

Comparaison des analyses sérologiques et bactériologiques de détection des salmonelles dans le suivi sanitaire d'exploitations porcines

Nicolas KORSAK, Bernadette LEROY, Grégory ETIENNE, Jean-Noël DEGEYE, Antoine CLINQUART, Georges DAUBE

Université de Liège, Faculté de Médecine vétérinaire,
Département des Sciences des Denrées alimentaires, Sart-Tilman, Bât B43bis, B-4000 Liège, Belgique

Comparaison des analyses sérologiques et bactériologiques de détection des salmonelles dans le suivi sanitaire d'exploitations porcines

L'intérêt d'une technique sérologique pour détecter *Salmonella* spp en engraissement a été investigué dans 91 lots issus de 9 exploitations porcines. Les prélèvements pour la bactériologie (méthode basée sur la mobilité des salmonelles en milieu semi-solide) ont été effectués à 2, 3 et 4 mois après le début de l'engraissement. Le test sérologique (Salmotype Pig-LPS-Elisa) a été appliqué sur des échantillons de jus de viande issu de la décongélation de fragments musculaires du pilier du diaphragme prélevés sur la chaîne d'abattage. Les performances du test sérologique ont été évaluées en choisissant la méthode microbiologique comme référence. Des corrélations ont été effectuées en classant les résultats de densité optique des échantillons par rapport à différentes valeurs de cut-off correspondant à quatre niveaux de concentration en anticorps anti-salmonelles. C'est ainsi que 48 possibilités de catégoriser positivement un lot ont été établies en fonction du pourcentage d'échantillons dépassant les valeurs de cut-off et en fonction des moyennes arithmétique et géométrique.

Les résultats ont montré que les valeurs prédictives du résultat négatif de la sérologie étaient comprises entre 52,8 et 100 %. Par contre, la sensibilité relative variait entre 4,5 et 100 %. Un type de classement sérologique des lots s'est révélé le meilleur car il permettait de maximiser les valeurs Kappa, prédictives du résultat négatif et de sensibilité relative : 50 % des échantillons avec une valeur de densité optique supérieure au cut-off 20 %.

Cette expérience a montré la pertinence d'une classification sérologique des lots à l'abattoir en vue d'établir une surveillance complémentaire en exploitation.

Comparison of serological and analytical method for *Salmonella* detection in the sanitary surveillance of pig fattening herds

The significance of a *Salmonella* serological technique has been evaluated in 91 batches from 9 pigs fattening herds. Samples for bacteriology (method based on motility of *Salmonella* in semi-solid medium) were taken at different steps during fattening: 2, 3 and 4 months after the beginning of the fattening period. The serological test (Salmotype Pig-LPS-Elisa) has been applied on meat juice obtained after thawing of diaphragm meat cuts taken on the slaughter line. The performances of the serological method were evaluated by choosing microbiological method as reference. Correlations were practiced by comparing results of optical densities of samples with cut-off values corresponding to 4 different antibody concentrations. Forty-eight different possibilities have thus been created depending on the percentage of positive samples above the cut-off value and in function of arithmetic and geometric means.

The results have shown that negative predictive values ranged from 52.8 and 100 % and that the relative sensitivity varied between 4.5 and 100 %. One classification model appeared better than the others due to maximization of Kappa, negative predictive and relative sensitivity values: batch considered positive when at least 50 % of samples were characterized by an optical density higher than OD20% (optical density corresponding to an antibody concentration of 20 %).

The present experiment showed the importance of good classification of individual serological results in order to strengthen the on-farm bacteriological surveillance of herds.

