Comparaison de méthodes traditionnelles et génétiques pour la détection de *Salmonella* dans les matières fécales de porc.

*GROVEN B.. * [1];* JACOB B. [1]; FLAMENT E. [2]; DAUBE G. [1]

(1) LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE, FACULTE DE MEDECINE VETERINAIRE, UNIVERSITE DE LIEGE.

(2) PARTENAIRE INDUSTRIEL.

INTRODUCTION

Dans le cadre du projet intitulé « Recherche d 'une méthodologie pour la mise en place d'une filière intégrée de viande porcine *Salmonella-free* », les résultats obtenus pour les échantillons de matières fécales avec le kit Probelia™ *Salmonella spp* (SDP-07/2-06/96) et avec une méthode de routine utilisant la gélose semi-solide Diassalm (SP-VG-M002) ont donné des résultats forts différents.

Sur 633 analyses réalisées, 8,7% des échantillons furent diagnostiqués positifs par Probelia™ et 27,8% par la méthode Diassalm.

Notre hypothèse fut que l'enrichissement de 18 h à 37°C dans un milieu non sélectif d'un échantillon contenant un grand nombre de bactéries ne permettait pas aux salmonelles présentes de se développer en quantité suffisante pour être détectée par Probelia™. Par contre, la gélose semi-solide Diassalm constituait un enrichissement sélectif de *Salmonella* qui compensait l'insuffisance éventuelle du pré-enrichissement.

Un pré-enrichissement plus sélectif a donc été optimisé avant d'utiliser le kit Probelia ™.

MATERIEL & METHODES

Des échantillons de matières fécales de porc ont été prélevés en élevage et à l'abattoir. Une prise d'essai de 25 g a été analysée après réalisation d'une suspension mère dans 225 ml d 'eau peptonée tamponnée (BPW). Les résultats obtenus par Probelia™ après un pré-enrichissement en BPW de 18 h à 37°C ont été comparés avec ceux obtenus à partir d'échantillons ayant subi le même pré-enrichissement suivi d 'un enrichissement sélectif de 4 h ou de 24 h à 42°C en bouillon Rappaport Vassiliadis (RV).

Une évaluation de la méthode NMKL71, utilisant un enrichissement en RV pendant 24 h à 42°C suivi d'un isolement sur gélose XLT4 a également été réalisée en parallèle.

RESULTATS

Tableau 1: Comparaison du nombre d 'échantillons positifs selon les méthodes testées.

	Nombre d'échantillons	SP-VG-M002	NMKL71	Probelia	RV 4 h + Probelia	RV 24 h + Probelia
Expérience 1	129	46 35,7%	18 14%	10 7,8%	25 19,4%	–
Expérience 2	130	28 21,5%	10 7,7%	13 10%	–	24 18,5%

Le tableau 1 montre qu'un enrichissement sélectif de 24h en RV améliore considérablement les performances du test Probelia™ *Salmonella spp* sur les matières fécales de porc. En effet, en modifiant le protocole, nous avons détecté 24 échantillons positifs au lieu de 13 sur les 130 échantillons examinés alors que la méthode SP-VG-M002 a détecté 28 positifs.

Tableau 2: Comparaison des méthodes alternatives par rapport à la méthode SP-VG-M002 prise comme référence.

	Probelia ™ BPW			Probelia ™ après RV 4h			Probelia ™ après RV 24h			NMKL71		
	+	-		+	-		+	-		+	-	
SP-VG-M002 +	13	61	74 28,6%	20	26	46 35,6%	18	10	28 21,5%	8	20	28 21,5%
SP-VG-M002 -	10	175	185 71,4%	5	78	83 64,3	6	96	102 78,5%	2	96	98 75,4%
	23 8,8%	236 91%	N =259	25 19,3%	104 80,6%	N =129	24 18,5%	106 81,5%	N=130	10 7,6%	116 89,23%	N=130

Tableau 3: Caractéristiques des méthodes alternatives en prenant la méthode SP-VG-M002 comme référence.

	Sensibilité	Spécificité	VPTP	VPTN	Concordance
Probelia™	17,6 %	94,6 %	56,5%	74,2%	72,6%
Probelia™ après 4 h en RV	43,5%	94%	80%	75%	76%
Probelia™ après 24 h en RV	64,3%	94%	75%	90,6%	87,7%
NMKL 71	28,6%	98%	80%	82,8%	80%

Les tableaux 2 et 3 expriment que l 'enrichissement sélectif de 24 h en RV permet d 'améliorer la sensibilité de la PCR. De plus, la valeur prédictive du résultat positif est de 75% au lieu de 56,5% avec le protocole classique et pour les résultats négatifs, la valeur prédictive passe de 74,2 à 90,6%.

Les méthodes NMKL71 et Probelia™ après un enrichissement sélectif de 4 h en RV ne sont pas satisfaisantes pour la recherche de *Salmonella* dans des matières fécales de porc.

L 'incubation de 24h en RV améliore les résultats mais la sensibilité reste insuffisante

REFERENCES

- SP-VG-M002, official method from the Belgian ministry of public health - site internet LMDA: http://mda04.fmv.ulg.ac.be
- Waltman Douglas W.. (2000), Methods for the cultural isolation of *Salmonella*. In: Wray C. and Wray A. (eds), *Salmonella* in domestics animals, CABI Publishing, pp 355-372.
- Van der Zee Henk and Huis in-t Veld Jos H.J. (2000), Methods for the rapid detection of *Salmonella*. In: Wray C. and Wray A. (eds), *Salmonella* in domestics animals, CABI Publishing, pp 373-391

REMERCIEMENTS

Ce projet est réalisé grâce au soutien financier de la DG6 du ministère fédéral de l'agriculture et de la DGA de la Région Wallonne.