

***Salmonella* dans la viande de volaille et dans les œufs : un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace**

VAN IMMERSEEL F.¹, DE BUCK J.¹, BOYEN F.¹, PASMANS F.¹, BERTRAND S.², COLLARD J.M.²,
SAEGERMAN C.³, HOOYBERGHS J.⁴,
HAESEBROUCK F.¹, DUCATELLE R.¹

- ¹ Département de Pathologie, Bactériologie et Médecine aviaire, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Gand, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke
- ² Centre National de Référence des *Salmonella* et Shigella, Section de Bactériologie, Institut scientifique de Santé publique, Rue J. Wytsman 14, 1050 Bruxelles.
- ³ Secrétariat du Comité scientifique et 4 Direction Santé des Animaux et Sécurité des Produits animaux, DG Politique de Contrôle, Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, WTC III, Boulevard Simon Bolivar 30, 1000 Bruxelles.

Correspondance : Dr. F. Van Immerseel - Tel. 0032/(0)9/264/74/48 – Fax. 0032/(0)9/264/74/94 - e-mail : filip.vanimmerseel@UGent.be

RESUME - L'émergence de *Salmonella* Enteritidis dans l'industrie avicole a eu lieu dans tous les pays occidentaux entre 1965 et 1980. Depuis lors, ce sérotype est devenu le plus commun chez la volaille. Comme il se transmet verticalement dans les œufs, il constitue la cause principale de la pandémie de salmonellose non-typhoïde qui est observée chez l'homme. En outre, la bactérie se transmet aussi horizontalement dans les exploitations de volaille. Une fois qu'un bâtiment a hébergé des poules contaminées, il est très difficile d'éliminer cette contamination par les mesures hygiéniques classiques. Le mécanisme de transmission dans les œufs n'est toujours pas complètement élucidé, ce qui constitue un obstacle majeur pour le développement de nouvelles mesures de prévention et de traitement. Les produits et mesures actuellement disponibles pour lutter contre *Salmonella* chez la volaille ont été largement développés sur base de méthodes empiriques. Néanmoins, la situation actuelle impose de prendre des mesures. Au niveau européen, de nouvelles dispositions législatives prévoient une série de mesures visant à réduire les taux de contamination de *Salmonella* tout au long de la chaîne de production, de transformation et de distribution des œufs et de la viande de volaille. Il est évident que les contaminations des œufs et de la viande sont fortement influencées respectivement par les conditions hygiéniques de l'abattage et par la réfrigération des œufs. Au niveau belge, l'Agence fédérale pour la Sécurité de la chaîne alimentaire (AFSCA) va mettre en place un nouveau programme de lutte dans le secteur avicole. Cet article passe en revue les aspects les plus importants de l'épidémiologie, de la pathogénèse et décrit les mesures de prévention et de lutte qui sont disponibles à l'heure actuelle.

INTRODUCTION

Depuis de nombreuses années, *Salmonella* constitue la cause majeure des infections du tractus digestif humain, liées à la consommation de denrées alimentaires d'origine animales. Parmi ces denrées, les produits de viande de volaille et, en particulier, les œufs sont fortement impliqués. Malgré les efforts des producteurs, le taux de contamination de la volaille

vivante par *Salmonella* reste toujours très élevé. Le sérotype Enteritidis est actuellement le plus répandu dans le secteur avicole. Chez les poules pondeuses ce sérotype est prédominant, tandis que chez les poulets à l'engraissement, différents serotypes sont isolés. Etant donné que cette problématique perdure depuis des années, des législations ont été rédigées et des programmes de lutte ont été mis en place dans la plupart des pays de la Communauté européenne (CE). Les

objectifs de cet article sont de passer en revue la prévalence des salmonelles chez l'homme et chez la volaille dans les différents pays européens, ainsi que la pathogénèse de l'infection chez la volaille. Le mode de contamination des œufs par *Salmonella* Enteritidis y est détaillé puisqu'il constitue le nœud du problème. Enfin, les produits et les mesures de traitement et de prévention qui sont disponibles sont également présentés.

Cette réflexion a été initiée dans le cadre d'un symposium intitulé « Les infections à *Salmonella* chez la volaille et ses conséquences pour la santé publique » organisé le 9 septembre 2004 à Gent et d'un entretien de l'Association d'épidémiologie et de santé animale (AESAs) intitulé « Salmonellose : quels risques pour la santé humaine ? » organisé le 22 octobre 2004 à Uccle.

EPIDEMIOLOGIE

Volaille

Depuis bien longtemps, il est connu que la volaille peut héberger de nombreux sérotypes de *Salmonella*. Cependant, l'émergence du sérotype Enteritidis a fortement attiré l'attention sur cette problématique, principalement parce qu'il est facilement transmissible à l'homme chez qui il peut causer des symptômes cliniques d'une grande sévérité. *Salmonella* Enteritidis a une affinité particulière pour le tractus génital de la volaille, ce qui explique la contamination des œufs et, par voie de conséquence, son introduction dans la chaîne alimentaire. L'émergence du sérotype Enteritidis dans l'industrie avicole a eu lieu dans tous les pays occidentaux entre 1965 et 1980 (Lee, 1975 ; Rabsch *et al.*, 2000). En 20 ans, *Salmonella* Enteritidis est devenu le sérotype le plus commun chez la volaille (Poppe, 2000). Au Royaume-Uni, Mc Ilroy et McCracken (1990) ont montré une évolution de la fréquence de serotype Enteritidis qui est passé de 3,3 % des souches isolées provenant de volaille en 1985, à près de 50 % en 1988. Au Pays-Bas, il est passé de 5,5 % en 1986 à 15 % en 1992, pour devenir le sérotype le plus répandu en 2000 avec 20 % des souches isolées (Van Duijkeren *et al.*, 2002). Ces dernières années, on note heureusement dans la plupart des pays une décroissance du nombre de souches de *Salmonella* isolées chez la volaille. Cette tendance générale varie néanmoins suivant le niveau de la chaîne de production. Les données présentées ci-après pour ces différents niveaux doivent être interprétées avec prudence puisque les programmes et les méthodes d'échantillonnage et d'isolement peuvent varier d'un pays à l'autre.

Exploitations de reproduction

En général, les taux de contamination par *Salmonella* des exploitations de

reproduction sont très bas en Europe occidentale (moins de 3 % et proche de 0 % en Scandinavie). Dans le sud de l'Europe (Grèce, Espagne, Italie), on note toutefois des taux de contamination plus élevés, de l'ordre de 7 à 10 %. En 2002, les sérotypes les plus fréquemment rapportés dans la Communauté européenne (CE) pour les exploitations de reproduction étaient Enteritidis (42 %), Mbandaka (8,8 %), Livingstone (6,4 %), Typhimurium (4,5 %) et Senftenberg (3 %) (European Commission, 2005). En Belgique, on a observé une forte décroissance des taux de contamination des exploitations de reproduction à la fin des années 90. Celle-ci est à mettre en relation avec une bonne couverture vaccinale. En 1997, 13,7 % des exploitations de reproduction étaient contaminées par *Salmonella* Enteritidis et 7,5 % par *Salmonella* Typhimurium, tandis qu'en 2003, seulement 1,2 % étaient contaminées par *Salmonella* Enteritidis et 1,9 % par *Salmonella* Typhimurium (tableau I).

Exploitations de poules pondeuses

Pour l'ensemble de la CE, on note une décroissance progressive au cours du temps des taux de contamination des exploitations de poules pondeuses par *Salmonella*. Néanmoins, les taux sont encore assez élevés, surtout en Europe du sud, où 5 à 10 % des exploitations sont régulièrement contaminées. C'est là également qu'on trouve les taux les plus élevés d'œufs frais contaminés par des salmonelles (souvent entre 3 et 8 % des œufs) tandis que, dans le reste de l'Europe, moins de 1 % des œufs frais le sont (European Commission, 2005). Des études plus détaillées ont montré que la coquille est plus fréquemment contaminée que le jaune ou le blanc d'œuf (European Commission, 2005). Dans tous les pays, les produits à base d'œuf sont moins souvent contaminés, grâce aux traitements thermiques que ces produits subissent.

En 2002, les sérotypes les plus fréquemment isolés dans les exploitations de poules pondeuses au sein de la CE étaient Enteritidis (57,5 %), Typhimurium (9,6 %) et Infantis (6,9 %). Par contre, dans les œufs frais, on trouve le sérotype Enteritidis dans 72,9 % des cas (European Commission, 2005). En Belgique, une étude a été réalisée en 2003 sur 642 échantillons de fientes de poules pon-

deuses de réforme ; 15 % des échantillons étaient positifs pour *Salmonella*. A l'abattoir, *Salmonella* a été trouvée dans 18,6 % des échantillons de viande prélevés de ces poules (tableaux II et III).

Exploitations de poulets à l'engraissement

Les poulets à l'engraissement sont plus souvent contaminés par *Salmonella*, et de nombreux sérotypes différents sont retrouvés. Seuls les pays scandinaves rapportent des taux de contamination très bas. Dans les autres pays d'Europe occidentale, les taux de contamination varient fortement, allant de 1 à 11 % des exploitations en 2002. En Europe du sud, les taux sont encore plus élevés, jusqu'à 16 % en Italie.

Le gros problème concerne cependant la viande de volaille. En 2002, dans tous les pays Européens, à l'exception des pays scandinaves, on trouvait entre 10 et 15 % des poulets en vente dans les boucheries contaminés par *Salmonella*. Ici encore Enteritidis était le sérotype le plus répandu aussi bien dans la viande (11,1 % des sérotypes) que dans les unités de production (10,8 %). Hormis Enteritidis, on retrouve une multitude de sérotypes (European Commission, 2005). En 2003, un total de 22.165 fientes de poussins destinés à l'engraissement ont été prélevées en Belgique, avant le transport à l'abattoir ; 7,4 % des échantillons étaient positifs pour *Salmonella* (tableau II). Les taux de contamination suivant ont été relevés dans la viande de volaille : 12,1 % sur la peau des carcasses de poulets de chair ; 11,7 % dans les filets de poulet et 29,3 % dans les préparations de viande de volaille (tableau III).

LA SALMONELLOSE CHEZ L'HOMME

Au niveau mondial, deux grands changements dans l'épidémiologie de la salmonellose non-typhoïde chez l'homme ont été constatés au cours de la deuxième moitié du siècle dernier : (i) l'émergence de souches de *Salmonella* résistantes à de multiples antibiotiques, comme par exemple la souche de *Salmonella* Typhimurium DT104 et (ii) l'émergence du sérotype Enteritidis, pathogène lié à la volaille et à l'œuf de poule en particulier

(Rabsch et al., 2001). Pour une revue de la littérature concernant les salmonelles multirésistantes, le lecteur est invité à consulter d'autres articles (Threlfall, 2002 ; Van Duijkeren et al., 2003 ; Wilson, 2004).

Aux Etats-Unis, on enregistre à peu près 40.000 cas humains de salmonellose non-typhoïde par année. Cependant le chiffre réel a été estimé par le Centre for Disease Control and Prevention (CDC-Atlanta) à environ 1,4 millions de cas par année (Mead et al., 1999). Il semble effectivement que le nombre rapporté de cas de salmonellose chez l'homme est infime comparé au nombre de cas réels. L'impact économique annuel de la salmonellose chez l'homme aux Etats-Unis est estimé entre 500.000.000 \$ et 2.300.000.000 \$, couvrant essentiellement les frais de 16.000 personnes hospitalisées et de 500 personnes décédées (Kennedy, 2004). Les sérotypes les plus fréquemment incriminés sont Enteritidis (24,7 %) et Typhimurium (23,5 %) (Glynn et al., 1998).

