

***Yersinia enterocolitica* dans la filière porcine : résultats préliminaires sur amygdales dans 3 abattoirs français**

Brice MINVIELLE (1), Martine DENIS (2), Marc FONDREVEZ (2), Annie LABBE (2), Bernard HEZARD (3),
Marie-Hélène DESMONTS (3), Carole FEURER (4)

(1) IFIP – Institut du Porc, La Motte au Vicomte, BP 35104, F-35651 Le Rheu Cedex

(2) AFSSA, Unité HQPAP, BP 53, F-22440 Ploufragan

(3) AERIAL, rue Laurent Fries, BP 40443, F-67412 Illkirch Cedex

(4) IFIP – Institut du Porc, 7 avenue du Général de Gaulle, F-94704 Maisons-Alfort Cedex

carole.feurer@ifip.asso.fr

***Yersinia enterocolitica* prevalence in the pig and pork industry : first results on pig tonsils from three french slaughterhouses**

Pig is the main animal reservoir of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* strains. The bacteria can be isolated from its tongue, tonsils or feces. In France, the main pathogenic biotypes are known (4/O :3, 2/O :9 and 3/O :5,27) but few data are available regarding their prevalence in the pork chain. In 2009, a prevalence study was initiated in three slaughterhouses (Brittany and Alsace). The same microbiological method using an ITC enrichment and isolation on CIN agar plates was used in all three laboratories involved. Results showed a *Yersinia enterocolitica* prevalence ranging from 8 % to 31,8% according to the slaughterhouse. Most strains biotypes were identified by PCR and mainly belonged to types 4/O :3, 2/O :9 or 3/O :5,27.

INTRODUCTION

Yersinia enterocolitica fait partie des agents étiologiques les plus fréquents de diarrhées aiguës dans les pays tempérés et froids, dont la France. Récemment, le taux d'incidence des cas de yersiniose humaines attribuables à la consommation de porc a été estimée à 2,8 cas pour 100 000 habitants par an en Europe derrière *Salmonella* (3,4 cas/100 000 habitants) mais devant *Campylobacter* (2,2 cas / 100 000 habitants) (Fosse *et al.*, 2008). *Yersinia enterocolitica* est transmise par voie féco-orale, à partir d'un réservoir principalement animal mais le porc est le principal hôte de la bactérie (Ostroff *et al.*, 1995). Il ne développe pas de signes cliniques mais héberge *Yersinia* sur la langue, les amygdales, dans les nœuds lymphatiques et l'excrète dans ses fèces (Nesbakken *et al.*, 2003). En France, la situation épidémiologique de *Y. enterocolitica* chez le porc est mal connue, au contraire d'autres pays européens. L'objectif de cette étude était d'obtenir des premières données de prévalence de *Y. enterocolitica* sur amygdales dans trois abattoirs français, deux en Bretagne et un en Alsace.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés par écouvillonnage d'amygdales, avant réfrigération des carcasses, sur une période de 5 mois, de janvier à mai 2009. Nous avons analysé 140 écouvillons (7 lots de 20 porcs) dans l'abattoir breton n°1,

139 écouvillons dans l'abattoir breton n°2 et 132 écouvillons (6 lots de 20 porcs et 1 lot de 12 porcs) dans l'abattoir alsacien.

1.2. Recherche et confirmation

Chaque écouvillon est dilué au 1/100 dans un bouillon d'enrichissement ITC (Irgasan, Tircacilline, Chlorate de potassium). Après une incubation de 48h à 25°C, un isolement est réalisé sur gélose CIN (Cefsulodine, Irgasan-Novobiocine). La gélose est incubée 24h à 30°C. Toutes les colonies caractéristiques sont repiquées sur gélose nutritive (TSA ou PCA) et sont confirmées par réalisation d'une galerie Api 20E ou 32 E (Biomérieux).

1.3. Identification du biotype par PCR

Le biotype des souches de *Y. enterocolitica* isolées a été identifié par multiplex-PCR selon la méthode de Thisted-Lambertz et Danielsson-Tham (2005) modifiée. Elle permet de définir l'appartenance des souches aux biotypes pathogènes majoritairement identifiés en France : 4/ O:3 et 2/O:9 ou 3/O : 5,27, sans que la méthode puisse distinguer ces deux derniers, ou au biotype non pathogène 1A. Les biotypes ont été identifiés pour les souches isolées des amygdales issues de l'abattoir alsacien et breton n°2.

1.4. Identification des biotypes par biochimie

Des tests biochimiques (dégradation positive du glucose et négative pour le lactose sur le milieu Kligler en tube, dégradation de l'urée, absence de désamination du

tryptophane) ont été réalisés pour confirmer l'appartenance des isolats de l'abattoir breton n°1 au genre *Yersinia*. Ces mêmes tests ont été effectués pour les isolats de l'abattoir alsacien avec un suivi de la dégradation du lactose sur milieu VRBL. Le biotypage des souches de *Yersinia enterocolitica* pathogènes a été réalisé au moyen de 4 tests spécifiques (Esculine, indole, xylose et tréhalose) tel que décrits dans la norme ISO 10273. Ces tests ont été réalisés sur les souches de l'abattoir breton n°1 et celles de l'abattoir alsacien avec le test Tween estérase en complément.

