

Détection de *Yersinia enterocolitica* sur carcasses de porc : premiers résultats

Catherine MAGRAS (1), Thierry VALLEE (2), Alexandre LECLERCQ (3), Julien FOSSE (1)

(1) UMR INRA Sécurité des Aliments et Microbiologie 1014, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, BP 40706, 44307 Nantes cedex 03

(2) IDAC (Institut Départemental d'Analyses et de Conseils), Division Agro-alimentaire, Route de Gachet, 44306 Nantes

(3) Institut Pasteur, CNR de la Peste et autres Yersinioses, Unité des *Yersinia*, 28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15

j.fosse@vet-nantes.fr

Avec la collaboration technique de Nicolas OUDOT (1), Albert ROSSERO (1), Michel LAROCHE (1), Nabila HADDAD (1), Geoffrey TRASSART (1)

Detection of *Yersinia enterocolitica* on pork carcasses: first results.

Yersinia enterocolitica is a high risk hazard for pork consumers. However, few data are available concerning the prevalence of this hazard in France. The purpose of this study was to assess the prevalence of *Yersinia enterocolitica* on pork tonsils collected at slaughterhouse. Among 91 pools of 5 tonsils, 10 (11 %) were positive. Such prevalence is lower than rates observed in other European countries. However, the identification of *Y. enterocolitica* is difficult and under-estimation can be encountered. Therefore, further investigations are needed in order to propose new protocols for the identification and the determination of pathogenicity of this bacteria.

INTRODUCTION

Parmi les dangers bactériens susceptibles d'être transmis au consommateur de viandes et produits carnés porcins, *Yersinia enterocolitica* se caractérise par une note de risque élevée, due à la forte incidence et à la gravité des cas cliniques induits chez le consommateur, notamment les enfants et les jeunes adultes (Fosse et al., 2008). Les tonsilles amygdaliennes constituent des organes cibles pour la mise en évidence de cet agent pathogène chez le porc (Tauxe et al., 1987 ; Verhaegen et al., 1998). Alors que des études visant à évaluer la prévalence de ce microorganisme dans les produits carnés porcins ont été menées en Europe (Tableau 1), aucune donnée publiée concernant les viandes porcines françaises n'est disponible. De plus, face à la difficulté de détection et d'identification en routine de ce microorganisme, les risques de faux-négatifs en détection et les risques d'identification erronée de l'espèce *Y. enterocolitica* doivent être pris en considération pour une évaluation de la prévalence de ce danger.

L'objectif de cette étude était d'apporter une première estimation de la prévalence de *Yersinia enterocolitica* sur carcasses de porc avant l'entrée en ressuyage. Sur les isolats obtenus, la spécificité de deux outils diagnostiques commerciaux pour l'identification de l'espèce *Y. enterocolitica* a été évaluée par rapport à la méthode d'identification de référence assurée par le CNR *Yersinia*.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Les prélèvements ont été effectués dans 2 abattoirs sur 15 lots de carcasses provenant de 6 élevages. Pour chaque lot, les deux tonsilles amygdaliennes de 40 carcasses ont été prélevées et rassemblées en 8 pools de 5 afin d'atteindre 10 g d'amygdales par pool de prélèvement. La recherche de *Yersinia* a été réalisée conformément à la norme NF ISO 10273 (2003) et comportait deux voies distinctes, avec une phase d'enrichissement dans deux bouillons (PSB et ITC) suivie d'une phase d'isolement sur deux géloses (CIN et SSDC, respectivement).

Un à deux isolats suspects par prélèvement ont fait l'objet d'une identification biochimique à l'aide de la galerie biochimique ID 32E® (Biomérieux) et ont été envoyés pour confirmation au CNR *Yersinia*.

Une identification par typage génomique d'ARN 16S à l'aide de Microseq® (Applied Biosystems) a été réalisée parallèlement sur les souches confirmées par le CNR. Tout prélèvement pour lequel un isolat au moins présentait un profil biochimique confirmé par le CNR comme étant celui de l'espèce *Y. enterocolitica* a été déclaré positif.

2. RÉSULTATS

Parmi les 91 pools de tonsilles analysés, 10 étaient positifs, soit une prévalence apparente moyenne de 11 %. Sur les 10 prélèvements positifs, la galerie ID 32E® n'a permis de confirmer l'espèce

Tableau 1 - Taux de prévalence de *Yersinia enterocolitica* dans les tonsilles amygdaliennes de porc en Europe.

