

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة

THESE DE DOCTORAT ES SCIENCES

Spécialité : SCIENCES VETERINAIRES

Option : HYGIENE ET SECURITE DES ALIMENTS

THEME

**ETUDE DE LA PREVALENCE, DE LA SENSIBILITE
AUX ANTIBIOTIQUES ET CARACTERISATION
MOLECULAIRE DES SOUCHES DE *LISTERIA* ISOLEES
DANS LES VIANDES DE VOLAILLES DANS LA
REGION D'ALGER**

SOUTENUE PAR : Dr LEILA BOUAYAD

MEMBRES DU JURY :

Président : Mr HAMDY PACHA Y.	Professeur (ENSV)
Directeur de thèse : Mr NAIM M.	Professeur (HCA)
Co-Directeur de thèse : Mr HAMDY T.M.	Professeur (ENSV)
Examineurs : Mr BELOUNI R.	Professeur (CHU Blida)
M ^{elle} BOUKHORS K.	Professeur (ENSV)
Mr BENDEDDOUCHE B.	Professeur (ENSV)

Année universitaire : 2012/2013

DEDICACES

A

Mes parents

Que ce travail soit le témoignage de ma gratitude
pour toutes ces années de bienveillances et de
soutiens

Remerciements :

Mes remerciements vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

A mon Directeur de thèse : Professeur Naim Malek : Chef de service de microbiologie au HCA de Ain Naadja , qui a accepté de m'encadrer, qui m'a ouvert avec bienveillance les portes de son laboratoire de microbiologie à l'Hôpital Central de l'Armée, où a été réalisée la majeure partie de ce travail et qui m'a accompagné sans relâche durant mon travail. Trouvez ici l'expression de ma gratitude

A mon Co- Directeur de thèse : Professeur Hamdi Taha Mossadak (ENSV) qui a su me remettre sur les rails à chaque fois que je m'y éloignais, je ne vous remercierai jamais assez pour votre gentillesse, patience, disponibilité et précieuses remarques et orientations. Grand MERCI.

Au Pr Hamdi Pacha Youcef : Directeur de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, pour avoir accepté de présider l'honorable jury, Ma profonde gratitude.

Au Pr Belouni Rachid : Chef de service de microbiologie au CHU de Blida et l'un des premiers scientifiques algériens à avoir travaillé sur *Listeria*, pour avoir accepté de juger ce travail, trouvez ici une continuité à ce que vous avez commencé.

Au Pr Boukhors Karima (ENSV), pour avoir accepté de faire partie du jury, croyez en mes sincères considérations.

Au Pr Bendeddouche Badis (ENSV), pour m'avoir honoré de sa participation au jury, mon profond respect

A mes ex collègues du BHC de Dar El Beida, qui m'ont soutenu, aidé et supporté durant toutes les années passées à réaliser ce travail, en particulier Monsieur Aichour Lahcen.

A tous les éléments du staff technique du laboratoire de microbiologie de l'HCA, un clin d'œil particulier à l'équipe de garde.

A Louisa du laboratoire d'HIDAOA de l'ENSV.

A mes collègues vétérinaires de l'Inspection Vétérinaire de la wilaya d'Alger pour leur aide, en particulier ceux responsables des abattoirs avicoles sujets de cette étude.

Je n'oublierai pas de remercier vivement, les propriétaires des abattoirs avicoles, dont je tairai les noms pour raison d'anonymat, qui m'ont ouvert leurs abattoirs où a été réalisé cette étude.

A Monsieur Mohamdioua Ammar.

A messieurs Idir Akli, Mustapha, Saadi et Faouzi

A mon amie Amel Bouabdellah

A ma tante fettouma et son mari Monsieur Alek Slimane .

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE :

INTRODUCTION

CHAPITRE I : HISTORIQUE.

1

CHAPITRE II : BACTERIOLOGIE DE *L. MONOCYTOGENES*.

II-1 TAXONOMIE.....	3
II-2 CARACTERES GENERAUX DES ESPECES DU GENRE LISTERIA	4
II-2-1 CARACTERES MORPHOLOGIQUE DU GENRE LISTERIA.....	4
II-2-2 CARACTERES CULTURAUX	4
II-2-3 CARACTERES BIOCHIMIQUES.....	8
II-3 TYPAGE PHENOTYIQUE ET GENOTYPIQUE DES SOUCHES.....	11
II-4 METHODES D'ISOLEMENT, D'IDENTIFICATION ET DE CARACTERISATION MOLECULAIRE.....	14

CHAPITRE III : ECOLOGIE DE *L. MONOCYTOGENES* :

III-1 HABITAT NATUREL	22
III-2 RESERVOIRS ANIMAUX ET HUMAINS.....	24
III-3 MODES DE CONTAMINATION.....	26

CHAPITRE IV : *L. MONOCYTOGENES* ET DENREES ALIMENTAIRES :

IV-1 VIANDES ET PRODUITS CARNES.....	28
IV-2 LAITS ET PRODUITS LAITIERES.....	32
IV-3 PRODUITS DE LA PECHE.....	33
IV-4 PRODUITS PRETS A CONSOMMER.....	33

CHAPITRE V : POUVOIR PATHOGENE :

V-1 MECANISMES D'INFECTION.....	34
V-2 FACTEURS DE VIRULENCE DE <i>L. MONOCYTOGENES</i>	35
V-3 PORTE D'ENTREE DIGESTIVE.....	37
V-4 MULTIPLICATION HEPATIQUE.....	37
V-5 CONTROLE DE L'INFECTION PAR LE SYSTEME IMMUNITAIRE.....	37

CHAPITRE VI : ETUDE CLINIQUE DE LA LISTERIOSE.

VI-1 MALADIE CHEZ L'ANIMAL.....	39
VI-1-1 FORMES CLINIQUES.....	39
VI-1-2 MODES DE TRANSMISSION.....	40
VI-1-3 DIAGNOSTIC.....	40

VI -1-4 TRAITEMENT.....	41
VI -1-5 PREVENTION.....	41
VI -2 MALADIE CHEZ L'HOMME.....	41
VI -2-1 LES FORMES CLINIQUES.....	42
VI -2-2 DOSE INFECTIEUSE MINIMALE.....	44
VI -2-3 MODES DE TRANSMISSION.....	45
VI -2-4 DIAGNOSTIC.....	46
VI -2-5 TRAITEMENT.....	47
VI -2-6 PREVENTION.....	47
CHAPITRE VII : SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES.....	48

PARTIE EXPERIMENTALE :

I- MATERIELS ET METHODES :

I-1 MATERIELS:	50
I-1-1 ECHANTILLONNAGE.....	50
I -1-2 REACTIFS.....	54
I -1-3 MATERIELS.....	56
I- 2 METHODES :	
I.2.1. METHODES MICROBIOLOGIQUES :.....	57
I.2.1.1. METHODE DE DENOMBREMENT (METHODE QUANTITATIVE)....	57
I.2.1.2. METHODE DE RECHERCHE (METHODE QUALITATIVE).....	59
I.2.1.3. CONFIRMATION BIOCHIMIQUE.....	61
I.2.1.4. CAMP TEST.....	61
I-2-1-5 ANTIBIOGRAMME ET ETUDE DE LA CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE (CMI) DES SOUCHES <i>DE L. MONOCYTOGENES</i>	63
I.2.2. PHENOTYPAGE PAR – MULTIPLEX POLYMERASE CHAIN REACTION (MULTIPLEX PCR).....	64
I.2.3.PULSOTYPAGE (PFGE).....	65
II RESULTATS :	65
III DISCUSSION :	104

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

LISTE DES ABREVIATIONS :

ADN	: Acide DésoxyriboNucléique
AFNOR	: Agence Française de Normalisation.
AFSSA	: Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.
AM/PM	: Anté Meridiem/Post Meridiem
API	: Analytic Prophylactic Index
ARNr	: Acide RiboNucléique Ribosomal
ATCC	: American Type Culture Collection.
Aw	: Activity of Water
BET	: Bromure d'Ethidium.
CAC/GL	: Codex Alimentarius Commission/Guidelines
CAMP	: Christie-Atkins-Munch-Peterson.
CASFM	: Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
CDC	: Centers for Disease Control
CE	: Communauté Européenne
UFC	: Unités Formant Colonies
CLIP	: Collection Listeria Institut Pasteur
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute.
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
CNR	: Centre National de Référence
CCOMS	: Centre Collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé
DLC	: Date Limite de Consommation.
DMI	: Dose Minimale Infectieuse
EFSA	: European Food Safety Authority
EN	: European Norm
ESP	: EDTA-sodium lauryl sarcosine buffer with proteinase K
FAO	: Food and Agriculture Organisation
G+C	: Guanine - cytosine
IPA	: Institut Pasteur d'Algérie
IPP	: Institut pasteur Paris.
ISO	: International Organisation for Standardisation
IVWA	: Inspection Vétérinaire de la Wilaya d'Alger
JO	: Journal officiel
kb	: kilobase
kDa	: Kilo Dalton
Kgy	: Kilo Gray
MPa	: Mega Pascal
NF	: Norme Française
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
PCR	: Polymerase Chain Reaction.
RTE	: Ready-To-Eat
SIAL	: Salon International de l'Agro-Alimentaire
TBE	: Tris, Borique acide, EDTA
TE	: Tris -EDTA
TIFF	: Tag Image File Format.
UFC	: Unité Formant Colonie
HT	: Ultra Haute Température
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages

LISTE DES TABLEAUX:

Tableau n°1: Interprétation des réactions du Camp-test pour différencier les espèces de <i>Listeria</i> ...	5
Tableau n°2: Temps approximatif nécessaire à une population de <i>L. monocytogenes</i> de souche courante pour passer de 10 à 100 cellules en fonction de la température, du pH et de la teneur en sel	6
Tableau n°3: Caractères d'identification du genre <i>Listeria</i>	8
Tableau n°4: Caractères différentiels entre <i>Listeria</i> et bactéries	9
Tableau n°5: Caractères de différenciation entre six genres de bacilles à Gram positif et le genre <i>Listeria</i>	10
Tableau n°6: Caractères antigéniques des serovars de <i>Listeria</i>	12
Tableau n°7: Différentes méthodes bactériologiques de recherche de <i>L. monocytogenes</i>	16
Tableau n°8: Méthodes normalisées et alternatives de détection des <i>Listeria</i> dans les denrées alimentaires	18
Tableau n°9: Avantages et inconvénients des différentes méthodes rapides de détection des <i>Listeria</i> dans les denrées alimentaires.....	21
Tableau n°10: Survie des <i>Listeria</i> dans l'environnement.....	22
Tableau n°11: Prévalence de <i>Listeria spp</i> et <i>L. monocytogenes</i> dans différents types de viandes...	31
Tableau n°12: Sensibilité des <i>Listeria</i> aux antibiotiques selon le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM) novembre 1999.....	49
Tableau n°13 : Capacités de production des unités d'abattage.....	50
Tableau n°14 : Méthodes de découpe des produits carnés dans les grandes surfaces de commerciale	53
Tableau n°15 : Répartition des échantillons dans les unités d'abattage.....	54
Tableau n°16 : Répartition des échantillons dans les grandes surfaces.....	54
Tableau n°17 : Prévalence globale des <i>Listeria</i> isolées à partir de volaille fraîche et produits carnés à base de viande de volaille.....	68
Tableau n°18 : Echantillons positifs ou négatifs à <i>Listeria</i> suite à l'enrichissement.....	69
Tableau n°19 : Prévalence de <i>Listeria spp</i> dans les abattoirs de volaille de la wilaya d'Alger.....	70
Tableau n°20: Répartition des échantillons contaminés par <i>Listeria</i> selon le lieu de prélèvement Unité A.....	72
Tableau n°21 : Prévalence des <i>Listeria</i> dans l'unité d'abattage « B ».....	73
Tableau n°22 : Prévalence des <i>Listeria</i> dans l'unité d'abattage C.....	74
Tableau n°23 : Répartition géographique des échantillons de volaille contaminés par <i>Listeria</i> ...	76
Tableau n°24 : Résultats de la recherche et du dénombrement des <i>Listeria</i> dans les produits carnés à base de volailles.....	77
Tableau n°25: Résultats des antibiogrammes des différentes souches de <i>L.monocytogenes</i> isolées	79/80
Tableau n°26 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des antibiotiques testés sur les souches de <i>L. monocytogenes</i>	81
Tableau n°27: Résultats des antibiogrammes de quelques souches de <i>L. innocua</i> testées.....	83
Tableau n°28 : Sérogroupage des souches de <i>L. monocytogenes</i> isolées.....	84
Tableau n°29. Répartition des sérogroupes par unité d'abattage.....	85
Tableau n°30. Répartition géographique des sérogroupes identifiés.....	86
Tableau n°31: Pulsotypes des souches de <i>L. monocytogenes</i> isolées, après macrorestriction par l'enzyme AscI.....	88
Tableau n°32: Pulsotypes des souches de <i>L. monocytogenes</i> isolées, après macrorestriction par l'enzyme ApaI.....	92
Tableau n°33 : Répartition des génotypes selon les sérogroupes.....	99
Tableau n°34: Sérotypes et profils PFGE des souches provenant du même échantillon.....	100
Tableau n°35 : Répartition des génotypes par unités d'abattage.....	100
Tableau n°36: Répartition géographique des profils génétiques.....	102

LISTE DES FIGURES :

Figure N°1 : Relation des <i>L. monocytogenes</i> avec l'environnement et le groupe des personnes à risque	25
Figure N°2 : Cycle intracellulaire et facteurs de virulences de <i>L. monocytogenes</i>	35
Figure N°3: Schéma du CAMP test.....	62
Figure N°4. Prévalence globale des <i>Listeria spp</i> isolées des échantillons testés.....	68
Figure N°5 : Pourcentage des échantillons positifs / négatifs à <i>Listeria</i> après enrichissement....	70
Figure N°6 : Prévalence des <i>Listeria</i> dans les volailles fraîches dans les abattoirs d'Alger.....	71
Figure N°7: Contamination à <i>Listeria</i> par lieu de prélèvement dans l'unité d'abattage	72
Figure N°8 : Prévalence et répartition des <i>Listeria</i> selon le lieu de prélèvement des échantillons dans l'unité B.....	73
Figure N°9: Prévalence et répartition des <i>Listeria</i> selon le lieu de prélèvement de l'échantillon dans l'unité C.....	75
Figure N°10 : Répartition géographique des échantillons contaminés à <i>Listeria</i>	76
Figure N°11 : Prévalence globale des <i>Listeria</i> dans les produits carnés à base de viandes de volaille	77
Figure N°12 : Valeurs des CMI des antibiotiques testés sur <i>L. monocytogenes</i>	82
Figure N° 13 : Sérogroupes des <i>L. monocytogenes</i> isolées.....	85
Figure N°14 : Prevalence des sérogroupes selon la région d'origine des volailles vivantes.....	86
Figure N°15 : Prévalence des Profils de restriction combinée des enzymes ApaI et AscI.....	98
Figure N°16 : Taux d'apparition des trois profils génétiques identifiés dans l'unité A.....	101
Figure N° 17: Taux d'apparition des quatre profils génétiques identifiés dans l'unité B.....	101
Figure N°18 : Prévalence des profils génétiques dans l'unité d'abattage C.....	102

LISTE DES PHOTOGRAPHIES :

Photo N°1 : CAMP TEST.....	62
Photo N°2 : Détermination des CMI par la technique des E-test.....	63
Photo N°3 : Différents profils obtenus par PCR multiplex et sérogroupes correspondant.....	65
Photo N°4 : Photo du gel d'électrophorèse des fragments d'ADN	83
Photo N°5 : Profils de restriction par l'enzyme AscI et leurs dendrogrammes	87
Photo N°6 : Profils de restriction par l'enzyme ApaI et leurs dendrogrammes	91
Photo N°7 : Profils de restriction combinés des enzymes ApaI Et AscI des 26 Isolats.....	97

PREMIERE PARTIE :

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION :

Les nombreuses crises sanitaires telles la maladie de la « vache folle » dans les années 1990 ou la crise du "poulet à la dioxine" en 1999 avec leurs conséquences socio-économiques ont profondément modifié les modalités de gestion et de communication relatives aux risques pour les consommateurs, ainsi que les rapports entre professionnels de l'élevage, industriels de l'agro-alimentaire, pouvoirs publics et société civile. La maîtrise de la sécurité sanitaire des aliments est devenue depuis, l'une des préoccupations de santé publique majeure de tous les pouvoirs publics, aussi bien dans les pays en développement que dans les pays développés. Les risques d'origine alimentaire pour le consommateur peuvent être liés à des dangers de nature biologique, chimique ou physique.

L'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) ont mis au point dès 1991, une nouvelle approche appelée « l'analyse des risques » afin d'évaluer les relations possibles entre les dangers présents dans la filière alimentaire et les risques avérés pour la santé humaine. La Communauté Européenne considère que le contrôle des maladies infectieuses d'origine alimentaire passe par la maîtrise des dangers biologiques qui en sont responsables, entendus ici comme des « agents [...] présents dans un aliment [...] pouvant avoir un effet néfaste sur la santé » (règlement (CE) 178/2002¹), et ce à tous les niveaux de la chaîne alimentaire.

Parmi les nombreux dangers biologiques d'origine alimentaire (*Salmonella*, *Escherichia-coli* 0157 H7, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *virus de l'hépatite* ...) représentant un risque d'ordre sanitaire pour le consommateur et parfois une entrave au commerce international de produits alimentaires, notre choix s'est porté sur les *Listeria* en général et sur *Listeria monocytogenes* en particulier pour contribuer à enrichir la base de donnée sur les souches alimentaires initiée par de nombreux scientifiques algériens, pour attirer l'attention des autorités sanitaires sur le danger *Listeria* sur la santé du consommateur et pour approfondir les investigations épidémiologiques en donnant à chaque souche isolée une empreinte génétique qui permettra de l'impliquer ou non dans l'apparition des cas sporadiques ou épidémique de listériose humaine.

L. monocytogenes est reconnue depuis plus de trois décennies comme étant un agent pathogène transmis par la nourriture, des plus importants dans les pays industrialisés. Causant la listériose, une infection certainement rare mais avec des taux de mortalités qui peuvent atteindre les 30% chez les personnes atteintes (Farber et Peterkin, 1991). Les *Listeria* causent des infections à morbidité faible, mais à risque majeurs sur la vie, les taux de mortalité sont largement supérieures à ceux enregistrés lors de campylobactériose ou salmonellose (Rocourt et Cossart, 1997). La mise en évidence de la transmission des *Listeria* par les aliments démontrée au début des années 1980 (Farber et Peterkin, 1991), leur ont permis de s'élever au premier plan de l'actualité scientifique et médiatique au Canada, en Europe (Angleterre, France et Suisse) et aux Etats-Unis (Rocourt et Bille, 1997 ; Vaissaire, 2000).

¹ Règlement (CE) 178/2002 du Parlement européen et du Conseil du 28 janvier 2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires. *Journal officiel des Communautés européennes*, 1^{er} février 2002....

L. monocytogenes est connue pour son omniprésence dans l'environnement, ses caractéristiques notamment sa capacité à se multiplier à des températures de réfrigération et à résister en milieux dysgénésiques expliquent sa présence, sa persistance et sa croissance dans les produits alimentaires bruts ou transformés.

La contamination des aliments par *L. monocytogenes* peut survenir tout au long des filières agro-alimentaires : chez le producteur, le transformateur, le distributeur et le consommateur. De par leur origine et leur composition, certains aliments, comme le lait cru et ses produits dérivés, sont plus susceptibles que d'autres de contenir des *Listeria*, mais ce sont les produits prêts à consommer ou Ready To Eat (RTE) ayant subi un traitement assainissant qui sont souvent incriminés dans l'apparition de cas sporadiques ou d'épidémies de listériose. Le traitement listéricide ne suffit pas à lui seul à assurer que le produit soit sain et exempt de *Listeria* car il peut y avoir une recontamination croisée via l'environnement souvent après traitement thermique ou tout autre traitement (Carpenter et Harrison, 1989 ; Almeida et al., 2005a).

L'industrie agro-alimentaire rencontre le problème majeur de la présence et le développement de *L. monocytogenes* dans tous types de produits notamment les RTE. Depuis la reconnaissance de la voie alimentaire comme mode de transmission de listériose et suite à l'épidémie survenue liée à la consommation de fromage mexicain en 1985 (Linnan et al., 1988), l'intérêt porté à l'incidence et le comportement des *Listeria* dans les produits alimentaires ne fait qu'augmenter. Cet intérêt généré ne se limite pas seulement aux RTE, mais il est étendu aux viandes de volailles surtout depuis 1988 où les Etats Unis d'Amérique ont vécu quatre grandes épidémies de listériose liées à la consommation de produits RTE à base de viande de volaille (Ryser, 2007).

Dans les nombreux pays industrialisés à l'instar des Etats Unis d'Amérique, le Canada, la France, le Danemark ; où sont enregistrées des épidémies de listériose, les autorités sanitaires ont adopté des politiques sanitaires et de prévention pour lutter contre cette infection et prévenir son apparition en adoptant certaines mesures réglementaires régissant les industries agroalimentaires pour au moins minimiser l'incidence des *Listeria* dans les denrées alimentaire et en particulier dans les RTE. En Algérie, les industries agro-alimentaires connaissent un essor grandissant, la commercialisation et la distribution des produits issus de ces industries ainsi que l'évolution du pouvoir d'achat des algériens et le changement de leurs comportements alimentaires vers un mode plus occidentalisé, constituent les principaux motifs d'évolution des modes de contamination des denrées alimentaires et constitueraient un des motifs de l'augmentation du nombre de cas de toxi-infections alimentaires individuelles et collectives en Algérie.

La listériose humaine, n'est pas une priorité dans la politique sanitaire en Algérie qui doit lutter contre d'autres infections ou pathologies endémique qui n'ont pas été éradiquées à ce jour, malgré les cas de listériose humaine recensés depuis 1967 et 1969, respectivement par Benallegue et Benhassine. Bellouni en 1990 et 1997 ; Naïm en 1987 et Ramdani et al. en 2000. Certes, l'Algérie n'a jamais déclarée d'épidémie de listériose, même lorsque des cas sporadiques sont identifiés, aucune information sur l'origine des souches responsables n'est rapportée.

Il est également important de rappeler qu'aucune politique sanitaire vis-à-vis de ce germe n'est adoptée, seules les critères microbiologiques relatifs au lait et dérivés ont pris en considération la recherche des *Listeria* sans aucune obligation effective (Arrêté du 21 Chaabane 1426 correspondant au 25 septembre 2005).

En dépit de cela, certains scientifiques (médecins, vétérinaires hygiénistes et microbiologistes), se sont penchés sur le cas *Listeria*, soit en étudiant quelques cas humains ou en basant leurs recherches sur l'incidence et le comportement du germe *Listeria* dans certaines denrées alimentaires, en particulier le lait et dérivés et les RTE (Naim en 1987 ; Ramdani et *al.*, 2000 ; Lebres, 2004 ; Hamdi et *al.*, 2007 et Bouayad et Hamdi, 2012)

Notre étude s'intéresse à la présence des *Listeria* en général et de *L. monocytogenes* en particulier dans les viandes de volailles dans les abattoirs et dans les RTE à base de viandes de volaille prédécoupées et commercialisées dans la wilaya d'Alger. Cette matrice alimentaire est choisie au vu de son implication dans de nombreuses épidémies de listériose humaine dans différents pays (Ryser, 2007) d'autant plus que la consommation des algériens en viandes de volailles est grandissante, ce qui les exposerait un peu plus au risque *Listeria*. Selon le communiqué de presse du Salon International de L'agro-Alimentaire (SIAL, 2013), l'algérien consomme environ 12kg de viande de volaille par an, la quantité de viandes de volailles abattues dans la wilaya d'Alger a atteint 4.859.065kg de poulet et 418.017,7 kg de dinde (IVWA, 2012).

Notre étude s'attachera en premier lieu à isoler, identifier et dénombrer les *Listeria* et *L. monocytogenes* particulièrement dans les viandes de volailles prélevées dans trois abattoirs de la wilaya d'Alger et dans les RTE produits à base de viandes de volailles, de procéder ensuite à la caractérisation moléculaire des souches de *L. monocytogenes* isolées (sérotypage et pulstypage) puis d'effectuer l'étude de la résistance aux antibiotiques de ces souches en réalisant des antibiogrammes ainsi que la détermination des concentrations minimales inhibitrices de ces antibiotiques.

CHAPITRE I

HISTORIQUE.

Le nom de *Listeria* est attribué à cette bactérie en 1949 pour honorer la mémoire du docteur John Lister. *Monocytogenes* vient du fait que ce germe provoque chez les sujets atteints une mononucléose qui est une augmentation anormale du taux de monocytes dans le sang.

L'infection à *Bacillus hepatitis* décrite pour la première fois en 1911 par un médecin vétérinaire suédois du nom d' Hülphers chez des lapins atteints de méningite est considérée par tous les auteurs comme étant en fait la première description du germe *L. monocytogenes*.

En 1918, Dumon et Cotoni décrivent le premier cas humain en isolant une souche de *L. monocytogenes* à partir du liquide céphalo-rachidien d'un soldat atteint de méningite ; mais c'est en 1926 que Murray *et al.* isolent la bactérie lors d'une épizootie chez des lapins et des cobayes présentant une mononucléose sanguine et des lésions de nécrose au niveau du foie ; ils lui attribuèrent le nom de *Bacterium monocytogenes*.

Depuis, plusieurs auteurs se sont intéressés à ce germe, notamment Pirie en 1927 qui isole ce germe chez la gerbille atteinte de la maladie de la rivière Triger en Afrique du sud, et lui donne le nom de *Listerella hepatolytica* ; Nyfeld en 1929 l'isole chez un homme présentant un syndrome mononucléosique et l'appelle *Bacterium monocytogenes hominis*.

En 1948, Sohler *et al.* mettent en évidence à partir d'un sang de bœuf cuit une souche de *Listeria* possédant la propriété de réduire les nitrates et ce à la différence de *L. monocytogenes* ; ils lui attribuèrent le nom de *Listeria denitrificans*. En 1988, Rocourt repositionne phylogénétiquement cette bactérie et propose de la placer dans un nouveau genre nommé *Jonesia*. En 1951, Reis *et al.* décrivent la forme septicémique de la listériose chez le nouveau-né et toujours dans la même année, Seeliger met en évidence le rôle important joué par *L. monocytogenes* en pathologie humaine et animale.

Les premiers cas de listériose humaine sont décrits en 1960 et la première flambée épidémique est décrite en 1981 au Canada, elle cause la mort de 17 personnes et a pour origine, la salade de choux (Schlech *et al.*, 1983) depuis de nombreuses épidémies éclatent un peu partout dans le monde, dont les plus importantes sont celles enregistrées :

Entre 1983 et 1987, en Suisse, où 34 personnes périssent après la consommation d'un fromage à pâte molle contaminé (Vacherin Mont d'or) (Bille, 1990).

Entre 1984 et 1995 en Californie, 48 personnes sont mortes après avoir consommé du fromage style mexicain (Linan *et al.*, 1988).

1992 en France : 63 personnes sont décédées suite à la consommation de langue de porc en gelée (Jacquet *al.*, 1995).

1995 en France : 4 décès ayant pour cause la consommation de fromage à pâte molle (Brie de Maux) (Goulet *et al.*, 1995).

Entre 1998 et 2008 aux USA, 24 épidémies de listériose humaine sont enregistrées, avec 359 cas cliniques, 215 hospitalisations et 38 morts. Ces épidémies ont pour cause la consommation de produits carnés dans 11 cas, de produits laitiers dans 6 cas et des végétaux dans 3 cas, 4 épidémies n'ont pas une origine connue (Silk *et al.*, 2013).

En 2011, le cantaloup est à l'origine d'une épidémie aux USA et cause la mort de 33 personnes, en 2012, c'est le fromage Ricotta qui est à l'origine de la mort de 04 personnes, alors qu'en 2013 c'est encore le fromage qui est à l'origine de la mort d'une personne (CDC, 2013b).

En Algérie, le premier cas de listériose humaine est rapporté par Benallegue et *al.* en 1968 chez un enfant atteint de méningite purulente. En 1969, Benhassine et Merad isolent deux souches de *L. monocytogenes* à partir du liquide céphalorachidien humain.

Naïm en 1987 réussit à isoler une souche de *L. monocytogenes* à partir d'une hémoculture provenant d'un sujet immunodéprimé.

Bellouni en 1990, fait une étude exhaustive sur ce germe chez l'homme, dans l'environnement et dans certains produits laitiers. Il isole 11 souches de *Listeria* à partir de placentas de bovins dont deux *monocytogenes*, une *welshimeri*, deux *seeligeri* et six *innocua* ; ainsi qu'une souche de *L. innocua* à partir de fromage.

En 1997, Bellouni et Rahal décrivent deux cas de listériose humaine.

En 2000, Ramdani et Rahal décrivent cinq cas de listériose néonatale humaine.

Lebres en 2000 isole dix souches de *Listeria* dont sept *monocytogenes* et trois *innocua* à partir de différentes denrées alimentaires autres que le lait, puis en 2002 il isole à partir de lait cru 24 souches de *Listeria* se répartissant de la manière suivante : 8 *monocytogenes*, 15 *innocua*, et 1 *ivanovii* ; ainsi que 4 souches de *Listeria* dont 2 *monocytogenes* et 2 *innocua* à partir de fromage au lait cru.

En 2003, Bendedouche et Lebres isolent 7 souches de *L. monocytogenes* et 3 *L. innocua*, à partir de 400 échantillons d'aliments variés.

Lebres en 2006 rapporte une prévalence de contamination du lait cru de 1,9% et 1,23% par *L. monocytogenes* et *L. innocua* respectivement.

Hamdi et *al.* (2007) dans une étude menée sur le lait cru rapportent un taux de contamination par *L. monocytogenes* de 2,6% dans le lait prélevé dans les fermes et de 7,5% dans le lait prélevé des tanks de collecteurs.

Enfin, Bouayad et Hamdi (2012), rapportent une prévalence de contamination par *L. monocytogenes* et par *Listeria* spp de 2,6% et 9,3% respectivement, dans des aliments RTE.

