

# EMISSAGE

## Epidémiologie des *Salmonella* en filière animale par Approche Génomique

Valérie MICHEL – ACTALIA

Département de Microbiologie Laitière

74 800 La Roche sur Foron

Janv 2018 - Juin 2022

Avec la contribution financière du compte d'affectation spéciale développement agricole et rural CASDAR

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION

Liberté  
Égalité  
Fraternité

CASDAR RT- N° 1710 EMISSAGE



## Salmonella enterica et santé humaine

*Salmonella* : entérobactérie



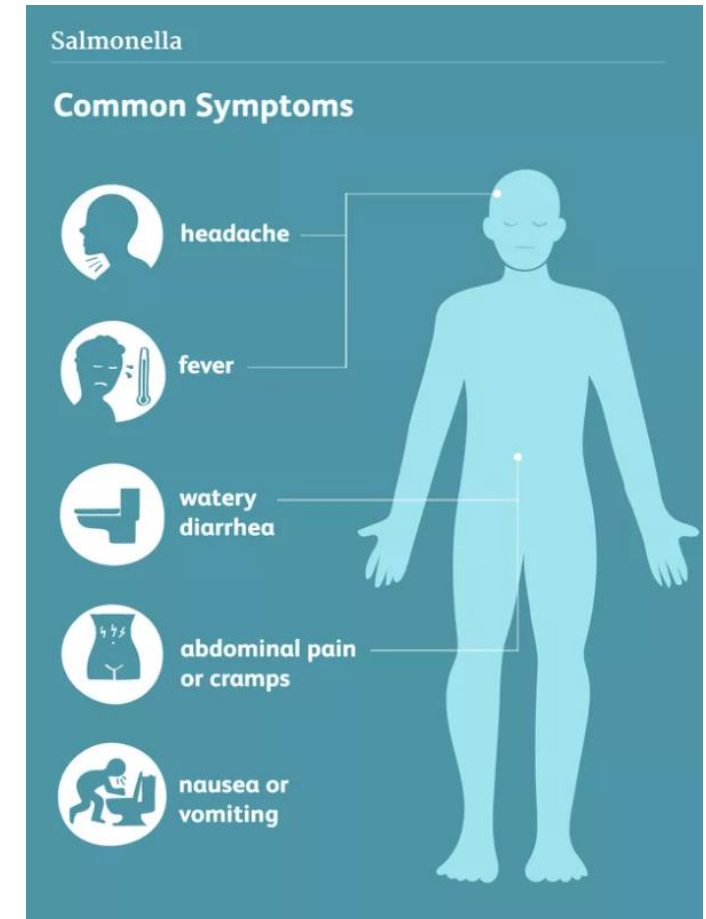
*Salmonella enterica* :

- 2<sup>ème</sup> agent responsable de zoonose en Europe (60 050 cas en 2021)
- 1<sup>er</sup> agent des TIAC confirmées en France en 2021 (935 malades, 166 hospitalisations)

Aliments incriminés dans les TIAC à salmonelles en France :  
parmi les aliments confirmés ou suspectés, à l'origine de la TIAC (2021)

- Oeufs et ovoproduits : 42%
- Charcuterie : 13%
- Fromages / produits laitiers : 10%
- Viande : 8%

Un danger microbien à surveiller : critère microbiologique libérateur du régl. 2073/2005 pour de nombreux aliments



Sources : EFSA journal, nov. 2022 ;  
Santé Publique France, février 2023

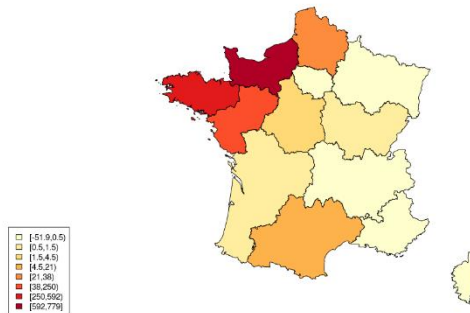
## Salmonella et filières laitière et porcine



Bovin lait : surveillance montre la présence de divers serovars de *Salmonella*,

- sérovars communs (Enteritidis, Typhimurium, Variant Monophasique de Typhimurium)
- Sérovars « régionalisés », à forte prévalence en bovins et/ou bovins laits (ex Dublin, Mbandaka, Montevideo...)