INTRODUCTION

Plusieurs études ont montré que les salmonelles sont une des premières causes de toxi-infections collectives (TIAC) dans les pays industrialisés (MEAD et al, 1999 ; DAUBE et VAN LOOCK, 1997 ; HAEGHEBAERT et al, 2002). En outre, il a été établi que le porc est une source importante de salmonelloses humaines en étant à l'origine de 15 à 20 % de celles-ci (STEINBACH et HARTUNG, 1999). Cette situation est fortement préjudiciable à la fois pour la santé publique mais également pour le commerce entre pays dans le cadre d'accords de libre échange. C'est ainsi qu'il peut être fait mention de la décision de la Commission Européenne du 8 septembre 2003 imposant des garanties en matière de salmonelles pour la livraison de poussins d'un jour vers la Finlande et la Suède (ANONYME a, 2003). Parallèlement à cela, la directive zoonose 92/117/CEE sera également abrogée d'ici peu. En effet, 2 positions communes ont été adoptées par le Conseil (ANONYME b et c, 2003). L'une d'elles, qui s'intéresse spécifiquement au contrôle des salmonelles dans la chaîne alimentaire, a pour but de fixer des objectifs en matière de réduction de salmonelles au niveau de différentes spéculations animales, parmi lesquelles figurent les porcs à l'engrais et les porcs reproducteurs. Dans ce contexte, chaque Etat membre devra, pour ces espèces animales, rendre compte de son niveau de prévalence en salmonelles.

Il apparaît donc essentiel de connaître le statut en salmonelles des exploitations porcines. Ceci permettra, au moment de l'abattage, d'orienter les différents lots en fonction du risque potentiel d'excrétion des animaux composant le lot. L'abatteur pourra également organiser sa journée d'abattage en faisant abattre les troupeaux indemnes avant ceux qui sont qualifiés à risque. Pour connaître ce statut, 2 méthodes existent à l'heure actuelle : bactériologique et sérologique. Le Danemark bénéficie déjà d'une avance importante en matière de sérologie puisque ce pays a initié en 1995, suite à une importante épidémie de salmonelloses, un programme national de surveillance de ses troupeaux porcins basé sur la sérologie (NIELSEN et al, 1995 ; MOUSING et al, 1997).

Le but de cette étude a été d'établir une corrélation entre les résultats sérologiques obtenus sur les lots d'abattage et les résultats d'analyses microbiologiques des lots en cours d'engraissement afin d'objectiver l'intérêt de la méthode sérologique dans le suivi sanitaire des exploitations porcines.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Suivi et prélèvements en exploitations

L'étude s'est étendue entre avril 2001 et juillet 2002 et a concerné 91 lots d'engraissement provenant de 9 exploitations. Celles-ci ont été suivies tant du point de vue bactériologique que sérologique. La structure du système de production a déjà été évoquée dans un article précédent (KORSAK et al, 2003a). Ces 9 exploitations, réparties dans la partie orientale de la Belgique, sont des fermes d'engraissement, à l'exception d'une qui pratique l'élevage et l'engraissement. Les effectifs sont compris entre 80 et 1000 porcs à l'engrais.

Pour les 8 exploitations d'engraissement, les porcelets proviennent d'une unité de regroupement, le sevrage étant réalisé à l'âge de 4 semaines. Au poids de 20 kg, les porcs sont transportés jusqu'à la porcherie d'engraissement. A l'exception de la ferme d'élevage et d'engraissement qui produit ses propres porcelets pour l'engraissement, tous les porcelets sont fournis par une ferme d'élevage et de sélection comprenant 600 truies croisées Piétrain X Large White. Le schéma de sélection fait intervenir des verrats « terminaux » Landrace Belge.

Tous les lots ont été échantillonnés depuis le post sevrage jusqu'à 4 mois après le début de l'engraissement. Toutefois, pour les comparaisons avec les données de sérologie, seuls les résultats bactériologiques concernant la période d'engraissement ont été pris en compte. Les périodes de prélèvement étaient les suivantes : 2, 3 et 4 mois après le début de l'engraissement.

Les matières fécales fraîches étaient collectées à même le sol dans 5 loges différentes d'un même compartiment, celui-ci contenant des animaux du même âge, formant ainsi un lot. Juste avant la collecte de matières fécales et l'entrée dans les loges, le préleveur avait pris soin de revêtir des surchaussures à usage unique (GMEOJP 010, VRR International, Leuven, Belgique). L'analyse à partir des surchaussures permet d'améliorer la détection des salmonelles, étant donné que KORSAK et al (2003a) ont montré que, pour la plupart des phases d'élevage et d'engraissement, le pourcentage d'échantillons positifs est beaucoup plus élevé lorsque l'échantillonnage est réalisé au moyen de surchaussures plutôt que par prélèvement de matières fécales.