CHAPITRE II :

BACTERIOLOGIE DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* :

II-1 : TAXONOMIE :

Le genre *Listeria* fait partie de la classe des firmibacteria comme *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* et *Bacillus*. D'après le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 9^{ème} édition, les *Listeria* sont des bacilles Gram positif non sporulés, mésophiles, très présents dans le milieu extérieur, le sol, la végétation et les eaux stagnantes.

De par ses caractères morphologiques, longtemps le genre *Listeria* a été rapproché des *Corynébactéries*, mais les différentes études de taxonomie numérique (Feresu et Jones, 1988), chimiotaxonomiques (Stackebrand et al., 1983), l'étude de l'ARNr 16S et son séquençage (Sallen et al., 1996) prouvent l'appartenance de ce genre au groupe des *Bacillus* / *Clostridium* c'est-à-dire au groupe de bactéries à Gram positif avec un G+ C % faible, compris entre 36 et 42 %. L'absence d'acides mycoliques et la présence d'acides lipotéichoïques au niveau de leur paroi confirment leur position taxonomique (Ruhland et Fielder, 1987).

Le genre *Listeria* comptait six espèces dont deux ; *L. ivanovii* et surtout *L. monocytogenes* qui sont responsables d'infections chez l'homme et chez l'animal (Boerlin et al., 1991).

Le genre *Listeria* comprend actuellement d'autres espèces que les 6 cités dans le *Bergey's manual of systematic Bacteriology* :

L. monocytogenes, décrite depuis 1926.

L. ivanovii, tire son nom du microbiologiste bulgare Ivanov qui l'isole en 1957 lors d'avortement chez des brebis qui présentaient une forte hémolyse. Au sein de cette espèce deux groupes doivent être considérés comme des sous-espèces. Ces 2 sous-espèces peuvent être différenciées par des caractères phénotypiques, *L. ivanovii subspecies. ivanovii* pour les souches du groupe I qui renferme l'espèce type et de *L. ivanovii subspecies. londoniensis* pour les souches du groupe II (Boerlin et al., 1992).

L. innocua souche non hémolytique, est décrite par Seeliger en 1981 qui l'isole à partir de l'environnement, de l'intestin humain et des animaux (Seeliger et Jones, 1986).

L. welshimeri et *L. seeligeri* sont mises en évidence en 1982 à partir des hybridations ADN-ADN (Rocourt, 1996).

L. grayi et *L. murrayi* : *L. grayi*, branche phylogénétique différente, est isolée par Errebo Larsen et Seeliger (1966) à partir d'une coproculture chez un chinchilla. Cette souche se caractérise par la fermentation du mannitol. Des études de taxonomie numérique et de chimiotaxonomie montrent que ces bactéries sont apparentées à *L. monocytogenes* et des études génétiques ultérieures (homologies ADN - ADN, analyse des profils d'isoenzymes, étude des profils de restriction des gènes codant pour les ARNr 16S, séquençage des ARNr 16S) confirment que ces deux espèces appartiennent bien au genre *Listeria*, même si elles forment un groupe génomique distinct des autres espèces du genre. En 1992, Rocourt et al. confirment l'existence de fortes similitudes génomiques entre *L. grayi* et *L. murrayi* et proposent de réunir ces deux taxons en une unique espèce qui, en raison des règles de priorité, doit être dénommée *L. grayi*.

D'autres espèces de *Listeria* sont isolées au cours de ces dernières années, il s'agit de *L. marthii* (Graves et al., 2010), *L. rocourtiae* (Leclercq et al., 2010), *L. fleishmannii* (Bertsch et al., 2013) et *L. weihenstephanensis* (Lang Halter et al., 2013).

II-2 CARACTERES GENERAUX DES ESPECES DU GENRE *LISTERIA*.

II-2-1 CARACTERES MORPHOLOGIQUES DU GENRE *LISTERIA*.

Les bactéries du genre *Listeria* sont des petits bacilles à Gram positif, avec des extrémités arrondies, associés parallèlement, en courtes chaînes ou en paires sous forme de V, non capsulés, non sporulés, non acido-alcoolrésistants, sans granulations métachromatiques ni capsule. Ils ont un diamètre de 0,4 à 0,5 µm et une longueur variant de 0,5 à 2 µm. Dans les cultures âgées et en milieu carencé, des filaments de 6 à 20 µm peuvent se former.

Ces bacilles possèdent la propriété **d'être mobiles à des températures comprises entre 20 et 25 °C**, ceci grâce à la présence de 1 à 4 flagelles d'implantation péritriche (Le-Minor et Veron, 1973) lui donnant des mouvements en "pirouette" reconnaissable à l'état frais. Ils sont faiblement mobiles à immobiles à 37°C. Leur mobilité à 20- 25°C est une des propriétés qui permettent de les différencier des bactéries immobiles comme *Erysipelothrix* ainsi que la plupart des *corynébactéries* (Seeliger et Jones, 1986).

II-2-2 CARACTERES CULTURAUX:

II-2-2-1 MILIEUX DE CULTURE :

Ce sont des germes aéro-anaérobies facultatifs qui poussent bien sur tous les milieux de culture usuels. Des atmosphères à tension légèrement abaissée en oxygène et augmentée en gaz carbonique par rapport à celle de l'air donnent des cultures plus abondantes. Leur croissance est favorisée par l'ajout aux milieux de cultures de tryptone, de glucose, de citrate de fer et d'esculine.

Sur gélose nutritive, après incubation de 24 heures à 37°C, ils forment de petites colonies translucides, lisses de type « smooth », à bords réguliers, de 1mm de diamètre environ ; lesquelles observées par transillumination oblique selon la technique de Henry, présentent une coloration bleu-vert caractéristique et par transillumination directe, elles apparaissent gris bleutées (Rocourt et al., 1994 ; Rocourt, 1998). Sur des cultures plus âgées (de 3 à 7 jours) les colonies ont un diamètre plus important (de 3 à 5 mm de diamètre) avec un centre plus opaque, et parfois d'aspect rugueux.

Sur gélose au sang (5% de sang de cheval ou de mouton), après 24 heures d'incubation à 37°C, les espèces *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* et *L. seeligeri* produisent des colonies entourées d'une zone étroite ou diffuse (selon l'espèce) d'hémolyse de type β.

L'hémolyse est souvent le seul caractère permettant la différenciation entre *L. monocytogenes* et *L. innocua*. Cette propriété hémolytique est intimement liée à la pathogénicité des souches (Rocourt et Jacquet, 1994 ; Rocourt et Cossart, 1998 ; Rocourt, 1998), les mutants non hémolytiques de *L. monocytogenes* sont non virulents (Hof et Rocourt, 1992). Cependant il est important de signaler que parmi les espèces hémolytiques il est établi que *L. seeligeri* ne possède pas de pouvoir pathogène.

Dans les cas litigieux, il est parfois nécessaire de recourir au CAMP-test, décrit pour la première fois en 1944 par Christie et al. pour les streptocoques B, qui présentent une exaltation de l'hémolyse au voisinage d'un staphylocoque aureus producteur d'une toxine de type B (tableau n°1).

Tableau n° 1: Interprétation des réactions du CAMP-test pour différencier les espèces de *Listeria* (Christie et al., 1944).

Réactions des différentes espèces de listeria au Camp- test		
Réaction d'hémolyse		
Espèces	Staphylococcus aureus (S)	Rhodococcus equi (R)
<i>Listeria monocytogenes</i>	+	-*
<i>Listeria ivanovii</i>	-	+
<i>Listeria innocua</i>	-	-
<i>Listeria welshimeri</i>	-	-
<i>Listeria seeligeri</i>	+	-
Quelques rares souches peuvent être S+ et R+, mais la réaction R+ est fortement positive avec <i>L. ivanovii</i> .		

II-2-2-2 TEMPERATURE :

Au laboratoire *Listeria* se développe de + 3°C à 45°C mais certaines espèces peuvent se développer au environ de 1°C. Leur température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C (Augustin, 1999). *L. innocua* et *L. grayi* ne se développent plus respectivement, en dessous de 1,7°C et 3°C.

C'est un germe psychrotrophe, il possède la faculté de se développer à une température inférieure ou égale à 7°C, indépendamment de sa température optimale de croissance. Les températures de réfrigération (+4°C et +5°C) sont favorables à la survie de *Listeria spp.* quelque soient les conditions de cultures, car elles permettraient la réparation des cellules stressées par la chaleur (Ryser et Marth 1999). D'autres études montrent que *L. monocytogenes* est capable de se développer même à une température de - 0,4°C avec un temps de génération de 131h. Les *Listeria* survivent à la congélation (El-Kest et Marth, 1991).

L. monocytogenes se conserve mieux à température de réfrigération (+ 4°C) qu'à 31°C (Larpen, 2000). Cette propriété de croître à des températures de réfrigération pose problème en hygiène alimentaire, ou le froid est l'un des principaux moyens de stabilisation des denrées, ce germe est d'autant plus dangereux qu'il ne provoque pas de modifications apparentes de l'aliment comme le font les agents d'altération et de putréfaction.

Listeria est ubiquiste, sa présence est presque inévitable dans les différentes matrices alimentaires n'ayant pas subi un traitement listéricide particulier, il est donc nécessaire d'abaisser la température afin d'inhiber ou du moins ralentir la croissance de la quantité initiale de bactéries

pour ne pas atteindre un niveau dangereux. Le tableau n°2 indique le temps nécessaire pour que le nombre de bactéries passe de 10 à 100 germes par gramme pour une souche de *Listeria spp.* en fonction de la température, du pH et de la teneur en sel. Ce même tableau montre que plus la température est basse, plus le taux de multiplication est faible : avec un pH de 6,0 et 1 % de sel (NaCl), le nombre de cellules passe de 10 à 100 en 3 jours environ à 8°C, tandis que 10 jours sont nécessaires à 3°C.

Bien que *L. monocytogenes* ne soit pas considérée comme une bactérie thermorésistante, puisque rapidement détruite à 60°C ; elle est néanmoins plus résistante au chauffage que la majorité des micro-organismes non sporulés.

Cependant une pasteurisation correcte est en général suffisante pour la détruire, même si en position de parasite intracellulaire, elle peut résister un peu mieux que sous forme libre et que divers pré-traitements thermiques peuvent affecter sa thermotolérance (Pagan et al., 1997).

Les *Listeria* résistent à un chauffage à 55°C pendant 30 minutes, à 40% de bile et à 10% de NaCl.

Tableau n° 2 : Temps approximatif nécessaire à une population de *L. monocytogenes* de souche courante pour passer de 10 à 100 cellules en fonction de la température, du pH et de la teneur en sel (McClure et al., 1997)

pH	Teneur en sel	1°C	3°C	5°C	8°C	10°C
6,0	1%	375 h	230 h	145 h	78 h	53 h
5,0	1%	919 h		352 h		127 h
6,0	3%	596 h		234 h		87 h

II-2-2-3 pH:

L. monocytogenes a un pH optimal d'environ 7 avec une tendance plutôt alcaline, mais elle peut se développer dans une plage de pH variant de 5,6 à 9,6 (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 9^{ème} édition), d'autres études montrent qu'elle commence à se développer à des pH inférieurs à 5, cependant sa tolérance à ces pH est plus faible qu'aux pH basiques (Seeliger et Jones, 1986).

Listeria peut survivre jusqu'à un pH de 3,26 (diminution d'une puissance à partir d'une population de $2,2 \cdot 10^6$ UFC / ml après 2 jours à 30°C). La croissance de *L. monocytogenes* à des pH bas est directement liée à la température, elle survit pendant 11 jours avec un pH de 3,6-3,7 à 8°C et un peu plus de 2 jours avec un pH de 3,6-3,7 à 37°C (Ahamed et Marth, 1989 ; Larpent, 1995).

Des expériences montrent que dans du chou cru conservé à 5°C, elle survit pendant 49 jours à un pH compris entre 4,8 et 5 ; de même que dans les fromages, elle survit de 70 à 434 jours dans du cheddar à pH 5,0-5,15 ; et se développe dans des camemberts maturés à pH 5,9 – 7,2. Enfin, *L. monocytogenes* réussit à survivre dans du salami à pH 4,3 – 4,5 pendant un stockage réfrigéré (Toquin et al., 1993).

L'inactivation de *L. monocytogenes* par l'utilisation d'un agent acidifiant varie avec sa nature (minérale ou organique) et sa forme ; la forme non dissociée des acides faibles est plus bactéricide. Notons enfin qu'une étude menée par Tienungoon et al. (2000) montre que les souches de *L. monocytogenes* Scott A et L5 pouvaient croître à des pH compris entre 4,23 et 4,25.

II-2-2-4 AW : ACTIVITE DE L'EAU.

L'Aw optimum de *Listeria* est de 0,97 mais cette bactérie peut se développer jusqu'à 0,943 (Farber et al., 1992).

Listeria survit 132 jours à 4°C à une Aw de 0,83 sur trypticase-soja. Dans du salami fermenté *Listeria monocytogenes* survit 84 jours à 4°C avec une Aw de 0,79 – 0,86 (Euzéby, 2000).

Une Aw faible (environ 0,90) augmente la résistance de *L. monocytogenes* à la chaleur (Fenlon, 1989).

Dans du camembert avec une Aw comprise entre 0,959 et 0,984 les populations de *Listeria* restent constantes ou diminuent aux pH de 4,6 – 5,5 au cours des 20- 30 premiers jours de maturation ; la croissance est rapide aux pH compris entre 5,5 et 6,0 ; dans ce cas le pH est le facteur limitant dans ce produit beaucoup plus que l'Aw (Duffy et al., 1994).

II-2-2-5 SEL :

Listeria est capable de se développer en présence de 10% de NaCl , certaine souches peuvent même supporter 20% de NaCl (Larpent, 2004).

L. monocytogenes survit 150 jours dans du NaCl pur, et 585 jours dans 0,85 % de NaCl. Dans les viandes saumurées, *L. monocytogenes* survit plus de 60 jours à 4 °C avec 30% de NaCl et du nitrate. Le temps de survie de *L. monocytogenes* dans 25% de NaCl augmente quand la température baisse (24 jours à 22°C, 132 jours à 4°C) (Vasseur et al., 1999).

II-2-2-6 HAUTES PRESSIONS ET IRRADIATIONS :

L. monocytogenes résiste moins aux hautes pressions en comparaison avec d'autres germes pathogènes tels que *Salmonella enteritidis*, *Escherichia Coli* O157 H7 ou *Staphylococcus aureus*. Cette résistance varie aussi en fonction de la souche et du milieu. Il faut appliquer 375 MPa pendant 15 minutes pour réduire la population de 5 unités log à 20°C (Cheftel et Culioli, 1997).

La résistance à l'irradiation est faible. En pratique, une dose de 2 kGy est suffisante pour détruire les *L. monocytogenes* aux concentrations habituellement rencontrées dans les aliments (Osterholm et Potter, 1997). La dose de réduction décimale (D10) est établie entre 0,25 et 0,77 kGy en fonction de la température utilisée et de l'aliment concerné.

En résumé, il est établi que les *Listeria* sont sensibles aux radiations ionisantes, aux ultraviolets et aux hautes pressions.

II-2-2-7 DESINFECTANTS (facteurs d'inhibition) :

Dans l'industrie agro-alimentaire, il est démontré que *L. monocytogenes* est sensible à différents agents désinfectants tels que les dérivés iodés, les ammoniums quaternaires, les dérivés chlorés et les acides anioniques lorsque ceux-ci sont utilisés à des concentrations optimales (Aase et al., 2000).

L'inactivation par le chlore dépend de plusieurs critères notamment ; la concentration en chlore actif, le pH, la température, le temps d'exposition, la présence de substances organiques, et de la souche (Jacquet et Reynaud, 1994).

Il est démontré que le pouvoir d'inactivation de certains de ces désinfectants, testé sur des surfaces contaminées, dépend non seulement de la qualité de ces surfaces mais aussi de la présence des autres flores sur ces surfaces (Roy et *al.*, 1993).

II-2-3 CARACTERES BIOCHIMIQUES:

Listeria possède une catalase et des cytochromes mais pas d'oxydase. Elle est aéro-anaérobie facultative et fermente le glucose (et beaucoup d'autres glucides) sans gaz en formant de l'acide lactique. *Listeria* a toutefois une préférence pour les faibles pressions en oxygène avec une tendance plutôt microaérophile, c'est cette propriété qui confère à *Listeria* **une mobilité en parapluie sur de la gélose mobilité à 20°C.**

Les principaux caractères biochimiques, communs au genre *Listeria* sont résumés dans le tableau n°3.

Pour se développer *L. monocytogenes* a des exigences particulières. Elle exige un milieu contenant les éléments suivants : Biotine, riboflavine, thiamine, acide thioctique, cystéine, glutamine, isoleucine, leucine et valine.

L'arginine, l'histidine, la méthionine, l'alanine et le tryptophane constituent des facteurs de stimulations de la croissance. Le fer, l'hémine et les acides nucléiques : cytosine, guanine, adénine, thymine sont des stimulateurs facultatifs.

Le catabolisme glucidique emprunte essentiellement la voie d'Embden-Meyerhof. L'acidification apparaît en 48 heures avec l'amygdaline, le cellobiose, le fructose, le glucose, le mannose, le rhamnose, le tréhalose et la salicine, pour certains sucres tels que la dextrine, l'hydrolyse nécessite une incubation de plus de 4 jours. L'acidification est lente, voire nulle avec le glycogène, l'inositol, l'inuline, le mélibiose, le lactose, le saccharose (Larpent, 2000).

Tableau n°3 : Caractères d'identification du genre *Listeria* (Le-Minor et Veron, 1973)

Réactions positives	Réactions négatives
Coloration de Gram	Oxydase
Catalase	Gaz en Glucose
Glucose	Uréase
VP, RM	Indole
Esculine	Gélatinase
Aéro-anaérobie facultatif	H ₂ S
Réduction du lait tournesolé	Sporulation
Production d'acides à partir des sucres dont le glucose	
Mobilité à 25°C	

Le genre *Listeria* ressemble aux entérocoques ; ils possèdent tous les deux les caractères communs d'hydrolyse de l'esculine, se développent avec 10 % de bile, 10 % de NaCl et 0,025 % d'acétate de thallium. Le seul point qui permet de les différencier, c'est que *Listeria* ne se développe pas sur 0,02 % d'azide de sodium. Le genre *Listeria* est H₂S négatif, et ne possède pas de nitrate-réductase (NR -).

Les principaux caractères qui permettent de différencier entre le genre *Listeria* et quelques espèces proches de ce germe sont résumés dans le tableau n°4 et n°5.

Tableau n°4 : Caractères différentiels entre *Listeria* et bactéries proches (Rocourt et Jacquet, 2000).

	<i>Listeria</i>	<i>Erysipelothrix</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Enterococcus</i> <i>Streptococcus</i>
Mobilité à 25°C	+ *	-	-	-
Catalase	+	-	+	-
Esculine	+ **	-	-	±
H ₂ S	-	+	-	-
Inclusions métachromatiques	-	-	+	-
* bactéries immobiles ou très peu mobiles à 37°C.				
** Réaction positive en 2 à 3 heures.				

Tableau n° 5: Caractères de différenciation entre six genres de bacilles à Gram positif et le genre *Listeria* (Larpent, 1995).

Morphologie : type de bacilles	Genre	Catalase	Type Respiratoire	Mobilité	Habitat
Droits	Lactobacillus	-	AAF *	-	Produits fermentés non pathogènes
fins, souvent en filaments	Erysipelothrix	-	AAF	-	Rouget du porc : pathogène
fins, souvent en filaments	Brochothrix	+	AAF	-	Produits carnés : non pathogène
courts, souvent en chaînettes et filaments	Listeria	+	AAF	+ à 20- 25°C	Saprophytes : pathogènes chez l'homme et l'animal.
en chaînette, coccoïdes dans les cellules âgées	Kurthia	+	AS	+	Intestins des animaux de la ferme
courts en chaînettes	Caryophanon	+	AS **	+	Intestin de la vache : Non pathogène
courts souvent en paires	Renibacterium	+	AS	-	Pathogènes du poisson
* Aéro-Anaérobies Facultatifs ** Aérobie Stricts					

En résumé, nous pouvons dire que l'identification de l'espèce *L. monocytogenes* nécessite la mise en évidence des caractères suivants :

- Gram positif,
- Catalase positive
- Mobilité à 20-25°C
- VP, RM positifs
- β hémolyse positive sur gélose au sang.
- Test de CAMP positif avec *Staphylococcus aureus* et négatif avec *Rodhococcus equi*.
- Production d'acide avec le rhamnose.
- Pas de production d'acide avec le xylose et le mannitol.

II-3 TYPAGE DES SOUCHES :

Le typage des différentes souches de *L. monocytogenes* s'est avéré indispensable lors d'enquêtes épidémiologiques pour confirmer l'origine de la contamination dans les cas sporadiques ou épidémiques de Listériose humaine, il permet également une meilleure connaissance de l'écologie de ce germe.

Depuis 1989, les méthodes phénotypiques de sérotypage et de lysotypage des souches de *L. monocytogenes* sont complétées par différentes méthodes reposant sur la caractérisation moléculaire du génome parmi lesquelles, l'analyse des profils d'isoenzymes (multilocus enzyme electrophoresis : MLEE), la ribotypie, l'analyse des profils de restriction de l'ADN, et l'amplification des fragments d'ADN en utilisant des amorces sélectionnées au hasard.

II-3-1 METHODE PHENOTYPIQUE :

II-3-1-1 SEROTYPIE :

La sérotypie, utilisée dès 1939 permet de reconnaître grâce à la présence de 15 antigènes somatiques de I à XV (antigènes O) et 5 antigènes flagellaires de A à E (antigènes H) différents serovars de *Listeria*. La combinaison de ces facteurs dans une même bactérie, permet de reconnaître plusieurs serovars. Il existe 17 serovars au sein du genre *Listeria* (tableau n° 6) (Seeliger et Höhne, 1979).

La sérotypie est une technique de moins en moins utilisée, car elle est longue, fastidieuse et surtout peu discriminante. Il n'y a pas de rapport entre un serovar particulier et son origine géographique, animale et alimentaire (Larpen, 2004).

Parmi les 13 serovars de *L. monocytogenes*, les serovars 1/2 a, 1/2 b et 4 b sont responsables de 95 % des cas de listériose chez l'homme (Euzéby, 2000). Le sérotype 4b cause de loin la majorité des cas de listériose humaine (Raybourne, 2002). Le sérotype 1/2a est le plus isolé d'échantillons alimentaires, de là, nous pouvons dire que la sérotypie pourrait avoir la valeur d'un test de dépistage de virulence (Meng et al., 2007).

Les sérotypes 1/2a, 1/2b et 1/2c sont les plus isolés à partir des viandes (Jay, 1996).

En Algérie, les souches de *L. monocytogenes* isolées de cas cliniques par Naïm en 1987 et Ramdani en 1992 appartiennent respectivement aux serovars 1/2 b et 1/2a, toutes les autres souches isolées à partir de cas cliniques ou d'aliments appartiennent au serovar 4 b (Bellouni, 1990 ; Lebres, 2002, Hamdi et al., 2007). En Tunisie seul le serovar 4b est mis en cause dans des études menées sur les cas de listériose humaine (Fendri et al., 1989 ; Boukadida et al., 1994). El Marrakchi et al.(1998) au Maroc rapportent des isolats alimentaires appartenant au serovar 4b et 1/2b.

II-3-1-2 LA LYSOTYPIE :

La lysotypie, développée dès 1964, pour pallier aux insuffisances de la sérotypie, permet un meilleur suivi des enquêtes épidémiologiques lors d'épidémies de listériose par l'identification de la souche source de l'infection. Cette technique est basée sur la sensibilité des différentes souches aux bactériophages, permettant ainsi de pouvoir subdiviser les souches d'un même serovar.

De nombreuses souches, notamment des souches présentes dans les aliments ou dans le milieu extérieur, sont non typables, mais certains auteurs rapportent que 93 % des souches du serovar 1/2 et 99 % des souches du séro groupe 4 sont typables (Audurier et *al.*, 1977 ; Rocourt et *al.*, 1985). Il existe vingt-cinq lysotypes différents pour le séro groupe 1/2.

La lysotypie est très utile pour les enquêtes épidémiologiques et depuis 1991, la procédure dite "reverse" a simplifié la mise en œuvre de cette technique (Euzéby, 2000).

Tableau n° 6: Caractères antigéniques des serovars de *Listeria* (Larpen, 2000)

Espèces	Serovar	Antigènes somatiques	Antigènes flagellaires
<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	I II (III)	A B C
	1/2b	I II (III)	A B C
	1/2c	II (III)	B D
	3a	II (III) IV	A B C
	3b	II (III) IV (XII XIII)	A B C
	3c	II (III) IV (XII XIII)	B D
	4a	(III) (V) VIII IX	A B C
	4ab	(III) V VIII IX X	A B C
	4b	(III) V VI	A B C
	4c	(III) V VII	A B C
	4d	(III) (V) VI VIII	A B C
	4e	(III) V VI (VIII) IX	A B C
	7	(III) XII XIII	A B C
	<i>Listeria ivanovii</i>	5	(III) (V) VI (VIII) X
<i>Listeria innocua</i>	6a	(III) V (VI) (VII) (IX) XV	A B C
		(III) (V) (VI) (VII) IX X XI	A B C
	6b 4ab	(III) V VI VII IX X	A B C
<i>Listeria welshimeri</i>	1/2b	I II (III)	A B C
	4c	(III) V VII	
	6a	(III) V (VI) (VII) (IX) XV	
	6b	(III) (VII) IX X XI	
<i>Listeria seeligeri</i>	1/2a	I II (III)	A B
	1/2b	I II (III)	A B C
	1/2c	I II (III)	B D
	4b	(III) V VI	A B C
	4c	(III) V VII	A B C
	4d 6b	(III) (V) VI VIII (III) (V) (VI) (VII) IX X XI	A B C A B C
<i>Listeria grayi</i> Sous espèce. <i>Grayi</i>		(III) XII XIV	E
<i>Listeria grayi</i> Sous espèce. <i>Murrayi</i>		(III) XII XIV	E

II-3-2 METHODE GENOTYPIQUE :

Le faible pouvoir discriminant de la sérotypie et les souches non typables par la lysotypie sont des limites qui ont conduit au développement de différentes méthodes de typage moléculaire.

Lors d'enquêtes épidémiologiques, le typage des souches de *L. monocytogenes* doit faire appel à plusieurs méthodes. La sérotypie et la lysotypie permettent une première orientation mais le typage moléculaire, particulièrement l'analyse des profils de macrorestriction apporte des informations supplémentaires permettant de détecter et de caractériser des clones au sein d'un lysovar responsable d'une épidémie.

II-3-2-1 L'ANALYSE DES PROFILS DE RESTRICTION DE L'ADN CHROMOSOMIQUE TOTAL :

L'analyse des profils de restriction de l'ADN chromosomique total (RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism) peut faire appel soit à des enzymes de restriction comme EcoRI, générant de nombreux fragments d'ADN de 1 à 30 kb séparés ensuite par électrophorèse classique , on parle de microrestriction d'ADN (restriction enzyme analysis : REA) (Casolari et al., 1990) soit à des enzymes de restriction comme ApaI, SmaI ou AscI, engendrant un faible nombre de fragments d'ADN de plus de 50 kb, séparés ensuite par électrophorèse en champ pulsé (Pulse Field Gel Electrophoresis : PFGE), on parle dans ce cas de macrorestriction d'ADN (Buchrieser et al.,1991).

L'analyse des profils de microrestriction s'est avérée utile dans certaines enquêtes épidémiologiques en permettant la subdivision de certains lysovars, mais la complexité des profils rend difficile la comparaison des souches.

L'analyse des profils de macrorestriction est beaucoup plus aisée. Les résultats d'une étude effectuée sous l'égide de l'OMS montrent que la technique est reproductible et discriminante (Graves et Swaminathan, 2001). Ainsi, elle permet de caractériser des souches du serovar 4b qui sont difficiles à typer par les autres méthodes.

II-3-2-2 LA RIBOTYPIE :

La ribotypie utilise d'abord la microrestriction d'ADN, puis les fragments obtenus sont hybridés avec une sonde. La sonde étant une séquence d'ADN s'hybridant avec les gènes codant pour l'ARN ribosomique. Trois sondes différentes sont utilisées (Jacquet et al., 1992 ; Jacquet et al., 1999). Quel que soit la sonde utilisée, 80% des souches étudiées se retrouvent dans 2 à 4 groupes.

II-3-2-3 L' AMPLIFICATION DES FRAGMENTS D'ADN :

L'amplification des fragments d'ADN avec des amorces choisies au hasard (RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA) ou AP- PCR (Arbitrarily Primed-Polymerase Chain Reaction) apparaît simple à mettre en œuvre et discriminante (Boerlin et al., 1995). Elle repose sur l'amplification d'une petite séquence nucléique spécifique de *L. monocytogenes*, utilisant des amorces sélectionnées au hasard et séparés par électrophorèse permettant de différencier les souches entre elles.

Elle est utile et rapide pour le typage des souches des serovars 1/2a, 1/2b, 1/2c, et dans certains cas le serovar 4b. Toutefois, d'autres travaux sont nécessaires pour standardiser la technique et augmenter sa reproductibilité (Euzéby, 2000).

II-3-2-4 L'ANALYSE ELECTROPHORETIQUE DES PROFILS D'ISOENZYMES (MLEE : MULTILOCUS ENZYME ELECTROPHORESIS) :

Cette technique permet d'obtenir des électrotypes (ET : Electrophoretic Type) en analysant les différences de mobilité électrophorétique de 10 à 25 enzymes métaboliques. Pour *L. monocytogenes*, l'analyse des électrotypes permet d'individualiser deux grandes subdivisions. L'une, constituée par les serovars 1/2b, 3b et 4b, comporte au moins 22 électrotypes différents, l'autre, constituée par les serovars 1/2a, 1/2c et 3a, comporte au moins 45 électrotypes différents (Bibb et al., 1990).

