

**Procédure de l'OIE pour la validation et la certification des épreuves de diagnostic
Approbation par l'OIE d'une demande de nouveau protocole abrégé
pour Check&Trace Salmonella (CTS)**

Résumé des études de validation : Données complémentaires

Nom du kit de diagnostic : Check&Trace Salmonella
Fabricant : Check-Points B.V.

Table des matières

Informations générales sur Check&Trace Salmonella.....	53
1. Informations générales sur Check&Trace Salmonella	53
2. Résumé des études de validation complémentaires	54
2.1 Contexte.....	54
2.2 Objectifs de cette étude	54
2.3 Matériel et méthodes.....	55
2.4 Résultats : étude de comparaison des protocoles	55
2.4.1 Comparaison de la sensibilité des deux protocoles pour l'identification des serovars de <i>Salmonella</i>	55
2.4.2 Étude de répétabilité du protocole abrégé.....	56
3. Conclusions.....	57
4. Références bibliographiques	57

Informations générales sur Check&Trace Salmonella

Maladie : Salmonellose

Agent pathogène : *Salmonella* spp.

Type d'épreuve : Le kit Check&Trace Salmonella (CTS) consiste en une réaction multiplex LDR PCR suivie d'une détection sur micropuce de diagnostic.

Objectif de l'épreuve : Destiné à la confirmation (moléculaire) rapide et au sérotypage de *Salmonella* spp. des 22 sérotypes suivants (en utilisant un protocole de test abrégé) :

Agona, Anatum, Bredeney, Derby, Dublin, Enteritidis, Hadar, Heidelberg, Indiana, Infantis, Kottbus, Mbandaka, Montevideo, Newport, Paratyphi B, Paratyphi B v. Java, Saintpaul, Senftenberg, Tennessee, Typhimurium (et son variant monophasique 1,4,[5],12:i:-) et Virchow.

Espèces et échantillons : pour les espèces, se reporter à la rubrique « Objectif de l'épreuve » ci-dessus. Ce test peut être utilisé pour confirmer et identifier les souches suspectées d'appartenir au genre *Salmonella*. Les isolats peuvent avoir été obtenus au moyen d'une variété de tests courants pour les *Salmonella*.

En cas d'utilisation de la méthode ISO pour les *Salmonella* (ISO 6579), les isolats doivent provenir d'une culture pure sur gélose nutritive (étape 9.5.2 de la norme ISO) pour confirmer le genre *Salmonella* et effectuer le typage par CTS.

Le milieu sur lequel ils sont cultivés n'a pas d'importance. La validation a été réalisée à l'aide d'une gélose non sélective (gélose nutritive), mais le résultat du test est indépendant du milieu employé (voir référence : A. Brisabois – Med-Vet-Net juin 2008).

Seules des cultures pures peuvent être soumises au typage par CTS. Si un même isolat contient deux souches, le test indiquera un genovar inconnu combinant les résultats de deux sérotypes différents. La culture doit être purifiée avant de répéter le typage par CTS. Si CTS donne à nouveau un genovar inconnu, il est recommandé d'envoyer la culture à un laboratoire de référence pour le sérotypage, parce que le sérotype ne figure probablement pas dans la base de données de CTS.

Une nouvelle culture des souches doit être effectuée avant le test. Les conditions habituelles de conservation à long terme et d'expédition applicables aux *Salmonella* doivent être respectées.

1. **Informations sur le kit** : pour obtenir des informations générales sur le kit, écrire à info@check-points.com. Les questions plus techniques peuvent être envoyées à serovar@check-points.com.

2. Résumé des études de validation complémentaires

2.1 Contexte

Check&Trace Salmonella (CTS) est un kit de diagnostic moléculaire assurant un sérotypage rapide et fiable des *Salmonella*. Après une validation approfondie, CTS a obtenu le certificat de l'OIE en 2011. Ce document fournit des données complétant celles de l'étude de validation initiale, dans le but de réviser les instructions d'utilisation pour le kit tel qu'enregistré auprès du Secrétariat de l'OIE pour l'enregistrement des kits de diagnostic. Les expériences reprises dans ce document démontrent que l'adoption du protocole abrégé n'entraîne aucune différence observable des performances du kit (c.-à-d. sensibilité et répétabilité).

