

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ILLUSTRATIONS -----	6
INTRODUCTION -----	9
1^{ÈRE} PARTIE : SALMONELLES ET SALMONELLOSES-----	11
I. LES SALMONELLES-----	13
A. TAXONOMIE ET NOMENCLATURE -----	13
1. <i>Habitat</i> - -----	14
2. <i>Caractères culturaux</i> -----	14
3. <i>Caractères biochimiques</i> -----	15
4. <i>Marqueurs épidémiologiques</i> -----	16
a) <i>Le biotype</i> -----	16
b) <i>Le sérotype</i> -----	16
(1) Les antigènes de capsule -----	17
(2) Les antigènes de paroi ou antigènes somatiques ou antigènes O----- 17	17
(3) Les antigènes flagellaires ou antigènes H -----	18
c) <i>La lysotypie</i> -----	19
d) <i>La bactériocinotypie</i> -----	19
e) <i>L'antibiotypie</i> -----	19
B. PHYSIOPATHOLOGIE -----	19
1. <i>Pathogénie des Salmonella</i> -----	19
2. <i>Manifestations extra-digestives</i> -----	21
3. <i>Facteurs de virulence</i> -----	21
a) <i>Pili ou fimbriae</i> -----	22
b) <i>Invasion et colonisation de l'organisme</i> -----	22
c) <i>Survie dans les phagocytes</i> -----	22
d) <i>Le complexe lipopolysaccharidique</i> -----	23
e) <i>Synthèse de toxines</i> -----	23
f) <i>Systèmes de captation du fer</i> -----	23
4. <i>Influence de la dose et de la voie de contamination</i> -----	23
5. <i>Défenses naturelles de l'intestin des volailles-Exclusion compétitive</i> -----	24
a) <i>Principe</i> -----	24
b) <i>Étendue et limites</i> -----	25

c) Caractéristiques de l'effet protecteur – relation avec la virulence des sérovars -----	26
d) Application dans les élevages-----	26
6. Diagnostic -----	27
a) Les méthodes bactériologiques-----	27
(1) Méthode de recherche en élevages -----	27
(2) Méthodes de recherche dans les denrées alimentaires -----	28
b) Les méthodes immunologiques-----	28
(1) Les techniques d'immunofluorescence -----	28
(2) Les techniques immunoenzymatiques -----	28
II. MANIFESTATIONS HUMAINES DES SALMONELLOSES : LES TIAC-----	29
A. CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES-----	29
1. Définition d'une <i>toxi-infection alimentaire collective</i> -----	29
2. Identification de l' <i>agent responsable</i> -----	29
3. Lieu de survenue -----	30
4. Public concerné-----	30
5. Aliment identifié ou suspecté. -----	31
B. IMPLICATION DE SALMONELLA ENTERITIDIS -----	33
1. Sérotypes isolés -----	33
2. Évolution des sérotypes isolés-----	33
III. RESEAUX DE SURVEILLANCE DES SALMONELLOSES EN FRANCE---	35
A. CENTRES DE RECHERCHE DES SALMONELLES D'ORIGINE HUMAINE ET D'ORIGINE NON HUMAINE -----	35
1. Le Centre National de Référence des <i>Salmonella et des Shigella</i> (CNRSS) 35	35
a) Fonctionnement du CNRSS -----	35
b) Qualité du système de surveillance-----	36
2. Le centre de sérotypage de l'AFSSA-----	36
B. RESEAUX D'EPIDEMIOSURVEILLANCE-----	37
1. Le réseau national d'Epidémiosurveillance en Aviculture (RENESA)-----	37
2. Le Réseau national d'observation épidémiologique en aviculture (RNOEA) 37	37
C. LES CONTROLES OFFICIELS-----	38
1. Le contrôle officiel hygiénique et sanitaire -----	38
2. La charte sanitaire -----	39
D. NOUVELLES NORMES EUROPEENNES.-----	39

2^{ÈME} PARTIE : LA PRODUCTION D'ŒUFS DE CONSOMMATION EN FRANCE--- 41

I. ORGANISATION DE LA FILIERE-----	43
II. SYSTEMES D'ELEVAGES DES POULES PONDEUSES -----	46
A. SYSTEMES D'ELEVAGE EN CAGE -----	46
1. <i>Description des cages et agencement-----</i>	46
2. <i>Alimentation et abreuvement-----</i>	47
a) <i>Système d'alimentation : -----</i>	47
b) <i>Système d'abreuvement-----</i>	47
C) <i>Évacuation des fientes-----</i>	47
d) <i>Les conditions d'ambiance-----</i>	47
(1) <i>La température-----</i>	48
(2) <i>L'hygrométrie-----</i>	48
(3) <i>La ventilation -----</i>	48
(4) <i>La concentration en gaz (NH₃, CO₂, H₂S)-----</i>	49
(5) <i>La concentration en poussières et le niveau de contamination bactérienne -----</i>	49
e) <i>Le bâtiment et le programme lumineux -----</i>	49
B. SYSTEMES D'ELEVAGES ALTERNATIFS -----	51
1. <i>Élevage au sol -----</i>	51
2. <i>Élevage en plein-air et biologiques -----</i>	51
a) <i>En plein-air, -----</i>	51
b) <i>En élevage biologique-----</i>	52
C. PRODUCTION D'OVOPRODUITS -----	52
1. <i>Cassage des œufs-----</i>	53
2. <i>Les ovoproduits impropres à la consommation humaine-----</i>	53
3. <i>Conservation des ovoproduits -----</i>	54

3^{ÈME} PARTIE : CONTAMINATION DES ŒUFS PAR LES SALMONELLES ----- 55

I. FORMATION DE L'ŒUF -----	57
A. SITUATION ET STRUCTURE DE L'APPAREIL REPRODUCTEUR DE LA POULE ADULTE ---	57
1. <i>L'ovaire -----</i>	57
2. <i>Oviducte -----</i>	58
B. FORMATION DU JAUNE DE L'ŒUF : VITELLOGENÈSE -----	60
1. <i>Chronologie et régulation du dépôt du jaune -----</i>	60
a) <i>Origine des constituants du jaune-----</i>	62

b)	<i>Conclusion</i>	62
2.	<i>Formation de l'œuf dans l'oviducte</i>	62
a)	<i>Rôle sécrétoire de l'infundibulum</i>	64
b)	<i>Sécrétion du blanc dans le magnum</i>	64
c)	<i>Activité de l'isthme : sécrétion des membranes coquillières et initiation de la coquille</i>	64
d)	<i>Activité de l'utérus – Formation de la coquille de l'œuf</i>	64
(1)	Hydratation du blanc dans l'utérus	65
(2)	Formation de la coquille	65
(3)	Origine du calcium déposé sur la coquille	65
(4)	Activité contractile de l'oviducte et oviposition	66
C.	STRUCTURE, COMPOSITION ET QUALITE DE L'ŒUF	67
1.	<i>Structure de l'œuf : les barrières</i>	67
a)	<i>La cuticule</i>	67
b)	<i>La coquille calcaire</i>	67
c)	<i>Les membranes coquillières</i>	68
d)	<i>Le blanc d'œuf</i>	68
2.	<i>Composition moyenne de l'œuf de poule</i>	68
a)	<i>Composition de la coquille</i>	68
b)	<i>Composition du blanc</i>	68
c)	<i>Composition du jaune</i>	73
d)	<i>Éléments mineurs du jaune d'œuf</i>	74
(1)	Minéraux	74
(2)	Vitamines	74
(3)	Pigments du jaune	74
3.	<i>Qualité de l'œuf</i>	75
a)	<i>Qualité du blanc d'œuf</i>	75
b)	<i>Qualité du jaune</i>	75
c)	<i>Qualité de la coquille</i>	76
d)	<i>Qualité bactériologique</i>	77
II.	LES SALMONELLES ET LA CONTAMINATION DE LA FILIERE ŒUFS	79
A.	CONTAMINATION DES ELEVAGES PAR <i>SALMONELLA</i>	79
1.	<i>Contamination horizontale</i>	79
a)	<i>Résistance aux agents physico-chimiques.</i>	79
b)	<i>Influence de l'âge des animaux</i>	80

c) Sources de contamination -----	81
2. Contamination verticale-----	83
a) Capacité de colonisation de <i>Salmonella Enteritidis</i> -----	83
b) Contamination de l'ovaire -----	84
(1) Modèles d'adhésion -----	86
(2) Rôle des fimbriae-----	86
B. CONTAMINATION DES ŒUFS ET OVOPRODUITS-----	90
1. Contamination des œufs -----	90
a) Contamination de la surface de l'œuf-----	90
b) Contamination des milieux internes -----	90
(1) Passage de la cuticule -----	91
(2) Passage des membranes coquillières -----	91
c) Évolution de la population de <i>Salmonelles</i> -----	91
(1) Évolution dans l'albumen-----	91
(2) Évolution dans le vitellus -----	92
2. Contamination des ovoproduits-----	92
III. MOYENS DE LUTTE-----	93
A. REPONSES SEROLOGIQUES A L'INFECTION PAR SALMONELLA-----	93
B. IMMUNOPROPHYLAXIE -----	94
C. VACCINATION -----	95
CONCLUSION-----	97
BIBLIOGRAPHIE -----	99

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Tableau 1: Caractères biochimiques différentiels des espèces et des sous-espèces du genre *Salmonella* [9]

Tableau 2 : Formules antigéniques de quelques sérovars de salmonelles isolées des volailles (extrait du tableau de Kaufmann-White) [9]

Tableau 3: Nombre de foyers selon l'agent responsable. TIAC déclarées aux DDASS ou DDSV et foyers de salmonellose et de shigellose déclarés au CNRSS. France, 1999-2000 [83]

Tableau 4: Distribution par tranche d'âge des principaux sérotypes de *Salmonella* isolés chez l'homme. (I 100 000= incidence pour 100 000 habitants) [83]

Tableau 5: Agents identifiés ou suspectés et aliments incriminés ou suspectés. TIAC déclarées aux DDASS ou DDSV. France, 1999-2000. [83]

Tableau 6: Facteurs ayant contribué à l'incident (foyers où au moins un facteur a été identifié). TIAC déclarées aux DDASS ou DDSV France, 1998.[83]

Tableau 7 : Répartition des 15 principaux sérotypes de *Salmonella* isolés chez l'homme en 1998 et 1999, [83]

Tableau 8 : Souches de *Salmonella* sérotypées. Données enregistrées au CNRSS (1997-1999) [83]

Tableau 9: Bilan de la production française d'œufs en 2001 (en milliards d'œufs) [82]

Tableau 10: Proportion et teneur en eau des différentes couches de l'albumen [73]

Tableau 11 : Composition en sucre (g /100g) des glycoprotéines du blanc d'œuf. [73]

Tableau 12 : Teneurs de l'œuf et de l'albumen en minéraux [77]

Tableau 13 : Teneur de l'œuf en vitamines [73]

Tableau 14 : Taux de détection d'œufs positifs vis-à-vis de *Salmonella Enteritidis* provenant d'élevages connus infectés par le pathogène. [58]

Tableau 15 : Distribution de *Salmonella Enteritidis* dans les follicules pré-ovulatoires et les œufs de poules infectées expérimentalement.

Tableau 16 : Isolements de *Salmonella Enteritidis* à partir des organes internes de poules contaminées par voie orale avec trois souches différentes (10^8 UFC/ Poule).

Figure 1: Mécanismes de pathogénicité de *Salmonella* [13]

Figure 2 : Évolution de l'importance relative des principaux agents pathogènes responsables. TIAC déclarées aux DDASS ou DDSV. France, 1997-1998

Figure 3: Évolution des principaux sérotypes de *Salmonella* isolés chez l'Homme (1980-1999)

Figure 4 : Situation de l'ovaire et de l'oviducte dans la cavité abdominale de poule (vue latérale gauche, Nom et al, 1977) [77]

Figure 5 : Structure de l'oviducte de poule et aspect de sa paroi interne [77]

Figure 6: Structure de la paroi de l'oviducte. GILBERT, 1979 [77]

Figure 7 : Structure d'un follicule en phase de grand accroissement et de sa paroi (GILBERT, 1979) [77]

Figure 8 : Cinétique et formation de l'œuf de poule (SAUVEUR, 1988) [77]

Figure 9 : Structure de la coquille de l'œuf de poule (FERNANDEZ, 1993) [77]

Figure 10 : Structure de l'œuf de poule (coupe longitudinale) [78]

Figure 11 : Cycle simplifié de *Salmonella* [13]

Figure 12 : Bactéries libres dans le cytoplasme des cellules de la granulosa [79]

Figure 13 : Cellules de la granulosa envahies par *Salmonella Enteritidis*. Organismes observés 5h après inoculation.[79]

INTRODUCTION

Les Salmonelles, et en particulier *Salmonella Enteritidis*, posent un véritable problème de santé publique car elles sont responsables de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). Sept décès liés à des infections à *Salmonella Enteritidis* sont survenus en milieu familial et lors de toxi-infections alimentaires collectives en France lors de l'année 2000 ; et au cours de l'année 2001, *Salmonella* a été isolé dans 64% des cas de toxi-infections alimentaires collectives . Le sérotype Enteritidis était prédominant et représentait 52% des isolements d'origine alimentaire de *Salmonella* chez l'homme.

Parmi les aliments incriminés, les œufs et les préparations à base d'œufs étaient les aliments les plus souvent en cause. La compréhension des modes de contamination des œufs apparaît donc comme un élément indispensable pour permettre la lutte contre la circulation des salmonelles dans la filière poule pondeuse et ainsi assurer au consommateur final une entière sécurité. La contamination des œufs par des salmonelles peut s'établir par une contamination primaire ou une contamination secondaire. La contamination primaire s'effectue à partir de la grappe ovarienne, par transmission ovarienne. La contamination secondaire a lieu à partir de la coquille contaminée lors du séjour en couvoir, par l'intermédiaire de l'alimentation ou par les poules pondeuses et leur environnement humain ou animal.

A partir de données bibliographiques, le sérotype Enteritidis est tout d'abord identifié quant à ses propriétés bactériologiques puis en tant qu'agent de toxi-infections alimentaires collectives. La filière œufs de consommation est par la suite décrite puis on envisage les grandes étapes de formation de l'œuf de poule qui conduisent aux modalités particulières de contamination des œufs dans la filière, dont la contamination trans-ovarienne et aux moyens de lutte mis en oeuvre.

1^{ÈRE} PARTIE :

SALMONELLES ET SALMONELLOSES

I. Les Salmonelles

A. Taxonomie et nomenclature

Le genre *Salmonella* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Cette famille regroupe des genres de bactéries qui sont des hôtes habituels du tube digestif.

Ce genre est phylogénétiquement proche des genres *Escherichia* et *Citrobacter* et phénotypiquement proche des genres *Citrobacter* et *Hafnia*. Les hybridations ADN-ADN ont montré qu'il n'existait que deux sous-espèces dans le genre *Salmonella*: *Salmonella bongori* et *Salmonella cholerasuis*, également appelée *Salmonella enterica*. *Salmonella bongori* (ancienne sous-espèce V : *Salmonella cholerasuis subsp.bongori*) est une espèce rare alors que *Salmonella cholerasuis* a une répartition géographique mondiale et possède un spectre d'hôtes très large.

L'espèce *Salmonella cholerasuis* est subdivisée en 6 sous-espèces :

Sous-espèce I : *Salmonella cholerasuis* subsp. *cholerasuis* (*Salmonella enterica* subsp. *enterica*)

Sous-espèce II : *Salmonella cholerasuis* subsp. *salamae* (*Salmonella enterica* subsp. *salamae*)

Sous-espèce IIIa : *Salmonella cholerasuis* subsp. *arizonae* (*Salmonella enterica* subsp. *arizonae*)

Sous-espèce IIIb : *Salmonella cholerasuis* subsp. *diarizonae* (*Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*)

Sous-espèce IV : *Salmonella cholerasuis* subsp. *houtenae* (*Salmonella enterica* subsp. *houtenae*)

Sous-espèce VI : *Salmonella cholerasuis* subsp. *indica* (*Salmonella enterica* subsp. *indica*).

Au sein de chacune de ses sous-espèces, il est possible de distinguer des sérovars (ou sérotypes) caractérisés par leurs antigènes somatiques (antigène O) et, généralement, par leurs antigènes flagellaires (antigènes H). En 1995, il existait 2 402 sérovars de *Salmonella cholerasuis* dont 1427 pour la sous-espèce *cholerasuis*. Dans la pratique courante, les sérovars sont désignés sous une forme abrégé et ne sont plus traités comme des noms latins mais s'écrivent en caractères romains et prennent une majuscule : *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium* dont les noms complets sont *Salmonella cholerasuis* subsp. *cholerasuis* sérovar *Enteritidis*; *Salmonella cholerasuis* subsp. *cholerasuis* sérovar *Typhimurium*.

1. Habitat- Spécificité d'hôtes

Le réservoir des Salmonelles ubiquistes est très large et de nombreux animaux (mammifères, oiseaux, reptiles, poissons, insectes) sont susceptibles d'héberger ces bactéries mais, le principal réservoir est constitué par l'intestin des vertébrés. La sous-espèce I contient généralement les souches isolées de l'homme et des animaux à sang chaud, pour lesquels elles sont pathogènes. Il est aussi fréquent d'isoler des *Salmonella* appartenant aux sous-espèces II, IIIa et IIIb chez les animaux à sang froid. Elles sont dans ce cas moins pathogènes et peuvent faire partie de la flore intestinale. Elles sont aussi retrouvées dans l'environnement (sol, boues) dans lequel elles sont disséminées par les excréta. Elles peuvent y survivre pendant plusieurs mois si les conditions de température, de pH et d'humidité sont favorables.

Sur la base de leur spécificité d'hôtes, les salmonelles sont distinguées en trois groupes :

- Les sérovars étroitement adaptés à l'homme : *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A, *Salmonella* Schottmuelleri=Paratyphi B qui est parfois isolé de l'animal dont les volailles; *Salmonella* Hirschfeldii= Paratyphi C et *Salmonella* Sendai.
- Les sérovars étroitement adaptés à certains animaux ou ayant une prédisposition marquée pour certaine espèces animales : *Salmonella* Dublin chez les bovins (mais aussi chez l'homme), *Salmonella* Abortusovis chez les ovins, *Salmonella* Abortusequi chez les chevaux, *Salmonella* Gallinarum-Pullorum chez les volailles, *Salmonella* Cholerasuis et *Salmonella* Typhisuis chez les porcs.
- Les sérovars ubiquistes, qui sont les plus nombreux : Enteritidis, Typhimurium, Montevideo, Panama, Saintpaul.

2. Caractères culturaux

Les Salmonelles sont des germes mésophiles aéro-anaérobies et hygrophiles qui se présentent sous forme de bâtonnets de deux à trois microns de long et de 0,6 à 0,8 microns de large. La plupart d'entre elles ne sporulent pas et ne possèdent pas de capsule.

En effet les Salmonelles cultivent sur des milieux ordinaires à base d'extraits de viande. A un pH voisin de la neutralité et à une température optimale de croissance de 37°C, les colonies sont généralement rondes, lisses (ou Smooth : S) à bords réguliers et ont un diamètre de 2 à 3 mm. Les Salmonelles parviennent aussi à se développer, mais plus lentement, dans des conditions moins favorables de température (de 5 à 47°C) avec une croissance nettement ralentie pour les températures inférieures à 10°C. L'application d'une température de 72°C pendant 15 secondes, utilisée lors de pasteurisation assure leur destruction dans le lait.

La réfrigération permet la survie des Salmonelles. La congélation provoque un abaissement de leur nombre mais n'entraîne pas leur complète disparition. [60]

Les Salmonelles supportent une gamme de pH allant de 4,5 à 9, avec un optimum entre 6,5 et 7,5. Elles se développent bien pour des valeurs d'activité de l'eau (A_w) oscillant entre 0,945 et 0,999. Dans les aliments, les Salmonelles peuvent se multiplier jusqu'à des valeurs d' A_w de 0,93.

Les Salmonelles donnent des cultures homogènes après repiquage en bouillon. Il arrive exceptionnellement que des cultures de Salmonelles soient isolées sous forme rugueuse (ou Rough :R).

La plupart des Salmonelles sont capables de cultiver sur milieu minimum, sans facteur de croissance. Quand elles sont adaptées à un hôte pour lequel elles ont un pouvoir pathogène manifeste, elles peuvent exiger un ou plusieurs facteurs de croissance pour cultiver.

3. Caractères biochimiques

Les Salmonelles possèdent les caractères généraux de la famille des Entérobacteriacees : bacilles à Gram négatif, mobiles grâce à une ciliature péritriche, ou immobiles, non sporulés, donnant une réponse négative au test oxydase, et possédant une nitrate-réductase. Elles fermentant le glucose avec ou sans production de gaz et poussant sur les milieux ordinaires.

Au sein de la famille des Entérobactéries, les caractères permettant l'identification biochimique du genre *Salmonella* sont l'absence d'uréase et de tryptophane désaminase, l'absence de production d'indole et d'acétoïne (test de Voges-Proskauer négatif), l'absence de fermentation du lactose, du saccharose, de l'inositol, de l'amygdaline, de l'adonitol et du 2-cétogluconate, la production d'H₂S à partir du thiosulfate (présence d'une thiosulfate réductase), la décarboxylation fréquente de la lysine et de l'ornithine, la capacité fréquente de croître sur le milieu au citrate de Simmons en l'alcalinisant (caractère citrate positif).

Les deux espèces du genre *Salmonella* peuvent être différenciées par leur caractères biochimiques : *Salmonella bongori* ne fermente pas le sorbitol, contrairement à *Salmonella cholerasuis*, et elle cultive sur un milieu contenant du KCN alors que la plupart des souches de *Salmonella cholerasuis* ne cultive pas sur ce milieu.

Les six sous-espèces de l'espèce *Salmonella cholerasuis* peuvent également être identifiées par leurs caractères biochimiques.(tableau 1).

	S. CHOLERASUIS						S.BONGORI
Caractères biochimiques	S.subsp cholerasuis	S.subsp salamae	S.subsp arizonae	S.subsp diarizonae	S.subsp houtenae	S.subsp indica	
ONPG (2h)	-	-	+	+	-	V	+
Gélatinase (36°)	-	+	+	+	+	+	-
Culture sur milieu au KCN	-	-	-	-	+	-	+
Dulcitol (fermentation)	+	+	-	-	-	V	+
Malonate (utilisation)	-	+	+	-	-	-	-
Sorbitol (fermentation)	+	+	+	+	+		-
-glucuronidase	V	V	-	+	-	V	-
-glutamyl transférase	V	+	-	+	+	+	+
Lyse par le phage O1	+	+	-	+	-	+	+

Tableau 1: caractères biochimiques différentiels des espèces et des sous-espèces du genre *Salmonella* [35]

4. Marqueurs épidémiologiques

La grande diversité du genre *Salmonella*, tant au niveau de son habitat naturel qu'au niveau de l'expression de son action sur l'hôte rend insuffisante l'identification de l'espèce seule pour comprendre la pathogénie de cette bactérie. Le réseau de surveillance des Salmonelles procède à la subdivision des espèces en entités infrasubspécifiques, ou types, correspondant à des aptitudes pathogéniques associées.

a) Le biotype

La biotypie détermine les différences ou variations des caractères biochimiques de certaines souches au sein d'un même sérotype.

La plupart des Salmonelles sont prototrophes (elles n'ont aucune exigence en facteurs de croissance) à l'exception de sérotypes très adaptés à un hôte particulier (Typhi, Abortus-ovis...) qui sont auxotrophes pour un ou plusieurs facteurs de croissance. La technique du biotyping est simple mais la discrimination apportée n'est pas très importante. [10] (Tableau 1)

b) Le sérotype

L'identification des sérotypes selon le schéma de Kaufmann-White est fondée sur la formule antigénique. La sérotypie décline la structure antigénique réelle des *Salmonella*; en tenant compte du déterminisme génétique des facteurs antigéniques.

Comme toutes les entérobactéries, les Salmonelles peuvent posséder trois types d'antigènes ayant un intérêt diagnostique. On distingue des antigènes somatiques (O), des antigènes flagellaires (H) et des antigènes de surface. Dans ce schéma, les antigènes O ont un chiffre arabe (1 à 67) et les antigènes H sont représentés par une lettre pour la phase 1 et un nombre ou une lettre pour la phase 2. [43]

(1) Les antigènes de capsule

Ces antigènes n'ont été identifiés que chez trois sérovars : Typhi, Paratyphi C, et Dublin mais toutes les souches de ces sérovars ne possèdent pas cet antigène. On en connaît une seule spécificité antigénique, appelé Vi (pour virulence). La présence de cet antigène peut rendre les bactéries « O-inagglutinables » en masquant l'antigène O. Pour démasquer l'antigène O, il suffit de chauffer les suspensions bactériennes pendant 10 minutes à 100°C.

(2) Les antigènes de paroi ou antigènes somatiques ou antigènes O

Les antigènes O sont portés par les chaînes spécifiques du lipopolysaccharide (LPS) qui est un des constituants de la membrane externe de la paroi bactérienne. Le LPS est constitué de trois structures qui, allant de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule bactérienne, sont le lipide A (responsable d'un pouvoir pathogène et appelé également endotoxine), un core dont la structure est semblable pour toutes les salmonelles et des chaînes spécifiques de nature polysaccharidique et exposées à la surface de la bactérie. Ces chaînes polysaccharidiques sont des polymères de chaînons répétés et identiques pour un même sérovar. Les différences antigéniques des chaînes spécifiques sont liées soit à la nature des sucres qui composent le chaînon répété soit à leur mode de liaison. Les antigènes O sont classés en facteurs O majeurs et en facteurs O accessoires :

✓ Les facteurs O majeurs permettent de définir des groupes et toutes les souches possédant en commun un facteur O majeur sont placées dans le même groupe. Ainsi toutes les souches possédant le facteur O : 2 appartiennent au groupe A, celles possédant le facteur O : 4 appartiennent au groupe B, celles possédant le facteur O : 9 au groupe D dans lequel on retrouve les sérovars Enteritidis et Dublin.

✓ Les facteurs O accessoires peuvent différer selon les souches appartenant à un même groupe.

Les anticorps anti-O agglutinent les bactéries par leurs parois et l'agglutinât qui se forme est un agglutinât fin, difficile à dissocier.

(3) Les antigènes flagellaires ou antigènes H

Les antigènes H sont portés par la flagelline qui est la protéine de structure des flagelles. Les antigènes H ne sont donc présents que chez les souches synthétisant des flagelles. Les anticorps anti-H agglutinent les bactéries par leurs flagelles et ont la propriété d'entraver la mobilité des bactéries.

Pour une minorité de sérovars (Enteritidis, Montevideo) la bactérie ne peut synthétiser des flagelles que d'une seule spécificité car elle ne possède pas l'information génétique pour l'autre spécificité. L'antigène H est alors monophasique. Pour la plupart des sérovars, les bactéries possèdent deux systèmes génétiques codant pour des flagellines différentes. Les flagelles existent alors sous deux formes antigéniques qualifiées de phase 1 et de phase 2 : les antigènes H sont diphasiques.

Pour une cellule bactérienne donnée, un seul des deux gènes s'exprime et les flagelles seront soit en phase 1 soit en phase 2. D'une manière aléatoire, toutes les 1000 à 10 000 générations, le gène qui n'est pas exprimé s'exprime et l'autre cesse de s'exprimer. Ainsi, *Salmonella Typhimurium* possède des flagelles dont l'antigénicité est qualifiée de i en phase 1 et de 1,2 en phase 2. Une souche est constituée le plus souvent d'une mélange de cellules dont les unes, environ 50%, expriment les antigènes flagellaires de la phase 1 et les autres, 50%, expriment les antigènes correspondant à la phase 2. (Tableau 2).

