans l'inhibition des salmonelles mais les mécanismes de régulation sont peu connus (SCHNEITZ et al, 2000).

Enfin, les bactéries ont besoin de nutriments essentiels pour leur métabolisme et Par définition, ceux-ci ne peuvent pas être synthétisés et sont en quantité limitée dans le milieu intestinal. Donc, une compétition se crée car toutes les bactéries, pathogènes ou non, en ont besoin pour assurer leur métabolisme (SCHNEITZ et al, 2000).

### **3-Les différentes flores**

#### **3.1 Origine des bactéries**

Les différentes bactéries entrant dans la composition des flores de barrière proviennent soit de la litière soit du contenu cæcal des poulets. On a obtenu une plus grande opposition à la colonisation de poussins par les salmonelles en leur donnant des extraits de litière usagée dans la nourriture (CORRIER et al 1992). Les poussins sont plus résistants s'ils sont élevés sur une litière usagée c'est-à-dire ayant déjà servi à une autre bande de poulets.

De même, le cæcum des volailles héberge environ 200 types différents de bactéries (SOERJADI et al, 1981). Les cæca sont les principaux sites de colonisation par les salmonelles. La flore cæcale apparaît donc comme étant la plus appropriée à la réalisation

Tableau N°7 : Bactéries présentes dans une flore définie issue de cæca de poulets adultes  
(CORRIER et al, 1995(b))

Bactéries	Anaérobie facultative	Anaérobie stricte
<i>Enterococcus faecalis</i> (chaîne M)	+	
<i>Enterococcus faecalis</i> (chaîne N)	+	
<i>Enterococcus faecalis</i> (chaîne O)	+	
<i>Enterococcus faecium</i> (chaîne X)	+	
<i>Enterococcus faecium</i> (chaîne Y)	+	
<i>Enterococcus faecium</i> (chaîne Z)	+	
<i>Enterococcus avium</i>	+	
<i>Lactococcus lactis</i>	+	
<i>Lactococcus</i> sp	+	
<i>Escherichia coli</i> (chaîne CC-3A)	+	
<i>Escherichia coli</i> (chaîne CC-3B)	+	
<i>Citrobacter freundii</i>	+	
<i>Enterobacter</i> sp	+	
<i>Pseudomonas</i> sp	+	
<i>Serratia liquefaciens</i>	+	
<i>Propionibacterium</i> sp (1,2)		+
<i>Propionibacterium</i> sp (1,2)		+
<i>Propionibacterium</i> sp (1,2)		+
<i>Propionibacterium</i> sp (1,2)		+
<i>Bifidobacterium</i> sp (1)		+
<i>Bifidobacterium</i> sp		+
<i>Bifidobacterium</i> sp		+
<i>Eubacterium</i> sp (1)		+
<i>Eubacterium</i> sp (1,2)		+
<i>Eubacterium</i> sp (1)		+
<i>Lactobacillus</i> sp		+
<i>Fusobacterium</i> sp (1)		+
<i>Veillonella</i> sp (1,2)		+
<i>Bacteroides</i> sp (1)		+

(1) : bactéries produisant de l'acide acétique ou propionique ou butyrique

(2) bactéries produisant de l'acide propionique

d'une flore de barrière. La flore intestinale des poulets EOPS (Exempt d'Organismes Pathogènes Spécifiés), se stabilise à l'âge de quarante jours (COLOE et al, 1984). Elle contient principalement des streptocoques fécaux, *Escherichia coli*, *Bacteroides* spp et *Lactobacillus* sp. Les contenus cæcaux sont prélevés sur des poulets EOPS dont la nourriture et l'eau ne doivent pas contenir de salmonelles (BLANKENSHIP et al, 1993). En effet, le mode d'élevage évite les recontaminations issues de l'environnement ou de l'alimentation.

Cependant, la flore de ces poulets est moins variée et moins nombreuse que celle des poulets élevés de manière conventionnelle.

Il existe une protection réciproque entre les flores de barrière issues de poulets chez les dindes et vice et versa (WEINACK, 1982 ; SCHNEITZ et NUOTIO, 1992). Par contre, les flores issues d'autres espèces d'oiseaux ne protègent pas les poulets (SNOEYENBOS, 1979).

### **3.2 Flores définies et flores indéfinies**

On distingue deux types de flores :

- les flores définies dont la composition en genres bactériens est connue
- les flores indéfinies dont, comme leur nom l'indique, la composition exacte est inconnue

29 genres bactériens différents ont été isolés dont 15 sont anaérobies facultatives et 14 sont anaérobies strictes (CORRIER et al 1995(b) ) (cf. Tableau 7). Parmi les bactéries anaérobies strictes, 11 produisent un ou plusieurs des trois acides gras volatils suivants (acide acétique, acide propionique ou acide butyrique). Les bactéries lactiques présentes (*Lactobacillus*, *Lactococcus*,...) produisent de l'acide lactique.

En revanche, la culture réalisée à partir de contenus cæcaux a une composition indéterminée. Toutefois, elle doit être exempte de germes pathogènes. La qualité de ce type de flore est difficile à maintenir constante sur une longue période.

### **3.3 Processus de fabrication**

Les cæca de poulets n'hébergeant pas de salmonelles sont prélevés aseptiquement et transférés dans un milieu anaérobie pour préserver le maximum de bactéries viables

(CORRIER et al, 1995(b)). Pour recueillir un maximum de bactéries qui sont logées dans les cryptes intestinales ou qui adhèrent à la muqueuse, celle-ci subit des lavages et est mise à incuber. Ces cæca macèrent dans un milieu approprié. La culture se fait ensuite dans des fermenteurs où les milieux de culture et les paramètres (température, pH, ...) sont optimaux. La flore ainsi obtenue est lyophilisée puis standardisée pour en faire un produit commercialement utilisable. La flore ne doit contenir aucun pathogène (cf. Tableau 8).

C'est pourquoi, ces agents sont recherchés avant la commercialisation du produit.

### **3.4 Présentations commerciales**

Plusieurs flores de barrière sont commercialisées (SCHNEITZ, 2000) :

- ✓ AVIFREE<sup>®</sup> : composé d'une culture indéfinie issue de poulets Specific Pathogen Free (SPF). (Alltech Biotechnology Center)
  
- ✓ AVIGUARD<sup>®</sup> : c'est une culture indéfinie, mélangée puis lyophilisée issue de la flore cæcale de poulets adultes SPF.(Bayer)
  
- ✓ BROILACT<sup>®</sup> : cette flore est une préparation lyophilisée contenant 32 types de bactéries différentes dont 22 anaérobies de 5 genres différents et 10 anaérobies facultatives de 3 genres différents. (Virbac)
  
- ✓ PREEMPT<sup>®</sup> : à partir de contenu cæcal de poulets de 10 semaines, la culture a lieu à pH bas afin de sélectionner des bactéries anaérobies strictes et facultatives. (MS Biosciences)

### **3.5 Autres flores de barrière**

A partir du même principe, d'autres flores de barrière ont été conçues (SCHNEITZ et MEAD, 2000) :

- ✓ *Lactobacillus reuteri* : cette bactérie fait partie de la flore intestinale et synthétise de la reutéline qui est une bactériocine. Les micro villosités intestinales des poulets traités avec cette bactérie sont plus longues et les cryptes plus profondes (DOBROGOSZ et BLACK, 1991).

- ✓ *Saccharomyces boulardii* : cette levure est administrée *in ovo* ou dans la nourriture. Les bactéries adhèrent à la surface des levures et sont évacuées dans les fèces avec les levures.
- ✓ Vermicompost : ce sont des fèces de vers ayant ingéré un mélange de fèces frais de poulets adultes SPF.
- ✓ *Bacillus subtilis* : l'administration de spores de cette bactérie à des poussins de un jour a montré une diminution du portage et de l'excrétion fécale de *Escherichia coli* O78:K80. Néanmoins, le mécanisme exact de la protection n'est pas encore connu (LA RAGIONE et WOODWARD, 2001).

#### **4- Modes d'administration**

L'efficacité des flores de barrière dépend entre autre du mode d'administration qui doit permettre de conserver la viabilité, la survie et l'établissement de la flore protectrice dans l'écosystème intestinal des sujets traités.

##### **4.1 Par spray**

Un protocole d'administration de la flore par spray a été mis au point quand 30% puis 100% des poussins ont éclos (GOREN et al 1984). Les poulets ainsi traités ont eu une croissance supérieure aux non traités pendant 7 semaines. De plus, on a constaté une diminution de la contamination salmonellique dans un essai comprenant 4 millions de poulet traités à l'aide d'un spray au couvoir (GOREN et al, 1988).

Les performances de croissance ne sont pas altérées par le spray (CORRIER et al, 1995(a)).

Avec les différentes préparations commerciales comme l'AVIGUARD©, avant leur départ dans l'élevage ou immédiatement à leur arrivée, les poussins reçoivent la flore de barrière grâce à un spray qui délivre à chaque oiseau 0.3 mL.



Tableau N°8 : Principaux agents pathogènes recherchés dans les flores de barrière  
 (BLANKENSHIP et al, 1993)

Bactéries	Virus
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	Virus de Newcastle
<i>Mycoplasma synoviae</i>	Virus de la bronchite infectieuse
<i>Salmonella pullorum gallinarum</i>	Virus de Gumboro
<i>Salmonella typhimurium</i>	Réovirus
<i>Pasteurella multocida</i>	Virus de l'encéphalomyélite aviaire
	Virus de la leucose aviaire
	Influenzavirus

## 4.2 Dans l'eau de boisson

La flore de barrière est introduite dans une quantité d'eau non chlorée équivalente à la quantité d'eau qui sera bue par les poussins pendant un laps de temps déterminé.

L'administration des flores de barrière dans la première eau de boisson des poussins présente plusieurs inconvénients (MEAD, 2000) :

- Les poussins peuvent boire insuffisamment à leur arrivée dans l'élevage. Donc ils ne recevront pas entièrement la dose qui leur est impartie et la protection sera hétérogène.
- La qualité de la flore, en particulier la viabilité des bactéries au contact de l'oxygène, peut être altérée par un séjour dans les abreuvoirs.
- Le délai entre l'éclosion et la première buvée peut être trop long. Or, l'un des buts des flores de barrière est que les poussins reçoivent la flore avant toute autre contamination horizontale. Si les poussins sont exposés aux salmonelles au couvoir, la première buvée sera trop espacée dans le temps pour que la flore de barrière soit efficace.

Cependant, il n'existe pas de différence d'efficacité entre le spray et l'eau de boisson quand les conditions d'expérimentation sont contrôlées et que les essais se déroulent sur un nombre limité de poulets (CORRIER et al 1994(a)). Les bactéries de la flore de barrière peuvent aussi être encapsulées dans de la gélatine, mais l'efficacité de ce mode d'administration de la flore de barrière est moins bonne que l'administration par l'eau de boisson ou par spray. La concentration en acide propionique des cæca des poulets ainsi traités est inférieure à celle des poulets ayant reçu tout autre mode d'administration de la flore, y compris le groupe témoin. Or, l'acide propionique est un indicateur de l'établissement de la flore dans les cæca. Cela signifierait que les bactéries encapsulées et produisant de l'acide propionique ne se sont pas implantées (CORRIER et al 1994(b)).

