

Dépistage des vaches potentiellement excrétrices de salmonelles par la mamelle par un test ELISA

Screening for potential udder's salmonella excretors with an ELISA test

J. MARLY (a), N. MEFFE (b), V. HEUCHEL (c)

a : Pathologie Infectieuse et Immunologie, INRA, Centre de Tours, 37380 Nouzilly

b : Institut de l'Élevage, Le Rheu, Monvoisin, BP 57, 35652 Le Rheu Cedex

c : Institut de l'Élevage, 149 rue de Bercy, 75595 Paris cedex 12

INTRODUCTION

La contamination du lait par les salmonelles peut être source de toxi-infections alimentaires, en particulier par les fromages au lait cru (Desenclos et al, 1995). Les origines de la contamination du lait par les salmonelles peuvent être diverses. La contamination à partir d'une mamelle infectée semble rare (Ogilvie, 1986). A partir des travaux de Smith et al et de Hoorfar et al nous avons adapté une technique ELISA et réalisé son évaluation par rapport au dépistage bactériologique (technique de référence) dans la détection d'animaux excréteurs. Nous avons, à partir du lait ou du sérum, optimisé les différents paramètres techniques qui facilitent la discrimination de groupes d'animaux de statuts différents. Le dépistage d'animaux potentiellement excréteurs diminuerait le nombre d'exams bactériologiques à réaliser.

1. MATERIEL ET METHODE

A partir de sérums et laits provenant d'exploitations livrant des laits contaminés ou non par des salmonelles, de sérums de génisses vaccinées ou non, infectées ou non par *Salmonella* Bredeney ou par *S. Typhimurium*, nous avons pu définir les paramètres optimaux pour les concentrations des divers réactifs. Nous avons mis en œuvre une technique ELISA utilisant des bactéries entières tuées par le formol ou un polyoside commercial (LPS de *S. Typhimurium* SIGMA). Les anticorps anti-bovin sont révélés par un anticorps de lapin couplé à la peroxydase (JACKSON) et la réaction colorée est obtenue en ajoutant le substrat et le chromogène. La lecture se fait avec un lecteur automatique (Biotech PACKARD). La densité optique (DO) obtenue est proportionnelle à la concentration en anticorps.

Nous avons donc comparé l'antigène préparé à partir de la souche de salmonelle isolée de chaque exploitation inactivée soit par la chaleur, soit par le formol, en parallèle avec le LPS de *S. Typhimurium*, celui de *S. Enteritidis* (SIGMA) ou le mélange des deux, aux concentrations préalablement définies. Cette technique ELISA, à ces différentes étapes de mise au point a été appliquée à l'identification d'animaux potentiellement excréteurs au sein de troupeaux.

2. RESULTATS

Les titres en anticorps (exprimés en DO) sont équivalents dans le lactosérum et dans le lait dans les 4 quartiers d'un même animal.

Dans un élevage de 17 vaches laitières, le lait d'un seul quartier d'un seul animal contenait des *Salmonella*. Les titres du sérum et des laits de quartier (ainsi que celui du lait de mélange) de l'animal excréteur sont très supérieurs à ceux des autres animaux du troupeau. L'utilisation du test ELISA (antigène LPS de *S. Typhimurium*) pour le dépistage n'a révélé qu'un seul animal potentiellement excréteur, ce qui a ensuite été confirmé.

Dans un élevage de 65 vaches laitières, le test ELISA (antigène bactérien tué) fait apparaître 6 animaux présentant, dans leurs laits de quartiers, un titre plus élevé (DO > 0,3) que les autres animaux du troupeau (DO < 0,2). L'animal présentant les titres les plus élevés (sérum et lait) excrétrait des *Salmonella* par un des quartiers de la mamelle.

Les laits de 1280 vaches appartenant à 29 troupeaux livrant un lait contaminé ont été analysés, parmi lesquelles 200 ont été

détectées, sur la base d'un seuil de positivité correspondant à une densité optique (DO) inférieure à 0,2. Des analyses bactériologiques de confirmation étaient alors réalisées sur les laits de quartier des animaux ainsi identifiés. Dans 7 troupeaux, les 229 vaches contrôlées ont toutes présenté des réactions négatives (DO < 0,2), et l'absence d'excrétion a été confirmée par les résultats des analyses bactériologiques. Dans les 22 autres troupeaux, 1051 vaches ont été contrôlées. 225 ont présenté une réaction positive (DO > 2), soit près de 20%, et l'excrétion mammaire a été confirmée par la bactériologie pour 7 d'entre elles. Pour cet échantillon d'animaux, en élevant le seuil de positivité à une DO supérieure à 0,5, on n'affecte pas la sensibilité du test, qui détecte bien tous les animaux effectivement excréteurs, et on réduit le nombre de résultats « faux positifs » à 42 seulement (contre 218 pour le seuil correspondant à une DO < 0,2) (tableau 1).

Tableau 1
Comparaison ELISA / Bactériologie

Seuil de détection (DO)	>0,2	>0,5		
Bactériologie	+	-	+	-
+	7	0	7	0
-	218	1055	42	1231

3. DISCUSSION

Sur 1280 vaches en lactation réparties dans 29 troupeaux ayant livré un lait contaminé, nous avons ainsi pu identifier 7 animaux excréteurs de salmonelles par la mamelle soit 0,55% des animaux. La vache laitière excrétrice mammaire reste donc rare. Ces 7 animaux étaient tous dans des troupeaux différents. Donc, si on considère les troupeaux livrant un lait contaminé, la fréquence de présence d'un animal excréteur passe à 7/29 soit 24%. Dans les cas de troupeaux livrant régulièrement un lait contaminé, la présomption de présence d'un animal excréteur mammaire est donc forte.

4. CONCLUSIONS

L'utilisation de cette technique de dépistage par ELISA d'animaux potentiellement excréteurs de salmonelles par la mamelle. Réalisée sur du lait de mélange des 4 quartiers, prélevé non stérilement, elle permet de diminuer de façon très significative le nombre d'analyses bactériologiques longues et coûteuses.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été conduite avec le soutien financier de l'enveloppe Recherche de l'Association de Coordination Technique Agricole (A.C.T.A.), du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (MAP), et du Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (MER). Nous remercions également tous les agents qui ont collecté les échantillons.

Desenclos J. C. et al. (1995). *BMJ*, 311, 91 - 4.

Ogilvie T. H. (1986). *Can Vet J*, 27, 329 - 331.

Smith B. P. et al. (1989). *Am J Vet Res*, 50, 8 - 1352.

Hoorfar et al. (1995). *Can J Vet Res*, 59, 142.