Répartition par région des salmonelles en France métropolitaine



Répartition de la prévalence de *S. Mbandaka* en France entre 2000 et 2022 (données surveillance – ANSES USEL)

- *S. Mbandaka* : rarement retrouvé chez l'humain

## Salmonella et filières laitière et porcine



Bovin lait : surveillance montre la présence de divers serovars de *Salmonella*,

- sérovats communs (Enteritidis, Typhimurium, Variant Monophasique de Typhimurium)
- Sérovars « régionalisés », à forte prévalence en bovins et/ou bovins laits (ex Dublin, Mbandaka, Montevideo...)



Filière porc : 2 serovars *Salmonella* Typhimurium et Variant monophasique (S.4,[5],12:i-) : 60% des serovars de *Salmonella* détectés en 2015 en France à l'abattoir

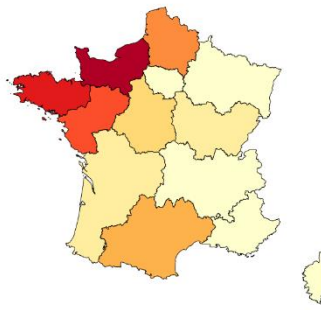
2 sérovats ~ 14 % des TIAC liées à salmonelles en 2021, 13% en 2020

VMP Typhimurium : décrit en 1990, manque la 2<sup>nd</sup>e phase flagellaire, TIAC : prévalence proche ou supérieure à celle de Typhimurium

Filière porc : VMP plus fréquent que Typhimurium

Sources : Santé Publique France, février 2023, nov 2021 ; Ifip

Répartition par région des salmonelles en France métropolitaine



Répartition de la prévalence de S. Mbandaka en France entre 2000 et 2022 (données surveillance – ANSES USEL)

- S. Mbandaka : rarement retrouvé chez l'humain

## Objectifs du projet EMISSAGE

Pour des souches issues du terrain de 3 serovars de *Salmonella* (*S. Mbandaka*, *S. Typhimurium* et VMP *Typhimurium*),

- ➔ étudier **la diversité génétique des souches** (séquençage global, WGS)
- ➔ comparer les séquences pour **identifier des marqueurs d'origine** :
  - localisation géographique en filière porc,
  - nature de la contamination en filière laitièrepour, le cas échéant, faire **des sondes spécifiques d'origine** (marqueurs d'origine) pour améliorer la surveillance.



## Réalisation du projet EMISSAGE en filière laitière

Etude de cas, en conditions terrain, de la plus value des outils WGS : S. Mbandaka /  
filrière laitière Normandie

Campagne  
d'isollements  
S. Mbandaka

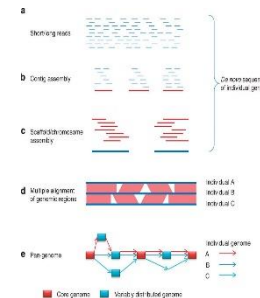


Extrait d'ADN



148 souches extraites

Données brutes de  
séquences



140 séquences  
disponibles fin 2021

Séquences  
travaillées

Thèse CIFRE  
Madeleine DE SOUSA

ANRT

N° 2019/0724

Ecole Doctorale  
ABIES  
Agriculture  
Alimentation  
Food  
Biologie  
Environnement  
Santé  
Métiers

148 souches bas normandes,  
2016 à 2019  
23 fermes, 3 ateliers  
tout le long de la chaîne de production

Données minimales associées  
Date isolement, code ferme,  
nature du prélèvement,  
département



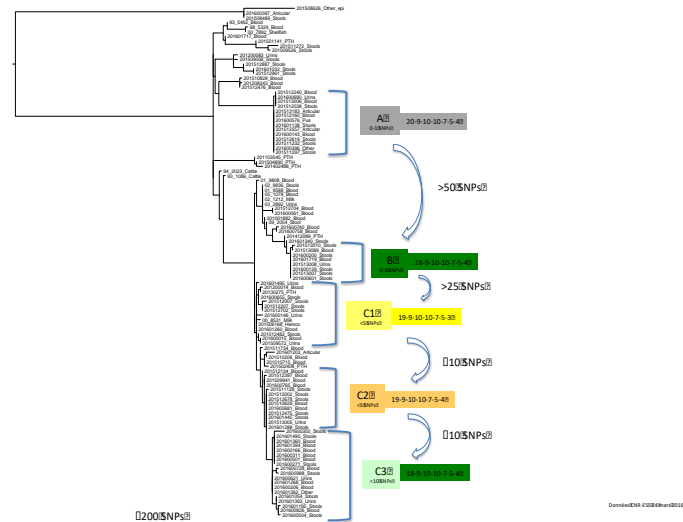
## Objectifs du projet EMISSAGE

Etude de cas, en conditions terrain, de la plus value des outils WGS : S. Mbandaka / filière laitière Normandie

