

# Recherche de *Yersinia enterocolitica* sur amygdales de porcs

Annie LABBE, Catherine HOUDAYER, Philippe FRAVALO, Martine DENIS

AFSSA, Unité HQPAP, 22440 Ploufragan

a.labbe@ploufragan.afssa.fr

## Detection of *Yersinia enterocolitica* on pig tonsils

This study was conducted to obtain preliminary data about the presence of *Yersinia enterocolitica* (YE) in the French pig production. 20 tonsil swabs per pig batch were realised in one slaughterhouse on 65 pig batches from June to July 2008 in Brittany. 18 pig batches out of 65 (27,3%) and 31 tonsil swabs out of 1300 (2,38%) gave characteristic colonies on CIN plates. 13 colonies were confirmed YE by gallery API32E and Thisted-Lambertz et Danielsson-Tham's PCR. Among those, 2 were identified 4/0:3, one 2/0:9 or 3/0:5 and 10 only confirmed YE. 21 isolates confirmed YE by API didn't present any amplification with PCR, letting suppose that these colonies were of biotype 1A. Gallery API32E and PCR did not confirm YE for 19 characteristic colonies on CIN. Improvements of the bacteriological detection and identification of YE and of biotypes by PCR remain to be undertaken.

## INTRODUCTION

*Yersinia enterocolitica* (YE) est une bactérie présente chez un grand nombre d'animaux et dans les eaux de surface, mais le porc est reconnu comme étant le principal réservoir des souches pathogènes pour l'homme (Lee *et al.*, 1990 ; Ostroff *et al.*, 1994). Les porcs ne développent pas de signe clinique mais ils hébergent YE dans la cavité orale, en particulier sur la langue et les amygdales, dans les nœuds lymphatiques et ils excrètent les germes dans leurs fèces (Nesbakken *et al.*, 2003). Certaines préparations incluant de la viande de porc ont été incriminées lors d'infections à YE. Récemment, le taux d'incidence des cas de yersiniose humaine attribuables à la consommation de porc a été estimé à 2,83 cas pour 100 000 habitants par an en Europe (Fosse *et al.*, 2008). Ce germe est donc placé en second après *Salmonella* pour les toxi-infections alimentaires liées à la consommation de porc (Fosse *et al.*, 2008). Cette étude a pour objectif de réaliser une étude préliminaire sur la présence de YE chez le porc.

## 1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 1.1. Prélèvements

Des écouvillons d'amygdales ont été réalisés sur 65 lots de porcs charcutiers, à raison de 20 écouvillons par lot, dans un abattoir breton, pendant 3 mois (mai, juin, juillet). Les têtes de porc ont été prélevées de la carcasse juste avant le ressuyage ; les écouvillonnages consistaient à frotter la surface des amygdales avec un écouvillon.

### 1.2. Détection et identification

Chaque écouvillon est placé individuellement dans un tube de 9 ml de bouillon ITC en vue d'effectuer un enrichissement en milieu sélectif. Après une incubation à 30°C pendant 48 h, un isolement est réalisé sur gélose CIN (Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin) additionnée d'Amphotéricine. Les géloses sont incubées à 30°C pendant 24 h. Toutes les colonies caractéristi-

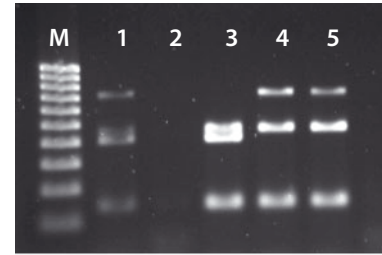
ques sont repiquées sur gélose PCA. La confirmation et l'identification de *Yersinia enterocolitica* est faite par galerie API32E et par multiplex-PCR selon Thisted-Lambertz et Danielsson-Tham (2005) à partir de colonies fraîches lysées dans 100 µl d'eau à 95°C pendant 10 minutes. Quatre souches (1A, 4/0:3, 2/0:9 et 3/0:5) fournies par l'Institut Pasteur ont été utilisées comme témoins positifs (Figure 1) ainsi qu'une souche (4/0:3) isolée à partir d'amygdales de porc.

