

Diversité des *Yersinia enterocolitica* dans les abattoirs de porcs français

Pierre RAYMOND (1), Annie LABBE (1), Marc FONDREVEZ (1), Catherine HOUDAYER (1), Martine DENIS (1), Emilie ESNAULT (1)

Anses, Unité Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Porcins, Université Bretagne Loire, BP 53, 22440 Ploufragan, France

pierre.raymond@anses.fr

Diversity of *Yersinia enterocolitica* in French slaughterhouses

Yersiniosis is a human disease mainly due to the ingestion of raw or undercooked pork contaminated with *Yersinia* and mostly with the species *Yersinia enterocolitica*. As 74.3% of pig batches at slaughterhouses in France carry *Y. enterocolitica*, it is important to study the diversity of these strains in order to better understand the risk they represent for humans. A survey carried out in 2009 on one slaughterhouse (A1) and in 2010-2011 on 16 slaughterhouses (A1-A16) established a collection of strains of *Y. enterocolitica* representative of the pig strains found in France.

Among these strains, 316 strains isolated in 2009 from slaughterhouse A1 and 64 strains isolated in 2010 from slaughterhouses A1 and A2 were biotyped and genetically characterized for their virulence genes and *Xba*1-PFGE profile. The chromosomal virulence gene coding for an adhesin (*ail*), an enterotoxin (*ystA*) and fimbriae (*myfA*) and the presence of the virulence plasmid (pYV) were detected by PCR. PFGE profiles of the strains were determined with the restriction enzyme *Xba*1.

Biotype 4, responsible for the majority of human clinical cases, represented 89.5% of the strains and biotype 3 only 8.5%. Twelve PFGE profiles were identified with one common to both survey years and to the two slaughterhouses. However, seven new PFGE profiles appeared in 2010 and four observed in 2009 were absent in 2010. Among the 380 strains, 88.1% had all the virulence genes tested. This virulence profile was detected for the two biotypes. Some strains (11.8%) did not have the plasmid.

Our study revealed that the population of *Y. enterocolitica* in pig can change over time and that the strains have the capacity to infect humans.

INTRODUCTION

En 2014, le nombre de yersiniozes humaines signalées en Europe était de 8 792 cas pour 100 000 habitants, plaçant l'agent zoonotique *Yersinia* à la 3ème place des cas d'entérites humaines, derrière *Campylobacter* et *Salmonella* (EFSA, 2015). *Yersinia enterocolitica* est l'espèce la plus retrouvée dans les cas humains et est isolée dans 93,8% des cas confirmés. Récemment Van Cauteren (2016) a estimé à plus de 26 000 cas le nombre de yersiniozes par an en France. L'espèce est divisée en 6 biotypes : le biotype 1A généralement considéré comme non pathogène, et les biotypes pathogènes, 1B, 2, 3, 4, et 5 (Wauters *et al.*, 1987).

En France et dans d'autres pays, le biotype 4 (BT4) est le plus prévalent chez les humains (69%), suivi du biotype 2 (30%) et du biotype 3 (BT3) (Savin et Carniel, 2008). Les porcs sont reconnus comme réservoir à *Yersinia enterocolitica* ; ils sont porteurs sains et hébergent *Yersinia enterocolitica* dans la cavité bucale, plus particulièrement sur la langue et les amygdales, et ils excrètent les germes dans leurs selles (Nesbakken *et al.*, 2003). Une enquête réalisée dans 16 abattoirs français sur un an entre 2010 et 2011 a révélé que 74,3% des lots de porcs portaient la bactérie au niveau des amygdales.