Séquences  
travaillées



Arbre phylogénétique



→ Epidémiologie génomique

Informations sur proximité entre souches, leur persistance, leur circulation

en utilisant les données de traçabilité collectées (métadonnées associées)

Recherche de marqueurs génétiques pour les clusters "d'intérêt"

→ Développement cibles PCR pour faciliter la détection

→ Marqueurs : origine de la contamination ?

## Résultats du projet EMISSAGE



Séquences  
travaillées



### Arbre phylogénétique

- Une grande diversité génétique (1062 SNP pour les 140 souches laitières)
- Pas de séparation des souches par année d'isolement (2016- 2019)
- Des clusters (groupement de souches similaires (peu de distance génétique) qui partagent un ancêtre commun) qui contiennent des souches de l'environnement de la ferme (lisier), du lait et du fromage → **possibilité de contamination tout le long de la chaîne**
- Des clusters présentent des souches d'un seul élevage, d'autres sont multi-élevages → **contaminations croisées ? ou origine commune ?**



## Résultats du projet EMISSAGE



### Recherche de marqueurs d'origine

Données de surveillance réseau *Salmonella* de l'Anses : *S. Mbandaka* très présent en filière volaille, notamment au niveau des élevages

Professionnels laitiers : contamination en *S. Mbandaka* provenant de l'alimentation animale (Tourteau) ?

### Séquences travaillées



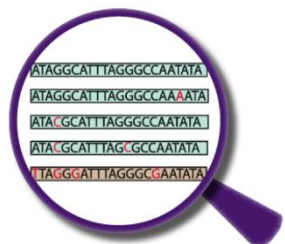
- besoin de souches pour faire les comparaisons génétiques
- pas de souches « aliment » disponibles
  - des souches d'origine volaille disponibles (113 souches même région ou région limitrophe, 51 souches d'autres régions de France)