	Prévalence de l'espèce <i>Y. enterocolitica</i> [effectif]	Prévalence de biotypes / sérotypes pathogènes	Méthode d'identification d'espèce	Référence
Allemagne (2000)	36,8 % [185 carcasses]	32,9 % (sérotipe O:3) 25,9 % (yadA*)	Identification biochimique (galerie 20E®, Biomérieux) ou PCR (Kapperud et al., 1993)	Fredriksson-Ahomaa et al., 2000
Finlande (1990)	36,4 % [481 carcasses]	36,4 % (sérotipe O:3)	Identification biochimique (Wauters et al., 1987)	Asplund et al., 1990
Lituanie (2007)	30,6 % [108 carcasses]	Non précisé	Identification biochimique (galerie 20E®, Biomérieux)	Terentjeva et al., 2007
Italie (2003)	14,7 % [150 carcasses]	10,7 % (biotype 4, sérotipe O:3)	Identification biochimique (galerie ID 32E®, Biomérieux)	Bonardi et al., 2003
Notre étude	11,0 % [91 pools de 5 carcasses]	11,0 % (biotype 4, sérotipe O:3)	Identification biochimique par le CNR <i>Yersinia</i> et comparaison des profils biochimiques avec ceux obtenus à l'aide de la galerie ID 32E® (Biomérieux)	

* le gène *Yad A* code pour un facteur de virulence présent chez les souches pathogènes (Skurink et Wolf-Watz, 1989).

Y. enterocolitica que de 2 isolats. En revanche, les 5 isolats confirmés testés à l'aide de Microseq® ont été correctement identifiés. Les 10 souches confirmées par le CNR ont été sérogroupées et biotypées et appartenaient au biotype 4, sérotipe O:3, lysotype VIII, potentiellement pathogène pour l'homme.

3. DISCUSSION

Cette première étude montre une prévalence sur carcasses plus faible que celles observées dans d'autres états européens (de 14,7 à 36,8 % ; tableau 1).

Néanmoins, l'isolement des bactéries n'a pas répondu aux mêmes critères culturels et l'identification biochimique n'a pas systématiquement fait appel au même kit commercial. En outre, les taux de prévalence rapportés dans la littérature ne précisent pas systématiquement la nature des biotypes / sérotypes isolés.

CONCLUSION

Yersinia enterocolitica est présent chez le porc en France. Néanmoins, l'identification de cet agent de zoonose alimentaire est particulièrement délicate. Une sous-estimation du risque inhérent à la présence de ce danger, du fait des difficultés culturelles et d'identification existantes, peut-être envisagée. La poursuite de cette étude est indispensable, notamment pour la définition de protocoles d'identification et de caractérisation du pouvoir pathogène alternatifs, le typage d'ARN 16S pouvant constituer une identification spécifique d'intérêt.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche pour le financement de cette étude, ainsi que les abattoirs nous ayant ouvert leurs portes.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Asplund K., Tuvinen V., Veijatelainen P., Hirn J., 1990. The prevalence of *Yersinia enterocolitica* O:3 in finnish pigs and pork. Acta Vet. Scand., 31, 39-43.
- Bonardi S., Brindani F., Pizzin G., Lucidi L., D'Incau M., Liebana E., Morabito S., 2003. Detection of *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica* and verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in pigs at slaughter in Italy. Int. J. Food Microbiol., 85, 101 – 110.
- Fosse J., Seegers H., Magras C., 2008. Foodborne zoonoses due to meat: a quantitative approach for a relative risk assessment applied to pig slaughtering in Europe. Vet. Res., 39, 01.
- Fredriksson-Ahomaa M.F., Bjorkroth J., Hielm S., Korkeala H., 2000. Prevalence and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pig tonsils from different slaughterhouses. Food Microbiol., 17(1), 93-101.
- Kapperud G., Vardund T., Skjerve E., Hornes E., Michaelsen T.E., 1993. Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in foods and water by immunomagnetic separation, nested polymerase chain reactions, and colorimetric detection of amplified DNA. Appl. Environ. Microbiol., 59, 2938-2944.
- Skurink M., Wolf-Watz H., 1989. Analysis of the *yopA* gene encoding the Yop1 virulence determinants of *Yersinia spp.* Mol. Microbiol., 4, 517-529.
- Tauxe R.V., Vandepitte J., Wauters G., Martin S.M., Goossens V., De Mol P., Van Noyen R., Thiers G., 1987. *Yersinia enterocolitica* infections and pork: the missing link. Lancet, 8542, 1129-1132.
- Terentjeva M., Berzins A., Liepins E., 2007. A pilot study of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in Latvian pigs at slaughtering. In : 7th International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork, Verona, Italy, 163-165.
- Verhaegen J., Charlier J., Lemmens P., Delmée M., Van Noyen R., Verbist L., Wauters G., 1998. Surveillance of human *Yersinia enterocolitica* infections in Belgium: 1967-1996. Clin. Inf. Dis., 27, 59-64.
- Wauters G., Kandolo K., Janssens M., 1987. Revised biogrouping scheme of *Yersinia enterocolitica*. Contr. Microbiol. Immunol., 9, 14-21.