## 4.3 *In ovo*

Une flore de barrière a été inoculée à l'intérieur de la chambre à air d'œufs incubés depuis 17 jours. Les poulets ainsi traités sont plus résistants à des modifications de doses infectantes de salmonelles (COX et al 1992). Ainsi, il serait possible d'initier une protection des sujets avant de mettre les œufs à couver dans un environnement contaminé.

L'administration d'une flore de barrière *in ovo* est possible à condition de ne pas introduire de bactéries protéolysantes ou produisant du gaz ou des toxines. *Lactobacillus reuteri* répond à ces critères. Cette bactérie n'altère pas l'éclosabilité et a un effet prolongé dans l'intestin des poussins. Son administration permet d'augmenter sa colonisation intestinale et de diminuer celles de *Salmonella* et *Escherichia coli* chez les poussins et les dindonneaux (EDENS et al, 1997). L'inoculation *in ovo* de *Lactobacillus reuteri* seul ou en combinaison avec de la gentamicine pourrait permettre de contrôler de nombreux pathogènes des volailles à tropisme intestinal.

## **5- Indications**

Les flores de barrière sont indiquées dans deux situations précises (MEAD, 2000). La première est prophylactique et consiste à augmenter la résistance des poulets vis-à-vis des salmonelles par compensation de la lente mise en place de la flore intestinale adulte.

La deuxième indication est l'emploi de la flore après une antibiothérapie qui a modifié l'écosystème intestinal. Celui-ci est restauré plus rapidement et la flore administrée se rapproche le plus de la flore qui était présente avant le traitement antibiotique.

## **6- Facteurs modifiant l'efficacité**

### **6.1 Facteurs extrinsèques**

Les bactéries utilisées dans les flores de barrière ont un métabolisme anaérobie strict ou anaérobie facultatif (cf. Tableau 7). Il est donc important que ces bactéries survivent dans toutes les étapes constituant leur préparation (culture, stockage, application,...). L'anaérobiose doit donc être la plus parfaite possible (GOREN et al, 1984).

De plus, la protection procurée par les flores de barrière est dose-dépendante (LAFONT et al, 1983). Des quantités différentes d'une flore (BROILACT ©) ont été administrées à des poulets et on a pu définir une dose efficace qui correspond à 0.05 mL de flore dans un premier essai et 0.25 mL dans un second essai (SCHNEITZ et al, 1991). Toutefois, d'une manière générale, l'excrétion cœcale des salmonelles diminue avec le temps.

De même, l'efficacité de la flore de barrière utilisée sur des poulets SPF est dose-dépendante quand ceux-ci sont infectés avec *Salmonella typhimurium* var copenhagen (LAFONT et al, 1983).

## 6.2 Facteurs intrinsèques

Les poussins sont d'autant plus susceptibles à une contamination salmonellique qu'ils sont jeunes. D'après NURMI et RANTALA 1973, une salmonelle unique est capable d'infecter un poussin de un jour. La susceptibilité des poussins diminue ensuite avec l'âge. Les poulets infectés rapidement après l'éclosion sont hautement susceptibles à une infection par *Salmonella* Enteritidis et, parmi ces oiseaux, la plupart restent infectés et ne peuvent pas élaborer une réaction immunitaire efficace contre cette bactérie invasive. Une semaine après l'infection, la colonisation persiste dans le foie, la rate et les cæca tandis que quatre semaines post-infection, on retrouve les salmonelles uniquement dans les cæca (GAST et HOLT, 1998). De plus, les poussins contaminés par des salmonelles directement après l'éclosion peuvent rester infectés sans développer une réaction immunitaire significative contre la bactérie (HOLT et al, 1999).

C'est à partir de ces constatations qu'il apparaît préférable d'administrer les flores de barrière au couvoir ou dès l'arrivée des poussins dans l'élevage alors qu'ils ont un jour. L'efficacité des flores de barrière diminue si l'administration est effectuée postérieurement à un contact des poussins avec les salmonelles. L'effet de barrière physique de la flore ne peut plus avoir lieu. De même, la contamination de l'éclosoir, qui est à l'origine d'une contamination précoce des poussins, réduit l'efficacité des flores de barrière contre la colonisation intestinale par les salmonelles. Un à trois œufs sur 200 suffisent à engendrer une colonisation intestinale par transmission horizontale chez 98% des poussins (BAILEY et al 1992). En effet, les éclosoirs, avec les fragments de coquille ou le matériel, sont les points critiques de l'infection salmonellique des poussins (COX et al, 1990 (b)). Ainsi, certaines études en conditions réelles auraient donné de meilleurs résultats si les éclosoirs n'avaient pas été contaminés (GOREN et al 1988).

Les facteurs environnementaux peuvent également modifier l'action des flores de barrière. En effet, les poussins de un jour élevés dans une ambiance à 18-22°C sont plus susceptibles à une infection par *Salmonella* Typhimurium que ceux qui sont élevés à une température de 32-36°C ( SOERJADI et al, 1979 ). Des températures inférieures au

confort thermique (10°C pendant 24 heures) sur des poussins de 12 jours augmente le nombre d'oiseaux excréteurs. Par contre, ce même stress chez des poulets de 20 jours a moins de conséquences sur l'excrétion (SOERJADI et al, 1979).

D'autres sources de stress comme la privation d'eau ou de nourriture sont autant de sources de stress qui diminuent l'efficacité des flores de barrière et qui augmentent la susceptibilité aux salmonelles (GOREN et al, 1984).

Néanmoins, la protection procurée par la microflore est stable durant ces conditions de stress mais elle peut être altérée lors d'un stress dû à une maladie. L'établissement et le maintien d'une microflore protectrice apparaît être le principal facteur pour minimiser l'infection par les salmonelles chez les poulets (WEINACK et al, 1985).

En revanche, l'efficacité des flores de barrière, en prévention des infections par les salmonelles, peut être limitée par une coccidiose même subclinique (BAILEY, 1987). En effet, les coccidies et notamment *Eimeria tenella* altèrent l'intégrité de la muqueuse intestinale d'où une augmentation de la susceptibilité à une colonisation salmonellique. Ainsi, la quantité de salmonelles éliminées diminue pendant deux semaines (LAFONT et al, 1983). De même, expérimentalement, la flore de barrière est inefficace lorsque des poulets présentent une salmonellose et que l'on veut obtenir un effet curatif (LAFONT et al 1983).

Enfin, les flores de barrière seront d'autant moins efficaces que des antibiotiques seront utilisés dans la nourriture ou l'eau de boisson des volailles. En effet, l'utilisation d'aliments supplémentés en antibiotique en phase de démarrage dans les élevages de volailles est commune. Le but est de savoir si ces antibiotiques ne vont pas inhiber voire détruire les bactéries constitutives des flores de barrière ou bien agir en synergie.

Quatre antibiotiques d'utilisation courante ont été testés: l'avoparcine, la flavomycine, la bacitracine et la virginiamycine. L'avoparcine augmente le portage des salmonelles, la flavomycine n'a aucun effet alors que la bacitracine et la virginiamycine ont des effets néfastes (HUMBERT et al, 1991).

La combinaison bacitracine-nicarbazine, qui sont respectivement un antibiotique et un anticoccidien, interfère avec les effets protecteurs de la flore de barrière (BAILEY et al 1988).

On peut prévenir la colonisation par *Salmonella Enteritidis* avec une flore de barrière alors que l'on peut éliminer une infection persistante grâce à l'association d'une flore et d'un antibiotique tel l'enrofloxacin (SEO et al, 2000). Ce traitement combiné protège 40% de

poulets en plus par rapport à l'enrofloxacin seule. Contrairement à cette étude, l'administration d'une flore de barrière précédée par un traitement à base de gentamicine est moins efficace que la flore de barrière seule (SEUNA et al, 1985).

## **7- Etudes**

### **7.1 Mesures de l'efficacité**

Quelles que soient les conditions dans lesquelles sont réalisées les études, différents critères sont pris en compte. Ce sont le pourcentage d'oiseaux traités qui deviennent infectés d'une part et l'intensité de l'infection d'autre part.

Pour cela, on dispose de deux indices de mesure (STAVRIC, 1987) :

- ✓ Le facteur d'infection (IF) : il est égal à la moyenne géométrique des logarithmes décimaux du nombre de salmonelles par gramme de contenu cæcal d'un ensemble d'échantillons.

Un facteur d'infection faible signifie qu'un faible pourcentage d'oiseaux est infecté avec peu de salmonelles. Le facteur d'infection reflète le pourcentage d'oiseaux dans le groupe qui sont colonisés et le taux de colonisation parmi ces oiseaux (BAILEY et al, 1988).

IF est aussi appelé facteur de colonisation car toutes les salmonelles ne sont pas pathogènes (certaines sont commensales du tube digestif).

- ✓ Le facteur de protection (PF) : il correspond au rapport du facteur d'infection du groupe d'oiseaux non traités par le facteur d'infection du groupe d'oiseaux traités. Plus le facteur de protection est grand et plus le traitement par la flore de barrière est efficace. Un traitement est efficace si le facteur de protection est supérieur à 10 (BAILEY et al 1988).

### **7.2 Expérimentales**

La première étude dont l'efficacité a été testée contre les salmonelles, a été réalisée par sur des poulets de un à deux jours ayant reçu du contenu digestif de poulets adultes puis ayant été infectés par *Salmonella* Infantis (NURMI et RANTALA en 1973). Aucun des

poulets infectés par  $10^3$  salmonelles et ayant reçu la flore n'héberge de salmonelles dans leur cæca contre 100% de ceux à qui on n'a pas administré de flore.

L'efficacité d'une flore de barrière contre une salmonelle invasive (*Salmonella* Enteritidis PT4) a été étudiée. Les contenus cæcaux des poulets traités contiennent  $0.7 \log_{10}$  salmonelles 5 jours après l'inoculation et  $0.3 \log_{10}$ , 12 jours après contre, respectivement,  $8.3 \log_{10}$  et  $6.9 \log_{10}$ , chez les oiseaux non traités. 4.7% des foies des oiseaux traités sont colonisés à 5 jours contre 93.9% des oiseaux contrôles. Cela prouve que la flore de barrière a, à la fois, prévenu la colonisation du tube digestif et a empêché l'invasion des organes. Dans ce cas, la flore joue vraisemblablement le rôle de barrière physique et empêche cette salmonelle invasive de pénétrer à l'intérieur des entérocytes (NUOTIO et al 1992).

De plus, les flores de barrière se sont révélées efficaces contre *Salmonella gallinarum*. La mortalité des poulets infectés par cette bactérie est passée de 74% à 7.5%. Des poulets sains mais traités puis mis en contact avec des poulets infectés ont subi une moindre mortalité que ceux qui n'avaient pas été traités. Ainsi, la transmission horizontale, qui est l'un des principaux modes de transmission des salmonelles a diminué (NISBET et al, 1998).