→ **comparaison génomique des souches laitières et volailles**

## Résultats du projet EMISSAGE



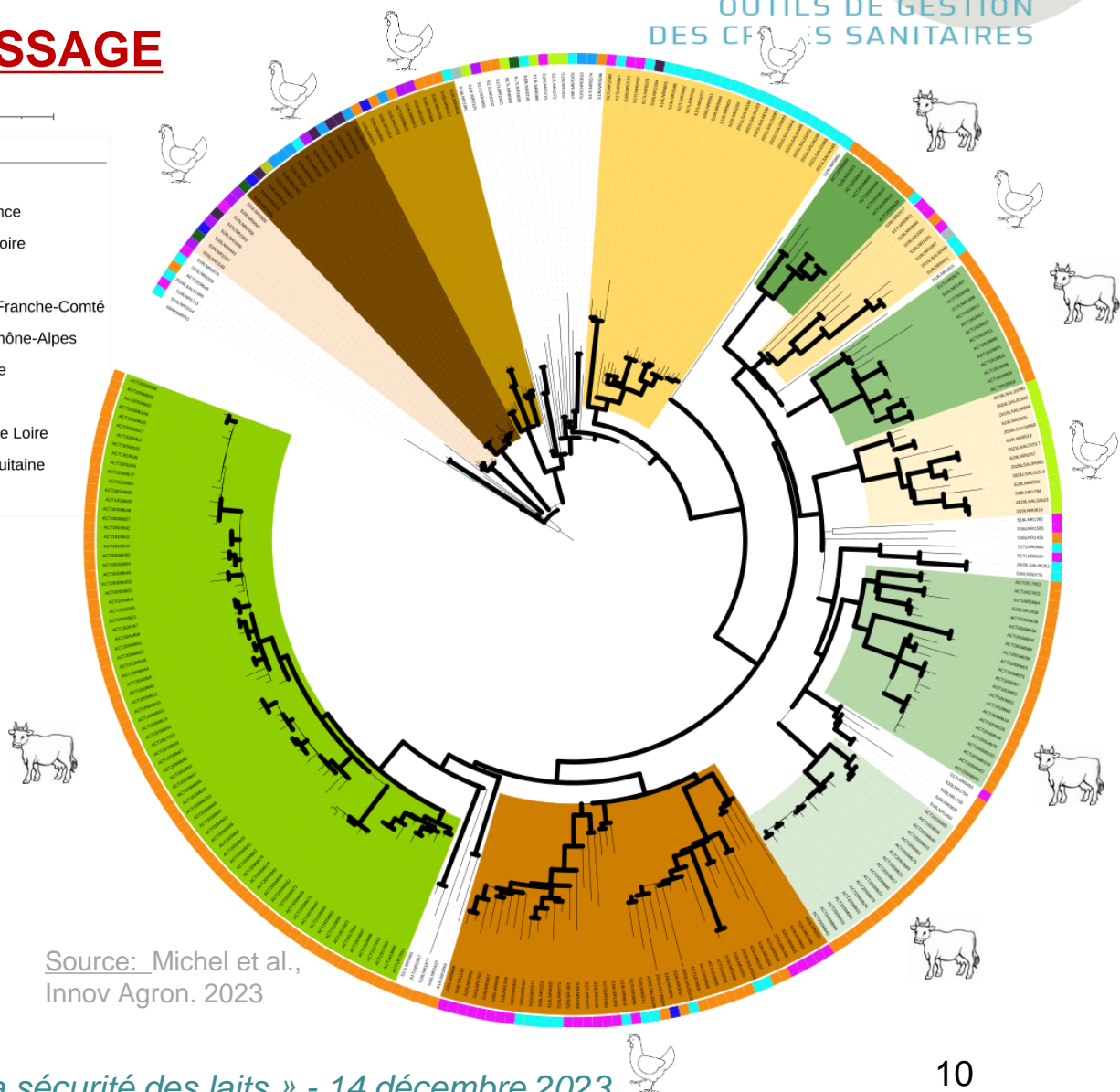
Séquences  
travaillées



### Arbre phylogénétique

comparaison génomique des  
souches laitières et volailles :

- Clusters de souches volaille séparés des clusters bovins/lait
- Pas de spécificités d'hôte (clusters volailles s'intercalent entre les clusters bovins)
- Quelques souches « bovins/lait » dans clusters volailles