2.2 Objectifs de cette étude

Cette étude avait pour objectif de fournir des données de validation supplémentaires pour Check&Trace Salmonella (CTS). Elle a comparé de nouvelles instructions d'utilisation abrégées aux instructions d'utilisation d'origine précédemment approuvées pour le kit. En modifiant plusieurs étapes de l'ensemble des instructions d'utilisation, ce nouveau protocole abrégé permet de gagner 59 minutes par rapport aux instructions d'utilisation d'origine (voir Tableau 1).

Tableau 1 : Liste des modifications du protocole

	Protocole normal	Protocole abrégé	Gain de temps
Lyse	15 min	5 min	10 min
A	24 x 5 min	25 x 4 min	20 min
B	45 min	30 min	15 min
C	Inchangée	Inchangée	
D: 1^{er} lavage	2 x 2 min	2 x 1 min	2 min
D: 1^{er} blocage	5 min	3 min	2 min
D: 2^e blocage	10 min	5 min	5 min
D: Conjugaison	15 min	12 min	3 min
D: 2^e lavage	2 x 2 min	2 x 1 min	2 min
			59 min

2.3 Matériel et méthodes

Cette étude a été réalisée en utilisant le kit CTS et toutes ses composantes, comme décrit dans l'étude de validation initiale de l'OIE (2011) et dans le manuel de CTS. Toutes les expériences de cette étude ont été effectuées à l'aide d'un même lot de ces composantes.

2.4 Résultats : étude de comparaison des protocoles

2.4.1 Comparaison de la sensibilité des deux protocoles pour l'identification des serovars de *Salmonella*

Le premier objectif de cette étude était de comparer la sensibilité des deux protocoles pour l'identification correcte des serovars de *Salmonella*. Les isolats utilisés pour cette étude ont été sérotypés d'après le schéma de White-Kauffmann-Le Minor dans un laboratoire de référence accrédité. Vingt-deux sérotypes uniques représentés par 110 souches ont été sélectionnés dans ce but (Tableau 2). Chaque souche a été testée deux fois, pour un total de 220 tests indépendants. Une synthèse des résultats est présentée dans le Tableau 3, qui permet de tirer les conclusions suivantes : des résultats corrects ont été obtenus pour 110 tests sur 110 (100 %) avec le protocole normal et 110 tests sur 110 (100 %) avec le protocole abrégé.

Tableau 2 : Liste des serovars utilisés pour l'étude

Sérotype approuvé lors de la soumission initiale à l'OIE (2011)	Sérotype	Inclus dans cette étude	Nombre de souches
1,4,[5],12:i:-	1	Oui	5
Agona	2	Oui	5
Anatum	3	Oui	5
Bredeney	4	Oui	5
Derby	5	Oui	5
Dublin	6	Oui	5
Enteritidis	7	Oui	5
Hadar	8	Oui	5
Heidelberg	9	Oui	5
Indiana	10	Oui	5
Infantis	11	Oui	5
Kottbus	12	Oui	5
Mbandaka	13	Oui	5
Montevideo	14	Oui	5
Newport	15	Oui	5
Paratyphi B	16	Oui	5
Paratyphi B v. Java	17	Oui	5
Saintpaul	18	Oui	5
Senftenberg	19	Oui	5
Tennessee	20	Oui	5
Typhimurium	21	Oui	5
Virchow	22	Oui	5
	Total		110

Tableau 3 : Comparaison de la sensibilité du protocole normal (PN) et du protocole abrégé (PA) pour les différents sérotypes

Sérotype KW	Nombre de souches	Nombre de tests	Résultats corrects, PN	Résultats corrects en %, PN	Résultats corrects, PA	Résultats corrects en %, PA
1,4,[5],12:i:-	5	5	5	100%	5	100%
Agona	5	5	5	100%	5	100%
Anatum	5	5	5	100%	5	100%
Bredeney	5	5	5	100%	5	100%
Derby	5	5	5	100%	5	100%
Dublin	5	5	5	100%	5	100%
Enteriditis	5	5	5	100%	5	100%
Hadar	5	5	5	100%	5	100%
Heidelberg	5	5	5	100%	5	100%
Indiana	5	5	5	100%	5	100%
Infantis	5	5	5	100%	5	100%
Kottbus	5	5	5	100%	5	100%
Mbandaka	5	5	5	100%	5	100%
Montevideo	5	5	5	100%	5	100%
Newport	5	5	5	100%	5	100%
Paratyphi B	5	5	5	100%	5	100%
Paratyphi B v. Java	5	5	5	100%	5	100%
Saintpaul	5	5	5	100%	5	100%
Senftenberg	5	5	5	100%	5	100%
Tennessee	5	5	5	100%	5	100%
Typhimurium	5	5	5	100%	5	100%
Virchow	5	5	5	100%	5	100%
Total	110	110	110	100%	110	100%