Jusqu'en 1980, le sérotype Enteritidis était isolé des cas humains de salmonellose à une fréquence assez basse. Entre 1979 et 1987, la part prise par ce sérotype dans les cas humains de salmonellose a fortement augmenté dans 24 des 35 pays ayant transmis des informations à l'Organisation mondiale de la Santé (OMS). En 1979, Enteritidis était le sérotype le plus fréquemment rencontré dans 2 des 21 pays fournissant des informations à l'OMS. En 1987 par contre, Enteritidis était devenu le sérotype le plus important dans 9 de ces 21 pays. Parmi ces 9 pays, 8 étaient européens (Rodrigue *et al.*, 1990). En 1995, 61,3 % des souches isolées provenant de cas humains en Allemagne étaient du sérotype Enteritidis, et 23,4 % du sérotype Typhimurium (Poppe, 1999). A l'opposé, en Allemagne de l'ouest, pendant la période 1956 à 1959, la fréquence de *Salmonella* Enteritidis variait entre 4,4 % et 5,9 % et celle de *S. Typhimurium* entre 34 % et 41 % (Poppe, 1999). En Angleterre et au Pays de Galles, le sérotype Enteritidis est également devenu le plus important, avec 70,7 % des souches isolées en 1997 (Schroeter *et al.*, 1998). Aux Etats-Unis, l'évolution a été moins rapide, mais Enteritidis est néanmoins passé de la sixième place en 1960 à la première place en 1990 dans la liste des sérotypes les plus fréquemment isolés (Aserkoff et al., 1970 ; Mishu *et al.*, 1994).

Tableau I : Présence de *Salmonella* Enteritidis et de *Salmonella* Typhimurim chez les poules reproductrices en Belgique (années 1995-2003).

Année	<i>Salmonella</i> Enteritidis		<i>Salmonella</i> Typhimurium	
	Exploitations (%)	Bandes (%)	Exploitations (%)	Bandes (%)
1995	10,6	7,7	4,3	2,4
1996	11,6	6,3	6,0	3,4
1997	13,7	7,7	7,5	4,3
1998	9,4	6,3	5,2	2,9
1999	6,9	3,0	3,2	2,1
2000	3,0	1,7	1,7	0,9
2001	2,2	1,3	2,2	1,1
2002	0,4	0,1	2,7	1,0
2003	1,2	0,5	1,9	0,8

Source : Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, rapports d'activités 1995-2003.

Tableau II : Présence de salmonelles dans les exploitations de poulets de chair et dans les exploitations de poules de réforme en Belgique (année 2003).

Exploitations	Examens bactériologiques			Intervalle de confiance 95 %
	Nombre d'échantillons testés	Nombre d'échantillons positifs	%	
Poulets de chair	22165	1647	7,4	7,1-7,8
Poules de réforme	642	96	15,0	12,3-18,0

Source : Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, rapport d'activités 2003

Cette augmentation des cas d'infection dûs au sérotype Enteritidis a induit une augmentation parallèle du nombre total de cas de salmonellose chez l'homme. Heureusement, ces dernières années, on note une diminution graduelle du nombre total de cas dans la CE, excepté en 2001 (European Commission, 2005). En 2002, plus de 145.000 cas de salmonellose ont été rapportés chez l'homme dans l'Europe des 15, comparé à 200.000 cas en 1997. La situation varie cependant fortement d'un pays à l'autre. Dans le sud (Grèce, Espagne, Italie), le nombre de cas augmente, tandis qu'en France et au Royaume-Uni une forte diminution est enregistrée. Les pays scandinaves ont enregistré une augmentation mais 70 % des cas sont considérés comme importés. En 2002, dans l'ensemble de la CE et la Norvège, 70 % des cas de salmonellose humaine était dû au sérotype Enteritidis et 17 % au sérotype Typhimurium (European Commission, 2005). Ceci démontre clairement la nécessité de prendre des mesures spécifiques contre ces deux sérotypes.

En Belgique, pendant la période 1962-1969, le sérotype Enteritidis était isolé dans moins de 1,2 % des cas

humains de salmonellose. *S. Typhimurium* était le sérotype dominant durant cette période, avec 57,7 % à 71,1 % des cas. Dans la période 1970-1987, Enteritidis représentait 1,8 % à 5,5 % des souches isolées de *Salmonella*. A partir de 1988, une forte hausse des souches isolées du sérotype Enteritidis a été notée et, à partir de 1991, Enteritidis a dépassé Typhimurium pour devenir le sérotype le plus fréquemment isolé des cas humains. Parallèlement à la hausse des souches isolées du sérotype Enteritidis, on a observé une augmentation du nombre total de souches isolées de *Salmonella*, pour atteindre un maximum en 1999 avec 15.774 souches isolées. Après 1999, le nombre de souches isolées a graduellement diminué jusqu'à 10.075 en 2002. Cependant en 2003, ce nombre a augmenté à nouveau pour atteindre 12.894 souches de *Salmonella*. En 2003, Enteritidis restait toujours le sérotype dominant (71,4 % de toutes les souches isolées) suivi par Typhimurium (19,5 % des souches isolées) (tableau IV). Ces observations suggèrent que les plats à base d'œufs frais ou insuffisamment cuits consti-

Tableau III : Pourcentage de présence de salmonelles dans la viande de volaille en Belgique (années 2000-2003).

Viande*	2000	2001	2002	2003
Carcasse de poulets de chair	6,6	11,4	7,0	12,1
Filet de poulet	12,7	15,1	12,6	11,7
Carcasse de poules à bouillir	26,7	21,9	20,3	18,6
Préparations de volaille	-	-	21,0	29,3

Source : Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, rapport d'activités 2003

* les méthodes d'isolement ne sont pas strictement comparables selon le type de viandes analysées

Tableau IV : Nombre de souches isolées de *Salmonella* spp. chez l'homme en Belgique (années 2000-2003).

Type	2000		2001		2002		2003	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
S. Enteritidis	9503	67,5	6921	64,2	6398	63,5	9201	71,6
S. Typhimurium	2799	19,9	2322	21,4	2438	24,2	2512	19,4
Autre	1786	12,7	1540	14,4	1239	12,3	1181	9,1
Total	14088	100	10783	100	10075	100	12894	100

Source : Centre National de Référence des *Salmonella* et *Shigella*, rapports d'activités 2000-2003

Tableau V : Échéances prévues dans le cadre du règlement 2160/2003/CE en ce qui concerne la détection et le contrôle des salmonelles chez la volaille

Stade de production	Date pour la fixation des objectifs des plans nationaux	Date à laquelle des tests doivent avoir lieu lors d'échanges intracommunautaires
Poules reproductrices	12/12/2004	12/6/2006
Poules pondeuses	12/12/2005	12/6/2007
Poulets de chairs	12/12/2006	12/6/2008
Dindes	12/12/2007	12/6/2009

Source : Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, rapport d'activités 2003

tuent probablement la source de contamination la plus importante pour l'homme.

A l'intérieur d'un même sérotype, il est possible de caractériser des souches de manière encore plus précise par lysotypie.

En Europe, le lysotype (phage type, PT) 4 de *S. Enteritidis* est apparu pour la première fois en 1980. Il s'est rapidement répandu dans les exploitations de volaille et il est ensuite apparu dans les souches isolées provenant de cas humains de salmonellose. Dans les pays où il est apparu, le lysotype 4 de *S. Enteritidis* a rapidement remplacé les autres lysotypes de *S. Enteritidis*.

Ceci a eu pour conséquence de quintupler le nombre de cas humains de salmonellose à *S. Enteritidis* (Rampling, 1993). Au Canada, pendant la période 1976-1989, le lysotype 8 était le plus répandu, suivi par les lysotypes 4, 13 et 13a. Ensuite, pendant la période 1990-1994, une augmentation continue des souches isolées de *S. Enteritidis* a été constatée. Le lysotype 4 est devenu le plus important en 1992 (Poppe, 1999). En Europe, depuis 1998, la répartition des lysotypes de *S. Enteritidis* a encore changé. En effet, sur les 34.998 souches isolées en 1998 provenant de 12 pays Européens, 62 % étaient encore du lysotype 4, tandis qu'en 2003, sur 27.431 souches isolées

provenant de 14 pays, 32,1 % seulement étaient du lysotype 4 (Fisher, 2005a ; 2005b). Au cours de cette période, de plus en plus de souches du lysotype 1, 8, 14b et 21 ont été recensées, tandis que les souches du lysotype 6 et 6a sont restées au même niveau, soit entre 3 et 5 % des souches isolées. L'ensemble de ces 7 lysotypes constitue environ 90 % des souches typées. En Belgique, la situation est un peu différente puisque le lysotype 4 était encore dominant en 2000, avec 54,8 % des souches, suivi par le lysotype 21 avec 29,5 % (Wybo *et al.*, 2004). Durant la période 2000-2003, le lysotype 21 était à la hausse, dépassant même le lysotype 4 en 2003 (34,1 % contre 27,6 %). Les lysotypes 8 et 14b sont également devenus plus importants en 2003, avec respectivement 9,8 % et 12,6 % des cas.

Les souches de *S. Enteritidis* provenant de cas humains sont rarement résistantes aux antibiotiques. On retrouve toutefois des résistances à l'acide nalidixique, à l'ampicilline et aux sulfonamides (Threlfall *et al.*, 2003 ; Busani *et al.*, 2004 ; Wylo *et al.*, 2004). En Espagne cependant, un taux de résistance important à l'acide nalidixique (61,5 %) a été observé pour les souches de *S. Enteritidis* isolées à partir de la volaille. Ceci a été mis en rapport avec la mise sur le marché de plusieurs quinolones (Cruchaga *et al.*, 2001). La résistance était surtout très répandue parmi les souches de *S. Enteritidis* du lysotype 1 et 6a.

LES SOURCES DE CONTAMINATION

Pour la volaille

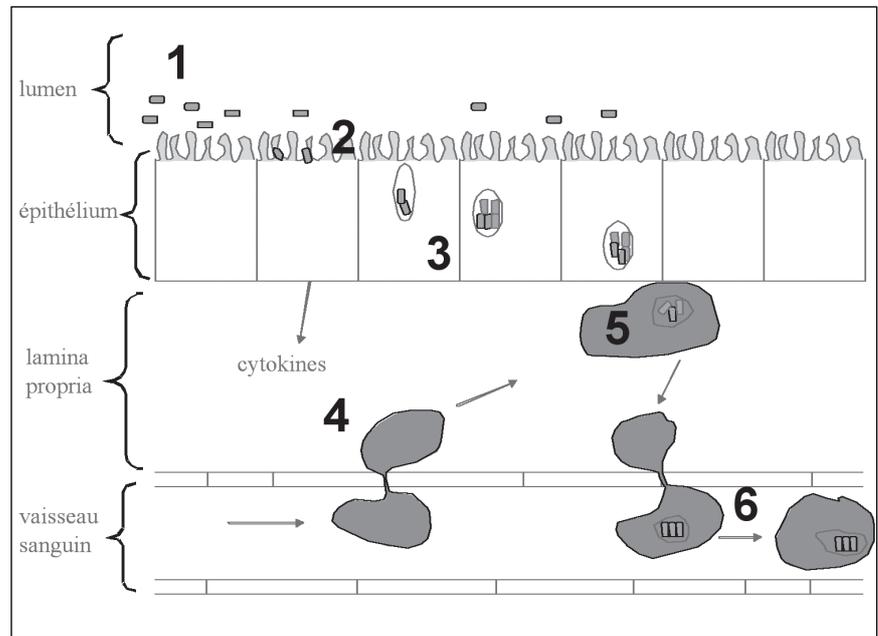
Les exploitations de volailles peuvent s'infecter par différentes voies. On distingue de manière générale la voie verticale et la voie horizontale.

