



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

Maisons-Alfort, le 4 février 2008

Avis

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur la vaccination par des vaccins vivants contre *Salmonella* en élevages de *Gallus gallus*

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Rappel de la saisine

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 21 novembre 2007 par la DGAI (sous-direction de la sécurité sanitaire des aliments) d'une demande d'avis sur la vaccination par des vaccins vivants contre *Salmonella* en élevages de *Gallus gallus*. Les questions posées portent, d'une part, sur les risques liés à l'utilisation de vaccins vivants et en particulier ceux disposant d'une valence Gallinarum dans la lutte contre l'infection des poules pondeuses par *Salmonella* et, d'autre part, sur l'adaptation du programme de surveillance pour les troupeaux vaccinés par des vaccins vivants.

Avis du Comité d'experts spécialisé « Santé animale »

Le Comité d'experts spécialisé « Santé animale », réuni le 9 janvier 2008, formule l'avis suivant :

« Contexte et questions posées

Cette demande s'inscrit dans le contexte de la révision de l'arrêté du 15 mars 2007 modifié relatif à la lutte contre les infections à Salmonella Enteritidis (SE), Salmonella Hadar, Salmonella Infantis, Salmonella Typhimurium (ST) ou Salmonella Virchow dans les troupeaux de reproduction de l'espèce Gallus gallus en filière chair et fixant les modalités de déclaration des salmonelloses aviaires, visées à l'article D. 223-1 du code rural, dans ces mêmes troupeaux, ainsi que l'arrêté miroir de la filière ponte.

Cette révision est motivée par l'obligation de mise en œuvre du règlement (CE) 1168/2006, qui nécessite, à dater du 1^{er} février 2008, une modification du dispositif de lutte en filière ponte à l'étage œuf de consommation, et qui fixe à la France un objectif de réduction de prévalence de 10 % chaque année vis-à-vis des résultats de l'enquête communautaire, pour les sérotypes Typhimurium et Enteritidis.

La présente demande fait suite à l'appui scientifique et technique (AST) de l'Afssa du 16 octobre 2007 (2007-SA-334), qui indiquait que la vaccination par des vaccins vivants pouvait être autorisée pour aider à la protection de troupeaux de poules pondeuses en cas de récurrence de l'infection, moyennant un encadrement strict. Cette demande fait suite à une interrogation des professionnels de l'accoupage qui s'inquiètent d'une possible dissémination des souches vaccinales de Salmonella Gallinarum atténuées, utilisées dans certains pays pour leurs propriétés de protection croisée vis-à-vis de Salmonella Enteritidis, lorsque celles-ci sont administrées via l'eau de boisson. Leur crainte est de voir apparaître une séroconversion contre la pullorose chez des troupeaux de reproducteurs, suite à la contamination de ces troupeaux par les souches vaccinales issues des troupeaux de production. La France étant indemne de pullorose, la séroconversion de troupeaux de reproducteurs serait dramatique pour les exportations de cette filière.

27-31, avenue
du Général Leclerc
94701

Maisons-Alfort cedex
Tel 01 49 77 13 50
Fax 01 49 77 26 13
www.afssa.fr

REPUBLIQUE
FRANÇAISE

En conséquence, les questions suivantes sont posées par la DGAI :

Concernant la vaccination par des souches atténuées de Salmonella Gallinarum :

1°) Une propagation des souches vaccinales utilisées contre les espèces de salmonelles zoonotiques en élevage de volailles est-elle possible ? En particulier, les souches de Salmonella Gallinarum et Salmonella Enteritidis atténuées peuvent-elles se propager d'un site d'élevage à l'autre et engendrer des séroconversions des troupeaux de reproducteurs voisins des sites vaccinés?

2°) Existe-t-il un risque même très faible de retour de virulence des souches vaccinales, en particulier des souches de Salmonella Gallinarum ou Salmonella Enteritidis atténuées? Un troupeau de poudeuses vacciné avec une souche de Salmonella Gallinarum pourrait-il développer ainsi une pullorose qui ne serait pas rapidement identifiée et ferait perdre à la France son statut indemne tout en constituant un danger pour les élevages de multiplication voisins ?

3°) Dans le contexte de production français, quel est le risque pour notre filière de reproduction d'autoriser ces vaccins vivants à l'étape production ? Une analyse coût bénéfique est-elle en faveur de cette autorisation?

4°) L'utilisation de certains vaccins vivants doit-elle être interdite dans les zones à forte densité avicole ou sur le territoire français?