Les prélèvements (matières fécales et surchaussures) disposés dans des sacs type Stomacher clairement étiquetés et documentés ont été rangés dans une boîte isotherme, acheminés sous régime du froid au laboratoire et mis en œuvre dans un délai n'excédant pas 48 heures.

1.2. Prélèvements à l'abattoir

La sérologie a été effectuée à partir de fragments de piliers du diaphragme prélevés sur la chaîne d'abattage sur les carcasses en cours d'inspection *post-mortem*. Les lots d'abattage étaient constitués de 30 à 200 animaux suivant leur exploitation d'origine. Quelle que soit la taille du lot abattu, le nombre de fragments de muscles prélevés par lot était toujours compris entre 5 et 20, le plus souvent 10. Les morceaux de muscle, d'un volume estimé à 9 cm³, prélevés en prenant soin d'éviter toute présence de gras, étaient disposés dans un « meat juice collector », petit matériel disponible en plastique constitué d'une partie sphérique munie d'un capuchon et reliée à un tube servant à recueillir le jus de viande après congélation-décongélation.

Le transport de ces échantillons s'est effectué également sous couverture froide et les « meat juice collectors » placés le plus rapidement au congélateur jusqu'à analyse.

1.3. Analyse microbiologique

Sur les échantillons de matières fécales et de surchaussures, une recherche de salmonelles a été réalisée selon la méthode

officielle belge SP-VG-M002, utilisant le milieu semi-solide Diasalm (Lab 537, Lab M, International Group PLC, Lancashire, Royaume Uni), qui permet de détecter les salmonelles sur base de leur mobilité et apparenté au milieu MSRV (« modified semi-solid Rappaport Vassiliadis). Un enrichissement non sélectif est opéré par adjonction dans la sac Stomacher de 225 ml d'eau peptonée tamponnée (CM509, Oxoid, Basingstoke, Royaume Uni) à 25 g de matières fécales. Pour les surchaussures, le volume d'eau peptonée tamponnée était de 300 ml. Après incubation à 37 °C pendant 18 à 20 h, 100 µl sont disposés au centre d'une boîte de Diasalm, incubée à 42 °C pendant 24 h. Les isolements sont réalisés au moyen du milieu xylose-lysine-tergitol 4 (XLT4, 65654, Biorad, Marnes La Coquette, France) incubé à 37 °C pendant 22 ± 2 heures. Une colonie caractéristique est transférée en surface et en profondeur d'un milieu Triple Sugar Iron (TSI), celui-ci étant incubé en dernier à 37 °C pendant 24 h. Après purification, la confirmation est assurée biochimiquement au moyen de galeries API20E (bioMérieux, Lyon, France).

1.4. Test sérologique

Le test sérologique Salmotype Pig-LPS-Elisa (Labor Diagnostik, Leipzig, Allemagne) permet, sur base d'une détection quantitative d'anticorps, de mettre en évidence 90 % des sérotypes de *Salmonella* rencontrés chez le porc. La dilution effectuée pour les jus de décongélation était de 1:30. Toutes les recommandations énoncées par le fabricant ont été suivies. Le kit fournit une micro-plaque de 96 puits qui a été préalablement sensibilisée avec des antigènes de salmonelles appartenant aux sérogroupes O 1, 4, 5, 6, 7 et 12. Durant l'incubation de l'échantillon, les anticorps spécifiques anti-salmonelles se fixent et forment un complexe antigènes-anticorps, les fractions non fixées étant éliminées par lavage. Une enzyme conjuguée se liant aux anticorps précédemment fixés est ajoutée, plusieurs lavages étant également réalisés. Après addition d'une solution chromogène, une réaction colorée se développe, elle est directement proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans l'échantillon. La lecture est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à 450 nm. Les résultats sont interprétés grâce à une courbe établie en portant, pour les 5 sérums de contrôle fournis avec le kit, la concentration en anticorps en abscisse et la densité optique (DO) correspondante en ordonnée. La quantification des anticorps au niveau de chaque sérum de contrôle est effectuée en double sur la plaque, les densités optiques retenues correspondant à la moyenne des deux lectures. A la valeur de densité optique mesurée pour chaque sérum de contrôle correspond une concentration en anticorps exprimée en pour cent. Cette valeur est fournie par le fabricant. En outre, il spécifie que tous les échantillons ayant une densité optique correspondant à une concentration en anticorps supérieure à 40 % doivent être considérés comme positifs ; entre 10 et 40 %, ils sont qualifiés de suspects et pour une valeur inférieure à 10 %, ils doivent être considérés comme négatifs.