SÉROVARS	ANTIGÈNES O	ANTIGÈNE H	
		Phase 1	Phase 2
Groupe B (O:4) <i>Salmonella Typhimurium</i> <i>Salmonella Saintpaul</i>	1,4, [5],12 1,4,12,27	i e,h	1,2 1,2
Groupe C1 (O :6,7) <i>Salmonella Infantis</i> <i>Salmonella Montevideo</i>	6,7 6,7	r g,m,s	1,5 -
Groupe C2 (O :6,8) <i>Salmonella Hadar</i> <i>Salmonella Newport</i>	6,8 6,8	z10 e,h	e,n,x 1,2
Groupe D2 (O :9,12) <i>Salmonella Enteritidis</i> <i>Salmonella Gallinarum-Pullorum</i>	1,9,12 1,9,12	g,m -	- -

Tableau 2 : formules antigéniques de quelques sérovars de salmonelles isolées des volailles (extrait du tableau de Kaufmann-White) [35]

c) La lysotypie

La lysotypie étudie la sensibilité des souches, ou leur résistance, à une série de bactériophages sélectionnés.

d) La bactériocinotypie

La bactériocinotypie repose sur la recherche de la production de bactériocines ou de la sensibilité aux bactériocines. Cette technique est peu discriminante.

e) L'antibiotype

La sensibilité ou la résistance des *Salmonella* aux antibiotiques permet de parler d'antibiotypes. Généralement les Salmonelles sont sensibles au Chloramphénicol et à beaucoup d'antibiotiques à large spectre, comme l'ampicilline. La distinction des antibiotypes pour des études épidémiologiques, résulte de l'acquisition et du maintien de caractères de multirésistance aux antibiotiques obtenus par des transferts plasmidiques.

B. Physiopathologie

1. Pathogénie des *Salmonella*

. Dans les pays industrialisés, les sérotypes Entéritidis et Typhimurium sont prédominants. Ces sérotypes n'ont pas de spécificités d'espèces, et leur épidémiologie est complexe. [7]

Les salmonelloses se traduisent le plus fréquemment par des gastro-entérites. Les différentes sortes d'expression de l'infection à *Salmonella* répertoriées sont :

- Gastro-entérite
- Fièvre typhoïde
- Septicémies
- Formes localisées
- Portage chronique.

Chez les volailles, le portage sain est fréquent : la maladie peut évoluer de manière inapparente chez des anciens malades ou des porteurs sains qui sont excréteurs permanents ou épisodiques. En effet l'absorption d'eau ou d'aliments contaminés ne provoque pas systématiquement une infection symptomatique chez les individus. Chez les malades guéris, certains restent porteurs temporaires, d'autres deviennent porteurs chroniques indépendamment de l'antibiothérapie. Celle-ci n'a aucune incidence sur le portage et pourrait même le favoriser. [61]

Les *Salmonella* font partie des bactéries entéropathogènes invasives. En cas d'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés, elles parviennent au niveau de l'intestin grêle où elles se multiplient. Elles détruisent la bordure en brosse des cellules intestinales, puis pénètrent dans les cellules par une invagination de la membrane.

Lors de salmonellose typhoïdique, les bactéries arrivent au niveau des nœuds lymphatiques mésentériques, puis se multiplient avant qu'une partie de la population bactérienne passe dans le courant lymphatique puis sanguin. Quelques Salmonelles sont capables de provoquer des bactériémies, très peu des septicémies. Après une période d'incubation de 30 à 36 heures en moyenne, apparaissent des diarrhées, des vomissements et de la fièvre. [24] (Figure 1).

Le caractère systémique de l'infection a été observé avec *Salmonella*. Typhimurium, inoculé à des poussins d'un jour par voie intra-musculaire : le foie, la rate puis d'autres organes ont été infectés. Dans ce cas, les signes cliniques de l'infection sont les mêmes que ce provoqués par *Salmonella*. Enteritidis :anorexie, fièvre, déshydratation [23].

La maladie cliniquement exprimée, de façon aiguë, correspond à la typhose chez l'adulte et la pullorose chez le jeune.

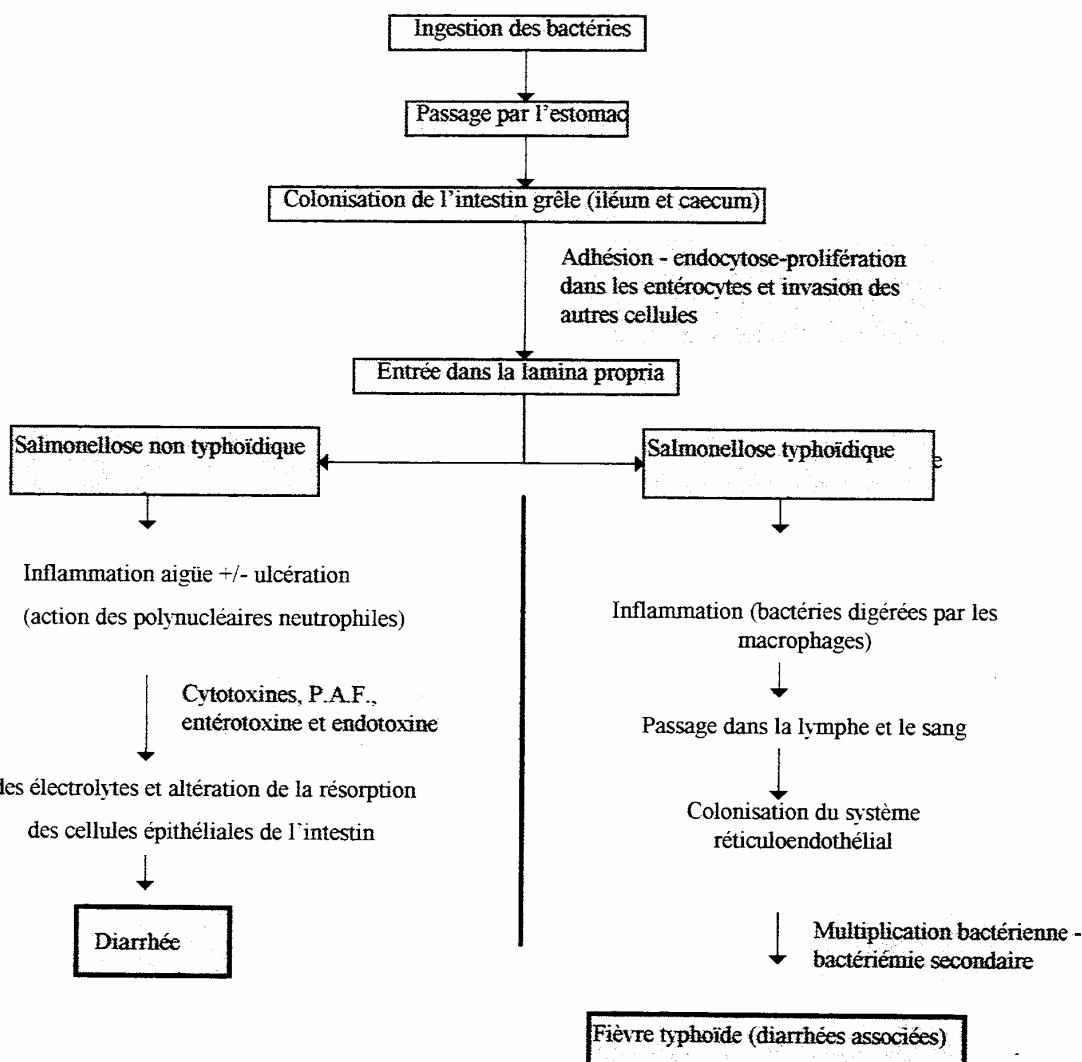


Figure 1: Mécanismes de pathogénicité de *Salmonella* [60]

Pour expliquer la déshydratation qui suit la diarrhée, une modification de la fonction rénale est l'hypothèse généralement avancée. La diarrhée survient après l'inoculation orale des animaux avec 10^6 *Salmonella Typhimurium* par animal, alors que ce symptôme n'apparaît pas après l'inoculation de la même dose par voie intramusculaire. Ceci suggère que l'infection systémique conduit à la modification de l'activité microbienne affectant l'intestin, et non pas à la modification de la fonction rénale.[8]

Les difficultés du dépistage de l'infection des volailles par *Salmonella Enteritidis* proviennent de la diversité des manifestations des symptômes. Chez les adultes, les paratyphoses peuvent évoluer sous la forme d'une infection asymptomatique : les salmonelles se comportent alors comme des micro-organismes saprophytes, régulièrement excrétés soit dans les matières fécales, soit dans les milieux internes de l'œuf.

Par ailleurs, cette infection à *Salmonella Enteritidis* n'entraîne pas de pertes économiques directes pour l'éleveur, à la différence de la pullorose, et ne l'incite donc pas à procéder à une recherche systématique de l'infection.[31]

2. Manifestations extra-digestives

Les manifestations humaines extra-digestives de l'infection à *Salmonella* ne sont pas négligeables, et touchent des populations à risque. Le développement de salmonelloses, avec survenue d'une bactériémie et parfois d'une septicémie, intervient dans les âges extrêmes de la vie, les états d'immuno-dépression, les traitements antibiotiques ou anti-diarrhéiques antérieurs, les cancers, les dyspepsies naturelles ou thérapeutiques, la malnutrition ou encore les antécédents de chirurgie gastro-intestinale.

Les manifestations extra-digestives de salmonelloses peuvent apparaître sous forme d'infections pleuro-pulmonaires, d'infections ostéo-articulaires, de manifestations cardio-vasculaires dans les formes les plus graves, d'infections du système nerveux central, d'infections abdominales, d'infections uro-génitales ou encore d'infections des tissus mous.[27]

3. Facteurs de virulence

Les facteurs de virulence identifiés chez les Salmonelles sont à déterminisme chromosomique ou plasmidique. [45]

a) Pili ou fimbriae

L'attachement aux cellules cibles, étape nécessaire à la colonisation et à la pénétration dans les cellules, est sous la dépendance de trois types d'appendices : les pili de type 1 qui sont les pili communs ; ils se fixent sur des résidus de D-mannose portés par les cellules eucaryotes; les pili se fixant sur des ligands différents du D-mannose et enfin les pili plus courts, identifiés chez *Salmonella Typhimurium*.

b) Invasion et colonisation de l'organisme

Deux voies de pénétrations s'offrent aux Salmonelles. Elles pénètrent dans les cellules épithéliales de l'intestin par un mécanisme dépendant de l'actine. Cette invasion est sous contrôle d'un locus chromosomique *inv* regroupant au moins 4 gènes. L'expression de ce locus est favorisée par des conditions d'anaérobiose. Dans les cellules, les bactéries sont présentes dans les vacuoles d'endocytoses qui progressent vers le pôle basal, elles atteignent la lamina propria et déclenchent une réponse inflammatoire. Dans les vacuoles, les Salmonelles se multiplient à partir de la sixième-huitième heure et provoquent la destruction de la cellule infectée.

Les Salmonelles peuvent aussi pénétrer par les cellules M des plaques de Peyer. Ces cellules sont spécialisées dans la captation de macromolécules de la lumière intestinale et le transport vers les macrophages et les lymphocytes sous-jacents. La spécificité d'espèce de ces cellules explique qu'un sérovar de salmonelle ne soit pathogène que chez les espèces dans lesquelles les cellules M sont capables de les transporter.

La colonisation s'effectue chez *Salmonella Enteritidis* grâce à la présence de plasmide de virulence dénommés *spv* (*Salmonella* plasmid virulence). Ceux-ci sont nécessaires pour que l'infection bactérienne puisse se propager au-delà de la barrière intestinale (colonisation de nœuds lymphatiques puis diffusion par les lymphatiques) et pour que la bactérie puisse se multiplier dans la rate et le foie. Cette propriété est sous la dépendance de cinq gènes.

D'autres gènes jouent également un rôle, au moins chez *Salmonella Typhimurium*, et provoquent une immuno-dépression tandis que d'autres confèrent aux bactéries une résistance au complément grâce à la synthèse de deux protéines de membrane externes.

c) Survie dans les phagocytes

In vitro, les Salmonelles survivent dans les macrophages en inhibant la fusion phagosomes-lysosomes. De plus, elles se protègent de l'action toxique des radicaux oxygénés produits par les macrophages grâce à la synthèse de différents enzymes : catalase, superoxyde dismutase, glutathion-réductase. La synthèse d'une douzaine de protéines leur permet de se protéger des défenses et de s'adapter à un environnement acide.

d) Le complexe lipopolysaccharidique

Le complexe lipopolysaccharidique de la surface des *Salmonella* est constitué notamment d'une chaîne polysaccharidique responsable de la spécificité antigénique somatique (antigène O). Cet antigène O joue un rôle important en inhibant la fixation du complexe d'attaque membranaire dans les membranes bactériennes. Les mutants dépourvus d'antigène O (mutant « rough ») ou présentant une altération des antigènes O (mutant « semi-rough ») sont avirulents ou moins virulents.

Le lipide A, est indirectement responsable de la fièvre, de l'anorexie, de l'abattement et du choc septique en provoquant la libération de cytokines (TNF Alpha, IL-1, IL-2, IL-6) par les macrophages.

e) Synthèse de toxines

Salmonella Enteritidis peut synthétiser une cytotoxine thermolabile de 26 kDa. Une entérotoxine thermolabile a aussi été identifié notamment chez *Typhimurium*, elle s'apparente immunologiquement et fonctionnellement à la toxine cholérique et à la toxine LT d' *Escherichia coli*.

f) Systèmes de captation du fer

Le fer, élément indispensable à la multiplication des salmonelles, n'est pas disponible dans l'organisme; il est lié à la transferrine (dans le sérum), à la lactoferrine (dans les sécrétions) ou à l'ovatransferrine dans les œufs. La synthèse de sidérophores, systèmes de captation de fer, permet aux salmonelles d'entrer en compétition avec la transferrine, la lactoferrine ou l'ovatransferrine.

4. Influence de la dose et de la voie de contamination

Plusieurs travaux ont montré que la virulence d'une souche bactérienne et la gravité de l'infection qu'elle provoque dépendent également de la voie d'inoculation expérimentale.

En effet, Barrow et al. , ont inoculé *per os* un premier lot de poulet avec une souche de *Salmonella Typhimurium* (F98) à raison de 10^8 bactéries par animal, et par voie intramusculaire, un deuxième lot d'animaux avec la même dose. La souche bactérienne s'est révélée plus virulente quand elle est administrée par voie orale. Elle a été retrouvée, chez les animaux du premier lot dans la majorité des organes, alors que chez ceux du second lot, elle a présenté une faible aptitude à se défendre contre les macrophages du sang, et n'a pas été capable d'atteindre les organes.[10]

Lors d'une autre expérience, des poussins nouveaux-nés ont reçus 10^8 *Salmonella Enteritidis* PT4 par animal, par voies orale et intra-musculaire. Une différence a été observée au niveau des signes cliniques de l'infection (anorexie, léthargie avant la mort) qui sont survenus uniquement chez les poussins inoculés oralement et non chez ceux inoculés par voie intra-musculaire [9].

Pour certains lysovars, il apparaît que la voie de contamination n'influence ni l'invasivité ni le degré d'infection : c'est le cas de *Salmonella Enteritidis* PT13a inoculé oralement ou par contact à des poules âgées de 20 à 88 semaines, qui a été isolée à partir des cœcums, des foies et des ovaires pendant 22 semaines après la contamination, quelle que soit la voie d'inoculation [37].

La colonisation intestinale des poulets est aussi variable en fonction de la taille de l'inoculum administré. En effet, *Salmonella Typhimurium* semble pouvoir coloniser le tractus digestif de la plupart des animaux gnotoxéniques de la souche LEGHORN blanche, ayant reçu 10^7 *Salmonella* par animal; tandis que le nombre d'animaux dont l'intestin a été colonisé durablement après contamination par $7 \cdot 10^2$ *Salmonella* par animal est faible et variable[46].

Chez les humains, dans une population ne présentant pas de déficience immunitaire particulière, la dose infectieuse pourra varier en fonction de la souche bactérienne ingérée. Ainsi, pour les sérovars de *Salmonella* ne présentant pas d'adaptations particulières à un hôte animal, des études expérimentales font état de la nécessité d'ingérer des quantités atteignant 10^5 à 10^7 bactéries afin d'initier une infection ; cependant des données obtenues lors d'enquêtes consécutives au déclenchement de toxi-infections alimentaires, indiquent que les infections peuvent se déclarer entre 10^1 et 10^{11} cellules. Il a également été noté que cette dose infectieuse est plus basse lorsque les Salmonelles sont apportées dans des aliments à haute teneur en matière grasse ou en protéines, substances qui entraîneraient une protection des bactéries contre l'acidité gastrique

5. Défenses naturelles de l'intestin des volailles-Exclusion compétitive

a) Principe

En 1973, Nurmi et Rantanla ont observé que la microflore du poulet adulte et sain, transférée aux nouveaux-nés dont le jeune âge prédispose à des contaminations par des bactéries pathogènes, permet aux jeunes poussins d'acquérir rapidement une résistance à d'éventuelles colonisations par *Salmonella Infantis*. [69]

Ce concept est appelé « exclusion compétitive ».

Ces observations constituaient une alternative intéressante dans la lutte contre le portage sain intestinal de *Salmonella* par les volailles, obstacle principal à l'éradication de ce genre bactérien pathogène dans les élevages. Tous ces auteurs ont montré le rôle déterminant de la microflore intestinale dans la résistance à la colonisation.

Une étude concernant 8 millions de poulets a été réalisée en 1988 où des poussins nouveaux-nés ont été traités avec une microflore gastro-intestinale provenant de poulets adultes sains. Ces poussins, sauf ceux constituant le lot témoin, ont ensuite été contaminés expérimentalement avec une souche de *Salmonella*. Les résultats ont montré que cette microflore digestive implantée réduisait de 4 fois le nombre d'animaux dont la contamination est persistante, ainsi que le taux de contamination de ces animaux (nombre de bactéries par gramme de contenu fécal), par rapport aux lots témoins non traités.[40]

Les bactéries de la microflore intestinale pourraient avoir un rôle compétitif en occupant les sites bactériens au niveau de l'intestin, et empêcher ainsi l'implantation des *Salmonella*, excrétées de ce fait dans les fèces. Cette excrétion peut-être intermittente et irrégulière en raison de la stase cœcale et de l'adhésion des bactéries à l'épithélium cœcal.

D'autres hypothèses ont été émises pour expliquer le mécanisme d'exclusion de la microflore intestinale. Barnes et al. ont avancé, à la suite d'expériences *in vitro* que l'activité anti-*Salmonella* pourrait être due à une modification de l'équilibre physico-chimique de l'intestin par *Bacteroides hypermegas* et *Bifidobacterium sp.* qui produisent des acides gras volatils dans un milieu à pH bas. Toutefois, l'intestin du très jeune poulet ne contenant pas de germes qui contribuent à acidifier le milieu (*Lactobacillus* notamment), ces résultats ne peuvent pas être reproduits *in vivo*. [5]

b) Étendue et limites

Des poulets adultes sains ont été en contact avec un élevage de volailles contaminées expérimentalement, par voie orale ou par le biais de l'eau de boisson, avec 10^4 *Salmonella Enteritidis* par animal. L'examen du foie des animaux contaminés a révélé une diminution de l'effet systémique de l'infection. Les auteurs ont conclu que l'exclusion compétitive peut donc avoir un effet protecteur sur les animaux dès quelques heures après le traitement. Cet effet protecteur, selon les mêmes auteurs, semble être indépendant du sérovar incriminé.[36]

Pourtant Lafont et al. ont montré que la prévention contre la colonisation de l'intestin par *Salmonella* peut être variable et limitée. Elle dépendrait, selon ces auteurs, de la source des fèces de l'adulte utilisé et de la dose de contamination salmonellique. Des inoculums de taille élevée (10^7 *Salmonella* par animal) conduisaient en effet à la contamination salmonellique des animaux traités.

L'exclusion compétitive semble aussi être limitée par l'existence de coccidioses, même subcliniques, dans les élevages. Des poulets préalablement inoculés avec des coccidiases du genre *Eimeria*, et contaminés expérimentalement par *Salmonella Typhimurium* par le biais de l'aliment, deviennent porteurs de *Salmonella* à des taux beaucoup plus élevés que d'autres lots d'animaux traités avec un anticoccidien [3]

c) Caractéristiques de l'effet protecteur – relation avec la virulence des sérovars

Tous les travaux concernant le rôle de barrière que joue la microflore intestinale contre d'éventuelles contaminations salmonelliques, démontrent le caractère préventif de l'exclusion compétitive.

La microflore intestinale ne peut, en effet, pas avoir de rôle curatif : l'administration d'une microflore contrôlée à des animaux déjà contaminés avec *Salmonella*, n'a aucune influence sur la colonisation intestinale des animaux, ni sur les conséquences de l'infection par cette bactérie, à savoir le portage, la durée d'excrétion et les symptômes éventuels [59].

Une relation inverse entre colonisation et virulence de la souche bactérienne incriminée a pu être mise en évidence : dans le cas de contaminations d'animaux par des sérovars de *Salmonella* très virulents, l'excrétion fécale est limitée dans le temps. L'exemple de *Salmonella Typhimurium* a été démontré par Barrow et al. en 1988. Cette infection présente un caractère invasif, ce qui provoquerait une réponse immunitaire plus importante, et donc une accélération de l'excrétion fécale dont la durée se réduit.

d) Application dans les élevages

Des poulets d'élevage ayant reçu un aérosol d'un mélange bactérien contrôlé d'origine intestinale, puis traités par ce même mélange dans l'eau de boisson, ont présenté des taux de *Salmonella* dans les cœcum et sur les carcasses significativement inférieurs à ceux retrouvés dans les lots non traités. Des effets protecteurs similaires ont été obtenu chez les poussins nouveau-nés traités *per os* avec une culture microbienne définie d'origine cœcale dès leur naissance et contaminés par une souche de *Salmonella Typhimurium*.[16]

L'analyse du contenu cœcal ayant protégé avec efficacité le poulet contre la colonisation par *Salmonella* avait la composition suivante :

- *Lactobacilles* : 10^8 ufc / g de contenu
- *Coliformes* : 10^6 ufc / g de contenu
- *Streptocoques fécaux* : 10^4 ufc / g de contenu
- Bactéries anaérobies : $>10^9$ ufc / g de contenu

L'utilisation dans les élevages de mélanges de cultures pures de micro-organismes provenant du tractus digestif de volailles adultes, présente pourtant un risque important. En effet, l'inadéquation peut conduire à l'inoculation simultanée de jeunes poussins avec des micro-organismes pathogènes aviaires présents aussi dans le tractus intestinal. [57]

Baba et al. ont montré chez le poulet gnotoxénique que l'inoculation préventive d'*Escherichia coli* et de *Lactobacillus sp.* était plus efficace contre la colonisation des mêmes animaux par *Salmonella*, que les traitements avec *E. coli* ou *Lactobacillus sp.* administrés individuellement. Il faut d'ailleurs rappeler que la population des *Escherichia coli* domine dans l'intestin de poussins de 2 jours, tandis qu'à 7 mois, ce sont les populations de *Lactobacillus sp.* qui présentent les tailles les plus importantes.[4]

L'effet protecteur d'une bactérie inoculée individuellement aux animaux contaminés ou susceptibles d'être colonisés par *Salmonella*, semble donc ne présenter une réelle efficacité que si la bactérie utilisée répond à deux exigences [10] :

- Posséder les mêmes caractéristiques de colonisation que *Salmonella*,
- Ne pas posséder les caractéristiques de virulence de *Salmonella*

6. Diagnostic

Le diagnostic peut s'établir par des techniques bactériologiques et des méthodes immunologiques. [35] [62]

a) Les méthodes bactériologiques

(1) Méthode de recherche en élevages

Le diagnostic bactériologique classique consiste en un isolement et une identification de la sous-espèce de Salmonelle puis d'une identification infra-spécifique. Les techniques de recherches varient en fonction de l'origine du prélèvement.

Si les Salmonelles sont dans un état physiologique altéré et confrontées à une flore associée importante, lorsque l'échantillon provient de chiffonnettes, de fonds de boîtes, de poussières d'éclosoirs, de plumes, de l'eau, de prélèvements intestinaux, d'œufs incubés, d'organes prélevés sur des animaux morts; l'isolement s'effectue en trois étapes : pré-enrichissement dans un milieu liquide non sélectif destiné à revivifier les bactéries, enrichissement dans un ou plusieurs milieux sélectifs afin d'obtenir une multiplication sélective des salmonelles et isolement sur un milieu solide pour obtenir des colonies isolées.

Le milieu d'isolement sélectif permet d'orienter le diagnostic. L'adjonction de certains substrats non acidifiés par la majorité des salmonelles (lactose, glycérol, cellobiose, salicine, saccharose) permet de différencier les colonies de salmonelles des colonies formées par d'autres entérobactéries. La détection d'une C8-estérase propre aux salmonelles s'effectue en versant sur une gélose d'isolement un substrat chromogène (le 4-méthylumbelliféryl-caprylate=MUCAP) qui libère de la 4-

méthylumbelliférone fortement fluorescente à 365 nm. D'autres milieux utilisent une propriété commune à la majorité des Salmonelles comme l'acidification du propylène-glycol, l'acidification du glucuronate, la fermentation du xylose, l'absence de bêta-galactosidase, la décarboxylation de la lysine, la production d'H₂S.

Dans un échantillon tel que des organes prélevés après sacrifice, les Salmonelles sont dans état physiologique satisfaisant et constituent la flore dominante ou exclusive de l'échantillon. L'isolement se réalise alors directement sur un milieu nutritif non sélectif.

La détermination du sérovar et la lysotypie sont les dernières étapes de l'identification. L'identification du sérovar s'effectue par des réactions d'agglutination sur lame avec une culture humide et des sérum commercialisés.

(2) Méthodes de recherche dans les denrées alimentaires

La méthode de recherche systématique s'appuie sur la méthode de référence AFNOR. Elle fait intervenir un stade de pré-enrichissement permettant de revitaliser les bactéries avant leur passage sur milieu sélectif. C'est la revivification. Il existe deux protocoles selon le type de produit. Le protocole I concerne les produits frais ou décongelés et le protocole II les produits déshydratés, chauffés ou traités par additifs chimiques. Dans le second cas un pré-enrichissement est indispensable alors qu'il ne l'est pas dans le premier. L'ensemble des opérations d'identification durent de cinq à sept jours.

b) Les méthodes immunologiques

(1) Les techniques d'immunofluorescence

C'est l'un des procédés de recherche rapide des *Salmonella*. Cette technique conduit à un nombre important de résultats faussement positifs (environ 5 à 10 %).

(2) Les techniques immunoenzymatiques

La technique ELISA (*Enzyme-linked immunoassay*) est une méthode de diagnostic basée sur la formulation d'un complexe Ag-Ac dont l'anticorps en présence est couplé à une enzyme. Le marquage peut être réalisé par diverses enzymes, dont la peroxydase et la phosphatase. Le couplage a lieu sur l'anticorps dans la majorité des cas. Plusieurs variantes de cette technique existent : ELISA direct, ELISA indirect, ELISA sandwich et ELISA compétition.

II. Manifestations humaines des Salmonelloses : les TIAC

A. Caractéristiques épidémiologiques

1. Définition d'une toxi-infection alimentaire collective

Un foyer de Toxi-Infection Alimentaire Collective (TIAC) est défini, selon l'Organisation mondiale de la Santé, par la survenue d'au moins deux cas groupés, d'une symptomatologie similaire, en général digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire. [49]

Ces toxi-infections se caractérisent par des troubles digestifs, de la fièvre, des vertiges et des maux de tête pendant, en général, 4 jours. La convalescence peut être longue.