Il a également été montré que l'efficacité des flores de barrière pouvait être améliorée avec une acidification de l'eau ou de l'aliment. En effet, l'association d'une flore de barrière avec 2.5% de lactose dans l'eau de boisson a été expérimentée. Après une infection par  $10^6$  *Salmonella* Typhimurium, on retrouve dans le groupe de contrôle  $6.06 \log_{10}$  salmonelles par gramme de contenu cæcal contre  $0.51 \log_{10}$  dans le groupe qui a reçu l'association. Entre ces deux groupes, on note aussi une diminution de 0.75 unités de pH dans les cæca ce qui a contribué à rendre le contenu dysgénésique à la croissance de ces bactéries (HINTON Jr et al 1991).

La combinaison d'une flore de barrière et d'un vaccin vivant atténué contre les salmonelles a été étudiée. Si la souche vaccinale est administrée avant la flore de barrière, celle-là deviendra une composante de la flore intestinale des sujets. L'administration antérieure ou simultanée de la flore et du vaccin a provoqué une réduction significative de la colonisation intestinale en comparaison avec une administration unique de vaccin. Donc, dans le cas où les poulets sont contaminés par des salmonelles avant l'administration de la flore de barrière, il serait intéressant d'associer le vaccin vivant atténué (METHNER et al 2001).

Toutefois, les flores de barrière ne sont pas efficaces uniquement contre les salmonelles. En effet, des études impliquant d'autres bactéries, soit pathogènes pour le poulet lui-même, soit pathogènes pour l'Homme ont été mises en place.

Des poulets ont été infectés avec *Escherichia coli* O157:H7, qui est responsable d'une entérite hémorragique et d'un syndrome hémolytique et urémique chez l'Homme, et avec une souche d'*Escherichia coli* pathogène pour les poulets. La flore de barrière utilisée a fourni une protection significative contre ces deux souches de bactéries (HAKKINEN et SCHNEITZ 1996).

Ces mêmes auteurs ont, en 1999, administré une suspension de *Campylobacter jejuni* à des poulets ayant reçu préalablement une flore indéfinie. Le groupe traité par la flore de barrière montrait de 0 à 62% de cæca colonisés tandis que 100% des sujets du groupe non traité étaient colonisés par *Campylobacter*, avec un comptage significativement supérieur à celui du groupe traité par la flore de barrière (HAKKINEN et SCHNEITZ 1999). Les bactéries du genre *Campylobacter* sont des bactéries qui n'adhèrent pas à la muqueuse intestinale et cæcale, contrairement aux salmonelles. *Campylobacter* utilise la mucine comme source d'énergie. La compétition avec les bactéries de la flore de barrière pour l'attachement à des sites particuliers de l'intestin ne peut pas expliquer le mode d'action de la flore de barrière contre ces bactéries. Il est plus probable que les métabolites produits par les bactéries de la flore de barrière inhibent la prolifération des *Campylobacter* (HAKKINEN et SCHNEITZ 1999).

De même, il a été montré qu'une flore de barrière peut protéger les poulets contre une colonisation cæcale par *Listeria monocytogenes*. En effet, 100% des poulets non traités par la flore de barrière hébergeaient des *Listeria* alors qu'aucune *Listeria* n'a été isolée dans les cæca des poulets ayant reçu la flore par gavage individuel (HUME et al, 1998).

### **7.3 Sur le terrain**

Une des principales difficultés à conduire les essais sur le terrain est qu'on ne peut pas prédire la prévalence de l'infection « naturelle » par les salmonelles, d'où le manque de troupeaux de contrôle qui seraient infectés de manière identique aux groupes traités (STAVRIC, 1987).

Les études accomplies en conditions réelles sont d'autant plus significatives qu'elles sont réalisées sur une longue période (GOREN et al, 1988). En effet, différents facteurs comme la composition de l'aliment, l'ambiance dans les bâtiments qui peut varier suivant les



saisons, les pathologies comme les coccidioses ou les entérites nécrotiques, etc.... peuvent avoir une incidence notable si l'étude est restreinte sur une période étroite.

### **7.3.1 Contre les salmonelles**

Plusieurs études visant à apprécier l'efficacité des flores de barrière contre les salmonelles ont été mises au point. La plus complète a duré un an et demi et comprenait 8 millions de poulets répartis dans 46 élevages. Les prélèvements ont été réalisés aussi bien sur les animaux que ce soit à 1jour sur les fonds de boîtes que sur les cæca ou la peau du cou à l'abattoir mais aussi sur l'environnement (litière, aliment). 24.1% des élevages non traités sont devenus salmonelles positifs contre 14.7% de ceux qui ont reçus la flore de barrière. La proportion d'oiseaux porteurs était de 3.5% contre 0.9% respectivement. Cependant, 7.6% des élevages étaient infectés par des salmonelles avant la mise en place des poussins. De plus, 2% des fonds de boîte étaient contaminés lors de leur arrivée dans l'élevage ce qui implique une transmission à partir du couvoir. Six mois après la fin de l'étude, 22.8% des bâtiments sont contaminés ce qui veut dire que pour maintenir une contamination faible en salmonelles, il faut poursuivre l'administration de la flore sur de longues périodes (GOREN et al,1988).

Dans une autre étude réalisée en Suède en 1988 et comportant au total 2.86 millions de poulets répartis dans 177 bâtiments, ont utilisé une flore de barrière a été utilisée afin de démontrer son efficacité pour diminuer le portage de salmonelles. Il a ainsi été prouvé que 0.65% des oiseaux traités par la flore étaient positifs en salmonelles contre 1.5% des oiseaux témoins (WIERUP et al, 1988)

Un autre exemple plus récent d'utilisation d'une flore de barrière a montré son efficacité. 60000 poulets ont été séparés en deux groupes de 30000 poulets puis élevés dans un même élevage dans deux bâtiments différents. L'un des deux groupes a été traité par une flore de barrière à un jour. 72% des fonds de boîte du groupe de poulets non traité par la flore sont positifs en salmonelles contre 52% des fonds de boite du groupe traité. A trois semaines d'âge, 10% des cæca des poulets traités contiennent des salmonelles contre 20% chez les poulets témoins. Enfin, à sept semaines d'âge, 2% des cæca des poulets traités par la flore hébergent des salmonelles contre 11% pour les poulets témoins. Donc, entre l'âge de 1 jour et sept semaines, le pourcentage de poulets porteurs de salmonelles a été réduit d'un facteur 26 pour les poulets traités par la flore contre un facteur 6.5 pour les poulets témoins (BLANKENSHIP et al, 1993).

Enfin, dans une autre étude, 31.7% des poulets traités par la flore étaient porteurs de salmonelles au niveau cæcal à l'âge de trois semaines contre 55.3% des poulets n'ayant pas reçus de flore. De même, à l'âge de six semaines, 17% des poulets traités par la flore étaient porteurs contre 19% des poulets du groupe témoin (CORRIER et al en 1995(a)).

Quelques études ont été réalisées dans le but de rechercher les actions des flores de barrière contre d'autres bactéries pathogènes. Ainsi, des flores ont été testées dans des élevages qui présentaient des problèmes récurrents d'entérites nécrosantes dues à *Clostridium perfringens*. L'administration d'une flore de barrière a permis de diminuer le nombre de poulets ayant des lésions d'entérite nécrosante ainsi qu'une diminution du portage de l'agent pathogène (KALDHUSDAL et al 2001).

Actuellement, la principale attente des consommateurs en matière d'alimentation, est la sûreté des produits dont ils se nourrissent. Pour cela, ils ne doivent pas contenir de substances ou de bactéries préjudiciables à leur santé.

Les bactéries à l'origine de toxi-infections alimentaires sont directement visées, et plus particulièrement les salmonelles dans l'aviculture. D'autre part, l'usage raisonné des antibiotiques en élevage tend à se généraliser, d'autant plus que l'on se trouve dans des filières de type label où les exigences en terme d'élevage et de thérapeutique sont contraignantes.

Donc, pour produire des volailles sans salmonelles ni utilisation d'antibiotiques, des méthodes alternatives doivent être employées.

Dans cette perspective, l'ARVOL (Association Régionale des Volailles de Chair) en Aquitaine, a décidé de tester l'efficacité d'une des flores de barrière actuellement sur le marché : l'Aviguard © des laboratoires Bayer. Cette flore de barrière a été utilisée en vue d'apprécier son efficacité sur la réduction du portage de salmonelles des poulets labels. Le but de cette expérimentation qui se déroule sur deux années consécutives est de voir si à long terme, ces flores de barrière permettent une réduction significative du portage de salmonelles dans des élevages où le problème est récurrent.

Tableau N°9 : Répartition des élevages dans les différents groupements de production

	Volailles d'Albret	Maïsadour	ASSOV	Galpyvol	<b>Total</b>
Traités	12	11	3	12	<b>38</b>
Témoins	8	10	4	9	<b>31</b>
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>7</b>	<b>21</b>	<b>69</b>

Remarques : Traités : élevages recevant la flore de barrière à un jour au couvoir  
 Témoins : élevages ne recevant pas la flore de barrière

Tableau N°10 : Sérotypes de Salmonelles présents dans quelques élevages sélectionnés avant le début de l'étude (classement par ordre de fréquence)

<b>Sérotypes</b>	<b>Elevages traités</b>	<b>Elevages témoins</b>	<b>Total</b>
Enteritidis	6	9	15
Typhimurium	4	1	5
Indiana	3	1	4
Heidelberg	1	1	2
Montevideo	1	1	2
Hadar	1	1	2
Kottbus	1	0	1
Cerro	1	0	1
Newport	1	0	1
Autre groupe A	1	0	1
Mbandaka	1	0	1
Saint Paul	1	0	1

## **2<sup>ème</sup> partie : Etude expérimentale**

### **A- MATERIEL ET METHODES**

#### **1- Période de l'étude**

L'étude présentée ici a débuté en novembre 2001 et s'est terminée en octobre 2002. Cependant, elle se poursuivra durant une année supplémentaire afin de confirmer les résultats.

#### **2- Les élevages : situation géographique et sélection**

Tous les élevages se situent en Aquitaine. Ils se distribuent dans trois départements : les Landes, les Pyrénées Atlantiques et le Lot et Garonne. Ils font partie de différents groupements qui adhèrent tous à l'ARVOL. Ce sont la Coopérative Volailles d'Albret, le service production Maïsador, l'ASSOV et Galpyvol. La répartition des élevages par groupement de production se trouve dans le Tableau N°9. Le nombre total d'élevages participant à l'étude est de 69 élevages.

Les élevages de volailles de chair ont été sélectionnés à partir de précédents résultats de recherche de salmonelles en ante-mortem par la méthode des chiffonnettes. Ainsi, pour faire partie de l'étude, chacun des élevages devait être positif en analyses salmonelles quel que soit son sérotype, sur une ou deux bandes précédant le début de l'essai.

Parmi la liste d'élevages sélectionnés, un tirage au sort a été réalisé afin de composer d'une part, un groupe d'élevages dont les poulets recevront la flore de barrière et d'autre part, un groupe témoin qui ne recevra pas de flore.

Néanmoins, étant donné qu'une partie des élevages sélectionnés ne font pas uniquement des lots de poulets durant l'année, il a fallu faire une adaptation. En effet, certains éleveurs intègrent une bande de pintades ou de dindes au cours de l'année. Il a donc été décidé arbitrairement que ces élevages-là feraient partie du groupe témoin. Leurs résultats d'analyses des fonds de boîte et des pédichiffonnettes seront pris en compte mais pas les résultats techniques que l'on ne peut pas comparer à ceux des poulets.