1.5. Classement des lots et traitements des données

Les données du lot d'engraissement ainsi que les résultats des analyses sérologiques pratiquées sur les fragments de piliers de diaphragme ont été compilés dans un tableur

excel. Le statut bactériologique du lot a été considéré comme positif si au moins une des 6 analyses microbiologiques pratiquées durant l'engraissement s'est révélée positive (1 analyse de matières fécales et de surchaussures après 2, 3 et 4 mois de l'engraissement). Pour la sérologie, chaque valeur de densité optique (DO) a été reprise. Les statuts sérologiques ont été comparés aux 4 valeurs de densité optique correspondant aux concentrations en anticorps suivantes : 10 (DO10%), 20 (DO20%), 30 (DO30%) et 40 (DO40%). Les pourcentages d'échantillons positifs et les moyennes arithmétique et géométrique de chaque lot par rapport à ces 4 valeurs ont été consignés. Quarante-huit possibilités différentes de conférer un statut sérologique ont donc été envisagées dans cette étude :

- 10 possibilités pour la valeur de densité optique correspondant à une concentration en anticorps de 10 % (au moins 10 % des échantillons avec une valeur OD > OD10%, au moins 20 % des échantillons avec une valeur OD > OD20%, etc. jusqu'à 100 % des échantillons)
- 10 possibilités pour la valeur de densité optique correspondant à une concentration en anticorps de 20 % (au moins 10 % des échantillons avec une valeur OD > OD20%, au moins 20 % des échantillons avec une valeur OD > OD30%, etc. jusqu'à 100 % des échantillons)
- 10 possibilités pour la valeur de densité optique correspondant à une concentration en anticorps de 30 % (au moins 10 % des échantillons avec une valeur OD > OD30%, au moins 20 % des échantillons avec une valeur OD > OD40%, etc. jusqu'à 100 % des échantillons)
- 10 possibilités pour la valeur de densité optique correspondant à une concentration en anticorps de 40 % (au moins 10 % des échantillons avec une valeur OD > OD40%, au moins 20 % des échantillons avec une valeur OD > OD40%, etc. jusqu'à 100 % des échantillons)
- 8 possibilités de classer les échantillons en fonction de leur moyenne arithmétique et géométrique par rapport aux 4 valeurs de DO (DO10%, DO20%, DO30% et DO40%)

Une fois les classements des résultats sérologiques effectués, les différents paramètres et tests suivants ont été calculés : valeur Kappa, résultat du test de McNemar, sensibilité relative et valeur prédictive du résultat négatif.

La valeur Kappa permet d'établir si il existe une concordance importante entre les tests (bactériologique et sérologique) : une valeur inférieure à 0,4 est jugée comme étant insuffisante. Le test de McNemar permet de comparer la différence entre valeurs discordantes d'une table de contingence 2 x 2. Il utilise un test de χ^2 dont la formule est reprise ci-dessous (WIBERG et NORBERG, 1996) :

$$\chi^2 = \frac{(|a - b|^2 - 1)}{a + b}$$

dans laquelle a est égal au nombre d'échantillons positifs en bactériologie mais négatifs en sérologie et b est égal au nombre d'échantillons négatifs en bactériologie mais positifs en sérologie. La valeur du χ^2 est comparée à 3,84, qui est le seuil de signification 95 %.