Pour mieux apprécier le risque que ces souches représentent vis à vis de l'homme, il est très important de caractériser ces souches porcines sur la base de leur biotype, de leurs gènes de virulence et de leur profil PFGE (Pulsed-field gel

electrophoresis). Notre étude se propose de décrire la population de *Y. enterocolitica* isolée sur deux années successives dans un abattoir et de la comparer à celle isolée d'un autre abattoir.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Collections de souches porcines

Toutes les souches (380) ont été isolées après écouvillonnage d'amygdales de porc réalisé à l'abattoir ; 316 souches dans l'abattoir A1 en 2009 (Fondrevez *et al.*, 2010), 33 souches dans le même abattoir A1 sur la période 2010-2011 (Fondrevez *et al.*, 2014) et 31 souches dans l'abattoir A2 sur la période 2010-2011 (Fondrevez *et al.*, 2014).

1.2. Caractérisation des souches

La détermination du biotype a été réalisée selon les tests décrits dans la norme ISO 10273. Les souches ont été ensuite génotypées par PFGE en utilisant l'enzyme *Xba*1 selon le protocole de Fondrevez *et al.*, (2011). La présence des gènes de virulence chromosomiques *ail*, *myfA*, *ystA* a été recherchée en utilisant les amorces et conditions décrites par Fondrevez *et al.* (2011). La présence du gène plasmidique *virF* a également été étudiée. Les souches ont été considérées comme exemptes du plasmide de virulence (pYV) lorsque les deux gènes plasmidiques *virF* et *yadA* n'ont pu être amplifiés.

2. RESULTATS

La majorité des souches sont de biotype 4 (89,5%). Le biotype 3 (8,5%) est plus faiblement représenté et n'a pu être détecté qu'en 2009. L'absence de détection de souches de biotype 3 en 2010 peut s'expliquer par le faible nombre de souches isolées lors de cette enquête (33 souches et 31 souches) en comparaison à l'étude de 2009 (316 souches).

Un total de 12 profils PFGE a été identifié pour les 380 souches (figure 1). Le BT4 et le BT3 ont certains profils PFGE communs (G9, G11 et G12). Seul le profil G2 est retrouvé sur les 2 années et les 2 abattoirs (17,1% des souches). Les profils (G9, G11, G12 et G10) sont quant à eux retrouvés uniquement en 2009, avec le profil G11 très représenté (49% des souches 2009). En 2010, plusieurs profils (G2, G4 et G8) sont communs aux abattoirs A1 et A2. La diversité au sein des abattoirs est très proche (de 0,69 à 0,76).

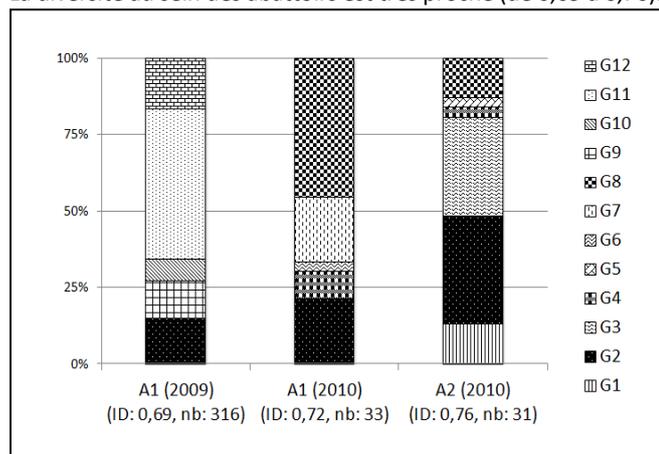


Figure 1 - Distribution de profils PFGE selon les années et abattoirs. L'année de l'enquête est indiquée entre parenthèse, l'indice de Simpson (ID) et le nombre de souche étudiées (nb) sont indiqués pour les abattoirs A1 et A2. Les 12 profils sont notés G1 à G12.