### **3- Les poulets**

Les poulets sont tous de souche label. Ils proviennent de cinq couvoirs différents : Landes Accoupage, SOCAVIC, RICHL Poussins SA, Couvoir de la Côte d'Argent et SOPAVI. Les différentes souches utilisées sont JA 757 et la JA 557, la SA 551, la SA 751N et la SA 451.

Ils sont livrés dans les élevages à l'âge de un jour puis sont élevés dans des bâtiments de type label c'est-à-dire des bâtiments fixes de 150 ou 400 m<sup>2</sup> ou dans des cabanes mobiles de 60 m<sup>2</sup>. Le cahier des charges du poulet label impose la présence d'un parcours auquel les poulets doivent avoir accès chaque jour à partir de 6 semaines d'âge maximum et jusqu'à l'abattage.

L'âge d'abattage des poulets est de 81 jours minimum d'après le cahier des charges.

Les parcours sur lesquels sont élevés les poulets peuvent être herbagés ou être ensemencés par du maïs afin d'offrir un couvert. Certains poulets, particulièrement dans les Landes, sont élevés en liberté dans la forêt.

### **4- Flore de barrière**

La flore de barrière utilisée est AVIGUARD© de Bayer. C'est une flore indéfinie obtenue par fermentation à partir de la flore caecale normale de poulets Specific Pathogen Free.

### **5- Analyses bactériologiques**

Trois laboratoires d'analyse vétérinaire réalisent toutes les analyses nécessaires au déroulement de l'étude. Ce sont Biosud à Amou (40), AbioC à Arzacq (64) et SASO à Colomiers (31). Seul AbioC est accrédité COFRAC pour l'analyse de salmonelles mais les deux autres laboratoires utilisent les mêmes procédures de microbiologie pour la recherche de salmonelles.

## **6- Application de la flore de barrière**

La flore de barrière est administrée par une pulvérisation sur les poussins de un jour à l'intérieur des boîtes de transport. La pulvérisation est réalisée juste avant l'expédition des poussins, à l'intérieur du couvoir. Seul un couvoir, pour des raisons pratiques, effectue la pulvérisation dans le camion de livraison des poussins, à l'arrivée dans l'élevage.

Tous les poulets traités par la flore de barrière sont donc âgés de 1 jour. Néanmoins, le fabricant préconise d'effectuer des rappels de flore de barrière dans le cas où un traitement antibiotique aurait été administré. En effet, les antibiotiques agissent sur les bactéries et notamment sur celles de la flore de barrière. Ce rappel n'est plus nécessaire au-delà de la quatrième semaine, âge à partir duquel le poulet a acquis sa flore intestinale adulte.

Les poulets faisant partie du groupe témoin ne reçoivent aucun placebo. Ils ne subissent pas de pulvérisation à un jour avec de l'eau ou une autre substance.

## **7- Prélèvements**

Les lots témoins et ceux traités par la flore de barrière suivent les mêmes procédures de prélèvement et d'analyse. Des fonds de boîte sont prélevés pour analyse afin de déterminer si les poulets de un jour sont déjà contaminés par des salmonelles.

Ensuite, environ quinze jours avant l'enlèvement des poulets pour l'abattage, des prélèvements sont faits selon la technique des charlottes (Cf. Annexe 1). Par cette méthode, on recueille des fientes et de la poussière à l'intérieur du bâtiment dans lequel ont été élevés les poulets. Il existe une corrélation positive entre la présence de salmonelles dans les fientes et le portage caecal (GOREN et al, 1988).

## **8- Analyses microbiologiques**

Les trois laboratoires ayant effectués les recherches de salmonelles ont utilisé la même méthode (Cf. annexe 2).

## **9- Fiche d'enregistrement**

Une fiche d'enregistrement des lots de poulets est remplie par les techniciens des différentes organisations (Cf. Annexe 3). Elle indique les résultats de la recherche des

salmonelles dans les fonds de boîte et sur les pédichiffonnettes. La fiche d'enregistrement sert également à noter les résultats zootechniques du lot (poids vif, indice de consommation, mortalité, saisies et déclassement) ainsi que les mesures annexes de lutte contre les salmonelles (nettoyage-désinfection, désinsectisation, dératisation,...). De plus, une appréciation globale du technicien est ajoutée quant à l'hygiène générale de l'élevage et à la qualité des soins qu'apporte l'éleveur.



## **B- Résultats**

### **1- Isolement des salmonelles**

#### **1.1 Sur les fonds de boîte**

##### **1.1.1 Recherche de salmonelles sur les fonds de boîte**

Les résultats des fonds de boîte sont reportés dans le tableau 11. Tous les sérotypes de salmonelles ont été recherchés.

L'analyse des fonds de boîte révèle s'il y a eu une contamination verticale ou pseudoverticale des poussins depuis les parquets de reproducteurs ou horizontale par l'intermédiaire du couvoir.

Il s'avère que sur 95 prélèvements de fonds de boîte analysés, 4 d'entre eux contenaient des salmonelles. Cela représente 4.2% des fonds de boîte. Les sérotypes retrouvés sont *Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* Enteritidis qui sont deux sérotypes pathogènes.

Parmi les prélèvements de fonds de boîte positifs, il y en a autant parmi les lots de poulets appartenant au groupe qui a reçu de la flore de barrière que ceux appartenant au groupe témoin.

En revanche, en pourcentage, d'après le tableau 12, 3.57% des fonds de boîte des groupes de poulets traités par la flore de barrière sont positifs, contre 5.13% des fonds de boîte des lots de poulets témoins. Cela s'explique par le fait que le nombre de prélèvements de fonds de boîte est plus élevé pour les lots de poulets traités (56 prélèvements) que pour les lots témoins (39 prélèvements).

La flore de barrière a été pulvérisée sur les poussins de un jour pour chacun des lots dits « traités ». Sur un lot, il a été néanmoins nécessaire de faire un rappel de flore dans l'eau de boisson car des problèmes de mortalité au démarrage sont survenus et ont donné lieu à un traitement antibiotique.

##### **1.1.2 Cas où les fonds de boîte sont positifs**

Parmi les lots ayant reçu la flore de barrière, on a retrouvé *Salmonella* Enteritidis sur les fonds de boîte de deux d'entre eux. Un des deux n'a pas développé de pathologie particulière. La pédichiffonnette de fin de lot est d'ailleurs négative. En revanche, le

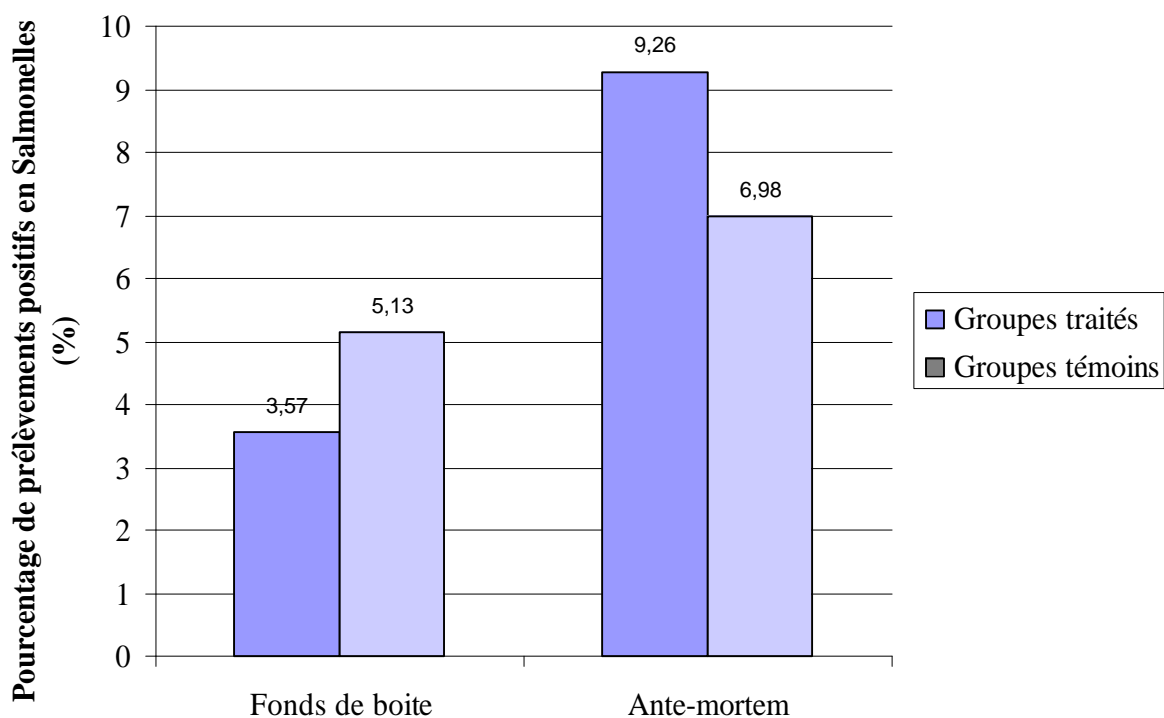
Tableau N°11 : Incidence des Salmonelles sur les fonds de boîte et les pédichiffonnettes

	Nombre de prélèvements positifs		Nombre de prélèvements négatifs		<b>Total</b>
	Fonds de boîte	Pédichiffonnette	Fonds de boîte	Pédichiffonnette	
Elevages traités	2	5	54	49	<b>110</b>
Elevages témoins	2	3	37	40	<b>82</b>
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>91</b>	<b>89</b>	<b>192</b>

Tableau N°12 : Résultats en pourcentages des prélèvements de fonds de boîte ou de pédichiffonnettes des élevages traités par la flore de barrière et des élevages témoins

	Pourcentage de prélèvements positifs		Pourcentage de prélèvements négatifs	
	Fonds de boîte	Pédichiffonnette	Fonds de boîte	Pédichiffonnette
Elevages traités	3.57	9.26	96.43	90.74
Elevages témoins	5.13	6.98	94.87	93.02

Figure N°3: Pourcentage de prélèvements positifs en Salmonelles sur les fonds de boîte et en ante-mortem dans les groupes témoins et les groupes traités par la flore de barrière



deuxième lot de poulets dont les fonds de boîte hébergeaient *Salmonella* Enteritidis a subi une mortalité au démarrage due à la salmonelle. Aucun traitement antibiotique n'a été entrepris et certains poulets sont morts. Néanmoins, en fin de lot, le prélèvement a été négatif ce qui signifie que la salmonelle n'était plus présente en portage.

## **1.2 Sur les pédichiffonnettes**

### **1.2.1 Recherche de salmonelles sur les pédichiffonnettes**

Les résultats des pédichiffonnettes de fin de lot sont reproduits dans le Tableau 11. La recherche de salmonelles à partir des pédichiffonnettes en ante mortem est un reflet du portage cæcal de salmonelles dans le lot de poulets pris en compte. On constate que sur 97 prélèvements analysés, quels que soient les groupes de lots de poulets considérés, on a retrouvé des salmonelles sur 8 d'entre eux ce qui correspond à 8.25% des prélèvements. Ces prélèvements ont révélé la présence de 7 sérotypes différents de salmonelles. Ces sérotypes appartiennent au groupe C, Typhimurium, Kottbus, Montevideo, Agona, Hadar et Indiana.