La spécificité relative n'a pas été calculée, étant donné que le nombre de faux positifs (échantillons positifs en sérologie

Tableau 1 - Valeurs Kappa, McNemar, valeurs prédictives du résultat négatif (VPN) et sensibilités relatives (Srel) pour la comparaison du pourcentage d'échantillons positifs par rapport à DO10%

% d'échantillons du lot avec une valeur de DO > DO10% et entraînant un statut sérologique positif	Situation	Kappa	McNemar	VPN (%)	Srel (%)
10	1	0,014	65,0***	100,0	100,0
20	2	0,084	56,0***	100,0	100,0
30	3	0,160	42,2***	95,7	95,5
40	4	0,245	34,2***	96,8	95,5
50	5	0,319	28,3***	97,3	95,5
60	6	0,480	17,4***	97,9	95,5
70	7	0,476	6,9**	92,9	81,8
80	8	0,520	2,7	91,8	77,3
90	9	0,361	0,0	84,3	50,0
100	10	0,384	2,7	83,1	40,9

*** : $P < 0,001$, ** : $P < 0,01$, * : $P < 0,05$

Tableau 2 - Valeurs Kappa, McNemar, valeurs prédictives du résultat négatif (VPN) et sensibilités relatives (Srel) pour la comparaison du pourcentage d'échantillons positifs par rapport à DO20%

% d'échantillons du lot avec une valeur de DO > DO20% et entraînant un statut sérologique positif	Situation	Kappa	McNemar	VPN (%)	Srel (%)
10	11	0,150	43,2***	95,5	95,5
20	12	0,281	31,2***	97,1	95,5
30	13	0,402	22,3***	97,7	95,5
40	14	0,471	10,2**	94,3	86,4
50	15	0,573	3,1	93,4	81,8
60	16	0,520	0,1	88,4	63,6
70	17	0,553	0,6	87,7	59,1
80	18	0,384	2,7	83,1	40,9
90	19	0,264	6,1*	80,2	27,3
100	20	0,203	11,3***	78,8	18,2

*** : $P < 0,001$, ** : $P < 0,01$, * : $P < 0,05$

Tableau 3 - Valeurs Kappa, McNemar, valeurs prédictives du résultat négatif (VPN) et sensibilités relatives (Srel) pour la comparaison du pourcentage d'échantillons positifs par rapport à DO30%

% d'échantillons du lot avec une valeur de DO > DO30% et entraînant un statut sérologique positif	Situation	Kappa	McNemar	VPN (%)	Srel (%)
10	21	0,269	32,2***	97,0	95,5
20	22	0,435	16,0***	95,8	90,9
30	23	0,481	4,1*	91,5	77,3
40	24	0,498	0,0	88,2	63,6
50	25	0,505	0,1	87,3	59,1
60	26	0,405	1,4	84,0	45,5
70	27	0,429	2,1	84,2	45,5
80	28	0,338	3,4	82,1	36,4
90	29	0,146	12,2***	77,9	13,6
100	30	0,108	15,4***	77,3	9,1

*** : $P < 0,001$, ** : $P < 0,01$, * : $P < 0,05$

mais négatifs en bactériologie) ne peut être établi avec certitude, le statut bactériologique négatif résultant du fait qu'il n'a pas été possible de détecter des salmonelles au cours de l'engraissement du lot. Il en va de même de la valeur prédictive du résultat positif. Par contre, il apparaît que la sensibilité relative et la valeur prédictive du résultat négatif sont utiles et ont un sens d'un point de vue analytique.

2. RÉSULTATS

Les tableaux 1 à 5 reprennent tous les résultats pour les 48 situations possibles préalablement établies en mentionnant les différents paramètres suivants : valeur Kappa, résultat du test de McNemar, Valeur prédictive négative (VPN) et sensibilité relative (Srel).