2. Identification de l'agent responsable

L'agent responsable de la TIAC est identifié, par mise en évidence dans des prélèvements humains ou alimentaires, dans 56,6% des foyers déclarés aux DDASS ou aux DDSV, et suspecté, à partir des données cliniques et épidémiologiques, dans 34,5% des foyers. (Tableau 3)

Une salmonelle a été isolée dans 71% des foyers pour lesquels l'agent a été identifié. Le sérotype Enteritidis reste prédominant et représente 53% des foyers dus à *Salmonella*. L'importance relative des Salmonelles et des autres pathogènes reste globalement stable depuis 1989. (Figure 2)

AGENT CAUSAL	FOYERS DÉCLARÉS AUX DDSAA OU DDSV		FOYERS DECLARÉS AU CNR	
	N Foyers	% par rapport au total des <i>Salmonella</i>	N foyers	% par rapport au total des <i>Salmonella</i>
<i>Salmonella</i> dont	338	63,8	996	91,6
Enteritidis	200	59,2	533	53,5
Typhimurium	51	15,1	247	24,8
Heildeberg	3	0,9	15	1,5
Virchow	7	2,1	28	2,8
Hadar	7	2,1	39	3,9
Autres sérotypes	12	2,9	113	11,3
Sérotypes indéterminés	58	17,1	21	2,1
Autres agents	192	36,2	91	9,1
Total agents confirmés	530		1087	

Tableau 3: Nombre de foyers selon l'agent responsable. TIAC déclarées aux DDASS ou DDSV et foyers de salmonellose et de shigellose déclarés au CNRSS. France,

1999-2000 [50]

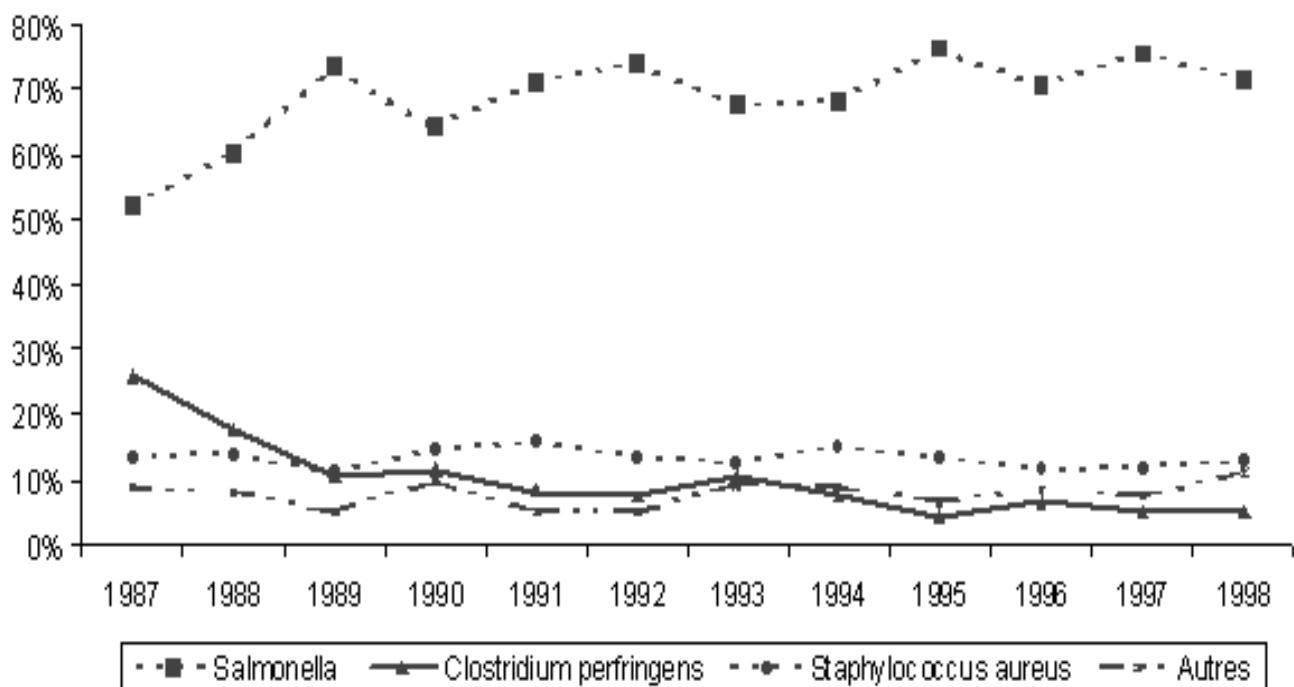


Figure 2 : Évolution de l'importance relative des principaux agents pathogènes responsables.

TIAC déclarées aux DDASS ou DDSV. France, 1997-1998 [21]

3. Lieu de survenue

65% des TIAC déclarées en 1999 et 2000 sont survenues en restauration collective et 34% en restauration familiale. Les TIAC en restauration collective ont été à l'origine de 84% des malades, dont 35% en milieu scolaire et 23% en restauration commerciale.

Salmonella est plus souvent identifiée ou suspectée en restauration familiale qu'en restauration collective (52% versus 22%) et inversement pour *Clostridium perfringens* et *Staphylococcus aureus*. Cependant, la proportion de TIAC à *Salmonelles*, survenues en restauration collective reste globalement élevée (33% des foyers), et même en augmentation dans la plupart des collectivités : restauration commercial, restauration scolaire, institutions médico-sociales, et restauration d'entreprise.

4. Public concerné

Pour les sérotypes de *Salmonella* les plus fréquents, la distribution des malades selon le groupe d'âge, est présentée dans le tableau 4 (données relatives aux 8 056 souches de *Salmonella* sérotypées par le CNRSS en 1999).

SEROTYPE		ENTERITIDIS	TYPHIMURIUM	VIRCHOW	HADAR	TOUS SEROTYPES
1 an	N	91	131	34	63	629
	%	43	6,6	11	8,2	7,8
	I 100 000	12,6	18,1	4,7	8,7	86,9
5 ans	N	470	785	73	133	2073
	%	22	40	24	17	26
	I 100 000	16,5	27,6	2,6	4,7	72,8
14 ans	N	325	338	28	65	1017
	%	15	17	9,3	8,5	13
	I 100 000	4,2	4,4	0,4	0,8	13,3
à 64 ans	N	920	470	114	372	2950
	%	44	24	38	49	37
	I 100 000	2,4	1,2	0,3	1,0	

ALIMENTS	SALMONELLA				Autres agents	Total
	Enteritidis	Typhimurium	Autres sérotypes	Sérotypes inconnus		
Lait et produits laitiers	1	0	0	1	61	63
Œufs et produits à base d'œufs	157	18	7	48	30	260
Viande	4	8	4	16	94	126
Produits de charcuterie	3	5	3	3	43	57
Volailles	7	1	8	13	48	77
Poissons et fruits de mer	6	2	2	4	111	125
Coquillages	1	0	0	1	47	49
Autres aliments	3	3	2	14	159	181
Aliments non retrouvés	18	14	3	28	255	318
total	200	51	29	128	848	1256

Tableau 5: Agents identifiés ou suspectés et aliments incriminés ou suspectés.
TIAC déclarées aux DDASS ou DSV. France, 1999-2000. [22]

Au moins un facteur, ayant contribué à l'incident, a été identifié dans 43% des foyers déclarés. La rupture des chaînes du chaud ou du froid, les erreurs dans le processus de préparation, l'existence de facteurs environnementaux de contamination des denrées et la contamination des matières premières constituent les principaux facteurs favorisants identifiés. (Tableau 6)

FACTEURS	POURCENTAGE
Matières premières contaminées	39
Contamination par l'environnement	
➤ Personnel	2
➤ Equipement	39
Erreur dans le processus de préparation	41
Délai important entre préparation et consommation	36
Non respect des températures réglementaires :	
➤ Chaîne du chaud	17
➤ Chaîne du froid	38
Total > 100%, plusieurs facteurs possibles pour une seule TIAC	

Tableau 6: Facteurs ayant contribué à l'incident (foyers où au moins un facteur a été identifié).
TIAC déclarées aux DDASS ou DSV France, 1998.[21]

B. Implication de *Salmonella* Enteritidis

1. Sérotypes isolés

En France, 13 668 isolements de *Salmonella* ont été effectués chez l'Homme en 1999. Les 15 sérotypes (=11 912 souches soit 87,2%) de *Salmonella* les plus fréquemment isolés sont présentés ci-dessous (Tableau 7). Le reste des souches d'origine humaine comprend 1 519 souches de la sous-espèce enterica (identifiées à 191 autres sérotypes), 164 souches de la sous-espèce enterica qui n'appartiennent pas à un sérotype répertorié (variants monophasiques ou immobiles), 35 souches "rough" et 48 souches d'autres sous-espèces (salamae, arizonae, diarizonae et houtenae).

RANG	SÉROTYPE	1999	
		N	%
1	Enteritidis	4579	33
2	Typhimurium	4386	32
3	Hadar	880	6
4	Virchow	376	2
5	Heidelberg	298	2
6	Infantis	283	2
7	Newport	186	1
8	Derby	163	1
9	Brandenbourg	161	1
10	Typhi	145	1
11	Bovismorbificans	109	<1
12	Dublin	103	<1
13	Saintpaul	86	<1
14	Bredeney	79	<1
15	Anatum	78	<1

Tableau 7 : Répartition des 15 principaux sérotypes de *Salmonella* isolés chez l'homme en 1998 et 1999[21]

2. Évolution des sérotypes isolés

La figure 3 montre l'évolution des principaux sérotypes Typhimurium, Enteritidis, Hadar et Virchow de 1980 à 1999. *Salmonella* Enteritidis depuis le début de l'épidémie en 1987 n'a cessé de croître jusqu'en 1994. Après une légère décroissance durant les années 1995 et 1996, ce sérotype était revenu en 1997 au niveau qu'il avait en 1994. Pour 1998 et 1999, la tendance est à la baisse (retour aux valeurs observées en 1989-1990).

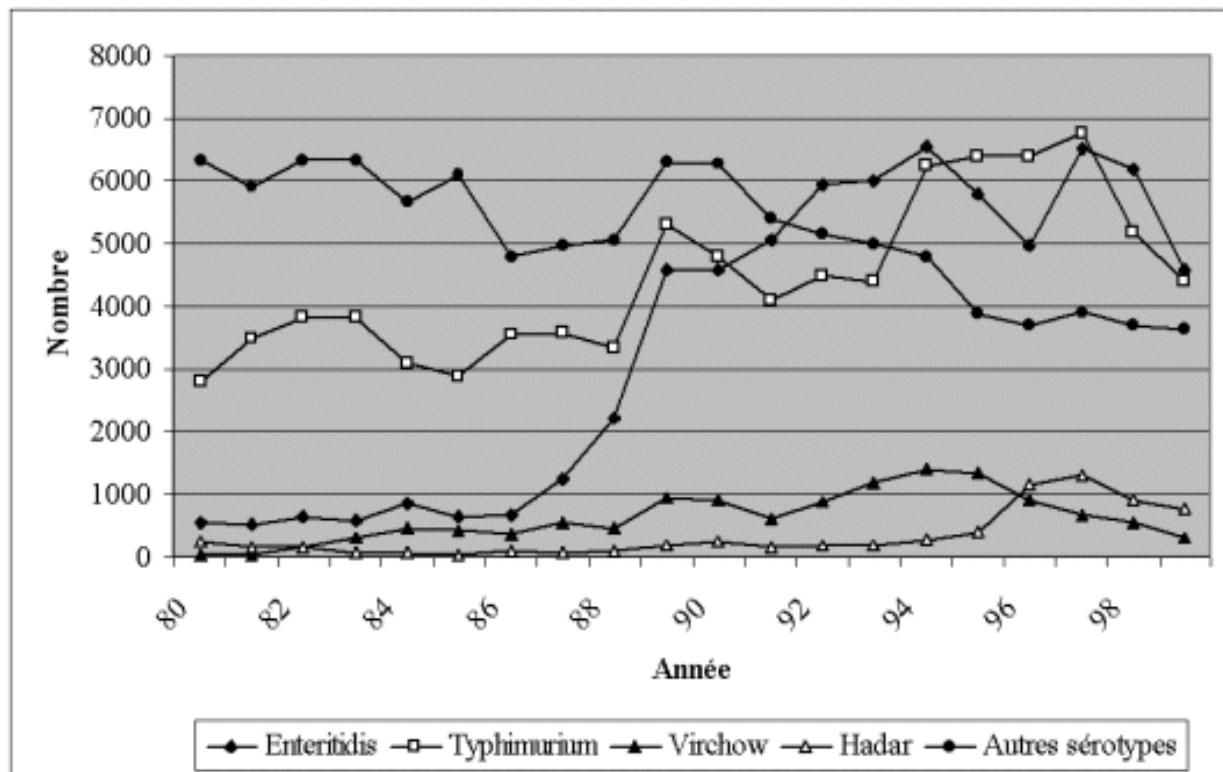


Figure 3: Évolution des principaux sérotypes de *Salmonella* isolés chez l'Homme (1980-1999)[21]

Salmonella est donc la principale cause des TIAC déclarées. Parmi les facteurs ayant contribué à l'apparition de la TIAC, on retrouve dans 39% une contamination initiale des matières premières, d'où la nécessité, pour les œufs et ovoproduits, de réduire cette contamination.

III. Les réseaux de surveillance des salmonelloses en France

La surveillance épidémiologique des salmonelles est assurée par le Centre National de Référence des *Salmonella* et des *Shigella* (CNRSS) de l’Institut Pasteur de Paris. Un laboratoire de l’Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) réalise les sérotypages et les transmet au CNRSS. D’autres organismes collecteurs de données complètent cette surveillance sous l’égide de l’Institut de Veille Sanitaire (InVS).

A. Centres de recherche des Salmonelles d’origine humaine et d’origine non humaine

1. Le Centre National de Référence des *Salmonella* et des *Shigella* (CNRSS)

a) Fonctionnement du CNRSS

Les souches de *Salmonella* d’origine humaine sont identifiées par les laboratoires d’analyses de biologie médicale (LABM) et les laboratoires hospitaliers, puis envoyées sur une base volontaire au Centre de Référence pour sérotypage. La majeure partie des souches adressées au CNRSS concerne des cas isolés de salmonellose (c’est à dire en dehors d’un contexte de cas groupés).

Le CNRSS participe ainsi à la surveillance des salmonelloses en sérotypant les souches de *Salmonella* envoyées par les laboratoires collaborateurs et en collectant les informations sur les souches dont le sérotype a été déterminé.

Dans le cas d’un foyer de cas groupés, les circonstances de survenue (crèche, école, hôpital, restaurant, toxi-infection alimentaire collective), la nature de l’aliment suspecté et le nombre approximatif de cas doivent être indiqués. Cette notification de foyer de cas groupés faite par le LABM auprès du CNRSS est aussitôt retransmise à la Direction Générale de la Santé (DGS) et à l’Institut de Veille Sanitaire (InVS) [72].

La réception de ces données permet au CNRSS de suivre l’évolution des 80 principaux sérotypes de *Salmonella*, et donc de détecter précocement au niveau national, régional ou départemental toute augmentation anormale du nombre d’isolements de ces sérotypes [42].

Les données sur 35.191 souches de *Salmonella* (13.668 souches d’origine humaine et 21.523 souches d’origine non humaine) ont été enregistrées en 1999 par le CNRSS. Le tableau 8 présente les chiffres par origine (humaine/non humaine) et par source (souche étudiée au CNRSS/compte-rendu de sérotypage) pour trois années.

		1997	1998	1999
Souches sérotypées au CNR	Origine humaine	10 595	9 272	8 289
	Autres origines	885	474	450
Comptes rendus de sérotypage	Origine humaine	8 579	7 251	5 379
	Autres origines	20 858	21 393	21 073
Total	Origine humaine	19 174	16 523	13 668
	Autres origines	21 743	21 867	21 523
Total toutes origines		40 917	38 390	35 191

Tableau 8 : Souches de *Salmonella* sérotypées. Données enregistrées au CNRSS (1997-1999) [21]

b) Qualité du système de surveillance

Une étude, réalisée sur un échantillon des foyers notifiés au Centre National de Référence des *Salmonella* et *Shigella*, en 1997, en croisant les foyers déclarés aux Directions Départementales de l'Action Sanitaire et Sociale (DDASS), aux directions départementales des services vétérinaires (DDSV) et au CNRSS, avait permis d'estimer la Valeur Prédictive Positive (proportion de vraies TIAC à salmonelles parmi les foyers notifiés au CNRSS) à 66% [Intervalle de Confiance à 95% : 50% - 82%].

Pour les Toxi-Infections Alimentaires Collectives (TIAC) à Salmonelles confirmées par l'isolement de l'agent étiologique, l'exhaustivité de la déclaration obligatoire (DDASS + DDSV) a été estimée à 21% [IC 95% : 18 - 24] et celle du CNRSS à 50% [IC à 95% : 44 - 58]. Cettede vraiest celle dud(et)Tj/TT1 1 Tf=0 Tc 0.-13oir-13

- Hygiène des aliments, les souches provenant d'aliments destinés à la consommation humaine ou animale ou de l'environnement d'abattoirs ou d'ateliers de découpe et de transformation. La proportion de souches d'origine porcine est prépondérante.

- Écosystème, des souches issues de l'environnement naturel. 960 souches ont été recensées en 1998, provenant principalement de boues et d'eaux dans le cadre d'enquêtes ponctuelles [22].

B. Réseaux d'épidémosurveillance

1. Le réseau national d'Epidémosurveillance en Aviculture (RENESA)

L'objectif de ce réseau, créé pour améliorer la connaissance de l'épidémiologie des maladies réglementées en aviculture, est de déterminer le taux de prévalence trimestriel des infections salmonelliques dans les troupeaux de volailles et de suivre son évolution. Il est géré par l'AFSSA et les données proviennent de prélèvements effectués dans le cadre de contrôles officiels réglementés et sont réalisés à différentes étapes des filières de production de poulets de chair, dindes et œufs de consommation.

Les données recueillies par le RENESA reflètent de façon imparfaite les tendances du terrain car seulement 21 départements français étaient impliqués dans ce réseau jusqu'en 1998, même si la production de ces départements représente plus de 40% de la production totale des élevages avicoles. Ce réseau permet de suivre l'évolution des sérotypes Enteritidis et Typhimurium dans la filière de production des volailles de chair (poulets et dindes) et dans celle des œufs de consommation. [34]

Les données 2000 dans la filière d'œufs de consommation montrent que le taux de prévalence annuelle des sérotypes Enteritidis et Typhimurium s'est établi à moins de 1%. La prévalence trimestrielle de S.Enteritidis chez les poules pondeuses est passée de 1,86% en 1999 à 0,80% en 2000.

2. Le Réseau national d'observation épidémiologique en aviculture (RNOEA)

Ce réseau collecte les données concernant les salmonelles en productions avicoles. Les déclarations sont réalisées librement par les laboratoires départementaux ou privés à l'AFSSA.[42]

C. Les contrôles officiels

1. Le contrôle officiel hygiénique et sanitaire

Ce contrôle facultatif a été mis en place en 1982 dans le cadre de la lutte contre la pullorose due à *Salmonella Gallinarum Pullorum* chez la poule et la pintade, et de l'arizonose due à *Salmonella Arizona* chez la dinde. Celui-ci a permis de confirmer l'éradication de la pullorose.

Le dépistage de *Salmonella Enteritidis* et *Salmonella Typhimurium* dans l'ensemble de la filière ponte de l'espèce « *Gallus* » est mis en place en 1991 par la circulaire DGAL / SDSPA / 91 / 8126 du 1^{er} juillet 1991. Ce dépistage repose sur la bactériologie pour les couvoirs ponte (sélection et multiplication), les élevages de poulettes et de poules pondeuses. Les prélèvements sont réalisés sur les animaux et dans l'environnement. Les élevages de reproducteurs sont contrôlés par bactériologie et sérologie.

Il assure aux adhérents un contrôle rigoureux des reproducteurs en période d'élevage et de production, des couvoirs, des poulettes et des poules pondeuses, et prévoit l'abattage du parquet en cas de présence de *Salmonella Enteritidis* ou de *Salmonella Gallinarum Pullorum*, ainsi que l'abattage volontaire ou la radiation du contrôle lors d'une infection par *Salmonella Typhimurium*.

Le décret 95 / 218 de février 1995 rend obligatoire la déclaration d'infection par l'un ou l'autre sérototype des élevages de poules de toute la filière.

Par la suite, la directive 97 / 22 / CE du 30 avril 1997 supprime l'obligation d'abattage des troupeaux contaminés, mais stipule qu'aucun œuf (sauf pour être traité thermiquement) ou aucun animal (sauf pour un abattage immédiat) en étant issu ne peut être commercialisé tant qu'il n'a pas été établi que l'infection a disparu.[60]

Les arrêtés du 26 Octobre 1998 modifiés par les arrêtés du 9 août 2001 (relatifs à la lutte contre les infections à *Salmonella Enteritidis* ou *Salmonella Typhimurium* dans les troupeaux de l'espèce *Gallus gallus* dans la filière de ponte d'œufs de consommation et aux modalités de la participation financière de l'Etat à la lutte contre ces infections dans ces troupeaux) prévoient « l'abattage des troupeaux infectés par *Salmonella Enteritidis* ou *Salmonella Typhimurium* ou l'assainissement des produits qui en sont issus ». L'application des arrêtés s'accompagne de la déclaration obligatoire des troupeaux de plus de 250 volailles, ainsi que la tenue dans les élevages et les couvoirs, d'un registre où sont consignés tous les mouvements de volailles et d'œufs. Un vétérinaire sanitaire doit être désigné pour chaque élevage de volailles et couvoir concernés par l'application des arrêtés.

2. La charte sanitaire

Cette charte a vu le jour en 1998. Elle est facultative et définit les normes d'installation et de fonctionnement des élevages visant à prévenir l'apparition et l'extension des infections salmonellique. L'adhésion à cette charte sanitaire est nécessaire pour pouvoir prétendre aux aides de l'Etat en matière d'analyses pour la recherche de salmonelles, et aux indemnisations prévues pour les troupeaux abattus du fait de contaminations confirmées par *Salmonella Typhimurium* ou *Salmonella Enteritidis*. [42]

D. Nouvelles normes européennes (Directive Européenne 1999/74/CE du conseil du 19 juillet 1999).

Cette directive prévoit la disparition des cages traditionnelles en 2012 avec d'ici là un calendrier d'application des nouvelles normes de plus en plus contraignantes.

Les élevages de type alternatif, qui représentent 11% du cheptel français de poules pondeuses et 8 à 10 % de la production nationale, sont donc appelés à se développer. Les œufs produits par ces systèmes pourraient atteindre en volume plus de 50% de part du marché [85].

Les salmonelloses humaines sont considérées comme des maladies zoonotiques transmises par l'ingestion de denrées alimentaires contaminées. *Salmonella Enteritidis* est susceptible de causer des troubles digestifs plus ou moins graves. La dose infectieuse varie de 10^5 à 10^7 bactéries et la durée de l'infection est également variable, se situant dans la majorité des cas entre 3 et 5 jours. Le réservoir principal de *Salmonella* est constitué par le tractus gastro-intestinal des mammifères et des oiseaux. Dans la majorité des cas, les animaux sont considérés comme des porteurs asymptomatiques et les œufs et les ovoproduits sont très souvent responsables de la transmission.

2^{ÈME} PARTIE :

**LA PRODUCTION D'ŒUFS DE
CONSOMMATION EN FRANCE**

I. Organisation de la filière

En France, la production d'œufs de consommation est organisée en plusieurs niveaux selon un schéma pyramidal qui aboutit finalement à une production de 16,9 milliards d'œufs pour une consommation de 15,4 milliards d'œufs en 2001. Selon la définition du règlement CEE n°1907/90, on entend par « œufs », les œufs de poule en coquille, propres à la consommation en l'état ou à l'utilisation par les industries de l'alimentation humaine, à l'exclusion des œufs cassés, des œufs couvés et des œufs cuits. (Tableau 9)

Le haut de la pyramide est occupé par les éleveurs réalisant la sélection : les souches parentales adaptées à la production d'œufs sont mises en place, grâce à des croisements permettant la sélection des caractères nécessaires, par les firmes de sélection avicoles. Ces animaux, mâles et femelles, sont livrés à l'âge de un jour dans les élevages de multiplication. (Figure 4)

La multiplication consiste à élever les souches parentales, mâles et femelles, livrées par les sélectionneurs, pour produire les œufs à couver. Après incubation et éclosion ces œufs fourniront les poussins de sexe femelle :

- Soit à des élevages spécialisés de poulettes futures poules pondeuses. Ces poulettes seront livrées aux producteurs d'œufs de consommation.
- Soit directement aux producteurs d'œufs de consommation qui assurent à la fois l'élevage des poulettes et des poules pondeuses.

La production d'œufs de consommation est assurée dans les élevages de poules pondeuses. La ponte commence à l'âge de 20 semaines et se termine aux environs de 70 semaines, âge de la réforme. On distingue deux types de producteurs :

- Les producteurs indépendants qui disposent de leur propre centre de conditionnement et assurent la commercialisation de leur production.
- Les producteurs intégrés dans la filière : cette intégration se fait par un fabricant d'aliments, une coopérative, un centre de conditionnement.

ŒUFS A COUVER	1, 343
Œufs de consommation dont	15, 618
▪ Production intensive	14, 336
▪ Production semi-intensive	0, 654
▪ Production traditionnelle	0,628
Production intérieure totale	16,961

Tableau 9 : Bilan de la production française d'œufs en 2001 (en milliards d'œufs) [1]

Les poules pondeuses appartiennent à deux grands types génétiques :

- Les Leghorn, à œufs blancs,
- Les Rhodes Island à œufs roux, légèrement plus gros que les blancs.

En Europe, l'œuf roux domine avec plus de 75% des quantités totales consommées. En France, la souche à œufs roux, dénommée IsaBrown, représente à elle seule 85% des poules pondeuses françaises. [42]

713 000 REPRODUCTRICES PONTE

7 couvoirs

49,4 millions de poulettes sexées

700 élevages de poulettes

2 100 élevages de pondeuses

Production totale d'œufs
15, 6 milliards d'unités

592 centres de conditionnement
60 casseries

Production
13,3 milliards d'œufs conditionnés
250 000 tonnes d'ovoproduits

Consommation intérieure
15,4 milliards d'œufs

Consommation
262 œufs par habitant dont 64 sous forme d'ovoproduits

Figure 4 : La filière œuf en France [25]

II. Systèmes d'élevages des poules pondeuses

A. Systèmes d'élevage en cage

En France, 89% des œufs de consommation sont pondus par des poules élevées en cages.

1. Description des cages et agencement

La poule dispose d'une surface minimale de 450 cm², les cages ayant une largeur de 30 cm, un accès à la mangeoire de 10 cm. La hauteur minimale est de 40 cm sur 65% de la surface et de 35 cm en tout point de la cage. La pente au sol doit être inférieure ou égale à 14% ou 8°.[47]

Plusieurs types d'agencement existent :

- ✓ La cage batterie

Cette disposition est la plus répandue. Les cages sont superposées les unes sur les autres. Les étages sont séparés par des tapis plastiques qui ont pour rôle de récupérer les fientes et de les évacuer vers l'extérieur.

- ✓ La cage compacte

Les cages sont superposées les unes sur les autres mais ne sont pas accolées. A chaque étage, les fientes s'entassent sur des plaques en fibrociment et périodiquement sont refoulées à l'aide de racleurs dans un couloir central situé à l'arrière des cages, puis les fientes sont déversées dans une fosse.

- ✓ La cage californienne semi-compacte

Les cages sont disposées en pyramides sur plusieurs étages. Pour limiter l'encombrement et favoriser l'accès, des déflecteurs de fientes ont été ajoutés, permettant le rapprochement des cages et l'augmentation de la densité dans le bâtiment.

- ✓ Le système flat deck

Toutes les cages sont à un même niveau, avec les équipements annexes entre les cages. Ce système a été conçu pour une mécanisation intégrale mais ne permet pas d'atteindre des densités élevées. À cela il faut ajouter la difficulté pour l'éleveur d'observer les poules et d'accéder au matériel, en particulier aux circuits de distribution de l'aliment et à celui du ramassage des œufs.

2. Alimentation et abreuvement

a) Système d'alimentation :

Il existe différents dispositifs de distribution de l'aliment : par chariot, par chaîne et par vis. Les principaux paramètres à considérer en matière de distribution de l'aliment sont : l'accès suffisant des poules à la mangeoire, le contrôle des quantités distribuées, la répartition homogène de l'aliment, une distribution rapide et le respect d'une ambiance calme pour éviter tout stress.

b) Système d'abreuvement

La majorité de l'abreuvement des poules en cages est réalisé par un système d'abreuvoir de type « goutte à goutte ». Ces systèmes sont en acier inoxydable et installés soit à l'arrière des cloisons entre deux cages ou encore en façade. L'alimentation en eau est aussi assurée en bout de cage par des bacs à eau. Un autre système moins répandu, dit fractionné, comporte par niveau de cage une gouttière de plusieurs mètres de longueur, alimentée à partir d'un bac se déplaçant au dessus des cages à une vitesse de quelques mètres par minute. L'eau doit être potable et distribuée à une température correcte.

