



HAL
open science

Identification par PCR en temps-réel de 30 complexes clonaux de *Listeria monocytogenes* à partir d'extrait d'ADN d'échantillons abortifs de ruminants 1 : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES

Benjamin Felix, Karine Capitaine, Marc Hesseemann, Fanny Terraz-Laderriere, Bojan Papić, Maya Kavalič, Corinne Danan, Sophie Roussel

► **To cite this version:**

Benjamin Felix, Karine Capitaine, Marc Hesseemann, Fanny Terraz-Laderriere, Bojan Papić, et al.. Identification par PCR en temps-réel de 30 complexes clonaux de *Listeria monocytogenes* à partir d'extrait d'ADN d'échantillons abortifs de ruminants 1 : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES. Rencontres Nationales de Santé Publique Vétérinaire, Oct 2024, Strasbourg, France. anses-04717301

HAL Id: anses-04717301

<https://anses.hal.science/anses-04717301v1>

Submitted on 1 Oct 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



anses

EUURL Lm
European Union Reference Laboratory for
Listeria monocytogenes
http://eur-listeria.anses.fr

VF
UNIVERSITY OF LJUBLJANA
Veterinary Faculty
Doubs
le Département
Laboratoire
départementale vétérinaire
du Doubs (LVD 25)

Identification par PCR en temps-réel de 30 complexes clonaux de *Listeria monocytogenes* à partir d'extrait d'ADN d'échantillons abortifs de ruminants

B. Félix¹, M. Hessemann², K. Capitaine¹, F. Terraz-Laderriere², B. Papić³, M. Kavalič³, C. Danan¹, S. Roussel¹

1 : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), Laboratoire de sécurité sanitaire des aliments, unité *Salmonella* et *Listeria*, Laboratoire de référence de l'union Européenne pour *Listeria monocytogenes*, Maisons-Alfort, France.

2 : Laboratoire vétérinaire départemental du Doubs (LVD 25), Besançon, France

3 : Institut de microbiologie et de parasitologie, Faculté vétérinaire, Université de Ljubljana, Ljubljana, Slovénie

Introduction: *Listeria monocytogenes* (*Lm*) est une bactérie pathogène tellurique qui affecte les humains et les animaux, notamment les ruminants, via l'ingestion d'aliments contaminés. Les études de typage basées sur le «multilocus sequence typing» (MLST) révèlent que la plupart des souches sont rassemblées en quelques complexes clonaux majeurs (CCs) responsables de la plupart des cas humains et animaux dans le monde. A ce jour, l'identification des CCs nécessite entre 3 et 5 jours par séquençage. Une nouvelle méthode («Geno*Listeria* detect») a été développée pour son application sur des extraits d'ADN de tissu foetal et de placenta issus d'avortements listériens de ruminants. L'objectif de la méthode est de détecter des multi-contaminations par des souches de CCs différents et de déterminer la souche dominante au sein de l'échantillon. Nous décrivons ici les premiers résultats de validation de cette méthode.

Résultats:

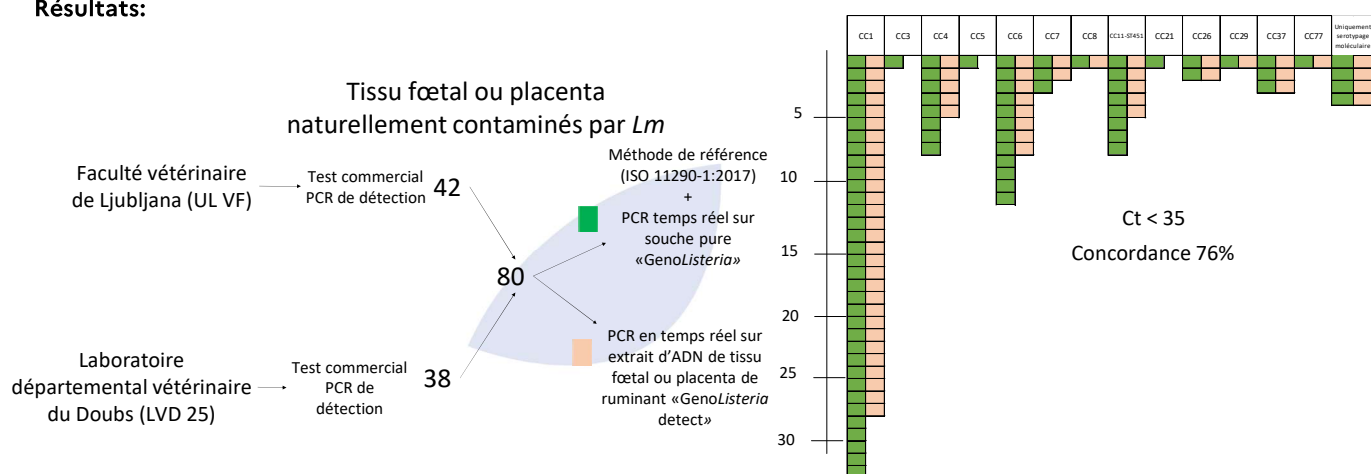


Figure: Origine des échantillons et concordance entre la méthode de référence basée sur l'isolement et le typage de souches pures et la méthode «Geno*Listeria* detect».

Discussion et conclusions: Cette étude montre la faisabilité d'une méthode PCR de détection directe sur matrice contaminée. Aucune détection multiple n'a été observée au sein des échantillons testés. La plupart des échantillons discordants avec la méthode de référence présentaient une très faible concentration d'ADN de *Lm* à l'étape de détection initiale du pathogène par des kits commerciaux (Ct > 35). La différence de limite de détection entre les deux approches sera précisée ultérieurement lors de la validation officielle de la méthode «Geno*Listeria* detect».

Matériels et méthodes: Les échantillons de tissus foetaux ou de placenta ont été extraits, soit en utilisant l'automate KingFisher à l'aide du kit MagMAX CORE Nucleic Acid Purification (Thermo Fisher Scientific) pour le LVD, soit par le kit iHelix complex (IMMT) pour le UL VF. Les ADN ont ensuite fait l'objet d'une détection de *Lm* par PCR en temps réel à l'aide du kit Bio-T *Listeria monocytogenes* (Biosellal) (LVD) ou du kit VetMAX Ruminant Abortion Screening Kit Multiplex detection (Thermo Fisher Scientific) pour le UL VF. Lorsque l'échantillon était positif par PCR, il a été cultivé selon la méthode de détection ISO 11290-1:2017. Lorsqu'une souche était détectée, elle a été isolée et typée suivant la méthode interne «Geno*Listeria*» (Félix et al. 2023, doi: 10.1128/spectrum.03954-22). Les souches bactériennes ont été extraites à l'aide de la méthode InstaGene Matrix (Bio-Rad) ou du kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen). L'analyse des extraits d'ADN de tissus foetaux ou de placenta a été réalisée à l'aide de «Geno*Listeria*» adaptée, avec les modifications suivantes: pré-amplification des extraits d'ADN à l'aide du kit PerfeCTa PreAmp SuperMix (Quantbio), puis une dilution des produits de pré-amplification au 1/10 avant analyse.