Source: Michel et al.,  
Innov Agron. 2023

## Résultats du projet EMISSAGE

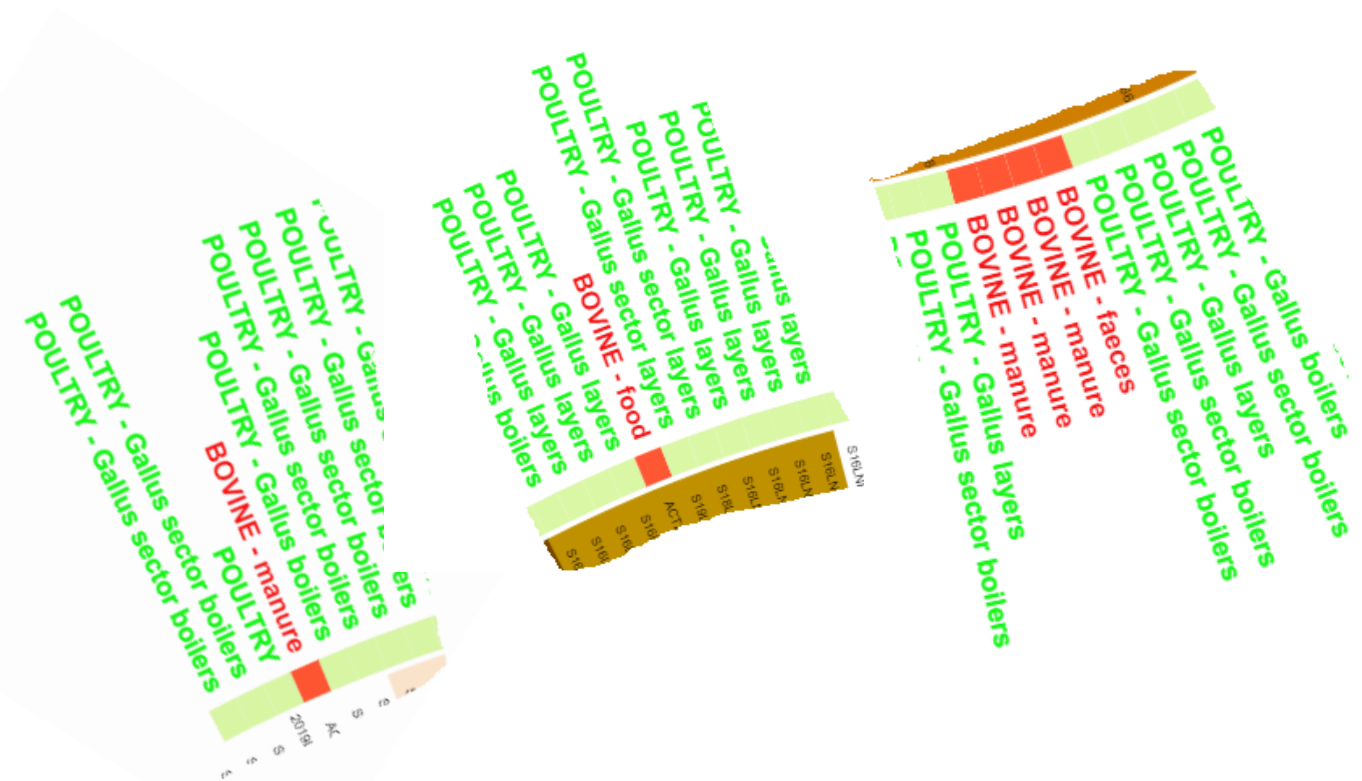


### Arbre phylogénétique

comparaison génomique des souches laitières et volailles :

- Quelques souches « bovins/lait » dans clusters volailles  
→ Ce sont des souches environnementales (fumier, feces, alimentation animale)
- Possible contamination via l'environnement et les oiseaux ?

Séquences travaillées



Source: De Sousa M, thèse doctorale, Univ Paris-Est, 2023

## Résultats du projet EMISSAGE



### Marqueurs d'origine

Existence marqueurs spécifiques des clusters volailles ou bovins/lait ?

Recherches de variations génétiques sur des gènes ou combinaisons de gènes

### Séquences travaillées



→ **Combinaison de 3 gènes :**

- justesse de 92%
- inclusivité de 91% (127/140 souches bovines identifiées)
- exclusivité de 96% (11 faux positifs)

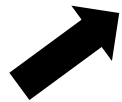
→ **Amélioration si combinaisons de plus de gènes (5) mais économiquement couteux en routine pour caractériser une souche**

|                       | Panaroo name | Source |         | Accuracy | Inclusivity | Exclusivity |
|-----------------------|--------------|--------|---------|----------|-------------|-------------|
|                       |              | Bovine | Poultry |          |             |             |
| Gene                  | group_716    | +      | -       | 0.92     | 91%         | 96%         |
|                       | group_2947   | +      | -       |          |             |             |
|                       | group_2909   | +      | -       |          |             |             |
| Variants <sup>a</sup> | 1567699_G_T  | +      | -       | 0.91     | 87%         | 96%         |
|                       | 3213391_T_C  | +      | -       |          |             |             |
|                       | 199204_C_T   | +      | -       |          |             |             |