Le grand nombre d'études sur les caractéristiques phénotypiques et génotypiques des *Listeria* (sérotypage, MLEE, REDP et PFGE) permettent de classer les souches de *L. monocytogenes* en 4 différents lignées (Wiedmann et al., 2011).

- La lignée I : Comprend les serovars 1/2b, 3b, 3c et 4b, qui sont communément isolés de différentes sources, mais majoritairement isolés de cas humains de listériose.
- La lignée II : Comprend les serovars 1/2a, 1/2c et 3a, isolés de différentes sources mais majoritairement d'aliments et de l'environnement (naturel, fermes ou industries).
- La lignée III : Comprend les serovars 4a, 4b et 4c, isolés le plus souvent chez les ruminants.
- La lignée IV : Comprend les serovars 4a, 4b et 4c, isolés le plus souvent chez les ruminants (peu d'isolats appartenant à cette dernière lignée sont analysés à ce jour).

La majorité des souches de *L. monocytogenes* semble appartenir au lignée I et II, qui regroupent les sérotypes les plus souvent incriminés dans des cas de listérioses humaines ; le sérotype 1/2a (Lignée II) et les sérotypes 1/2b et 4b (Lignée I) (Wiedmann et al., 2011).

II-4 METHODES D'ISOLEMENT, D'IDENTIFICATION ET DE CARACTERISATION MOLECULAIRE DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* :

Depuis la mise en évidence du rôle des aliments dans l'apparition de cas sporadiques et/ou d'épidémies de listériose, de nombreuses études se sont intéressées d'une part à l'amélioration de la composition des différents milieux d'enrichissement et d'isolement, et d'autre part à la mise au point de techniques plus ou moins rapides de détection du germe dans les différentes matrices alimentaires.

Deux critères principaux sont pris en compte : la complexité des différentes matrices alimentaires et le niveau très faible du nombre de cellules contaminantes, associé à la présence d'une flore microbienne concurrente plus ou moins importante.

La contamination d'un produit alimentaire est aléatoire, elle peut intervenir à tous les stades de production, étant donné que le genre *Listeria* est ubiquitaire. De plus un produit peut être contaminé en même temps par plusieurs groupes, sérotypes ou lysotypes de *Listeria*.

Les difficultés majeures dans la lutte contre la listériose résident aujourd'hui dans l'isolement et l'identification précise des souches responsables des épidémies. Seules quelques souches *L. monocytogenes* sont susceptibles de provoquer la maladie et l'isolement ainsi que l'identification précise de ces souches pathogènes nécessite la mise en œuvre de méthodes de laboratoire lourdes, longues et coûteuses.

Plusieurs méthodes bactériologiques, immunochimiques, immunophysiques, physiques, ainsi que des méthodes de biologie moléculaire sont développées.

II-4-1 METHODES BACTERIOLOGIQUES CLASSIQUE :

II-4-1-1 DETECTION :

Le caractère psychrotrophe du genre *Listeria* a été utilisé dès 1966 pour la mise au point des premières méthodes de détection, qui consistait en un enrichissement sélectif à + 4°C pendant plusieurs semaines. Ces méthodes bien qu'efficaces ne sont plus employées en routine compte tenu des délais nécessaires à l'obtention des résultats (Lebres, 2006). Les *Listeria*, présents en général en petit nombre dans les aliments (problèmes de l'hétérogénéité de l'échantillonnage), et accompagnés d'une flore associée plus ou moins abondante selon l'aliment concerné, peuvent subir des agressions dues à la préparation des aliments telles des pH très bas, le chauffage, la congélation, et le salage. L'aliment contient alors très peu de germes ou quelques germes stressés, il est alors indispensable de revivifier les germes si on veut avoir toutes les chances de les isoler. C'est pour ces raisons que l'on doit réaliser d'abord, une phase d'enrichissement sur des milieux sélectifs avant de pratiquer ensuite une phase d'isolement sur des milieux sélectifs (Catteau, 1999). Les phases d'enrichissement ont pour but d'augmenter le niveau de contamination en *Listeria spp.* et de limiter ou du moins diminuer celui de la flore annexe. La recherche de *L. monocytogenes* est ensuite menée à partir des colonies suspectes présentes sur les géloses sélectives d'isolement.

Lorsque les *Listeria* sont présents à des niveaux de contaminations faibles, environ moins de 10 germes par gramme de produit, il est nécessaire de procéder à un enrichissement sélectif autrement dit à une multiplication des germes recherchés pour pouvoir les détecter. Ces méthodes sont basées sur l'hypothèse suivante : si une seule cellule de *Listeria* est présente dans 25 g ou 50 g, les méthodes utilisées, normalisées et alternatives validées par l'AFNOR, permettent de détecter cette présence. Les méthodes de recherche de *Listeria* sont des méthodes qualitatives et non quantitatives. À l'inverse, les méthodes de dénombrement sont des méthodes quantitatives.

Plusieurs milieux d'enrichissement sont constitués par de nombreuses substances sélectives inhibitrices des flores associées, qui sont utilisées seules ou en association telles que , le tellurite de potassium, l'acriflavine, le chlorure de lithium, le phényléthanol, la tripaflavine, l'acétate de thallium, la colistine, l'acide nalidixique, la polymixine B, le moxalactam, la ceftazidime, le cycloheximide, le latamoxef, le céfotétan et la fosfomycine (Donnelly, 1999).

L'impératif d'une réponse rapide notamment lors d'épidémies et dans l'industrie alimentaire entraîne une évolution très rapide des méthodes de recherche de *L. monocytogenes*. En effet, si en 1986 le temps nécessaire à la détection de *L. monocytogenes* était de 2 à 3 semaines, il est aujourd'hui de 4 à 5 jours en utilisant l'une des méthodes de référence normalisées, décrites dans les normes Norme Française (NF), Norme Européenne (EN) et Norme Internationale ISO 11290-1 pour la détection, et NF/EN/ISO 11290-2 dans le cas de dénombrement.

Ces méthodes dites de référence ne sont aujourd'hui utilisées que dans le cadre d'échanges commerciaux internationaux ou lors d'expertises.

Des méthodes normalisées, simplifiées dites de routines sont développées pour être utilisées en analyse quotidienne, telle la Norme AFNOR NF V08 055.

Actuellement, en plus de ces 3 méthodes il existe plusieurs méthodologies différentes selon les matrices alimentaires et/ou les pays ; développées et utilisées par d'autres organismes officiels (tableau n°7). Toutes ces méthodes nécessitent les trois étapes suivantes :

- Une étape d'enrichissement
- Un isolement sur des milieux sélectifs.
- Une identification biochimique.

Tableau n°7: Différentes méthodes bactériologiques de recherche de *L. monocytogenes* (Larpent, 2004).

Méthodes	AFNOR V08- 055	FIL	FDA	USDA
Applications	Tous les aliments	Laits et Produits laitiers	Laits et Produits laitiers	Viandes et Produits carnés
Enrichissement primaire	Fraser 24 H à 30°C	LEB 48 H à 30°C	LEB 24 / 48 H à 30°C	UVM 24 H à 30°C
Enrichissement secondaire	Fraser 24 / 48 H à 37°C	–	–	Fraser 24 H à 30°C
Isolement	PALCAM 24 / 48 H à 37°C	Oxford 48 H à 37°C	MMA 48 H à 30°C	Oxford Modifié 24 H à 30°C
Rapidité	2 à 5 jours	4 jours	2 à 4 jours	3 à 4 jours

FIL : Fédération Internationale Laitière.

FDA : Food and Drug Administration (Etats-Unis)

USDA: United States Department of Agriculture (Etats-Unis).

LEB : Listeria Enrichment Broth

UVM : Milieu proposé par l'Université du Vermont. (Etats-Unis)

MMA : Milieu Modifié de Mc Bride

Beaucoup d'auteurs pensent que *L. innocua* a un avantage sélectif sur *L. monocytogenes* au cours des phases d'enrichissement, son taux de croissance étant plus rapide (Curiale et Lewus, 1994). Il est démontré que même dans milieu d'enrichissement sélectif, *L. innocua* possède un taux de croissance supérieur à celui de *L. monocytogenes* (Petran et Swanson, 1993 ; Curiale et Lewus, 1994). En effet *L. monocytogenes* est seulement détectée à partir de 38, 92 et 85% d'échantillons contaminés artificiellement avec les deux espèces respectivement pour des ratios de *L. monocytogenes* : *L. innocua* de 12:1, 120:1 et de 1200:1(Curiale et Lewus, 1994).

D'autre part, *L. monocytogenes* serait plus sensible à l'acriflavine, molécule présente dans le bouillon d'enrichissement Fraser (Beumer et al., 1996).

D'autres auteurs pensent que *L. innocua* produirait au cours de l'étape d'enrichissement soit une bactériocine, soit des particules phagiques responsables de l'inhibition de *L. monocytogenes* (Kalmokof et *al.*, 1999).

En microbiologie alimentaire, le type d'enrichissement préconisé par les normes ISO et AFNOR favoriserait plutôt la détection de *L. innocua* au détriment de *L. monocytogenes*.

En conclusion, la détection d'espèces de *Listeria* autres que *L. monocytogenes* parmi les colonies suspectes ne permet pas d'exclure la possibilité que *L. monocytogenes* ne soit pas présente dans l'échantillon.

II-4-1-2 IDENTIFICATION :

Les souches stressées peuvent être sensibles aux inhibiteurs présents dans les milieux sélectifs et ne pas être détectées lors des analyses utilisant des milieux fortement sélectifs comme la gélose PALCAM. Inversement, l'utilisation de milieux moins sélectifs comme la gélose OXFORD peut permettre la croissance d'une souche stressée mais cette croissance risque d'être masquée par la présence de micro-organismes contaminants.

Quelque soit la méthode de détection utilisée, il est nécessaire de confirmer le ou les résultats positifs par un isolement sur milieu sélectif gélosé PALCAM (Van-Netten et *al.*, 1989), ou OXFORD (Curtis et *al.*, 1989) puis confirmer l'identification des colonies suspectes.

Depuis 1998, de nouveaux milieux gélosés sélectifs dits « chromogènes » tels le milieu Rapid-L.Mono (Carles et *al.*, 1999) ou le milieu ALOA (Vlaemynck et *al.*, 2000) permettant la distinction entre *Listeria monocytogenes* et les autres espèces de *Listeria* sont développés et validés par la commission AFNOR.

Le test Rapid-L.Mono est basé sur la présence de l'activité d'une enzyme, la Phosphatidyl Inositol Phospholipase C commune à *L. monocytogenes* et *L. ivanovii*, la différenciation entre les deux espèces se faisant ensuite par l'intermédiaire de la réaction biochimique avec le xylose. Après 24 à 48 heures d'incubation *L. monocytogenes* forme des colonies de couleur bleu franc sans halo jaune, tandis que les colonies de *L. ivanovii* apparaissent bleu-vert avec un halo jaune.

Une fois isolées, les bactéries devront être identifiées par des tests morphologiques, physiologiques et biochimiques, parmi lesquelles nous citerons :

- L'isolement des colonies caractéristiques sur TSAYE (Tryptone Soya Agar Yeast Extract) à 37°C / 24 heures.
- l'identification du genre : par le Gram+, la catalase +, la mobilité à partir d'un état frais par TSBYE (Tryptone Soya Broth Yeast Extract) à 25°C pendant 8 à 24 heures ou sur milieu mobilité.
- l'identification de l'espèce par : le CAMP test, l'hémolyse sur gélose au sang, l'acidification du D-xylose, du rhamnose à partir de bouillon TSBYE.

L'identification de l'espèce peut être obtenue par d'autres méthodes donnant des résultats équivalents.

La galerie miniaturisée API *Listeria* est constituée de 10 tests qui permettent d'identifier les genres, espèces et sous espèces de *Listeria*.

Pour des études épidémiologiques, il est nécessaire d'effectuer une identification infraspécifique de la souche isolée (détermination du serovar, identification du lysovar, étude du profil de macrorestriction...).

II-4-2 METHODES RAPIDES

D'autres méthodes commerciales plus rapides encore, nécessitant toutes au minimum une première étape d'enrichissement sélectif (taux limite de détection compris entre 10^4 et 10^5 germes/ml), suivie de l'utilisation de différentes techniques, immuno-enzymatiques, physiques, immunophysiques, et de biologie moléculaire telles, l'hybridation des acides nucléiques ou l'amplification génique, ont été développées, et validées par la commission AFNOR, elles sont résumées dans le tableau n°8.

Tableau n°8: Méthodes normalisées et alternatives de détection des *Listeria* dans les denrées alimentaires (Bind et Delaval, 1994 ; Larpent, 2004).

Nom de la méthode	Fournisseurs	Temps de réponse	Principe	Germes détectés
Norme ISO 11290.1 (1998 + amendement 2001)	-	5 jours	Double enrichissement en milieu sélectif et isolement sur deux milieux sélectifs différents	<i>Listeria spp</i> et <i>L. monocytogenes</i>
Norme de routine NF V 08-055 (1997)	-	5 jours	Double enrichissement en milieu sélectif et isolement sur un milieu sélectif	<i>Listeria spp</i> et <i>L. monocytogenes</i>
Listeria Rapid Test	Oxoid	2 jours	immuno-chromatographie	<i>Listeria spp</i>
Transia Plate Listeria	Diffchamb	2 jours	réaction immuno-enzymatique	<i>Listeria spp</i>
VIDAS	bioMérieux	2 à 3 jours	réaction immuno-enzymatique	<i>Listeria spp</i> et <i>L. monocytogenes</i>
ALOA/L.monodisk	AES Laboratoires	3 jours	milieu de culture	<i>L. monocytogenes</i>
Gene Trak	Diffchamb	3 jours	hybridation d'ADN	<i>L. monocytogenes</i>
Accuprobe	bioMérieux	3 jours	hybridation d'ADN	<i>L. monocytogenes</i>
Probelia	BioRad	30 heures	Polymerase Chain Reaction	<i>L. monocytogenes</i>
Bax	Qualicon	2 jours	Polymerase Chain Reaction	<i>L. monocytogenes</i>
Rapid'L.mono	Biorad	5 jours	milieu de culture	<i>L. monocytogenes</i>

Le temps de réponse est donné pour des échantillons négatifs.

Pour les échantillons positifs, il faut ajouter de 3 à 5 jours pour les méthodes nécessitant une confirmation.

Les méthodes Vidas LMO, Gene Trak, Accuprobe, Probelia et Bax ne nécessitent pas de tests de confirmation.

II-4-2-1 TECHNIQUE IMMUNO-ENZYMATIQUES :

Ces méthodes sont basées sur la détection d'antigènes spécifiques soit du genre *Listeria* soit de l'espèce *L. monocytogenes* par l'intermédiaire d'anticorps monoclonaux ou polyclonaux conjugués à une enzyme.

Une réaction enzymatique, couplée au complexe antigène-anticorps formé et une réaction chimique avec des substrats chromogènes ou fluorogènes permettant de révéler la présence ou l'absence de germes.

Parmi les techniques immuno-enzymatiques nous citerons :

- La technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)
- Le système VIDAS (BioMérieux)

Ces deux méthodes possèdent une sensibilité comparables aux méthodes bactériologiques, c'est-à-dire de 1 à 10 *Listeria* / ml de lait. Tous les résultats positifs doivent subir une confirmation par une méthode bactériologique.

II-4-2-2 THECHNIQUES IMMUNOPHYSIQUES :

Ces méthodes mettent en œuvre une réaction antigène – anticorps révélée par différentes techniques physiques. Parmi celles-ci nous citerons :

- L'immunocapture dont le principe consiste à recouvrir des billes magnétiques avec des anticorps polyclonaux spécifiques des *Listeria*. Elles sont ensuite extraites et concentrées par aimantation, c'est une concentration immuno-magnétique (IMS). Un milieu gélosé sélectif permet la détection des germes (PALCAM) ou leur dénombrement (gélose dot blot).
- la cytométrie de flux
- Le test immuno-latex.

II-4-2-3 TECHNIQUES PHYSIQUE :

Il s'agit de l'impédancemétrie, cette méthode est basée sur le principe suivant : la croissance des bactéries dans un milieu de culture approprié libère des métabolites ionisés qui modifient les caractéristiques électriques du milieu. Cette croissance est détectée par la mesure en continu de la variation d'impédance ou de conductance dans le milieu.

Le temps de détection est influencé par le nombre initial de bactéries et par le temps de génération spécifique à chaque espèce bactérienne. Cette technique présente certains avantages tels que la rapidité, la simplicité de mise en œuvre, et la possibilité de traiter plusieurs échantillons simultanément. Elle possède aussi quelques inconvénients parmi lesquels nous citerons, son coût relativement élevé et son manque de spécificité, ce qui explique qu'elle n'est pas très utilisée en routine pour la détection des *Listeria* (Bind et al., 1996).

II-4-3 METHODES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE:

II-4-3-1. PRINCIPES :

Au sens de biologie moléculaire, il faut entendre l'ensemble des techniques et connaissances issues de la biologie fondamentale concernant la recherche, l'identification des séquences nucléiques (ADN ou ARN), et l'amplification génique. Les outils utilisés en biologie moléculaire peuvent être :

- biochimiques, avec l'utilisation de sondes ADN (ou ARN) et des enzymes (polymérase, endonucléases...) et / ou
- physico-chimiques avec l'utilisation de différentes techniques électrophorétiques.

Les sondes nucléiques utilisent le principe de l'hybridation d'acides nucléiques, qui est basé sur la capacité des brins complémentaires (d'ARN ou d'ADN) à s'associer spécifiquement de façon à former des complexes stables à double brins. La sonde elle-même composée d'une séquence de nucléotides marqués avec une molécule capable d'être détectée, sélectionne ainsi les séquences homologues d'une même bactérie au sein d'un grand nombre de germes.

Les enzymes (polymérase, endonucléase) induisent la synthèse, la fragmentation ou généralement la modification *in vitro* des acides nucléiques permettant ainsi l'accès à l'information qu'ils contiennent. D'autres enzymes telles que la phosphatase alcaline ou la peroxydase sont utilisées pour le marquage des sondes et la révélation d'un signal chromogène ou luminescent.

Les différentes techniques d'électrophorèse permettent une analyse qualitative et/ou quantitative des fragments d'ADN obtenus après amplification ou par digestion.

II-4-3-2. TECHNIQUES :

Les principales techniques utilisées actuellement sont:

- Le dot blot,
- Le Southern blot,
- Le séquençage,
- L'amplification de la cible selon le principe de la PCR (Polymerase Chain Reaction) ou de l'amplification du signal (ADN branché). Le principe de l'amplification génique est d'utiliser d'une manière répétée l'activité d'une ADN polymérase en présence d'une amorce pour copier en grande quantité la séquence initiale de l'ADN et donc l'amplifier en milliers de fois

Chaque technique fait intervenir différentes étapes qu'on peut regrouper en trois phases principales :

- La préparation de l'échantillon en vue de l'extraction et de la purification de l'ADN ou de l'ARN par différents procédés, chimiques, électriques, thermiques ou mécaniques.
- Les réactions de synthèse d'ADN (PCR, séquençage) et/ou d'hybridation par une sonde (dot blot, Southern blot) qui s'appliquent à l'ADN purifié.
- La révélation ou la détection enfin par des réactions de chimioluminescence, de fluorescence, de colorimétrie ou de radioactivité.

En bactériologie médicale et alimentaire, ces techniques présentent des avantages, tels que spécificité, sensibilité, et rapidité. Elles présentent des inconvénients notamment dans le domaine de l'agro-alimentaire car la plupart des matrices alimentaires telles que le lait cru et ses dérivés sont généralement très contaminés, et contiennent des substances pouvant induire l'inhibition de la réaction d'amplification génique notamment des inhibiteurs de la Taq-Polymérase. Parmi les inconvénients nous citerons aussi la possibilité d'obtenir des faux positifs avec ces techniques car il faut noter qu'une bactérie détectée, peut se présenter dans l'aliment sous trois états différents, viable et cultivable, viable mais non cultivable et morte (Feng, 1997 ; Herman, 1997).

La recherche axée sur la mise au point de techniques de détection des facteurs de virulence tels que le gène *hlyA* codant pour la listériolysine O, de *L. monocytogenes* permettrait d'améliorer la spécificité de ces techniques.

Le tableau n° 9 résume les avantages et les inconvénients de différentes méthodes rapides utilisées pour la détection des *Listeria* dans les denrées alimentaires.

Tableau n°9 : Avantages et inconvénients des différentes méthodes rapides de détection des *Listeria* dans les denrées alimentaires (Bind et al., 1996)

	Sensibilité	Spécificité	Coût	Dénombrement	Automatisation	Rapidité
Méthodes Bactériologiques	+	<i>Listeria</i>	+	Oui	Oui	+
Méthodes ELISA	+	<i>Listeria</i>	++	Non	Oui	Etape de révélation rapide
Immunocapture	++	<i>Listeria</i>	+++	Oui	Oui	Enrichissement rapide
Hybridation + sonde	+	<i>Listeria</i> et <i>L. monocytogenes</i>	+++	Non	Semi-automatisée	Etape de révélation rapide
PCR	++	<i>Listeria</i> et <i>L. monocytogenes</i>	+++	Non	Semi-automatisée	Etape de révélation rapide
Immunolatex	+	<i>Listeria</i>	++	Non	Semi-automatisée	Etape de révélation rapide
Impédancemétrie	+	<i>Listeria</i>	++	Oui	Oui	Etape de révélation rapide
Système VIDAS	+	<i>Listeria</i> et <i>L. monocytogenes</i>	+++	Non	Oui	Etape de révélation rapide

CHAPITRE III :

ÉCOLOGIE DE *L. MONOCYTOGENES* :

III-1 HABITAT NATUREL

Les *Listeria spp.* sont des bactéries ubiquitaires, mésophiles, résistantes dans le milieu extérieur (tableau n°10), très largement répandues dans l'environnement notamment dans les sols, les végétaux, les pâturages, les eaux douces, eaux de mer, vase, eaux d'égouts, dans les locaux des différents animaux d'élevage (litière, sol, parois, fenêtres, mangeoires, abreuvoirs...) dans les ateliers de production agro-alimentaires (produits laitiers, carnés ...) et dans l'environnement domestique (cuisines, réfrigérateurs...). Elle a en plus la propriété d'être psychrotrophe.

L'environnement est considéré comme étant l'habitat naturel de ce germe (Rocourt et Seeliger, 1985 ; Felton, 1999) ou il est capable de s'établir et subsister dans diverses « niches » écologiques. Ces niches existent partout, même dans les établissements qui appliquent les règles de bonnes pratiques d'hygiène. La présence de ces « niches » constitue la principale cause de contamination des denrées alimentaires.

Chez les animaux et chez l'homme un portage intestinal asymptomatique des *Listeria* de l'ordre de 5 à 70 % est observé (Slutsker et Schuchat, 1999).

Tableau n° 10: Survie des *Listeria* dans l'environnement (Larpen, 2000)

Echantillons	Températures en degré Celsius	Survie en jours
Sols stériles	Hiver / printemps été	154
Fèces des ruminants	5°C	182 – 2190
Boues activées (surfaces)	28 – 32°C	35
Ensilages	5°C	180 – 2190
Eaux	2-8°C	790 – 928

III-1-1 LES SOLS :

Les sols sont considérés comme étant la principale source de contamination, surtout les terres agricoles qui reçoivent des déjections animales, des épandages et du matériel végétal en décomposition. Les concentrations les plus élevées en *Listeria* se retrouvent dans les sols humides et marécageux (Weiss et Seeliger, 1975).

La capacité de survivre de ce germe dans l'environnement dépend de la nature du sol et de son degré d'humidité. Certains auteurs ont observé que le taux de *Listeria* reste inchangé pendant 8 semaines dans des boues.

D'autres auteurs (Picard-Bonnaud et al., 1989) démontrent une très grande résistance de ce germe dans les sols, jusqu'à 1500 jours sur sol calcaire à 4°C.

III-1-2 L'AIR :

L'atmosphère environnante contient un grand nombre de particules pouvant contaminer les denrées alimentaires en son contact. Cette contamination reste très aléatoire ; ainsi, il est montré que des aérosols ou *Listeria* serait maintenue plus de trois heures sont capables de recontaminer des produits pasteurisés. Une hygrométrie élevée augmenterait le risque de contamination par *L. monocytogenes* (Farber et Peterkin, 1991 ; Larpent, 2000).

III-1-3 LES VEGETAUX :

La présence de *L. monocytogenes* dans les végétaux est établie dès 1960 (Gray, 1960). Depuis, plusieurs travaux (Welshimer et Donker-Voet, 1971) montrent la très large contamination des végétaux en général : les pâturages, les fourrages et autres alimentations animales, les légumes et même les fruits.

Suite à l'épidémie survenue au Canada en 1981, une étude épidémiologique a permis d'établir la relation entre le produit alimentaire contaminé, le chou et l'origine de sa contamination, l'épandage de fumier (Schlech et al., 1983). Depuis *L. monocytogenes* est isolée à partir de nombreuses denrées végétales : laitues, choux, céleris, concombres, champignons, pommes de terre, radis...

D'autres auteurs montrent que *L. monocytogenes* est présente sur des végétaux et des pâturages non cultivés (Nguyen-Thé et Carlin, 2000). Il semble donc que ce germe fasse partie de l'écosystème tellurique et que son incidence dans l'environnement soit très forte.

Dès les années 1940, et surtout, depuis les années 1960, le rôle prépondérant des ensilages dans la contamination des ruminants, particulièrement les vaches laitières, est mis en évidence. La relation étroite entre animaux ayant reçu une alimentation à base d'ensilage et l'apparition de la listériose animale est établie dès 1953, puis confirmée par différents auteurs (Gray, 1960 ; Nicolas, 1983 ; Fenlon, 1989) ils lui attribuèrent le nom de « maladie de l'ensilage ».

Une épidémie survenue en septembre 2011 touche 18 états des USA, elle a pour origine du cantaloup contaminé par *L. monocytogenes*, 147 personnes sont infectées, et 33 en sont mortes (source : CDC, 2012)

III-1-4 LES EXCREMENTS :

Plusieurs espèces animales en bonne santé, mammifères, oiseaux et poissons excrètent *L. monocytogenes* (Gray et Killinger, 1966).

En effet *L. monocytogenes* est isolée à partir d'excréments d'animaux herbivores tels les moutons, les chèvres et les bovins; mais aussi de volailles et autres oiseaux, de chevaux, de chiens et de chats (Welsh, 1983).

Chez les bovins, ovins, porcins et volailles des taux de portage intestinal de l'ordre de 10 à 30% sont rapportés (Buncié, 1991).

Chez les ruminants, l'excrétion fécale varie selon le type d'élevage, et de l'alimentation, elle est plus importante chez les animaux alimentés par ensilages (Fenlon et al., 1996). Le portage intestinal chez la volaille et la contamination des fientes ne semble pas être à l'origine de la contamination des carcasses de volailles au niveau des abattoirs (Rørvik et al., 2003).

Le portage sain existe aussi chez l'homme, des taux très variables sont observés, de 5 à 10 % des humains hébergent *L.monocytogenes* dans leur tube digestif et cette valeur peut atteindre 90 % chez des techniciens de laboratoire (Slutsker et Schuchat, 1999).

III-1-5 ENVIRONNEMENT DOMESTIQUE :

Peu de travaux sont effectués dans ce domaine, néanmoins les quelques études menées montrent que 20% des environnements domestiques peuvent être contaminés par *Listeria* (Cox et al., 1989 ; Beumer et al.,1996).

L. monocytogenes est isolée à partir de réfrigérateurs domestiques et de vitrines réfrigérées au niveau de la distribution (Sergelidis et al., 1997).

Dans une étude de McDowell et al.(2007) il est observé que sur 342 réfrigérateurs domestiques, 1,2% sont contaminés par *L. monocytogenes*. Cette contamination augmente le risque de la contamination croisée avec d'autres aliments notamment les RTE.

III-1-6 LES EAUX :

Des travaux sont effectués sur la présence des *Listeria* dans les eaux. Il est démontré que les eaux de lacs, de rivières et de ruisseaux sont en général contaminées par les eaux de ruissellement des sols listériogènes, par des eaux d'égouts, ou par des effluents d'usines agro-alimentaires tels que les abattoirs.

Des études récentes sur la contamination des eaux par *Listeria* ont permis d'isoler de nouvelles espèces de *Listeria* comme la *L. weihenstephanensis* (Lang Halter et al., 2013).

III-2 RESERVOIRS ANIMAUX ET HUMAINS DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* :

L. monocytogenes est isolée à partir de plus de soixante espèces animales (animaux sauvages et domestiques ; vertébrés ou invertébrés). La figure N° 1 représente les différentes voies de contamination et les interactions entre les différents secteurs, environnement, animaux, aliments et l'homme. De nombreuses études démontrent le rôle important des porteurs sains dans la transmission de la listériose, que ce soit chez les animaux (Sanaa, 1994 ; Gaya et al., 1996) ou chez l'homme (Larpen, 2000).