### **1.2.2 Cas où les pédichiffonnettes sont positives**

*Salmonella* Typhimurium a été retrouvée sur une pédichiffonnette réalisée sur un lot de pintades appartenant au lot témoin. Les fonds de boîte de ce lot étaient également contaminés par *Salmonella* Typhimurium. Si on excepte ce cas particulier, on peut voir qu'il s'agit de sérotypes peu pathogènes à la fois pour l'Homme et les poulets.

On s'aperçoit aussi que l'on retrouve plus de la moitié des lots ayant reçu la flore de barrière dans les lots positifs. Ainsi, parmi les 8 prélèvements positifs, 5 soit 62.5% font partie des lots traités par la flore de barrière, tandis que 3 prélèvements soit 37.5% ont été réalisés dans les élevages témoins.

Ainsi, d'une part, deux fois plus de prélèvements par pédichiffonnettes sont contaminées par des salmonelles par rapport aux fonds de boîte. D'autre part, plus de la majorité des pédichiffonnettes sur lesquelles ont été retrouvées des salmonelles font partie des lots de poulets ayant reçu la flore de barrière. De même, on peut voir sur la figure 3 que cela

représente en pourcentage, 9.26% de lots ayant reçu la flore de barrière contre 6.98% de lots témoins.

Parmi les salmonelles retrouvées sur les pédichiffonnettes en fin de lot, aucune d'entre elles n'a été retrouvée deux fois consécutivement dans le même élevage. En outre, il n'existe aucun élevage dont les chiffonnettes étaient positives deux fois à la suite alors que c'était un critère pour faire partie de l'étude.

### **1.2.3 Suivi d'un élevage dans le groupe témoin**

Il existe un élevage qui a été retenu dans l'étude à cause de la présence de *Salmonella* Indiana sur des chiffonnettes en fin de lot. Cet élevage a été placé dans le groupe témoin. Les analyses effectuées sur le premier lot de poulets sont négatives mais on retrouve *Salmonella* Indiana sur les pédichiffonnettes de la fin du deuxième lot. Cela prouve que la salmonelle réside encore dans l'élevage et a pu infecter les poulets.

### **1.2.4 Suivi d'un élevage dans le groupe traité**

De même, un lot de poulets traité par la flore de barrière est retrouvé porteur de *Salmonella* Kottbus en fin de lot lors de la première série de mises en place, alors que le résultat précédant le début de l'étude révélait aussi la présence de *Salmonella* Kottbus. Cependant, quel que soit le groupe, les prélèvements ante mortem d'aucun élevage n'a été deux fois consécutivement positif en salmonelle en fin de lot alors que c'était le critère principal pour faire partie de l'étude.

### **1.2.5 Cas de deux sites d'élevages appartenant au même éleveur**

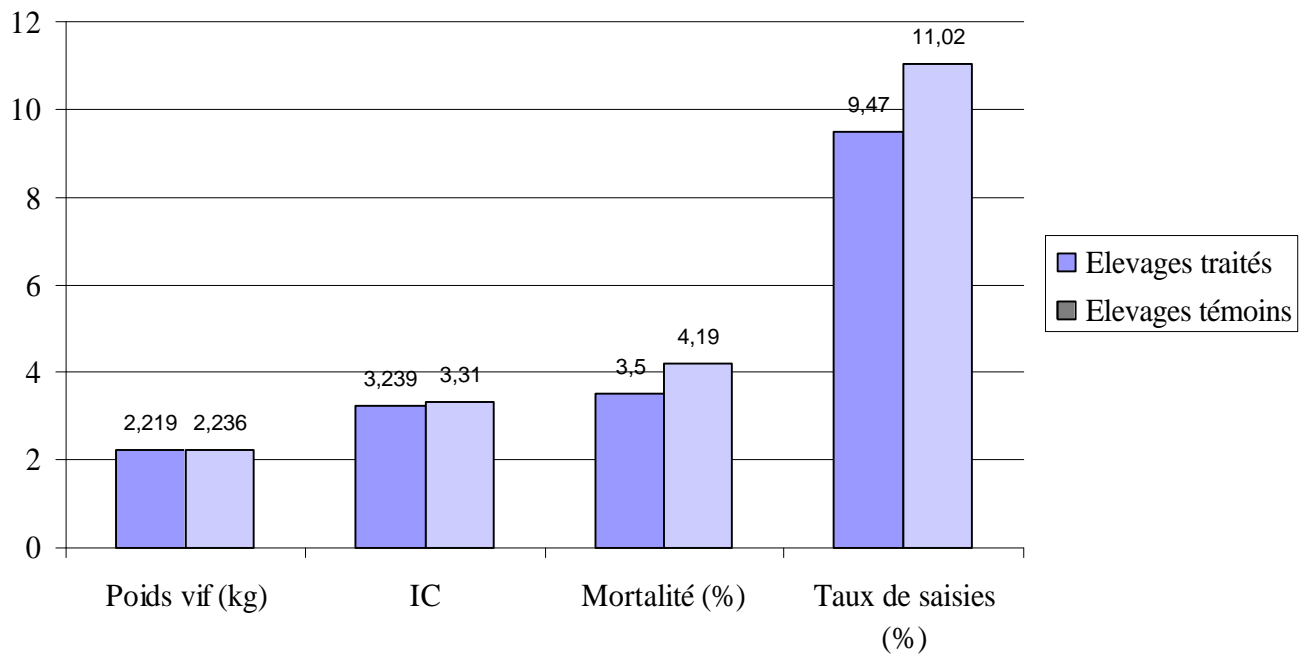
Parmi les organisations de production, l'une d'entre elles avait décidé d'inclure dans l'essai, deux sites d'élevage distincts appartenant au même éleveur. L'un des deux sites a été choisi pour faire partie du groupe de lots recevant la flore de barrière tandis que l'autre se trouve dans le groupe témoin. Il en résulte qu'aucun des lots ayant été élevés dans l'un ou l'autre des deux sites n'a été positif en salmonelles.

Tableau N°13 : Résultats techniques moyens dans les élevages traités par la flore de barrière et les élevages témoins

	Poids vif (kg)	IC	Mortalité (%)	Taux de saisies (%)
Elevages traités	2.219	3.239	3.50	9.47
Elevages témoins	2.236	3.310	4.19	11.02

IC : Indice de consommation = 
$$\frac{\text{Quantité d'aliment ingérée (kg)}}{\text{Poids vif (kg)}}$$

Figure N°4: Résultats techniques moyens dans les élevages traités par la flore de barrière et les élevages témoins



### **1.3 Résultats zootechniques**

D'après les résultats consignés dans le tableau 13, on s'aperçoit que les moyennes des poids vifs calculées pour les poulets issus des élevages ayant reçu la flore de barrière et ceux n'en ayant pas bénéficié sont sensiblement identiques à 10 grammes près.

Les autres résultats techniques des lots de poulets ayant reçu la flore de barrière ne sont pas significativement différents de ceux des lots témoins ( $P=0.05$ ).

En outre, les principaux motifs de saisie, quel que soit le groupe considéré, sont les ampoules du bréchet et les hématomes. Ce sont deux motifs qui ne sont pas en relation avec les salmonelles. Ils sont la conséquence du mode d'élevage de ces poulets et de leur attrapage en vue de les conduire à l'abattoir.

## **C- Discussion**

Durant la période pendant laquelle s'est déroulée l'étude, la prévalence des lots positifs en salmonelles en ante mortem est faible quel que soit le groupement de producteurs. Elle s'élève à 8.25% sur un total de 69 lots analysés. L'année dernière, à la même époque, la prévalence était supérieure à environ 25%. En effet, un lot de poulets sur quatre était positif en salmonelles lors du contrôle sur pédichiffonnettes en ante mortem. On peut essayer d'expliquer ce phénomène en émettant plusieurs hypothèses.

Tout d'abord, l'hiver 2001-2002 en Aquitaine a été particulièrement froid et sec. Ces conditions climatiques rigoureuses ont pu défavoriser la survie des agents pathogènes et notamment les bactéries. Ainsi, le microbisme général des élevages a diminué. Au contraire, une succession de saisons humides et douces peuvent favoriser la survie des bactéries dans le milieu. On assiste donc à une certaine cyclicité des infections par les salmonelles.

Ensuite, les éleveurs dont les lots de poulets sont positifs en salmonelles sur les pédichiffonnettes sont avertis de leur situation. Ils doivent mettre en œuvre des mesures d'hygiène rigoureuses, plus particulièrement lorsque *Salmonella* Enteritidis ou Typhimurium sont en cause. Il s'agit le plus souvent d'un renforcement de la procédure de nettoyage et de désinfection pendant le vide sanitaire. Ce peut aussi être une double désinfection.

Enfin, la faible prévalence des portages de salmonelles en fin de lot peut être expliquée par le contexte économique dans lequel s'est déroulée l'étude. En effet, la crise avicole, moins marquée tout de même dans les productions labels, a sans doute contribué à la situation décrite. La crise a entraîné d'une part, du report dans l'enlèvement des poulets et d'autre part, une augmentation de la durée du vide sanitaire pouvant aller jusqu'à 8 semaines. Cette deuxième conséquence a eu pour effet de diminuer la pression microbienne générale dont celle des salmonelles.

C'est pour ces différentes raisons que l'on assiste à une situation paradoxale. Le nombre de lots de poulets positifs en salmonelles en ante mortem est faible. Mais, les rares cas positifs ont été détectés plus fréquemment sur les lots traités par la flore de barrière que sur les lots témoins. Ainsi, on arrive au résultat suivant : les lots traités par la flore de barrière sont plus souvent positifs que les lots témoins.

On ne peut pas, par conséquent, tirer une conclusion définitive quant à l'efficacité de la flore de barrière sur la diminution du portage des salmonelles.

En outre, la flore de barrière n'apporte pas de différence significative en ce qui concerne les résultats zootechniques.

Les résultats obtenus au cours de cette étude sont décevants puisque les poulets des lots traités par la flore de barrière ont été plus souvent porteurs de salmonelles que les lots témoins. Il est toutefois difficile d'apprécier l'efficacité de la flore de barrière sur le portage de salmonelles dans cet essai. On ne peut tout de même pas parler d'inefficacité. Cela est dû aux raisons évoquées précédemment.

Malgré tout, on peut dire que l'utilisation d'une flore de barrière ne diminue pas l'incidence du portage de salmonelles. Une conclusion définitive pourra être donnée à l'issue de la seconde année de l'essai.

Cependant, dans un contexte différent où la prévalence des lots positifs en salmonelles serait plus élevée, on peut se demander quels sont les avantages et les inconvénients de l'application d'une flore de barrière sur des poulets labels.

Tout d'abord, l'administration de la flore de barrière au couvoir n'est pas fastidieuse. Elle ne nécessite aucun équipement spécifique. C'est une pulvérisation de gouttes grossières qui peut se réaliser avec un pulvérisateur ordinaire. Il s'agit juste de calculer un volume de solution à pulvériser suffisant, afin que l'ensemble des poulets en reçoivent une quantité adéquate.