En cages non aménagées, chaque cage est équipée d'au moins deux pipettes ou coupes d'abreuvement (ou à défaut, d'abreuvoir de même longueur que la mangeoire).

c) Évacuation des fientes

Les fientes peuvent être stockées dans le poulailler, dans des fosses semi-profondes, où l'enlèvement est réalisé régulièrement, soit en cours de bande, soit à la fin de chaque lot; elles peuvent être stockées dans des fosses profondes de 3 à 5 mètres, où les déjections peuvent s'accumuler sur plusieurs années. Elles peuvent enfin être évacuées vers l'extérieur, à l'aide de racleurs, dans des fosses spécialement aménagées. Cette méthode est la meilleure sur le plan de la qualité de l'air et de l'hygiène, mais nécessite un travail supplémentaire de la part de l'éleveur.

d) Les conditions d'ambiance

Au même titre que l'alimentation, l'hygiène et la lumière, la qualité de l'air constitue l'un des facteurs les plus importants, nécessaire à la réussite de l'élevage de poules pondeuses. La forte concentration de sujets au mètre carré de bâtiment implique un renouvellement d'air important pour répondre aux exigences des oiseaux. La qualité de l'air se caractérise par les paramètres suivants :

(1) La température

Le confort thermique joue un rôle essentiel sur la consommation alimentaire des poules. En particulier toute augmentation de la température de 1°C entre 18°C et 25°C réduit la consommation énergétique des pondeuses de l'ordre de 5 kcal par poule et par jour, ce qui représente une économie de 1,8 g d'aliment. Au dessus de 25°C, la réduction de la consommation énergétique devient plus importante entraînant une diminution des performances, accompagnée d'une dégradation de la qualité des œufs; la coquille perd jusqu'à 30% de son épaisseur et la fragilisation de la coquille ne peut être modifiée par l'incorporation de calcium dans la nourriture; cela entraîne aussi une réduction du poids des animaux. La température doit s'établir entre 20°C et 22°C en début de ponte pour atteindre un optimum de 23°C-25°C moment du pic de ponte [48].

(2) L'hygrométrie

L'hygrométrie doit être maintenue entre 55 et 70 %. Les poules sont très sensibles à des hygrométries élevées qui favorisent l'apparition de troubles respiratoires et réduisent l'appétit, avec pour conséquences une diminution du taux de ponte, de la qualité de la coquille et de la croissance en début de production. De même, une hygrométrie trop élevée permet la formation d'un biofilm à la surface de la coquille facilitant l'adsorption de microorganismes pathogènes. A l'inverse, une hygrométrie trop basse entraîne la dessiccation et par suite l'altération de la cuticule favorisant le passage de microorganismes par les pores de la coquille.[42]

(3) La ventilation

La ventilation joue un rôle primordial dans le maintien d'une excellente ambiance. Elle permet d'éliminer la chaleur et l'eau produites par les animaux, de maintenir une teneur correcte en oxygène et d'éliminer le gaz carbonique et l'ammoniac.[2]

La ventilation naturelle fonctionne avec des trappes d'admission d'air extérieur latérales ou bilatérales et avec une suppression sur une des parois. Elle ne permet pas de maîtriser l'ambiance d'une manière homogène durant toute l'année, mais est économique.

La ventilation dynamique fonctionne au moyen d'extracteurs dont le débit et l'emplacement créent une dépression dans le bâtiment.

La vitesse de l'air mesurée doit s'établir de 0,10 à 0,40m/seconde.

(4) La concentration en gaz (NH₃, CO₂, H₂S)

Les gaz produits dans le bâtiment doivent être éliminés. La concentration tolérable en ammoniac est d'environ 10 ppm. Une teneur élevée en ammoniac peut entraîner une dégradation de la qualité de l'albumen et provoquer des irritations des muqueuses, de la conjonctivite et des sous-consommations.

(5) La concentration en poussières et le niveau de contamination bactérienne

Les poussières proviennent essentiellement de l'animal, de l'aliment, des fèces et de la litière qui contribue à mettre en suspension les particules. La densité des animaux ne semble pas avoir d'influence sur la concentration en poussières. Cette dernière dépend plutôt du degré d'activité des animaux.

Les concentrations moyennes en flore totale aérobie évoluent dans le même sens que le niveau d'empoussièvement. Les plus fortes concentrations en bactéries dans la poussière sont observées dans les poulillers industriels avec litière, celles observées en cages étant significativement plus faibles.

L'une des difficultés rencontrées dans les unités de production de poules pondeuses réside dans la régulation de la ventilation et la bonne maîtrise des facteurs d'ambiance. Si des installations correctes sont nécessaires, l'éleveur demeure responsable pour une large part du maintien des meilleures conditions de vie des animaux, ce qui implique qu'il dispose du matériel de mesure de l'ambiance du bâtiment. [63]

e) Le bâtiment et le programme lumineux

Il doit être clos et étanche (bonne isolation et protection contre les nuisibles), facilement nettoyé et désinfecté, isolé du sol (le sol du bâtiment doit être compact, sec, isolant, sain et facile à désinfecter) et à parois et toitures isolées.[42]

Le but du programme lumineux est de déclencher la ponte au moment optimal selon la destination des œufs en contrôlant l'âge d'entrée en ponte. [48]

La saison durant laquelle se fait la croissance des poulettes élevées dans un bâtiment clair avec fenêtres a une influence décisive sur l'âge d'entrée en ponte.

Plus on éclaire la poulette en durée et en intensité, plus on diminue son potentiel de résistance, plus la ponte est précoce avec pour inconvénients la :

- Production diminuée en quantité
- Production d'œufs plus petits
- Diminution de la qualité des coquilles
- Plus grande sensibilité aux maladies
- Mortalité augmentée par accidents de ponte
- Rentabilité affectée

À l'inverse, une succession de jours décroissants peut entraîner un retard d'entrée en ponte avec également quelques inconvénients :

- Une augmentation de la durée d'élevage qui constitue une période improductive.
- Une diminution du nombre d'œufs.

Les poulettes sont très sensibles aux variations lumineuses entre 10 et 16 semaines. Le programme lumineux doit donc être adapté en fonction de la conception du bâtiment :

- En bâtiment clair; la durée et l'intensité lumineuses doivent être élevées pendant les premiers jours afin de permettre aux jeunes oiseaux de s'adapter à leurs besoins prioritaires (homéothermie, abreuvement, alimentation).
- En bâtiment obscur; la durée d'éclairage ne doit jamais être augmentée pendant la période de croissance, et inversement, pendant la période de production, la durée d'éclairage ne doit jamais être baissée.

L'arrêté du 1^{er} février 2002 précise que toutes les poules pondeuses *Gallus gallus* élevées en cage doivent disposer d'une surface minimale à partir du 1^{er} janvier 2003 :

- 550 cm² pour les élevages existant
- 750 cm² avec des aménagements pour les nouvelles installations.

B. Systèmes d'élevages alternatifs

Ces systèmes d'élevages représentent les 11% restant.

3. Élevage au sol

Il s'agit d'élevages en bâtiments dans lesquels les poules sont en liberté, contrairement aux élevages en cages. 485 000 poules sont élevées par ce système à une densité de 9 poules par m².

Les bâtiments d'élevages sont constitués de caillebotis en plastique sur lesquels sont placés des perchoirs qui permettent de réduire l'agressivité lorsque les densités sont élevées. La surface au sol qualifiée de parcours intérieur doit être recouverte au moins au tiers d'une litière constituée de paille, de copeaux, de sable ou de tourbe. La distribution de grit permet de maintenir la litière en bon état et d'éviter la ponte au sol en supprimant les nids constitués sur la litière. Les nids placés sur un ou deux niveaux sont calculés en fonction du nombre de poules : on compte un nid pour cinq à six poules. Les nids collectifs accueillent jusqu'à 120 poules.

L'alimentation peut être assurée par des chaînes plates au sol ou par des chaînes plates aériennes sur les caillebotis. Elle peut aussi être distribuée par assiettes dans lesquelles la hauteur d'aliment devra être bien réglée pour qu'elles soient vidées correctement.

L'abreuvement se fait au moyen d'un abreuvoir continu, d'abreuvoirs circulaires ou de rampes de pipettes avec récupérateurs d'eau.

La hauteur des chaînes d'alimentation et des abreuvoirs doit être réglée de façon à éviter qu'elle ne limite pas le déplacement des animaux et qu'elle ne favorise pas la ponte au sol. [42]

4. Élevage en plein-air et biologiques

a) En plein-air,

3,2 millions de poules sont élevées dans un système plein air c'est-à-dire dans un bâtiment avec une densité de 9 poules par m², mais ouvert sur un parcours herbeux de 4m² pour chaque pondeuse.

Dans ces effectifs, près de 740 000 pondeuses bénéficient du signe de qualité Label Rouge (7 poules par m², 65% de céréales, parcours herbeux de 5m²).

Les parcours sont chaulés une fois par an (de 250 à 500 g/m²). Ils doivent être utilisés 6 mois et mis au repos pendant 6 mois. Les parcours ont intérêt à être caillouteux et munis d'arbres.

b) En élevage biologique

1,3 million de poules disposent d'un parcours herbeux et de 4m² de terrain par poule, d'une alimentation composée à 90% minimum de produits issus de l'agriculture biologique (40% des aliments doivent être produits sur l'exploitation).

A partir du 1^{er} janvier 2004, le mode d'élevage sera précisé sur les emballages et sur les œufs par un code :

0= bio, 1= plein air,
2= sol, 3= cage.

E. Production d'ovoproduits

L'arrêté ministériel du 15 Avril 1992, relatif aux conditions hygiéniques et sanitaires de production et de mise sur le marché des ovoproduits, donne des ovoproduits la définition suivante : « produits qui ont été obtenus à partir de l'œuf, de ses différents composants ou de leur mélange, après élimination de la coquille et des membranes, et qui sont destinés à la consommation humaine; ils peuvent être partiellement complétés par d'autres denrées alimentaires ou additifs; ils peuvent être soit liquide, soit concentrés, séchés, cristallisés, congelés, surgelés ou coagulés ».

L'industrie des ovoproduits a commencé à se développer il y a une vingtaine d'années; elle transforme actuellement 20% de la production. Trois régions de l'Ouest regroupent 84% des activités du secteur (Bretagne 33%, Pays de Loire 29%, Poitou-Charentes, 22%).

L'industrie des ovoproduits se limitait à ses débuts à la casse des oeufs et à la séparation blanc-jaune. Aujourd'hui elle essaie de répondre à la demande du marché:

- en ingrédients fonctionnels;
- en produits restauration hors-foyer;
- en constituants à activité biologique.

Les ovoproduits sont issus du cassage des œufs avec ou sans séparation des milieux jaune et blanc. En raison de l'approvisionnement des casseries avec des œufs de poule exclus du commerce en coquille pour diverses raisons (taille, fraîcheur, fêlures, cassage, tache, souillure extérieure, malformation, etc.), la présence de salmonelles est inévitable. Le traitement d'assainissement utilisé est la pasteurisation thermique. Toutefois, s'il est possible d'appliquer des températures de l'ordre de 63°C pendant quelques minutes sans coaguler le jaune ou le produit entier, les mêmes barèmes efficaces contre la plupart des salmonelles provoquent la coagulation du blanc.

1. Cassage des œufs

➤ Stockage des œufs avant cassage

Le stockage prolongé réalisé sous certaines conditions permet de conserver les œufs pendant plusieurs jours en affectant très peu la qualité interne.[75]

➤ Cassage des œufs

Cette opération a deux buts : séparer la partie solide (coquille) de la partie liquide (jaune et blanc), et séparer le blanc du jaune. Pour la fabrication des ovoproduits destinés à la consommation humaine, seuls peuvent être utilisés [35] :

-les œufs non incubés, reconnus propres à la consommation humaine, et dont la coquille est entièrement développée et ne présente pas de défauts

-les œufs fêlés et les œufs ouverts, ainsi que les œufs fêlés légèrement souillés, à condition d'être livrés directement par les producteurs ou les centres d'emballage à une casserie agréée préparant les ovoproduits pasteurisés.

Cinq types de produits sont issus du cassage des œufs : trois ovoproduits propres à la consommation humaine (le blanc liquide, le jaune d'œuf liquide, l'œuf entier liquide), et deux sous-produits non utilisables pour la consommation humaine (les coquilles et les ovoproduits improbres à la consommation humaine).

2. Les ovoproduits improbres à la consommation humaine

Les ovoproduits sont soumis après traitement, à des contrôles par sondage. Les ovoproduits improbres à la consommation humaine sont les ovoproduits qui ne respectent pas les critères microbiologiques, chimiques (teneur en acide butyrique, en acide lactique et en acide succinique) et les quantités limites de résidus (coquille, membranes d'œufs, substances à action pharmacologique et hormonale, antibiotiques, pesticides...) tels que définis dans la directive 89/437 /CEE. Ces ovoproduits sont exclus de l'utilisation pour la santé humaine ou de la mise sur le marché, tant pour la fabrication de denrées alimentaires que pour la consommation humaine directe.

3. Conservation des œufs et ovoproduits

Si des œufs sont souillés au départ, il y aura beaucoup plus de chances de pénétration de germes nocifs. Pourtant, des opérations comme le lavage et le brossage endommagent presque toujours la cuticule protectrice. Si les œufs sont lavés, ils doivent être séchés rapidement et enrobés d'un film huileux.

Le mode de conservation « ancestral » des œufs était basé sur leur maintien dans du lait de chaux, qui provoquait un épaississement de la coquille, arrêtait la dessiccation interne en inhibait les échanges gazeux. Cette conservation pouvait atteindre plusieurs mois.

Les procédés de conservation peuvent être essentiellement le froid ou la dessiccation. Ils doivent être appliqués à des œufs extra-frais. Le froid peut être, s'il s'agit d'une conservation courte, un simple stockage à température fraîche de l'ordre de 10-12 °C dans une atmosphère à 80-85% d'humidité.

La congélation est le seul procédé sûr pour le stockage très long. L'œuf gèle théoriquement à -0,5°C, mais on peut le refroidir un peu en dessous de cette température sans provoquer sa congélation. Pourtant ce procédé pose des problèmes surtout lors de la décongélation. Si on part de -18°C, le temps de réchauffement est assez long. Il se fait par couche centripète et les germes nocifs peuvent se développer au cours de l'opération. La pasteurisation est recommandée avant la distribution. Cette pasteurisation s'effectue à 64,4°C pendant 2,5 minutes.

Les emballages ont aussi une incidence sur la qualité de la conservation : seuls les emballages alvéolaires sont une bonne formule. Le stockage d'autrefois sur des produits tels que la paille ou le foin peut à la fois contaminer les œufs et leur communiquer de mauvaises odeurs.

La conservation des ovoproduits est assurée par réfrigération, pour quelques jours, par congélation ou par dessiccation pour une période plus longue. Les ovoproduits sont conditionnés sous différentes formes ou stockés en cuves.

Les températures limites de stockage sont les suivantes :

- Produits surgelés : -18°C
- Produits congelés : -12°C
- Produits réfrigérés : +4°C
- Produits déshydratés : +15°C.

3^{ÈME} PARTIE :
CONTAMINATION DES ŒUFS PAR LES
SALMONELLES

I. Formation de l'œuf

A. Situation et structure de l'appareil reproducteur de la poule adulte

1. L'ovaire

L'ovaire adulte se situe dans la partie supérieure de la cavité abdominale sous l'aorte et la veine cave postérieure. Il s'appuie sur le rein et le poumon et, ventralement, sur le sac aérien abdominal gauche. La glande surrénalienne gauche est étroitement accolée à l'ovaire, l'ensemble étant suspendu à la paroi dorsale par un repli du péritoine contenant vaisseaux sanguins, nerfs et muscles lisses de soutien.

L'irrigation artérielle de l'ovaire est variable, même à l'intérieur d'une même espèce. Elle dérive le plus souvent de l'artère rénale antérieure. Il existe deux veines ovaries qui rejoignent la veine cave supérieure. L'innervation est très développée, particulièrement en direction des follicules.[82] (Figure 4)

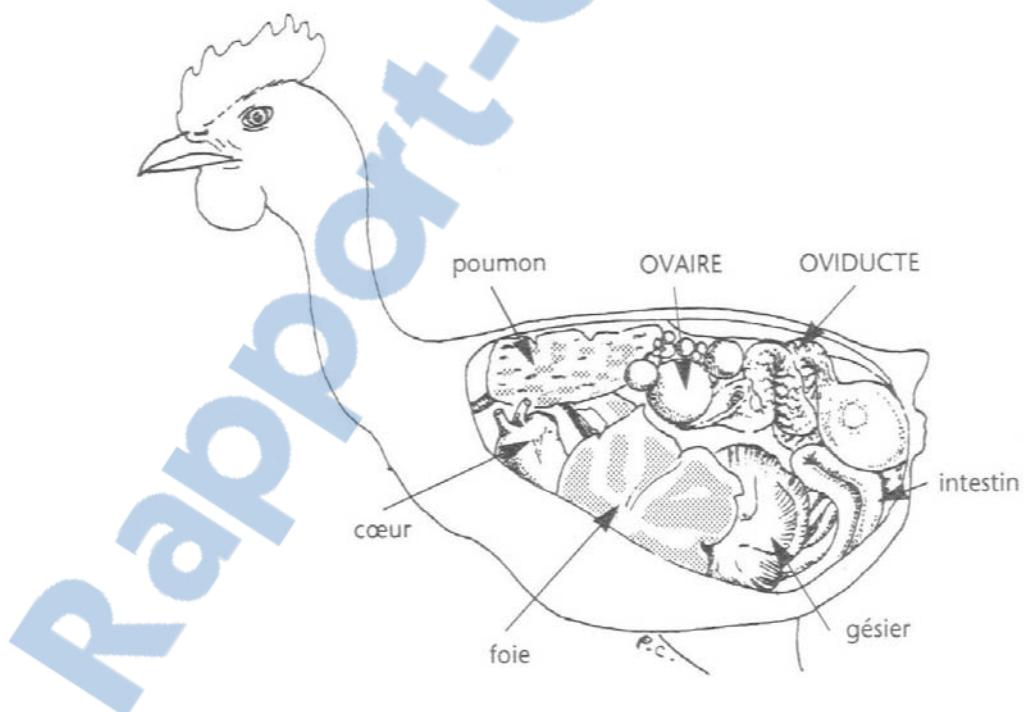


Figure 4 : Situation de l'ovaire et de l'oviducte dans la cavité abdominale de poule (vue latérale gauche) [82]

L'ovaire adulte a l'aspect d'une grappe du fait de la présence de sept à dix gros follicules contenant chacun un jaune en phase d'accroissement rapide. A côté de

ceux-ci se trouvent de très nombreux petits follicules (plus de 1000 visibles à l'œil nu) ainsi qu'un ou deux follicules vides (stade post-ovulatoire) qui dégénèrent rapidement.

De l'intérieur vers l'extérieur, on distingue à l'état mature :

- Une couche péri-vitelline acellulaire sécrétée par la granulosa,
- Une couche mono-cellulaire : la granulosa,
- Une couche basale,
- Les deux thèques interne et externe renfermant des cellules interstitielles,
- Une couche de tissu conjonctif (sauf au niveau du stigma où s'ouvrira le follicule),
- Un épithélium superficiel

Chaque follicule est rattaché à l'ovaire par un pédicule par lequel pénètrent 2 à 4 artères sanguines. Celles-ci se répandent dans la thèque externe et se divisent en artéries qui, à travers la thèque interne, viennent former un réseau capillaire dense autour de la couche basale. Le système veineux, quant à lui, prend naissance à plusieurs niveaux dont le plus profond se situe dans la thèque interne. Des fibres nerveuses suivent un trajet semblable à celui des artéries. Le réseau capillaire est très peu dense au niveau du stigma ou ligne de déhiscence folliculaire; cette disposition permet à l'ovulation de n'entraîner, en principe, aucune hémorragie (lorsque celle-ci intervient cependant, le jaune porte une "tache de sang").

2. Oviducte

L'oviducte se présente comme un tube étroit de couleur rose pâle s'étendant de la région de l'ovaire au cloaque. Sa longueur totale est, chez la poule, voisine de 70 cm. Il est suspendu le long de la surface ventrale du rein gauche par un repli du péritoine. (Figure 5)

L'irrigation artérielle de l'oviducte se fait à quatre niveaux à partir du système artériel général. L'innervation de la partie distale est particulièrement développée : elle joue un rôle essentiel dans la progression de l'œuf en formation, et dans l'oviposition.

L'oviducte peut être divisé en cinq zones, faciles à distinguer qui sont, dans le sens antéro-postérieur :

- L'infundibulum ou pavillon, zone très fine, non rattachée à l'ovaire, en forme d'entonnoir;
- Le magnum est la partie la plus longue de l'oviducte. Sa paroi est très extensible et présente sur sa face interne des plis importants dont l'épaisseur peut atteindre 5 mm. C'est la zone la plus riche en cellules et glandes sécrétrices. Le magnum est nettement séparé de la zone suivante par une étroite bande translucide sans glande ni repli interne;
- L'isthme présente un léger rétrécissement du diamètre par rapport au magnum. Ses quatre derniers centimètres sont richement vascularisés;
- L'utérus ou glande coquillière se distingue des segments précédents par sa forme de poche et l'épaisseur de sa paroi musculaire.
- Le vagin est une partie étroite et musculaire. Il est séparé de l'utérus par un resserrement appelé jonction utéro-vaginale qui joue un rôle primordial dans la

progression et la conservation des spermatozoïdes. Il débouche dans la moitié gauche du cloaque.

La paroi de l'oviducte est composée de six couches superposées. On trouve, de l'intérieur vers l'extérieur : (Figure 6)

- L'épithélium sécrétoire, il présente des cellules ciliées et caliciformes en proportion variables,
- La lamina propria qui renferme les glandes tubulaires pluricellulaires
- Une couche de fibres musculaires circulaires,
- Une couche conjonctive externe,
- Une couche de fibres musculaires longitudinales,
- Le péritoine qui forme une séreuse externe.

Les cellules épithéliales caliciformes et les cellules des glandes tubulaires assurent la synthèse et la sécrétion des protéines du blanc, des fibres des membranes coquillières, de la trame protéique de la coquille et de la cuticule.

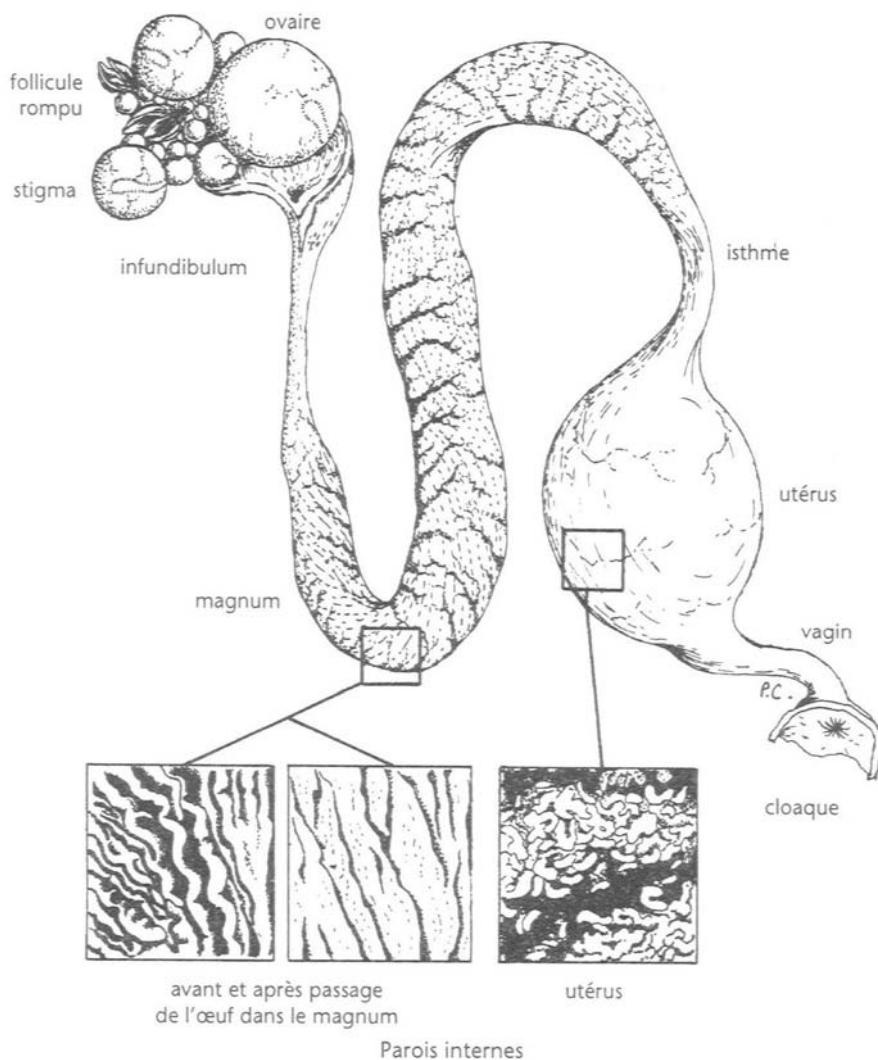


Figure 5 : Structure de l'oviducte de poule et aspect de sa paroi interne [82]



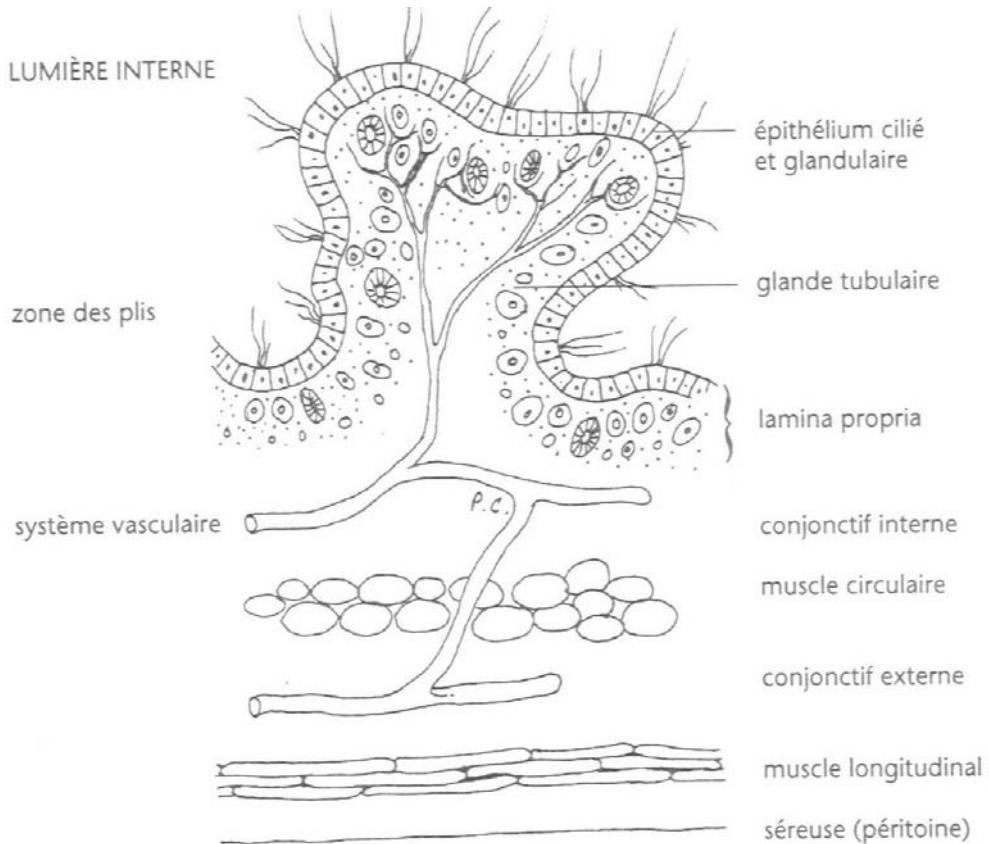


Figure 6: Structure de la paroi de l'oviducte [82]

B. Formation du jaune de l'œuf : vitellogénèse

1. Chronologie et régulation du dépôt du jaune

Ce processus d'accumulation du jaune de l'œuf à l'intérieur d'un follicule ovarien est très long : il commence chez la jeune poulette et se termine juste avant l'ovulation. Il fait appel à des constituants transportés par voie sanguine. Trois phases peuvent être distinguées :

- Phase initiale d'accroissement lent : le diamètre d'un ovule porté par un ovaire de poussin femelle est multiplié par quatre à l'âge de six semaines et atteint un millimètre entre quatre et cinq mois, après dépôt de quelques gouttelettes lipidiques.
- Phase intermédiaire : la taille du follicule sélectionné au sein du pool indifférencié de départ passe de 1 à 4 mm en 60 jours environ, grâce à un dépôt constitué de protéines mais aussi de lipides : l'ensemble constitue le « vitellus blanc ».

- Phase de grand accroissement : la croissance de l'ovule s'accélère rapidement pendant les 8 à 10 jours qui précèdent l'ovulation. Le jaune déposé présente parfois des alternances de couleur plus ou moins claire qui correspondent à des couches synthétisées pendant la nuit ou la journée. La durée de cette phase varie de 6 à 14 jours. (Figure 7)

Sur l'ovaire d'une poule, il existe une hiérarchie de la taille des follicules : huit follicules environ sont simultanément en phase de grand accroissement avec un décalage d'une journée.