## 2. RESULTATS

En se basant sur les colonies caractéristiques vues sur CIN, 18 lots ont au moins un écouvillon positif en YE sur les 65 lots, soit 27,3 %. Sur les 1300 écouvillons analysés, des colonies caractéristiques ont été isolées à partir de 31 écouvillons, soit 2,38 %. Dans ces lots positifs, pour 20 écouvillons par lot, 2, 7 et 1 lots ont respectivement 1, 2 et 3 écouvillons pour lesquels des colonies caractéristiques ont été observées sur CIN (Tableau 1). Les 53 colonies caractéristiques ont été testées sur galerie API32E (confirmation YE), et par PCR (confirmation YE et identification). Les témoins positifs ont permis d'observer que la PCR (Figure 1) ne donne pas de bandes amplifiées pour la 1A (puits 2), et ne permet pas de distinguer les 2/0:9 (puits 4) des 3/0:5 (puits 5). Les 4/0:3 (puits 1 et 3) sont identifiables avec présence ou non du plasmide virF (700bp). 13 colonies sont confirmées YE par API et PCR. Parmi celles-ci, 2 sont identifiées 4/0:3, 1 est identifiée 2/0:9 ou 3/0:5 et 10 seulement sont confirmées YE. 21 isolats confirmés YE par API ne présentent aucune amplification en PCR, laissant supposer que ces colonies sont de biotype 1A. La galerie API32E et la PCR n'ont pas confirmé YE pour 19 colonies caractéristiques sur CIN.

**Tableau 1 - résultats API32E et multiplex PCR**

	API +	API -	Total
PCR +	13 4/0:3 (2) 2/0:9 ou 3/0:5 (1) Y. enterocolitica (10)	0	13
PCR -	21 1/A?? (21)	19 absence confirmation YE	40
Total	34	19	53



**Figure 1 - PCRT-L et D-T (2005)**  
1 et 3 biosérotype 4/0:3 ; 2 : biosérotype 1A,  
4 : biosérotype 2/0:9 ; 5 biosérotype 3/0:5

## CONCLUSION

Cette étude qui a porté sur 1300 écouvillons d'amygdales montre un pourcentage de prélèvements positifs en YE plus faible (27,3 % des lots et 2,38 % des écouvillons) que celle donnée pour amygdales individuelles par d'autres états Européens (34 % en Allemagne, Fredriksson – Ahomaa et al. 2007 ; 56 % en Finlande, Korte et al., 2004). En se basant sur les biotypes pathogènes (4/0:3, 2/0:9, 3/0:5), le pourcentage de prélèvements positifs dans notre étude est de 4,61 % pour les lots et de 0,23 % pour les écouvillons. Ce faible pourcentage est peut-être lié à un problème de méthodologie, déjà évoqué par Magras et al. (2008). Sur la gélose CIN, la présence constante de *Citrobacter* rend difficile la visualisation des colonies caractéristiques de YE. La galerie API32E a aidé à confirmer *Yersinia enterocolitica* pour 64,2 % des colonies récupérées alors que la PCR de Thisted-Lambertz et Danielsson-Tham (2005) n'en a confirmé que 24,5 %. Cette PCR n'est pas la plus adaptée à l'objectif de notre étude. Cette faible fréquence est peut-être liée à un effet saison. En effet *Yersinia enterocolitica* est plus facilement retrouvée en hiver (Gordeiko et al., 1990). La présente étude sera donc complétée par l'analyse de prélèvements réalisés en hiver. Par ailleurs, un travail sera à réaliser pour améliorer la méthode de détection et d'identification de tous les biotypes d'YE par PCR.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Dr E. Carniel du CNR *Yersinia* de l'Institut Pasteur pour la fourniture de souches humaines et les responsables de l'abattoir qui ont accepté de participer à cette étude.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Fredriksson-Ahomaa M., Stolle A., Stephan R., 2007. Pathogenic *Yersinia enterocolitica* widely distributed in finished pigs at slaughter in Switzerland. Int. J. Antimicrob. Agents, 29, S56.
- 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.
- Fosse J., Seegers H., Magras C., 2008. Foodborne zoonoses due to meat: a quantitative approach for a comparative risk assessment applied to pig slaughtering in Europe. Vet. Res., 39:01, DOI: 10.1051/vetres: 2007039.
- Ostroff S.M., 1995. *Yersinia* as an emerging infection: epidemiologic aspects of yersiniosis. Contrib. Immunol., 13, 5-10
- Lee L.A., Gerber A.R., Lonsway D.R., 1990. *Yersinia enterocolitica* O:3 infections in infants and children, associated with the household preparation of chitterlings. N. Engl. J. Med., 322, 984-987.
- Magras C., Vallée T., Leclercq A., Fosse J., 2008. Détection de *Yersinia enterocolitica* sur carcasses de porc : premiers résultats. Journées Rech. Porcine, 40, 79-80.
- Korte T., Fredriksson-Ahomaa M., Niskanen T., 2004. Low prevalence of YadA-positive *Yersinia enterocolitica* in sows. Foodborne Pathog. Dis., 1, 45-52.
- Gordeiko V.A., Pushkareva V.I., 1990. *Yersinia* in water of wells near an irrigation with the effluents from a swine-breeding farm complex. Microbiol Epidemiol Immunobiol., 10, 65-66.
- 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 Microbiol., 80, 231-240.