Par la voie verticale, on entend la transmission trans-ovarienne et donc la contamination de l'oeuf fécondé, lors du passage de la bactérie des parentales aux poussins. Par conséquent, le contrôle de l'infection chez les parentales est capital dans un programme de lutte. Le mécanisme de transmission de la bactérie vers l'oeuf est discuté de manière plus détaillée dans la section suivante.

La voie horizontale de transmission est tout aussi importante que la voie verticale. En effet, on a vu précédemment

que les taux de contamination des reproductrices étaient en général très faibles (bonne couverture vaccinale) tandis que les taux de contamination des poules pondeuses et des poussins à l'engrais étaient beaucoup plus élevés (faible couverture vaccinale). Ceci suggère un rôle important de la vaccination et de la voie de transmission horizontale. Plusieurs facteurs peuvent intervenir dans la transmission horizontale. Tout d'abord, la persistance de l'infection dans les bâtiments d'élevage et dans les couvoirs joue certainement un grand rôle (Bailey *et al.*, 2002 ; Gradel et Rattenborg, 2003). Les rats et les souris peuvent être porteurs de l'infection et contaminer les bâtiments et les aliments. En effet, il a été démontré que les souris capturées dans les environs d'un bâtiment hébergeant des poules pondeuses infectées, étaient 4 fois plus souvent trouvées positives pour *Salmonella* que les souris capturées aux alentours d'un bâtiment hébergeant des poules pondeuses non-infectées (Garber *et al.*, 2003). Dans une autre étude, on a capturé 1000 souris dans des bâtiments pour poules pondeuses, et 20 % de ces souris étaient porteuses de *S. Enteritidis* au niveau de la rate (Guard-Petter *et al.*, 1997). De plus, la caractérisation moléculaire des souches a permis de confirmer que les souris retrouvées près des bâtiments hébergeaient les mêmes souches de *Salmonella* que les poules pondeuses (Liebana *et al.*, 2003). Les insectes peuvent aussi constituer des réservoirs de *Salmonella*. Dans 14 bâtiments pour poussins à l'engrais, les coléoptères hébergeaient la même souche de *Salmonella* que les poussins (Skov *et al.*, 2004). Il a également été démontré que les moustiques et les vers de farine dans les élevages de volaille peuvent héberger des *Salmonella* (Hald *et al.*, 1998 ; Olsen and Hammack, 2000). Quand on relâche des coléoptères contaminés par *Salmonella* dans une chambre contenant des poussins sensibles, ces derniers sont infectés endéans les 4 jours (Hald *et al.*, 1998). L'eau de boisson et les aliments constituent également d'importantes sources de contamination pour la volaille. Les abreuvoirs sont facilement contaminés par les becs des poussins, leurs pattes et les fientes. Les systèmes d'abreuvement avec des tétines sont manifestement moins contaminés (Renwick *et al.*, 1992). Les aliments sont souvent contaminés durant le stockage et la préparation. Au Royaume-Uni, entre

Figure 1 : Pathogénèse d'une infection à *Salmonella*



- 1) après ingestion orale, les bactéries passent par l'estomac pour arriver dans la lumière intestinale ;
- 2) les bactéries s'attachent aux cellules épithéliales et induisent une modification des filaments d'actine de la cellule ;
- 3) ceci donne lieu à une internalisation de la bactérie dans la cellule épithéliale ; *Salmonella* est capable de se multiplier à l'intérieur de la cellule eucaryote ;
- 4) des macrophages vont migrer des vaisseaux sanguins vers la paroi intestinale et font partie d'une réaction inflammatoire ;
- 5) ces macrophages peuvent phagocyter les bactéries. *Salmonella* dispose de mécanismes qui permettent la bactérie de survivre et même de multiplier à l'intérieur des macrophages ;
- 6) les macrophages infectés peuvent passer dans le sang et se disperser vers d'autres organes, tels que la rate et le foie. Ceci constitue la phase systémique de l'infection.

1995 et 1997, sur 15.000 échantillons d'aliments complets pour volaille et porcs, 3 % de ces échantillons étaient positifs pour *Salmonella* (Davies and Hinton, 2000). Les personnes qui entrent dans les poulaillers mais également des matériaux que l'on introduit dans des bâtiments peuvent être porteurs de *Salmonella*. Finalement, on doit aussi tenir compte du fait que seuls quelques poussins positifs dans un lot de plusieurs milliers sont suffisants pour contaminer l'ensemble du lot. De plus, les poussins ont tendance à picorer dans la litière et dans les fèces, ce qui facilite la dissémination de l'infection.

Chez les humains

L'homme s'infecte avec des salmonelles non-typhoïdes essentiellement par l'ingestion d'aliments contaminés. La plupart des cas de salmonellose chez l'homme sont sporadiques. Néanmoins, les épidémies à *Salmonella* ne sont pas rares, et celles-ci peuvent parfois toucher de nombreux individus. En effet, aux Etats-

Unis, en septembre et octobre 1994, une épidémie de gastro-entérite due à *S. Enteritidis* suite à la consommation de crèmes glacées contaminées a touché 224.000 personnes (Hennessy *et al.*, 1996). En principe, tous les animaux de rente peuvent être contaminés et donc constituer un risque pour l'homme. Les sources de contamination les plus importantes sont toutefois la viande de volaille et les oeufs. Les infections humaines à *S. Enteritidis* sont presque exclusivement associées aux oeufs et à la viande de volaille (Telzak *et al.*, 1990 ; Altekruze *et al.*, 1993 ; Henzler *et al.*, 1994 ; Plummer *et al.*, 1995). Dans la plupart des cas, les épidémies de salmonellose chez l'homme sont dues à la consommation d'oeufs frais contaminés (St Louis *et al.*, 1988 ; Ejidokun *et al.*, 2000 ; Parry *et al.*, 2002). Entre 1985 et 1998, sur 360 épidémies investiguées aux Etats-Unis, 279 soit 82 % étaient liées à la consommation d'oeufs (Center for Disease Control and Prevention, 2000). Les facteurs de risque d'apparition de cas sporadiques les plus importants sont la consommation de plats à

base d'œufs de poules crus ou insuffisamment cuits et ensuite la consommation de viande de volaille insuffisamment cuite (Humphrey *et al.*, 1988 ; Cowden *et al.*, 1989 ; Schmid *et al.*, 1996 ; Mohle-Boetani *et al.*, 1998 ; Hayes *et al.*, 1999 ; Kimura *et al.*, 2004). Les conditions hygiéniques durant et après l'abattage ont certainement un impact sur ce type d'infection. Comme autres facteurs de risque pour les cas sporadiques de salmonellose chez l'homme on peut citer les voyages internationaux et la consommation de plats préparés dans des restaurants (Kimura *et al.*, 2004). Dans ce dernier cas, on considère que le risque est plus élevé parce que les aliments sont préparés en grandes quantités et à l'avance. L'importance des œufs comme source de contamination est davantage soulignée par Mumma et collaborateurs (2004). En effet, une augmentation de 1 % du nombre d'œufs produits sous un label de qualité qui inclut le contrôle de *Salmonella* entraîne une réduction significative des cas humains (0,14 % en moins). Enfin un autre facteur de risque identifié pour les cas sporadiques d'infection à *Salmonella* chez les enfants était la conservation des œufs pendant une période de plus de 2 semaines avant la consommation, en particulier, en période estivale (Delarocque-Astagneau *et al.*, 1998). La réfrigération des œufs pendant la période de conservation constitue sans doute la mesure la plus efficace pour éviter des infections liées à la consommation d'œufs.

Au vu de ces différents facteurs de risque, une recommandation a été donnée aux hôpitaux de ne plus préparer des repas avec des œufs insuffisamment cuits pour les personnes âgées ou immunodéficientes. On a également recommandé la pasteurisation des œufs pour les crèches et pour tous les plats commerciaux qui ne subissent pas un traitement thermique suffisant (Poppe, 1999).

LA PATHOGENESE DE L'INFECTION A SALMONELLA CHEZ LA VOLAILLE

La plupart des bactéries appartenant à l'espèce *Salmonella* peuvent coloniser un large spectre d'hôtes. Néanmoins, certains sérotypes sont adaptés à un spectre d'hôtes plus restreint, ce qui signifie qu'ils ont acquis une série de

propriétés génétiques qui leur permettent de coloniser de manière préférentielle et persistante ce type d'hôtes. Certains sérotypes sont mêmes exclusivement associés à un seul hôte, comme par exemple *S. Gallinarum* chez la volaille. Ces sérotypes induisent souvent une pathologie sévère, voire létale. Cependant, la plupart des sérotypes peuvent infecter toute une série d'hôtes différents et cause en général une gastro-entérite temporaire (Uzzau *et al.*, 2000). Parmi ces derniers on retrouve *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium*.

La pathogenèse des souches à spectre d'hôtes restreint ne sera pas discutée dans cette revue. Par contre, la pathogenèse chez la volaille lors d'infection par des souches à large spectre d'hôtes sera examinée en détail. En général, la pathogenèse débute avec l'ingestion de la bactérie par voie orale. Les bactéries passent dans l'intestin et s'attachent aux cellules épithéliales. Après cette phase d'attachement, la bactérie peut envahir les cellules épithéliales. Ensuite, après la phase intestinale, il y a une phase systémique. Pendant cette phase systémique, les bactéries peuvent survivre et persister dans les macrophages (figure 1). Pour ces différents processus la bactérie possède une série de gènes de virulence, qui sont regroupés sur le génome dans des îlots de pathogénicité.

La phase intestinale

Salmonella est tout à fait capable de survivre à l'acidité de l'estomac et peut donc passer dans l'intestin (Kwon and Ricke, 1998). Les caeca constituent le site le plus important pour la colonisation intestinale chez la volaille (Desmidt *et al.*, 1997 ; 1998). Les bactéries s'attachent à la paroi caecale par des interactions de type récepteur-ligand. Les fimbriae de la bactérie et les résidus de type mannosyl dans le mucus et sur les cellules épithéliales sont impliqués (Dibb-Fuller *et al.*, 1999 ; Vimal *et al.*, 2000). L'invasion des cellules épithéliales constitue une étape cruciale dans la pathogenèse. Au moment où la bactérie s'attache à la cellule épithéliale du caecum, elle injecte une série de protéines bactériennes dans la cellule de l'hôte par le biais du système de sécrétion de type 3 (type III secretion system, TTSS). Ces protéines sont codées par l'îlot de pathogénicité numéro 1 (*Salmonella* pathogenicity island, SPI-1) (Zhou and

Galman, 2001). Ce système de sécrétion de type 3 est constitué d'une sorte d'« aiguille » sur la membrane externe de la bactérie dont la fonction est d'injecter des protéines de la bactérie dans la cellule eucaryote (Hueck, 1998 ; Galan and Collmer, 1999 ; Cornelis and Van Gijsegem, 2000). Le SPI-1 de *Salmonella* est un élément assez large (43 kb) sur le chromosome de la bactérie qui code pour toute une série de protéines, non seulement des protéines structurales nécessaires pour former l'appareil du TTSS, mais aussi des protéines régulatrices et des protéines qui sont injectées à travers l'« aiguille » dans la cellule de l'hôte (Lostro and Lee, 2001). Ces protéines bactériennes injectées interagissent avec les protéines de la cellule de l'hôte. Leur effet principal est une réorganisation du squelette de la cellule épithéliale qui induit la formation de projections du protoplasme cellulaire (ruffles) qui entourent la bactérie. A la suite de ce processus qui est activé et contrôlé par les protéines de la bactérie injectées dans la cellule, la bactérie se retrouve dans une vacuole à l'intérieur de la cellule. Tout ceci constitue le processus d'invasion. Une fois à l'intérieur de la cellule hôte, on estime que la bactérie est capable de réprimer le processus normal d'apoptose de la cellule (processus de mort cellulaire programmé). Ce phénomène génère un environnement dans lequel la bactérie peut se multiplier tranquillement à l'abri du système immunitaire de l'hôte.