Tableau 1 - Distribution des souches selon leur profil de virulence

Biotype	Profil de virulence	Abattoir A1 - 2009	Abattoir A1 - 2010	Abattoir A2 -2010	Total
BT4	<i>ail+</i> <i>ystA+</i> <i>myfA+</i> pYV+	240	31	24	295
	<i>ail+</i> <i>ystA+</i> <i>myfA+</i> pYV-	35	2	7	44
	<i>ail+</i> <i>ystA-</i> <i>myfA+</i> pYV-	1	0	0	1
BT3	<i>ail+</i> <i>ystA+</i> <i>myfA+</i> pYV+	40	0	0	40
Total		316	33	31	380

pYV- : absence des 2 gènes *virF* et *yadA*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- EFSA, 2015, The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2014, EFSA Journal 2015;13(12):4329.
- Fondrevez M., Labbe A., Houard E., Fravallo P., Madec F., Denis M., 2010. A simplified method for detecting pathogenic *Yersinia enterocolitica* in slaughtered pig tonsils. J Microbiol Methods, 83, 244-249.
- Fondrevez, M., Labbé, A., Houdayer, C., Denis M., 2011. Genetic characterization of *Yersinia enterocolitica* collected from tonsils of slaughtered pigs. Safepork, Maastricht, 19-22 June 2011.
- Fondrevez M., Minvielle B., Labbé A., Houdayer C., Rose N., Esnault, E., Denis M., 2014. Prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in slaughter-aged pigs during a one-year survey, 2010-2011. Int. J. Food Microbiol, 174, 56-62.
- Kot B., Piechota M., Jakubszak A., 2010. Analysis of occurrence of virulence genes among *Yersinia enterocolitica* isolates belonging to different biotypes and serotypes, Pol J Vet Sci, 13, 13-19.
- Nesbakken, T., Eckner, K., Hoidal, H. K. and Rotterud, O. J., 2003. Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter spp.* in slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering, and dressing procedures. Int J Food Microbiol. 80, 231-240.
- Savin C., Carniel E., 2008. Les diarrhées d'origine bactérienne : le cas de *Yersinia enterocolitica*, revue francophone des laboratoires. 400, 49-58.
- Van Damme, I., Habib, I. and De Zutter, L., 2010. *Yersinia enterocolitica* in slaughter pig tonsils: enumeration and detection by enrichment versus direct plating culture. Food Microbiol. 27, 158-161.
- Van Cauteren D., 2016. Estimation de la morbidité des infections d'origine alimentaire en France. Thèse de doctorat en Santé publique – épidémiologie. Ecole doctorale Santé Publique. Paris.
- Wauters G., Kandolo K., Janssens M., 1987. Revised biogrouping scheme of *Yersinia enterocolitica*. Contrib. Microbiol. Immunol. 9, 14-21.

Trois profils de virulence ont été retrouvés (Tableau 1), avec un profil dominant *ail+* *ystA+* *myfA+* pYV+ (88,1% des souches). Ce profil est retrouvé chez le BT4 et BT3. Un grand nombre de souches possèdent le plasmide de virulence (pYV) (88,2%) et une souche est dépourvue du gène *ystA*.

CONCLUSION

Cette étude confirme que le biotype 4 est le biotype le plus fréquemment retrouvé en filière porcine comme dans de nombreuses études (Van Damme *et al.*, 2010). La majorité des souches ont le profil *ail+* *ystA+* *myfA+* pYV+ quel que soit le biotype. L'étude de Fondrevez *et al.* (2010) a montré que 88,6% des souches de 2009 avaient le plasmide; nous retrouvons ce même pourcentage (85,9%) pour les souches isolées en 2010. Cette absence de plasmide de virulence pour un faible nombre de souches semble donc inhérente à la population de *Y. enterocolitica* retrouvée chez le porc en France. Nos résultats rejoignent ceux de Kot *et al.* (2010) et révèlent que les souches porcines d'origine française possèdent les gènes de virulence impliqués dans la yersiniose humaine.

L'analyse PFGE a révélé la présence d'un profil identique sur les 2 années et les deux abattoirs ; ce profil est peut-être fortement associé à la filière porcine française. Notre étude révèle par ailleurs que certains profils PFGE apparaissent et d'autres disparaissent sur les deux années ; la population colonisant le porc semble donc évoluer dans le temps.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'une thèse financée pour la bourse par l'agglomération de Saint-Brieuc et la région Bretagne. Il répond pour une part à un projet financé par FranceAgrimer.