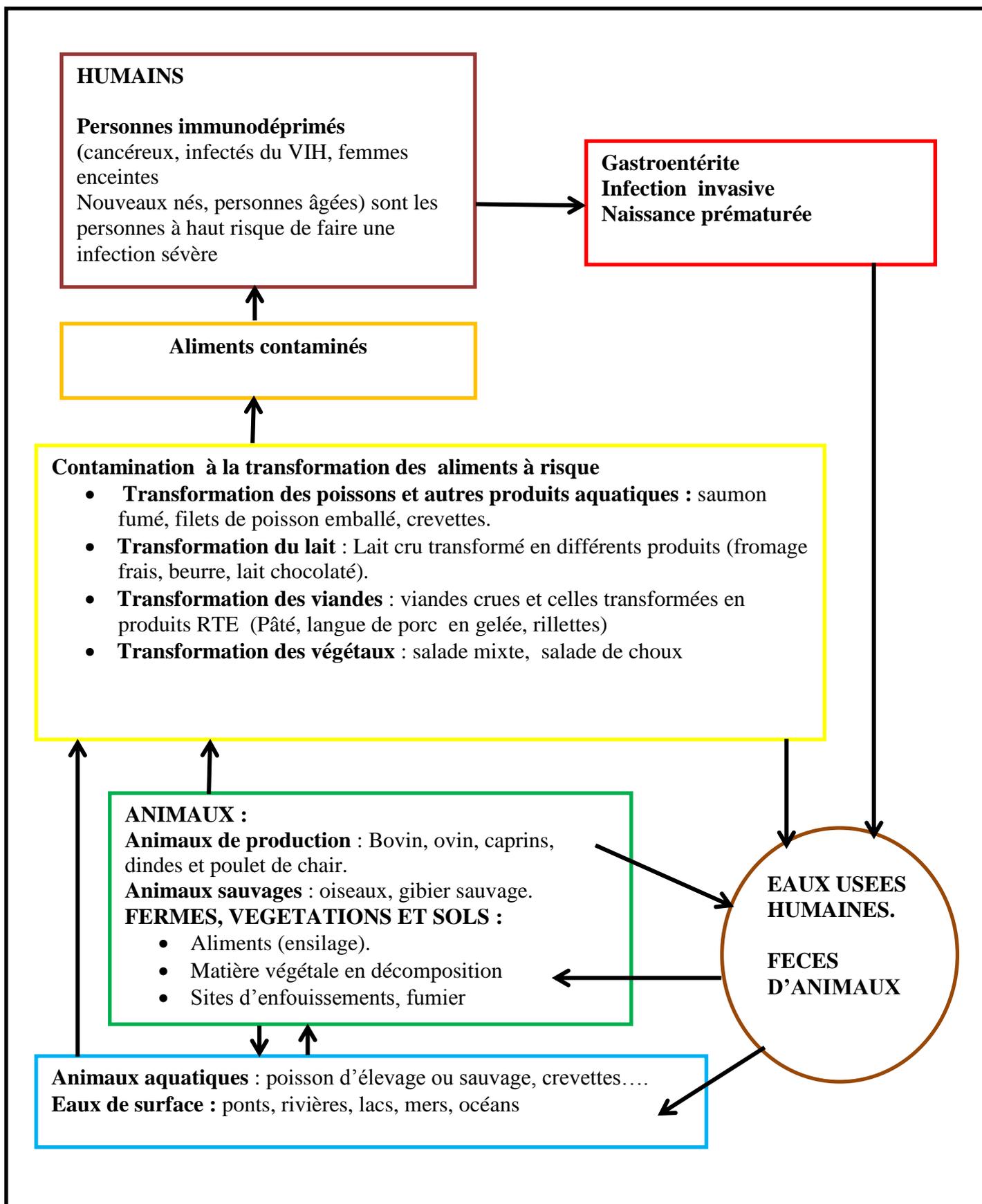


Figure N° 1: relation des *L. monocytogenes* avec l'environnement et le groupe des personnes à risque (Sjöman, 2010)

III-3 DIFFERENTS MODES DE CONTAMINATION PAR *L. MONOCYTOGENES*

Listeria monocytogenes peut contaminer l'homme et les animaux par différentes voies; principalement orale et génitale et accessoirement cutanée, respiratoire .

III-3-1 CHEZ LES RUMINANTS :

Chez les animaux tous les cas de listériose observés ont une origine alimentaire, mais la contamination par l'environnement notamment par l'air, les poussières, les boues et les sols reste toujours possible.

La principale source de contamination des animaux reste l'ingestion d'ensilage lui-même contaminé par le sol. Les ensilages d'herbe ou de maïs mal conduits, avec des pH supérieurs à 5,5 permettent la multiplication de *L. monocytogenes* (Goret et Joubert, 1976).

Certains auteurs montrent que des ensilages fortement contaminés, sont à l'origine d'une contamination massive des animaux par voie alimentaire qui peuvent ainsi devenir porteur sain et excréter *L. monocytogenes* par différentes voies (bouses et laits) sans présenter aucun signe clinique de maladie (Pestre-Alexandre et Nicolas, 1976).

Les sites d'hébergements préférentiels des *Listeria* lors de portage sain sont par ordre d'importance, le tractus gastro-intestinal, le tractus génital, la mamelle et le rhinopharynx.

III-3-2 ORIGINE ALIMENTAIRE CHEZ L'HOMME :

Chez l'homme, il est établi que le mode le plus fréquent de contamination par *Listeria monocytogenes* est l'ingestion d'aliments contaminés. Cette contamination n'est démontrée qu'en 1981, suite à une épidémie qui est survenue au Canada mettant en cause du chou (Schlech et *al.*, 1983). Les aliments les plus incriminés lors d'autres épidémies sont : les laits, les fromages, et les produits de charcuterie. Cependant du fait de son caractère ubiquitaire et de sa résistance au froid, *L. monocytogenes* est isolée à partir de la plupart des denrées alimentaires destinées à la consommation humaine (Farber et Peterkin, 1991).

D'autres portes d'entrée sont suspectées mais non démontrées (Gray et Killinger, 1966) en particulier les voies respiratoires supérieures (angine, pharyngite, infection pseudogrippale). L'existence de listérioses cutanées dans des métiers à risque (vétérinaires, éleveurs) laisse penser que la contamination est, dans ce cas, directe lors d'une manipulation d'animal infecté (AFSSA, 2000).

La dose minimale infectante reste malgré les nombreux travaux, jusqu'à nos jours inconnue, néanmoins les numérations effectuées sur les produits à l'origine de cas cliniques de listériose, indiquent que dans 90% des cas, cette dose serait supérieure à 100 UFC par gramme ou par millilitre de produit ingéré exception faite des produits laitiers (Farber et Peterkin, 1991 ; AFSSA ,2000).

Deux facteurs importants sont à prendre en considération pour étudier la dose infectante, il s'agit du statut immunitaire des personnes concernées et de la virulence des souches de *L. monocytogenes* mises en cause (Euzéby, 2000).

En conclusion nous pouvons dire que le niveau de contamination des aliments par *L. monocytogenes* et l'établissement de critères microbiologiques pose toujours problème et est traité différemment selon les pays (Barnier et *al.*, 1988 ; Cox, 1991).

Expérimentalement la dose infectieuse par voie orale est établie pour les souris et les singes, elles seraient respectivement de l'ordre de 10^8 et 10^9 (FAO, OMS, 2002).

III-3-3 INFECTIONS NOSOCOMIALES :

A côté de la transmission d'origine alimentaire, il est signalé des infections nosocomiales dans des maternités suite à des contaminations entre nouveau-nés, par le biais de la mère, des équipes médicales, par les locaux ou par le matériel. Une contamination d'un nouveau-né sain par un nouveau-né atteint de listériose est déjà décrite. Elle aurait eu lieu lors de l'utilisation d'un thermomètre souillé par le méconium de l'enfant malade et mal nettoyé (Mclauchlin et *al.*, 1998).

III-3-4 TRANSMISSION DE L'ANIMAL A L'HOMME :

Ces modes de transmission, par contact direct avec l'animal infecté ou indirect c'est à dire par les sécrétions et / ou excréments, les membranes fœtales et les fèces animales, ne sont que très rarement observés (Anonyme, 1991).

Des infections des voies respiratoires supérieures, ainsi que des lésions cutanées sont signalées chez des personnes exerçant des métiers à risque tels que vétérinaires, éleveurs, ce qui laisserait penser que il y a eu contamination directe lors de manipulation (AFSSA, 2000).

CHAPITRE IV :

L. MONOCYTOGENES ET DENREES ALIMENTAIRES.

Après avoir décrit leurs caractéristiques et leur relation avec l'environnement en général, il est plus facile de comprendre pourquoi nous retrouvons les *Listeria* à tous les stades de la production des aliments quel que soit leur origine, végétale ou animale, et quel que soit les stades de leur production. La nature ubiquiste de *Listeria* fait qu'elle soit retrouvée dans toutes les catégories d'aliments (Larpent, 2004, Jalali et Abedi, 2008).

Des études démontrent que la source principale de l'augmentation de la contamination par *L. monocytogenes* des denrées alimentaire serait la contamination croisée via l'environnement des unités de transformation (Wendtland et Bergann, 1994). Ce phénomène est renforcé par le caractère psychrotrophe de *Listeria* (Helke et Wong, 1994) et sa grande capacité à adhérer aux surfaces et former des biofilms (Blackman et Frank, 1996).

Toutes les espèces de *Listeria* sont isolées à partir des différentes denrées alimentaires, à des taux très variables parfois pour la même denrée. *L. monocytogenes* et *L. innocua* sont les deux espèces les fréquemment retrouvées, alors que *L. ivanovii* et surtout *L. grayi* le sont à moindre degré.

Les produits laitiers notamment le lait cru et ses dérivés, sont les premières denrées alimentaires à être mises en cause dans l'apparition de cas de listériose chez l'homme, notamment lors des épidémies déclarées en Suisse et aux Etats-Unis (Linnan et al., 1988 ; Bille, 1989), pour lesquelles les investigations épidémiologiques ont mis en cause des fromages ; néanmoins de nombreux travaux s'accordent actuellement à dire que c'est les produits prêts à consommer en l'état (Ready-To-Eat = RTE) qui sont les plus incriminés, ainsi les toasts aux produits carnés, les hot-dogs, le jambon/ poulet en salade, les saucisses et le bœuf rôti semblent être les aliments les plus contaminés par *Listeria* (Meier et Lopez, 2001). Des enquêtes montrent qu'environ 10% des aliments sont contaminés au moment de leur distribution (Uyttendaele et al., 1999 ; Goulet et Pierre, 2004 ;).

V-1 L. MONOCYTOGENES DANS LES VIANDES ET PRODUITS CARNES :

L'émergence de *L. monocytogenes* comme un véritable Foodborne –pathogène et l'implication de nombreux produits RTE dans des cas de listériose humaine a suscité de l'intérêt pour prospecter l'incidence et le comportement des *Listeria* dans les viandes de volailles et autres produits carnés. L'implication des produits carnés dans l'apparition de cas de listériose est établie dès 1987 (McLauchlin et al., 1991) et le premier cas documenté de listériose humaine lié à la consommation de viande de poulet est rapporté en Angleterre en 1988 (Kerr et al., 1988a et 1988b).

L'intérêt à ces catégories d'aliments a augmenté d'une manière fulgurante depuis 1988 où 4 épidémies majeures de listériose humaine sont directement liées à la consommation de produits carnés à base de dinde (saucisse de Frankfurt) et autres RTE à base de viandes (Anonyme, 1989a et 1989b ; Barnes et al., 1989 ; CDC, 2002)

Ce sont essentiellement les produits de charcuterie, ou les *Listeria* sont présentes en proportion importante, qui sont souvent incriminés dans les épidémies de listériose.

Comparés aux autres denrées alimentaires, les produits carnés sont les aliments les plus fréquemment contaminés par *L. monocytogenes*, avec des taux de contamination de l'ordre de 15% environ (Johnson et al., 1990 ; Goulet et Pierre, 2004).

L. monocytogenes est isolée à partir de viandes crues de différentes espèces animales telles les bovins, les ovins, les caprins, les chevaux, les porcs, et la volaille (Aba, 2009).

Les taux de contamination des viandes blanches ou rouges sont très variables en fonction des auteurs et des pays dans lesquels sont menées les enquêtes (tableau n°11).

Cette variabilité s'expliquerait par les différents plans d'échantillonnage utilisés, les sites de prélèvements et les différentes méthodes utilisées pour la recherche du germe. D'autre part des fluctuations importantes sont observées entre les taux observés après abattage et les taux observés après transformation (Anonyme, 2000).

V-1-1. Poulet.

La présence de *Listeria* dans le poulet est amplement documentée dans de nombreux pays et sa prévalence est souvent plus importante que celle retrouvée dans les viandes rouges.

Aux USA, Bailey et al., 1989 rapportent que les taux de contamination des surfaces de carcasses de poulet de chair sont de 37,8% pour *Listeria spp* et de 23,3% pour *L. monocytogenes*, 64% de ces dernières appartiennent au sérotype 1/2b.

Entre 1988 et 1989, Genigeorgis et al. (1989) mènent deux grandes enquêtes qui concernent la présence de *Listeria* dans le poulet frais et ou semi congelé dans les abattoirs et le commerce du détail, ces enquêtes aboutissent à une prévalence de *L. monocytogenes* de 12,5%, 16% et 15% dans les ailes fraîches, les cuisses fraîches et du foie frais de poulet respectivement, par contre le taux de contamination de ces produits à l'état semi-congelé n'est que de 10% pour les trois produits, confirmant ainsi la capacité de *Listeria* à survivre dans le poulet cru semi congelé.

La contamination des carcasses ou des autres produits prédécoupés (cuisses, blanc, ailes..) surviendrait lors des dernières étapes de transformation en particulier avant l'emballage (Genigeorgis et al., 1989 ; Cox et al., 1997).

Les sérotypes de *L. monocytogenes* dominants dans le poulet cru sont le 1/2a, 1/2b et 1/2c.

Au Royaume Uni, suite à l'émergence de *Listeria* comme pathogène transmis par voie alimentaire, Pini et Gilbert, 1985 mènent une enquête qui révèle que 66% et 54% du poulet frais et poulet congelé respectivement sont contaminés par *L. monocytogenes*.

L. innocua, *L. seeligeri* et *L. welshimeri* sont également isolées seules ou associées à *L. monocytogenes* à partir de 26% et 30% des deux produits respectifs.

La prévalence des *Listeria* est variable selon le produit d'où elle est isolée, aussi les cuisses de poulet semblent être les produits les plus contaminés, à des taux de contamination très élevés. Soutos et al. (2002) rapportent des prévalences de 17,5% dans des pièces de poulets emballés.

Les sérotypes de *L. monocytogenes* dominants dans le poulet cru sont le 1/2a, 1/2b et 1/2c, 3a, 4b.

En Europe continentale, la contamination du poulet est documentée dans de nombreux pays ; France et Belgique (Uyttendale et *al.*, 1999 ; Chasseignaux et *al.*, 2001) ; Norvège (Berrang et *al.*, 2000 ; Rørvik et *al.*, 2003), Espagne (Lopez et *al.*, 2007), Finlande (Miettinen et *al.*, 2001 ; Sjöman, 2010), Portugal (Mena et *al.*, 2004 ; Almeida et *al.*, 2005a).

Autres pays : La contamination des carcasses de poulet a été rapporté en Chine (Wang et *al.*, 1992), en Malaisie (Arumugaswamy et *al.*, 1994), aux Emirats Arabes Unis (Gohil et *al.*, 1995,) ; Taiwan (Yan et *al.*, 2012), en Afrique du sud (Van Nierop, 2005), au Maroc (Cohen et *al.*, 2007 ; Ennaji et *al.*, 2008) et en Iran (Fallah et *al.*, 2012).

V-1-2. Dinde.

Les études menées sur la viande dinde issue du commerce du détail ou des abattoirs, montrent que les niveaux de contamination par *L. monocytogenes* sont similaires à ceux observés dans le poulet. Les *Listeria spp* dominants chez la dinde restent *L. welshimeri* contrairement au poulet ou c'est *L. innocua* qui domine (Genigeorgis et *al.*, 1990).

Toutes les études menées sur le poulet ou la dinde s'accordent à confirmer que les premières contaminations ont lieu le plus souvent au niveau de la préparation des carcasses et des autres produits (cuisses, ailes...), il s'agit alors d'une contamination de surfaces qui augmente le long de la ligne d'abattage et atteint des niveaux très importants avant l'emballage et refroidissement (Skovgaard et Morgen, 1988 ; Genigeorgis et *al.*, 1989 ; Berrang et *al.*, 2000 ; Whyte et *al.*, 2004).

Il est démontré que le contenu caecal n'était pas la seule source de contamination des carcasses (Rørvik et *al.*, 2003) car sa contamination par *L. monocytogenes* est faible par rapport à celle enregistré sur les carcasses, ce qui laisse à suggérer que la contamination vient essentiellement de l'environnement de l'unité d'abattage via les machines, couteaux et autres ustensiles de l'abattoir qui seraient mal désinfectés comme le rapportent et Ojeniyi et *al.* (1996).

Miettinen et *al.*(2001) Les techniques de typage moléculaire permettent lors d'enquêtes épidémiologiques menées suite à l'apparition d'épidémies, d'identifier des mêmes souches de *L. monocytogenes* isolées dans les ateliers au cours de la production, et après nettoyage et désinfection ; d'où apparition de la notion de l'existence de souches « résidentes » ; c'est-à-dire la persistance d'un même serovar de *L. monocytogenes* au niveau des abattoirs et des ateliers de transformation (Giovannaci et *al.*,1999 ; Chasseignaux et *al.*, 2002).

Tableau n° 11 : Prévalence de *Listeria spp* et *L. monocytogenes* dans différents types de viandes

Type de viande	Lieu du prélèvement	Prévalence (%)		Nombre d'échantillons	Pays	Références
		Spp	L.m			
Carcasse de poulet (peau)	Abattoir	37	23	90	USA	Bailey <i>et al.</i> (1989)
Carcasse de poulet (peau)	Détail	95	15	100	Espagne	Capita <i>et al.</i> (2001)
Carcasse de poulet	Abattoirs	41	50	150	Norvège	Rørvik <i>et al.</i> (2003)
Chicken cuts	Fabrication	31	51	95	Norvège	Rørvik <i>et al.</i> (2003)
Chicken cuts	Détail		62	61	Finlande	Miettinen <i>et al.</i> (2001)
Carcasse de volaille	Détail	4,5	0	66	Iran	Jalai et Abedi (2008)
Bœuf frais	Détail	15,7	2,6	38	Iran	Jalai et Abedi (2008)
Poulet cru	Détail		60	15	Portugal	Mena <i>et al.</i> (2004)
Viande de dinde	Détail		14	21	Autriche	Mayrhofer <i>et al.</i> (2004)
Viande de poulet	Détail		23	89	Autriche	Mayrhofer <i>et al.</i> (2004)
Carcasses poulet frais	Détail		18	66	Afrique du sud	Van Nierop <i>et al.</i> (2005)
Carcasses poulet congelé	Détail		21	23	Afrique du sud	Van Nierop <i>et al.</i> (2005)
Poulet cu	Détail		8,94	235	Chine	Shi <i>et al.</i> (2010)
Poulet cru	Détail	48	18	80	Irlande du nord	Soultos <i>et al.</i> (2003)
Bœuf haché	Détail	77	16,4	61	Maroc	El Marrakchi <i>et al.</i> (1998)
Poulet cru	Détail		5	60	Serbie	Trajkovic-Pavlovic <i>et al.</i> (2007)
Ailes de poulet	Détail		58	138	Brésil	Ristori <i>et al.</i> (2010)
Viande de bœuf	Détail	26,67	16,67	30	Taiwan	Yan <i>et al.</i> (2012)
Viande fraîche de bœuf	Détail		5,83	113	Algérie	Aba, 2009
Viande fraîche ovine	Détail		6,66	112	Algérie	Aba, 2009

V-2. LAITS ET PRODUITS LAITIERS

V-2-1 LAITS CRUS :

De par sa composition physico-chimique, le lait est un excellent milieu de culture pour l'ensemble des micro-organismes et parmi ceux-ci *L. monocytogenes*. Parmi les différents produits laitiers, les laits crus sont les produits les plus contaminés, car non seulement ils ne subissent aucun traitement thermique, de plus, la contamination peut survenir à différentes étapes de la collecte (Portalier, 2002).

Certains auteurs (Menard et Serieys, 1993) considèrent qu'il existe deux sources principales de contamination du lait cru de collecte au niveau des fermes d'élevage ; la première source est d'origine intramammaire, essentiellement lors de mammites sub-cliniques ; et la deuxième due aux facteurs extramammaires représentés par les ensilages, la mauvaise hygiène des étables et enfin les bouses de vaches.

En Algérie, les travaux que nous avons retrouvés montrent des taux de contamination des laits crus par *Listeria monocytogenes* sont de l'ordre de 0,19 à 2,61%, et toutes les souches isolées appartiennent au sérotype 4b (Bellouni, 1990 ; Lebres, 2000 ; Hamdi et al., 2007).

V-2-2 LES FROMAGES :

Dans différents pays, plusieurs types de fromage, notamment les fromages à pâte molle (brie de Meaux, camembert) sont à l'origine de cas sporadiques et épidémiques de listériose humaine, c'était le cas en Suisse, en France, et aux Etats-Unis. En France, en 1995, 14 cas de listériose sont dus à la consommation de fromage à pâte molle et en 1997, 35 cas de Listériose dus à la consommation de Brie (Bille, 1989 ; Linnan et al., 1988 ; Goulet et al., 1995). En 2012, 4 personnes sont mortes aux USA, après avoir consommé du Ricotta contaminé par *L. monocytogenes*. En juillet 2013, une épidémie due à un fromage fermier provoque l'infection chez cinq personnes, conduit à la mort d'une personne et à un avortement chez une femme enceinte (CDC, 2013). L'incidence de *L. monocytogenes* dans les fromages varie selon les études et les pays. Selon certains auteurs (Jouve, 1996) cette fréquence varierait entre 0,5 et 10 % des échantillons testés. Selon Nicholas et al. (1989) 0,9 % des fromages fabriqués à partir de lait pasteurisé sont contaminés, contre 4% de fromages fabriqués à partir de lait cru.

V-2-3. AUTRES PRODUITS LAITIERS :

Une multitude de produits laitiers peut être contaminée par *L. monocytogenes* et à des taux très variables : aussi, la contamination des yaourts est déjà rapportée par Schaack et Marth (1988a) et Larpent (2000) , celle des crèmes glacées par Palumbo et Williams (1991). Le beurre pasteurisé est même incriminé dans une épidémie de listériose humaine en Finlande en 1999 (Lyytikainen et al., 2000).

V-3 L. MONOCYTOGENES DANS LES PRODUITS DE LA PECHE.

Les poissons et les coquillages peuvent être aussi contaminés par *L. monocytogenes*.

Le taux de contamination des produits de la pêche par *L. monocytogenes* varie de 0 à 80% (Ben Embarek, 1994). Il dépend de plusieurs facteurs dont : l'origine (eau de mer, eau douce), la saison, la technique de pêche, la manipulation du poisson, et le mode de conservation.

L'origine de la contamination du poisson demeure incertaine même si l'on considère que la contamination du poisson dans son milieu naturel est rare, elle a lieu le plus souvent lors de la transformation par l'environnement dans les ateliers.

Parmi les nombreuses espèces de poissons, le saumon et notamment le saumon fumé fait l'objet de nombreuses recherches de *L. monocytogenes* (Dauphin et al., 2001 ; Gudmundsdóttir et al., 2005).

V-4 L. MONOCYTOGENES DANS LES PRODUITS PRETS A CONSOMMER (RTE).

Les produits prêts à consommer ; ceux à base de viande rouge ou blanches, les produits de la mer, les légumes et fruits sont associés à des cas sporadiques ou même des épidémies de listériose humaine (Farber et Peterkin, 1991).

L'association entre de nombreux cas de listériose et la consommation de RTE cuits et cuits /réfrigérés à base de viande de poulet est rapportée en Angleterre et aux USA (Kerrat al., 1988 ; Anonyme, 1989 ; Barnes et al., 1989).

Les prévalences de *Listeria spp* dans les viandes ou produits carnés sont variables et vont de 1,8% à 48% (Soultois et al., 2003, Mena et al., 2004, Vitas et al., 2004).

La capacité de *Listeria* de se multiplier dans des aliments stockés au froid, augmente le risque d'infection via des produits réfrigérés, notamment les produits prêts à consommer réfrigérés (Jalali et Abedi, 2007).

Cette catégorie d'aliments pose un grand problème aux industriels des filières agro-alimentaires et peut engendrer des pertes économiques très importantes à cause des rappels de produits contaminés. Les politiques de gestion du risque que posent les RTE est variable d'un pays à un autre. Les critères microbiologiques par catégorie d'aliments ou recommandations pour les taux admissibles de *L. monocytogenes* dans les RTE sont établis. Le risque zéro ou absence dans 25g est prôné aux USA pour l'ensemble des RTE et en Algérie pour le lait. Comme il est reconnu que fabriquer un produit exempt de *Listeria* est irréaliste (Lawrence et Gilmour, 1994 ; Nørrung, 2000) en Europe les critères microbiologiques adoptés sont variables selon le produit à consommer. Ainsi, dans les aliments destinés aux consommateurs à risque (ex : le lait infantile), le critère microbiologique adopté est l'absence dans 25 g ; dans les aliments qui ne favorisent pas la croissance de *Listeria* et dans ceux qui n'ont que 5 jours de DLC, le critère adopté est moins de 100UFC/g et dans les produits qui favorisent la croissance de *Listeria* le critère adopté est l'absence dans 25g à la production (sortie d'usine) et moins de 100UFC/g à la fin de la DLC (European commission , 2005 ; EFSA, 2007).

CHAPITRE V :

POUVOIR PATHOGENE :

V-1 MECANISMES D'INFECTION :

L. monocytogenes est isolée pour la première fois par Murray et al. en 1926 lors d'une épidémie observée chez des lapins et des cobayes de laboratoire. Par la suite, des infections sont décrites, dans pratiquement tous les pays, chez plus de 40 espèces d'animaux domestiques et sauvages ainsi que chez l'homme. Chez les ruminants, les deux espèces pathogènes sont *L. monocytogenes* et *L. ivanovii*. Chez les autres espèces animales et chez l'homme, seule *L. monocytogenes* est vraiment importante. Quelques infections, dues aux autres espèces du genre *Listeria* sont décrites : *L. innocua* (méningo-encéphalites du mouton), *L. ivanovii* (bactériémies chez des patients infectés par le virus HIV et chez des patients alcooliques ou drogués), *L. seeligeri* (méningite purulente), *L. grayi* (isolée du sang d'une femme atteinte d'une maladie de Hodgkin (Euzéby, 2000)). En médecine vétérinaire, les infections à *Listeria spp.* sont particulièrement importantes chez les ruminants.

Chez l'homme, l'infection commence par l'ingestion d'aliments contaminés puis *Listeria* doit ensuite passer la barrière stomacale, traverser la paroi intestinale pour atteindre la circulation sanguine et se disséminer dans le système nerveux central ou le placenta. Les mécanismes moléculaires permettant à *Listeria* de traverser la barrière intestinale étaient mal connus mais les nouvelles recherches ont permis de faire de nombreuses découvertes qui commencent à élucider ce phénomène.

Le tube digestif constitue donc la principale porte d'entrée des *Listeria*. Les bactéries pénètrent dans les cellules et passent dans le sang ; elles sont captées par les cellules phagocytaires du foie et de la rate où elles se multiplient et envahissent le parenchyme environnant jusqu'aux capillaires sanguins. Une deuxième décharge dans le sang conduit les bactéries jusqu'au système nerveux central provoquant encéphalite et méningite.

L. monocytogenes possède un pouvoir pathogène remarquable mettant en jeu les mécanismes moléculaires relativement universels de pathogénicité (Gray et Killinger, 1966). La gravité des infections causées par ce germe est liée au pouvoir invasif de ce pathogène capable de pénétrer, de se multiplier et de se propager dans plusieurs types de cellules eucaryotes et est aussi capable de vaincre les trois barrières principales rencontrées dans l'hôte: la barrière intestinale, la barrière du sang-cerveau et la barrière placentaire (Farber et Peterkin, 1991). *L. monocytogenes* est une bactérie à développement intracellulaire (parasite intracellulaire). Elle pénètre dans la cellule par phagocytose. Inclue alors dans le phagolysosome, elle échappe à la destruction grâce à la production de listériolysine qui détruit la membrane vacuolaire, elle se trouve alors libre dans le cytoplasme où elle se multiplie activement. Elle provoque la polymérisation de l'actine cellulaire et s'en trouve mobilisée jusqu'à la membrane cytoplasmique formant des évaginations et poussant des pseudopodes à l'intérieur des cellules voisines qui sont donc infestées de proche en proche.

La principale caractéristique de *L. monocytogenes* est sa capacité à survivre et à se multiplier à l'intérieur des cellules ou elle est à l'abri du système immunitaire (Mackaness, 1962). Elle peut se multiplier dans les monocytes et les macrophages résidents des tissus (Figure n°2), mais les polynucléaires neutrophiles sont très bactéricides pour *L. monocytogenes* (Czuprynski et al., 1984). Elle peut aussi envahir de nombreuses autres cellules de l'hôte infecté notamment les entérocytes, les fibroblastes, les hépatocytes et les cellules endothéliales dans lesquelles elle peut s'y multiplier. Cette multiplication intracellulaire est à l'origine de foyers granulomateux disséminés dans les tissus des hôtes infectés, constituant une véritable miliaire infectieuse avec accumulation de cellules inflammatoires (polynucléaires, monocytes, lymphocytes...). A partir des foyers granulomateux, *L. monocytogenes* peut se disséminer par voie sanguine et infecter le système nerveux central et le placenta (Berche, 1999).