La vitesse avec laquelle s'effectue la croissance du jaune varie avec l'âge de l'animal. Dans un œuf pondu à l'entrée en ponte, le jaune ne pèse que 12g alors qu'il peut atteindre 23g en fin de ponte; le poids maximum est atteint vers le 5^e mois de ponte, mais dès le 2^e mois, le temps de maturation se stabilise aux alentours de 9 jours.

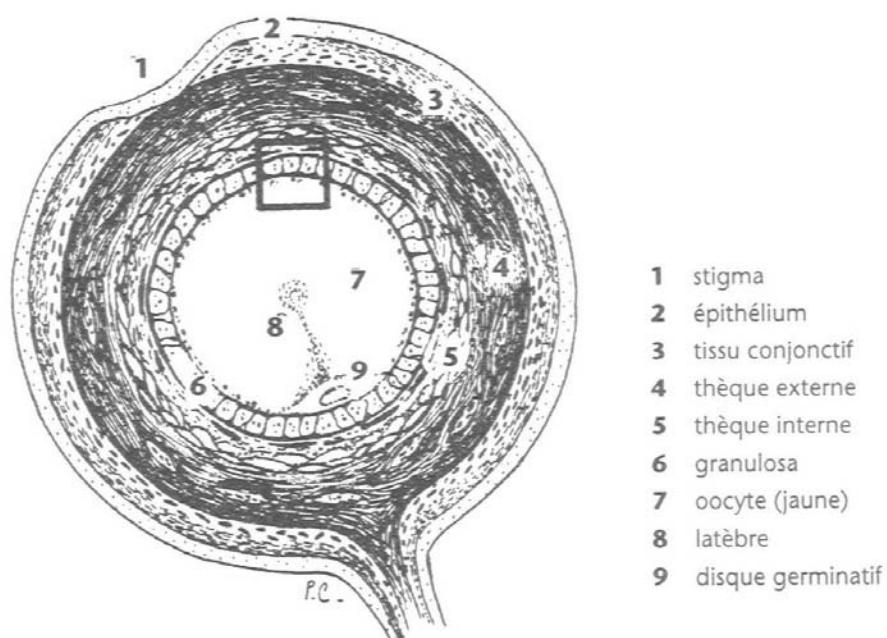
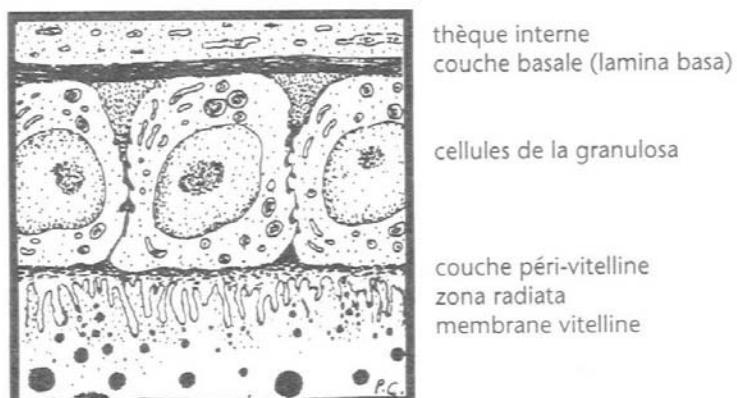


Figure 7 : Structure d'un follicule en phase de grand accroissement et de sa paroi [82]

a) Origine des constituants du jaune

Tous les constituants de jaune sont apportés par le sang et proviennent en majorité du foie dont l'activité de lipogénèse est multipliée par dix lors de la maturation sexuelle. Il s'agit surtout d'une émulsion d'eau, de lipoprotéines et de protéines, ainsi que de minéraux et pigments.

Les phosvitines et les lipovitellines sont les protéines spécifiques du jaune : elles sont synthétisées à 100% par le foie et sont caractéristiques de la poule en ponte. Le foie d'une poule en ponte synthétise 2,5 g de protéines par jour à destination du jaune; ces synthèses sont contrôlées par les oestrogènes qui agissent à trois niveaux :

- Induction de synthèse d'acides nucléiques spécifiques des protéines du jaune,
- Induction de synthèse des protéines non spécifiques (livétines),
- Augmentation à plus long terme de la masse hépatique.

Le transport sanguin des lipoprotéines s'effectue sous forme d'un complexe soluble de calcium, comprenant aussi de fer et du zinc.

b) Conclusion

Le mode de formation du jaune d'œuf a deux conséquences importantes :

- L'origine hépatique des constituants du jaune explique que leur teneur en acides gras surtout, puisse dépendre de l'alimentation de la poule;
- La durée de la phase de grand accroissement fait que toute altération, même brève, du fonctionnement hépatique de la poule se répercute sur 4 à 7 œufs au minimum.

2. Formation de l'œuf dans l'oviducte (Figure 8)

L'ovulation proprement dite est assurée par l'ouverture du follicule au niveau du stigma. La captation du jaune de l'œuf par l'infundibulum constitue la première étape de l'activité de l'oviducte; ce n'est que 24 à 26 heures plus tard que l'œuf complet est expulsé lors de l'oviposition. Entre ces deux instants, les étapes suivantes ont lieu :

- Achèvement de la membrane vitelline dans l'infundibulum,
- Sécrétion des protéines du blanc dans le magnum,
- Sécrétion des membranes coquillières dans l'isthme,
- Hydratation du blanc et sécrétion de la coquille dans l'utérus,
- Oviposition.

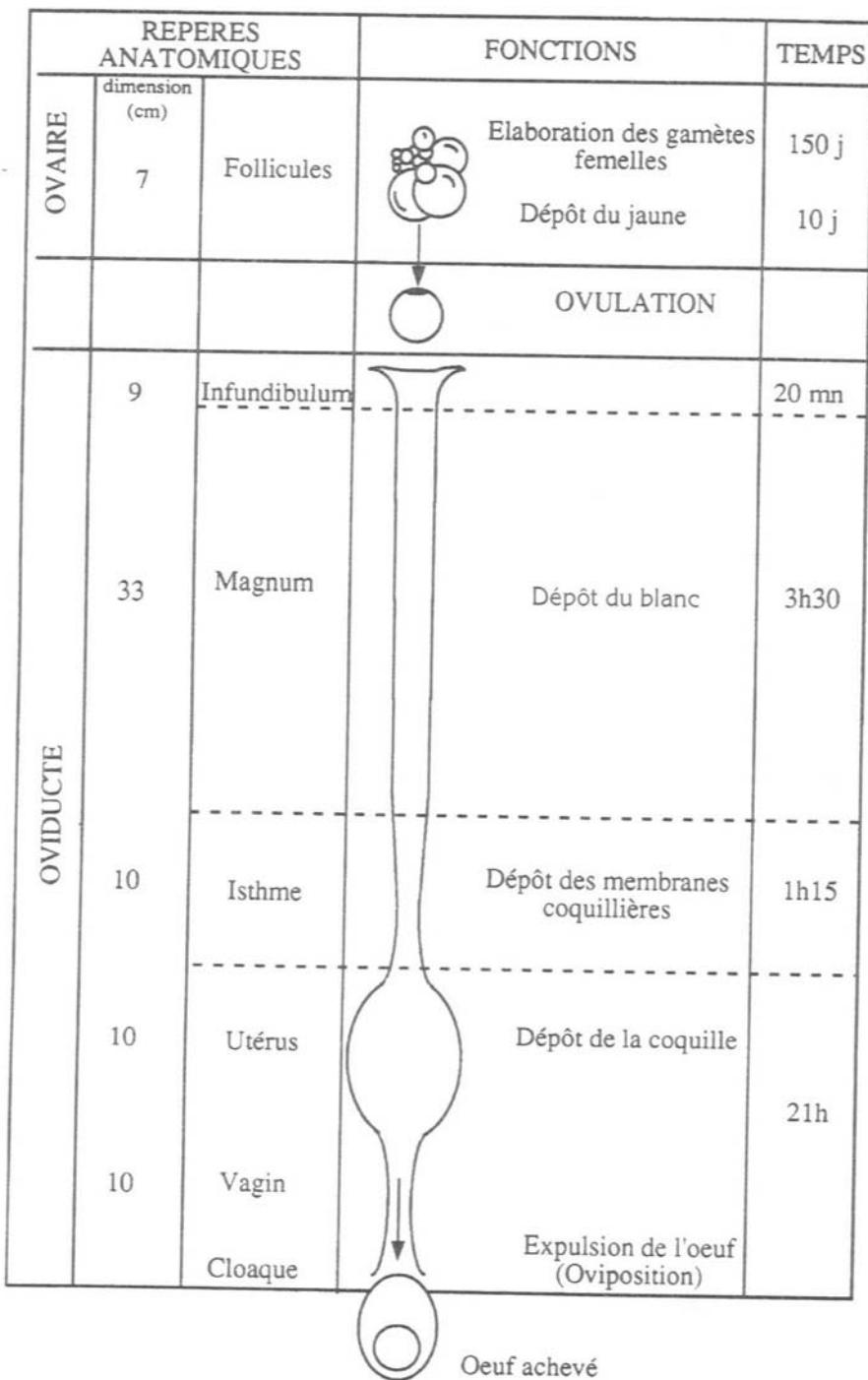


Figure 8 : Cinétique et formation de l'œuf de poule [82]

a) Rôle sécrétoire de l'infundibulum

L'infundibulum assure la sécrétion de la couche externe de la membrane vitelline. Ce dépôt représente environ les deux tiers (5 à 8 µm) de l'épaisseur de totale de la membrane (8 à 11 µm) et joue un rôle important dans la protection du jaune contre les transferts d'eau en provenance du blanc.

b) Sécrétion du blanc dans le magnum

Il s'agit essentiellement d'une solution aqueuse de protéines et de minéraux; le blanc d'un œuf renferme à peu près 4 g de protéines pures.

15 à 20 minutes après l'ovulation, le jaune pénètre dans le magnum et le dépôt des protéines s'effectue sous forme de grains de sécrétion grâce à des invaginations des membranes cellulaires. C'est la distension tissulaire due au passage du jaune qui provoque l'arrivée massive des protéines dans la lumière de l'oviducte.

Les protéines sont toutes sécrétées par la paroi du magnum, contrairement aux protéines du jaune d'origine hépatique. Cette synthèse est continue : toute carence en acides aminés indispensables se répercute donc dès le deuxième œuf qui suit son installation. Les cellules caliciformes de l'épithélium sécrètent l'avidine et l'ovomucine, responsables de la structure en gel du blanc épais. Le lysozyme et l'ovalbumine sont sécrétées par les cellules des glandes tubulaires.

Les minéraux sont en majorité apportés dans le magnum : 80% du sodium et 50% du chlore final, 60-70% du calcium et du magnésium liés aux protéines et donnant ainsi les propriétés physiques au blanc. Seul le potassium est peu apporté dans le magnum.

c) Activité de l'isthme : sécrétion des membranes coquillières et initiation de la coquille

Le blanc est recouvert dès son arrivée dans l'isthme par des fibres protéiques entrelacées qui constitueront les membranes coquillères en 60 à 75 minutes. La portion terminale de l'isthme, l'isthme rouge, est le lieu de sécrétion des fibres protéiques constituant la partie inférieure de la matrice organique de la coquille. Ces fibres sont imbriquées dans celles de la membrane coquillière externe et assurent donc la solidité d'attache de la coquille. Elles renferment aussi le noyau mamillaire protéique autour duquel débute la cristallisation du carbonate de calcium.

d) Activité de l'utérus – Formation de la coquille de l'œuf

L'œuf pénètre dans l'utérus 5 heures après l'ovulation : il a donc parcouru assez rapidement les 50 premiers centimètres de l'oviducte mais va rester encore 20 heures dans l'utérus avant d'être expulsé.

(1) Hydratation du blanc dans l'utérus

À la sortie de l'isthme, l'œuf recouvert de ses deux membranes a un aspect ridé dû à la faible hydratation des protéines du blanc. La phase de «plumping» va alors permettre le gonflement de l'œuf et la tension des membranes coquillières en doublant la teneur en eau. Ce transfert d'eau est accompagné d'une sécrétion minérale composée surtout de sodium, potassium et bicarbonate. C'est pendant cette hydratation qu'apparaissent les différentes couches visibles dans l'œuf achevé : blanc épais, blanc « liquide » interne et externe, et chalazes. Leur apparition résulte de la rotation lente subie par l'œuf dans l'utérus par la torsion des fibres protéiques du blanc épais.

(2) Formation de la coquille

La coquille pèse environ 6g et elle est constituée essentiellement de cristaux de carbonates de calcium (CaCO_3) recouverts d'une cuticule organique. La formation de cette coquille intervient entre 10 et 22 heures après ovulation, en période nocturne.

Le moteur de base des différents transferts est une sécrétion de sodium dans le liquide utérin, effectuée par les cellules glandulaires utérines. Pour respecter l'équilibre des charges électriques, le sodium est accompagné de chlore en provenance du plasma sanguin et de bicarbonate produit essentiellement à l'intérieur de la cellule par hydratation du gaz carbonique en présence d'anhydrase carbonique.

Une partie des ions chlore sécrétés est directement réabsorbée par la cellule glandulaire pour accompagner les protons résultant de l'hydratation du CO_2 . Le chlore et le sodium atteignant la lumière utérine sont finalement réabsorbés par les cellules de l'épithélium, dans une proportion, ($\text{Na}^+ > \text{Cl}^-$), qui permet un excédent de charges électriques positives réabsorbées et donc une sécrétion de calcium.

(3) Origine du calcium déposé sur la coquille

La sécrétion de calcium dans le liquide utérin s'opère sans aucun stockage préalable de l'élément dans les cellules de la paroi : la source immédiate est donc le sang. A un instant donné, la totalité du sang de la poule ne contient que 25 mg de calcium; le dépôt de la coquille (130 mg/ heure) oblige donc un renouvellement total du calcium sanguin toutes les 12 minutes et ceci pendant 12 heures par jour.

Ces chiffres montrent bien l'effort que constitue la formation quasi-quotidienne d'une coquille.

Si à court terme, le calcium de la coquille vient du sang, la seule source réelle à moyen et long terme provient du calcium des aliments. L'intestin participe activement à la régulation immédiate du métabolisme calcique de la poule puisque la rétention du calcium passe de 40 à 80% lorsque la poule forme une coquille. Un métabolite actif de la vitamine D, le 1, 25-dihydrocholestérol, augmente la perméabilité de la muqueuse intestinale au calcium et y induit la synthèse d'une protéine liant le calcium (CaBP), probablement pour protéger le milieu intracellulaire contre un excès de Ca^{2+} ionique.

À cette régulation à long terme, s'ajoutent un cycle journalier de production de ce métabolite de la vitamine D et le fait que les sécrétions digestives du jabot (acide lactique) et du proventricule (acide chlorhydrique) s'accroissent pendant la période du jour où a lieu la formation de la coquille. Il en résulte une meilleure dissolution du carbonate de calcium apporté par l'aliment et donc une quantité plus élevée de calcium absorbable. Le contenu en calcium soluble du gésier est d'ailleurs multiplié par 2,5 pendant la formation de la coquille. (Figure 9)

Une régulation journalière et horaire de l'appétit spécifique de la poule pour le calcium contribue à assurer les besoins en calcium. La mobilisation du calcium du squelette intervient également en fin de nuit lorsque le tube digestif ne contient plus assez de calcium absorbable. L'os médullaire présent dans les côtes, le fémur ou le bassin est mobilisé lors de la phase de formation de la coquille par action des ostéoclastes sous le contrôle de la parathormone. Les ostéoblastes assurent ensuite le dépôt osseux entre les phases de sécrétion de la coquille.

Le phosphore minéral libéré de l'os en même temps que le calcium est éliminé par l'urine où il participe à l'élimination des protons sous forme de phosphates diacides.

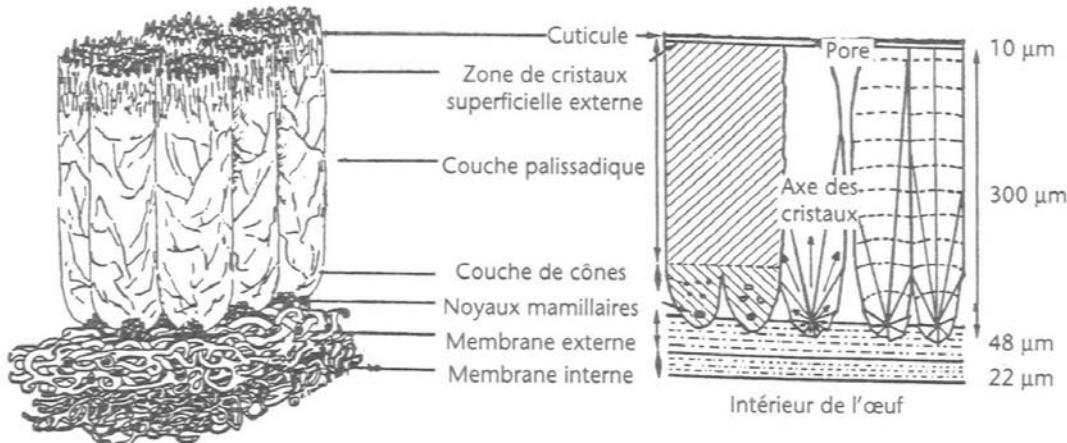


Figure 9 : Structure de la coquille de l'œuf de poule [82]

(4) Activité contractile de l'oviducte et oviposition

La propagation de l'œuf en formation dans le magnum et l'isthme est assurée par une inhibition des muscles lisses en arrière de l'œuf jointe à une importante activité des muscles antérieurs. L'activité contractile de l'utérus reprend lorsque l'œuf y pénètre : elle assure à l'œuf un mouvement lent de rotation autour de son grand axe qui dure pendant toute la formation de la coquille.

Après un plateau de 2 à 3 heures pendant lesquelles s'achèvent le dépôt de la cuticule et la pigmentation, les contractions utérines atteignent un paroxysme et provoquent l'expulsion de l'œuf dans le vagin puis, quelques minutes plus tard, à l'extérieur. Cette phase constitue l'oviposition.

C. Structure, composition et qualité de l'œuf

1. Structure de l'œuf : les barrières

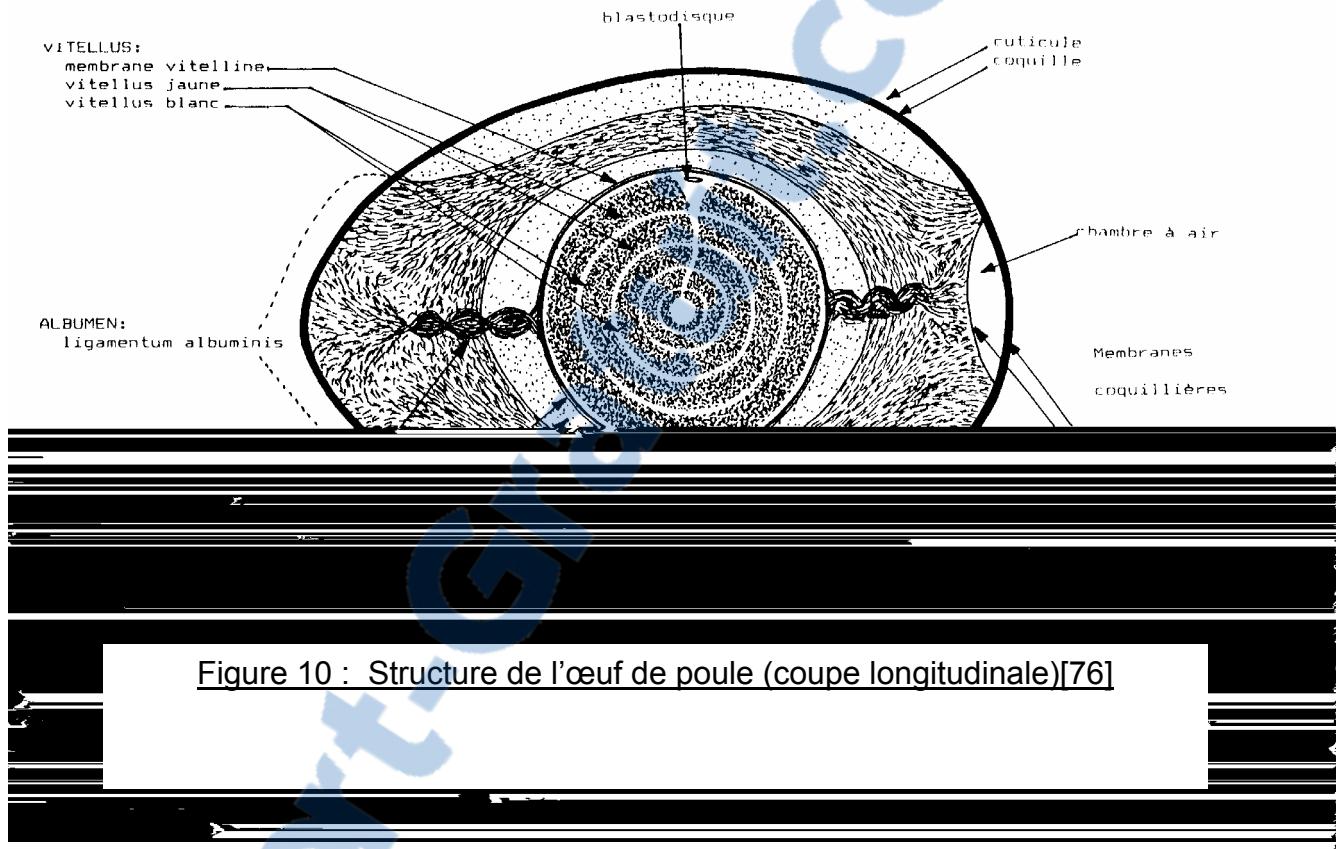


Figure 10 : Structure de l'œuf de poule (coupe longitudinale)[76]

a) La cuticule

De nature protéique, elle forme un revêtement continu étanche aux microorganismes mais fragile car peu épaisse. Les frottements, le brossage et des manipulations brutales peuvent provoquer des solutions de continuité.

b) La coquille calcaire

Elle est composée d'un réseau structuré de protéine fibrillaire siège de calcification ménageant de nombreux micropores : plusieurs milliers de pores de quelques microns de diamètre chacun sont répartis sur la coquille ; leur densité est plus grande au gros bout de l'œuf. La surface totale des pores est de quelques millimètres carrés. Chaque pore est comblé d'un feutrage de protéines infranchissable par les microorganismes quand il est sec. L'humidité rend ces pores perméables aux germes mobiles, en particulier aux Entérobactéries et *Pseudomonas* ainsi qu'au mycélium des moisissures. Le contact avec des matériaux humides, une hygrométrie élevée ou des phénomènes de condensation de vapeur sur des œufs refroidis sortis en atmosphère tiède favorisent aussi le franchissement de la coquille.

c) Les membranes coquillières

La première membrane, externe, est en prolongement des structures protéiques fibrillaires de la coquille calcaire. Le feutrage ainsi formé est assez lâche; cet obstacle est facile à traverser.

A l'inverse, la membrane coquillière interne représente la véritable membrane de l'œuf. Elle présente une structure protéique serrée et est difficile à franchir par les microorganismes et les mycélium.

d) Le blanc d'œuf

C'est la dernière barrière, mais elle est de taille : le blanc d'œuf est bactériostatique et bactéricide pour certaines espèces. Son pH dépasse 9 en quelques heures. Le lysozyme contenu lyse les parois des bactéries et la conalbumine chélate les métaux bivalents indispensables à la vie bactérienne.

2. Composition moyenne de l'œuf de poule

La valeur biologique des protéines de l'œuf est légèrement supérieure à celle du lait de femme pour l'enfant et a été choisie comme référence par l'organisation mondiale de la santé (OMS).

a) Composition de la coquille

La coquille renferme 1,6% d'eau et 3,3% de protéines qui constituent sa trame. La partie minérale (95,1%) est essentiellement composée de carbonates de calcium (93,6% de l'ensemble) sous forme de calcite; les autres sels présents sont du carbonate de magnésium et du phosphate tricalcique (0,8% chacun). Globalement, la calcium représente 37,3% du poids total de la coquille (2,3 g pour une coquille de 6g), la fraction carbonate 58%, le magnésium et le phosphore 0,35 % chacun. Le seul oligo-élément présent en quantité notable est le manganèse (7ppm).

b) Composition du blanc

Le blanc d'œuf ou albumen est une solution aqueuse de protéines, de sucres et de sels minéraux. Il est quasiment dépourvu de lipides que l'on y rencontre seulement à l'état de traces. L'eau est le constituant majeur et sa teneur diminue des couches extérieures vers les couches intérieures. L'extrait sec du blanc varie selon de nombreux facteurs : souche et âge de la pondeuse, poids de l'œuf, conservation; et se situe dans la fourchette 10-12%. Les protéines représentent le groupe de constituant majeurs du blanc d'œuf. (Tableau 10)

COUCHES	% DE L'ALBUMEN		% D'HUMIDITE
	Moyennes	Variations	
Blanc liquide externe	23,2	10-60	88,8
Blanc épais	57,3	30-80	87,6
Blanc liquide interne	16,8	1-40	86,4
Chalazes	2,7	-	84,3

Tableau 10: Proportion et teneur en eau des différentes couches de l'albumen [83]

La composition moyenne du blanc d'œuf de poule, exprimée en pourcentage, est la suivante :

Protéines : 9,7-10,6 soit 88,85% de la matière sèche
 Sucres : 0,4-0,9
 Lipides : 0,03
 Cendres : 0,5-0,6
 Matière sèche : 10,6-12,1 [82]

➤ Les protéines du blanc d'œuf

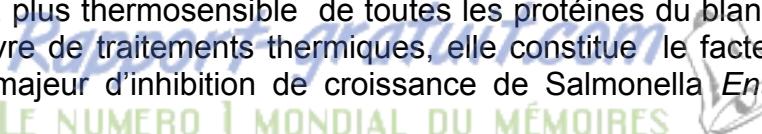
Le blanc d'œuf peut être considéré comme une solution aqueuse de protéines globulaires dans laquelle baignent des fibres d'une glycoprotéine particulièrement abondante dans le blanc épais : l'ovomucine.

Les protéines du blanc d'œuf sont toutes des glycoprotéines (sauf le lysozyme), riches en acides aminés soufrés, très sensibles à la chaleur et à la dénaturation de surface. Ce sont les seules protéines animales possédant des facteurs antitrypsiques.

■ L'ovalbumine

C'est la protéine majeure du blanc d'œuf et elle représente à elle seule plus de la moitié des protéines totales (54%). C'est une protéine phosphorylée et glycosylée qui se trouve sous forme de monomère. Son poids moléculaire est de 45 000 Da et son pH isoélectrique de 4,5. L'ovalbumine possède des propriétés antigéniques, immunochimiques et allergéniques. Cette protéine possède également des propriétés fonctionnelles (pouvoir émulsifiant, pouvoir moussant, pouvoir gélifiant), en relation avec sa sensibilité à la dénaturation de surface et à la dénaturation thermique. Ces propriétés dépendent étroitement des conditions de milieu (force ionique, pH, température) et de l'effet de traitements particuliers comme une protéolyse ménagée, une déphosphorylation ou une glycosylation partielle. [83]

■ Ovotransferrine ou conalbumine

L'ovotransferrine est une glycoprotéine qui ne diffère de la transferrine du sang de la poule que par sa partie glucidique. Elle constitue 12 à 13 % des protéines du blanc d'œuf. Elle possède une action anti-oxydante, par sa capacité à fixer deux atomes de fer. Elle joue un rôle bactériostatique en privant les bactéries de fer et inhibe le développement de *Pseudomonas*, *Escherichia coli* et *Streptococcus mutans* [84]. Elle est la plus thermosensible de toutes les protéines du blanc d'œuf; lors de la mise en œuvre de traitements thermiques, elle constitue le facteur limitant. Elle est le facteur majeur d'inhibition de croissance de *Salmonella Enteritidis* dans le blanc d'œuf. [6] 

■ Ovomucoïde

L'ovomucoïde est une glycoprotéine thermorésistante représentant 10% des protéines du blanc d'œuf. Elle a une forte activité antitrypsique mise en évidence en 1947 par Lineweaver et Murray. C'est la protéine la plus allergénique du blanc d'œuf avec l'ovomacroglobuline. Cette propriété est conservée après traitement thermique et enzymatique.