Tableau 4 - Valeurs Kappa, McNemar, valeurs prédictives du résultat négatif (VPN) et sensibilités relatives (Srel) pour la comparaison du pourcentage d'échantillons positifs par rapport à DO40%

% d'échantillons du lot avec une valeur de DO > DO40% et entraînant un statut sérologique positif	Situation	Kappa	McNemar	VPN (%)	Srel (%)
10	31	0,359	16,7***	93,5	86,4
20	32	0,444	5,5*	91,2	77,3
30	33	0,460	0,1	87,0	59,1
40	34	0,466	0,2	86,1	54,5
50	35	0,448	0,9	85,1	50,0
60	36	0,405	1,4	84,0	45,5
70	37	0,264	6,1*	80,2	27,3
80	38	0,203	11,3***	78,8	18,2
90	39	0,169	14,5***	78,2	13,6
100	40	0,045	16,4***	76,4	4,5

*** : $P < 0,001$, ** : $P < 0,01$, * : $P < 0,05$

Tableau 5 - valeurs Kappa, McNemar, valeurs prédictives du résultat négatif (VPN) et sensibilités relatives (Srel) Comparaison des moyennes arithmétique et géométrique par rapport à DO10%, DO20%, DO30% et DO40%

Statut sérologique positif si	Situation	Kappa	McNemar	VPN (%)	Srel (%)
la moyenne arithmétique une valeur OD > 10 %	41	0,234	35,2***	96,7	95,5
la moyenne arithmétique une valeur OD > 20 %	42	0,489	9,3**	94,4	86,4
la moyenne arithmétique une valeur OD > 30 %	43	0,513	0,2	89,4	68,2
la moyenne arithmétique une valeur OD > 40 %	44	0,528	0,5	52,8	52,8
la moyenne géométrique une valeur OD > 10 %	45	0,319	28,3***	97,3	95,5
la moyenne géométrique une valeur OD > 20 %	46	0,527	0,9	90,6	72,7
la moyenne géométrique une valeur OD > 30 %	47	0,567	0,1	88,7	63,6
la moyenne géométrique une valeur OD > 40 %	48	0,361	1,9	82,9	40,9

*** : $P < 0,001$, ** : $P < 0,01$, * : $P < 0,05$

Tableau 6 - Classement des situations en fonction des valeurs Kappa, des VPN et des Srel

	Situation	Kappa	McNemar	VPN (%)	Srel (%)
Valeur Kappa la plus élevée (test de McNemar non significatif)	15	0,573	3,1	93,4	81,8
	47	0,567	0,1	88,7	63,6
	17	0,553	0,6	87,7	59,1
	44	0,528	0,5	52,8	52,8
	46	0,527	0,9	90,6	72,7
VPN la plus élevée (test de McNemar non significatif)	15	0,573	3,1	93,4	81,8
	8	0,520	2,7	91,8	77,3
	46	0,527	0,9	90,6	72,7
	43	0,513	0,2	89,4	68,2
Srel la plus élevée (test de McNemar non significatif)	47	0,567	0,1	88,7	63,6
	15	0,573	3,1	93,4	81,8
	8	0,520	2,7	91,8	77,3
	46	0,527	0,9	90,6	72,7
	43	0,513	0,2	89,4	68,2
	16	0,520	0,1	88,4	63,6

Les moins bonnes performances ont été 0,014, 52,8 % et 4,5 %, les meilleures 0,573, 100 et 100 % pour les valeurs Kappa, VPN et Srel respectivement. Dans 21 situations sur 48, les tests de McNemar ont été non significatifs (résultats inférieurs à 3,84). Afin de comparer les situations entre elles, celles-ci peuvent être classées en fonction de leurs performances établies sur base des différents paramètres. C'est ainsi que le tableau 6 reprend les 5 meilleures situations en maximisant les valeurs Kappa, VPN et Srel tout en ayant un résultat au test de McNemar non significatif.

Le tableau 6 montre que, pour les 3 catégories établies, les situations 15 (au moins 50 % des échantillons ont une valeur de DO supérieure à DO20%) et 46 (la moyenne géométrique avec une valeur de DO supérieure à DO20%) sont classées chaque fois parmi les 5 premières.