Source: De Sousa et al, Frontiers, 2023



## Résultats du projet EMISSAGE



Séquences  
travaillées



N= 188 souches  
4 zones  
géographiques  
différentes

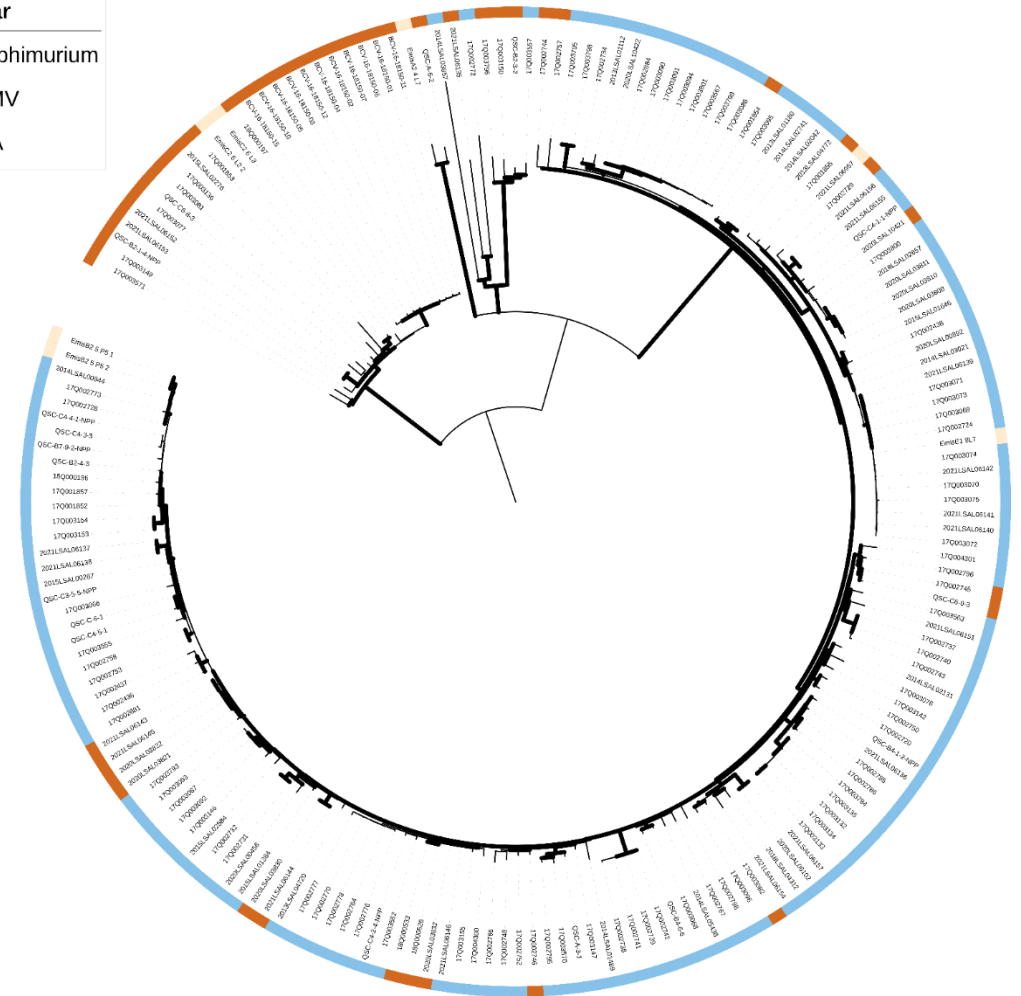
### Arbre phylogénétique

- 2 groupes distincts (Typhimurium et VMP)
- Diversité génétique plus restreinte pour VMP
  - VMP (med 65 SNP pour 52 souches)
  - Typhimurium (med 92 SNP pour 36 souches)
- Pas de regroupement des souches par zone géographique
- Voies de contamination ? : besoin de données associées pour faire les liens

Tree scale: 0.0001

Serovar

- Typhimurium
- TMV
- NA



## Conclusions - Perspectives du projet EMISSAGE

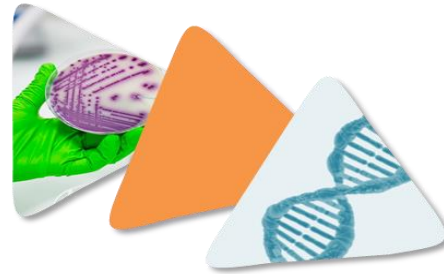
- Première étude de caractérisation génomique des souches de *S. Mbandaka* issues des filières laitière et aviaire et de souches de *S. Typhimurium* et VMP issues de la filière porcine en France
  - Diversité génétique de ces sérovars variable
  - Distinguer des marqueurs génétiques « signature d'une origine » pas toujours possible (manque de souches, technique, économique)
- Perspectives : Recherche de facteurs de résistance (antibiotiques, biocides) ou virulence dans les génomes disponibles (à confronter au phénotype), étude de la diversité génétique de souches du VMP en filière laitière ?

.....



# Merci de votre attention

## Des questions ?



Valérie MICHEL

Département Microbiologie Laitière  
Unité Expertise Analytique Laitière / Cevalait  
74800 La Roche sur Foron

[v.michel@actalia.eu](mailto:v.michel@actalia.eu)