Les protéines codées par le SPI-1 sont également impliquées dans l'attraction des cellules immunitaires de l'hôte vers la paroi intestinale. Après une infection expérimentale, on retrouve, endéans les 24 heures, de nombreux granulocytes hétérophiles, macrophages, lymphocytes T et lymphocytes B dans la paroi intestinale (Van Immerseel *et al.*, 2002a). Les macrophages peuvent ingérer les bactéries qui passent à travers la muqueuse caecale, ce qui constitue le début de la phase systémique de l'infection.

La phase systémique

Les bactéries sont ingérées par les macrophages par phagocytose. *Salmonella* peut survivre et se multiplier dans les macrophages. Ces macrophages peuvent passer dans le sang et disséminer vers les organes tels que le foie et la rate, où on les retrouve

en abondance (Barrow, 1999). La bactérie se trouve dans une vacuole du cytoplasme du macrophage. La multiplication de *Salmonella* dans les macrophages est sous le contrôle du système de sécrétion de type 3 (TTSS) codé par l'îlot de pathogénicité 2 (SPI-2). Ce TTSS SPI-2 a également la structure d'une « aiguille » par laquelle des protéines de la bactérie sont injectées à travers la membrane de la vacuole (Hensel *et al.*, 2000).

Les *Salmonella* disposent d'une batterie de mécanismes qui leur permettent de survivre à l'intérieur des macrophages. Après la phagocytose, la bactérie reste à l'intérieur d'une vacuole (vacuole contenant des *Salmonella*, VCS). Normalement, quand les macrophages internalisent une bactérie, la vacuole contenant la bactérie va fusionner avec le lysosome, qui contient des substances toxiques pour la bactérie. L'effet des protéines du TTSS SPI-2 est justement d'inhiber cette fusion entre la VCS et le lysosome.

Outre les enzymes des lysosomes, le macrophage dispose encore d'autres systèmes très performants pour tuer les bactéries, systèmes qui induisent, notamment, la production d'oxygène réactif et d'oxyde nitrique. La NADPH oxydase des phagocytes est effectivement une arme très efficace dans la lutte du macrophage contre les bactéries. Ce complexe enzymatique catalyse la réduction d'oxygène en superoxyde. Ce dernier a un puissant effet antibactérien et est également un précurseur de toute une série d'autres espèces d'oxygène réactifs (Babior, 1995). Tous ces produits ont des modes d'action qui ressemblent à ceux des désinfectants. Dans les macrophages non-activés, la compartimentation du NADPH-oxydase entre une sous-unité liée aux membranes et une autre située dans le cytosol, assure qu'il n'y ait pas de production de radicaux toxiques. Après stimulation du macrophage les différentes sous-unités vont fusionner et former le complexe enzymatique actif (Vazquez-Torres and Fang, 2001). *Salmonella* dispose d'une stratégie pour éviter ou inhiber la production de ce complexe enzymatique car elle contient des superoxydes dismutases, des catalases et des anti-oxydants (Buchmeier *et al.*, 1995 ; Buchmeier *et al.*, 1997 ; Lundberg *et al.*, 1999). De plus, *Salmonella* peut bloquer la migration des vésicules contenant la NADPH-

oxydase vers le VCS. Ce dernier phénomène est également sous le contrôle du TTSS SPI-2.

Enfin *Salmonella* dispose également d'outils permettant de manipuler la viabilité des macrophages en sa faveur. Par un mécanisme encore inconnu, la bactérie semble être capable de sentir le niveau d'activation du macrophage et de modifier le mode d'induction de la mort cellulaire selon ses besoins (nécrose versus apoptose). En effet, la nécrose mène à une perte de l'intégrité de la membrane cellulaire et au relâchement du contenu cellulaire, ce qui attire les cellules immunitaires. Dans la phase initiale de l'infection, au niveau de l'intestin, quand les premiers macrophages sont attirés, la bactérie induit la mort cellulaire par nécrose, ce qui attire encore plus de macrophages (Knodler and Finlay, 2001). Une fois que l'infection systémique s'est établie, la mort rapide de la cellule hôte constituerait un désavantage pour la bactérie. A ce stade, la bactérie demeure dans une niche intracellulaire et retarde la mort cellulaire afin d'avoir plus de temps pour se multiplier dans la cellule hôte et atteindre d'autres organes et tissus de l'hôte (Jesenberger *et al.*, 2000 ; Van der Velden *et al.*, 2000). La mort tardive de la cellule hôte se produirait par apoptose, ce qui n'induit pas d'inflammation nuisible à la bactérie.

La contamination des œufs

Après la ponte, il est possible que les œufs soient contaminés par *S. Enteritidis* à travers la coquille de l'œuf quand l'œuf est contaminé par des matières fécales (Gast and Beard, 1990b ; Barrow and Lovell, 1991 ; Humphrey *et al.*, 1991b). Il est également possible que la contamination ait lieu directement dans le jaune d'œuf, le blanc d'œuf, la membrane interne de la coquille ou la coquille même avant la ponte de l'œuf, suite à l'infection du système de reproduction de la poule pondeuse (Timoney *et al.*, 1989 ; Shivaprasad *et al.*, 1990)

La contamination de la surface de l'œuf et la pénétration à travers la coquille

Une multitude de sérotypes a été isolé de la coquille des œufs (de Louvois, 1993b) y compris *S. Enteritidis* (Humphrey 1994 ; Schütze *et al.*,

1996). La présence de *Salmonella* sur la surface extérieure de la coquille de l'œuf et contamination du contenu de l'œuf présente une menace pour la santé publique. La surface peut être contaminée soit dans la partie distale de l'oviducte, soit par le biais d'une contamination fécale.

Plusieurs chercheurs ont investigué la possibilité d'une pénétration à travers la coquille de l'œuf dans des conditions de laboratoire avec différents sérotypes de *Salmonella* tels que, par exemple, *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* (Javed *et al.*, 1994 ; Miyamoto *et al.*, 1998 ; Wang and Slavik, 1998 ; Berrang *et al.*, 1999). Sur base de ces expérimentations, on a émis l'hypothèse que le contenu de l'œuf pouvait être contaminé immédiatement après la ponte par des bactéries passant à travers les pores ou des fissures dans la coquille. Dans la pratique cependant, ce phénomène ne semble pas très fréquent puisque la panoplie de sérotypes que l'on trouve à la surface de la coquille, n'est pas du tout semblable à celle retrouvée à partir du contenu de l'œuf. En effet, à l'intérieur de l'œuf, on retrouve presque exclusivement *S. Enteritidis* (De Buck *et al.*, 2004b). Quelques rapports dans la littérature scientifique suggèrent que le contenu de l'œuf serait contaminé surtout pendant le passage dans le cloaque plutôt que par infection de l'ovaire (Rodrigue *et al.*, 1990 ; Barrow and Lovell, 1991). Afin de faire une distinction entre une contamination de la surface de l'œuf provenant de l'environnement, et une contamination qui a lieu durant la formation de l'œuf, on ne peut pas se contenter de faire des cultures de la coquille entière. Certains auteurs ont approfondi cette problématique en immergeant l'œuf entier dans le milieu de culture et en faisant ensuite des cultures de coquilles après avoir assuré la désinfection préalable de leur surface (Bichler *et al.*, 1996 ; Miyamoto *et al.*, 1997 ; Okamura *et al.*, 2001a ; Okamura *et al.*, 2001b). Cette approche a permis de faire une distinction entre une contamination de la surface et une contamination de la membrane de la coquille qui elle a lieu pendant la formation de l'œuf.

Contamination de l'œuf pendant sa formation

Etant donné que *S. Enteritidis* est le sérotype prépondérant dans le contenu de l'œuf (Mawer *et al.*, 1989) et que le rapport entre la fréquence de contamination du contenu de l'œuf et de l'extérieur de la coquille par *S. Enteritidis* est faible (Humphrey *et al.*, 1991c ; Methner *et al.*, 1995), il est probable que la contamination du contenu de l'œuf ait lieu pendant sa formation dans le tractus reproducteur de la poule. Par ailleurs, des études sur la contamination des œufs pondus par des poules infectées expérimentalement n'ont pas permis de mettre en évidence une relation entre le portage intestinal/fécal et la présence de la bactérie dans le contenu de l'œuf (Gast and Beard, 1990a ; Humphrey *et al.*, 1991b). De plus, des *S. Enteritidis* peuvent être isolées du système reproducteur de poules pondeuses en l'absence de colonisation intestinale (Bygrave and Gallagher, 1989 ; De Buck *et al.*, 2004a).

S. Enteritidis a été isolé du jaune aussi bien que du blanc d'œuf provenant de poules infectées (Humphrey *et al.*, 1991c ; Keller *et al.*, 1995 ; Bichler *et al.*, 1996). La plupart des auteurs concluent que l'albumen constitue le compartiment de l'œuf le plus fréquemment contaminé (Gast and Beard, 1990a ; Shivaprasad *et al.*, 1990 ; Humphrey *et al.*, 1991c ; Gast and Beard, 1993 ; Humphrey, 1994 ; Methner *et al.*, 1995 ; Price *et al.*, 1995). Cette contamination du blanc d'œuf aurait lieu pendant le passage de l'œuf dans l'oviducte (Gast and Beard, 1990b ; Shivaprasad *et al.*, 1990 ; Humphrey *et al.*, 1991c ; Hoop and Pospischil, 1993 ; Reiber and Conner, 1995). Plusieurs auteurs suggèrent même que *S. Enteritidis* passerait dans les œufs le plus fréquemment au niveau de la partie supérieure de l'oviducte, associé à l'albumen (Gast and Beard, 1990a ; Shivaprasad *et al.*, 1990 ; Hoop and Pospischil, 1993 ; Humphrey, 1994 ; Keller *et al.*, 1995). Après coloration immunohistochimique, on a même retrouvé *S. Enteritidis* associée aux cellules sécrétrices du magnum supérieur et inférieur (Hoop and Pospischil, 1993), ce qui pourrait expliquer pourquoi la bactérie contamine le blanc de l'œuf. Par contre, la contamination du jaune d'œuf indiquerait une contamination de l'ovaire.

La coquille de l'œuf et la membrane interne de la coquille sont produites

dans la partie plus distale de l'oviducte. Il est tout à fait possible que ces segments de l'oviducte soient également contaminés. Plusieurs chercheurs y ont trouvé une contamination fréquente de la coquille et de la membrane interne de la coquille (Humphrey, 1989 ; Humphrey *et al.*, 1991c ; De Buck *et al.*, 2004). Certains auteurs sont même arrivés à la conclusion que ce sont les endroits les plus fréquemment contaminés (Bichler *et al.*, 1996 ; Miyamoto *et al.*, 1997 ; Okamura *et al.*, 2001b). Etant donné que *S. Enteritidis* peut pénétrer à travers la coquille, il reste néanmoins difficile de faire la distinction entre une contamination pendant la formation de l'œuf ou après la ponte de celui-ci. Dans le cas des œufs fécondés, une contamination de la membrane interne de la coquille peut mener à la situation que le poussin ne sera contaminé que tardivement et, parfois même, seulement au moment de l'éclosion.