3. DISCUSSION ET CONCLUSION

Un des biais importants de la méthode bactériologique appliquée en exploitation est son manque de sensibilité. Un

échantillon négatif en exploitation peut fort bien être en réalité positif. Toutefois, une étude précédente (KORSAK et al, 2003a) a montré que la sensibilité peut significativement être améliorée en réalisant plusieurs prélèvements à intervalles réguliers sur le même lot et en pratiquant une détection de salmonelles à partir de surchaussures en plus de la recherche dans les matières fécales collectées sur le sol. D'autres méthodes microbiologiques peuvent également donner de meilleurs résultats que celle basée sur la mobilité des salmonelles. C'est ainsi que KORSAK et al (2003b) ont mis en évidence une meilleure efficacité dans la détection des salmonelles dans des échantillons de nature fécale pour la technique VIDAS SLM, immuno-enrichissement basé sur la technique ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay), par rapport à 3 autres méthodes investiguées : Diasalm, VIDAS ICS et NKL71.

Un autre élément à prendre en considération est le nombre de *Salmonella* excrétées par les porcs ou présentes dans l'environnement des animaux. Cette connaissance permettrait d'objectiver le risque de contamination des carcasses ou des produits de viande porcine mais aussi le risque pour la santé humaine. C'est dans ce contexte que FRAVALLO et al (2002) développent une méthode de quantification des salmonelles basée sur la technique mini-MSRV qui remplacerait utilement les méthodes basées sur la recherche du nombre le plus probable (NPP).

Le kit sérologique prévoit qu'un échantillon est déclaré positif si sa valeur de densité optique est supérieure à celle qui correspond à 40 % de concentration en anticorps. Si l'on s'en tient à cette règle (n° 31), la concordance apparaît inférieure aux autres types de classement, étant donné que le test de McNemar est hautement significatif et que la valeur Kappa est inférieure à 0,4. Il est donc possible d'améliorer les valeurs Kappa, les VPN et Srel en choisissant d'attribuer un statut sérologique positif à un lot lorsque 50 % des échantillons d'un lot présente une DO supérieure à la valeur DO20%.

Le système danois prévoit de surveiller la contamination en salmonelles des troupeaux porcins par le biais de la sérologie (MOUSING et al, 1997). Le classement est établi en fonction du pourcentage de séropositifs par rapport au nombre d'échantillons prélevés. En fonction de la moyenne pondérée des pourcentages obtenus sur les 3 derniers mois, les troupeaux sont classés dans une des 3 catégories suivantes :

- niveau 1 : la prévalence de *Salmonella* est faible
- niveau 2 : la prévalence dans le troupeau est estimée entre 10 et 50 %
- niveau 3 : la contamination dans l'exploitation est plus grande que 50 %.

Les niveaux 2 et 3 doivent entraîner la consultation d'un vétérinaire chargé d'établir un plan de contrôle visant à éradiquer les *Salmonella* de l'exploitation. Des analyses microbiologiques doivent être pratiquées dans ces exploitations afin de mettre en évidence la source ou le compartiment à l'origine de l'infection (CHRISTENSEN et al, 1999).

Ce plan de surveillance danois a permis, après une phase de screening effectuée sur les troupeaux porcins, de disposer d'informations fiables sur les 16000 troupeaux permettant d'organiser les séquences d'abattage en minimisant les contacts entre animaux indemnes et non. Des corrélations entre la sérologie et la bactériologie ont également été réalisées au Danemark. C'est ainsi que STEGE et al (2000) ont montré que pour les troupeaux à risque (classés en niveau 2 et 3), les salmonelles ont été détectées dans 77 % des cas. La méthode microbiologique appliquée dans ce cas était celle utilisant le milieu Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis (MSRV). Depuis 2001, un nouveau système de surveillance a été mis en place dans ce pays (NIELSEN et al, 2001). Il prévoit un abaissement du seuil de positivité d'un échantillon de DO40% à DO20%. En effet, d'après ces auteurs, ce nouveau seuil permet d'obtenir une meilleure corrélation entre les niveaux de catégorisation des troupeaux et la probabilité d'isoler des *Salmonella* dans ceux-ci. Seuls les troupeaux abattant annuellement plus de 200 porcs (au lieu de 100 avant) seront surveillés sérologiquement à l'abattoir. Des écouvillonnages de carcasses doivent également être effectués dans les abattoirs afin d'objectiver le pourcentage de carcasses contaminées par *Salmonella*.

