

STECTRACK

Validation de méthodes de recherche de nouveaux pathogènes émergents d' *Escherichia coli*

DURÉE DU PROJET
01/01/2007 – 31/01/2009

BUDGET
345.293 €

MOTS CLÉS
Détection de STEC, validation, PCR multiplex, IMS

CONTEXTE

La sécurité des aliments est un domaine d'importance mondiale. Les infections par des *Escherichia coli* productrices de Shigatoxines (STEC) posent un sérieux problème de santé publique. Ces bactéries extrêmement pathogènes peuvent provoquer l'apparition de différents symptômes, comme la diarrhée ou le syndrome hémolytique urémique (SHU). En routine, seule une méthode de détection du sérotype O157 sorbitol-négatif existe. Alors que d'autres sérotypes tels que O26, O103, O111, O145 et des O157 sorbitol-positifs sont responsables de 80% des hospitalisations suite à infection par les STEC et 23% des cas de SHU. Ces sérotypes également appelés STEC non-O157 sont considérés comme étant des pathogènes émergents. La mise au point d'une méthode de détection et d'isolement des STEC non-O157, objectif de ce projet, permettra aux autorités publiques de définir de nouvelles mesures préventives en vue d'améliorer la sécurité des aliments. Ce projet met également l'accent sur le concept de développement durable, dans le cadre duquel le principe de précaution est crucial.

DESCRIPTION DU PROJET

Objectifs

Ce projet vise à valider une procédure de détection et d'isolement de STEC non-O157 et de O157 sorbitol-positifs dans les denrées alimentaires, les échantillons animaux provenant de la ferme et les échantillons cliniques humains. Une méthode de détection et d'isolement de ces sérotypes a été développée au cours du précédent projet SPSD II (projets CP-02-581 et CP-43-582). Elle sera optimisée et validée au cours de ce projet.

Méthode

Les procédures d'enrichissement et les milieux d'isolement

développés au cours d'un projet SPSD II seront optimisés par l'Université de Gand. La préparation des milieux d'isolement sélectifs sera simplifiée et la limite de détection des STEC dans les matières fécales sera améliorée. Ces derniers seront, suite à un enrichissement sélectif, isolés par séparation immunomagnétique puis étalés sur un milieu sélectif.

Un protocole PCR multiplex et le typage par PFGE (pulsed field gel electrophoresis) selon le protocole de Pulsenet Europe seront implémentés. Une PCR multiplex de 25 amplicons, mise au point par l'UA-VIB (VIB8) sera utilisée pour la caractérisation de l'espèce et l'identification du sérotype à partir d'une collection de souches cliniques humaines disponible au centre de référence STEC belge à l'Hôpital Académique de Bruxelles (UZ Bruxelles). De plus, un protocole PFGE sera appliqué par l'ILVO-T&V. Les profils seront analysés, regroupés et mis en ligne dans la banque de données PNE. Cette banque de données accessible dans le monde entier facilite l'identification précoce d'épidémies. L'UA-VIB va aussi mettre au point des PCR multiplex pour la détection des sérotypes et des gènes de virulence. Ces PCR multiplex seront optimisées par l'ILVO-T&V pour l'analyse d'échantillons comme le lait, le fromage, la viande et la matière fécale de bovin.

Une fois optimisées les méthodes de détection et d'isolement seront évaluées sur échantillons humains par l'UZ Bruxelles. Tester la méthode sur des échantillons de matière fécale humaine permettra d'évaluer la faisabilité de son utilisation en routine dans les laboratoires cliniques.

Enfin, l'entièreté du protocole d'isolement des STEC sera validée au cours d'une étude interne réalisée par l'Université de Gand et l'ILVO-T&V. Différents types d'échantillons seront inoculés avec différents niveaux de souches de sérotypes O26, O103, O111, O145, et O157 sorbitol-positifs. Dans une seconde phase, la méthode d'isolement sera validée au niveau interlaboratoire. Cette étude sera coordonnée par l'Université de Liège. Le protocole de validation et l'évaluation des résultats se fera conformément à l'ISO 16140.



STECTRACK

Validation de méthodes de recherche de nouveaux pathogènes émergents d' *Escherichia coli*

INTERACTION ENTRE LES DIFFÉRENTS PARTENAIRES

Les interactions entre les différents partenaires sont expliquées en détail dans la partie méthode.