Par contre, ce mode d'administration par pulvérisation peut représenter un inconvénient l'hiver. En effet, les poussins subissent différentes manipulations juste après l'éclosion. Ils sont triés, vaccinés et parfois sexés. Le plus souvent, ils reçoivent une injection de vaccin Marek puis sont vaccinés contre la bronchite infectieuse par pulvérisation fine. Certains poulets, suivant la demande des groupements sont vaccinés contre la coccidiose par une nouvelle pulvérisation. Cette deuxième pulvérisation est effectuée une fois que les poussins sont quasiment secs. En ajoutant la pulvérisation de la flore de barrière, on mouille une troisième fois les poussins. Il faut ensuite que ceux-ci soient livrés dans les élevages alors qu'ils sont secs. C'est pourquoi, en hiver, il est difficile compte tenu des horaires d'éclosion et des délais de livraison à respecter, d'acheminer des poussins parfaitement secs. De plus, chacune des manipulations et des vaccinations est une source de stress qui peut entraîner un mauvais démarrage des poussins surtout si les conditions environnementales de l'élevage ne sont pas optimales (microbisme, température,



ventilation,...). Il faudrait donc pouvoir mélanger la flore de barrière avec le vaccin contre la coccidiose et pulvériser l'ensemble sur les poussins.

L'administration de la flore de barrière ne peut se généraliser que si le coût d'une telle mesure est compatible avec le contexte économique de la production. Durant cette étude, le coût d'une dose d'Aviguard© était de 0.0183 euros, soit environ 12 centimes de franc. Par comparaison, le coût d'une dose de vaccin contre la bronchite infectieuse est d'environ 7 centimes de franc. L'application de cette flore de barrière s'avère donc être assez onéreuse si la pratique est systématique. En revanche, dans les élevages où la présence de *Salmonella* Enteritidis ou Typhimurium est redondante sur tous les lots, le coût de la flore de barrière peut être justifié.

Mais il n'en demeure pas moins que les flores de barrière ne peuvent se substituer aux mesures d'hygiène qu'il faut renforcer en cas de positivité en fin de lot. Les flores de barrière n'agissent pas en tuant ou en empêchant la prolifération des salmonelles. Les flores de barrière occupent les mêmes niches écologiques que les bactéries pathogènes par une colonisation précoce du contenu intestinal et cæcal. Elles s'opposent ainsi à leur implantation. Toutefois, ces bactéries pathogènes sont présentes dans l'environnement. Il faut donc que l'utilisation des flores de barrière soit combinée à des procédures de nettoyage et de désinfection strictes.

Dans le système de production des poulets labels dans le Sud Ouest, les cabanes mobiles sont un moyen de diminuer le microbisme grâce à leur déplacement d'un endroit souillé vers un endroit sain à chaque bande de poulets. Par contre, un certain nombre de ces cabanes sont en bois ce qui rend leur parois difficilement nettoyables et désinfectables. Dans ce cas, les flores de barrière peuvent être un moyen d'éviter que les poulets ne s'infectent avec ces salmonelles. De plus, les paramètres environnementaux sont peu ou pas maîtrisés dans une production label. Une réinfection par des salmonelles reste possible, même si la flore de barrière a évité une colonisation précoce. Les poulets seront donc porteurs sains.

Bien que les résultats obtenus ne soient pas ceux escomptés, il serait intéressant d'élargir le champ de l'étude. En effet, au lieu de restreindre l'étude à la diminution du portage des salmonelles, on pourrait aussi se pencher sur l'influence des flores de barrière sur le portage d'autres bactéries pathogènes. En effet, les flores de barrière doivent être capables n'inhiber l'implantation ou le développement d'autres bactéries pathogènes, en particulier *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* et *Campylobacter*. Il faudrait donc, sur le long

terme, voir si l'application des flores de barrière diminue l'incidence de l'entérite nécrotique ou de colibacillose. On aurait aussi pu ajouter un paramètre sur la fiche d'enregistrement. Il s'agit de la mortalité à dix jours. Cet élément est le reflet de la qualité du démarrage des poulets. Les salmonelloses cliniques se déclarent principalement durant les dix premiers jours de vie du poulet. On peut dès lors connaître l'impact des flores de barrière sur les infections bactériennes de démarrage.

## **CONCLUSION**

Les résultats obtenus ne permettent pas de conclure que l'application d'une flore de barrière sur des poulets labels est inefficace. De plus, les bénéfices réels ne peuvent être appréciés que sur du long terme. Il est donc nécessaire de poursuivre l'étude durant une année supplémentaire.

Néanmoins, sans une bonne maîtrise sanitaire globale, les flores de barrière seront inefficaces. Elles ne doivent pas être utilisées en remplacement des mesures de prophylaxie sanitaire.

Sur le principe, le recours aux flores de barrière constituent une approche de choix en ce qui concerne les méthodes alternatives à l'utilisation des antibiotiques dans les productions de volailles et plus particulièrement les volailles labels qui ont une certaine image de qualité et de sécurité à respecter.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ◆ALASSANE K., Les garanties de détection offertes par la sérologie ont été étudiées. La semaine des filières, 1301 :27oct2001
  
- ◆ANONYME, Arrêté du 26 octobre 1998 relatif à la lutte contre les infections à *Salmonella* Enteritidis ou *Salmonella* Typhimurium dans les troupeaux de reproduction de l'espèce *Gallus gallus* en filière chair. J.O. du 8 décembre 1998
  
- ◆ANONYME, Arrêté du 26 octobre 1998 relatif à la lutte contre les infections à *Salmonella* Enteritidis ou *Salmonella* Typhimurium dans les troupeaux de l'espèce *Gallus gallus* en filière œufs de consommation. J.O. du 8 décembre 1998
  
- ◆ANONYME, Arrêté du 26 octobre 1998 relatif aux modalités de la participation financière de l'Etat à la lutte contre les infections à *Salmonella* Enteritidis ou *Salmonella* Typhimurium dans les troupeaux de reproduction de l'espèce *Gallus gallus* en filière chair. J.O. du 8 décembre 1998
  
- ◆ANONYME, Arrêté du 26 octobre 1998 relatif aux modalités de la participation financière de l'Etat à la lutte contre les infections à *Salmonella* Enteritidis ou *Salmonella* Typhimurium dans les troupeaux de l'espèce *Gallus gallus* en filière ponte d'œufs de consommation. J.O. du 8 décembre 1998
  
- ◆AVRIL J.L., DABERNAT H., DENIS F. et MONTEIL H., *Salmonella* Chap. XIII In : Bactériologie clinique Ed. Marketing pp160-177,1988
  
- ◆BAILEY J.S., Factors affecting microbial competitive exclusion in poultry. Food technology 7:88-92,1987
  
- ◆BAILEY J.S., BLANKENSHIP L.C. STERN N.J., COX N.A. and Mac HAN F., Effect of anticoccidial and antimicrobial feed additives on prevention of *Salmonella* colonization of chicks treated with anaerobic cultures of chicken feces. Avian diseases 32:324-329,1988
  
- ◆BAILEY J.S., CASON J.A. and COX N.A., Effect of *Salmonella* in young chicks on competitive exclusion treatment. Poultry science 77:394-399,1998
  
- ◆BAILEY J.S., COX N.A., BLANKENSHIP L.C. and STERN N.J., Hatchery contamination reduced the effectiveness of competitive exclusion treatments to control *Salmonella* colonization of broiler chicks. Poultry science 71 (suppl 1):46,1992

- ◆BAILEY J.S., COX N.A., STERN N.J. and ROBACH M.C., Reduction of Salmonellae colonization in commercial broilers with a mucosal competitive exclusion treatment. Poultry science **73**: 123,1994
  
- ◆BARNES E.ME, IMPEY C.S. and STEVENS B.J.H., Factors affecting the incidence and anti-Salmonella activity of the anaerobic caecal flora of the young chick. Journal of hygiene, Cambridge **82**:263-83,1979
  
- ◆BARROW P.A., In: Salmonella in domestic animals Ed. CAB International pp245-263, 2000
  
- ◆BERCHE P., GAILLARD J.L. et SIMONET M., Bactériologie, bactéries des infections humaines Ed. Flammarion Chap 6 pp 77-92,1988
  
- ◆BLANKENSHIP L.C., BAILEY J.S., COX N.A., SREN N.J., BREWER R. and WILLIAMS O., Two-step mucosal competitive exclusion flora to diminish salmonellae in commercial broiler chickens. Poultry science **72**:1667-72,1993
  
- ◆BOLDER N.M. and PALMU L., Effect of antibiotic treatment on competitive exclusion against *Salmonella enteritidis* PT4 in broilers. Veterinary record 30 sep:350-351,1995
  
- ◆BOUVET P. et GRIMONT P., Données de surveillance du Centre national de Référence des *Salmonella* et *Shigella* France 1997 In : Bulletin Epidémiologique annuel 192p, Réseau national de santé publique Ed. Saint Maurice, 1999
  
- ◆BRISABOIS A., GAUCHARD F. et MOURY F., Epidémiosurveillance des salmonelles d'origine non humaine. Bulletin épidémiologique de l'AFSSA, **2** :5-6,2001
  
- ◆BRUGERE-PICOUX J. et SILIM A., Manuel de pathologie aviaire Eds. BRUGERE-PICOUX J. et SILIM A. Imprimerie du cercle des élèves ENV d'Alfort, Paris, France, pp 225-235,1992
  
- CASON J.A., COX N.A. and BAILEY J.S., Transmission of *Salmonella* Typhimurium during hatching of broiler chicks. Avian diseases **38**: 583-588, 1994
  
- ◆CHATENET X., La vaccination est utile pour les pondeuses mais insuffisante en reproduction. La semaine des filières **984**:3,2000
  
- ◆COLIN P., Salmonella et qualité des produits avicoles. In: BRUGERE-PICOUX J. et SILIM A.,Manuel de pathologie aviaire Ed. Chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, pp 371-373, 1992
  
- ◆COLOE P.J. BAGUST T.J. and IRELAND L., Development of normal gastrointestinal microflora of specific pathogen-free chickens. Journal of hygiene, Cambridge, **92**:79-87,1984
  
- ◆CORRIER D.E., BYRD J.A., HUME M.E., NISBET D.J. and STANKER L.H., Effect of simultaneous or delayed competitive exclusion treatment on the spread of *Salmonella* in chicks. J. Appl. Poultry Res. **7**:132-137,1998

- ♦CORRIER D.E., HINTON A. Jr, HARGIS B. and DELOACH J.R., Effect of a used litter from floor pens of a adult broiler on *Salmonella* colonization of broiler chicks. Avian diseases **36**:897-902,1992
  
- ♦CORRIER D.E., HOLLISTER A.G., BEIER R.C., SCANLAN C.M., HARGIS B.M. and DELOACH J.R., Resistance against *Salmonella enteritidis* cecal colonization in Leghorn chicks by vent lip application of cecal bacteria culture. Poultry science **73** (suppl1):132,1994(a)
  
- ♦CORRIER D.E., HOLLISTER A.G., NISBET D.J., SCANLAN C.M., BEIER R.C. and DELOACH J.R., Competitive exclusion of *Salmonella enteritidis* in Leghorn chicks: comparison of treatment by crop gavage, drinking water, spray or lyophilised alginate beads. Avian diseases **38**:297-303,1994(b)
  