Concernant le programme de surveillance des troupeaux vaccinés :

5°) Quelles sont les préconisations précises pour l'encadrement strict des troupeaux vaccinés avec ces vaccins vivants en matière de fréquence d'échantillonnage, de nombre d'échantillons, des techniques d'analyse à utiliser, ou d'autres dispositions qui vous paraîtraient souhaitables ?

Méthode d'expertise

L'expertise collective a été réalisée sur la base d'un rapport initial rédigé par trois rapporteurs qui a été présenté, discuté et validé par le Comité d'experts spécialisé « Santé animale », réuni le 9 janvier 2008.

Elle a été conduite sur la base :

- des documents accompagnant la saisine ;
- d'un document rédigé par le directeur du LNR Afssa-LERAPP ;
- d'articles scientifiques et d'un avis de l'AESA, listés dans la partie bibliographique de cet avis.

Argumentaire

1 Rappel de l'AST 2007-SA-334 du 16 octobre 2007

Le passage d'une prophylaxie sanitaire intégrale à une prophylaxie médicale intégrale serait susceptible d'entraîner un relâchement des efforts sanitaires consentis par la filière depuis 1991. Il faut rappeler que la prophylaxie médicale vaccinale n'empêche pas le portage asymptomatique des salmonelles mais qu'elle diminue le risque de transmission verticale à l'œuf lors d'une infection (environ d'un facteur 10). La vaccination diminue également l'excrétion de Salmonella dans les fientes des poules infectées, rendant l'identification des troupeaux infectés plus aléatoire. La vaccination constitue une mesure de prévention supplémentaire lorsque toutes les mesures de prophylaxie sanitaire sont effectives, dans des

bâtiments conformes aux prescriptions de la charte sanitaire et ayant malgré tout été infectés lors de la bande précédente. Il est raisonnable de penser dans ce cas que le recours supplémentaire à la vaccination peut constituer une garantie additionnelle pour le troupeau. Les risques de détection plus tardive de troupeaux infectés faiblement excréteurs parce que vaccinés sont à prendre en compte pour adapter la pression et la fréquence d'échantillonnage à la situation nouvelle ainsi créée. Le recours à un plan d'échantillonnage de sensibilité accrue (Mahé et al., 2007), par exemple deux chiffonnettes et trois prélèvements de fientes, et l'augmentation de la fréquence d'échantillonnage en fin de ponte, lorsque le risque physiologique augmente et que l'efficacité du vaccin diminue, pourraient être recommandés. Par ailleurs, les méthodes de détection des salmonelles dans les échantillons issus de troupeaux vaccinés à l'aide de vaccins vivants seront à adapter selon le type de vaccin utilisé : en effet, une excrétion résiduelle de(s) la souche(s) vaccinale(s) pendant quelques semaines après la vaccination est possible (Barbezange et al., 2001). Les vaccins devront être conformes au règlement 1177/2006 qui prévoit cette différenciation des souches vaccinales. De même, la possibilité de mutations génétiques (modification(s) du profil PFGE) de la souche vaccinale dans le tube digestif de l'animal vacciné a été démontrée dans des conditions expérimentales (Barbezange et al., 2000). Pour autant, la pathogénicité des souches mutantes n'a pas été démontrée à ce jour. L'ensemble de ces facteurs nécessite que la vaccination avec des vaccins vivants ne puisse être mise en œuvre que dans des conditions extrêmement contrôlées, notamment en ce qui concerne la déclaration et la traçabilité intégrale des troupeaux ainsi traités. Dans tous les cas, si une vaccination avec des vaccins vivants devait être autorisée, elle ne pourrait l'être qu'avec des vaccins conformes au règlement communautaire (règlement 1177/2006).

2 Concernant la vaccination par des souches atténuées de Salmonella Gallinarum

1°) Une propagation des souches vaccinales utilisées contre les espèces de salmonelles zoonotiques en élevage de volailles est-elle possible ? En particulier, les souches de Salmonella Gallinarum et Salmonella Enteritidis atténuées peuvent-elles se propager d'un site d'élevage à l'autre et engendrer des séroconversions des troupeaux de reproducteurs voisins des sites vaccinés ?