MESURES DE PREVENTION ET DE CONTROLE

Mesures à prendre au niveau de la production

Toute une série de mesures de prévention et de traitement sont disponibles à l'heure actuelle chez la volaille.

La première mesure est de n'introduire que des poussins indemnes dans les bâtiments, ce qui implique que les parentales et les grands parentales soient indemnes de *Salmonella* afin d'éviter la transmission verticale.

La mesure préventive la plus répandue est sans doute la vaccination. La vaccination est certainement efficace pour les poules pondeuses, tandis que pour les poulets à l'engraissement, l'utilité de la vaccination peut être mis en doute, vu la courte durée de vie de ces animaux. On trouve sur le marché des vaccins atténués et inactivés qui permettent de réduire l'excrétion et la circulation de *Salmonella* (Nassar *et al.*, 1994 ; Feberwee *et al.*, 2001 ; Clifton-Hadley *et al.*, 2002 ; Woodward *et al.*, 2002 ; Holt *et al.*, 2003). Ces vaccins ont été développés avec des méthodes plutôt empiriques et il manque encore des données scientifiques pour savoir si ceux-ci sont capables de réduire également le taux de contamination des œufs. Les

développements récents en génétique et en biologie moléculaire permettent de construire des souches mutées de *Salmonella* qui ne persistent pas dans les tissus de l'hôte tout en induisant une protection maximale. De tels vaccins génétiquement modifiés ont été testés chez la volaille en conditions expérimentales. Leur autorisation de mise sur le marché est attendue (Zhang-Barber *et al.*, 1999). La vaccination des parentales et des poules pondeuses est sans aucun doute une mesure importante de prévention et de contrôle qui permet de réduire le niveau de contamination de l'ensemble du secteur de la volaille.

A côté des vaccins, on retrouve également sur le marché une gamme impressionnante d'additifs alimentaires anti-*Salmonella* utilisés chez la volaille et grâce auxquels une réduction du niveau de contamination de *Salmonella* est espérée. Ces produits sont destinés à réduire l'excrétion fécale et à réduire aussi la colonisation du tractus digestif. Cette réduction de l'excrétion fécale amènera une diminution des taux de contamination de l'environnement et par conséquent le risque de contamination horizontale devrait diminuer. Des mesures hygiéniques doivent nécessairement être prises simultanément, de sorte que l'hygiène et les additifs puissent agir de concert sur les taux de contamination de l'environnement. Ces produits sont généralement surtout utiles pour les poussins et pour les jeunes animaux. Pour beaucoup d'additifs alimentaires, peu de données scientifiques prouvant leur efficacité sont toutefois disponibles. Tout ceci rend le choix des produits à utiliser difficile pour les éleveurs. A l'heure actuelle, on emploie souvent des préparations à base d'acides, qui sont ajoutés soit à l'eau de boisson, soit aux aliments. Dans ce contexte, l'acide butyrique est un produit prometteur, puisqu'on a prouvé qu'il réduit l'invasion de *Salmonella* dans les cellules épithéliales de l'intestin. Il a été démontré que, même à des concentrations très basses, l'acide butyrique inhibe l'expression des gènes de virulence impliqués dans le phénomène d'invasion (Lawhon *et al.*, 2002 ; Van Immerseel *et al.*, 2004a). De plus, on a trouvé que l'administration d'acide butyrique «protégé» par un enrobage (*coating*) dans les aliments réduit la colonisation de l'intestin des poussins par *Salmonella* (Van Immerseel *et al.*,

2004b). Des acides gras à chaîne moyennement longue (C8–C12) ont les mêmes effets favorables (Van Immerseel *et al.*, 2004c). Par ailleurs, ces derniers produits ont un effet antibactérien assez puissant.

Parmi les additifs anti-*Salmonella* disponibles sur le marché, on retrouve également des prébiotiques. Par définition, les prébiotiques sont des ingrédients des aliments non-digestibles qui ont un effet favorable par la stimulation sélective de la croissance ou de l'activité d'un nombre restreint d'espèces bactériennes déjà présentes dans l'intestin (Gibson et Roberfroid, 1995). La flore intestinale peut transformer ces prébiotiques par fermentation en acides gras volatiles, ce qui peut conduire à une modification de l'ensemble de la flore. Les fructo-oligosaccharides sont, par exemple, des prébiotiques qui stimulent les bifidobactéries et qui stimulent également la production d'acide butyrique. Chez la volaille, on sait depuis bon nombre d'années que compléter la ration avec des fructo-oligosaccharides permet de réduire la colonisation intestinale par *Salmonella* (Bailey *et al.*, 1991). Les manno-oligosaccharides sont un autre exemple de prébiotique qui, après administration par l'aliment, peut réduire le niveau de colonisation par *Salmonella*. Ce dernier manifeste son effet par l'inhibition de l'adhésion de *Salmonella* à la cellule épithéliale. *Salmonella* s'attache à la cellule le plus souvent par l'intermédiaire de fimbriae de type 1, qui peuvent s'attacher sur des résidus mannose au niveau de la cellule intestinale (Spring *et al.*, 2000).

Les probiotiques constituent encore une autre classe d'additifs employés contre les *Salmonella*. Par définition, les probiotiques sont des micro-organismes vivants inclus dans les aliments qui ont un effet favorable sur l'hôte par une amélioration de l'équilibre de la flore intestinale (Fuller, 1989). Chez la volaille, des tests avec des probiotiques ont déjà été réalisés, en particulier avec des lactobacilles (Mulder *et al.*, 1997 ; Pascual *et al.*, 1999). Ces produits ne sont cependant pas encore employés en pratique en Belgique.

Tous ces additifs sont destinés à réduire le niveau de colonisation de l'intestin par *Salmonella*. Leurs effets sur la contamination des œufs reste à déterminer. On peut trouver de plus

amples informations sur l'emploi d'additifs dans les aliments contre les *Salmonella* chez la volaille dans une revue de Van Immerseel et collaborateurs (2002b).

Les produits dits « d'exclusion compétitive » constituent une dernière classe de produits destinés à réduire la colonisation de l'intestin par *Salmonella* (Nurmi and Rantala, 1973). Ces produits sont composés d'un mélange de bactéries non-déterminées, isolées de l'intestin de volailles saines. L'efficacité de ces produits a été démontrée, mais l'incertitude concernant la composition de ceux-ci freine leur emploi dans la pratique.

Toutes les mesures mentionnées ci-dessus seraient vaines si on n'appliquait pas en même temps des pratiques hygiéniques dans les exploitations (Nassar *et al.*, 1994). Le nettoyage et la désinfection après chaque lot, l'application d'un système d'entrée et de sortie des volailles dans les locaux en une seule fois (*all in—all out*) et le contrôle régulier des exploitations sont des mesures complémentaires, essentielles pour garantir le succès des vaccinations et des autres mesures citées. Dans ce contexte, il y a des différences importantes entre poules pondeuses et poulets à l'engraissement, puisque pour les poulets à l'engraissement, la recontamination peut venir aussi bien de l'intérieur des locaux que de l'extérieur, tandis que pour les poules pondeuses, la recontamination provenant de l'intérieur constitue le facteur de risque la plus important. Un programme de lutte contre les *Salmonella* doit également nécessairement inclure des mesures contre les rongeurs et les insectes en tant que vecteurs des salmonelles. On peut également faire des décontaminations physiques ou chimiques de l'eau de boisson et des aliments. L'acidification de l'eau de boisson est une mesure de décontamination qui peut être prise dans les fermes, tandis que l'irradiation et la pasteurisation des aliments sont des mesures à prendre par les firmes d'aliments. La décontamination des œufs à l'aide de désinfectants, qui vise à réduire la contamination de la surface des œufs, est toutefois interdite dans la CE.

Mesures à prendre au niveau de la commercialisation et la consommation

L'objectif d'un programme de lutte contre *Salmonella* est la prévention de la maladie chez l'homme. Etant donné que la grande majorité des cas humains provient de la consommation d'œufs contaminés, il est impératif de prendre toutes les mesures visant une réduction des taux de contamination des œufs. Refroidir les œufs et maintenir une chaîne de froid évite la multiplication des *Salmonella* éventuellement présentes dans les œufs. Il est étonnant de voir qu'une mesure si simple et efficace n'est toujours pas respectée ni dans les grands magasins, ni dans les cuisines. Des campagnes d'information telles que celles mises en œuvre par l'AFSCA (Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, 2004) et l'introduction de certaines obligations dans la chaîne de commercialisation pourraient éviter beaucoup de problèmes. Pour les personnes âgées, les bébés et les personnes immunodéprimées, des précautions particulières devraient être prises.

LA LEGISLATION ET LES PROGRAMMES DE LUTTE

En 1992, le Conseil européen a approuvé la directive 92/117/CE concernant les mesures à prendre contre certaines zoonoses et agents zoonotiques déterminés chez les animaux et dans les denrées alimentaires d'origine animale afin d'éviter des toxi-infections alimentaires. Dans cette directive on proposait de mettre en place un programme de surveillance et de prendre des mesures en cas de détection d'une infection à *S. Enteritidis* ou *Typhimurium* dans les exploitations de poules reproductrices. La directive demandait également aux Etats membres d'informer la Commission sur les mesures prises. Quelques années plus tard, on s'est rendu compte que la prise de mesures uniquement au niveau des poules reproductrices n'avait que très peu d'effet sur la prévalence des cas humains de salmonellose. Ceci est dû essentiellement à la transmission horizontale très importante au niveau des exploitations de production, tant en production d'œufs qu'en production de viande. En outre, les données épidémiologiques disponibles pour les différents Etats membres étaient incomplètes et difficiles à comparer.

En 2003, le Parlement européen et le Conseil ont voté la directive

2003/99/CE qui a pour objectif de garantir que les zoonoses, les agents zoonotiques et la résistance antimicrobienne associée soient adéquatement surveillés et que les foyers de toxoinfection alimentaire fassent l'objet d'une étude épidémiologique adéquate, afin que les informations nécessaires puissent être recueillies dans la Communauté en vue d'en évaluer les tendances et les sources. La même année, le Parlement européen et le Conseil européen ont également voté le règlement 2160/2003/CE qui a pour objectif de faire en sorte que soient prises des mesures adaptées et efficaces pour détecter et contrôler les salmonelles et d'autres agents zoonotiques à tous les stades pertinents de la production, de la transformation et de la distribution, en particulier au niveau de la production primaire, y compris dans l'alimentation animale, de manière à réduire leur prévalence et le risque qu'ils représentent pour la santé publique. Les Etats Membres sont maintenant obligés de mettre en place des programmes nationaux de lutte. Des objectifs précis seront déterminés par la CE et ceux-ci doivent être atteints par les Etats membres en respectant un échéancier (tableau V). La CE décidera si les programmes de lutte nationaux sont acceptables. Ces programmes doivent inclure un échantillonnage pour la détection des zoonoses et des agents zoonotiques. Les exigences minimales d'échantillonnage sont fixées. Chez les poules reproductrices, l'échantillonnage doit être fait au jour 1, à 4 semaines et à 2 semaines avant l'entrée en ponte ou le passage à l'unité de ponte. Chez les poules reproductrices en reproduction, on est obligé de prendre des échantillons toutes les 2 semaines pendant la période de ponte. Chez les poules pondeuses, on doit prendre des échantillons à l'âge d'un jour et à 2 semaines avant l'entrée en ponte ou le passage à l'unité de ponte. Pendant la période de ponte on doit prendre des échantillons toutes les 15 semaines. Chez les poulets à l'engrais on doit prendre des échantillons avant l'abattage et les résultats de l'analyse doivent être connus avant que les animaux partent pour l'abattoir. Les programmes nationaux de lutte doivent nécessairement définir les responsabilités respectives de l'autorité compétente et des exploitants et préciser les mesures à prendre en cas de détection d'une zoonose ou d'un agent zoonotique, en vue de protéger la