- ♦CORRIER D.E., NISBET D.J., SCANLAN C.M., HOLLISTER A.G., CALDWELL D.J., THOMAS L.A., HARGIS B.M., TMKINS T. and DELOACH J.R., Treatment of commercial broiler chickens with a characterized culture of cecal bacteria to reduce salmonellae colonization; Poultry science **74**:1093-101,1995(a)
  
- ♦CORRIER D.E., NISBET D.J., SCANLAN C.M., HOLLISTER A.G. and DELOACH J.R., Control of *Salmonella typhimurium* colonization in broiler chicks with continuous-flow characterized mixed culture of caecal bacteria. Poultry science **74**:916-24,1995(b)
  
- ♦COX N.A., BAILEY J.S., BLANKENSHIP L.C and GILDERSLEEVE R.P., *In ovo* administration of a competitive exclusion culture treatment to broiler embryos. Poultry science **71**:1781-1784,1992
  
- ♦COX N.A., BAILEY J.S., BLANKENSHIP L.C., MEINERSMANN R.J., STERN J.N. AND McHAN F., Fifty percent colonization dose for *Salmonella typhimurium* administered orally and intracloacally to young broiler chicks. Poultry science **69**:1809-1812, 1990(a)
  
- ♦COX N.A., BAILEY J.S., MAULDIN J.M. and BLANKENSHIP L.C., Presence and impact of *Salmonella* contamination in commercial broiler hatcheries. Poultry science **69**:1606-1609,1990(b)
  
- ♦COX N.A., BERRANG M.E. and CASON J.A., *Salmonella* penetration of egg shells and proliferation in broiler hatching eggs-a review. Poultry science **79**:1571-1574,2000
  
- ♦DOBROGOSZ W.J. and BLACK B.L., Delivery of viable *Lactobacillus reuteri* to the gastrointestinal tract of poultry. Poultry science **70**(suppl 1):158,1991
  
- ♦EDENS F.W., PARKHURST C.R., CASAS I.A. and DOBROGOSZ W.J., Principles of *ex ovo* competitive exclusion and *in ovo* administration of *Lactobacillus reuteri*. Poultry science **76**:179-196,1997
  
- ♦EUZEBY J.P., Les salmonellas et les salmonelloses aviaires dues aux sérovares ubiquistes. Revue de médecine vétérinaire **148**(1):61-76,1997

- ♦FRANCHINI A., MANFREDA G., FABRIS G., GAVAZZI L. and STONFER M., Field evaluation of Aviguard ® in the reduction of *Salmonella* infection prevalence in commercial broiler flocks, XXI World's poultry congress, Montreal, August 20-25, 2000
- ♦GAST R.K. and HOLT P.S., Persistence of *Salmonella* Enteritidis from one day of age until maturity in experimentally infected layer chickens. Poultry science **77**:1759-62,1998
- ♦GLEDEL J., Le genre Salmonella In: Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J. Microbiologie alimentaire Tome 1 TecDoc pp 61-77,1996
- ♦GOREN E., DE JONG W.A., DOORNENBAL P., BOLDER N.M., MULDER R.W.A.W. and JANSEN A., Reduction of *Salmonella* infection of broilers by spray application of intestinal microflora: a longitudinal study. Veterinary quaterly **10**:249-255,1988
- ♦GOREN E., DE JONG W.A., DOORNENBAL P., KOOPMAN J.P. and KENNIS H.M., Protection of chicks against *Salmonella* infection induced by spray application of intestinal microflora in the hatchery. Veterinary quaterly **6**:73-9,1984
- ♦GRIMONT P.A.D., GRIMONT F. et BOUVET P.J.M., Salmonella In Manuel de bactériologie clinique FREYNEY J., RENAUD F., HANSEN W. et BOLLET C. Vol2, 2<sup>ème</sup> édition Ed. Elsevier, pp1017-42,1994
- ♦GUSTAFSON R.H. and KOBLAND J.D., Factors influencing *Salmonella* shedding broiler chickens. Journal of hygiene, **92**:385-394,1984
- ♦HAKKINEN M. and SCHNEITZ C., Efficacy of a commercial competitive exclusion product against a chicken pathogenic *Escherichia coli* O157:H7. Veterinary record **139**:139-41,1996
- ♦HAKKINEN M. and SCHNEITZ C., Efficacy of a commercial competitive exclusion product against *Campylobacter jejuni*. British Poultry Science **40**:619-21,1999
- ♦HINTON A. Jr, CORRIER D.E., ZIPRIN R.L., SPATES G.E. and DELOACH J.R., Comparison of the efficacy of cultures of cecal anaerobes as inocula to reduce *Salmonella typhimurium* colonization in chicks with or without dietary lactose. Poultry science **70**:67-73,1991
- ♦HINTON M. and LINTON A.H., Control of *salmonella* infections in broiler chickens by the acid treatment of their feed. Veterinary record **123**:416-21,1988
- ♦HINTON M., PEARSON G.R., THREFALL E.J., ROWE B., WOODWARD M. and WRAY C., Experimental *Salmonella enteritidis* infection in chicks. Veterinary record **124**:223,1989
- ♦HOFACRE C.L., FROYMAN R. GAUTRIAS B., GEORGE B., GOODWIN M.A. and BROWN J., Use of Aviguard © and other intestinal bioproducts in experimental *Clostridium perfringens* associated necrotizing enteritis in broiler chickens. Avian diseases **42**:579-584,1998

- ♦HOLT P.S., GAST R.K., PORTER R.E. Jr and STONE H.D., Hyporesponsiveness of the systemic and mucosal humoral immune systems in chickens infected with *Salmonella enterica* serovar enteritidis at one day of age. Poultry science **78**:1510-17,1999
  
- ♦HUMBERT F., Les alternatives de traitement et de prévention des salmonellas. L'aviculteur **556**:49-50,1994
  
- ♦HUMBERT F., *Salmonella* Enteritidis peut-elle être transmise verticalement au poussin ? Filières avicoles janvier 36,1995
  
- ♦HUMBERT F. et COTTIN S., Flores de barrière : une des armes de la panoplie anti-salmonelles. Filières avicoles **547**:141,1993
  
- ♦HUMBERT F., LALANDE F., L'HOSPITALIER R., SALVAT G. and BENNEJEAN G., Effect of four antibiotics additives on the *Salmonella* contamination of chicks protected by an adult caecal flora. Avian pathology **20**:577-84,1991
  
- ♦HUMBERT F. et SALVAT G., Risques de transmission des salmonelles en aviculture : détection et prévention en Europe. Rev. Sci. Tech. Off. int. Epiz., **16**:83-90,1997
  
- ♦HUMPHREY T.J., Public-health aspects of *Salmonella* infection In: Salmonella in domestic animals Ed. CAB International pp245-263, 2000
  
- ♦HUMPHREY T.J., Public-health implications of the infection of egg-laying hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4. World's poultry science journal 46:5-13, 1990
  
- ♦HUME M.E., BYRD J.A., STANKER L.H. and ZIPRIN R.L., Reduction of caecal *Listeria monocytogenes* in Leghorn chicks following treatment with a competitive exclusion culture (PREEMPT®). Letters in Applied Microbiology **26**:432-436,1998
  
- ♦KALDHUSAL M., SCHNEITZ C., HOFSHAGEN M. and SKJERVE E., Reduced incidence of *Clostridium perfringens* associated lesions and improved performance in broiler chickens treated with normal intestinal bacteria from adult fowl. Avian diseases **45**:149-156,2001
  
- ♦KINDE H., READ D.H., CHIN R.P., BICKFORD A.A., WALKER R.L., ARDANS A., BREITMEYER R.E., WILLOUGHBY D., LITTLE H.E., KERR D. and GARDNER I.A., *Salmonella enteritidis*, phage type 4 infection in a commercial layer flock in Southern California: a bacteriologic and epidemiological findings. Avian diseases **40**:665-671,1996
  
- ♦LA RAGIONE R.M. and WOODWARD M.J., Competitive exclusion strategies for the control of bacterial pathogens in poultry. Research in veterinary science **70**(supplA):29,2001
  
- ♦LAFONT J.P., BREE A., NACIRI M., YVORE P., GUILLOT J.F. and CHASLUS-DANCLA, Experimental study of some factors limiting competitive exclusion of *Salmonella* in chickens. Research in veterinary science **34**:16-20,1983



- ◆LE BOUCHER G., Salmonelles : le dépistage obligatoire bientôt en place. Filières avicoles **607**:45-47,1999
  
- ◆LE MINOR L. et VERON M., Bactériologie médicale 2<sup>ème</sup> édition Ed. Flammarion pp 411-427,1990
  
- ◆LECOANET J., Salmonelloses aviaires In: BRUGERE-PICOUX J. et SILIM A.,Manuel de pathologie aviaire Ed. Chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, pp 225-35, 1992
  
- ◆LLOYD A.B., CUMMING R.B. and KENT R.D., Prevention of *Salmonella typhimurium* infection in poultry by pre-treatment of chickens and poults with intestinal extracts. Australian veterinary journal **53**:82-87,1977
- ◆Mc ILROY S.G., Mc CRACKEN R.M., NEIL S.D. and O'BRIEN J.J., Control, prevention and eradication of *Salmonella enteritidis* infection in broiler and broiler breeder flocks. Veterinary record **125**:545-548, 1989
  
- ◆MEAD G.C., Prospects for competitive exclusion treatment to control Salmonellas and other food borne pathogens in poultry. The veterinary journal **159**:111-123,2000
  
- ◆METHNER U., BERNDT A. and STEINBACH G., Combination of competitive exclusion and immunization with an attenuated live Salmonella vaccine strain in chickens. Avian diseases **45**:631-638,2001
  
- ◆NISBET D.J., TELLEZ G.I., LOWRY V.R., ANDERSON R.C., GARCIA G., NAVA G., KOGUT M.H., CORRIER D.E. and STANKER L.H., Effect of a commercial competitive exclusion culture (PREEMPT © ) on mortality and horizontal transmission of *Salmonella gallinarum* in broiler chicken. Avian diseases **42**:651-656,1998
  
- ◆NUOTIO L., SCHNEITZ C., HALONEN U. and NURMI E., Use of competitive exclusion to protect newly-hatched chicks against intestinal colonisation and invasion by *Salmonella* Enteritidis PT4. British poultry science **33**:775-779,1992
  
- ◆NURMI E. and RANTALA M., New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. Nature **241**:210-211,1973
  
- ◆PADRON M.N., *Salmonella typhimurium* outbreak in broiler chicken flocks in Mexico. Avian diseases **34**:221-223,1990
  
- ◆PALMU L. and CAMELIN I., The use of competitive exclusion in broilers to reduce the level of *Salmonella* contamination on the farm and at the processing plant. Poultry science **76**:1501-1505,1997
  
- ◆PIVNICK H. and NURMI E., The Nurmi concept and its role in the control of Salmonellae in poultry In: Developments in food microbiology-1 Ed. R. Davies pp 41-70 London, Applied Science Publishers, 1982
  
- ◆POPPE C. Salmonella infections in the domestic fowl. In Salmonella in domestic animals C. Wray and A. Wray Ed. CAB International pp107-132,2000