L'administration d'une souche vaccinale vivante atténuée de Salmonella Typhimurium ou Enteritidis entraîne l'excrétion de ladite souche pendant deux à six semaines post-inoculation (Barbezange et al., 2001 ; Cerqueti et Gherardi, 2000). Cette persistance a également été démontrée pour des souches atténuées de Salmonella Gallinarum, que l'atténuation soit due au passage de la souche sous forme Rough (Salmonella Gallinarum 9R) (Barrow, 1990 ; Lee et al., 2005 ; Lee et al, 2007 ; Virmani et al., 2003 ; Wigley et al., 2005) ou à l'insertion/délétion d'un ORF nuoG muni d'un déterminant de résistance à la kanamycine (Zhang-Barber et al., 1998). Cette persistance pendant une durée relativement longue est l'un des mécanismes de protection reconnus des vaccins vivants qui interviennent à la fois par l'induction d'une protection immunitaire cellulaire et humorale, mais aussi par l'effet d'exclusion compétitive qu'ils engendrent (van Immerseel et al., 2007), à l'image des flores de barrière. Le risque de propagation est donc réel, mais atténué par rapport aux souches sauvages de Salmonella, ces souches vaccinales étant toutes moins virulentes et donc excrétées en moindre quantité et moins diffusibles. Le risque de propagation à des élevages voisins, même s'il est faible, ne peut donc être exclu. Pour autant, cette hypothèse de diffusion à un élevage de reproducteurs (sélection ou multiplication) doit pouvoir être facilement maîtrisée, même en zone de forte densité avicole, par l'application de règles strictes de biosécurité, indispensables à la conduite dans de bonnes conditions de troupeaux à haute valeur génétique. En effet, l'utilisation d'un vaccin vivant, moins cher et plus facile à utiliser qu'un vaccin inactivé, ne doit pas être entreprise aux dépens des mesures sanitaires indispensables à la protection des élevages. Si le passage accidentel d'une souche vaccinale sur un troupeau de reproducteurs intervenait, la séroconversion du troupeau serait inévitable.

2°) Existe-t-il un risque même très faible de retour de virulence des souches vaccinales, en particulier des souches de Salmonella Gallinarum ou Salmonella Enteritidis atténuées ? Un troupeau de poules vaccinées avec une souche de Salmonella Gallinarum pourrait-il développer ainsi une pullorose qui ne serait pas rapidement identifiée et ferait perdre à la France son statut indemne tout en constituant un danger pour les élevages de multiplication voisins ?

Les souches vaccinales atténuées de Salmonella Gallinarum et en particulier Enteritidis possèdent une virulence résiduelle (Cerqueti et Gherardi, 2000 ; Wigley et al., 2005) et provoquent une forme très atténuée d'infection, avec colonisation temporaire des organes profonds. Le retour à la virulence par mutation réverse ou réacquisition d'un gène délété n'est pas statistiquement impossible mais il est peu probable et n'a pas été décrit dans les conditions du terrain pour les vaccins Salmonella Gallinarum ou Salmonella Enteritidis. Cependant, un tel risque serait plus important pour la filière en terme d'impact sanitaire à l'exportation lors de la réversion d'un vaccin Salmonella Gallinarum, laquelle ferait perdre à la France son statut de pays indemne de pullorose. L'impact en santé publique de la réversion d'un vaccin Salmonella Enteritidis serait quant à lui plus important. Cette réversion n'a pas été décrite avec les vaccins Salmonella Enteritidis actuellement utilisés en Europe.

3°) Dans le contexte de production français, quel est le risque pour la filière de reproduction d'autoriser ces vaccins vivants à l'étape production. Une analyse coût-bénéfice est-elle en faveur de cette autorisation ?

Le risque pour la filière de reproduction d'être contaminée par des souches vaccinales est estimé **négligeable** pour les vaccins Enteritidis dont la pathogénicité résiduelle est très faible et **faible** pour les vaccins Gallinarum dont la pathogénicité résiduelle est plus élevée. Le risque pour la filière de reproduction d'être contaminée par des souches vaccinales révertantes des deux sérovars SE et ST est estimé quant à lui **nul à négligeable**.

Ces différents niveaux de risque ont été évalués à la lumière des connaissances sur les mesures de biosécurité adoptées par l'étape reproduction qui le protègent en théorie de toute contamination à partir de l'étape de production.

L'utilisation des vaccins vivants Salmonella Enteritidis peut être bénéfique, sous réserve du strict respect des conditions décrites dans l'AST 2007-SA-334 du 16 octobre 2007. L'utilisation des vaccins vivants Salmonella Gallinarum dans les strictes conditions décrites dans l'AST 2007-SA-334 du 16 octobre 2007 est plus discutable, notamment au regard du statut indemne de la France vis-à-vis de la pullorose et du niveau d'assainissement obtenu pour le sérovar Enteritidis dans la filière Gallus gallus française. Il convient de rappeler que ces progrès sont largement imputables aux démarches de prophylaxie sanitaire. En outre, les observations rapportées par les professionnels de l'accoupage et reprises par la DGAI dans la présente demande d'avis font état de la contamination de troupeaux non vaccinés par des souches vaccinales de troupeaux voisins vaccinés avec une souche vivante de Salmonella Gallinarum en Espagne et en Grande-Bretagne. Si cette information était confirmée, il serait pertinent d'interdire l'utilisation de ces vaccins à S. Gallinarum sur le territoire français et de s'assurer en outre que les animaux vivants importés n'aient pas été vaccinés avec une souche de Salmonella Gallinarum vivante.

