



DIRECTION GÉNÉRALE DE LA PROTECTION DE LA SANTÉ

OTTAWA

DÉTECTION DE *SALMONELLA SPP.* DANS LES PRODUITS ALIMENTAIRES ET AGRICOLES
PAR HYBRIDATION DE L'ADN GENE-TRAK®

Jean-Yves D'Aoust
Division de la recherche, Bureau de dangers microbiens
Direction des aliments, Santé Canada
Repère postal : 2204A2
Ottawa (Ontario) K1A 0L2

1. **APPLICATION**

Cette méthode peut servir à la détection qualitative de *Salmonella* spp. dans des échantillons alimentaires et environnementaux. Ce test de dépistage convient surtout lorsque l'on ne prévoit pas de suivi à l'égard du produit. Lorsqu'on prévoit un suivi lié à la conformité du produit, et lorsque le suivi est obligatoire, il faut utiliser les méthodes officielles et la méthode de la DGPS.

2. **DESCRIPTION**

Des études de validation exécutées par le fabricant (10.1-10.3) et une étude de collaboration entre laboratoires réalisée par l'AOAC (10.4) ont démontré l'efficacité de la méthode pour détecter la présence de *Salmonella* spp dans toutes sortes d'aliments contaminés artificiellement. La méthode a en outre été validée avec des aliments contaminés naturellement dans le cadre d'études de comparaison et d'études en collaboration réalisées dans des laboratoires de la DGPS (10.5-10.6). Il convient de signaler qu'une autre méthode d'enrichissement différente de celle que recommande le fabricant a fait l'objet d'essais couronnés de succès dans la cadre d'études réalisées par la DGPS et figure dans la présente méthode de laboratoire.

3. **PRINCIPE**

Pour effectuer une analyse par hybridation de l'ADN, on emploie des sondes d'ADN spécifiques aux *Salmonella* et un système de colorimétrie pour détecter la présence de *Salmonella* spp. dans des échantillons d'essai à la suite de l'enrichissement du milieu de culture. Les sondes utilisées dans l'analyse réagissent avec les sérotypes appartenant à toutes les sous-espèces de *Salmonella entérica* et avec les sérotypes appartenant à l'espèce distincte *Salmonella bongori*. On considère qu'un échantillon ne réagit pas à la *Salmonella* spp. si son absorbance (A_{450}) est inférieure ou égale à la valeur seuil établie pour l'analyse. On considère qu'un échantillon indique la présence présumée de *Salmonella* spp. si la valeur de l'absorbance est supérieure à la valeur seuil établie pour l'analyse. Il faut confirmer les réactions positives par des méthodes de culture standard suivies d'une identification biochimique et sérologique.

4. **DÉFINITIONS**

Voir l'annexe A du volume 3.

5. PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

Voir l'annexe B du volume 3.

6. MATÉRIELS ET PRODUITS SPÉCIAUX

- 1) Trousse d'analyse *Salmonella* de GENE-TRAK (numéro de catalogue GT0615/GT0815, GENE-TRAK Systems, TÉL. : (508) 435-7400; TÉLÉC. : (508) 435-0025)
- 2) Trousse « Starter » de GENE-TRAK (Comprend l'ensemble de photométrie (450 nm), des supports à 72 éprouvettes, des porte-bandelettes réactives, des bassins de lavage avec couvercle et des tables de dilution)

7. MARCHE À SUIVRE

L'analyse des échantillons se fera de la façon décrite dans les instructions jointes à la trousse d'analyse, auxquelles il faut apporter les **changements importants suivants** :

- 7.1 Enrichissement préalable dans de l'eau peptonée tamponnée de toutes les substances d'analyse à l'exception des produits contenant du chocolat et du cacao (extrait sec dégraissé de lait à 10 % et vert brillant à 0,02 % p/v) et de la poudre de lait (vert brillant en solution 0,002 % p/v)
- 7.2 Enrichissement sélectif de tous les aliments dans le vert brillant au tétrathionate (TBG₄₃) et le sélénite et de cystine (SC₃₅) pendant 24±2 h à 43 °C et 35 °C respectivement.
- 7.3 Enrichissement consécutif de toutes les cultures d'enrichissement TBG₄₃ et SC₃₅ dans du milieu GN pendant 6 h à 35 °C.

8. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Une analyse qui donne comme résultat une absorbance de $\leq 0,10$ ou $\geq 0,10$ par rapport au témoin négatif indique l'absence ou la présence présumée de *Salmonella* spp. respectivement.

9. PROCÉDURE DE CONFIRMATION RECOMMANDÉE

- 9.1 Il faut confirmer les résultats positifs d'analyses par hybridation en ensemençant les cultures GN sur des géloses de sulfite de bismuth (BIS) et de sulfa vert brillant (SVB) et en procédant ensuite à l'identification biochimique et sérologique des isolats indiquant la présence présumée de *Salmonella* spp. en procédant de la façon décrite dans la méthode MFHPB 20 (10.7).
- 9.2 Pour confirmer l'identité des isolats, on peut aussi utiliser les trousse API-20E (API Laboratory Products Ltd., Ville Saint-Laurent (Québec), Micro-ID (Organon Teknika Inc., Scarborough (Ontario)), Enterotube (Roche Diagnostic Systems, Nutley, NJ), et Vitek (bioMérieux USA, Hazelwood, MO).

10. RÉFÉRENCES

- 10.1 Wilson, S.G.S., S. Chan, M. DeRoo, M. Vera-Garcia, A. Johnson, D. Lane et D. N. Halbert. 1990. Development of a colorimetric, second generation nucleic acid hybridization method for detection of *Salmonella* in foods and comparison with conventional culture procedure. J. Food Sci. **55** : 1394-1398.
- 10.2 Chan, S., S. G. Wilson, M. Vera-Garcia, K. Whippie, M. Ottaviani, A. Whilby, A. Shah, A. Johnson, M. A. Mozola et D. N. Halbert. 1990. Comparative study of colorimetric DNA hybridization method and conventional culture procedure for detection of *Salmonella* in foods. J. Assoc. Off. Anal. Chem. **73** : 419-424.
- 10.3 Foster, K., S. Garramone, K. Ferraro et E. P. Groody. 1992. Modified colorimetric DNA hybridization method and conventional culture method for detection of *Salmonella* in foods: Comparison of methods. J. AOAC Intl. **75** : 685-692.
- 10.4 Curiale, M.S., M. J. et M. A. Mozola. 1990. Colorimetric deoxyribonucleic acid hybridization assay for

- rapid screening of *Salmonella* in foods: Collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. **73** : 248-256.
- 10.5 D'Aoust, J.-Y., A. M. Sewell, P. Greco, M. A. Mozola et R. E. Colvin. 1995. Performance assessment of the GENE-TRAK® colorimetric probe assay for the detection of foodborne *Salmonella* spp. J. Food Prot. **58** : 1069-1076.
- 10.6 D'Aoust, J.-Y., A. M. Sewell, M. A. Mozola *et coll.* 1997. Collaborative validation of the GENE-TRAK® colorimetric probe assay for the detection of foodborne *Salmonella* spp. (en préparation).
- 10.7 D'Aoust, J.-Y. et U. Purvis. 1997. Isolement et identification des *Salmonella* dans les aliments Direction générale de la protection de la santé MFHPB-20. **dans** : Compendium de méthodes, volume 2. Polyscience Publications Inc., Morin Heights (Québec).