- ◆PROTAIS J., COLIN P., BEAMONT C., GUILLOT J.F., LANTIER F., PARDON P. et BENNEJEAN G., Line differences in resistances to *Salmonella* Enteritidis PT4 infection. *British Poultry Science*. **37**: 329-339,1996
- ◆PROUX K., GUITTET M., HUMBERT F. et DANGUY DES DESERTS R., Diagnostic sérologique des *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium*, *L'aveiculteur* **556**:48,1994
- ◆REYNOLDS D.J., DAVIES R.H., RICHARDS M. and WRAY C., Evaluation of combined antibiotic and competitive exclusion treatment in broiler breeder locks infected with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Avian pathology* **26**:83-95,1987
- ◆SCANLAN C.M., Genus *Salmonella* chap11 In : Introduction to veterinary bacteriology Ed. Iowa Press University Press pp92-96,1988
- ◆SCHNEITZ C. and MEAD G., Competitive exclusion. In: *Salmonella in domestic animals* C. Wray and A. Wray Ed. CAB International pp 301-322,2000
- ◆SCHNEITZ C. and NUOTIO L., Efficacy of different microbial preparations for controlling *Salmonella* colonization in chicks and turkey poults by competitive exclusion. *British poultry science* **33**:207-211,1992
- ◆SCHNEITZ C., NUOTIO L., KIISKINEN T. and NURMI E., Pilot-scale testing of the competitive exclusion method in chickens, *British poultry science* **32**:881-884,1991
- ◆SEO K.H., HOLT P.S., GAST R.K. and HOFACRE C.L., Elimination of early *Salmonella* Enteritidis infection after treatment with competitive exclusion culture and enrofloxacin in experimentally infected chicks. *Poultry science* **79**.1408-13,2000
- ◆SEUNA E., NAGARAJA K.V. and POMEROY B.S., Gentamicin and bacterial culture (Nurmi culture) treatments either alone or in combination against experimental *Salmonella hadar* infection in turkey poults. *Avian diseases* **29**:617-629,1985
- ◆SNOEYENBOS G.H., WEINACK O.M. and SMYSER C.F., Protecting chicks and poults from salmonellae by oral administration of "normal" gut microflora. *Avian diseases* **22**:273-287,1978
- ◆SNOEYENBOS G.H., WEINACK O.M. and SMYSER C.F., Further studies on competitive exclusion for controlling salmonellae in chickens. *Avian diseases* **23**:904-914,1979
- ◆SNOEYENBOS G.H. and WILLIAMS J.E., Salmonellosis. In: CALNEK B.W., H. John BARNES, C.W. BEARD, W.M. REID and H.W. YODER Jr, *Diseases of poultry* 9<sup>th</sup> edition. Ed. Iowa State University Press, Wolfe publishing Ltd Chap 3, pp 72-137, 1991
- ◆SOERJADI A.S., DRUIT J.H., LLOYD A.B. and CUMMING R.B., Effect on environmental temperature on susceptibility of young chickens to *Salmonella* Typhimurium. *Australian Veterinary Journal* **55**:413,1979
- ◆SOERJADI A.S., RUFNER R., SNOEYENBOS G.H. and WEINACK O.M., Adherence of Salmonellae and native gut microflora to the gastrointestinal mucosa of chicks; *Avian diseases* **26**:576-84,1982

- ◆SOERJADI A.S., STEHMAN S.M., SNOEYENBOS G.H., WEINACK O.M. and SMYSER C.F., Some measurements of protection against paratyphoid *Salmonella* and *Escherichia coli* by competitive exclusion in chickens. Avian diseases **25**: 706-12,1981
- ◆STAVRIC S., Microbial colonization control of chickens intestine using defined cultures. Food technology **41**:93-8,1987
- ◆STERN N.J., COX N.A., BAILEY J.S., BERRANG M.E. and MUSGROVE M.T., Comparison of mucosal competitive exclusion and competitive exclusion treatment to reduce *Salmonella* and *Campylobacter* spp colonization in broiler chickens. Poultry science **80**:156-160,2001
- ◆VIENOT E., Les Salmonelles reculent en poulet de chair. Filières avicoles **629**:86-87,2001(a)
- ◆VIENOT E., LE CLEZIO : de bonnes techniques et un maximum de contrôles. Filières avicoles **629**:89-90,2001(b)
- ◆VIENOT E., RVE : bien découper en 10 leçons. Filières avicoles **629**:93-95,2001(c)
- ◆WEINACK O.M., SNOEYENBOS G.H., SMYSER C.F. and SOERJADI A.S., Reciprocal competitive exclusion of *Salmonella* and *Escherichia coli* by native intestinal microflora of the chicken and turkey. Avian diseases **26**:585-595,1982
- ◆WEINACK O.M., SNOEYENBOS G.H., SOERJADI-LIEM A.S. and SMYSER A.S., Influence of temperature, social and dietary stress on development and stability of protective microflora in chickens against *Salmonella* Typhimurium. Avian diseases **29**:1177-83,1985
- ◆WIERUP M., WORLD-TROELL M., NURMI E. and HAKKINEN M., Epidemiological evaluation of the *Salmonella* controlling effect of a nationwide use of a competitive exclusion culture in poultry. Poultry science **67**:1026-1033,1988
- ◆XU Y.M., PEARSON G.R. and HINTON M., The colonization of the alimentary tract and visceral organs of chicks with salmonellas following challenge via the feed: bacteriological findings. British veterinary journal **144**:403-10,1988

## Annexe N°1 : Procédure de prélèvement dans les élevages

### Technique de prélèvement :

- Enfiler des gants en latex stériles
- Enfiler à chaque pied un pédissac
- Une fois sur les lieux de prélèvement, enfiler une charlotte à chaque pied ou seulement une charlotte sur un pied selon le cas

### Echantillonnage :

- Utiliser une charlotte pour 1000 poulets mis en place
- Réaliser au minimum 4 charlottes et au maximum 8 charlottes
- Pour le prélèvement, se déplacer d'un bout à l'autre du bâtiment par des allers-retours en longeant les chaînes d'alimentation et les abreuvoirs et en choisissant de préférence les zones les plus souillées par les fientes
- Trois cas de figure :
  - o Cabanes mobiles de 60 m<sup>2</sup> de surface : avec une charlotte par pied, prélever dans le maximum de cabanes (8 maximum)
  - o Bâtiment fixe de 400 m<sup>2</sup> : enfiler une charlotte par pied, traverser le bâtiment dans sa longueur, changer les charlottes pour le retour
  - o Autres types de bâtiment : le nombre de charlottes utilisées est fonction du nombre d'animaux

## Annexe N°2 : Principales étapes du protocole de recherche des Salmonelles en laboratoire

### 1- Pré-enrichissement en milieu non sélectif :

- Ensemencement du fond de boîte ou de la pédichiffonnette (prise d'essai) dans un volume d'eau peptonée correspondant à 10% de la masse de la prise d'essai.
- Incubation durant 24h à 37°C

### 2- Enrichissement en milieux sélectifs liquides

- Transférer 1mL de la culture obtenue dans un tube contenant 10mL de bouillon Rappaport-Vassiliadis et 0.1mL de la culture dans un tube contenant 10 mL de bouillon sélénite-cystine
- Incubation à 42°C pendant 18 à 24h

### 3- Isolement et identification

- Ensemencer avec une anse à partir de la culture dans le milieu Rappaport-Vassiliadis la surface d'une gélose XLT4. Opérer de même pour la culture du milieu au sélénite-cystine avec une gélose Hektoen
- Incubation à 37°C pendant 24 à 48h
- Identification à partir de différents caractères biochimiques

### 4- Sérotypage

- Recherche par agglutination sur lame des antigènes « O », « Vi » et « H »

Annexe N°3 : Modèle de la fiche d'enregistrement

ARVOL 2001-2002

FLORE DE BARRIERE

<b>FICHE D'ENREGISTREMENT</b>
-------------------------------

**Lot Témoin**  
**Lot Essai (1)**

Nom de l'organisation de production :

Nom et adresse de l'éleveur :

Date de mise en place des poussins :

Souche :

Mode d'administration de la flore de barrière (couvoir-élevage) **(1)** :

Appréciation globale du technicien sur le bâtiment et son environnement, avant la mise en place des poussins :

Résultat du contrôle ante-mortem de la bande précédente :

Contrôle des fonds de boîte :

Contrôle ante-mortem :

Résultats zootechniques de la bande :

Poids moyen vif :

IC :

Mortalité :

Taux de déclassement :

Causes principales de déclassement :

NOM : CASTAGNOS\_

PRENOM : STEPHANIE

TITRE :

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'EFFICACITE D'UNE FLORE DE BARRIERE INDEFINIE (AVIGUARD©) CONTRE LES SALMONELLES SUR DES POULETS LABELS DU SUD-OUEST.

RESUME :

L'auteur présente une synthèse bibliographique sur les Salmonelles et les flores de barrière. Puis, elle présente les résultats d'une étude visant à apprécier l'efficacité d'une flore de barrière indéfinie contre les contaminations salmonelliques chez le poulet label dans le Sud-Ouest.

69 élevages appartenant à 4 organisations de production ont été inclus dans l'étude sur des critères de positivité en Salmonelles à partir de contrôles de fin de lot et ont été répartis en 2 groupes. Les élevages d'un groupe reçoivent des poulets à qui on a administré de la flore de barrière tandis que les autres servent de témoin.

3.57% des fonds de boîte issus des poulets ayant été traités avec la flore de barrière à un jour sont positifs en Salmonelles et 9.26% des pédichiffonnettes de fin de lot contre, respectivement, 5.13% des fonds de boîte et 6.98% des pédichiffonnettes sur les lots témoins. Les résultats zootechniques des deux groupes ne sont pas significativement différents.

Ces résultats marqués par la faible prévalence des contaminations par les Salmonelles (8.25%), ne permettent pas de conclure quant à l'efficacité de la flore de barrière dans cet essai sur le terrain.

MOTS-CLES :

POULET LABEL / SALMONELLES / FLORE DE BARRIERE / ESSAI TERRAIN

TITLE:

STUDY OF A COMPETITIVE EXCLUSION PRODUCT (AVIGUARD©) EFFICACY AGAINST SALMONELLA ON SOUTH-WEST FRANCE FREE-RANGE CHICKENS.

ABSTRACT:

The author presents an introduction on Salmonellas and competitive exclusion. Then, she presents the results of the study aiming at estimate the efficacy of an undefined competitive exclusion product against salmonella on French free range "labels" chickens.

69 flocks belonging to 4 broiler farm integrations were chosen according to their salmonella's positivity before slaughtering. They were divided into two groups. The first ones received chickens treated with competitive exclusion while the second ones received mock-treated chickens.

3.57% of treated chickens' paper pads were positive and 9.26% of ante-mortem samples against, respectively, 5.13% of paper pads and 6.98% of ante-mortem samples of untreated chickens.

No significant differences in average body weight, feed conversion, mortality rate and condemnation rate at slaughter could be demonstrated between untreated and treated flocks.

These results characterized by a low prevalence of contaminations with Salmonellas (8.25%) don't allow to conclude about the efficacy of the competitive exclusion flora in this field trial.

KEY WORDS:

"LABEL" CHICKEN/SALMONELLA/COMPETITIVE EXCLUSION PRODUCT/FIELD TRIAL