4°) L'utilisation de certains vaccins vivants doit-elle être interdite dans les zones à forte densité avicole ou sur le territoire français ?

Si l'information de la DGAI relative aux accidents en Espagne et en Grande-Bretagne était confirmée, il serait pertinent d'interdire l'utilisation de ces vaccins sur la totalité du territoire français et de s'assurer, en outre, que les animaux vivants importés n'aient pas été vaccinés avec une souche de Salmonella Gallinarum vivante.

3 Concernant le programme de surveillance des troupeaux vaccinés

5°) Quelles sont les préconisations précises pour l'encadrement strict des troupeaux vaccinés avec ces vaccins vivants en matière de fréquence d'échantillonnage, de nombre d'échantillons, des techniques d'analyse à utiliser, ou d'autres dispositions qui vous paraîtraient souhaitables ?

Dans l'AST 2007-SA-334, il est dit que, pour les troupeaux vaccinés, le « recours à un plan d'échantillonnage de sensibilité accrue (Mahé et al., 2007), par exemple deux chiffonnettes et trois prélèvements de fientes, et l'augmentation de la fréquence d'échantillonnage en fin de ponte, lorsque le risque physiologique augmente et que l'efficacité du vaccin diminue, pourraient être recommandés. Par ailleurs, les méthodes de détection des salmonelles dans les échantillons issus de troupeaux vaccinés à l'aide de vaccins vivants seront à adapter selon le type de vaccin utilisé : en effet, une excrétion résiduelle de(s) la souche(s) vaccinale(s) pendant quelques semaines après la vaccination est possible (Barbezange et al., 2001). Les vaccins devront être conformes au règlement 1177/2006 qui prévoit cette différenciation des souches vaccinales. »

L'encadrement strict des troupeaux vaccinés a pour objectif d'optimiser la détection des salmonelles éventuellement excrétées par ces volailles. Sachant que cette excrétion est a priori plus faible au sein de troupeaux vaccinés que lors d'infection naturelle, le CES SA recommande un nombre d'échantillons supérieur à celui proposé dans l'AST 2007-SA-334 (cinq échantillons), autorisant une sensibilité de la détection de 60% à 70% environ. En effet, Mahé et al., 2007 ont montré que le prélèvement de sept échantillons (cinq fientes + deux chiffonnettes environnementales) permet de détecter les salmonelles avec une sensibilité estimée à 80%. Il apparaît donc que sept prélèvements devraient constituer un échantillon minimal à recommander dans la surveillance de ces troupeaux vaccinés. La fréquence d'échantillonnage doit être augmentée en fin de ponte en recommandant un échantillonnage toutes les cinq semaines à partir de 55 semaines et jusqu'à la fin de la ponte et l'abattage du troupeau. La méthode d'analyse utilisée doit tenir compte de la présence éventuelle de la souche vaccinale : un milieu d'isolement adapté à la mise en évidence de la souche vaccinale doit être ajouté à la méthode de recherche de salmonelles utilisée par le laboratoire. Le milieu à utiliser doit être choisi conformément aux préconisations du fabricant du vaccin.

Conclusions et recommandations

Considérant l'importance des filières avicoles et notamment de la filière ponte d'œufs de consommation dans la genèse des toxi-infections alimentaires humaines à salmonelles (« cas attribuables ») ;

Considérant l'impact des mesures de prophylaxie collective obligatoire mises en œuvre en filière Gallus gallus depuis 1998 ;

Considérant la fréquence d'isolement des sérotypes visés par la réglementation en filière avicole d'une part et dans les foyers de toxi-infection alimentaire d'autre part ;

Considérant le contexte réglementaire européen et en particulier les règlements 1168-2006 et 1177/2006 ;

Considérant l'avis de l'AESA en date du 21 octobre 2004, relatif à la vaccination des volailles contre les salmonelles ;

Considérant l'AST 2007-SA-334 du 16 octobre 2007,

le Comité d'experts spécialisé « Santé animale », outre les réponses apportées ci-avant, point par point, aux questions de l'auteur de la saisine, et qui complètent celles mentionnées dans l'AST 2007-SA-334 du 16 octobre 2007, rappelle ses réserves sur l'opportunité d'autoriser l'utilisation de vaccins vivants Salmonella Gallinarum sur le territoire français.