santé publique. En cas de détection d'une infection à *S. Enteritidis* ou *S. Typhimurium* dans une exploitation de poules reproductrices, on est obligé de détruire les œufs qui n'ont pas encore été envoyés au couvoir. Cependant, ces œufs peuvent éventuellement être consommés s'ils subissent un traitement qui garantit l'élimination de *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium*. Tous les animaux dans une exploitation trouvée positive doivent être détruits ou abattus de manière à réduire le plus possible le risque de propagation des salmonelles, même si ce sont des poussins d'un jour. Les œufs d'une telle exploitation doivent également être détruits ou traités comme décrit ci-dessus. A partir de décembre 2009, les œufs frais ne pourront plus être commercialisés que s'ils proviennent d'une exploitation qui participe au programme national de lutte et qui ne fait pas l'objet de restrictions officielles. Des œufs, provenant d'une exploitation dont le statut sanitaire est inconnu ou suspect ou confirmé d'être infecté, doivent être traités de manière à garantir l'élimination de tous les sérotypes de salmonelles pouvant constituer un risque pour la santé publique. A partir de décembre 2010, les viandes fraîches de volaille ne pourront plus être vendues pour la consommation que lorsque l'absence de *Salmonella* dans 25 grammes pourra être démontrée. Enfin, les programmes nationaux doivent contenir des dispositifs permettant d'évaluer le progrès de ceux-ci. Ils doivent couvrir tous les aspects, allant de la production des aliments pour volaille, à travers la production primaire animale, jusqu'à la transformation, la préparation et la distribution des denrées alimentaires.

CONCLUSION

Même si les niveaux de contamination par *Salmonella* chez la volaille ont graduellement baissé ces dernières années, le nombre de cas sporadiques et d'épidémies de salmonellose chez l'homme où les œufs sont impliqués comme source de contamination reste très élevé. Ce sont surtout les contaminations des œufs par le sérotype *Enteritidis* qui posent problème. C'est la raison pour laquelle les efforts et les mesures à prendre dans le cadre d'un programme de lutte doivent être dirigés, en premier lieu, sur *S. Enteritidis*

et, en deuxième lieu, sur les autres sérotypes qui sont fréquemment impliqués dans les cas de salmonellose chez l'homme, comme *S. Typhimurium*.

L'éradication des salmonelles chez la volaille est probablement une utopie. Cependant l'objectif à long terme des programmes de lutte est sans aucun doute l'élimination de toute infection à *Salmonella* dans les œufs et, si possible, aussi dans la viande de volaille. Ceci devrait fortement réduire les cas humains de salmonellose. Des mesures de protection, telles que la vaccination, contribueront certainement à réduire les niveaux de contamination. De telles mesures n'auront cependant d'effet que dans le cadre d'une approche globale qui inclut également des mesures hygiéniques et d'autres mesures complémentaires. Les bonnes pratiques d'hygiène de l'abattage sont très importantes à cet égard. Aussi des mesures simples comme la réfrigération des œufs durant la conservation seraient très avantageuses. Ceci constitue un challenge dont la responsabilité incombe au secteur avicole et à son entourage, y inclus les vétérinaires, les éleveurs, les chercheurs, les décideurs et les consommateurs. Tous doivent collaborer pour que la lutte contre ce pathogène majeur devienne un succès.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la division Recherche contractuelle, Direction Générale IV du Service Public Fédéral Santé Publique, Protection de la chaîne alimentaire et Environnement, pour la subvention des recherches sur la salmonellose aviaire, menées à la faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Gand.

BIBLIOGRAPHIE

- AGENCE FEDERALE POUR LA SECURITE DE LA CHAINE ALIMENTAIRE Sous le slogan "été pourri ? non merci!" l'Agence alimentaire lance 3 campagnes. *Bull. Agence Féd. Sécur. Chaîne Aliment.*, 2004, **7**, 2-3.
- ALTEKRUSE S., KOEHLER J., HICKMAN-BRENNER F., TAUXE R.V., FERRIS K. A comparison of *Salmonella* enteritidis phage types from egg-associated outbreaks and implicated laying flocks. *Epidemiol. Infect.*, 1993, **110**, 17-22.
- ASERKOFF B., SCHROEDER S.A., BRACHMAN P.S. Salmonellosis in the United States, a five-year review. *Am. J. Epidemiol.*, 1970, **92**, 13-24.
- BABIOR B.M. The respiratory burst oxidase. *Curr. Opin. Hematol.*, 1995, **2**, 55-60.
- BAILEY J.S., BLANKENSHIP L.C., COX N.A. Effect of fructooligosaccharide on *Salmonella* colonization of the chicken intestine. *Poult. Sci.*, 1991, **70**, 2433-2438.
- BAILEY J.S., COX N.A., CRAVEN S.E., COSBY D.E. Serotype tracking of *Salmonella* through integrated broiler chicken operations. *J. Food Prot.*, 2002, **65**, 742-745.
- BARROW P.A. Virulence of *Salmonella* enterica serovar Enteritidis. In : Saeed, A.M. (ed.), *Salmonella enterica serovar Enteritidis in humans and animals*. Iowa State University Press : Ames, 1999, 173-181.
- BARROW P.A., LOVELL M.A. Experimental infection of egg-laying hens with *Salmonella* Enteritidis phage type 4. *Avian Pathol.*, 1991, **20**, 335-348.
- BERRANG M.E., FRANK J.F., BUHR R.J., BAILEY J.S., COX N.A. Eggshell membrane structure and penetration by *Salmonella* Typhimurium. *J. Food Protect.*, 1999, **62**, 73-76.
- BICHLER L.A., NAGARAJA K.V., HALVORSON D.A. *Salmonella* Enteritidis in eggs, cloacal swab specimens, and internal organs of experimentally infected White Leghorn chickens. *Am. J. Vet. Res.*, 1996, **57**, 489-495.
- BUCHMEIER N.A., LIBBY S.J., XU Y., LOEWEN P.C., SWITALA J., GUINEY D.G., FANG F.C. DNA repair is more important than catalase for *Salmonella* virulence in mice. *J. Clin. Invest.*, 1995, **95**, 1047-1053.
- BUCHMEIER N., BOSSIE S., CHEN C.Y., FANG F.C., GUINEY D.G., LIBBY S.J. SlyA, a transcriptional regulator of *Salmonella* Typhimurium, is required for resistance to oxidative stress and is expressed in the intracellular environment of macrophages. *Infect. Immun.*, 1997, **65**, 3725-3730.
- BUSANI L., GRAZIANI C., BATTISTI A., FRANCO A., RICCI A., VIO D., DIGIANNATALE E., PATERLINI F., D'INCAU M., OWCZAREK S., CAPRIOLI A., LUZZI I. Antibiotic resistance in *Salmonella* enterica serotypes Typhimurium, Enteritidis and Infantis from human infections, foodstuffs and farm animals in Italy. *Epidemiol. Infect.*, 2004, **132**, 245-251.
- BYGRAVE A.C., GALLAGHER J. Transmission of *Salmonella* Enteritidis in poultry. *Vet. Rec.*, 1989, **124**, 333.
- CLIFTON-HADLEY F.A., BRESLIN M., VENABLES L.M., SPRIGINGS K.A., COOLES S.W., HOUGHTON S., WOODWARD M.J. A laboratory study of an inactivated bivalent iron restricted *Salmonella* enterica serovars Enteritidis and Typhimurium dual vaccine against Typhimurium challenge in chickens. *Vet. Microbiol.*, 2002, **89**, 167-179.
- CONSEIL EUROPEEN. Directive 92/117/CEE du 17 décembre 1992 concernant les mesures de protection contre certaines zoonoses et certains agents zootiques chez les animaux et dans les produits d'origine animale, en vue de prévenir les foyers d'infection et d'intoxication dus à des denrées alimentaires. *J. Off. Comm. Eur.*, 1993, **L62**, 38-48.
- CORNELIS G.R., VAN GIJSEGEM F. Assembly and function of type III secretory systems. *Annu. Rev. Microbiol.*, 2000, **54**, 735-774.
- COWDEN J.M., CHISHOLM D., O'MAHONY M., LYNCH D., MAWER S.L., SPAIN G.E., WARD L., ROWE B. Two outbreaks of *Salmonella* enteritidis phage type 4 infection associated with the consumption of fresh shell-egg products. *Epidemiol. Infect.*, 1989, **103**, 47-52.
- CRUCHAGA S., ECHEITA A., ALADUENA A., GARCIA-PENA J., FRIAS N., USERA M.A. Antimicrobial resistance in *Salmonellae* from humans, food and animals in Spain in 1998. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2001, **47**, 315-321.
- DAVIES R.H., HINTON M.H. *Salmonella* in animal feed. In : Wray, A., Wray, C. (eds.), *Salmonella in domestic animals*. CAB International : Oxford, 2000, 285-300.
- DE BUCK J., VAN IMMERSEEL F., HAESEBROUCK F., DUCATELLE R. Effect of type 1 fimbriae of *Salmonella* enterica serotype Enteritidis on bacteremia and reproductive tract infection in laying hens. *Avian Pathol.*, 2004a, **33**, 314-320.
- DE BUCK J., VAN IMMERSEEL F., HAESEBROUCK F., DUCATELLE R. Colonization of the chicken reproductive tract and egg contamination by *Salmonella*. *J. Appl. Microbiol.* 2004b, **97**, 233-245.
- DELAROCQUE-ASTAGNEAU E., DESENCLOS J.C., BOUVET P., GRIMONT P.A. Risk factors for the occurrence of sporadic *Salmonella* enterica serotype enteritidis infections in children in France: a national case-control study. *Epidemiol. Infect.*, 1998, **121**, 561-567.
- DE LOUVOIS J. *Salmonella* contamination of eggs: a potential source of human salmonellosis: a report of the public Health Laboratory Service survey of imported and home-produced egg. *PHLS Microbiol. Dig.*, 1993, **10**, 158-162.
- DESMIDT M., DUCATELLE R., HAESEBROUCK F. Pathogenesis of *Salmonella* Enteritidis phage type four after experimental infection of young chickens. *Vet. Microbiol.*, 1997, **56**, 99-109.