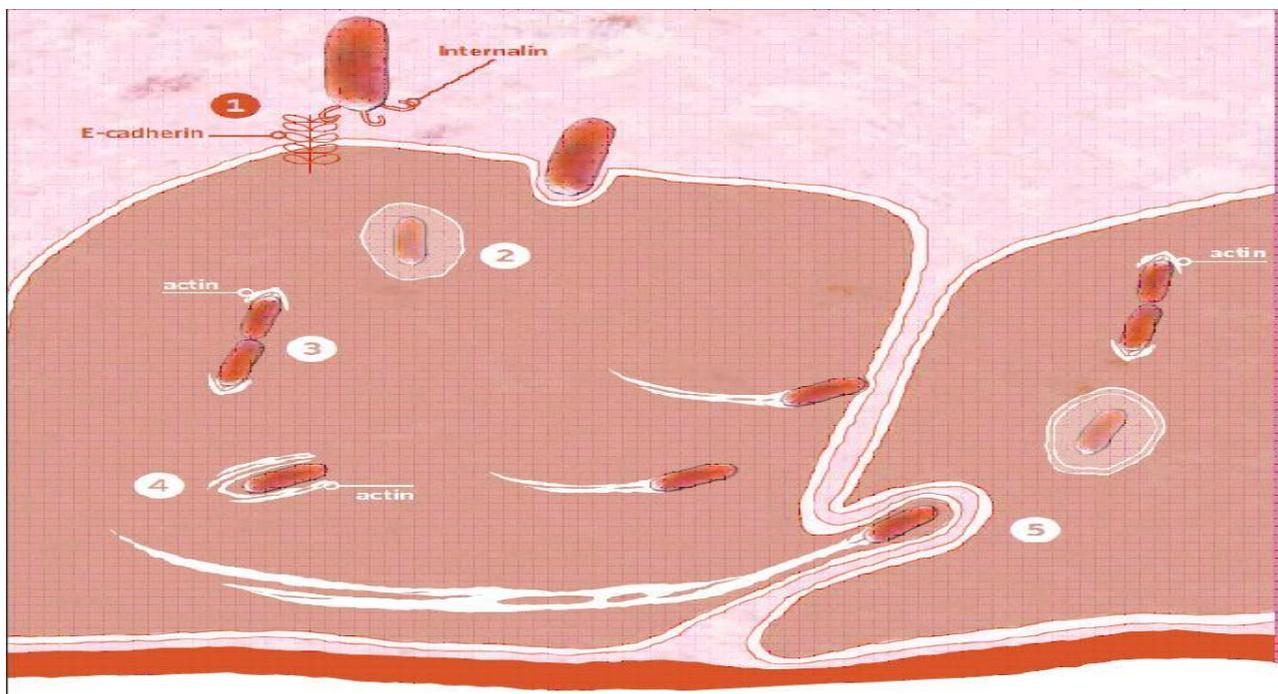


Figure N°2 : Cycle intracellulaire et facteurs de virulence de *L. monocytogenes* (Cossart, 2010)

V-2 FACTEURS DE VIRULENCE DE *L. MONOCYTOGENES* :

Actuellement *L. monocytogenes* est utilisée comme un organisme modèle dans les études sur la pathogénie des parasites intracellulaires. Le parasitisme intracellulaire de *L. monocytogenes* est le mécanisme crucial du pouvoir pathogène, expliquant le caractère invasif des bactéries et leur capacité rapide de dissémination.

Le cycle de réplication intracellulaire est illustré par la figure N° 2. Les bactéries entrent d'abord en contact étroit avec les cellules hôtes grâce à une protéine de 80 kDa appelée l'internaline, codée par un gène chromosomique, le gène *inlA* (Gaillard et al., 1991 ; Olier et al., 2005). Cette protéine, exposée à la surface de la bactérie, interagit avec des récepteurs de type E-cadhérine présents sur les cellules hôtes (Mengaud et al., 1996). Cette interaction spécifique induit dans les cellules eucaryotes, un processus s'apparentant à la phagocytose.

Un gène adjacent à *inlA*, appelé *inlB* code pour une protéine de surface qui agirait en synergie avec l'internaline pour favoriser l'entrée du germe dans les hépatocytes (Gaillard et *al.*, 1991 ; Dramsi et *al.*, 1995).

À l'intérieur des cellules, les bactéries se trouvent dans le compartiment phagosomal qui est rapidement acidifié par des pompes à protons (De Chastellier et Berche, 1994). Dans cet environnement acide où elles sont exposées à l'activité microbicide des cellules, les bactéries ne peuvent pas se multiplier et vont tenter d'échapper au phagosome (fusion phagolysosomale). Cet échappement se fait par destruction de la membrane du phagosome du fait de l'action synergique de la listériolysine O (une exotoxine hémolytique de 58 kDa, active, à pH acide et codée par le gène *hly*) (Gaillard et *al.*, 1986 ; Cossart et *al.*, 1989) et d'une phosphatidyl-inositol phospholipase C codée par le gène *plcA* (Camilli et *al.*, 1993). Les bactéries accèdent ainsi au cytoplasme où elles se multiplient. Cet échappement doit être rapide car si la fusion phagolysosomale survient, la bactérie est détruite (De Chastellier et Berche, 1994). La survie intracellulaire de *L. monocytogenes* résulte donc d'un phénomène de compétition entre la rapidité de mise en œuvre de la fusion phagolysosomale et la capacité des bactéries d'échapper rapidement au phagosome. Les protéines de stress jouent aussi un rôle majeur dans la survie et l'échappement des phagosomes (Rouquette et *al.*, 1998).

La réplication intracytoplasmique s'accompagne d'une polymérisation de l'actine F en actine G à la surface des bactéries créant une « comète » d'actine qui favoriserait la propulsion de certaines bactéries à l'intérieur de la cellule et même hors de la cellule (Mounier et *al.*, 1990). La polymérisation est due à la protéine bactérienne ActA qui déclencherait le processus de nucléation de l'actine par l'intermédiaire de protéines cellulaires telles que la profiline. Le mouvement intracellulaire de *L. monocytogenes* induit par la protéine ActA entraîne la dissémination des bactéries vers les cellules adjacentes, où elles sont entourées d'une double membrane cytoplasmique. Les micro-organismes sont alors dans un environnement très différent de celui de la vacuole de phagocytose, à pH neutre et à l'abri de la fusion phagolysosomale qui ne peut survenir à cause de la double membrane. L'échappement de cette nouvelle vacuole est dû à la production d'une nouvelle phospholipase, la phosphatidyl-choline phospholipase C codée par le gène chromosomique *plcB* (Geoffroy et *al.*, 1991).

L'ensemble de ces gènes de virulence se répartit en un îlot chromosomique de pathogénicité de part et d'autre du gène *hly* avec, en aval, l'opéron lécithinase rassemblant les gènes *mlp* (Mengaud et *al.*, 1991), qui code pour une métalloprotéase zinc-dépendante impliquée dans la maturation de la phosphatidyl-choline phospholipase C, et les gènes *actA* et *plcB*, et, en amont, l'opéron *prfA*, comprenant le gène *prfA* (Mengaud et *al.*, 1991 ; Dramsi et *al.*, 1993), et les gènes *inlA* et *inlB* qui se trouvent à une certaine distance sur le chromosome. L'ensemble des gènes de virulence est contrôlé positivement par l'activateur transcriptionnel PrfA (Milohanic et *al.*, 2003).

De récents travaux portant sur des souris transgéniques modifiées génétiquement pour qu'elles expriment la cadhérine humaine au niveau intestinal, contaminées par *L. monocytogenes* par voie intraveineuse et orale permettent la mise en évidence d'un nouveau gène nommé *fbpA*, décrit comme étant un nouveau facteur multifonctionnel de la virulence de *L. monocytogenes* ; un gène nécessaire à la colonisation des cellules intestinales et hépatiques (Dramsi et *al.*, 2004). L'expression du gène FbpA affecte les taux des deux protéines de virulence, listériolysine O (LLO) et InlB, mais pas celui de l'InlA ou de l'ActA (Dramsi et *al.*, 2004).

De même d'autres auteurs montrent que le produit du gène *degU* serait l'activateur transcriptionnel du gène flagellaire *flaA*, à 25 °C ; par contre il n'aurait aucune influence sur l'activateur transcriptionnel *PrfA* (Berche, 1999 ; Knudsen *et al.*, 2004).

Différentes études comparant des souches humaines et des souches alimentaires permettent de déterminer l'hétérogénéité du marqueur de la virulence dans *L. monocytogenes*. Les résultats montrent qu'il y a des différences claires dans les protéines exprimées par différents serovars, par souches ayant des origines différentes (humaines et alimentaires), et par organismes qui causent des formes cliniques différentes de listériose (Jacquet *et al.*, 2002).

V-3 PORTE D'ENTREE DIGESTIVE :

La porte d'entrée de l'infection, chez l'homme, est le plus souvent le tube digestif à la suite de l'absorption d'aliments contaminés (Farber et Peterkin, 1991). D'autres portes d'entrée sont suspectées mais non démontrées (Gray et Killinger, 1966), en particulier les voies respiratoires supérieures (angine, pharyngite, infection pseudo-grippale). Les plaques de Peyer seraient le site préférentiel de multiplication des bactéries dans le tube digestif (Pron *et al.*, 1998). Cette prolifération entraînerait la formation de microfoyers dans l'intestin, associés à une libération des bactéries dans la lamina propria, où les micro-organismes seraient phagocytés par les monocytes et les macrophages. La dissémination pourrait alors se faire par voie lymphatique vers les ganglions lymphatiques régionaux, puis vers la circulation sanguine. Les monocytes infectés pourraient véhiculer les bactéries et les relarguer dans la circulation où elles sont rapidement phagocytées par les macrophages résidents des tissus et, en particulier, par les cellules de Küppfer du foie et les macrophages résidents de la rate (Berche, 1999)

V-4 MULTIPLICATION HEPATIQUE :

Le foie est un organe épurateur majeur, y compris pour les micro-organismes présents dans le sang. Les hépatocytes sont le site de la multiplication non seulement de *L. monocytogenes* (Gaillard *et al.*, 1996) mais aussi de certaines bactéries, telles que *Salmonella typhimurium* ou *Francisella tularensis*, ainsi que de nombreux virus. Les capillaires sinusoides du foie sont formés d'un endothélium discontinu de cellules endothéliales, de cellules de Küppfer et d'hépatocytes en contact direct avec la circulation sanguine. Les bactéries seraient phagocytées par les cellules de Küppfer, envahiraient les hépatocytes et/ou pourraient directement pénétrer dans les hépatocytes à partir de bactéries libres dans la circulation sanguine. L'internaline, à ce stade, joue un rôle crucial dans la pénétration dans les hépatocytes (Gaillard *et al.*, 1996). La multiplication bactérienne dans les tissus provoque une réponse inflammatoire intense avec la formation des granulomes (Berche, 1999).

V-5 CONTROLE DE L'INFECTION PAR LE SYSTEME IMMUNITAIRE :

La résistance naturelle contre *L. monocytogenes* met en jeu la mobilisation et l'activation des cellules phagocytaires sur les sites de l'infection, c'est ainsi qu'un afflux massif de polynucléaires neutrophiles est observé précocement (Mackness, 1962).

Ces cellules détruisent les hépatocytes infectés et libèrent les bactéries qui sont alors rapidement détruites par ces cellules phagocytaires. Ce mécanisme de résistance semble parmi les plus efficaces de ceux qui sont mis en jeu lors de la primo-infection.

En même temps, les macrophages infectés par les bactéries produisent du TNF-alpha (tumor necrosis factor alpha) et de l'interleukine 12 (IL12). Ces cytokines, en association avec des facteurs bactériens, activent les cellules NK (natural killer), qui produisent l'interféron gamma (Dunn et North, 1991). Cette cytokine, en synergie avec le TNF-alpha, déclenche à son tour les activités bactéricides des macrophages.

La résistance acquise spécifique fait suite à cette première vague de défenses non spécifiques. Cette résistance est liée à l'expansion clonale de cellules T dirigées contre des déterminants antigéniques de *L. monocytogenes* et requiert la multiplication active des bactéries dans les cellules présentatrices (Berche et al., 1987). Les cellules T CD4-alpha β et T- gamma delta sont surtout impliquées dans la formation des granulomes inflammatoires qui caractérisent les lésions tissulaires observées au cours de l'infection par *L. monocytogenes* mais elles ne sont pas directement impliquées dans la protection. En revanche, les cellules T-CD8-alpha β y jouent un rôle important par leur effet cytotoxique, exposant ainsi les bactéries intracellulaires aux polynucléaires neutrophiles et aux macrophages (Brunt et al., 1990). Ces cellules cytotoxiques reconnaissent des peptides associés aux molécules de classe I du système majeur d'histocompatibilité, notamment ceux provenant de la listériolysine O (Berche et al., 1987). Les cellules CD8 antilistériolysine O, plus spécifiquement dirigées contre l'épitope 91-90, sont protectrices (Harty et Bevan, 1992).

Le système immunitaire, la plupart du temps, contrôle l'infection chez les sujets immunocompétents qui feront une infection a minima et qui sont souvent totalement asymptomatiques. Ceci est probablement le scénario le plus fréquent, si l'on considère la fréquence de l'exposition à *L. monocytogenes* et la rareté de la maladie clinique. Cependant, si l'inoculum est massif ou chez certains sujets fragilisés (femmes enceintes, patients immunodéprimés sous chimiothérapie, patients sidéens ou présentant des insuffisances hépatiques telles que cirrhose ou hémochromatose, ou encore certains sujets qui pourraient avoir une prédisposition génétique), l'infection n'est pas contrôlée par le système immunitaire au cours de la phase hépatique et les bactéries sont relarguées dans la circulation sanguine. C'est à ce stade que des localisations métastatiques sont possibles, en particulier vers le placenta et le système nerveux central (Berche, 1999).

CHAPITRE VI :

ETUDE CLINIQUE DE LA LISTERIOSE :

La listériose est une maladie bactérienne due à *L. monocytogenes* qui affecte l'homme et de nombreuses espèces animales. La transmission de cette maladie se fait essentiellement par voie digestive. On retrouve pour la plupart des espèces des formes septicémiques, des formes nerveuses et des formes génitales. Seules *L. monocytogenes* pour l'homme et l'animal, et *L. ivanovii* pour l'animal, sont pathogènes.

VI -1 MALADIE CHEZ L'ANIMAL :

VI -1-1 FORMES CLINIQUES :

Presque tous les animaux peuvent être atteints. Des septicémies, des encéphalites, et des avortements sont les manifestations cliniques le plus souvent observées (Vaissaire, 2000).

La listériose apparaît comme une maladie essentiellement animale et accidentellement transmissible à l'homme. Ainsi, *L. monocytogenes* est décelée chez les bovins, ovins, caprins, porcins, volailles, rongeurs. Souvent, la listériose provoque des infections inapparentes qui n'entraînent pas de manifestations cliniques décelables. Elle ne se révèle qu'à l'occasion de la gestation conduisant à l'avortement. Ces infections inapparentes font que les espèces animales porteuses de germes peuvent être, directement ou indirectement, à l'origine de la contamination de l'homme et d'autres espèces animales.

VI -1-1-1 CHEZ LES RUMINANTS :

La listériose se caractérise par 3 formes :

- La forme septicémique touche surtout les jeunes aboutit rapidement à la mort (Euzeby, 2000).
- La forme génitale, à l'origine d'avortements surtout lors du dernier tiers de la gestation auxquels font suite une rétention placentaire et une métrite.
- La forme nerveuse, se traduisant par des encéphalites chez les ovins et les bovins chez qui on retrouve des signes oculaires tels que strabisme, chorioretinite, des signes généraux tels que torpeur et coma, associés à des signes fonctionnels comme la paralysie faciale souvent unilatérale ou des troubles de l'équilibre (Euzeby, 2000).

VI -1-1-2 CHEZ LES OISEAUX :

La maladie est fréquemment associée à une affection intercurrente qui fragilise le système immunitaire, telles que la salmonellose et la coccidiose. Les jeunes oiseaux semblent plus atteints que les sujets âgés. La mortalité est très variable, faible en général mais elle peut atteindre jusqu'à 40% de l'effectif. Les symptômes sont relativement frustrés ; ainsi chez de nombreux oiseaux sauvages ou domestiques, on ne note aucun symptôme sinon l'oiseau est en général prostré, anorexique avec un amaigrissement important, se laisse facilement capturer et l'on observe une cyanose des muqueuses et parfois de la diarrhée.

Des symptômes nerveux signalent parfois une forme méningoencéphalitique, comme des torticolis, des tremblements, une incoordination des mouvements. Dans d'autres cas, on note une forme septicémique à l'origine d'une mort subite. Les lésions les plus fréquentes sont celles du myocarde (myocardite et péricardite) de la rate (splénomégalie), un œdème et une congestion importante des poumons et du foie. On peut observer parfois une entérite et une péritonite. Des microabcès sont rencontrés sur le foie, la rate ou encore le cerveau (Gray et Killinger 1966 ; Maupas *et al.*, 1971).

VI -1-1-3 CHEZ LES RONGEURS ET LAGOMORPHES :

On retrouve une forme aiguë méningoencéphalitique touchant les jeunes et les tuant en quelques jours et une forme subaiguë chez l'adulte caractérisée par un torticolis, des troubles de l'équilibre et des convulsions. Des avortements et une mortalité sont également observés. Une septicémie avec monocytose sanguine a été décrite chez les lapins. Des microabcès sont observés sur les viscères et le cerveau (Euzeby, 2000).

VI -1-1-4 CHEZ LES AUTRES FAMILLES : (équidés, suidés, canidés, félidés...)

La listériose reste rare et se traduit par des formes septicémiques, méningoencéphalitiques ou abortives (Euzeby, 2000).

VI -1-2 MODES DE TRANSMISSION :

Le caractère ubiquitaire des *Listeria* fait qu'elles sont très présentes dans le milieu extérieur. Les animaux sont donc continuellement exposés à une contamination par l'air, l'eau, le sol, la boue, la poussière et les végétaux (ensilage). Chez l'animal, il est reconnu que la presque totalité des cas observés de listériose sont d'origine alimentaire. Ainsi, la consommation de certains ensilages, de fourrages verts entraîne des épizooties. L'arrêt de la consommation de ces ensilages a vu cesser la maladie car ils sont fortement contaminés par des *L. monocytogenes* et *L. ivanovii* (Berche *et al.*, 2000).

VI -1-3 DIAGNOSTIC :

Le diagnostic clinique est basé sur l'épidémiologie, l'examen nécropsique et les tests microbiologiques.

VI -1-3-1 Eléments épidémiologiques :

C'est une maladie sporadique, parfois enzootique chez les ruminants, qui peut se développer de manière épizootique chez les volailles et les rongeurs. De plus, chez les ruminants, elle est souvent associée à la prise d'ensilage mal conservé (maladie de l'ensilage), et à des signes cliniques non pathognomoniques. Lors d'avortements répétés chez les ruminants et lorsque les infections brucelliques et Chlamydiennes sont écartées, on doit penser à la listériose.

VI -1-3-2 Eléments nécrosiques :

Ils révèlent l'existence de foyers de nécrose lors de formes septicémiques et abortives ainsi que la présence des microabcès dans les formes nerveuses.

VI -1-3-3 Prélèvements à réaliser :

Sur l'animal vivant : faire une prise de sang, recueillir le placenta et l'avorton, les matières fécales (forme septicémique), une ponction de liquide cébrospinal lors d'une forme nerveuse.

Sur l'animal mort : prélever le cerveau, et la moelle épinière (forme nerveuse), du sang, la rate, le foie et le cœur (forme septicémique). Dans le milieu extérieur des échantillons de sol, de fumier et d'ensilage sont prélevés. Le diagnostic bactériologique pourra être réalisé par examen direct si le prélèvement est assez riche ou par culture et enrichissement du milieu de culture. Après une mise en culture de 1 à 2 jours, on peut identifier les *Listeria* et les sérotyper. Le diagnostic sérologique n'est pas satisfaisant. On peut réaliser des inoculations expérimentales par voie conjonctivale à des lapins, par voie intra- péritonéale à des souris ou encore à des œufs embryonnés de poulets (AFSSA ,2000 ; Euzeby, 2000).

VI -1-4 TRAITEMENT :

En élevage aviaire on utilise en général les tétracyclines. Lors de formes plus sévères on peut utiliser des associations bêtalactamines-aminosides à des doses supérieures aux doses habituelles (germe intracellulaire) (Euzeby, 2000 ; Joint- Lambert et Kayal, 2006).

VI -1-5 PREVENTION :

Chez l'animal La prophylaxie est essentiellement sanitaire, elle doit commencer par dépister et isoler les malades. Les animaux malades seront soit traités, soit éliminé.

Les cadavres, avortons, placentas et autres produits infectieux doivent être détruits

Les locaux vont être nettoyés et désinfectés, une opération de désinsectisation et dératisation deviennent indispensables.

Lutter contre la contamination des animaux par des ensilages de mauvaise qualité qui permettent la prolifération des *Listeria*, par la réalisation de contrôle bactériologique et chimique de l'ensilage.

Limitier les stress et tout type d'affections intercurrentes qui favoriseraient le développement de la listériose (parasitisme...).

VI -2 MALADIE CHEZ L'HOMME :

La listériose est due à *L. monocytogenes*, bactérie à Gram positif largement répandue dans la nature, seule espèce du genre *Listeria* pathogène pour l'homme. La listériose dont l'agent est mis en évidence au début du siècle a pris peu à peu une importance considérable en hygiène alimentaire en raison essentiellement du changement de mode de vie et d'alimentation notamment la mise en œuvre des techniques de conservation telle que la réfrigération, qui favorisent la survie et la multiplication de cette bactérie.

VI -2-1 LES FORMES CLINIQUES :

La listériose prend le statut d'un problème majeur en médecine humaine, non à cause du nombre de malades qui sont signalés chaque année, mais surtout à cause du taux de mortalité enregistré qui atteint les 30% (Mead et *al.*, 1999).

Les manifestations cliniques de la listériose sont variables, aussi les septicémies, méningites et encéphalites sont les symptômes les plus rencontrés chez les personnes atteintes (Hof, 2001). D'autres symptômes peuvent être associés à la listériose, comme les pneumonies, les endocardites et les abcès localisés dans différents organes, tel que les os, le cœur le péritoine et les yeux (Hof, 2001)

Il existe deux formes de listériose humaine : la forme non invasive qui atteint les personnes en bonne santé et la forme invasive qui atteint les personnes à risque immuno- compétentes.

VI -2-1-1 : FORME NON INVASIVE OU GASTROENTERITE FEBRILE.

Une gastroentérite fébrile peut être le seul symptôme d'une infection à *Listeria* comme elle peut précéder le tableau clinique typique d'une listériose, à savoir les septicémies ou la méningite. Peu d'études ont rapporté la gastroentérite fébrile comme unique symptôme d'une listériose surtout si elle n'évolue pas vers un tableau plus compliqué comme une atteinte du système nerveux central (Hof, 2001 ; Sjöman, 2010).

Cependant, certaines études rapportent cette forme de listériose où les diarrhées, les vomissements, les nausées, la fièvre et les douleurs abdominales sont les seuls symptômes signalés. Ainsi Frey et *al.* (2002) rapportent une épidémie de gastroentérite fébrile associée à la consommation de viande de dinde contaminée par *L. monocytogenes*, Makino et *al.* (2005) rapportent cette même forme de listériose, l'aliment impliqué est le fromage. Sim et *al.* (2002) rapportent la forme fébrile non invasive chez des personnes saines due à la consommation de jambon, corned beef et du luncheon en Nouvelle Zélande.

VI -2-1-2 : FORME INVASIVE :

VI -2-1-2 -1 : CHEZ LA FEMME ENCEINTE ET LE NOUVEAU-NE:

A. LA FEMME ENCEINTE :

Près de la moitié des infections à *L. monocytogenes* sont observées chez la femme enceinte, chez qui la maladie souvent cliniquement muette évolue de manière insidieuse sous forme d'un syndrome fébrile pseudo-grippal (fièvre, fatigue, maux de tête, myalgies) survenant dans les dernières semaines de la grossesse, accompagné ou non de signes urinaires, digestifs ou plus rarement méningés ou même un ictère transitoire. En général, dans la plupart des cas de listériose des cas d'avortement ou des accouchements prématurés d'enfants infectés surviennent après le cinquième mois de la grossesse, mais on a déjà observé des cas d'avortement avant cette date (Schwarzkopf, 1996).

B. LE NOUVEAU NE :

L'enfant peut être contaminé de deux façons :

Dans 90 % des cas, par voie sanguine in utero avec colonisation du placenta où de multiples abcès se forment : on parle de listériose néonatale précoce quand elle survient dans les 7 premiers jours après l'accouchement.

Beaucoup plus rarement (moins de 10 % des cas) à la naissance ou dans la période précédant immédiatement l'accouchement, par contamination ascendante du liquide amniotique ou par contamination au cours du passage de la filière génitale.

Très exceptionnellement, des contaminations nosocomiales manuportées sont rapportées dans des maternités. On parle de listériose néonatale tardive quand elle survient quelques jours à quelques semaines après l'accouchement.

- **B.1. Listériose néonatale précoce :**

Le nouveau-né est infecté in utero à la suite d'une bactériémie de la mère. D'après des données expérimentales, la première étape de l'infection est la colonisation du placenta, comme le suggère la présence de nombreux granulomes inflammatoires visibles dans les villosités et la decidua. Cette infection est rapidement associée à une chorio-amnionite et à une infection sévère de l'enfant in utero. L'infection est évidente dès la naissance avec cyanose, apnée, détresse respiratoire et troubles de la conscience. Une pneumonie périfonctionnelle ou associée à des infiltrats diffus, plus rarement miliaires, est souvent retrouvée. Dans certaines formes très sévères, appelées granulomatosis infantiseptica, on observe une granulomatose disséminée dans la plupart des organes, tout particulièrement dans le foie, les poumons et les méninges, mais aussi la rate, le tube digestif et l'œsophage, les organes lymphoïdes (amygdales, thymus, moelle osseuse), les surrénales, les muscles (squelettiques, myocarde) et la peau (Canton *et al.*, 1995 ; Papiernick *et al.*, 1995 ; Struilou et Raffi, 1997). Les atteintes digestives et pulmonaires sont liées à l'infection du liquide amniotique dégluti ou « inhalé ». Dans ces formes graves, évoluant depuis plusieurs jours, la mortalité est élevée parfois de 50 à 75 % (Berche, 1999).

- **B.2. Listériose néonatale tardive :**

Dans un faible nombre de cas, le nouveau-né est contaminé dans la période périnatale ou au cours de l'accouchement, sans qu'il y ait d'infection placentaire. L'enfant naît apparemment sain et l'infection apparaît entre 8 et 60 jours après l'accouchement. Dans près de 95 % des cas, il s'agit d'une méningite purulente avec fièvre, insomnie, irritabilité, troubles de la conscience. Rarement, il s'agit d'une colite à *L. monocytogenes* (moins de 5 %) avec diarrhée et septicémie, mais sans méningite. Le diagnostic est habituellement rapidement établi, expliquant la faible mortalité dans cette forme clinique (Berche, 1999).

VI -2-1-2 -2. L'ADULTE :

Dans près de deux tiers des cas, la listériose de l'adulte donne lieu à une méningo-encéphalite associant un syndrome fébrile (fièvre, frissons, myalgies) à des troubles nerveux (convulsions, raideur de la nuque, coma, paralysie faciale...) ou plus rarement à une septicémie (17 à 50% des cas), lorsque l'infection gagne d'autres organes que les intestins par l'intermédiaire du sang.

La listériose neuro-méningée se manifeste, chez l'homme, par une méningite bactérienne lymphomonocytaire ou purulente. La localisation méningée est associée, dans près de la moitié des cas, à des signes d'encéphalite. C'est une encéphalite diffuse avec des abcès intracérébraux localisés, de façon prédominante, au rhombencéphale où apparaissent des abcès nécrotiques coalescents et multiples entraînant des pertes de substances très importantes du tissu nerveux. Plus rarement, il peut s'agir de formes encéphalitiques pures sans méningite. Cette atteinte du système nerveux central est singulière car, si elle est fréquemment observée avec les virus, elle est rarement rencontrée avec les bactéries pathogènes en dehors des méningo-encéphalites à *Mycobacterium tuberculosis* et de rares infections neuro-méningées à *Nocardia asteroides* ou à *Brucella*. Dans le tissu cérébral, les nombreux micro-abcès, d'abord très petits, sont constitués de monocytes et de polynucléaires et deviennent confluents, entraînant des nécroses du tissu cérébral, en particulier dans le rhombencéphale. Chez le nouveau-né, l'atteinte méningée prédomine.

La listériose chez l'adulte touche en général des personnes de moins de 50 ans immunoincompétentes comme les personnes porteuses du HIV, les transplantés ou atteintes d'une pathologie chronique (Farber et Peterkin, 1991 ; Canton et *al.*, 1995 ; Pujol-Dupuy, 2004).

VI -2-2 DOSE INFECTIEUSE MINIMALE : (DMI)

La dose minimale d'infection est une des façons d'évaluer la capacité d'infection d'un micro-organisme. Elle exprime la quantité minimum de germes nécessaire à la création d'une infection dans des circonstances déterminées (Rocourt, 1999).

Ce terme suppose que chaque organisme possède un potentiel infectieux ; il repose sur la dose effective nécessaire, la virulence de l'agent et la réponse des individus.

Pour certaines bactéries pathogènes, la dose infectieuse minimale est bien déterminée, mais on ne peut encore avancer aucun chiffre avec certitude concernant *L. monocytogenes* malgré les travaux de recherche entrepris depuis 1985.

De nombreuses études, réalisées dans plusieurs pays, indiquent que *L. monocytogenes* est présente dans grand nombre d'aliments, mais normalement en très petites quantités, c'est-à-dire moins d'une unité formant colonie (UFC) par gramme d'aliment. Ceci implique que de nombreuses personnes sont exposées quotidiennement à *L. monocytogenes* à très bas niveau. Malgré cela, les cas de listériose humaine sont très rares, de l'ordre de 3 à 8 cas par million d'habitants et par an dans les pays industrialisés.

On peut en conclure que la dose infectieuse pour la grande majorité des gens se situe au-delà de 10 bactéries par gramme d'aliment, peut-être quelques centaines pour la plupart des adultes en bonne santé (Bornert et *al.*, 2003), mais beaucoup moins pour les individus particulièrement sensibles ou immuno-déprimés.

La DMI est dépendante de plusieurs facteurs, parmi lesquels nous pouvons citer : le statut immunitaire de l'individu, la virulence du germe en cause, le type et la quantité d'aliment consommé, et enfin la concentration de germes pathogènes dans l'aliment. Certains auteurs ont noté que des taux de *L. monocytogenes* de 10^2 à 10^4 pouvaient être à l'origine de sévères formes cliniques de listériose (Linnan et al., 1988).

VI -2-3 MODES DE TRANSMISSION :

L'ingestion d'aliments contaminés par *L. monocytogenes* est le mode de contamination le plus fréquent chez l'homme. Sa capacité à se développer aux températures de réfrigération associée au développement de la chaîne du froid (entrepôts frigorifiques industriels, réfrigérateurs ménagers) favorise sa dissémination. L'inhalation et le contact direct sont des contaminations secondaires beaucoup plus rares. Un sujet préoccupe actuellement beaucoup de secteurs : le seuil de contamination nécessaire pour qu'un individu puisse développer une listériose. Actuellement, la dose infectieuse est évaluée à 10^4 à 10^6 *Listeria*/gramme de produit ingéré.