Liens avec des programmes internationaux

Aucune collaboration spécifique avec d'autres programmes scientifiques n'est prévue, mais des laboratoires impliqués dans la recherche sur les STEC situés hors de la Belgique participeront à l'étude interlaboratoire. La participation de ces laboratoires étrangers aidera à diffuser largement l'existence de la nouvelle méthode. De fréquents contacts avec les laboratoires internationaux confrontés aux difficultés de détecter des STEC nous permettra de discuter les procédures employées. Une large diffusion pourra encourager l'utilisation de cette méthode d'isolement comme base au développement d'une méthode normalisée pour la recherche de sérotypes

spécifiques de STEC par les organisations internationales que sont le CEN et l'ISO.

RÉSULTATS ET/OU PRODUITS ESCOMPTÉS

Avant tout nous escomptons une optimisation des procédures d'enrichissement et des milieux d'isolement telle qu'une limite de détection d'1 ufc par gramme d'échantillon soit atteinte pour les différentes matrices. Dans un deuxième temps une collection de souches cliniques seront caractérisées et les profils PFGE obtenus seront mis en ligne dans la base de données PNE. Ensuite, seront mises au point une méthode de recherche pour l'analyse d'échantillons et une méthode de routine de recherche et d'isolement à partir des échantillons de matière fécale humaine à destination des laboratoires cliniques. Enfin une validation interne suivie d'une étude interlaboratoire valideront la méthode de détection des STEC.

PARTENAIRES - ACTIVITÉS

- L'Université de Gand a de l'expérience avec les méthodes de microbiologie classiques et dans la recherche sur la contamination de la viande et des échantillons d'abattoir.
- ILVO, T&V a de l'expérience en microbiologie moléculaire et dans les méthodes de taxonomie bactérienne, y compris les outils de typage moléculaire. L'institut bénéficie également d'une grande expérience en qualité du lait et des produits laitiers.
- UA-VIB8 a de l'expérience dans la mise à point d'outils moléculaires et a développé un algorithme pour

la création de PCR multiplex complexes.

- L'UZ Bruxelles a de l'expérience dans la diagnostic humain clinique et joue le rôle de laboratoire de référence belge pour les STEC. Ce partenaire a accès à des échantillons cliniques humains et possède une collection d'isolats humains cliniques remontant à plusieurs années.
- L'Université de Liège a de l'expérience dans la validation de méthodes de microbiologie et dans l'organisation d'études microbiologiques interlaboratoires au niveau national et international.

COORDONNÉES

Coordinateur

Lieven De Zutter

Universiteit Gent
Faculty of Veterinary Medicine
Department of Veterinary Public Health & Food Safety
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke
Tel: +32 (0)9 264 74 51
Fax: +32 (0)9 264 74 91
lieven.dezutter@ugent.be
<http://www.vvv.ugent.be/>

Promoteurs

Lieve Herman, Marc Heyndrickx & Koen De Reu I

Instituut voor Landbouw en Visserijonderzoek (ILVO)
Technology and Food Unit
Brusselsesteenweg 370, B-9090 Melle
Tel: +32 (0) 9 272 30 00
Fax: +32 (0)9 272 30 01
lieve.herman@ilvo.vlaanderen.be
<http://www.ilvo.vlaanderen.be/TenV/>

Jurgen Del-Favero

Universiteit Antwerpen (UA)
Applied Molecular Genomics Group
VIB Department of Molecular Genetics (UA-VIB)
Universiteitsplein 1 - Building V
B-2610 Antwerpen
Tel: +32 (0)3 265 10 32
Fax: +32 (0)3 265 10 12
jurgen.delfavero@ua.ac.be
<http://www.molgen.ua.ac.be/> & <http://www.vibgeneticservicefacility.be/>

Denis Piérard

Universitair Ziekenhuis Brussel (UZ Brussel, formerly Academisch Ziekenhuis)
Vrije Universiteit Brussel AZ-VUB)
Laboratory for Microbiology
Laarbeeklaan 101, B-1090 Brussels
Tel: 32 (0)2 477 50 02
Fax: +32 (0)2 477 50 15
denis.pierard@uzbrussel.be
<http://www.uzbrussel.be/>

Georges Daube

Université de Liège
Faculty of Veterinary science
Sart-Tilman, B43b, B-4000 Liège
Tel: +32 (0)4 366 40 15
Fax: +32 (0)4 366 40 16
georges.daube@ulg.ac.be
<http://www.mdaoa.be>

Comité de suivi

Pour la composition complète et la plus à jour du Comité de suivi, veuillez consulter notre banque de données d'actions de recherche fédérales (FEDRA) à l'adresse <http://www.belspo.be/fedra> ou <http://www.belspo.be/ssd>.