Les propriétés antibactériennes du blanc d'œuf dues essentiellement au lysozyme sont accrues par la présence d'ovomucoïde et de conalbumine à pH alcalin. [83]

■ Le lysozyme

Cette protéine présente un fort caractère basique et un pH isoélectrique très élevé de 10,7, ce qui l'implique dans des interactions électrostatiques avec l'ovomucine. Ces interactions jouent un rôle considérable concernant la qualité du blanc d'œuf au cours de la conservation. C'est une enzyme qui se manifeste par une activité bactériolytique identique dans le blanc liquide et le blanc épais. C'est une N-acétylhexoaminidase capable d'hydrolyser la liaison β 1,4 établie entre l'acide acétylmuramique et la N-acétylglucosamine du peptidoglycane des mucopolysaccharides qui constituent les parois des bactéries à Gram +.

■ L'ovomucine

Elle représente 1,5 à 3% des protéines du blanc d'œuf. On la trouve aussi dans les chalazes et à l'extérieur de la membrane vitelline. Elle est responsable de la haute viscosité du blanc épais qui en contient 4 fois plus que le blanc liquide. Elle possède des propriétés inhibitrices de l'hémagglutination d'origine virale.

■ Les ovoglobulines

Trois globulines G1, G2 et G3 représentant 4% des protéines du blanc ont été mises en évidence en 1940. G1 a ensuite été identifiée comme le lysozyme. Les globulines sont d'excellents agents moussants.

■ L'ovo inhibiteur

Comme l'ovomucoïde, il fait partie des inhibiteurs de protéases à sérides. C'est un inhibiteur puissant de la chymotrypsine du poulet, de l'élastase et de protéases bactériennes et fongiques.

■ L'ovoglycoprotéine

C'est une glycoprotéine très acide avec un pH isoélectrique de 3,9.

■ La flavoprotéine

Elle est appelée aussi ovoflavoprotéine ou riboflavin-binding protein (RBP). C'est une glycoprotéine qui fixe de façon très efficace la riboflavine. Elle est responsable de la couleur verdâtre du blanc d'œuf.

■ L'ovomacroglobuline (ou ovostatine)

Cette glycoprotéine possède une activité d'inhibition vis-à-vis, entre autres, de la pepsine et de la trypsine.

■ Cystatine

Les cystatines pourraient protéger les cellules de l'attaque par leur propres protéases ou contre l'infection virale.

■ L'avidine

Cette protéine est rencontrée dans le blanc d'œuf et dans de nombreux tissus des oiseaux, des reptiles et des amphibiens. Elle pourrait être un des nombreux facteurs antimicrobiens du blanc d'œuf.

➤ Les glucides du blanc d'œuf

Dans le blanc d'œuf, les glucides peuvent se trouver sous deux formes

-une forme libre qui représente 0,5% du poids de l'albumen. Plus de 98% de ces sucres sont représentés par du glucose

-une forme liée aux protéines, sous la forme d'un groupement glycane.
(Tableau 11)

	GLUCOSAMI NE	GALACTOSAMI NE	GALACTO SE	MANNO SE	ACIDES SIALIQU ES
Ovalbumine	1,2	-	-	1,7-2,0	
Ovotransferrine	1,7	-	-	0,9	-
Ovomucoïde	9,5-17,7	-	0,53-4,07	6,4-8,6	0,03-2,23
Ovomucine	5,4	0,5	1,8	4,6	1,0
Flavoprotéine	8,7		1,1	3,9	0,86
Ovoglycoprotéine	13,8	-	4,5	9,0	3,0
Ovomacroglobuline	5,5	-	0,3	0,3	-
Ovo inhibiteur	2,8-5,6	-	-	2,1-3,7	0,1-0,3
Avidine	4,1	-	-	4,6	-

()Somme galactose + mannose

Tableau 11 : Composition en sucre (g /100g) des glycoprotéines du blanc d'œuf. [83]

➤ Fraction inorganique

Le blanc d'œuf renferme de nombreux minéraux. De par sa composition minérale, l'albumen est plus proche d'un liquide intracellulaire que d'un liquide extracellulaire.

	CONTENU TOTAL MOYEN (MG/ŒUF DE 60G)		
	Œuf entier sans coquille	blanc	jaune
Sodium	72	62	10
Potassium	73	53	20
Chlore	93	62	31
Calcium	29	3	26
Magnésium	6	4	2
Phosphore	120	5	115
Fer	1,1	2-3	1,1
Souffre	90	60	30

Tableau 12 : Teneurs de l'œuf et de l'albumen en minéraux [82]

La concentration en ions monovalents (Na^+ et K^+) ne varie pratiquement pas d'une zone de l'albumen à l'autre. Par contre, la répartition des cations divalents (Ca^{2+} et Mg^{2+}) dont une partie est liée aux protéines, n'est pas homogène : ils représentent 30% des minéraux dans le blanc épais, contre 15% seulement dans le blanc liquide.

Le blanc d'œuf contient également du gaz carbonique qui y joue un rôle fondamental en contrôlant le pH. Comme le CO_2 diffuse rapidement au travers de la coquille, il est difficile de donner avec précision la teneur du blanc d'œuf en gaz carbonique au moment de la ponte. Cette teneur serait de 53 meqL^{-1} exprimé en HCO_3^- ce qui correspond environ à 4,25 mg par œuf et à une pression partielle de CO_2 de 70 à 80 mm de Hg et à un pH de l'albumen de 7,6; soit 22 ml dissout. La quantité de gaz carbonique est en équilibre avec la quantité de bicarbonates du blanc d'œuf qui représente 96% du gaz carbonique total. Aussitôt après la ponte, le gaz carbonique dissout s'échappe par les pores de la coquille et la pression partielle de CO_2 devient inférieure à 10 mm de Hg; au bout de quelques jours, le pH se stabilise autour de 9.

➤ Les vitamines (Tableau 13)

Le blanc d'œuf est pauvre en vitamines. Il est dépourvu de vitamines liposolubles (A,D,E,K) et ne contient que quelques vitamines hydrosolubles. Il contient un peu d'acide pantothénique (vit PP) et de riboflavine (vit B12) responsable de sa couleur légèrement vert-jaune.

	CONTENU TOTAL (PAR ŒUF DE 60 G)		
	œuf entier	blanc	jaune
Vitamines liposolubles			
Vitamine A (U.I.)	150-400	-	150-400
Vitamine D (U.I.)	20-80	-	20-80
Vitamine E (mg)	0,6-2	-	0,6-2
Vitamine K (mg)	0,01-0,03	-	0,01-0,06
Vitamines hydrosolubles			
Choline (mg)	225	-	225
Thiamine= vit B1 (µg)	52	1,5	50
Riboflavine=vit B2 (µg)	200	120	80
Nicotinamine (µg)	43	33	10
Pyridoxine=B6 (µg)	68	8	60
Acide pantothénique (µg)	830	80	750
Biotine (µg)	10	2	8
Acide folique (µg)	15	0,5	14,5
Vitamine B12 (µg)	0,5	-	0,5

Tableau 13 : Teneur de l'œuf en vitamines [83]

c) Composition du jaune

Le jaune d'œuf ou vitellus est la partie qui contient les éléments nécessaires au développement de l'embryon. Le jaune représente environ 30% du poids de l'œuf. Il est de forme approximativement sphérique et de structure hétérogène; on y distingue, du centre vers l'extérieur :

- le latèbre, noyau sphérique d'environ 6 mm de diamètre
- les stratifications du vitellus qui sont des couches concentriques et alternées de vitellus jaune et de vitellus blanc
- la membrane vitelline. Fine et transparente, elle sépare le blanc et le jaune et est composée de kératine et d'ovomucine.

D'un point de vue structurel, le jaune se comporte comme une suspension de particules dans une solution protéique. La centrifugation du jaune à grande vitesse (100 000g) permet de séparer deux fractions : les granules contenus dans le culot et le surnageant.

Le taux de matières sèches du jaune est de l'ordre de 50%. La composition moyenne du jaune d'œuf est de :

- 50% d'eau
- 32 à 36% de lipides
- 16% de protéines

➤ 1 à 2% de glucides

Les 2/3 des protéines sont associées à des lipides pour former des lipoprotéines. Elles se répartissent comme suit :

- protéines et lipoprotéines des granules : la lipovitelline, la phosvitine, LDL et VLDL
- protéines et lipoprotéines du plasma : livétine et LDL

Les lipides du jaune d'œuf se présentent soit sous forme de complexes par association avec des protéines pour former des lipoprotéines de faible densité (LDL) et la lipovitelline, soit sous forme libre.

Ils se répartissent de la façon suivante :

- triglycérides, 65% (acide palmitique, linoléique, oléique, stéarique)
- phospholipides, 28,3% (phosphatidylcholine ou lécithine, phosphatidylsérine ou céphaline, sphingomyélines)
- Cholestérol libre, 5,2%

d) Éléments mineurs du jaune d'œuf

(1) Minéraux

La composition en minéraux du jaune d'œuf est donnée dans le tableau 12. Par rapport au blanc, la jaune d'œuf est particulièrement riche en phosphore et en calcium.

La répartition des minéraux entre les deux fractions du jaune (granules et plasma) et leur état (libres ou liés aux protéines) est la suivante :

- 90% de potassium et du sodium du jaune se trouvent dans le plasma sous forme libre
- plus de 90% du calcium et du magnésium et 77% du fer sont sous forme liée dans les granules
- la quasi-totalité du phosphore du jaune est sous forme liée (98,3%) et se trouve sous forme organique dans les phosphoprotéines ou les phospholipides.

(2) Vitamines

Le jaune est plus riche en vitamines que le blanc et contient principalement des vitamines liposolubles. Le taux de vitamines présentes dans le jaune est variable et fonction de la quantité de vitamines ingérées par la pondeuse : l'augmentation du taux de vitamines de l'œuf augmente en même temps que celui de la ration jusqu'à un seuil pour lequel on peut observer une baisse de l'efficacité du transfert.

(3) Pigments du jaune

Les pigments présents dans le jaune sont principalement des caroténoïdes liposolubles dans la partie lipidique des lipoprotéines. Ce sont des carotènes et des xanthophylles (lutéine, cryptoxanthine et zéaxanthine).

3. Qualité de l'œuf

a) Qualité du blanc d'œuf

L'estimation de la qualité de l'albumen se fait par examen, après cassage, de l'aspect physique du blanc sur une surface plane. Deux couches sont nettement distinctes, l'une plus dense que l'autre. Cette rigidité du gel formé par le blanc épais autour du jaune est traduite en unités Haugh (UH) qui sont reliées au logarithme de l'épaisseur du blanc épais corrigé pour tenir compte du poids de l'œuf. [83]

Cette structure en gel du blanc est due à des interactions entre l'ovomucine, le lysozyme et les cations minéraux divalents calcium et magnésium. Cette unité permet de classer les œufs de consommation aux Etats-Unis en trois catégories AA ($UH > 72$), A ($60 < UH < 72$), B ($UH < 60$).

La mesure du pH de l'albumen soigneusement homogénéisé se situe entre 7,8 et 8,2 le lendemain de la ponte. Il augmente lorsque l'œuf vieillit.

b) Qualité du jaune

La coloration du vitellus est l'un des critères souvent retenus par le consommateur. Elle dépend essentiellement de la nature et de la qualité des pigments ingérés par la poule. Elle est due à la présence de pigments jaunes d'origine naturelle (xanthophylles comme la lutéine de la luzerne ou la zéaxanthine du maïs) ou de synthèse (apo-carotène ester) d'une part, et de pigments rouges (canthaxanthine, citraxanthine) d'autre part.

Des colorations anormales du jaune sont parfois observées :

- Coloration verte due à l'ingestion de glands;
- Coloration brun-saumon due à l'ingestion de tourteau de coton, de nicarbazine ou à des traitements répétés au citrate de pipérazine;
- Coloration orange-rose due à des excès de pigments rouges (poivrons)

L'index vitellinique correspond au rapport : $100 \times \text{hauteur du vitellus} / \text{largeur du vitellus}$. Il varie entre 40 et 45 pour un œuf frais. Il diminue au cours du stockage : la membrane vitelline très perméable permet des échanges entre le vitellus et le blanc (eau, certains minéraux) lors de la conservation. Ainsi le jaune s'étale davantage et des marbrures peuvent être visibles sur cette membrane.

La présence de taches ou de marbrures à la surface du jaune (« mottling ») peuvent aussi exister dès la ponte mais sont très fréquentes après quelques jours de stockage. Elles traduisent des zones préférentielles d'échanges de substances entre le blanc et le jaune.

Le pourcentage des inclusions peut être estimé après observation des œufs au mirage. Cependant cette technique ne permet de déceler que les grosses taches à travers la coquille. La casse de l'œuf facilite le dénombrement exact et permet de

préciser la taille punctiforme (<1mm), moyenne (comprise entre 1 et 5 mm) ou importante (>5mm), l'origine (sang ou viande) et la localisation.

Les taches de sang présentes en surface du jaune doivent être attribuées à de petite hémorragies intervenant juste avant l'ovulation. Elles sont liées à une fragilité capillaire, à une augmentation de la pression artérielle ou encore à un allongement du temps de coagulation. Si le caillot est important, il est possible qu'il se détache et migre vers l'albumen.

Les taches de viande sont plus décolorées que les précédentes. Elles correspondent le plus souvent à des desquamations de l'oviducte. Elles sont parfois constituées de fragments folliculaires ou épithéliaux issus de follicules atrésiques.

c) Qualité de la coquille

Plusieurs critères peuvent permettre d'apprécier la qualité de la coquille : la propreté, la forme, la couleur et la solidité.

➤ La propreté est mesurée par le pourcentage d'œufs sales, c'est à dire présentant des souillures d'origine intestinale ou urinaire (matières fécales), génitales (sang) ou autre (poussières). La coquille est en général considérée comme sale lorsque les salissures recouvrent plus de 1/32^e de la surface, si celles-ci sont localisées, ou 1/16^e si elles sont dispersées.

➤ La forme de l'œuf est souvent représentée par l'indice de forme ou rapport : (largeur/longueur) x 100. Il varie entre 65 (œuf allongé) et 82 (œuf arrondi) et il diminue progressivement avec l'âge en passant de 77 en début de ponte à 74 en fin de ponte. Il présente surtout un intérêt pour la conception des alvéoles, boîtes ou autres supports sur lesquels sont déposés les œufs d'une part, pour une estimation précise de la surface de l'œuf d'autre part.

➤ La couleur de la coquille est en général mesurée au gros bout de l'œuf à l'aide d'un réflectomètre préalablement étalonné sur un bloc de carbonate de magnésium correspondant au blanc absolu et au maximum de réflectance. Les valeurs peuvent s'échelonner entre 5 et 45, des coquilles les plus blanches au plus colorées.

➤ La solidité dépend de la nature, de la quantité et de la structure des matériaux déposés. Deux types de méthodes existent pour évaluer la solidité de la coquille :

- Les méthodes non destructrices de la coquille :

- le pourcentage d'œufs fêlés au mirage;
 - la densité de l'œuf frais qui correspond à celle de la solution saline dans laquelle il flotte; Il s'agit d'une méthode d'évaluation de la fraîcheur, en relation avec la hauteur de la chambre à air.

- la déformation de la coquille qui vise à évaluer sa résistance après application d'une force ne provoquant pas la rupture. Par exemple, sous une charge de 500g, la déformation de la coquille non fêlée, dans la plan

équatorial, varie de 15 à 40 µm avec une moyenne de 20 à 25 µm. Plus la déformation est élevée, plus la coquille est fragile.

- Les méthodes qui nécessitent la rupture de la coquille :
 - l'épaisseur de la coquille est déterminée à l'aide d'un palpeur sur des fragments de coquille dépourvue ou non de membranes coquillières. Elle est maximale au petit bout, minimale à l'équateur et intermédiaire au gros bout.
 - Le pourcentage de coquille, c'est-à-dire le poids de coquille rapporté à 100g d'œuf, la coquille avec les membranes ayant été au préalable soigneusement lavées et séchées.
 - La mesure de la force ou de la charge provoquant la perforation ou la rupture de la coquille. L'œuf, placé entre deux surfaces planes parallèles, est alors soumis à une compression au niveau de l'équateur. La charge ou la force appliquée est augmentée jusqu'à l'obtention de la rupture de la coquille. Elle se situe entre 2,5 et 3 kg avec une vitesse de compression constante.

d) Qualité bactériologique

Au moment de la ponte, le contenu de l'œuf présentant une coquille intègre et provenant d'une poule saine est généralement stérile. Mais la surface de la coquille est contaminée par différents micro-organismes de l'environnement. Ceux-ci sont apportés par des fientes, des poussières, le matériel. Le nombre de germes dénombrés par coquille varie de 10^3 à 10^7 avec une valeur moyenne de 10^5 . Parmi ces germes, des bactéries, des levures, des champignons ont été identifiés. Mais l'œuf résiste bien aux contaminations malgré la flore abondante et variée observée sur la coquille.[71]

Les Salmonelles sont fréquentes car les porteurs le sont également. De 5 à 30% des individus sont porteurs dans les élevages. Autrefois il s'agissait de *Salmonella pullorum gallinarum* dont l'impact en santé publique vétérinaire était faible en raison de son très faible pouvoir pathogène pour l'homme.

Les autres germes mobiles d'altération, *Escherichia coli*, *Proteus*, *Pseudomonas*, ainsi que des spores de moisissures sont systématiquement présents. Une atmosphère sèche et un stockage convenable inhibent leur pénétration. En cas de pénétration, les caractéristiques de l'œuf atteint permettent de distinguer les œufs rouges, atteints par les coliformes; les œufs noirs dus aux *Proteus*; et les œufs verts dus à des *Pseudomonas*.

Le mycélium des moisissures peut pénétrer entre les membranes coquillières et se développer à ce niveau. Il se forme des petites taches de taille progressivement croissante, mobiles avec la coquille. Au mirage ces taches se distinguent des taches de chair ou de sang situées dans le blanc et non adhérentes à la coquille.

La qualité initiale de l'œuf obtenue après la ponte peut être conservée aux conditions suivantes : Les œufs doivent être entreposés dans un local propre, aéré, sombre, tempéré dans lequel sont maintenues :

- Une température comprise entre 10 et 15°C pour limiter le départ d'eau et de gaz carbonique. L'œuf craint également les basses températures, les points de

congélation de l'albumen et du vitellus se situant respectivement à -0,42°C et -0,59°C. La législation interdit de stocker les œufs de consommation à une température inférieure à +5°C.

- Une humidité relative de 80-85% pour ne pas affecter l'évaporation
- Une ventilation appropriée pour éviter les condensations sur les œufs, favorables aux croissances microbiennes.

La collecte doit être quotidienne. Lors de celle-ci, tout nettoyage humide ou à sec des coquilles est interdit; la destruction partielle ou totale de la cuticule permet aux microorganismes de pénétrer dans l'œuf, voire de s'y développer.

Dans les casseries, les œufs doivent être stockés dans des salles de même conception, dans lesquelles les températures peuvent être plus basses. Des œufs de consommation ont ainsi pu être conservés dans une salle propre, bien isolée, où ont été maintenues une température de +1°C, une hygrométrie de 90% et une ventilation appropriée pendant 102 jours. [82]

II. Les Salmonelles et la contamination de la filière œufs

A. Contamination des élevages par *Salmonella*

La contamination des œufs peut s'effectuer de trois manières différentes :

- ✓ Une contamination par transmission verticale pour ces sérovars (*Enteritidis*, *Typhimurium*) qui présentent un caractère invasif et qui infectent les follicules ovariens sans pour autant provoquer de symptômes.
- ✓ Une contamination des œufs en formation par des bactéries du cloaque qui remontent l'oviducte pour être ultérieurement incorporées dans l'œuf. Les poules ainsi atteintes vont contaminer le blanc avant la formation de la coquille.
- ✓ Une contamination au travers de la coquille par des souches présentes dans les fécès qui souillent la coquille. Cette contamination est plus fréquente lorsque la cuticule est détruite par lavage ou grattage ou lorsque la coquille présente une solution de continuité (fêlure). Toutefois, la pénétration à travers une coquille saine a été décrite mais elle est ralentie si les œufs sont conservés à 4°C.

1. Contamination horizontale

La contamination horizontale est possible pour tous les sérovars et elle est favorisée par la résistance des Salmonelles ubiquistes dans le milieu extérieur. Elle peut se réaliser sur un mode horizontal direct entre animaux sains et animaux infectés ou sur un mode horizontal indirect par l'intermédiaire des aliments, de la poussière, du matériel d'élevage et des bâtiments. [77]

a) Résistance aux agents physico-chimiques.

Les animaux infectés, malades ou porteurs sains, excrètent le germe par voie fécale et contaminent le milieu extérieur. Même si les Salmonelles se multiplient peu hors de l'organisme, elles résistent relativement bien dans l'environnement et poussent à des températures comprises entre 8 et 42-45°C, à des activités de l'eau supérieures à 0,94 et à des pH allant de 4 à plus de 8. La durée de survie est très variable en fonction des sérovars, de la composition du milieu et des conditions physiques.[18]

Les Salmonelles sont peu résistantes à la chaleur; *Salmonella Enteritidis* est plus résistante que *Salmonella Typhimurium*; un chauffage de 6 minutes à 55°C tue 90% des bactéries dans des œufs entiers non homogénisés, un chauffage de 5 minutes à 65% suffit à détruire 3.10^8 *Salmonella Typhimurium* par gramme de volaille et elles ne peuvent survivre à 70°C. Toutefois, les Salmonelles peuvent survivre dans des œufs maintenus pendant 4 minutes à ébullition.

Les Salmonelles sont sensibles aux rayons bêta et gamma; l'irradiation est une technique autorisée pour les blancs d'œufs et les viandes de volailles séparées mécaniquement, ainsi qu'aux désinfectants d'usage courant en élevage.

b) Influence de l'âge des animaux

Dans les conditions naturelles, les poussins couvés par les poules sont rapidement colonisés par les flores maternelles qui s'opposent à la colonisation par des germes exogènes dont les salmonelles. En élevage intensif, la colonisation de l'intestin des poussins est impossible du fait de la séparation physique totale des générations et les poussins sont particulièrement sensibles. Le nettoyage et la désinfection régulière des couvoirs et des bâtiments d'élevage ne permettent pas d'assurer cette transmission des flores autochtones et le poussin nouvellement éclos peut être infecté par des doses très faibles de salmonelles. [13]

Cette ségrégation entre les générations est favorable pour éviter la transmission d'éventuels germes pathogènes entre descendants et descendants à condition d'effectuer une désinfection des œufs mis à couver et de respecter une hygiène sanitaire stricte dans les couvoirs. Si ces conditions ne sont pas respectées, il peut se produire une fausse transmission verticale due à une pénétration directe à travers la coquille souillée par les féces.

Pour des animaux âgés de 14 jours contaminés oralement avec 10^8 *Salmonella* Enteritidis PT4 par animal, aucune mortalité n'a été enregistrée; alors que dans les mêmes conditions, presque la totalité des poussins d'un jour (souche Rhode Island Red) meurent après l'infection [9]. Ces observations peuvent s'expliquer par l'absence de défenses immunitaires chez le nouveau-né. La stérilité du tractus intestinal du poussin à la naissance favorise également l'obtention de ce résultat.

Les poussins d'un jour sont plus sensibles aux contaminations par *Salmonella* que les adultes, avec des taux de mortalités élevés.

Humphrey et al. , ont inoculé *per os* la même dose (10^6 ufc/animal) de *Salmonella* Enteritidis PT4 à deux lots d'animaux « SPF » (specific pathogen free : ce sont des lots exempts d'organismes pathogènes) de 20 semaines et de 52 semaines d'âge. Ces derniers ont développé une faible quantité d'anticorps dans le sang. Une septicémie s'est déclarée, 6 animaux sur 10 ont succombé à l'infection, la durée du portage était longue (26 jours en moyenne), et *Salmonella* a été retrouvée chez un animal, 6 jours après l'inoculation, dans le jéjunum, le sang, le foie, l'intestin, la bile, les ovaires, l'oviducte, le jabot et le cæcum, ainsi que dans le contenu d'un œuf sur 23 analysés. Pour le lot d'animaux âgés de 20 semaines, aucun signe de faiblesse n'a été remarqué et un taux élevé d'IgM a été révélé dans le sang.

L'excrétion de *Salmonella* par les fèces s'est arrêtée dès la première semaine après inoculation. Aucune salmonelle n'a été isolée des viscères 20 semaines après l'inoculation, ni à partir des contenus des 283 œufs analysés, même si les moyens de détection ne conduisent pas toujours à la mise en évidence de l'agent recherché. [54] (Tableau 14)

NOMBRES D'ŒUFS EXAMINÉS	POURCENTAGE D'ŒUFS POSITIFS
372	1,1
998	0,5
68	7,4
32	19
1070	0,3
16650	0,06

Tableau 14 : taux de détection d'œufs positifs vis-à-vis de *Salmonella Enteritidis* provenant d'élevages connus infectés par le pathogène. [56]

Les auteurs ont donc constaté que les animaux âgés d'un an sont plus sensibles à l'infection par *Salmonella* que ceux âgés de 20 semaines. En effet, chez les volailles les plus âgées, l'épuisement sanguin lié à la ponte prédisposerait à l'infection. Le taux d'œstrogène ainsi que le rôle de barrière joué par la microflore intestinale diminueraient avec l'âge, et favoriseraient également l'infection des animaux par *Salmonella*.

c) Sources de contamination (Figure 11)

- Les aliments représentent une source importante de contamination du fait de nombreux points critiques à contrôler : contrôles des matières premières végétales ou animales; des équipements, de la décontamination lors de la granulation, du stockage et du transport. La distribution d'un aliment contaminé à des poussins ou à des adultes est à l'origine de porteurs sains qui vont disséminer les germes au sein des parquets. Le portage sain ou asymptomatique de *Salmonella* dans l'intestin est en effet fréquent chez les volailles, et présente une nette incidence sur la persistance chez les animaux et la contamination des élevages. Les élevages de volailles représentent donc des réservoirs de Salmonelles, susceptibles de conduire à des infections humaines [9]. Ce portage peut aussi être consécutif à une infection cliniquement exprimée. L'excrétion est très variable allant de 10 bactéries à 107 bactéries par gramme de féces, elle peut être continue ou intermittente et elle est favorisée par le stress.[29]

En 1991, Barrow a montré que 96% des poussins d'un jour meurent après une contamination orale avec 10^8 bactéries du sérovar Enteritidis Phage Type 4 (PT4) par animal, alors que le phage type 13a, avec la même dose inoculée par la même voie, ne provoque que 20% de mortalité [9]. Ce lysovar s'avère peu virulent, mais il présente un caractère invasif pour les poussins d'un jour inoculés par voie orale avec 10^7 bactéries par animal. En effet, tous les tissus se trouvent alors infectés, et la majorité des poussins contaminés succombent à l'infection.[41]

La réponse des volailles à l'infection par *Salmonella* varie selon la souche, le sérovar et aussi selon le lysovar incriminés. Il a été montré que *Salmonella Enteritidis* phage-type 4, proliférant dans des aliments présentant différentes valeurs de pH pouvait avoir différents degrés de virulence.[64]

- Les bâtiments et leurs abords, le matériel d'élevage, les camions sont une source importante de contamination difficile à maîtriser.

- Facteurs liés aux modalités d'élevage.

L'élevage intensif qui concentre de nombreux animaux sur un espace réduit favorise la contamination entre animaux et favorise la contamination du milieu extérieur par le biais du fumier, du lisier et autres effluents.

Les méthodes de sélection diminuent la diversité génétique des animaux et favorisent la colonisation par des sérovars bien adaptés.

- Rôle des autres espèces animales

La distribution large des Salmonelles au sein des espèces animales domestiques ou sauvages représente une source de contamination potentielle, quoique difficile à évaluer. Le rôle des rongeurs sauvages tels que des souris, dans la transmission aux oiseaux d'élevage est démontré.