Différentes études menées au cours de différents épisodes épidémiques de listériose associées à des symptômes gastro-intestinaux montrent que la période d'incubation est de 24 heures après ingestion de l'aliment contaminé (Frye et al., 2002).

Sources : les sources de contaminations sont représentées par :

- L'environnement : sol, eaux, végétaux...
- Les porteurs chroniques ou convalescents telles que les femmes ayant présenté un avortement listérien, lesquelles continuent à excréter la bactérie encore pendant de longues semaines.
- Produits alimentaires en général et produits d'origine animale en particulier : « produits prêts à consommer », charcuteries cuites (langues, têtes), les graines germées réfrigérées, et certains produits laitiers (fromages à pâte molle et au lait cru).
- Porteurs sains (la bactérie est présente dans l'intestin des sujets non infectés), chroniques et les malades.

La contamination peut être :

- **Directe** :

- La transmission de la mère au fœtus peut se faire par voie digestive ou respiratoire (infection amniotique, aspiration de germes situés dans le col ou le vagin).
- Une transmission par contact est possible (contamination d'un fermier au cours d'un vêlage). Cependant la listériose cutanée est rare (Berche, 2000 ; Euzeby, 2000).

- **Indirecte** :

- Par l'intermédiaire d'un vecteur inanimé comme les produits alimentaires : il s'agit alors d'une contamination par voie digestive à l'origine de cas sporadiques ou épidémiques chez l'homme.
- Une transmission par voie respiratoire est envisageable mais reste rare ; ainsi, les paysans travaillant dans les bergeries où l'atmosphère est confinée et où un nettoyage régulier n'est pas effectué peuvent contracter la listériose.
- La contamination par des tiques porteuses de *Listeria* est possible mais rare (Euzeby, 2000).

VI -2-4 DIAGNOSTIC :

Les symptômes de la listériose n'étant pas spécifiques, le diagnostic bactériologique repose sur l'isolement et l'identification de *L. monocytogenes* à partir des produits pathologiques (AFSSA, 2000).

VI -2-4-1 Diagnostic bactériologique :

- **Prélèvements chez la mère :**

Au cours de la grossesse, il faut pratiquer des hémocultures (3 en 24 heures) chez toute femme enceinte ayant une fièvre inexpliquée. L'antibiothérapie doit être instituée au moindre doute. Bien entendu, des prélèvements orientés par les signes cliniques peuvent être effectués (ponction lombaire...). La recherche d'un portage digestif ou vaginal est généralement négative.

Au cours de l'accouchement, l'examen bactériologique du placenta et des lochies est particulièrement précieux, pratiquement toujours positif lorsque le recueil a été réalisé dans de bonnes conditions. La seule difficulté vient du fait que le placenta est souvent recueilli dans des conditions non stériles et est donc massivement contaminé. Un examen anatomopathologique, montrant les granulomes infectieux, peut être utile. Des hémocultures au moment d'une reprise fébrile à l'accouchement permettent aussi, parfois, d'isoler le germe à partir du sang. Une enquête environnementale à partir des aliments suspects peut être pratiquée, surtout en cas de suspicion d'épidémie (Berche, 1999).

- **Prélèvements chez le nouveau-né :**

Dans les formes précoces de listériose du nouveau-né, le germe est facilement isolé en culture pure à partir du sang et du liquide céphalo-rachidien. Il l'est constamment du liquide gastrique obtenu par aspiration (prélèvement très fiable), du méconium et de la peau. Dans les formes tardives, les prélèvements de choix sont la ponction lombaire et les hémocultures, ainsi que les selles en cas de diarrhée (Berche, 1999).

VI -2-4-2 Diagnostic Sérologique.

Les tests sérologiques (sans intérêt en pratique) détectant la présence d'anticorps contre les bactéries tuées (séroagglutination) ou contre la listériolysine O n'ont que peu d'intérêt si les germes ont été isolés en culture. Ils peuvent être un appoint au diagnostic en cas de suspicion de listériose au cours d'une grossesse fébrile ou de rhombencéphalite sans germe isolé. Les titres d'anticorps agglutinants peuvent atteindre de 1/320 à 1/640 au bout de 10 jours d'infection. Les anticorps anti-listériolysine O peuvent atteindre de 1/100 à 1/5 000 au cours de l'infection aiguë. Il est important de réaliser au moins deux tests à 15 jours d'intervalle pour mettre en évidence une séroconversion, appoint majeur au diagnostic, ou une élévation du titre des anticorps en faveur d'une infection grave (Gaillard et *al.*, 1995).

VI -2-5 TRAITEMENT :

L. monocytogenes est une bactérie très sensible aux antibiotiques notamment aux pénicillines, aux aminosides, aux tétracyclines et au triméthoprime-sulfaméthoxazole. L'emploi d'antibiotiques bactéricides et capables de traverser la barrière hémato-méningée est nécessaire. Toutes les souches sont résistantes à l'acide nalidixique et à la colistine, mais sensibles à la rifampicine et aux nouvelles quinolones (péfloxacin), dont les concentrations minimales inhibitrices restent médiocres (de 2 à 8 mg/l). Les souches sont sensibles à la vancomycine qui est peu ou non efficace sur les localisations neuro-méningées.

Le traitement de choix d'une listériose neuro-méningée est fondé sur l'association bétalactamines-aminosides ou triméthoprime-sulfaméthoxazoles.

Chez l'adulte, l'ampicilline est administrée par voie veineuse à la dose de 200 mg/kg/j. La pénicilline G à la dose de 300 000 UI/kg/j peut remplacer l'ampicilline chez l'adulte.

Chez le nouveau-né et l'enfant, l'ampicilline est utilisée à 400 mg/kg/j pendant les premiers jours de l'infection

La gentamicine, associée à l'ampicilline, est administrée par voie musculaire ou veineuse à fortes doses (de 3 à 6 mg/kg/j).

La durée du traitement est de 3 ou 4 semaines du fait de la possibilité de rechutes en cas de traitement trop court, surtout chez les sujets immunodéprimés.

En cas d'allergie aux pénicillines, le triméthoprime-sulfaméthoxazole, associé à la gentamicine, donne de bons résultats (61, 62). D'autres antibiotiques (chloramphénicol, rifampicine ou tétracyclines), associés à un aminoside, ont aussi été utilisés avec succès.

Si une listériose est suspectée et diagnostiquée par les hémocultures chez la femme enceinte, le traitement repose sur l'ampicilline (6 g/j) par voie veineuse pendant 3 semaines (Charpentier et Courvalin, 1999 ; Berche et *al.*, 2000)

VI-2-6 PREVENTION :

La prévention pour les personnes à risque c'est-à-dire les femmes enceintes, les personnes âgées, les personnes immunodéprimées par un traitement immunosuppresseur ou par une pathologie telle que le cancer, la cirrhose, consiste à éviter la consommation des produits reconnus potentiellement dangereux comme : les charcuteries en gelée, les pâtés, le foie gras, les fromages au lait crû, les poissons fumés, les coquillages crus, surimi, tarama, graines germées crues et la liste n'est pas exhaustive.

Devant tout épisode fébrile chez la femme enceinte il faut demander une hémoculture et commencer une antibiothérapie.

Il faut éviter, pour les femmes enceintes, la manipulation d'animaux à risque (rongeurs, ruminants, oiseaux) sinon après manipulation des animaux, une hygiène rigoureuse doit être respectée.

Des mesures d'hygiène et des contrôles bactériologiques pour les aliments destinés à être consommés crus doivent être appliqués.

CHAPITRE VII :

SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES :

L.monocytogenes possède une résistance naturelle vis-à-vis des antibiotiques suivants : céphalosporines : notamment pour

- Les céphalosporines de troisième génération à large spectre, comme la céfotaxime, et la céfépime.
- L'aztréonam
- L'acide nalidixique
- La D-ofloxacine et
- La fosfomycine

Elle possède une sensibilité intermédiaire pour les antibiotiques suivants :

- La céfalotine
- La ciprofloxacine
- Le chloramphénicol et
- La clindamycine

Bien qu'il est démontré l'existence de résistances acquises chez quelques souches de *L. monocytogenes* vis-à-vis notamment des tétracyclines et des macrolides (Charpentier et Courvalin, 1999), elle reste néanmoins une bactérie très sensible aux antibiotiques (tableau n° 12).

La première souche humaine multirésistante est isolée en France par Poyart-Salmeron et *al.* (1988). D'autres auteurs rapportent des *L. monocytogenes* résistantes à un antibiotique ou plus, issues d'aliments, de l'environnement ou de cas clinique sporadiques (Charpentier et *al.*, 1995 ; Meng et *al.*, 2007)

L'émergence des souches résistantes résulte généralement de l'acquisition de plasmides ou de transposons conjuguatifs de souches de *Enterococcus sp.* et de *Streptococcus sp.*

In vitro, les plasmides de résistance aux antibiotiques des entérocoques se transfèrent facilement à des souches de *Listeria spp.* Il est donc probable que ce transfert soit possible in vivo notamment lorsque des souches de *Listeria* sont hébergées dans le tube digestif (Doucet-Populaire et *al.*, 1991).

Selon Hof et *al.* (1997) la pression de sélection, due à une utilisation anarchique des antibiotiques, pourrait dans un proche avenir faire émerger de nombreuses souches de *Listeria* multirésistantes.

La résistance à la tétracycline est la résistance acquise la plus fréquemment observée chez *L. monocytogenes* aussi bien chez des souches isolées de prélèvements cliniques que chez des souches isolées des aliments et de l'environnement (Charpentier et *al.*, 1995). Les souches résistantes aux pénicillines ont commencé à émerger, elles sont signalées par Shi et *al.* (2010) et Fallah et *al.* (2012).

La cotrimoxazole ou association Triméthoprim-sulfaméthoxazole est toujours considéré comme étant un traitement de choix pour les personnes atteintes de listériose et qui présente une allergie à la Pénicilline considéré comme le premier traitement de la listériose.

Jusqu'à très récemment, *L. monocytogenes* est considérée comme sensible à cet antibiotique mais en 2007 une étude de Meng et al. aux USA, avait fait état pour la première fois d'une résistance au Cotrimoxazole, 73% des 122 isolats testés ont montré cette résistance.

Tableau n° 12 : Sensibilité des *Listeria* aux antibiotiques selon le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM) novembre 1999).

Antibiotique	S / R	Antibiotique	S / R
Amikacine	S *	Clindamycine	R
Amoxicilline	S *	Fosfomycine	S *
Amoxicilline + Acide clavulanique	S *	Gentamicine, Sisomicine	S *
Ampicilline	S *	Imipénème, Méropénème	S
Céfalexine, Céfradine, Céfadroxil, Céfatrizine, Céfaclor, Loracarbef	R	IséRTEicine	S *
Céfalotine, Céfazoline, Céfapirine, Céfaloridine	R	Latamofex	R
Céfamandole	R	Lincomycine	R
Céfépime	R	Nétilmicine	S *
Céfixime	R	Ofloxacine	R
Céfopérazone	R	Péfloxacine	R
Céfotaxime	R	Pénicilline G	S
Céfotétan	R	Pipéracilline + Tazobactam	S
Céfotiam	R	Pipéracilline, Mezlocilline	S
Céfotiam, Hexétil	R	Polymyxines	R
Céfoxitime	R	Rifampicine	S
Cefpirome	R	Synergistines	S
Cefpodoxime Proxétil	R	Teicoplanine	S
Ceftazidime	R	Thiophénicol	± S
Ceftizoxime	R	Ticarcilline	S
Ceftriaxone	R	Ticarcilline + Acide clavulanique	S
Céfuroxime	R	Tobramycine, Dibécacine	S *
Céfuroxime, Axétil	± S	Triméthoprime-sulfaméthoxazole	S
Chloramphénicol	R	Vancomycine	S
Ciprofloxacine	R		
S = Sensible R = Résistant ± (modérément)			
* : Seuls les antibiotiques en caractères gras ont fait l'objet de la publication d'un spectre d'activité, car ils ont reçu une AMM dans les cas de Listériose, de méningite ou de septicémie.			

PARTIE

EXPERIMENTALE

MATERIELS ET METHODES

PARTIE EXPERIMENTALE

OBJECTIFS

Les objectifs de ce travail sont répartis en quatre grands axes :

- Le premier est consacré à l'isolement, l'identification et le dénombrement des *Listeria* dans les viandes de volailles dans les unités d'abattage ainsi que l'évaluation de la variation de la contamination à différentes étapes du processus d'abattage.
- Le second axe concerne la recherche et le dénombrement des *Listeria* dans les produits carnés fabriqués à base de viandes de volailles, commercialisés dans les grandes surfaces dans la région d'Alger.

Les deux premiers axes de cette recherche sont réalisés par l'intermédiaire de méthodes bactériologiques (qualitative et quantitative) normalisée ISO.

Ces deux parties de la recherche sont réalisées dans le laboratoire de microbiologie de l'Hôpital Central de l'Armée (HCA) et dans le laboratoire d'HIDAOA de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

- La troisième partie étudie la sensibilité des souches de *Listeria monocytogenes* isolées aux antibiotiques par la méthode de diffusion sur gélose.
- Le quatrième axe est consacré au sérotypage par PCR Multiplex et au pulsotypage des souches de *Listeria monocytogenes* isolées en utilisant la PFGE.

Les deux dernières parties de la recherche sont réalisés dans le laboratoire du Centre National de Référence de *Listeria* de l'Institut Pasteur de Paris (CCOMS).

I- MATERIELS ET METHODES :

I-1 MATERIELS :

I-1-1 ECHANTILLONNAGE :

I.1.1.2 Choix des unités d'abattage et surfaces commerciales à prospecter :

A. Choix des unités d'abattage:

Le choix des unités d'abattage où nous avons prospecté les *Listeria*, a porté sur les trois abattoirs avicoles que compte la wilaya d'Alger (IVWA, 2012). Deux de ces abattoirs se trouvent à l'Est d'Alger, au cours de notre étude ils sont désignés comme : unité A et unité B. Le troisième abattoir se trouve à l'Ouest d'Alger il est désigné: unité C.

Les capacités de production des trois unités sont rapportées dans le tableau n°13.

Tableau n°13 : Capacités de production des unités d'abattage.

Unité	Capacité de production	Production journalière moyenne
A	2000 sujets /h	600 sujets/jour
B	2000 sujets /h	600 sujets/jour
C	3500 sujets /h	800 sujets /jour

B. Choix des surfaces commerciales de distribution de produits alimentaires :

Le choix des surfaces commerciales a porté sur les quatre plus grandes surfaces commerciales de la wilaya d'Alger, où sont commercialisés les produits carnés préparés à base de viandes de volaille. Ces unités commerciales sont désignées au cours de notre étude : Unité 1, Unité 2, Unité 3 et Unité 4.

I.1.1.3 Méthode d'échantillonnage.

En l'absence de méthodes d'échantillonnage normalisées relatives à la recherche des *Listeria* dans les viandes de volaille à l'échelle nationale, européenne ou encore internationale, nous nous sommes inspirés de plusieurs textes parmi lesquels : les directives générales sur l'échantillonnage du Codex Alimentarius « CAC/GL 50-2004 », le règlement (CE) N° 2073/2005 de la commission du 15 novembre 2005, concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires (JO L 338 du 22.12.2005, p. 1) et le règlement (CE) N° 852/2004 du parlement européen et du conseil du 29 avril 2004 relatif à l'hygiène des denrées alimentaires ; notamment son article 4, paragraphe 4, et son article 12 paragraphe 22, pour établir deux méthodes d'échantillonnage nécessaires à notre étude.

- Méthode d'échantillonnage utilisée au niveau des unités de transformation (Abattage) : Au niveau des unités d'abattage de volailles, nous avons établi une méthode d'échantillonnage des carcasses de volailles en s'inspirant de celle utilisée pour la recherche d'un autre pathogène en l'occurrence *Salmonella* (CE) N° 2073/2005).
- Méthode d'échantillonnage pour les produits carnés prêts à consommer, fabriqués à base de viandes de volailles commercialisés dans les grandes surfaces : nous avons opté pour un échantillonnage « sélectif » selon la définition du document d'orientation (CE) N° 882/2004.

Les définitions de quelques termes utilisés au cours de cette partie sont nécessaires pour la compréhension de la partie échantillonnage :

- Le lot : selon le CAC/GL 50-2004.

Un lot est une quantité identifiée d'une marchandise déterminée, fabriquée ou produite dans des conditions présumées uniformes. Dans notre étude au niveau des unités d'abattage, nous avons considéré comme lot, toutes les volailles transportées dans un même véhicule. Ainsi, des lots différents peuvent appartenir à une même bande. Les lots appartenant à une même bande sont accompagnés d'un même certificat d'orientation à l'abattage délivré par un vétérinaire praticien ou sont mentionnés : l'origine de la bande, l'âge des oiseaux, leurs nombre et leur état de santé.

- L'échantillonnage sélectif : document d'orientation CE N° 882/2004.

Stratégie planifiée où la sélection de l'échantillon est réalisée à partir de groupes de population « à haut risque » définis antérieurement. Les échantillons sont normalement sélectionnés pour illustrer ou documenter des conditions insatisfaisantes. L'échantillonnage est volontairement biaisé et vise certains produits ou fabricants. Dans notre étude nous avons visé les produits carnés fabriqués à base de viandes de volailles, prêts à être consommés.

A. Mode d'échantillonnage dans les unités d'abattage :

A.1. Procédure et fréquence :

La fréquence des prélèvements est établie en tenant compte des recommandations du code d'usage en matière d'hygiène pour la viande *CAC/RCP 58-2005 (Codex Alimentarius)* qui préconise qu'au niveau des unités où se pratiquent l'abattage, la fréquence de l'échantillonnage devait tenir compte de la diversité des sources de la matière première, pour cela nous avons opté pour 04 passages à intervalle de 30 jours ce qui couvre une durée de 04 mois.

La procédure d'échantillonnage : consiste à prélever des échantillons à deux étapes du processus d'abattage :

- Après éviscération et avant le lavage à l'eau froide ; l'éviscération étant considérée comme étant l'étape la plus contaminante du fait de l'enlèvement manuel des viscères (Zellagui, 2012), alors que le lavage à l'eau permet de réduire l'adhérence des bactéries à la peau et minimise ainsi la contamination globale de la carcasse [paragraphe 9.4 du *CAC/RCP 58-2005*].
- Après finition et réfrigération à 0°C pendant 24h dans des chambres froides, avant la commercialisation pour estimer la croissance listérienne qui serait favorisée par le froid.

A.2. Mode de prélèvement :

A.2.1 l'étape post éviscération avant rinçage : au niveau de la chaîne d'abattage dans le compartiment où s'effectue l'éviscération, de chaque lot nous prélevons d'une manière aléatoire, 15 carcasses sur lesquelles nous prélevons les peaux du cou, les peaux du cou de trois carcasses différentes sont regroupés pour former un seul échantillon, ce qui nous donne cinq (5) échantillons par lot.

Les 15 carcasses prélevées sont choisies en fonction du temps de passage sur la chaîne d'abattage à l'étape post éviscération de façon à être sûr que les carcasses prélevées aient les mêmes caractéristiques que les volailles constituant un lot.

A.2.2 l'étape post Finition/réfrigération d'une durée de 24 heures à 0°C : au niveau de la chambre froide, nous procédons de la même manière que pour l'étape post-éviscération. Du même lot, cinq (5) échantillons composés chacun de trois (3) peaux du cou de trois carcasses différentes.

Les échantillons sont manipulés de façon aseptique pour ne pas affecter l'état initial de contamination (changement de gants et couteaux désinfectés à l'alcool à 60° après chaque prélèvement).

Les sacs de prélèvement sont étiquetés et immédiatement conservés dans une glacière contenant des icebox qui permettaient de garder l'échantillon à environ 4°C. Les échantillons sont traités en vue d'un dénombrement et d'une recherche des *Listeria* dans les 3 heures qui suivent le temps du prélèvement.

B. Mode d'échantillonnage au niveau des surfaces commerciales:

La méthode d'échantillonnage adoptée dans les grandes surfaces de commercialisation est l'échantillonnage sélectif : tous les produits carnés à base de viandes de volailles fabriqués à l'échelle nationale prédécoupés ou découpés à la demande , commercialisés dans la surface commerciale , sont prélevés sans distinction entre les types de viande de volailles à base desquelles le produit carné est fabriqué. Sont prélevés les produits fabriqués à base de viande de poulet, de viande de dinde ou encore ceux fabriqués à base de mélange des deux.

Les produits carnés visés dans notre étude sont souvent présentés sous forme de boudins de poids différents et de marques différentes, de chaque produit nous prélevons 500g. Le nombre d'échantillons prélevés à chaque passage dans la grande surface dépend du nombre de variétés de ces produits commercialisés le jour du prélèvement.

La fréquence d'échantillonnage adoptée pour cette catégorie de prélèvement est de passer deux fois à un intervalle d'un mois entre chaque passage et ce pour chaque unité de commercialisation.

Dans le tableau n°14, nous détaillons la méthode de découpe dans chaque grande surface.

Tableau n°14 : Méthodes de découpe des produits carnés dans les grandes surfaces de commerciales.

	Outil de découpe	Désinfection des couteaux	Remarque
Unité 1	Couteau	Aucun dispositif de désinfection du couteau n'est apparent	Le même couteau sert à la découpe de tous les produits carnés même ceux à base de viandes rouges
Unité 2	Couteau	Aucun dispositif de désinfection du couteau n'est apparent	Le même couteau sert à la découpe de tous les produits carnés même ceux à base de viandes rouges
Unité 3	Machine à trancher	Aucune désinfection n'est faite pendant l'opération de vente	La même machine sert à découper tous les produits carnés même ceux à base de viandes rouges
Unité 4	Machine à trancher	Aucune désinfection n'est faite pendant l'opération de vente	La même machine sert à découper tous les produits carnés même ceux à base de viandes rouges

Les échantillons sont mis dans des sacs de prélèvement et immédiatement conservés dans une glacière contenant des icebox qui permettent de garder l'échantillon à une température d'environ 4°C. Les échantillons sont traités en vue d'un dénombrement et d'une recherche des *Listeria* dans les 3 heures qui suivent le temps du prélèvement.

La conservation au froid et la rapidité du traitement des échantillons prélevés dans les abattoirs et dans les grandes surfaces permettent d'éviter la prolifération des *Listeria* qui fausserait le dénombrement et affecterait la validité des résultats.

I.1.1. 4 .Nombre d'échantillons prélevés.

A. Echantillons prélevés dans les unités d'abattage.

La répartition des échantillons prélevés dans les 3 **unités d'abattage A, B et C** est rapportée dans le tableau n°15.

Tableau n°15 : Répartition des échantillons dans les unités d'abattage.

UNITE	Etape post éviscération	Etape Post Finition/réfrigération de 24h	TOTAL
Unité A	26	26	52
Unité B	40	40	80
Unité C	40	40	80
Total	106	106	212

B. Echantillons prélevés dans les grandes surfaces de distribution.

La répartition des échantillons prélevés dans les 4 **grandes surfaces de distribution** est rapportée le tableau n°16.

Tableau n°16 : Répartition des échantillons dans les grandes surfaces.

	Nombre d'échantillons
Unité 1	24
Unité 2	25
Unité 3	22
Unité 4	27
Total	98

I-1-2 REACTIFS :

Pour notre étude nous avons utilisé les réactifs suivants:

A / Ceux nécessaires à la partie recherche et dénombrement :

- Bouillon Fraser-demi : flacons de 300ml contenant 225ml de bouillon (IPA).
- Additifs Fraser-demi (Pronadisa).
- Bouillon Fraser : tube de 10 ml (IPA).
- Additifs Fraser (Pronadisa).
- Gélose PALCAM (IPA).
- Additifs PALCAM (Pronadisa).
- Gélose Oxford (IPA).

- Additifs Oxford (Pronadisa).
- Galeries API *Listeria* (BioMerieux).

Description du coffret de galerie API *Listeria* : chaque coffret comprend
 10 galeries API *Listeria*,
 10 ampoules (de 2ml chacune) de milieu de suspension,
 1 ampoule de réactif ZYM. B (sel de diazonium),
 10 boîtes d'incubation,
 Et 10 fiches de résultats

B / Les autres réactifs utilisés dans notre travail sont:

1- pour la partie bactériologique :

- Tubes de gélose nutritive pour conservation des souches.
- H₂O₂ (à 20 volumes) pour la réaction de la catalase.
- Réactifs pour coloration de Gram (BioMerieux).
- Gélose Columbia au sang (5%) de mouton pour mettre en évidence les souches β hémolytiques et le CAMP test (BioMerieux)
- Gélose Mannitol mobilité(IPA)
- Gélose TSI (IPA)
- Gélose esculine (IPA)
- Bouillon Clark et Lubs (IPA)
- Réactifs VP I et VP II (IPA)
- Réactif RM (IPA)
- Urée (IPA)
- Réactifs Kovacks et TDA (IPA)
- Milieu de Mueller-Hinton à 5% de sang de cheval défibriné pour réaliser les antibiogrammes (BioMerieux).
- Disques d'antibiotiques (BIORAD) : P : pénicilline G (6µg),AMP: ampicilline (10µg),AMX : amoxicilline (25µg),IPM : imipenème (10µg),RA : rifampicine (30µg),TE: tétracyclines (30 µg),E : érythromycine (15µg),C: chloramphénicol (30µg),CIP : ciprofloxacine (5µg),MXF : moxifloxacine (5µg),LVX : levofloxacine (5µg),TMP : triméthoprime (5µg),GM: gentamicine (10 UI),FA : acide fusidique (10µg),VA : vancomycine (30µg),SXT: cotrimoxazole (triméthoprime-Sulfaméthoxazole) (1.25 µg + 23.75 µg) et FOS : fosfomycine (50 µg).
- Bandelettes E-test (Biodisk) : ampicilline, pénicilline, triméthoprime/Sulfaméthoxazole et triméthoprime pour détermination des CMI.
- Solution stérile de NaCl à 0,85% (IPA).
- Souches de contrôle : souches de référence : *Listeria ivanovii* : 79914 (CLIP), *Listeria monocytogenes* : 910 (CLIP), *Listeria innocua* : 915 (CLIP), *Staphylococcus aureus* : 25923 (ATCC), *Rhodococcus equi* (collection CNR *Listeria* IPP), *Streptococcus pneumoniae* 49619 (ATCC).

2- Pour la partie PCR :

- Gélose Columbia (Bio-Rad Laboratories).
- Marqueur de poids moléculaire (M,SmartLadder SF. Eurogentec).
- Taq DNA polymérase (Invitrogen).
- Tampon taq (Invitrogen).
- Sodium Dodecyl Sulfate : SDS 10%.
- Chlorure de magnésium : MgCl₂ 50mM.
- Désoxynucleosidetriphosphates: dNTP 2, 5(Perkin-Elmer): Thermoscientific.
- Mix oligonucleotides.
- Agarose Type II: medium EEO (sigma).
- Tampon TBE (90 mM Tris,90 mM acide borique,2 mM EDTA,pH 8,3).
- NaOH 10 N.
- Bromure d'éthidium.
- Bleu de bromophénol

3- Pour la partie PFGE :

- Enzymes de restriction avec leurs tampons :
 - *ApaI* ; (BspI) (Fermantas).
 - *AscI* ; issu de l'espèce *Arthrobacter*; (BioLabs).
 - Solution Tampon enzyme pour *ApaI* (BspI) Buffer B+ (Fermantas).
 - Solution Tampon enzyme pour *AscI* NE Buffer (BioLabs).
 - Tampon enzyme Souche de *salmonella enterica* sérotype Braenderup H9812 servant de marqueur de poids moléculaire (Roche).
- SSP (SDS Seakem Gold Agarose Protéinase K).
- Solution de lyse.
- Lysozyme 10 mg/ml.
- Solution de restriction Enzyme *ApaI*.
- Solution de restriction Enzyme *AscI*.
- Tampon TBE (Tris, Boric acide,EDTA).
- BET (Bromure d'éthidium) 10 mg / ml.
- TE pH 8 (Tris 10 mM,EDTA 1 mM pH 8).

I-1-3 MATERIELS : Le matériel utilisé se compose de :

- Thermocycleur (Icycler ; Laboratoires Bio Rad).
- Plaque PCR de 96 puits (Abgene).
- Balance de précision (Kern)
- Incubateurs pré-réglés à 30°C ; 37°C (Mammert).
- Enceintes réfrigérées permettant le transport des échantillons vers le laboratoire.
- Micropipettes avec embouts jetables permettant la distribution de 40 à 1000 µl.
- Ecouvillons stériles.
- Densitomètre Mcfarland (Grant).
- Cuve d'électrophorèse PFGE (Biorad).

- Pompe équipée d'un module de refroidissement (Biorad).
- Générateur de courant programmable (Biorad).
- Appareil de lecture des gels relié à un système informatique et imprimante (Biorad).
- Four à micro-ondes (Brandt).
- Bains-marie pré-réglés à 37°C et 54°C (Mammert).
- Bain à sec pré-réglé à 37°C (Vision Scientific).
- Moules de cubes d'agarose « plug »
- Moules pour couler le gel de migration (cuve et peigne).
- Logiciel « BioNumerics » software package (version 3.0; Applied Maths, Gand, Belgique).

I.2. METHODES.

I.2.1. Méthode microbiologique :

I.2.1.1. Méthode de dénombrement (méthode quantitative) :

La méthode utilisée pour le dénombrement des *Listeria* est la méthode ISO 11290-2 (1996).

A. Domaine d'application :

La présente partie de l'ISO 11290 spécifie une méthode horizontale pour le dénombrement des *Listeria monocytogenes*, applicable aux produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale.