Il insiste également sur la nécessité d'encadrer et contrôler strictement l'usage des vaccins vivants et de conserver la primauté à la prophylaxie sanitaire, qui a fait les preuves de son efficacité dans la lutte contre les infections à Salmonella dans les filières Gallus gallus.

Principales références bibliographiques

Barbezange C., Ermel G., Ragimbeau C., Humbert F., Salvat G. 2000. Some safety aspects of *Salmonella* vaccines for poultry : in vivo study of the genetic stability of three *Salmonella typhimurium* live vaccines. *FEMS Microbiol Lett.* Nov 1;192(1):101-6.

Barbezange C., Humbert F., Rose V., Lalande F. and Salvat G. 2001. Some safety aspects of *Salmonella* vaccines for poultry : distribution and persistence of three *Salmonella typhimurium* live vaccines. *Avian Diseases*, 44 : 968-976.

Barrow, P.A., 1990. Immunity to experimental fowl typhoid in chickens induced by a virulence plasmid-cured derivative of *Salmonella gallinarum*. *Infection and Immunity*. 58 (7). 2283-2288

Cerquetti, M.C.; Gherardi, M.M. 2000. Orally administered attenuated *Salmonella enteritidis* reduces chicken cecal carriage of virulent *Salmonella* challenge organisms. *Veterinary Microbiology*. 76 (2) : 185-192.

EFSA, 2004. Opinion of the Scientific Panel on the Biological Hazards on the requests from the Commission related to the use of vaccines for the control of *Salmonella* in Poultry. *The EFSA Journal*, 114 : 1-74.

Lee, Y.J.; Mo, I.P.; Kang, M.S. 2005. Safety and efficacy of *Salmonella gallinarum* 9R vaccine in young laying chickens. *Avian Pathology*. 34 (4) : 362-366.

Lee, Y.J.; Mo, I.P.; Kang, M.S. 2007. Safety and efficacy of *Salmonella gallinarum* 9R vaccine in commercial layer flocks. *Avian Pathology*. 36(6) : 495-498.

Mahé, S. Bougeard, A. Huneau-Salaün, S. Le Bouquin, I. Petetin, S. Rouxel, F. Lalande, P.A. Beloeil, N. Rose 2007. Bayesian estimation of flock-level sensitivity of detection of *Salmonella* spp., *Enteritidis* and *Typhimurium* according to the sampling procedure in french laying hens houses. *Soumis à Preventive Veterinary Medicine*.

van Immerseel, F.; Methner, U.; Rychlik, I.; Nagy, B.; Velge, P.; Martin, G.; Foster, N.; Ducatelle, R.; Barrow, P.A. 2005. Vaccination and early protection against non-host-specific *Salmonella* serotypes in poultry: Exploitation of innate immunity and microbial activity. *Epidemiology and Infection*. 133 (6): 959-978.

Virmani, S.; Jand, S.K.; Oberoi, M.S.; Rai, T.S. 2003. Efficacy of a local rough strain of *Salmonella Gallinarum* used as an immunoprophylaxis in chicks. *Indian Journal of Animal Sciences*. 73 (5) : 474-476.

Wigley, P.; Hulme, S.; Powers, C.; Beal, R.; Smith, A.; Barrow, P. 2005. Oral infection with the *Salmonella enterica* serovar *Gallinarum* 9R attenuated live vaccine as a model to characterise immunity to fowl typhoid in the chicken. *BMC Veterinary Research*. 1.

Zhang-Barber, L.; Turner, A.K.; Dougan, G.; Barrow, P.A. 1998. Protection of chickens against experimental fowl typhoid using a *nuoG* mutant of *Salmonella* serotype *Gallinarum*. *Vaccine*. 16 (9-10) : 899-903

Mots clés : *Salmonella*, vaccin, espèce poule, toxi-infections alimentaires »

Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments

Tels sont les éléments d'analyse que l'Afssa est en mesure de fournir en réponse à la saisine de la Direction générale de l'alimentation sur une demande d'avis sur la vaccination par des vaccins vivants contre *Salmonella* en élevages de *Gallus gallus*.

La Directrice générale de l'Agence française
de sécurité sanitaire des aliments

Pascale BRIAND