Trois voies de transmission horizontale de *Salmonella Enteritidis* PT 4 ont été comparées sur des poulets de souche Vedette élevées au sol sur litière pendant 42 jours. Ces voies ont consisté en l'introduction d'un pourcentage d'animaux contaminés à une dose déterminée, en la distribution d'aliments ou d'eau contaminés artificiellement pendant la première semaine. Le pouvoir invasif de *Salmonella Enteritidis* PT4 a été importante dans les caeca, moindre dans le foie et la rate. La persistance du sérovar dans les organes est plus faible au niveau du lot contaminé par l'eau de boisson que celles obtenues dans les lots contaminés par les animaux « contact » ou par l'aliment qui apparaissent identique.[73]

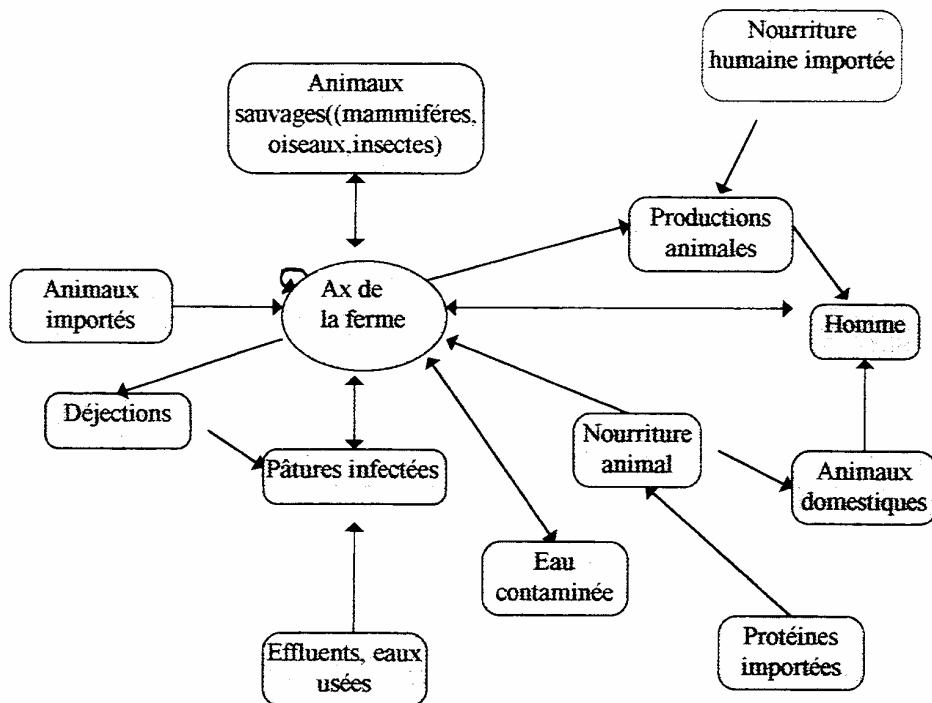


Figure 11: Cycle simplifié de *Salmonella* [60]

2. Contamination verticale

Contrairement aux autres *Salmonella* qui ne sont retrouvées qu'en contamination de surface de la coquille de l'œuf, *Salmonella Enteritidis* peut être isolée dans le contenu d'un œuf intact. Des études américaines et françaises ont démontré la transmission de la bactérie de la poule à l'œuf par voie ovarienne. Le type phagique 4 est prédominant dans les œufs en Europe [30], [14].

Les premières hypothèses concernant la transmission transovarienne, ont été émises en 1942. La présence de *Salmonella Pullorum* au sein des organes de la reproduction fut acceptée dès 1969 et suggéra que d'autres sérovars de *Salmonelles* puissent aussi contaminer les ovaires et ou l'oviducte. Benson et Eckroade, en 1991 ont par la suite isolé *Salmonella Enteritidis* de 383 ovaires sur 555, soit dans près de deux tiers des cas.[53]

a) Capacité de colonisation de *Salmonella Enteritidis*

La capacité de six sérovars de *Salmonella* (*Enteritidis*, *Typhimurium*, *Infantis*, *Hadar*, *Heidelberg*, *Montevideo*) à coloniser les organes reproducteurs et contaminer les œufs a été comparée. Des poules ont été contaminées, par voie veineuse, par 10^6 UFC. *Salmonella Enteritidis* a été retrouvée dans 3 jaunes (soit 7% des œufs). Le foie, la rate et le cæcum ont été autant colonisés par les six sérovars; alors que *Salmonella Enteritidis* a pu coloniser à des titres élevés l'ovaire et les follicules pré-ovulatoires. Ce sérovar est aussi le seul isolé dans le sang périphérique 7 jours après inoculation. [70]

Par ailleurs, l'inoculation per os de poules âgées de 26 semaines avec 10^8 *Salmonella Enteritidis* par animal entraîne la contamination de la moitié des ovaires analysés (4/8), d'une partie des oviductes (5/8) et des contenus de ceux-ci (2/8). Les auteurs ont observé que la contamination de ces organes a pour conséquence la production de vitellus contaminé pendant une période limitée de deux semaines. En effet, les éléments intervenant dans la vitellogénèse et favorables au développement de *Salmonella Enteritidis* sont synthétisés en grande partie dans le foie, puis transportés par le sang au niveau de l'ovaire.[13]

Des poules âgées de 34 semaines ont été inoculées par *Salmonella Enteritidis* par voie orale (10^{10} UFC), intramusculaire (10^9 UFC) et intraveineuse (10^9 UFC). La production d'œufs n'a pas été modifiée chez les poules inoculées *per os*. Elle a été réduite chez les poules contaminées par voie intramusculaire pendant 2 à 3 semaines après l'inoculation. Pendant un mois, des œufs dont la coquille n'était pas contaminée ont présenté une contamination interne. Ces œufs étaient issus des poules inoculées *per os* et par voie intramusculaire.[67]

La contamination de l'ovaire par les *Salmonella* présentes dans l'appareil digestif et véhiculées par le sang après passage de la barrière intestinale, n'est donc pas un phénomène à exclure pour la compréhension des modes de transmission de cette bactérie au sein des populations.[12]

b) Contamination de l'ovaire

La présence de *Salmonella* Enteritidis a pu être mise en évidence grâce à des anticorps monoclonaux d'abord au niveau des amygdales cœcales. L'ovaire est atteint par voie hématogène grâce à la vascularisation importante. Une fois au niveau de la membrane basale, les anticorps pénètrent dans le jaune soit en envahissant les cellules de la granulosa, soit en migrant entre elles. L'hypothèse de la contamination des œufs in vivo a pu alors être envisagée.

La transmission trans-ovarienne s'effectuerait grâce à la capacité des *Salmonella* à se fixer sur la membranes des follicules pré-ovulatoires. Après une infection expérimentale d'œufs de poules par *Salmonella* Enteritidis, la mise en culture distincte des jaunes et des parois folliculaires a montré que *Salmonella* Enteritidis pouvait être isolée de la paroi folliculaire chez 7,14% des poules (10 parmi les 140 poules testées), et chez seulement 2,86% des 140 poules *Salmonella* Enteritidis a été retrouvée dans le jaune du follicule pré-ovulatoire.

Par ailleurs, *Salmonella* Enteritidis a été retrouvée dans le jaune mais pas dans les blanc d'œuf issus des poules infectées expérimentalement. (Tableau 15).

	FOLLICULES PRÉ-OVULATOIRE (N=14)		ŒUFS (N=11)	
	membrane	jaune	jaune	blanc
8	8 (57%)	3 (21%)	7 (64%)	3 (27%)
28	2 (14%)	1 (7%)	1 (9%)	0
Total	10 (71%)	4 (28%)	8 (72%)	3 (27%)

Tableau 15 : Distribution de *Salmonella* Enteritidis dans les follicules pré-ovulatoires et les œufs de poules infectées expérimentalement.

Salmonella Enteritidis a pu être identifiée dans les villosités et parfois dans la sous-muqueuse. Des sections réalisées dans les follicules pré-ovulatoires de poules infectées ont montré la présence de bactilles dans le jaune et également le long de la membrane périvitelline. L'examen microbiologique de ces membranes a mis en évidence la même souche de *Salmonella* Enteritidis que celle utilisée pour l'infection expérimentale.

L'invasion des cellules de la granulosa par les Salmonelles est révélée au microscope électronique à balayage ; une préparation au Giemsa permet de montrer les bactéries en division. La présence de la membrane suggère une endocytose par invagination des cellules de la granulosa (Figure 12).

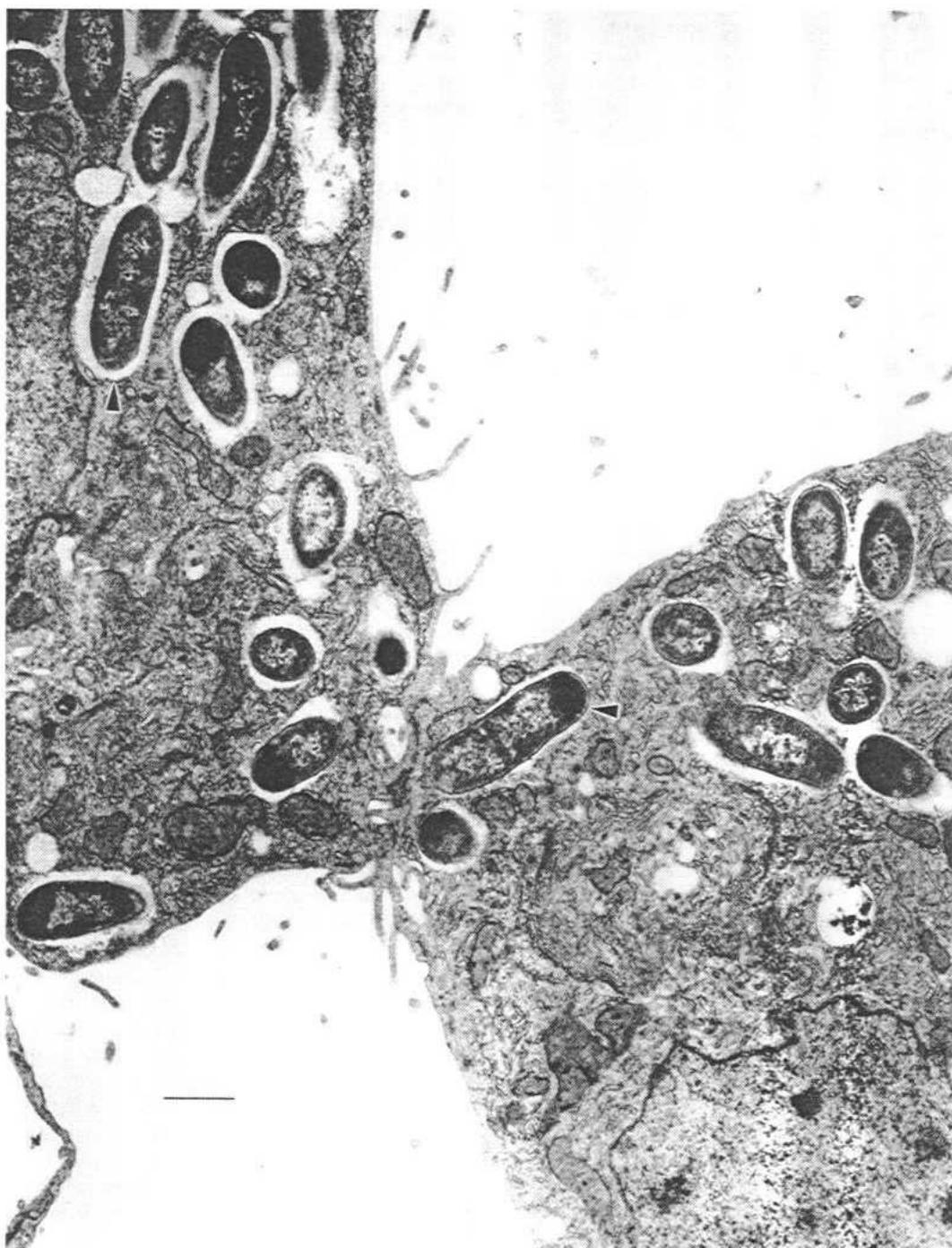


Figure 12 : Bactéries libres dans le cytoplasme des cellules de la granulosa
[79]

(1) Modèles d'adhésion

Trois modèles d'adhésion de *Salmonella Enteritidis* aux cellules de la granulosa ont été observés [79]. L'adhésion local (56,6% des isolats testés) s'effectue sous la forme d'un amas de micro-colonies d'un côté de la cellule. Le modèle d'adhésion diffus est apparu dans 15% des cas et permet aux bactéries de couvrir la majorité de la surface cellulaire. Le troisième modèle d'adhésion, de type agrégatif, permet une adhésion des bactéries à la fois à la surface des cellules et entre celles-ci. Ce dernier modèle a été observé avec 4% du phage-type 8 et 31% du phage-type 23. Une adhésion locale a été observé pour *Salmonella Enteritidis* PT8 sur des cellules Hep-2. Le nombre d'isolats de *Salmonella Enteritidis* qui ont montré un pouvoir d'adhésion est significativement plus élevé sur les cellules de la granulosa que sur les cellules Hep-2. Les trois catégories de follicules F1, F2 et F3 ont montré des modèles d'adhésion similaires.

Les cellules de la granulosa isolées au cours de ces trois périodes de croissance des follicules portent à leur surface des structures intermédiaires nécessaires à l'attachement de *Salmonella Enteritidis* lors de l'infection ovarienne. L'adhésion de *Salmonella Enteritidis* aux cellules de la granulosa peut être inhibée par une pré-incubation des cellules dans un antisérum de fibronectine anti-poulet. La pré-incubation des cellules de la granulosa dans un antisérum dilué au 1/10 a montré une diminution de l'attachement de près de 80%. A la plus grande dilution testée (1/10 000), environ 20% d'inhibition de l'attachement a été observé.

Le mode de liaison de *Salmonella Enteritidis* aux protéines extra-cellulaires a été étudié et a donc permis de noter une affinité décroissante de la souche 9 pour la fibronectine, puis la laminine et le collagène IV. [79]

(2) Rôle des fimbriae

Le rôle des fimbriae dans la pathogénie a été étudié par une infection expérimentale de poules pondeuses.[56] Des poules âgées de 30 mois de race Leghorn sont issues d'élevages dont les sérologies concernant *Salmonella Enteritidis* sont négatives. Trois souches de *Salmonella Enteritidis*, numérotées 9, 21 et 30 sont utilisées. Ces trois souches appartiennent au phage type 8 et correspondent aux trois modèles d'attachement des Salmonelles aux cellules de la granulosa : la souche 9 a montré un attachement mannose-résistant local, la souche 30 un attachement mannose-sensible local tandis que l'attachement mannose-résistant de la souche 21 aux cellules est diffus.

Les trois groupes (35 poules par groupe) sont inoculés par voie orale. Les œufs sont récoltés quotidiennement, leur surface est lavée à l'aide de bétadine puis après cassage, le contenu est placé dans des sacs stériles avant culture. Les cœcum, oviductes et ovaires sont également prélevés de façon stérile avant mise en culture; de même que les féces. Une prise de sang sur la veine brachiale et par ponction cardiaque avant sacrifice permet de mesurer la réponse immunitaire contre

Salmonella Enteritidis. Les protéines responsables de la réponse immunitaire sont identifiées par western-blot.

Les résultats ont montré que les souches 9 et 30 étaient associées à des protéines de 14 kDa et 21 kDa. Par contre aucune protéine fimbriale n'a été mise en évidence pour la souche 21.

Les isolements de *Salmonella* Enteritidis à partir des organes prélevés montrent une nouvelle fois l'invasivité du sérotype. Le nombre de poules dont le cæcum est colonisé est significativement plus important pour le sérotype 9 que pour le sérotype 21. Par contre aucune différence n'est notée lors de l'isolement à partir des organes reproducteurs et des tissus réticulo-endothéliaux. (Tableau 16)

Numéro de la souche	POSITIFS/TESTÉS		
	Foie et rate	cæcum	Ovaires et oviductes
9	10/35 (28,6)	8/35 (22,9)	10/35 (28,6)
21	5/ 35 (14,3)	2/35 (5,7)	6/35 (17,1)
30	8/35 (22,9)	6/35 (17,1)	7/35 (20)

Tableau 16 : Isolements de *Salmonella* Enteritidis à partir des organes internes de poules contaminées par voie orale avec trois souches différentes (10^8 UFC/Poule).

Le taux d'anticorps anti-LPS a augmenté chez les trois groupes 15 jours après l'inoculation. Des différences sont apparues au niveau du taux d'IgG du sérum; la souche 21 a conduit à une réaction moindre que les autres souches.

Cette étude montre qu'au sein du phage-type 8, trois souches diffèrent par l'expression des protéines fimbriales. Pourtant aucune différence n'a été notée pour ces trois souches lors de l'invasion des organes de la reproduction. Aucune corrélation entre l'expression des protéines fimbriales et la proportion d'œufs infectés par *Salmonella* enteritidis n'a pu être établie. La réponse immunitaire humorale s'exprime par la présence d'anticorps dirigés contre le LPS, par les protéines associées à la membrane ainsi que la protéine fimbriale issue de *Salmonella* Enteritidis phage-type 8 souche 9. [78]

Une autre étude a permis de montrer qu'une protéine fimbriale purifiée de 14 kDa permet d'inhiber à 70% l'attachement de *Salmonella* Enteritidis aux cellules de la granulosa lors d'une pré-incubation dans un milieu contenant 20µg de cette protéine. De même, des souris sont apparues passivement immunisées contre *Salmonella*

Enteritidis suite à l'administration d'anticorps dirigés contre cette protéine fimbriale, suggérant l'importance du rôle de ces protéines dans la maladie.[78]

Dans certains cas, l'adhésion de la bactérie à la cellule nécessite la présence de protéines d'adhésion à la surface de la cellule, comme la fibronectine. Le rôle de certaines chaînes d'acides aminés (arg-gly-asp) dans l'adhésion aux protéines de la matrice extra-cellulaire a été montré. [79] La fibronectine semble aussi être un composant essentiel dans le processus d'attachement in vitro.

À partir de ces résultats in vitro, on peut envisager que *Salmonella Enteritidis* soit capable de contaminer le jaune en envahissant les cellules de la granulosa, en s'y fixant, et lors de l'ovulation, au moment de la rupture du follicule, certaines cellules contenant *Salmonella Enteritidis* puissent se détacher et contaminer l'œuf.[79] On sait aussi que les cellules de la granulosa possèdent à leur surface un ensemble de structures permettant l'expression des différents modèles d'attachement des bactéries. L'interaction des bactéries et des facteurs d'attachement pourrait servir de base à une classification des différentes souches de Salmonelles.

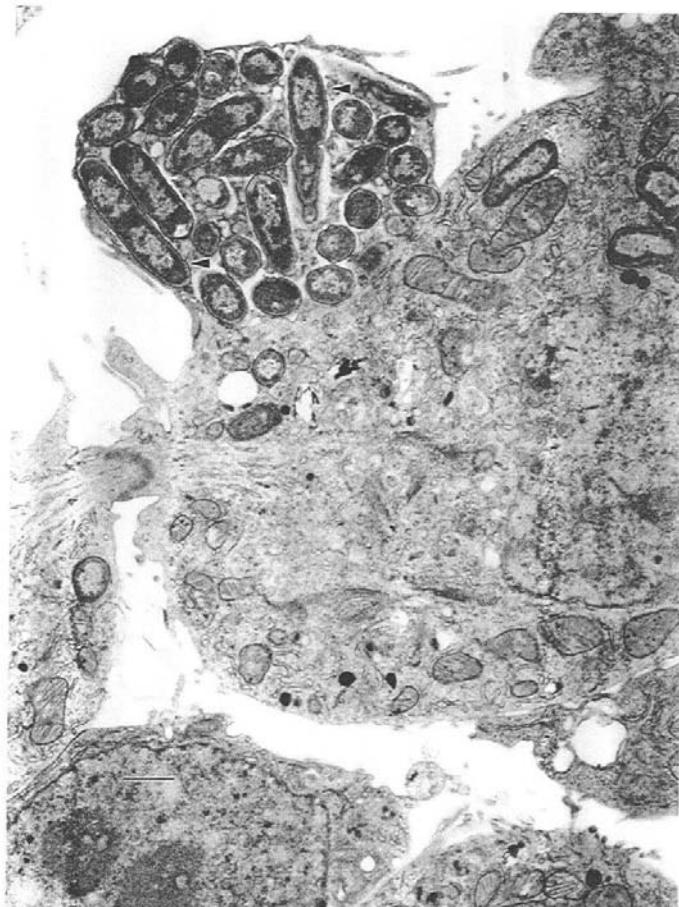


Figure 13 : Cellules de la granulosa envahies par *Salmonella Enteritidis*.
Organismes observés 5h après inoculation.[79]

La structure de la membrane folliculaire semble faciliter le transport de *Salmonella Enteritidis* du sang vers les follicules en développement. C'est une membrane très vascularisée, et dont les vaisseaux présentent une perméabilité croissante.[9] La perméabilité sélective de l'épithélium vasculaire de l'ovaire est une hypothèse également retenue pour expliquer l'invasivité et la localisation dans les ovaires de *Salmonella Enteritidis*.[44]

Alors que la contamination et l'infection de l'ovaire conduisent au transfert de Salmonelles dans le jaune via les follicules, l'infection de l'oviducte est à l'origine de la présence de microorganismes dans l'albumen. La contamination du jaune peut donc aussi avoir lieu lors du transit de l'ovule depuis l'ovaire jusqu'à l'infundibulum et l'oviducte, avant que la coquille et les membranes coquillières ne se forment.[11] La migration de *Salmonella Enteritidis* de l'albumen jusqu'au jaune est apparue suite à une contamination artificielle in vitro, après quelques jours d'incubation. Le taux de migration étant sous dépendance du taux de contamination initial, de la température de stockage et de l'âge des oeufs.[20]

L'étude des composants cellulaires impliqués dans l'adhésion de *Salmonella Enteritidis* aux cellules de la granulosa a montré l'importance des épitopes de la fibronectine lors de cette adhésion. En particulier, la fonction amine terminale de 29 kDa doit être impliquée. La protéine fimbriale de 14 kDa semble elle aussi impliquée dans le processus d'adhésion. La granulosa apparaît comme la cible des salmonelles qui non seulement se fixent à la surface, mais aussi pénètrent dans les cellules et sont capables de s'y multiplier. L'effet cytopathogène de *Salmonella* sur la granulosa requiert des données complémentaires; mais il apparaît que le cytoplasme entourant la bactérie est lysé par des toxines ou des enzymes bactériennes. Ces résultats in vitro sont un moyen permettant d'expliquer la pathogénie de *Salmonella Enteritidis* in vivo.[66] (Figure 13)

B. Contamination des œufs et ovoproducts

1. Contamination des œufs

a) Contamination de la surface de l'œuf

La surface de la coquille est rapidement contaminée après la ponte par les matières fécales, les poussières, la litière et la terre. Cette contamination varie de quelques centaines à plusieurs millions, avec une moyenne de 100 000. Le niveau de cette contamination superficielle n'est pas liée de façon absolue au degré de salissure de l'œuf. [17]

Lors de contamination artificielle de coquilles d'œufs, l'extension de la contamination est influencée par la taille de l'inoculum, le site de contamination par rapport au jaune et la présence de fer dans l'inoculum [28].

Le niveau de contamination varie selon plusieurs facteurs : le surpeuplement conduit à une forte production de matières fécales ainsi qu'à une augmentation de la température d'ambiance des locaux favorable à la multiplication microbienne; la mauvaise hygiène des locaux et du matériel qui favorise la persistance des salmonelles dans les poussières, l'air ambiant et au niveau des surfaces de ponte. Le type de ramassage est aussi primordial : en élevages intensifs les collecteurs d'œufs limitent la contamination fécale de la coquille alors qu'en élevage fermier la collecte manuelle et espacée dans le temps contribue à une souillure plus importante des œufs.

Si l'œuf est placé dans des conditions défavorables (températures, manipulations traumatisantes), la contamination des milieux internes à partir de la coquille est facilitée.

b) Contamination des milieux internes

Les poules atteintes d'infections des ovaires ou des oviductes par *Salmonella Enteritidis* (souvent sans signes cliniques) vont contaminer le blanc avant la formation de la coquille. Une étude anglaise portant sur 5 700 œufs provenant d'élevages de poules pondeuses infectées par *Salmonella Enteritidis* a montré que seulement 32 œufs (0,6%) étaient contaminés par cette bactérie. La très grande majorité des œufs renfermait moins de 10 *Salmonella* même après 7 jours de stockage à température ambiante. Cependant 3 œufs (0,05%) contenaient plus de 10 000 bactéries. Il faut noter que dans cette étude tous les œufs fortement contaminés (plus de 100 *Salmonella* par œuf) étaient conservés depuis plus de deux semaines. [55]

(1) Passage de la cuticule

La qualité de la cuticule peut être altérée par des manipulations excessives : le lavage et le brossage entraînent une abrasion de l'enduit protéique et l'apparition de microfélures au niveau de la coquille. Des mauvaises conditions d'entreposage (température et humidité élevées) favorisent le développement de moisissures, et les multiplications bactériennes entraînent une lyse de la cuticule.

La translation des micro-organismes de la cuticule vers les milieux internes de l'œuf dépend surtout des variations de température d'entreposage des œufs et du lavage par trempage des œufs dans une solution à faible température.

En effet des variations brutales de température (de 37 à 25°C) et le lavage par trempage entraînent une contraction des milieux internes créant une dépression, véritable force de succion attirant les micro-organismes de l'extérieur vers l'intérieur.

(2) Passage des membranes coquillières

La traversée des membranes coquillières ferait intervenir un mécanisme de nature enzymatique. Le passage se ferait au niveau de la matrice interstitielle albumineuse et serait lié à l'intervention d'une mucinase ou d'une polysaccharidase d'origine microbienne.[60]

c) Évolution de la population de Salmonelles

(1) Évolution dans l'albumen

La présence de lysozyme et de fer complexé à l'ovatransferrine font de l'albumen un milieu défavorable à la multiplication des germes; mais l'albumen ne peut s'opposer de manière efficace à la multiplication des Salmonelles car le lysozyme est peu actif sur les bactéries à Gram négatif et les Salmonelles peuvent synthétiser des sidérophores. Ainsi *Salmonella Enteritidis* ne se multiplie pas dans l'albumen d'œuf frais si la population de Salmonelles est inférieure à 10^3 UFC par œuf.

Au cours de son vieillissement, l'albumen se liquéfie et permet une plus grande mobilité du vitellus. La membrane vitelline peut alors venir au contact des membranes coquillières et apporte aux micro-organismes présents à ce niveau les nutriments nécessaires à leur croissance. Cette liquéfaction est associée à une réduction de son pouvoir bactéricide.

Par ailleurs, la perméabilisation de la membrane vitelline permet le passage du vitellus vers l'albumen d'éléments nutritifs et de fer. L'augmentation de la perméabilité de cette membrane se produit après 2 à 3 semaines de stockage à une température uniforme (20°C ou 4°C) et elle est accélérée par des changements de température lors du stockage et par l'hydratation progressive du jaune dans les 10 jours suivant la ponte.

(2) Évolution dans le vitellus

L'inoculation du jaune avec une population de Salmonelles initiale très faible peut, si l'œuf est soumis à des conditions de température favorables, donner naissance à une population bactérienne importante, malgré une vitesse de multiplication ralentie.

L'étude de l'incidence de la température d'entreposage des œufs sur la multiplication de *Salmonella Enteritidis* dans le vitellus a montré que :

- A 37°C, un inoculum de 1 UFC/g de vitellus conduit en 12 heures à une population bactérienne de 10^8 UFC/g de vitellus, les Salmonelles se multipliant toutes les 25 minutes.
- A 15,5°C, la multiplication a lieu toutes les 30 minutes et la population atteint 10^2 UFC/g de vitellus en 24 heures, 10^4 UFC/g en 48 heures et 10^7 UFC/g en 4 jours.
- A 7°C, aucune multiplication n'est constatée.

Cette étude montre que des œufs contaminés initialement au niveau du vitellus, lors de transmission transovarienne, conservés à des températures supérieurs à 15°C, sont susceptibles de développer en 4 jours une population de Salmonelles suffisante pour entraîner l'apparition d'une toxi-infection alimentaire chez l'homme.

En pratique, le stockage des œufs à une température inférieure à 10°C ralentit la multiplication des salmonelles; les œufs de plus de 2 à 3 semaines, même conservés à 4°C doivent être utilisés avec précaution. Il en va de même pour des œufs ayant subi des variations de température importantes lors de la conservation. Les données concernant la multiplication des Salmonelles dans l'œuf sont variables selon les conditions expérimentales mais en 2 jours un œuf peut renfermer jusqu'à 10^{12} cellules sans modification de sa qualité organoleptique.[35]

2. Contamination des ovoproduits

La contamination des ovoproduits est liée à celle d'un ou de quelques œufs mais elle peut également être liée à une mauvaise hygiène des locaux de préparation ou à une mauvaise hygiène du personnel. L'absence de traitements thermiques efficaces et de mauvaises conditions de stockage (absence de réfrigération) favoriseront de manière importante la multiplication d'éventuelles Salmonelles.