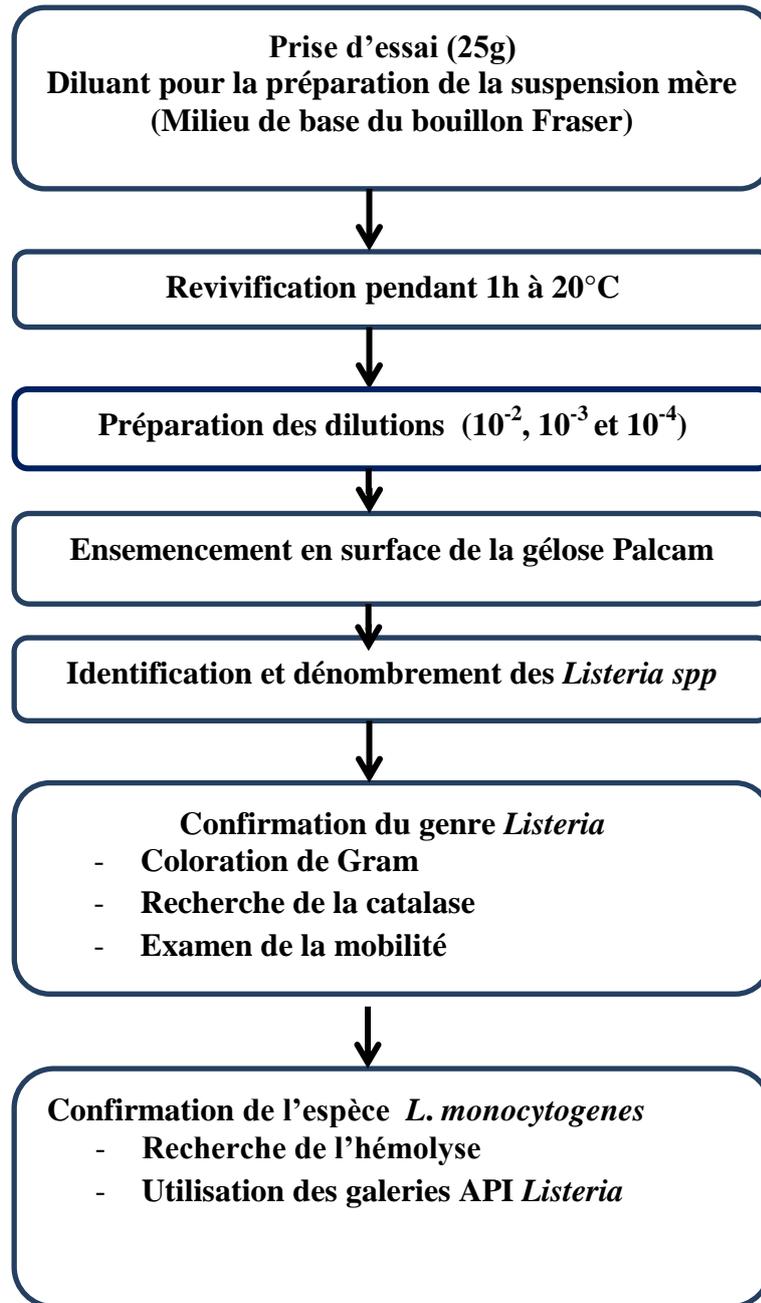
B. Références normatives :

L'application correcte de cette méthode nécessite au préalable l'utilisation de certains référentiels :

- ISO 6887-1: Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique
- ISO 7218:1996, Microbiologie des aliments — Règles générales pour les examens microbiologiques.
- ISO 11290-1:1996, Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* — Partie 1: Méthode de recherche.

C : Mode opératoire : le mode opératoire est représenté par le logigramme N°1

Logigramme N°1 : Représentation schématique du mode opératoire pour le dénombrement.



- **Expression des résultats :**

- A .Comptage des colonies de *L. monocytogenes***

- Calculer, pour chacune des boîtes, le nombre *a* de colonies de *L. monocytogenes* présentes à l'aide de l'équation suivante:

$$a = \frac{b}{A} \times C$$

Où :

b est le nombre de colonies répondant aux critères d'identification des *Listeria*.

A est le nombre de colonies repiquées en vue de la confirmation.

C est le nombre total de colonies caractéristiques dénombrées sur la boîte.

Arrondir a à un nombre entier.

B. Mode de calcul

B.1. Boîtes contenant moins de 150 colonies de *L. monocytogenes* et dont une au moins contient au moins 15 *L. monocytogenes*

Calculer le nombre, N , de *Listeria monocytogenes* présentes dans 1 ml ou 1 g de produit, à l'aide de l'équation suivante:

$$N = \frac{\sum a}{v(n1 + 0,1n2)d}$$

Où :

$\sum a$ est la somme des colonies de *L. monocytogenes* calculées, après confirmation, sur toutes les boîtes retenues lors de deux dilutions consécutives et dont une au moins contient au moins 15 colonies identifiées;

V est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres;

$n1$ est le nombre des boîtes retenues à la première dilution;

$n2$ est le nombre des boîtes retenues à la seconde dilution;

d est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

Arrondir les résultats obtenus à deux chiffres significatifs.

I.2.1.2. Méthode de recherche (méthode qualitative) :

La méthode utilisée pour la recherche des *Listeria* est la méthode ISO 11290-1 (1996).

A. Domaine d'application :

La présente partie de l'ISO 11290 spécifie une méthode horizontale pour la recherche des *Listeria monocytogenes*, applicable aux produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale.

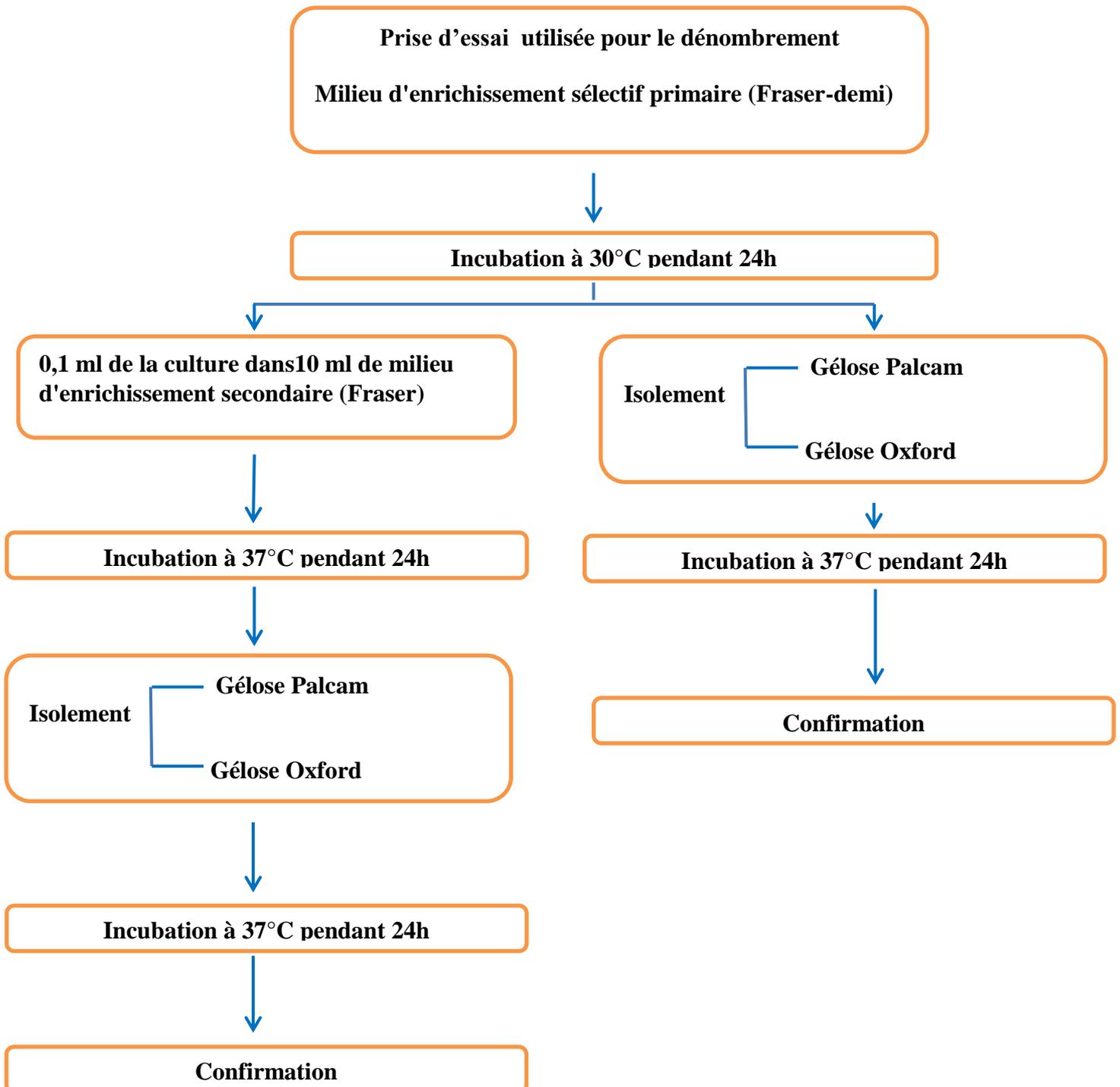
B. Références normatives :

L'application correcte de cette méthode nécessite au préalable l'utilisation de certains référentiels :

- ISO 6887-1: Microbiologie des aliments — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique
- ISO 7218:1996, Microbiologie des aliments — Règles générales pour les examens microbiologiques.

C : Mode opératoire : représenté dans le logigramme N°2.

Logigramme N°2 : Représentation schématique du mode opératoire de la recherche des *Listeria*



I.2.1.3. Confirmation biochimique :

L'étape d'identification suit l'étape de purification sur Gélose TSYEA de 5 colonies présumées *Listeria*, sur chaque boîte les colonies caractéristiques subissent successivement les tests suivants :

- La coloration de Gram.
- Le test de la mobilité à 25°C et de l'immobilité à 37°C sur gélose mobilité.
- La réaction de la catalase.
- Le test TSI, pour la recherche du H₂S négatif
- La recherche de la réaction VP et RM.
- La présence de zones d'hémolyse β par ensemencement en surface sur gélose au sang frais de mouton pendant 24 H à 37°C.
- Et enfin la galerie Api *Listeria* qui nous permet d'identifier l'espèce à laquelle appartient la souche du genre *Listeria* que nous avons isolé.

I.2.1.4. CAMP test :

Ce test n'a été utilisé que pour deux souches de *Listeria* qui donnaient l'aspect d'une *Listeria monocytogenes* sur les galeries API, mais qui présentaient une hémolyse négative sur la gélose Columbia au sang qui est utilisée pour le test de l'hémolyse. Ce test nous permet d'exacerber l'hémolyse des *Listeria*, grâce à deux souches de références (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Rhodococcus equi* ATCC 6939 et à des souches témoins de *Listeria monocytogenes* et *Listeria innocua*.

Le CAMP test est réalisé sur une gélose au sang de mouton (BioMerieux),

Principe : sur une boîte de gélose au sang, réaliser une strie à l'aide de la souche de *Staphylococcus aureus*, puis une seconde strie parallèle à la première à l'aide de la souche de *Rhodococcus equi* et perpendiculairement à ces deux stries, une troisième strie est réalisé avec la souche témoin de *Listeria monocytogenes*, une quatrième strie est réalisée à l'aide de la souche *Listeria innocua*, en veillant à ce que les stries ne se touchent pas et soit distantes d'au moins 2 millimètres.

Les souches à tester sont ensemencées parallèlement aux souches témoins de *Listeria*, comme indiqué par la figure N°3.

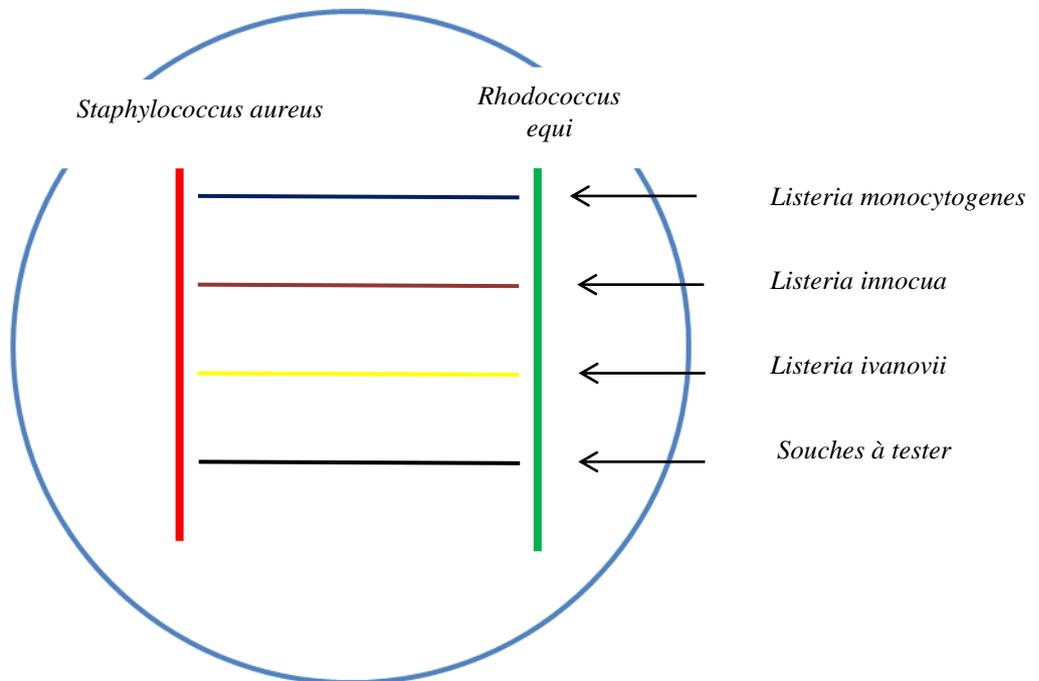


Figure N°3: Schéma du CAMP test

Incuber la boîte à 37°C pendant 24h . L'interprétation du test se fait par l'observation des hémolyses. L'hémolyse de *Listeria monocytogenes* est exaltée autour de la zone adjacente à *Staphylococcus aureus* sous forme d'une brèche, celle de *Listeria ivanovii* est exaltée autour de *Rhodococcus equi* et donne la forme d'une pelle.

Listeria innocua ne montre aucune hémolyse, la lecture pour les souches à tester se fait par comparaison de leurs zones d'hémolyses avec les souches témoins, photo N° 1.



Photo N° 1 : CAMP TEST (photo personnelle).

I.2.1.5. Etude de la sensibilité aux antibiotiques et détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des *Listeria isolées* :

Cette étude est réalisée en tenant compte des recommandations du CLSI.

Nous utilisons pour tester toutes les souches, de la gélose Mueller-Hinton additionnée de 5% de sang de cheval défibriné et de la gélose Mueller-Hinton sans addition de sang de cheval.

L'inoculum de chaque souche testée doit avoir une densité de 0,5 Mac Farland, les dilutions étant faites à l'aide d'une solution stérile de NaCl. L'ensemencement se fait par écouvillonnage selon la méthode Kirby- Bauer, et les mesures des diamètres d'inhibition sont réalisées après une incubation des boîtes pendant 24 heures à 37°C.

Les antibiotiques testés sur *Listeria monocytogenes* appartiennent à des classes de médicaments multiples, il s'agit des antibiotiques auxquels *Listeria* est toujours sensibles, à l'exemple de ceux utilisés dans le traitement clinique de la listériose humaine et animale (ampicilline, gentamicine, pénicilline, triméthoprim / sulfaméthoxazole) et aux autres antibiotiques auxquels *Listeria* montre une résistance acquise ou encore naturelle comme les fosfomycines. Les antibiotiques testés sont : pénicilline G, ampicilline, amoxicilline, imipenème, rifampicine, tétracyclines, érythromycine, chloramphénicol, ciprofloxacine, moxifloxacine, levofloxacine, triméthoprim, gentamicine, acide fusidique, vancomycine, cotrimoxazole (triméthoprim/sulfaméthoxazole) et fosfomycine.

Pour *Listeria innocua*, les antibiotiques testés sont ceux recommandés pour *Listeria monocytogenes* par le comité de standardisation des antibiogrammes à l'échelle nationale

L'étude des CMI nécessite l'utilisation des mêmes milieux gélosés et inoculum, les antibiotiques testés sont l'ampicilline, pénicilline, triméthoprim-Sulfaméthoxazole et triméthoprim.

L'ensemencement se fait par écouvillonnage et la lecture se fait directement. La valeur de la CMI correspondant à l'intersection des 2 ellipses ou l'inhibition est complète (photo N° 2). La souche de contrôle *Streptococcus pneumoniae* ATCC49619 est utilisée pour chaque test.

Les résultats sont interprétés comme recommandé par le CLSI.

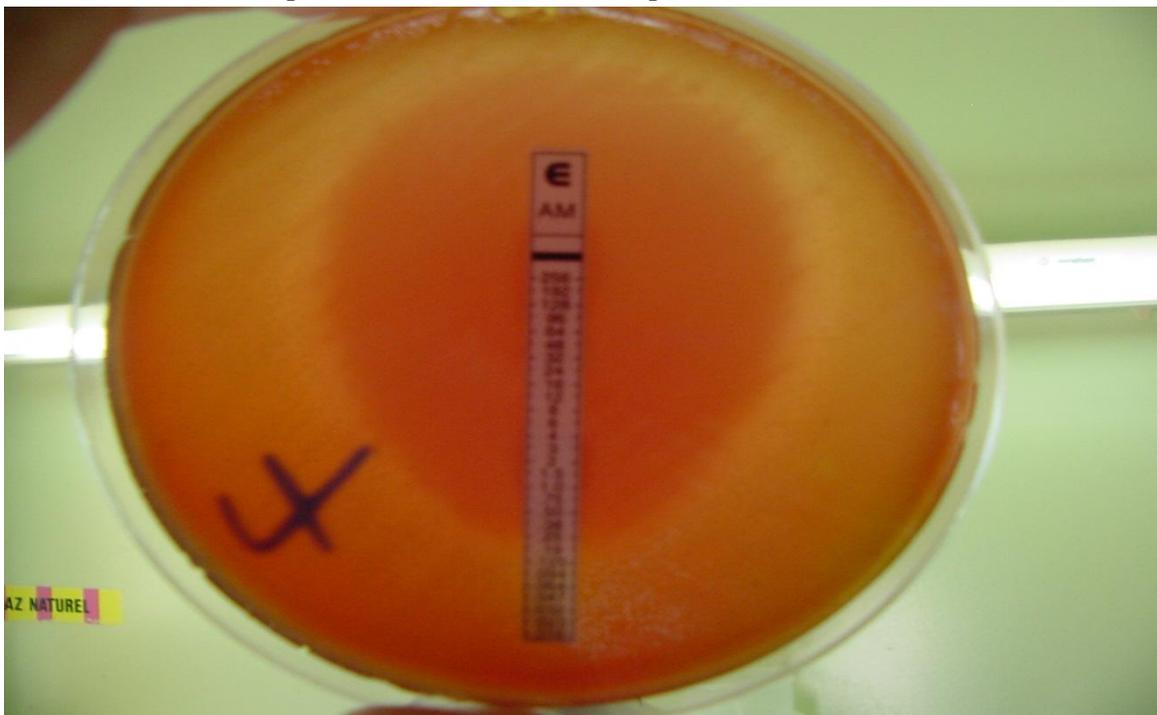


Photo N°2 : Détermination des CMI par la technique des E-test (photo personnelle)

I.2.2. Phénotypage par -Polymerase Chain Reaction (PCR).

Le typage phénotypique des souches, le groupage PCR ou Sérogroupage ou encore le géoserotypage, est effectué selon la technique de **l'amplification génique** Polymerase Chain Reaction appelée aussi PCR Multiplex (Doumith et al., 2004). C'est une technique basée sur l'amplification simultanée de plusieurs séquences cibles de gènes, ce sont les 5 gènes : lmo 0737, ORF2819, et ORF2110 ; lmo1118 et prs (photo N°3).

Cette technique permet de différencier les souches appartenant aux 4 sérotypes majeurs de *L. monocytogenes*, c'est à dire 1/2a, 1/2b, 1/2c et 4b qui caractérisent 95% des souches d'origine humaine ou alimentaire en quatre groupes distincts.

I.2.2.1. Protocole du groupage PCR : Ce groupage s'effectue en deux phases successives : La première étant une étape d'amplification de l'ADN par polymérisation et la seconde étape consiste à faire subir une électrophorèse aux fragments d'ADN obtenus.

La polymérisation en chaîne passe par deux étapes distinctes : l'étape de dénaturation qui permet d'extraire l'ADN des cellules et celle de l'amplification qui permet d'accroître la quantité de cet ADN.

A. Dénaturation.

Préparation de la solution de lyse (voir annexe 1), 50 µl de cette solution est distribuée dans les puits d'une microplaque préalablement préparée on y rajoute les suspensions bactériennes correspondante à chaque puits.

Les deux premiers puits sont réservés aux souches témoins (sérogroupe IIc et IVb).

La microplaque est recouverte d'une feuille d'aluminium adhésive et mise dans le thermocycleur programmé pour une dénaturation à 99°C pendant 15 minutes.

Une fois la dénaturation terminée, nous rajoutons de l'eau pure (100 µl) pour diluer la suspension et nous procédons à une centrifugation de la suspension.

B. Amplification.

Un Mix PCR est préparé selon la fiche de fabrication (voir annexe 2) et la Taq polymérase n'est rajoutée qu'au dernier moment avant la distribution de 100 µl du Mix dans chaque puits de la microplaque.

Nous rajoutons 2 µl de la solution de l'ADN dénaturé dans chaque puits correspondant contenant le Mix PCR, la plaque est recouverte d'une feuille d'aluminium adhésive et mise dans le thermocycleur ; programme : Amplification pendant 2h 30mn.

I.2.2.2. Electrophorèse.

L'électrophorèse nécessite plusieurs étapes :

- Préparation de la cuve d'électrophorèse et disposition des peignes qui serviront à former les puits.
- Préparation du gel d'agarose selon fiche de fabrication (voir annexe).
- Coulage du gel dans la cuve d'électrophorèse, laisser prendre, enlever les peignes et recouvrir de TBE 1X.
- Coloration des ADN amplifiés (amplicons) avec du bleu de bromophénol

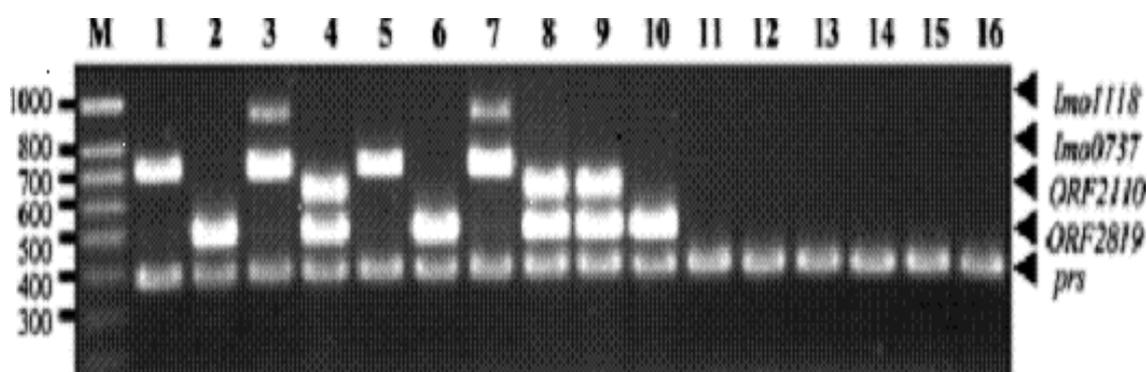
- 10 µl de chaque amplicon sont déposés dans un puits du gel, le premier puits est réservé pour le marqueur de poids moléculaire, le second pour la première souche de contrôle et le troisième pour la seconde souche de contrôle.
- Mise sous tension de la cuve d'électrophorèse pour la migration des fragments d'ADN.

I.2.2.3. Coloration au BET :

Le gel est mis dans un bain de BET avec agitation douce pendant 15 mn, puis lavé à l'eau pure pendant 15 mn toujours sous agitation douce.

I.2.2.4. Acquisition et impression de l'image.

I.2.2.5. Interprétation. Se fait par comparaison entre la photo du gel acquise et celle obtenue par Doumith et al. (2004) photo N° 03.



M : marqueur de poids moléculaire

1 et 5 : *L. monocytogenes* groupe PCR IIa (sérovars 1/2a ou 3a),

2,6 et 10 : *L. monocytogenes* groupe PCR IIb (sérovars 1/2b ou 3b ou 7),

3 et 7 : *L. monocytogenes* groupe PCR IIc (sérovars 1/2c ou 3c),

4,8 et 9 : *L. monocytogenes* groupe PCR IVb (sérovars 4b ou 4d ou 4e),

11-16 : Autres sérovars de *L. monocytogenes* (4a, 4ab, 4c ou autres espèces de *Listeria*)

Photo N°3: Différents profils obtenus par PCR Multiplex et sérogroupes correspondant (Doumith et al., 2004).

I.2.3. Pulsotypage : (Graves et Swaminathan., 2001)

Le pulsotypage ou le typage génotypique a pour but de déterminer des profils de macro restriction d'ADN et pour objectifs :

- D'extraire l'ADN chromosomique sans le casser (d'où la nécessité de faire les restrictions enzymatiques sur les Plugs d'agarose qui contiennent l'ADN.
- Séparer les fragments d'ADN par électrophorèse en gel d'agarose.

Cette méthode comprend plusieurs étapes :

I.2.3.1. Extraction de l'ADN chromosomique :

A. Traitement des bactéries au lysozyme :

Préparation des cellules bactériennes : isolement des souches à tester sur gélose Columbia de manière à obtenir des cultures pures après incubation à 37°C +/- 2°C pendant une nuit.

Préparation dans un tube contenant 6 ml de TE (Tris. EDTA) stérile à pH 8 d'une suspension bactérienne à partir de la culture fraîche et ajuster la densité optique au densitomètre entre 5,4 et 6,4 McFarland.

Dans des microtubes (type Eppendorf) répartir 60µl de lysozyme et y rajouter 240µl de culture, laisser agir 10mn dans un bain marie à 37°C.

B. Empaquetage des bactéries lysées dans des blocs d'agarose (Plug): C'est l'intégration des bactéries dans des blocs d'agarose appelés « plug».

Préparer de l'agarose et la laisser en suffusion dans un bain marie avec agitateur à 54°C.

Préparer la solution SSP (SDS / Seakem Gold Agarose/ Protéinase K) dans le bain marie avec agitateur à 54°C, homogénéiser par aspiration et refoulement sans vortexer.

Rajouter 300µl de cette solution au microtube qui contient la suspension cellulaire, mélanger en pipetant et remplir les barrettes (moules) immédiatement après, sans faire de bulles puis laisser se solidifier à température ambiante, répéter l'opération pour tous les microtubes contenant les solutions cellulaires.

C. Traitement des blocs à la protéinase K : Préparation d'une solution de lyse (50mMTris pH, 50mM EDTA, pH8,1% N-lauroylsarcosine, protéinase K).

Les cubes sont ensuite transférés dans un tube plastique de 50 ml à bouchons perforés, contenant 4 ml de solution de lyse et placés dans un bain-marie avec agitateur à 54°C +/- 2°C pendant 2 heures.

D. Lavage des blocs : Une série de 6 lavages au bain-marie sous agitation à 54°C +/- 2°C avec : dans un premier temps, deux lavages avec chacun 15 ml d'eau de qualité 1 stérile chauffée à 54°C avec un intervalle de 10 minutes ; puis 4 lavages avec un intervalle de 15 minutes à la même température avec 15 ml de TE, pH 8 stérile.

Conserver dans des tubes contenant 4ml de TE.

I.2.3.2. Restriction enzymatique de l'ADN : Restriction enzymatique ; ou digestion de l'ADN par les enzymes de restriction ou macrorestriction dans les cubes d'agarose.

Préparation des solutions de restriction : préparer une solution contenant :

De l'eau de qualité 1, tampon enzyme et enzyme correspondant (NEbuffer4 pour *AscI* et Buffer B pour *Apal*).

Retirer un cube d'ADN du tube de TE, couper en deux demi cubes et déposer chaque demi cube d'ADN au fond d'un microtube numéroté. Les deux demi cubes serviront à deux restrictions enzymatiques (un pour *AscI* et l'autre pour *Apal*).

Ajouter 150 µl des solutions de restriction préparées extemporanément aux microtubes correspondants contenant le demi cube en s'assurant qu'il soit bien immergé et incubé à 37°C +/- 2°C dans un bain sec placé dans une chambre réfrigérée à + 4°C pendant 12 heures

I.2.3.3. Electrophorèse des fragments d'ADN.

- Préparation du gel d'agarose de migration : peser 2 gr de Seakem Gold Agarose et ajouter 200 ml de TBE 0,5 X, dissoudre l'agarose en le faisant passer au four à micro-onde. Laisser en suffusion à 54°C au bain marie.

Assemblage du système de coulage de gel cuve et peigne.

Déposer les cubes d'ADN sur les dents du peigne en faisant attention à ce que les cubes d'ADN ne se touchent pas et tout en respectant les références des souches indiquées sur le plan de gel ; c'est-à-dire les marqueurs de PM (poids moléculaire) ici nous avons utilisé un demi cube contenant l'ADN d'une salmonella Braenderup et les souches à tester.

Redresser le peigne et faire glisser les cubes d'ADN jusqu'à ce qu'ils touchent le fond de la cuve, après ajustement des cubes d'ADN, couler la solution d'agarose à 1% à environ 55°C; ainsi les cubes seront inondés par cette solution. Laisser se solidifier (30 mn environ).