- DESMIDT M., DUCATELLE R., MAST J., GODDEERIS B.M., KASPERS B., HAESBROUCK, F. Role of the humoral immune system in *Salmonella* enteritidis phage type four infection in chickens. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1998, **63**, 355-367.
- DIBB-FULLER M.P., ALLEN-VERCOE E., THORNS C.J., WOODWARD M.J. Fimbriae- and flagella-mediated association with and invasion of cultures epithelial cells by *Salmonella* Enteritidis. *Microbiology*, 1999, **145**, 1023-1031.
- EJIDOKUN O.O., KILLALEA D., COOPER M., HOLMYARD S., CROSS A., KEMP C. Four linked outbreaks of *Salmonella* enteritidis phage type 4 infection: the continuing egg threat. *Commun. Dis. Public Health*, 2000, **3**, 95-100.
- EUROPEAN COMMISSION HEALTH AND CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL. *Salmonella* and Food-borne Diseases – Zoonoses reports for 2002. Trends and sources of zoonotic agents in animals, feedingstuffs, food and man in the European Union and Norway in 2002. [en ligne] (01/02/2005) Adresse URL : http://europa.eu.int/comm/food/food/biosafety/salmonella/zoonoses_resp_2002_en.htm Consulté le 1/02/2005.
- HEALTH PROTECTION AGENCY International surveillance network for human gastrointestinal infections. [en ligne] (14/10/2004) Adresse URL : http://www.hpa.org.uk/infections/topics_az/salmonella/e_update.htm Consulté le 1/02/2005.
- FEBERWEE A., DE VRIES T.S., HARTMAN E.G., DE WIT J.J., ELBERS A.R., DE JONG W.A. Vaccination against *Salmonella* enteritidis in Dutch commercial layer flocks with a vaccine based on a live *Salmonella* gallinarum 9R strain : evaluation of efficacy, safety, and performance of serologic *Salmonella* tests. *Avian Dis.*, 2001, **45**, 83-91.
- FISHER I.S.T. International trends in *Salmonella* serotypes 1998-2003 : a surveillance report from the Enter-net international surveillance network. *Eurosurveillance*, 2005a, **9**, 9-10.
- FISHER I.S.T. Dramatic shift in the epidemiology of *Salmonella* enterica serotype Enteritidis phage types in western Europe, 1998-2003 : results from the Enter-net international *salmonella* database. *Eurosurveillance*, 2005b, **9**, 7-8.
- FULLER R. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, 1989, **66**, 365-378.
- GALÁN J.E., COLLMER A. Type III secretion machines : bacterial devices for protein delivery into host cells. *Science*, 1999, **284**, 1322-1328.
- GARBER L., SMELTZER M., FEDORKA-CRAY P., LADELY S., FERRIS K. *Salmonella* enterica serotype enteritidis in table egg layer house environments and in mice in U.S. layer houses and associated risk factors. *Avian Dis.*, 2003, **47**, 134-142.
- GAST R.K., BEARD C.W. Isolation of *Salmonella* Enteritidis from internal organs of experimentally infected hens. *Avian Dis.*, 1990a, **34**, 991-993.
- GAST R.K., BEARD C.W. Production of *Salmonella* Enteritidis-contaminated eggs by experimentally infected hens. *Avian Dis.*, 1990b, **34**, 438-446.
- GAST R.K., BEARD C.W. Recovery of *Salmonella* Enteritidis from inoculated pools of egg contents. *J. Food Protect.*, 1993, **56**, 21-24.
- GIBSON G.R., ROBERFROID M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota : introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, 1995, **125**, 1401-1412.
- GLYNN M.K., BOPP C., DEWITT W., DABNEY P., MOKHTAR M., ANGULO, F.J. Emergence of multi-drug-resistant *Salmonella* enterica serotype Typhimurium DT104 infections in the United States. *N. Engl. J. Med.*, 1998, **338**, 1333-1338.
- GRADEL K.O., RATTENBORG E. A questionnaire-based retrospective field study of persistence of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in Danish broiler houses. *Prev. Vet. Med.*, 2003, **56**, 267-284.
- GUARD-PETTER J., HENZLER D.J., RAHMAN M.M., CARLSON R.W. On-farm monitoring of mouse-invasive *Salmonella* enterica serovar enteritidis and a model for its association with the production of contaminated eggs. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1997, **63**, 1588-1593.
- HALD B., OLSEN A., MADSEN M. Typhaea stercorea (Coleoptera: Mycetophagidae), a carrier of *Salmonella* enterica serovar Infantis in a Danish broiler house. *J. Econ. Entomol.*, 1998, **91**, 660-664.
- HAYES S., NYLEN G., SMITH R., SALMON R.L., PALMER S.R. Undercooked hens eggs remain a risk factor for sporadic *Salmonella* enteritidis infection. *Commun. Dis. Public. Health.*, 1999, **2**, 66-67.
- HENNESSY T.W., HEDBERG C.W., SLUTSKER L., WHITE K.E., BESSER-WIEK J.M., MOEN M.E., FELDMAN J., COLEMAN W.W., EDMONSON L.M., MACDONALD K.L., OSTERHOLM M.T. A national outbreak of *Salmonella* enteritidis infections from ice cream. The Investigation Team. *N. Engl. J. Med.*, 1996, **334**, 1281-1286.
- HENSEL M. *Salmonella* pathogenicity Island 2. *Mol. Microbiol.*, 2000, **36**, 1015-1023.
- HENZLER D.J., EBEL E., SANDERS J., KRADEL D., MASON J. *Salmonella* enteritidis in eggs from commercial chicken layer flocks implicated in human outbreaks. *Avian Dis.*, 1994, **38**, 37-43.
- HOLT P.S., GAST R.K., KELLY-AEHLE S. Use of a live attenuated *Salmonella* typhimurium vaccine to protect hens against *Salmonella* Enteritidis infection while undergoing molt. *Avian Dis.*, 2003, **47**, 656-661.
- HOOP R.K., POSPISCHIL A. Bacteriological, serological, histological and immunohistochemical findings in laying hens with naturally acquired *Salmonella* Enteritidis phage type 4 infection. *Vet. Rec.*, 1993, **133**, 391-393.
- HUECK C.J. Type III secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 1998, **62**, 379-433.

- HUMPHREY T.J. Contamination of egg shell and contents with *Salmonella* Enteritidis : a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 1994, **21**, 31-40.
- HUMPHREY T.J., CHART H., BASKERVILLE A., ROWE B. The influence of age on the response of SPF hens to infection with *Salmonella* Enteritidis PT4. *Epidemiol. Infect.*, 1991b, **106**, 33-43.
- HUMPHREY TJ, MEAD GC, ROWE B. Poultry meat as a source of human salmonellosis in England and Wales. Epidemiological overview. *Epidemiol. Infect.*, 1988, **100**, 175-184.
- HUMPHREY T.J., WHITEHEAD A., GAWLER A.H.L., HENLEY A., ROWE B. Numbers of *Salmonella* Enteritidis in the contents of naturally contaminated hens' eggs. *Epidemiol. Infect.*, 1991c, **106**, 489-496.
- JAVED T., HAMEED A., SIDDIQUE M. Egg shell penetration tendency of different *Salmonella* serotypes by attached ring color method. *Acta Microbiol. Pol.*, 1994, **43**, 67-72.
- JESENBERGER V., PROCYK K.J., YUAN J., REIPERT S., BACCARINI M. *Salmonella* induced caspase-2 activation in macrophages : a novel mechanism in pathogen-mediated apoptosis. *J. Exp. Med.*, 2000, **192**, 1035-1046.
- KELLER L.H., BENSON C.E., KROTEK K., ECKROADE R.J. *Salmonella* Enteritidis colonization of the reproductive tract and forming and freshly laid eggs. *Infect. Immun.*, 1995, **63**, 2443-2449.
- KENNEDY M., VILLAR R., VUGIA D.J., RABATSKY-EHR T., FARLEY M.M., PASS M., SMITH K., SMITH P., CIESLAK P.R., IMHOFF B., GRIFFIN P.M. Hospitalizations and deaths due to *Salmonella* infections, FoodNet, 1996-1999. *Clin. Infect. Dis.*, 2004, **15**, 142-148.
- KIMURA A.C., REDDY V., MARCUS R., CIESLAK P.R., MOHLE-BOETANI J.C., KASSENBOG H.D., SEGLER S.D., HARDNETT F.P., BARRETT T., SWERDLOW D.L. Chicken consumption is a newly identified risk factor for sporadic *Salmonella* enterica serotype Enteritidis infections in the United States : a case-control study in FoodNet sites. *Clin. Infect. Dis.*, 2004, **38**, 244-252.
- KNODLER L.A., FINLAY B.B. *Salmonella* and apoptosis. *Microbes Infect.*, 2001, **3**, 1321-1326.
- KWON Y.M., RICKE S.C. Induction of acid resistance of *Salmonella* Typhimurium by exposure to short-chain fatty acids. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, **64**, 3458-3463.
- LAWHON S.D., MAURER R., SUYEMOTO M., ALTIER C. Intestinal short-chain fatty acids alter *Salmonella* typhimurium invasion gene expression and virulence through BarA/SirA. *Mol. Microbiol.*, 2002, **46**, 1451-1464.
- LEE J.A. Recent trends in human salmonellosis in England and Wales: the epidemiology of prevalent serotypes other than *Salmonella* typhimurium. *J. Hyg.*, 1974, **72**, 185-95.
- LIEBANA E., GARCIA-MIGURA L., CLOUTING C., CLIFTON-HADLEY F.A., BRESLIN M., DAVIES R.H. Molecular fingerprinting evidence of the contribution of wildlife vectors in the maintenance of *Salmonella* Enteritidis infection in layer farms. *J. Appl. Microbiol.*, 2003, **94**, 1024-1029.
- LOSTROH C.P., LEE C.A. The *Salmonella* Pathogenicity Island-1 type III secretion system. *Microbes Infect.*, 2001, **3**, 1281-1291.
- LUNDBERG B.E., WOLF R.E., DINAUE, M.C., XU Y., FANG F.C. Glucose 6-phosphate dehydrogenase is required for *Salmonella* Typhimurium virulence and resistance to reactive oxygen and nitrogen intermediates. *Infect. Immun.*, 1999, **67**, 436-438.
- MAWER S.L., SPAIN G.E., ROWE B. *Salmonella* Enteritidis phage type 4 and hens'eggs. *Lancet*, 1989, **1**, 280-281.
- McILROY, S.G., McCRACKEN, R.M. The current status of the *Salmonella* enteritidis control programme in the United Kingdom. In : Proceedings of the 94th Annual Meeting of the United States Animal Health Association, Carter Printing, Richmond, Virginia, 1990, 450-462.
- MEAD P.S., SLUTSKER L., DIETZ V., MCCAIG L.F., BRESEE J.S., SHAPIRO C., GRIFFIN P.M., TAUXE R.V. Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.*, 1999, **5**, 607-625.
- METHNER U., AL-SHABIBI S., MEYER H. Experimental oral infection of specific pathogen-free laying hens and cocks with *Salmonella* Enteritidis strains. *J. Vet. Med.*, 1995, **42**, 459-469.
- MISHU B., KOEHLER J., LEE L.A., RODRIGUE D., BRENNER F.H., BLAKE P. and TAUXE R.V. Outbreaks of *Salmonella* Enteritidis infections in the United States, 1985-1991. *J. Infect. Dis.*, 1994, **169**, 547-552.
- MIYAMOTO T., BABA E., TANAKA T., SASAI K., FUKATA T., ARAKAWA A. *Salmonella* Enteritidis contamination of eggs from hens inoculated by vaginal, cloacal and intravenous routes. *Avian Dis.*, 1997, **41**, 296-303.
- MIYAMOTO T., HORIE T., BABA E., SASAI K., FUKATA T., ARAKAWA A. *Salmonella* penetration through eggshell associated with freshness of laid eggs and refrigeration. *J. Food Protect.*, 1998, **61**, 350-353.
- MOHLE-BOETANI J.C., WERNER S.B., ABBOTT S., BENDANA N., BRYANT R., FENSTERSHEIB M., GINSBERG M., GRESHAM L., KOEHLER J., MASCOLA L. *Salmonella* enteritidis infections from shell eggs: outbreaks in California. *West J. Med.*, 1998, **169**, 299-303.
- MULDER R.W. Safe poultry meat production in the next century. *Acta Vet. Hung.*, 1997, **45**, 307-315.
- MUMMA G.A., GRIFFIN P.M., MELTZER M.I., BRADEN C.R., TAUXE R.V. Egg quality assurance programs and egg-associated *Salmonella* enteritidis infections, United States. *Emerg. Infect. Dis.*, 2004, **10**, 1782-1789.