III. Moyens de lutte

A. Réponses sérologiques à l'infection par *Salmonella*

Salmonella Enteritidis provoque chez les volailles une infection au caractère invasif, et conduit à la production d'IgG [9]. La concentration des IgG produites persiste même pendant la phase intermittente d'excrétion fécale de la bactérie infectante. L'inconvénient vient du fait que les concentrations d'IgG produites juste après l'infection peuvent être faibles, alors que l'excrétion bactérienne est à son maximum.

Dans la pratique, plusieurs tests sérologiques ont été développés par le passé, notamment le test d'agglutination sur lame utilisant du sérum ou du sang entier, pour la recherche de *Salmonella Gallinarum*. Ce genre de test présente une sensibilité insuffisante vis à vis d'autres sérotypes.

La technique ELISA (*Enzyme-linked immunoabsorbent assay*) utilisée pour les salmonelloses aviaires permet de détecter spécifiquement les IgG dans le sérum; une adaptation du test peut permettre la détection des IgM. Mais des quantités importantes n'étaient détectables que plusieurs semaines après l'infection [68].

Le principal antigène utilisé comme cible de production d'anticorps parfois associé aux antigènes flagellaires, est le lipopolysaccharide (LPS). Grâce à sa composition, il peut offrir des spécificités discriminatoires, mais un risque de confusion persiste en raison des antigènes communs possédés par différents sérovars de *Salmonella*.

En effet en raison de communautés antigéniques entre différents sérovars classés dans le même groupe (antigène O majeurs communs), ou de différents groupes, ou encore entre différents genres bactériens de la famille des entérobactéries (*Salmonella*, *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Klebsiella*), il est quasiment impossible de construire une technique ELISA basée sur des antigènes du LPS qui soit strictement spécifique de *Salmonella Enteritidis*. Une étude menée sur des élevages de poules pondeuses a montré que le test ELISA *Salmonella Enteritidis/ Salmonella Typhimurium* détectait la présence de *Salmonella Heidelberg* et *Agona*, qui appartiennent au même groupe antigénique que *Salmonella Typhimurium*, et de *Salmonella Hadar* qui ne possède pourtant aucun antigène commun avec *Salmonella Enteritidis*.

Cette même étude qui a consisté en une comparaison de la détection par test ELISA et par bactériologie, a montré qu'il existait un décalage entre les réponses bactériologiques et sérologiques. Le délai de séroconversion dû au temps nécessaire à la propagation des Salmonelles dans l'organisme conduit à un décalage entre ces

deux réponses bactériologiques et sérologiques qui retarde l'élimination de troupeaux positifs et favorise la diffusion de l'infection.

Il n'est donc pas exclu que certains élevages soient contaminés par plusieurs sérotypes mais qu'un seul soit détectable par la bactériologie en raison de l'utilisation de milieux sélectifs plus favorables à certains sérotypes, ce qui a déjà été montré chez des porcs contaminés artificiellement.[58]

Par ailleurs, lors de l'étude des réponses sérologiques de poulets contaminés expérimentalement avec *Salmonella* Enteritidis PT4, il a été montré que l'inhalation de cette bactérie par les volailles provoquait la production d'anticorps IgG spécifiques du LPS de *Salmonella* Enteritidis PT4. Quand l'inoculum de départ était plus élevé, les anticorps produits étaient principalement des IgM. [26]

L'interprétation des résultats de ces techniques de détection doit être rigoureuse pour décider de la conduite à tenir lors de cas d'infections. La combinaison des différents systèmes de surveillance épidémiologique doit permettre une identification rapide des lots contaminés et la maîtrise de la circulation de *Salmonella*.

Des études ont montré que *S. enteritidis* se développait plus lentement lorsque les bactéries étaient inoculées dans des jaunes issus de poules séro-positives que lors d'inoculation dans des jaunes de poules séro-négatives. La sécrétion d'anticorps est donc apparue comme une barrière à la contamination. [19]

B. Immunoprophylaxie

Une étude sur la protection des poules, par immunoprophylaxie, contre l'invasion des organes internes par *Salmonella* Enteritidis a été menée par Tellez *et al* en 1993. Cette étude était basée sur l'administration de produits issus de poules immunisées contre *Salmonella* Enteritidis et sécrétés par les lymphocytes T : *Salmonella* Enteritidis Immune lymphokine (SE-ILK). Une administration prophylactique intra-péritonéale de SE-ILK à des poulets de 18 jours a réduit la capacité de pénétration de *Salmonella* Enteritidis dans les organes internes de 60% lorsque l'infection avait lieu 30 minutes ou 6 jours après le traitement. Cette protection s'est accompagnée d'un afflux massif de cellules inflammatoires vers la lamina propria, provoquant une multiplication par cinq de l'épaisseur de la paroi intestinale. [51]

Plusieurs études ont montré l'efficacité de SE-ILK en tant que moyen de prévention de salmonelloses en élevages. Bien que cette prophylaxie ne réduise pas la colonisation intestinale, l'effet protecteur s'est avéré malgré des doses infectantes importantes de *Salmonella* Enteritidis.

Mac Gruder *et al*, ont montré que cet effet protecteur n'était réel qu'en stratégie prophylactique et qu'aucun effet n'était obtenu lors d'injection de SE-ILK après infection.

Ces lymphokines se sont aussi avérées protectrices face à d'autres sérovars.[38]

C. Vaccination

La vaccination de poussins âgés de trois jours avec *Salmonella Typhimurium* X3985 réduit l'excrétion fécale lors d'infection par des sérotypes différents quatre semaines après la vaccination, mais ne modifie pas la colonisation cœcale. [65]

Deux vaccinations à 1 et 14 jours suivis d'une infection à trois semaines d'âge ont montré une solide protection contre la colonisation de l'intestin grêle mais n'ont réduit la colonisation rectale que de 50% sans induire de protection contre la colonisation cœcale. Une infection à quatre semaines a induit une forte protection contre la colonisation de l'intestin grêle et 90% de protection contre les colonisations cœcales et rectales. Cette vaccination ne protège pas de *Salmonella Enteritidis* mais fournit une protection contre l'infection ovarienne.[80]

La vaccination à 2 et 4 semaines d'âge de poulets SPF et VHP (vaccinated hen's progeny) induit une excellente protection contre la contamination par *Salmonella Enteritidis* PT13, PT8 et *Salmonella Typhimurium* F98. [59]

Une autre étude menée sur des poules pondeuses vaccinées 2 et 4 semaines et mises en contact avec une souche sauvage de *Salmonella Typhimurium* et *Salmonella Enteritidis* à 3, 6, 9 et 12 mois, a montré que la vaccination induisait une excellente protection contre la colonisation des intestins, du tractus génital et de l'œuf par *Salmonella*. La durée de la protection s'est établie à 11 mois après la vaccination, date de la fin de l'étude. [52]

S.Typhimurium X 3985 est apparu comme un vaccin vivant capable d'être un élément indispensable dans la lutte contre les salmonelles.

L'effet protecteur de deux protocoles de vaccination utilisant Salenvac®; un vaccin préparé à partir de corps cellulaires de *Salmonella Enteritidis* PT4 inactivés par le formaldéhyde et adjuvé avec de l'hydroxyde d'aluminium; a été vérifié chez les poules pondeuses. L'immunisation active s'est faite dans un premier lot par une injection intra-musculaire à des poussins de un jour puis à quatre semaines d'âge. Un second lot a reçu les mêmes injections puis une troisième à 18 semaines. La contamination par voie intra-veineuse par *Salmonella Enteritidis* de 5.10^7 UFC a été réalisée sur les animaux âgés de 8, 17, 23, 30 et 50 semaines. Pour tous ces groupes d'âges, les deux protocoles de vaccination ont réduit significativement la contamination fécale et des organes. [86]

Cette étude a montré que moins d'œufs présentaient une culture positive lors de la recherche de *Salmonella Enteritidis* grâce à la vaccination des poules (56 œufs positifs /439 œufs) par rapport aux poules non vaccinées (99 œufs positifs/ 252 œufs).[32]

Les recherches sur le contrôle génétique de la résistance à *Salmonella Enteritidis* chez le poulet ont montré qu'un gène majeur pouvait être identifié. [39]

Cette identification permet la sélection de lignées de poulets résistants. Dans une lignée de pondeuse, les héritabilités des niveaux d'infection mesurés dans la rate, le foie et les organes génitaux ont suggérés que gène NRAMP1 était impliqué dans le contrôle de la résistance à l'infection intra-veineuse par *Salmonella Enteritidis*.[55] Par contre, ce gène ne semble pas être impliqué dans le contrôle de la résistance de *Salmonella Enteritidis* dans les caeca.[15]

Les Salmonelles sont capables d'infecter la filière avicole à tous les niveaux : reproducteurs, poulets de chairs, poules pondeuses; et les méthodes de prophylaxie hygiénique seules sont insuffisantes pour maîtriser et réduire la contamination de la filière, et sont associées à une vaccination dans la filière poule pondeuse.

CONCLUSION

La recrudescence et la gravité des cas de toxi-infections alimentaires collectives dues à la consommation d'œufs ou d'ovoproduits contaminés par *Salmonella Enteritidis* font de la connaissance des modalités de contamination de l'œuf un atout majeur dans la lutte contre cet agent.

Parmi tous les produits alimentaires, l'œuf possède des propriétés physiques ou chimiques qui lui confèrent les meilleurs moyens de défense anti-microbienne. Pourtant, au sein de la filière œufs de consommation, cette contamination des œufs peut s'effectuer par transmission verticale pour *Salmonella Enteritidis* qui présente un caractère invasif et qui infecte les follicules ovariens sans pour autant provoquer de symptômes.

Le rôle des facteurs de virulence est prépondérant dans cette voie de contamination qui débute au niveau des follicules pré-ovulatoires et qui conduit à la contamination des milieux internes.

Les efforts de prévention sont mis en place à tous les niveaux de la filière œufs de consommation notamment par l'application d'une réglementation européenne de plus en plus ferme. En restauration collective, les efforts doivent être concentrés sur le respect des bonnes pratiques de transport, de stockage et de préparation des aliments; sur le respect strict des chaînes du chaud et du froid et sur une utilisation de préparations à base d'œufs pasteurisés et de poudre d'œufs. En milieu familial, où la part des foyers dus à *Salmonella Enteritidis* est importante, le respect des recommandations simples permettrait de réduire les risques liés à la consommation d'œufs crus ou peu cuits.

Des recherches sont encore nécessaires sur les facteurs de virulence et le pouvoir pathogène des Salmonelles afin d'ajuster au mieux les moyens de lutte et de coordonner les différents acteurs à tous les niveaux de la filière.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 Agreste, 2002,
Conjoncture par filière,
<http://www.agreste.agriculture.gouv.fr>
- 2 ANONYME, 2000,
Guide d' élevage pondeuse Isabrown
- 3 ARAKAWA A., FUKATA T., BABA E., 1992,
Influence of coccidiosis on *Salmonella* colonization in broiler chickens under floor-pen conditions, *Poultry Science*, 71: 59-63
- 4 BABA E., NAGAISHI S., 1991,
The role of intestinal microflora on the prevention of *Salmonella* colonization in gnotobiotic chickens, *Poultry Science*, 70: 1902-1907.
- 5 BARNES E.M., IMPEY C.S., STEVENS B.J.H., 1979,
Factors affecting the incidence and anti-*Salmonella* activity of the anaerobic caecal flora of the young chick. *Journal of Hygiene*. 82: 263-283.
- 6 BARON F., GAUTIER M., BRULE G., 1997,
Growth inhibition of *Salmonella* Enteritidis in liquid egg white. In: *Salmonella* and salmonellosis proceedings, PLOUFRAGAN
- 7 BARROW P.A., 1998,
Virulence of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, In: SAEED AM. *Salmonella enterica Serovar Enteritidis in Humans and Animals Epidemiology, Pathogenesis and Control*, 173-178
- 8 BARROW P. A., HUGGINS M. B., LOVELL M. A., SIMPSON J. M., 1987,
Observation of the pathogenesis of experimental *S.Typhimurium* infection in chickens. *Research in Veterinary Science*, 42: 194-199.
- 9 BARROW P. A., LOVELL M. A., 1991,
Experimental infection of egg-laying hens with *Salmonella* enteritidis phage type 4. *Avian Pathology*. 20: 335-348.
- 10 BARROW P. A., TUCKER J.F., SIMPSON J.M., 1987,
Inhibition of colonization of the chicken alimentary tract with *Salmonella* typhimurium gram-negative facultatively anaerobic bacteria. *Epidemiology and Infection*, 98: 311-322.
- 11 BASKERVILLE A.; HUMPHREY T.J.; FITZEGORGE R.B.; COOK R.W.; CHART H.; ROWE B.; WHITEHEAD A., 1992,
Airborne infection of laying hens with *Salmonella* Enteritidis phage type 4, *Vet rec*, 130(18) 395-398.

- 12 BELLATIF M. F., 1994,
Etude expérimentale de la colonisation du poulet par *Salmonella* Enteritidis Type Phagique 4;Thèse microbiologie, Faculté de Poitiers.
- 13 BENSON C.E., KELLER L. H., 1998,
Characterization of chicken infection with *salmonella enterica* serovar enteritidis, In : *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis in Humans and Animals Epidemiology, Pathogenesis and Control edited by A.M. Saeed, et al, 464 p.
- 14 BERCHIERI A., BARROW P.A., MURPHY C.K., 1997,
Vertical transmission of *Salmonella gallinarum*, *S. pullorum* and *S. Enteritidis* in commercial brown-egg layers. In: *Salmonella and salmonellosis* proceedings, Ploufragan, 293-294.
- 15 BERTHELOT F., BEAUMONT C., MOMPART F., GIRARD-SANTOSUSSO O., PARDON P., DUCHET-SUCHAUX M., 1997,
Héritabilité de la résistance génétique au portage de *Salmonella* Entéritidis dans les caeca de poulets, In: *Salmonella and salmonellosis* proceedings, Ploufragan 303-304
- 16 BLANKENSHIP L.C., BAILEY J.S., COX N.A., STERN N.J., BREWER R., WILLIAMS O., 1993,
Two-step mucosal competitive exclusion flora treatment to diminish *Salmonella* in commercial broiler chickens, *Poultry Science*. 72:1667-1672
- 17 BOARD R.G., 1977,
The microbiology of eggs, Egg science and technology, Ed by Stadelman, Avi Publishing company, Wesport, 49-64
- 18 BOUVET P., 1995,
Salmonelles et salmonelloses en France, In: M.Moll et N. Moll : sécurité alimentaire du consommateur. Technique et documentation, Lavoisier, Paris, 2-19.
- 19 BRADSHAW J.D., SHAK D.B., FORNEY E., MADDEN J.M., 1990,
Growth of *Salmonella* Enteritidis in yolk of shell eggs from normal and seropositive hens, *J. Food. Prot.* 53. 1033-1036
- 20 BRAUN P., FELHABER K., 1995,
Migration of *Salmonella* Enteritidis from the albumen into the egg yolk, *Int. J. Food. Microbiol.*; 25, 95-99.
- 21 BRISABOIS A., FREMY S., GAUCHARD F., GONCALVES M., LAILLER R., MOURY F. OUDART C., PIQUET C., PIRES GOMES C., 1998,
Surveillance épidémiologique des *Salmonella* d'origine non humaine : synthèse des observations pour 1998., Bulletin d'épidémirosurveillance 0, AFSSA

- 22 BRISABOIS A., FREMY S., GAUCHARD F., GONCALVES M., LAILLER R., MOURY F., OUDART C., PIQUET C., PIRES GOMES C., 2001,
Inventaire des Salmonella 1999., Paris, Afssa, 2001
- 23 BUXTON A., 1957,
Salmonellosis in animals. Commonwealth Agricultural Bureau, UK
- 24 CAVALLO JD, MEYRAND M., 1992,
Les salmonelles et leur pathologie: base bactériologique du traitement.
Médecine et Maladies infectieuses, 22, N° spécial : 331-339
- 25 CENTRE DE DOCUMENTATION SUR L'ŒUF ET LES OVOPRODUITS, 2002,
L'œuf, un monde en soi.
- 26 CHART H., BASKERVILLE A., HUMPHREY T.J., ROWE B., 1990,
Serological response of chickens to *Salmonella Enteritidis* infection,
Epidemiology and infection, 104: 63-72.
- 27 CHRISTMANN D., STAUB T., HANSMANN Y., 1992,
Manifestations extra digestives des salmonelloses. *Médecine et Maladies infectieuses*, 22, N° spécial : 289-298.
- 28 CLAY C.E., BOARD R.G., 1991,
Growth of *Salmonella Enteritidis* in artificially contaminated hens' shell eggs.
Epidemiol. Infec.; 106, 271-281.
- 29 DANTZER R., MORMEDE P., 1979,
Le stress en élevage intensif. Actualités scientifiques et agronomiques. Paris : INRA, 54-56
- 30 DE LOUVOIS J., 1993,
Salmonella contamination of eggs; *Lancet*, 342, 366-367.
- 31 DESCAMPS C., 1999,
Contribution à l'étude de la transmission verticale de salmonella : résultats obtenus après contamination artificielle d'œufs embryonnés et de poules reproductrices. Th. Med. Vet. : Nantes.
- 32 DICTIONNAIRE DES MEDICAMENTS VETERINAIRES ET DES PRODUITS DE SANTE ANIMALE, 2001,
Edition du point vétérinaire, 11^{ème} édition.
- 33 DUCLUZEAU R., RAIBAU P., 1989,
Ecologie microbienne du tube digestif. MASSON. Ed PARIS, 95 pages.
- 34 ESPIE E., TOUX J.Y., DROUIN P., LE BOUQUIN S., 2001,
Les infections salmonelliques dans les filières *Gallus gallus* et dinde en 2000.
Résultats du réseau National d'Epidémiosurveillance en aviculture. In : Bulletin épidémiologique, Paris : Afssa, 2001, 3, 2-4.

- 35 EUZEBY J.-P., 1997,
Les salmonelles et les salmonelloses aviaires dues aux sérovars ubiquistes,
Revue Méd. Vét., 148, 1, 61-76
- 36 FOWLER N. G., MEAD G. C., 1990,
Competitive exclusion and *Salmonella Enteritidis*, *Veterinary record*, 126: 489.
- 37 GAST R. K., BEARD C. W., 1990,
Isolation of *Salmonella Enteritidis* from internal organs of experimentally infected hens, *Avian diseases*. 34:991-993
- 38 GAST R.K., 1998,
Applying experimental infection models to understand the pathogenesis, detection, and control of *Salmonella enterica* serovar enteritidis in poultry; In: *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis in Humans and Animals Epidemiology, Pathogenesis and Control, A.M. Saeed *et al*, 233-239
- 39 GIRARD-SANTOSUOSSO O., MENANTEAU P., MARIANI P., LANTIER I., PROTAIS J., COLIN P., GUILLOT J.F., BUMSTEAD N., PARDON P., BEAUMONT C., LANTIER F., 1997,
Contrôle génétique de la résistance à *Salmonella Enteritidis* chez le poulet. In: *Salmonella and salmonellosis* proceedings, Ploufragan, 305-306.
- 40 GOREN E., DE JONG W.A., DOORNENBAL P., BOLDER N.M., MULDER RW., JANSEN A., 1988,
Reduction of *Salmonella* infection of broilers by spray application of intestinal microflora:a longitudinal study. *Veterinary Quarterly*. 10: 249-255.
- 41 GORHAM S. L., KADAVIL K., HARYEAN L., EBILNA V., BARBARA P., ABEL J., 1991,
Persistance of *Salmonella Enteritidis* in young chikens. *Avian Pathology*, 20: 433-437
- 42 GRAMMATICO D., 2002,
Contribution à l'appréciation du risque salmonellique dans le oeufs de consommation et les ovoproduits, Thèse Méd. Vét., Toulouse; n°23.
- 43 GRANDSART C., 1998,
Les facteurs de virulence des salmonelles : Étude bibliographique. *Th. Méd. Vét. Alfort*
- 44 GRIFFIN H.D., PERRY M.M., GILBERT A.B., 1984,
Yolk formation. In : Freeman B.M. (ed) *Physiology and biochemistry of domestic fowl*. Academic press. 345-378
- 45 GRIMONT P.A.D., GRIMONT F., BOUVET P.J.M., 1994,
Salmonella. In *Manuel de bactériologie clinique*, volume 2, 2eme édition, Elsevier, Paris, 1017-1042.

- 46 GUILLOT J.F., MILLEMAN Y., 1991 ,
Intestinal colonization of chickens and turkeys by salmonella and antibiotic decontamination. In: Prevention and control of potentially pathogenic microorganisms in poultry and poultry processing. EEC Program. Flair N° 6, MULDER Ed, 31-44.
- 47 GUILLOU M., 1988,
La production de volailles de chair, de foie gras et d'œufs : technique d'élevage, R.Rosset, *L'aviculture française*, Imprimerie commerciale, Douai, 297-318
- 48 GUILLOU M., 1988,
La poulette et la pondeuse d'œufs de consommation, L'aviculture française, informations technique des services vétérinaires- ministère de l'agriculture, R.Rosset, n°100 à 103.
- 49 HAEGHEBAERT S., LE QUERREC F., VAILLANT V., DELAROCQUE ASTAGNEAU E., BOUVET P., 2001,
Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 1998, *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, n°15 /2001, 10 avril 2001
- 50 HAEGHEBART S., LE QUERREC F., GALLAY A., BOUVET P., GOMEZ M., VAILLANT V., 2002,
Les toxi-infections alimentaires collectives en France, en 1999 et 2000, *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, N° 23 / 2002, 4 juin 2002, p 105.
- 51 HARGIS B.M., CALDWELL D.J., KOGUT M.H., 1998,
Immunoprophylaxis of chicks against *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. In: *Salmonella enterica Serovar Enteritidis in Humans and Animals Epidemiology, Pathogenesis and Control*, A.M. Saeed et al, 413-416
- 52 HASSAN J.O., CURTISS R., 1997,
Efficacy of live avirulent *Salmonella* Typhimurium vaccine in preventing colonization and invasion of laying hens by *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis, *Avian diseases*, 41 : 783-791, 1997
- 53 HUMBERT F., 1992,
Salmonelles et filières avicoles : aspects épidémiologiques et incidence sur la santé publique. *Point vétérinaire*, 24, 207-214.
- 54 HUMPHREY T.J., CHART H., BASKERVILLE A., ROWE B., 1991,
The influence of age on the response of SPF hens to infection with *Salmonella* Enteritidis PT4. *Epidemiologie et infection*, 106: 33-43.
- 55 HUMPHREY T.J., BASKERVILLE A., CHART H., ROWE B., WHITEHEAD A., 1991,
Salmonella Enteritidis PT4 infection in specific pathogen free hens: influence of infecting dose, *Veterinary record*. 129: 482-485.

- 56 ICMSF,1998,
MICROORGANISMS IN FOODS, vol6, Microbial ecology of food commodities,
1998, 615 pages, Blackie academic Ed, Londres.
- 57 IMPEY C.S., MEAD G.C., 1989,
Fate of *Salmonella* in the alimentary tract of chicks pre-treated with a mature
caecal microflora to increase colonization resistance, *Journal of applied
microbiology*. 66: 469-475.
- 58 JOUY E., PROUX K., HUMBERT F., HOUDAYER C., LALANDE F., PICAULT
J.P., SALVAT G., 2002,
Détection des infections à *Salmonella* Enteritidis et Typhimurium chez *Gallus
gallus* à l'aide d'une technique ELISA. Evaluation de la méthode et
comparaison avec la détection bactériologique en élevage. AFSSA-site de
Ploufragan. *Sciences et techniques avicoles*. N° 38-p 11-18.
- 59 LAFONT J. P., BREE A., NACIRI M., YVORE P., GUILLOT J. F., 1983,
Experimental study of some factors limiting competitive excl983,

- 67 NAKAMURA M., NAGAMINE N., NORIMATSU M., SUZUKI S., OHISHI K., KIJIMA M., TAMURA Y., SATO S., 1993,
The ability of *Salmonella* Enteritidis isolated from chicks imported from England to cause transovarian infection. *J. Vet. Med. Sci.*; 55 (1): 135-6
- 68 NICHOLAS R.A.J., CULLEN G.A., 1991,
Development and application of an ELISA for detecting antibodies to *Salmonella* Enteritidis in chickens flocks, *Veterinary record*, 128: 74-76
- 69 NURMI E., RANTALA M., 1973,
New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. *Nature*. 241:210-211
- 70 OKAMURA M., KAMIJIMA Y., MIYAMOTO T., TANI H., SASAI K., BABA E., 2001,
Differences among six *Salmonella* serovars in abilities to colonize reproductive organs and to contaminate eggs in laying hens. *Avian Diseases*, 45:1, 61-69.
- 71 OLIVE J.P. 1968,
L'œuf, article originale. Conférence prononcée à l'institut de diététique de l'Hôtel Dieu, Paris.
- 72 PHILIPPE J.M., BOUVET P., GRIMONT A., 2001,
DONNEES DE SURVEILLANCE 1999 DU CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES SALMONELLA ET SHIGELLA. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, n°12/2001.
- 73 PROTAIS J., COLIN P., BOSHER E., EONO F., 1997,
Salmonella Enteritidis et l'élevage de poulets de chair: différentes voies de contamination horizontale, CNEVA, In : *Salmonella* and salmonellosis proceedings, PLOUFRAGAN
- 74 PROTAIS J., LAHELLEC C., 1989,
Transmission verticale des salmonelles chez la poule : exemple de *Salmonella* Enteritidis. Science des aliments, N° hors série X 9 : 43-50.
- 75 PROTAIS J., LAHELLEC C., BOUGON M., 1989,
Evolution de la qualité de l'œuf de consommation au cours du stockage. *Bulletin d'information de la station d'aviculture de Ploufragan*, 29, 31-32
- 76 ROMANOFF A. L., ROMANOFF A. J., 1949,
The avian egg, John Wiley and Sons Inc, New-York, 1-948
- 77 ROSE N., MARIANI J.P., DROUIN P., TOUX J.Y., BEAUDEAU F., COLIN P., 1999,
Facteurs de risques d'introduction et de persistance de *Salmonella* dans les élevages de poulets de chair, In : 3eme journées de la recherche avicole 1999.

- 78 SAEED A. M., THIAGARAJAN D., THACKER H.L., 1998,
Role of fimbriae of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in the pathogenesis
of the disease in experimentally infected laying hens. In : *Salmonella enterica*
Serovar Enteritidis in Humans and Animals Epidemiology, Pathogenesis and
Control, edited by A.M. Saeed *et al*, 255-262.
- 79 SAEED A. M., THIAGARAJAN D., ASEM A., 1998,
Mechanism of transovarian transmission of *Salmonella enterica* serovar
Enteritidis in laying hens,. *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis in Humans
and Animals Epidemiology, Pathogenesis and Control edited by A.M. Saeed, *et
al*, 464 p.
- 80 SAEED A.M., 1998,
Control of *Salmonella enterica* sérovar Enteritidis infection in chikens by using
live avirulent *Salmonella Typhimurium* Vaccine strain, In: *Salmonella enterica*
Serovar Enteritidis in Humans and Animals Epidemiology, Pathogenesis and
Control, edited by A.M. Saeed 405-409
- 81 SAEED A.M., LINDELL K.A., THACKER H.L., 1998,
Experimental infection of four strains of commercial laying hens with
Salmonella enterica sérovar enteritidis phage type 8, In : *Salmonella enterica*
Serovar Enteritidis in Humans and Animals Epidemiology, Pathogenesis and
Control, edited by A.M. Saeed, *et al*, 245-254.
- 82 SAUVEUR B., 1988,
Reproduction des volailles et production d'œufs. INRA, 449p.
- 83 THAPON J.L., BOURGEOIS C.M., 1994,
L'œuf et les ovoproduits. Collection sciences et techniques agro-alimentaires,
Paris, 445p.
- 84 VALENTI P., ANTONINI G., VON HUNOLSTEIN C., VISCA P., ORSI N.,
1983,
Studies on the antimicrobial activity of ovotransferrin. *Int. J. Tiss. Reac.* 5 (1),
97-105.
- 85 VIENOT E., 2001,
Le guide de l'éleveur de pondeuses selon les nouvelles normes européennes.
Filières avicoles, 633,3
- 86 WOODWARD M.J., GETTINBY G., BRESLIN M.F., CORKISH J.D.,
HOUGHTON S., 2002,
The efficacy of Salenvac, a *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serotype
Enteritidis iron-restricted bacterin vaccine, in laying chickens. *Avian Pathology*
31, 383-392.