2.4.2 Étude de répétabilité du protocole abrégé

Les 22 serovars uniques utilisés dans l'étude de sensibilité ont également été employés pour déterminer la répétabilité du protocole abrégé. Les isolats utilisés pour cette étude ont été sérotypés d'après le schéma de White-Kauffmann-Le Minor dans un laboratoire de référence accrédité. Les tests ont été effectués par trois techniciens, qui ont suivi des protocoles de test standardisés. Les résultats sont indiqués dans le Tableau 4. Chaque souche a été testée au moins deux fois par chaque technicien. Tous les techniciens ont obtenu 100 % de résultats corrects pour toutes les souches testées.

Tableau 4 : Comparaison des techniciens utilisant le protocole abrégé

Sérotype KW	Nbre souches	Technicien A			Technicien B			Technicien C		
		Nbre tests	Résultats corrects	Résultats corrects en %	Nbre tests	Résultats corrects	Résultats corrects en %	Nbre tests	Résultats corrects	Résultats corrects en %
1,4,[5],12:i:-	5	5	5	100%	3	3	100%	3	3	100%
Agona	5	5	5	100%	3	3	100%	3	3	100%
Anatum	5	5	5	100%	3	3	100%	3	3	100%
Bredeney	5	5	5	100%	3	3	100%	3	3	100%
Derby	5	5	5	100%	3	3	100%	3	3	100%
Dublin	5	5	5	100%	3	3	100%	3	3	100%
Enteritidis	5	5	5	100%	3	3	100%	3	3	100%
Hadar	5	5	5	100%	3	3	100%	3	3	100%
Heidelberg	5	5	5	100%	3	3	100%	3	3	100%
Indiana	5	5	5	100%	3	3	100%	3	3	100%
Infantis	5	5	5	100%	3	3	100%	3	3	100%
Kottbus	5	5	5	100%	2	2	100%	2	2	100%
Mbandaka	5	5	5	100%	2	2	100%	2	2	100%
Montevideo	5	5	5	100%	2	2	100%	2	2	100%
Newport	5	5	5	100%	2	2	100%	2	2	100%
Paratyphi B	5	5	5	100%	2	2	100%	2	2	100%
Paratyphi B v. Java	5	5	5	100%	2	2	100%	2	2	100%
Saintpaul	5	5	5	100%	2	2	100%	2	2	100%
Senftenberg	5	5	5	100%	2	2	100%	2	2	100%
Tennessee	5	5	5	100%	2	2	100%	2	2	100%
Typhimurium	5	5	5	100%	2	2	100%	2	2	100%
Virchow	5	5	5	100%	2	2	100%	2	2	100%
Total	110	110	110	100%	55	55	100%	55	55	100%

3. Conclusions

Cette étude n'a pas mis en évidence de différence observable des performances du kit (en matière de sensibilité et de répétabilité) lorsque les échantillons ont été testés selon le protocole initialement soumis (protocole normal) et selon le nouveau protocole (protocole abrégé). Le protocole abrégé permet aux techniciens de gagner 59 minutes lors du test par CTS, avec les avantages que cela suppose pour l'organisation du travail.

4. Références bibliographiques

- Diep B., Barretto C., Portmann A., Fournier C., Karczmarek A., Voets G., Li S., Deng X., Klijn A. Salmonella Serotyping; Comparison of the Traditional Method to a Microarray-Based Method and an in silico Platform Using Whole Genome Sequencing Data *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10 (2554), pp. 1-8.
- Brisabois A. Fremy S, Moury F, Marault M, van Santen R, Dekker A, Fabre JM, Vos P, de Goeijen F. The Effect of the Culture Medium on the Performance of the Premi®Test Salmonella: A Multiplex Molecular Serotyping Test using a DNA Microarray System. Présenté à la 4^e réunion Med-Vet-Net, 11-14 juin 2008, Saint-Malo, France.