- NASSAR T.J., AL-NAKHLI H.M., AL-OGAILY Z.H. Use of live and inactivated *Salmonella* Enteritidis phage type 4 vaccines to immunise laying hens against experimental infection. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 1994, **13**, 855-867.
- NURMI E., RANTALA M. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. *Nature*, 1973, **241**, 210-211.
- OKAMURA M., KAMIJIMA Y., MIYAMOTO T., TANI H., SASAI K., BABA E. Differences among six *Salmonella* serovars in abilities to colonize reproductive organs and to contaminate eggs in laying hens. *Avian Dis.*, 2001a, **45**, 61-69.
- OKAMURA M., MIYAMOTO T., KAMIJIMA Y., TANI H., SASAI K., BABA E. Differences in abilities to colonize reproductive organs and to contaminate eggs in intravaginally inoculated hens and in vitro adherences to vaginal explants between *Salmonella* Enteritidis and other *Salmonella* serovars. *Avian Dis.*, 2001b, **45**, 962-971.
- OLSEN AR, HAMMACK TS. Isolation of *Salmonella* spp. from the housefly, *Musca domestica* L., and the dump fly, *Hydrotaea aenescens* (Wiedemann) (Diptera: Muscidae), at caged-layer houses. *J. Food Protect.*, 2000, **63**, 958-960.
- PARLEMENT EUROPEEN ET CONSEIL EUROPEEN. Directive du 17 novembre 2003 sur la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques, modifiant la décision 90/424/CEE du Conseil et abrogeant la directive 92/117/CEE du Conseil. *J. Off. Commun. Eur.*, 2003, **L325**, 31-40.
- PARLEMENT EUROPEEN ET CONSEIL EUROPEEN. Règlement du 17 novembre 2003 sur le contrôle des salmonelles et d'autres agents zoonotiques spécifiques présents dans la chaîne alimentaire. *J. Off. Commun. Eur.*, 2003, **L325**, 1-15.
- PARRY S.M., PALMER S.R., SLADER J., HUMPHREY T. Risk factors for *Salmonella* food poisoning in the domestic kitchen: a case control study. *Epidemiol. Infect.*, 2002, **129**, 277-285.
- PASCUAL M., HUGAS M., BADIOLA J.I., MONFORT J.M., GARRIGA M. Lactobacillus salivarius CTC2197 prevents *Salmonella* enteritidis colonization in chickens. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, **65**, 4981-4986.
- PATRICK M.E., ADCOCK, P.M., GOMEZ T.M., ALTEKRUSE S.F., HOLLAND B.H., TAUXE R.V., SWERDLOW D.L. *Salmonella* Enteritidis infections, United States, 1985-1999. *Emerg. Infect. Dis.*, 2004, **10**, 1-7.
- PLUMMER R.A.S., BLISSETT S.J., DODD C.E.R. *Salmonella* Contamination of Retail Chicken Products Sold in the UK. *J. Food Protect.*, 1995, **58**, 843-846.
- POPPE C. Epidemiology of *Salmonella* enterica serovar Enteritidis. In: Saeed AM, Gast RK, Potter ME, Wall PG (eds.) *Salmonella* enterica serovar Enteritidis in humans and animals. Epidemiology, pathogenesis and control. Iowa State University Press : Ames, 1999, 3-18.
- POPPE C. *Salmonella* infections in the domestic fowl. In: Wray, C. and Wray, A. (eds.), *Salmonella* in domestic animals. CAB International: Oxon, 2000, 107-132.
- PRICE K.A., KELLER L.H., DAVISON S., ECKROADE R.J. Optimal parameters of incubation for detection of *Salmonella* Enteritidis contamination in Grade A table eggs by monoclonal antibody-based ELISA. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1995, **7**, 265-268.
- RABSCH W., HARGIS B.M., TSOLIS R.M., KINGSLEY R.A., HINZ K.H., TSCHAPE H., BAUMLER A.J. Competitive exclusion of *Salmonella* enteritidis by *Salmonella* gallinarum in poultry. *Emerg. Infect. Dis.*, 2000, **6**, 443-8.
- RABSCH W., TSCHAPE H., BAUMLER A.J. Non-typhoidal salmonellosis: emerging problems. *Microbes Infect.*, 2001, **3**, 237-247.
- RAMPLING A. *Salmonella* enteritidis five years on. *Lancet*, 1993, **342**, 317-318.
- RENWICK S. A., IRWIN R. J., CLARKE R. C., McNAB W. B., POPPE C., McEWEN S.A. Epidemiological associations between characteristics of registered broiler chicken flocks in Canada and the *Salmonella* culture status of floor litter and drinking water. *Can. Vet. J.*, 1992, **33**, 449-458.
- RODRIGUE D.C., TAUXE R.V., ROWE B. International increase in *Salmonella* enteritidis: a new pandemic? *Epidemiol. Infect.*, 1990, **105**, 21-27.
- SCHMID H., BURNENS A.P., BAUMGARTNER A., OBERREICH J. Risk factors for sporadic salmonellosis in Switzerland. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1996, **15**, 725-732.
- SCHUTZE G.E., FAWCETT H.A., LEWNO M.J., FLICE E.L., KIRBY R.S. Prevalence of *Salmonella* Enteritidis in poultry shell eggs in Arkansas. *South Med. J.*, 1996, **89**, 889-891.
- SHIVAPRASAD H.L., TIMONEY J.F., MORALES S., LUCIO, B., BAKER, R.C. Pathogenesis of *Salmonella* Enteritidis infection in laying chickens. I. Studies on egg transmission, clinical signs, fecal shedding, and serologic responses. *Avian Dis.*, 1990, **34**, 548-557.
- SPRING P., WENK C., DAWSON K.A., NEWMAN K.E. The effects of dietary mannaoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of *Salmonella*-challenged broiler chicks. *Poult. Sci.*, 2000, **79**, 205-211.
- ST LOUIS M.E., MORSE D.L., POTTER M.E., DEMELFI T.M., GUZEWICH J.J., TAUXE R.V., BLAKE P.A. The emergence of grade A eggs as a major source of *Salmonella* enteritidis infections: new implications for the control of salmonellosis. *J. Am. Med. Assoc.*, 1988, **259**, 2103-2107.
- SKOV M.N., SPENCER A.G., HALD B., PETERSEN L., NAUERBY B., CARSTENSEN B., MADSEN M. The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella* enterica and thermophilic *Campylobacter* spp. between broiler flocks. *Avian Dis.*, 2004, **48**, 9-18.

- TELZAK E.E., BUDNICK L.D., GREENBERG M.S., BLUM S., SHAYEGANI M., BENSON C.E., SCHULTZ S. A nosocomial outbreak of *Salmonella* enteritidis infection due to the consumption of raw eggs. *N. Engl. J. Med.*, 1990, **323**, 394-397.
- THRELFALL E.J. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and water-borne infections. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2002, **26**, 141-148.
- THRELFALL E.J., TEALE C.J., DAVIES R.H., WARD L.R., SKINNER J.A., GRAHAM A., CASSAR C., SPEED K. A comparison of antimicrobial susceptibilities in nontyphoidal *Salmonellas* from humans and food animals in England and Wales in 2000. *Microb. Drug Resist.*, 2003, **9**, 183-189.
- TIMONEY J.F., SHIVAPRASAD H.L., BAKER R.C., ROWE B. Egg transmission after infection of hens with *Salmonella* Enteritidis phage type 4. *Vet. Rec.*, 1989, **125**, 600-601.
- UZZAU S., BROWN D.J., WALLIS T., RUBINO S., LEORI G., BERNARD S., CASADESÚS J., PLATT D.J., OLSEN J.E. Host adapted serotypes of *Salmonella* enterica. *Epidemiol. Infect.*, 2000, **125**, 229-255.
- VAN DER VELDEN A.W., LINDGREN S.W., WORLEY M.J., HEFFRON F. *Salmonella* pathogenicity island I-independent induction of apoptosis in infected macrophages by *Salmonella* enterica serotype Typhimurium. *Infect. Immun.*, 2000, **68**, 5702-5709.
- VAN DUIJKEREN E., WANNET W.J., HOUWERS D.J., VAN PELT W. Serotype and phage type distribution of *Salmonella* strains isolated from humans, cattle, pigs, and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, **40**, 3980-3985.
- VAN DUIJKEREN E., WANNET W.J., HOUWERS D.J., VAN PELT W. Antimicrobial susceptibilities of *Salmonella* strains isolated from humans, cattle, pigs, and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, **41**, 3574-3578.
- VAN IMMERSEEL F., DE BUCK J., DE SMET I., HAESBROUCK F. AND DUCATELLE, R. Dynamics of immune cell infiltration in the caecal lamina propria of chickens after neonatal infection with a *Salmonella* Enteritidis strain. *Dev. Comp. Immunol.*, 2002a, **26**, 355-364.
- VAN IMMERSEEL F., CAUWERTS K., DEVRIESE L.A., HAESBROUCK F., DUCATELLE R. Feed additives to control *Salmonella* in poultry. *World Poult. Sci. J.*, 2002b, **58**, 501-513.
- VAN IMMERSEEL F., DE BUCK J., DE SMET I., PASMANS F., HAESBROUCK F., DUCATELLE R. Interactions of butyric acid- and acetic acid-treated *Salmonella* with chicken primary cecal epithelial cells in vitro. *Avian Dis.*, 2004a, **48**, 384-391.
- VAN IMMERSEEL F., FIEVEZ V., DE BUCK J., PASMANS F., MARTEL A., HAESBROUCK F., DUCATELLE R. Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella* enteritidis in young chickens. *Poult. Sci.*, 2004b, **83**, 69-74.
- VAN IMMERSEEL F., DE BUCK J., BOYEN F., BOHEZ L., PASMANS F., VOLF J., SEVCIK M., RYCHLIK I., HAESBROUCK F., DUCATELLE R. Medium-chain fatty acids decrease colonization and invasion through *hilA* suppression shortly after infection of chickens with *Salmonella* enterica serovar Enteritidis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004c, **70**, 3582-3587.
- VAZQUEZ-TORRES A., FANG F.C. *Salmonella* evasion of the NADPH phagocyte oxidase. *Microbes Infect.*, 2001, **3**, 1313-1320.
- VIMAL D.B., KHULLAR M., GUPTA S., GANGULY N.K. Intestinal mucins: the binding sites for *Salmonella* typhimurium. *Mol. Cell. Biochem.*, 2000, **204**, 107-117.
- WANG H., SLAVIK M.F. Bacterial penetration into eggs washed with various chemicals and stored at different temperatures and times. *J. Food Protect.*, 1998, **61**, 276-279.
- WILSON IG. Antimicrobial resistance of *Salmonella* in raw retail chickens, imported chicken portions, and human clinical specimens. *J. Food Protect.*, 2004, **67**, 1220-1225.
- WOODWARD M.J., GETTINBY G., BRESLIN M.F., CORKISH J.D., HOUGHTON S. The efficacy of Salenvac, a *Salmonella* enterica subsp. Enterica serotype Enteritidis iron-restricted bacterin vaccine, in laying chickens. *Avian Pathol.*, 2002, **31**, 383-392.
- WYBO I., WILDEMAUWE C., GODARD C., BERTRAND S., COLLARD J.M. Surveillance of antimicrobial drug resistance in nontyphoid human *Salmonella* in Belgium: trends for 2000-2002. *Acta Clin. Belgica*, 2004, **59**, 152-160.
- ZHANG-BARBER L., TURNER A.K., BARROW P.A. Vaccination for control of *Salmonella* in poultry. *Vaccine*, 1999, **17**, 2538-2545.
- ZHOU D., GALÁN J. *Salmonella* entry into host cells: the work in concert of type III secreted effector proteins. *Microbes Infect.*, 2001, **3**, 1293-1298.