Cette présente étude a montré qu'il était possible d'améliorer la concordance entre les données sérologiques et bactériologiques. Toutefois, une limite importante peut être mentionnée : la taille d'échantillonnage était constante quel que soit le nombre de porcs engraisés dans les exploitations. Ceci ne doit pas remettre en question l'intérêt de la méthode sérologique pour détecter les salmonelles dans les troupeaux porcins. Les résultats obtenus doivent être mis en rapport avec le pourcentage d'échantillons contaminés dans les caeca à l'abattoir.

La technique sérologique permet donc d'obtenir une estimation approximative de la probabilité d'isoler des salmonelles dans les bâtiments et doit toujours être confirmée, en cas de suspicion, par des méthodes de détection microbiologique à réaliser en exploitation ou à l'abattoir, à partir des contenus caecaux, par exemple.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANONYME a, 2003. Journal Officiel de l'Union Européenne n° L 228 du 12/09/2003 p. 0029-0035.
- ANONYME b, 2003. Journal Officiel de l'Union Européenne n° C 090 E du 15/04/2003 p. 0009 - 0024
- ANONYME c, 2003. Journal Officiel de l'Union Européenne n° C 090 E du 15/04/2003 p. 0025 - 0043
- CHRISTENSEN J., BAGGESEN D.L., SOERENSEN V., SVENSMARK B., 1999. *Prev Vet Med* 40, 277-292.
- DAUBE G., VAN LOOCK F., 1997. *Arch. Public Health*, 55, 351-361.
- FRAVALLO P., HASCOËT Y., LE FELLIC M., QUEGUINER S., SALVAT G., 2002. 2^{ème} colloque international francophone de bactériologie vétérinaire, 5-6 Septembre 2002, Ploufragan, France.
- HAEGHEBAERT S., LE QUERREC F., GALLAY A., BOUVET P., GOMEZ M., VAILLANT V., 2002. *Bulletin Epidémiologique hebdomadaire*, 23, 105-109.
- KORSACK N., JACOB B., GROVEN B., ETIENNE G., CHINA B., GHAFIR Y., DAUBE G., 2003a. *J. Food Prot.*, 66, 1126-1133.
- KORSACK N., DEGEYE J.-N., ETIENNE G., SAMUËLS E., VAN NIEULANDE P., DAUBE G., 2003b. IAFP, 90th annual meeting, 10-13, August 2003, New Orleans, USA.
- MEAD P.S., SLUTSKER L., DIETZ V., MCCAIG L.F., BRESEE J.S., SHAPIRO C., GRIFFIN P.M., TAUXE R.V., 1999. *Emerg. Infect. Dis.*, 5, 607-625.
- MOUSING J., JENSEN P.T., HALGAARD C., BAGER F., FELD N., NIELSEN B., BECH-NIELSEN S., 1997. *Prev. Vet. Med.*, 29, 247-261.
- NIELSEN B., BAGGESEN D.L., BAGER F., HAUGEGAARD J., LIND P., 1995. *Vet Microbiol.*, 47, 205-218.
- NIELSEN B., ALBAN L., STEGE H., SOERENSEN L.L., MOGELMOSSE V., BAGGER J., DAHL J., BAGGESEN D.L., 2001. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 114, 323-326.
- STEGE H., CHRISTENSEN J., NIELSEN J.P., BAGGESEN D.L., ENOE C., WILLEBERG P., 2000. *Prev. Vet. Med.*, 44, 175-188.
- STEINBACH G., HARTUNG M., 1999. *Berl. Munch. Tierärztl. Wochenschr.*, 112, 296-300.
- WIBERG C., NORBERG P., 1996. *Int. J. Food Microbiology*, 29, 353-360.