2. RESULTATS

Sur 140 prélèvements (7 lots de 20 porcs) réalisés dans l'abattoir breton n°1, 33 amygdales étaient positives pour la présence de *Y. enterocolitica* soit une prévalence de 23,6% [17,3-31,3%] (Tableau 1). 7 lots sur 7 étaient positifs, soit une prévalence inter-lot de 100%. Sur 139 prélèvements analysés dans l'abattoir breton n°2, 11 étaient positifs soit une prévalence de 8% [4,5-13,6%]. Dans l'abattoir alsacien, 42 prélèvements étaient positifs sur 132 analysés, soit une prévalence de 31,8% [24,5-42,2%]. La prévalence inter-lot s'élève à 85,7% [47,3-96,8%]. En compilant les résultats obtenus dans chaque abattoir, la prévalence totale sur amygdales peut être estimée à 20,9% [17,3-25,1%].

Tableau 1 : Résultats de prévalence

	Echantillons analysés	Echantillons positifs	Prévalence (%)
Abattoir breton n°1	140	33	23,6
Abattoir breton n°2	139	11	8
Abattoir Alsacien	132	42	31,8

Les résultats de la multiplex-PCR montrent que 96,3% et 3,7% des souches isolées de l'abattoir alsacien présentent les

biotypes 4/O:3 pathogène et 1A non pathogène respectivement. Dans l'abattoir breton n°2, 18,2% des souches isolées étaient de biotype 4/O:3 ; 63,6% de biotype pathogène 2/O:9 ou 3/O:5,27 et 18,2% de biotype 1A. Dans l'abattoir breton n°1, 67% des souches isolées sont de biotype 4 et 33% de biotype 3.

CONCLUSION

Ces résultats nous permettent d'avoir un premier aperçu du niveau de prévalence de *Y. enterocolitica* sur amygdales de porcs en France. Une importante variabilité entre les données obtenues par les trois abattoirs peut être observée. La prévalence totale estimée est inférieure aux niveaux de prévalence présentés par d'autres pays européens: 32% en Suisse (Fredriksson-Ahomaa *et al.*, 2007) et 56% en Finlande (Korte *et al.*, 2004). Cependant, les techniques d'isolement utilisées ne sont pas les mêmes. De plus, *Yersinia* a une croissance plus lente que celle d'autres entérobactéries sur les milieux usuels, ce qui rend son isolement difficile à partir d'échantillons poly-microbiens comme les amygdales. Ces résultats nécessitent d'être complétés par d'autres campagnes de prélèvements à réaliser sur la même saison. Par ailleurs, ils doivent également être complétés par des prélèvements sur fèces afin d'estimer le risque de contamination sur carcasses et donc pour la santé humaine.

L'espèce *Y. enterocolitica* comprenant à la fois des souches pathogènes et non pathogènes, il est essentiel de pouvoir caractériser tous les isolats. La technique multiplex-PCR utilisée dans notre étude est satisfaisante car elle permet l'identification de la pathogénicité des souches isolées de manière fiable. Notons que 96,3%, 100% et 81,8% des souches isolées des abattoirs alsacien, breton n°1 et breton n°2 respectivement sont pathogènes.

Compte tenu des résultats préliminaires de prévalence obtenus, cette étude montre tout l'intérêt d'établir la situation épidémiologique de *Y. enterocolitica* chez le porc en France.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Fosse J., Seegers H., Magras C., 2008. Foodborne zoonoses due to meat: a quantitative approach for a comprehensive risk assessment applied to pig slaughtering in Europe. *Vet. Res.*, 39 (1), 1.
- Fredriksson-Ahomaa M., Stolle A., Stephan R., 2007. Prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pigs slaughtered at a Swiss abattoir. *Int. J. Food Microbiol.*, 119, 207-212.
- Korte T., Fredriksson-Ahomaa M., Niskanen T., 2004. Low prevalence of YadA-positive *Yersinia enterocolitica* in sows. *Foodborne Pathog. Dis.* 1, 45-52.
- Nesbakken T., Eckner K., Hoidal H.K., 2003. Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. In slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering and dressing procedures. *Intern. J. Food. Microbio.*, 80, 231-240.
- Ostroff S.M., 1995. *Yersinia* as an emerging infection: epidemiologic aspects of yersiniosis. *Contri. Immunol.*, 13, 5-10.
- Thisted-Lambertz S.T., Danielsson-Tham L.M., 2005. Identification and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica* isolates by PCR and pulsed-field gel electrophoresis. *Appl. And Environ. Microbiol.*, 71, 3674-81.