- Préparation du système (cuve) d'électrophorèse : Vérifier que la cuve à électrophorèse est sur une surface bien plane et la remplir avec 2,5 litres de TBE 0,5 X ; puis faire fonctionner le générateur, la pompe et le module de refroidissement. Vérifier que le tampon circule et que la température est de 14°C. Vérifier le programme d'électrophorèse. Démouler le gel d'agarose et le placer au milieu de la cuve en prenant soin qu'il prenne bien sa place (21 x 14 cm). Retirer l'excédent d'agarose du dessous du support du gel. Evacuer les bulles d'air, en passant la main gantée délicatement sur le gel.
- Lancer l'électrophorèse en champs pulsé : le champ électrique change d'orientation de façon alternative au cours du temps.
Fin d'électrophorèse : Mettre le système hors tension, retirer le gel pour coloration.
- Coloration du gel au BET : manipuler avec des gants, car le BET est un produit CMR (Cancérogène- Mutagène et Reprotoxique)
- Faire au moins 3 lavages de 30 minutes chacun à l'eau de qualité 1(400ml).
- Lecture du gel à l'aide de l'appareil de prise d'image: acquisition et impression de l'image ; et sauvegarde au format TIFF (Tag Image File Format).

I.2.3.4. Interprétation : comparaison des différents profils.

Interprétation visuelle : Les profils de PFGE ont été assignés temporellement et les types ont été définis en fonction des différences d'une ou de plusieurs bandes entre les souches.

Interprétation automatisée avec le logiciel « BioNumerics » software package (version 3.0; Applied Maths, Gand, Belgique) : Les profils PFGE ont été analysés avec le logiciel BioNumerics en utilisant le coefficient de Dice et la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method of Averages, méthodes des moyennes de paires non ajustées), avec une limite de tolérance de 1,5% et une optimisation de 1,5%.

Remarques : Le Sérotypage et le Pulsotypage sont effectués au CNR *Listeria* de l'Institut Pasteur de Paris (France), à cet effet les références des souches que nous avons isolées ont été modifiées pour être conformes aux références du CNR. Toutes les souches seront identifiées par CLIP 2013/ 000XY, ou CLIP signifie Collection Listeria Institut Pasteur, ou X et Y sont les numéros d'ordre de la souche.

RESULTATS

II.1. Prévalence globale des *Listeria* dans la volaille fraîche et les produits carnés à base de volaille dans la wilaya d'Alger.

Les résultats de l'isolement et l'identification des *Listeria* dans les volailles fraîches issues des unités d'abattage et dans les produits carnés fabriqués à base de viande de volaille commercialisés en grande surface à Alger, sont présentés dans le tableau n° 17 et schématisés par la figure N°4.

Tableau N°17 : Prévalence globale des *Listeria* isolées à partir de volaille fraîche et produits carnés à base de viande de volaille.

Type de prélèvement (d'échantillon)	<i>Listeria spp</i>		<i>L. mono</i>		<i>L. inn</i>		<i>L.gr</i>		<i>L. wel</i>		<i>L. seel</i>	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Volaille fraîche (212 carcasses)	99	(46,6%)	19	(8,9%)	69	(32,5%)	10	(4,7%)	1	(0,5%)	0	(0%)
Produits carnés (98)	4	(4%)	0	(0%)	3	(3%)	0	(0%)	0	(0%)	1	(1%)
Total 310	103	(33,2%)	19	(6%)	72	(23,2%)	10	(3,2%)	1	(0,3%)	1	(0,3%)

Nbre: nombre, *L. mono*: *Listeria monocytogenes*, *L. inn*: *Listeria innocua*, *L.gr*: *Listeria grayi*, *L. wel*: *Listeria welshimeri*, *L. seel*: *Listeria seeligeri*.

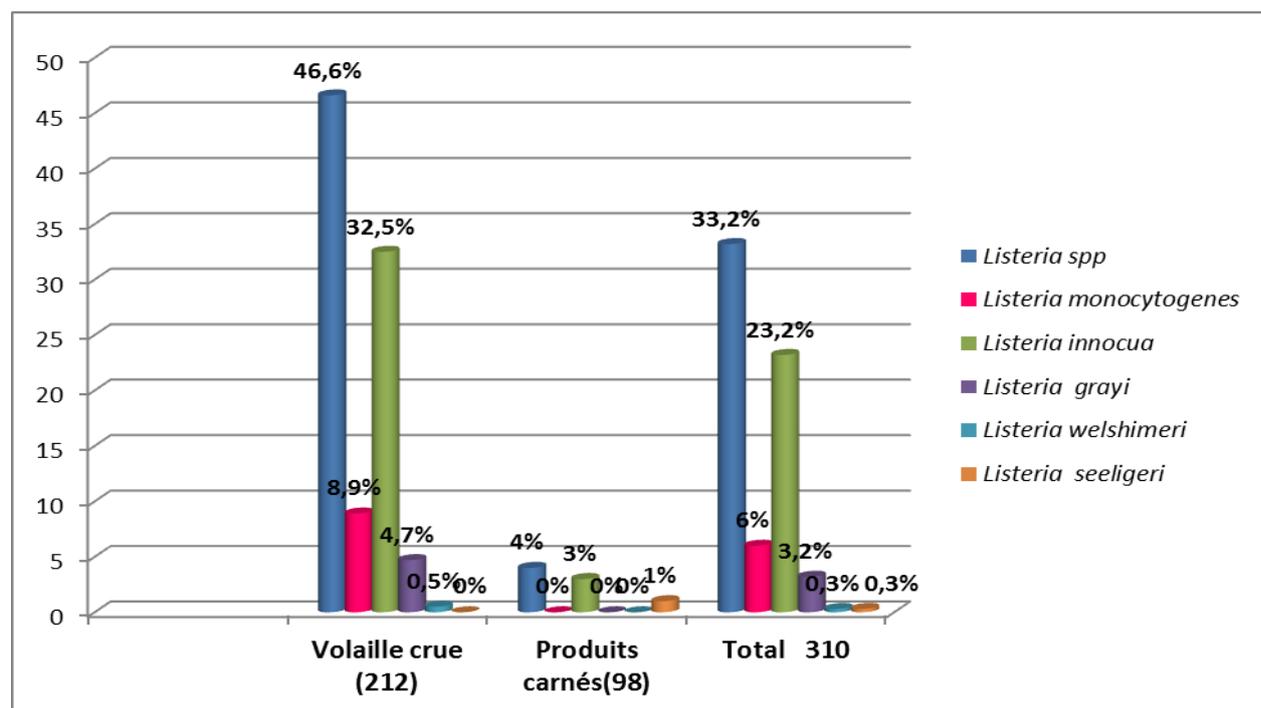


Figure N° 4. Prévalence globale des *Listeria spp* isolées des échantillons testés.

103 échantillons des 310 testés se révèlent positifs à *Listeria*, correspondant à une prévalence globale de 33,2%. Dans les échantillons de volailles fraîches (N= 212 carcasses) prélevés dans des unités d'abattage, nous enregistrons 99 échantillons positifs à *Listeria spp*, soit une prévalence de 46,6%, alors que dans les produits carnés fabriqués à base de viandes de volailles

commercialisés en grandes surfaces (N=98), nous notons que seuls quatre 4 (4%) échantillons sont positifs à *Listeria spp.*

L. monocytogenes est isolée à partir de 19 (6%) échantillons, par rapport au nombre total des échantillons analysés. Tous les échantillons positifs à *L. monocytogenes* sont des carcasses de volailles fraîches avec une prévalence de 8,9% par rapport au nombre de carcasses analysées. Dans les produits carnés aucune *L. monocytogenes* n'est isolée, soit une prévalence de 0%.

72 (23,2%) échantillons se révèlent positifs à *L. innocua*, qui est l'espèce la plus communément isolée. 69 (32,5%) de ces échantillons sont des carcasses de volailles fraîches et 3 (3%), des produits carnés à base de viandes de volaille.

L. grayi est isolée à partir de 10 échantillons, soit une prévalence globale de 3,2%, tous ces échantillons sont des carcasses de volailles fraîches, ce qui correspond à une prévalence de 4,7% par rapport à cette catégorie d'échantillons.

L. welshimeri est isolée à partir d'une carcasse (0,5%) de volaille fraîche, *L. seeligeri* à partir d'un échantillon (1%) de produit carné à base de viandes de volailles, ce qui représente une prévalence globale de 0,3% pour les deux espèces.

II.2. Résultats du dénombrement des *Listeria* dans les volailles fraîches et produits carnés à base de volaille dans la wilaya d'Alger.

L'ensemble des échantillons analysés (310) par la méthode de dénombrement sont négatifs. l'enrichissement des suspensions mères lors de l'utilisation de la méthode de recherche des *Listeria* révèle la présence d'échantillons contenant moins de 100 UFC /g de *Listeria spp* . Les nombres d'échantillons dénombrés positifs ou négatifs suites à l'enrichissement sont rapportés dans le tableau n° 18 et la figure N°5.

Tableau n°18 : Echantillons positifs ou négatifs à *Listeria* suite à l'enrichissement.

Nbre d'échantillons	Nbre des négatifs après enrichissement	% des négatifs après enrichissement	Nbre des positifs après enrichissement	% des positifs après enrichissement
Carcasses de volailles fraîches	113 / 212	53,3%	99	46,7%
Produits carnés à base de volaille	94/98	96%	4	4%
Total	207/310	66,77%	103/310	33,22%

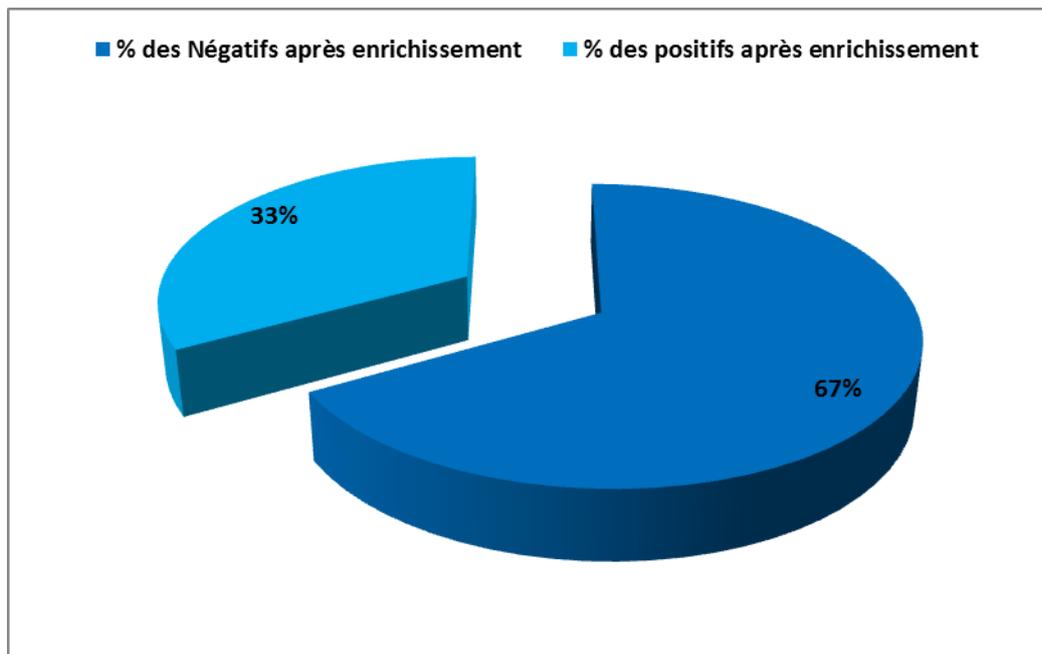


Figure N°5 : Pourcentage des échantillons positifs / négatifs à *Listeria* après enrichissement.

La figure N°5 et le tableau n° 18 montrent que sur l'ensemble des échantillons qui se sont révélés négatifs par la méthode du dénombrement, 33% montrent une contamination à *Listeria* après l'étape d'enrichissement utilisées dans la méthode de recherche des *Listeria*. 67% des échantillons sont restés négatifs même après enrichissement.

Ce sont les carcasses fraîches issues des abattoirs qui ont montré le nombre de contaminés le plus important (46,7%), alors que dans les produits carnés seuls 4% sont contaminés.

II.3 .Prévalence des *Listeria* dans les abattoirs.

Dans les unités d'abattage, le nombre d'échantillons total est de 212 carcasses de volailles, 99 (46,7%) de ces échantillons se révèlent positifs à *Listeria*, dont 19 (8,9%) à *L. monocytogenes* (tableau n°19 et figure N°6). *L. innocua* est isolée à partir de 69 (32,5%) échantillons, *L. innocua* est connu pour masquer la présence des *L. monocytogenes* (Curiale et Lewus, 1994), ce qui pourrait augmenter ostensiblement le nombre d'échantillons positifs à cette dernière.

Tableau n°19 : Prévalence de *Listeria spp* dans les abattoirs de volaille de la wilaya d'Alger.

	Nombre de cas positifs / Nbre d'échantillons prélevés (212)	Pourcentage de cas positifs
<i>Listeria monocytogenes</i>	19	8,9%
<i>Listeria innocua</i>	69	32,5%
<i>Listeria grayi</i>	10	4,7%
<i>Listeria welshimeri</i>	01	0,5%
Total (<i>Listeria spp</i>)	99	46,7%

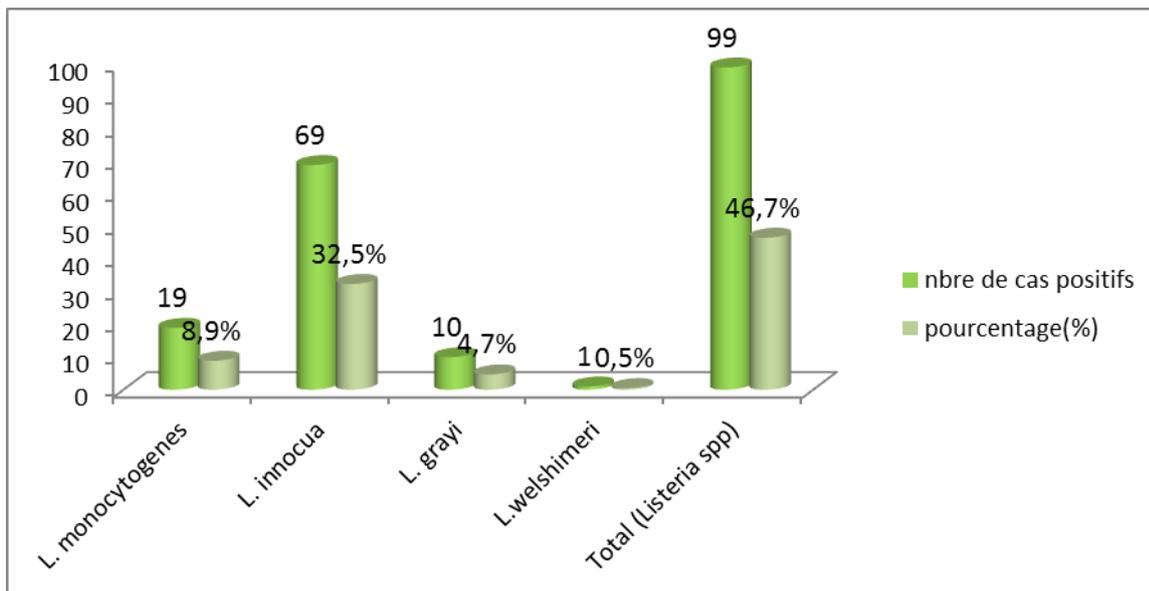


Figure N°6 : Prévalence des *Listeria* dans les volailles fraîches dans les abattoirs d'Alger.

La figure N° 6 montre que 46,7% des carcasses de poulet frais prélevées dans les abattoirs sont contaminées par *Listeria* spp. *L. monocytogenes* est retrouvé dans 19 carcasses ce qui représente une prévalence de 8,9%. *L. innocua* est isolée dans 32,5% des échantillons. *L. grayi* et *L. welshimeri* sont également isolées à partir de carcasses de volaille à des prévalences respectives de 4,7% et 0,5%.

II.3.1. Prévalence des *Listeria* dans les volailles par unité d'abattage.

Dans les unités d'abattage où nous avons effectué notre étude, les prévalences des *Listeria* spp. sont globalement similaires, cependant des variations significatives sont enregistrées en fonction du lieu du prélèvement le long de la chaîne d'abattage ; selon qu'on ait effectué le prélèvement après l'éviscération ou après finition et conservation dans les chambres froides à 0°C pendant 24h.

Les résultats de l'étude réalisée dans chaque unité d'abattage et par lieu de prélèvement de l'échantillon sont détaillés ci-dessous.

II.3.1.1. Unité d'abattage A.

Sur l'ensemble des échantillons analysés dans cette unité (52), 22 soit 42,3% sont positifs à *Listeria* spp. Les prévalences des espèces de *Listeria* isolées sont variables selon qu'on ait prélevé l'échantillon après l'étape d'éviscération ou après finition et réfrigération. Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau n°20 et représentés par la figure N°7.

Tableau n° 20: Répartition des échantillons contaminés par *Listeria* selon le lieu de prélèvement Unité A.

Etape du prélèvement	échantillons négatifs/52 analysés	échantillons positifs/52 analysés	<i>L.mono</i>	<i>L.inn</i>	<i>L.gr</i>	<i>L.wel</i>	<i>L.seel</i>
Post éviscération	24 (92,3%)	2 (7,7%)	0 (0%)	2 (7,7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Post finition/ Réfrigération	6 (23,1%)	20 (76,9%)	6 (23%)	13 (50%)	1(3,8%	0 (0%)	0 (0%)
Total	30 (57,7%)	22 (42,3%)	6 (11,5%)	15 (8,8%	1 (1,9%	0 (0%)	0 (0%)

L. mono: *Listeria monocytogenes*, *L. inn*: *Listeria innocua*, *L.gr*: *Listeria grayi*,
L. wel: *Listeria welshimeri*, *L. seel*: *Listeria seeligeri*.

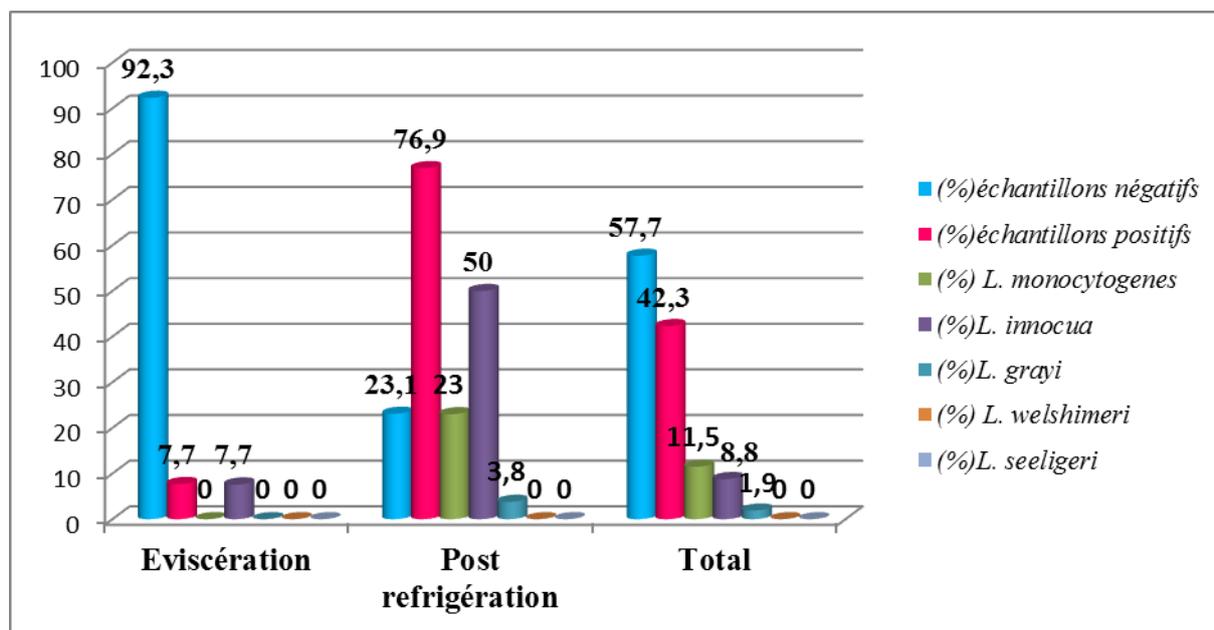


Figure N° 7: Contamination à *Listeria* par lieu de prélèvement dans l'unité d'abattage A.

Le tableau n°20 montre que sur les 52 échantillons prélevés 22 (42,3%) sont positifs à *Listeria spp*, dont 11,5% à *L. monocytogenes*, 8,8% à *L. innocua* et 1,9% à *L. grayi*. Les espèces *welshimeri* et *seeligeri* ne sont pas isolées dans cette unité.

La figure N°7 montre qu'à l'étape éviscération, seul 7,7% des échantillons prélevés sont positifs à *Listeria* et particulièrement à *L. innocua*.

A l'étape post finition/réfrigération 76,9% des échantillons sont positifs à *Listeria*. 3 espèces différentes sont détectées à des prévalences différentes. *L. monocytogenes* est isolée avec une prévalence de 23%. *L. innocua* reste l'espèce la plus retrouvée (50%). *L. grayi* est retrouvée dans 3,8% des échantillons

II.3.1.2 Unité d'abattage B.

Sur les 80 échantillons prélevés au niveau de cette unité, 38(48,7%) se révèlent positifs à *Listeria spp.* avec une contamination à *L. monocytogenes* de 5%.

Les prévalences des autres espèces de *Listeria* isolées au niveau de cette unité sont rapportées dans le tableau n° 21 et schématisées par la figure N° 8.

Tableau n°21 : Prévalence des *Listeria* dans l'unité d'abattage « B ».

Étape du prélèvement	échantillons négatifs /80 analysés	échantillons positifs/80 analysés	<i>L. mono</i>	<i>L. inn</i>	<i>L. gr</i>	<i>L. wel</i>	<i>L. seel</i>
Post-éviscération	31(77,5%)	9 (22,5%)	0 (0%)	6(15%)	3(7,5%)	0 (0%)	0 (0%)
Post-finition/ réfrigération	11(27,5%)	29 (72,5%)	4(10%)	21 (52,5%)	4(10%)	0(0%)	0(0%)
Total	42(51,2%)	38 (48,7%)	4(5%)	27 (33,7%)	7(8,7%)	0(0%)	0(0%)

L. mono: *Listeria monocytogenes*, *L. inn*: *Listeria innocua*, *L.gr*: *Listeria grayi*,
L. wel: *Listeria welshimeri*, *L. seel*: *Listeria seeligeri*.

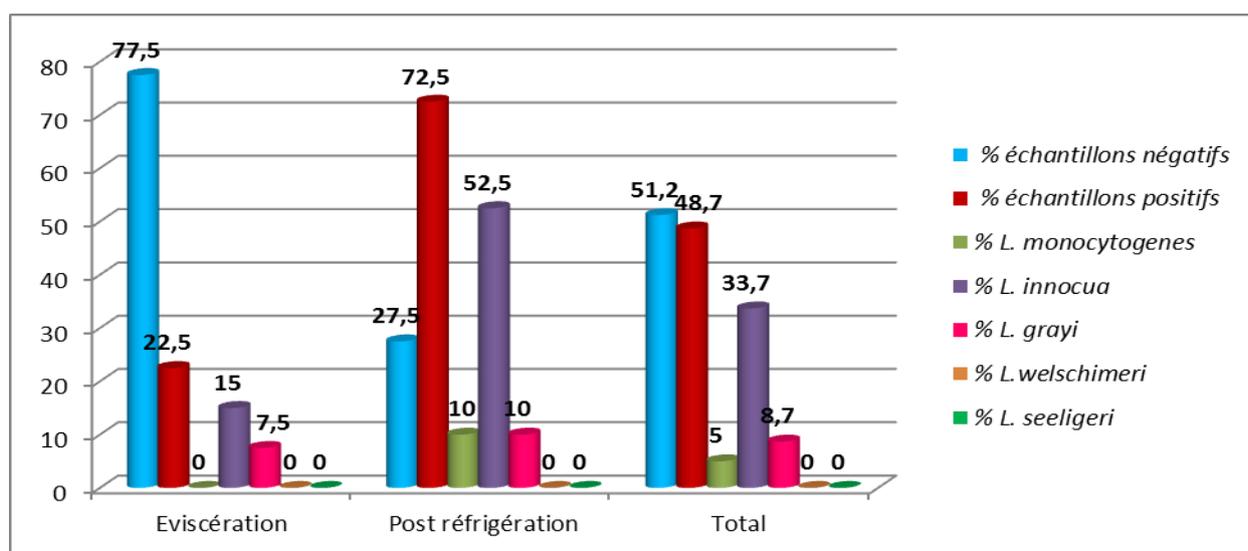


Figure N°8 : Prévalence et répartition des *Listeria* selon le lieu de prélèvement des échantillons dans l'unité B.

Le tableau n°21 montre que sur les 80 échantillons prélevés, environ la moitié ; 38 (48,7%) sont positifs à *Listeria spp.* dont 5% à *L. monocytogenes*, 33,7% à *L. innocua*, 8,7 % à *L. grayi*, *L. welshimeri* et *seeligeri* ne sont pas isolées dans cette unité.

La figure N°8 montre comme pour l'unité A, que le taux de contamination post-éviscération est inférieur à celui enregistré en post finition/ réfrigération 25% et 72,5% respectivement. *L. monocytogenes* n'est pas détectée à l'étape post-éviscération (0%) mais elle est isolée à partir de 4 (10%) échantillons de l'étape post finition/réfrigération. *L. innocua* reste l'espèce la plus communément isolée 15% des échantillons positifs post-éviscération et 52,5% des échantillons positifs post- finition/réfrigération.

L. grayi est isolée à l'étape post-éviscération et post- finition/réfrigération dans 7, 5% et 10% des échantillons respectivement.

II.3.1.3. Unité d'abattage C.

Sur les 80 échantillons prélevés dans cette unité 41 (51,2%) sont négatifs. *L. monocytogenes* est détectée dans 2, 5 % des échantillons prélevés post éviscération et 20 % des échantillons prélevés post finition/ réfrigération.

Les prévalences des autres espèces de *Listeria* isolées sont rapportés dans le tableau n° 22 et la figure N° 9.

Tableau n°22 : Prévalence des *Listeria* dans l'unité d'abattage C.

Etape du prélèvement	échantillons négatifs/80 analysés	échantillons positifs /80 analysés	<i>L. mono</i>	<i>L. inn</i>	<i>L.gr</i>	<i>L.wel</i>	<i>L. seel</i>
Post-éviscération	24 (60%)	16 (40%)	1 (2,5%)	15(37,5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Post-finition/ Réfrigération	17 (42 ,5%)	23 (57,5%)	8(20%)	12 (30%)	2 (5%)	1 (2,5%)	0(0%)
Total	41 (51,2%)	39 (48,8%)	9(11,2%)	27(33,7%)	2(2,5%)	1 (1,2%)	0(0%)

L. mono: *Listeria monocytogenes*, *L. inn*: *Listeria innocua*, *L.gr*: *Listeria grayi*,

L. wel: *Listeria welshimeri*, *L. seel*: *Listeria seeligeri*.

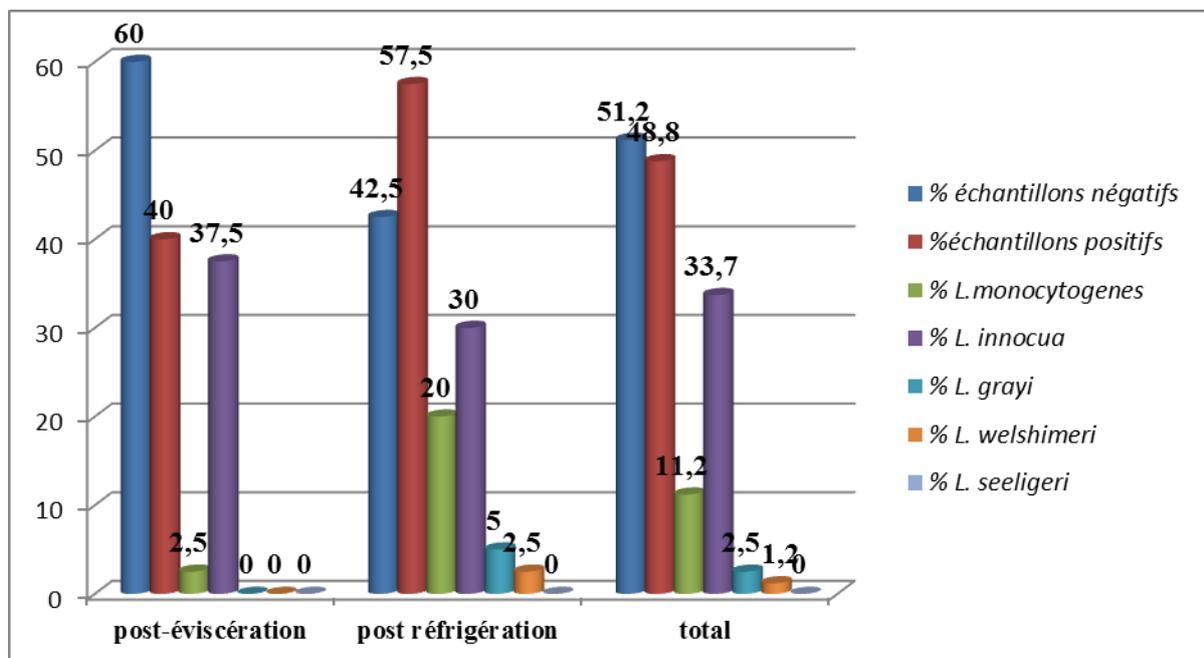


Figure N° 9: Prévalence et répartition des *Listeria* selon le lieu de prélèvement de l'échantillon dans l'unité C.

Le tableau n° 22 montre que sur les 80 échantillons prélevés, environ la moitié ; 38 (48,7%) sont positifs à *Listeria* spp. dont 11,2% à *L. monocytogenes*, 33,7% à *L. innocua*, 2,5 % à *L. grayi* et 1,2% à *L. welshimeri*.

La figure N°9 montre contrairement à l'unité A et B, que le taux de contamination post-éviscération se rapproche de celui enregistré en post-finition/réfrigération 40% et 57,5% respectivement. *L. monocytogenes* est détectée dans cette unité à l'étape post-éviscération (2,5%) contre 20% à l'étape post finition/réfrigération.

L. innocua est isolée à l'étape post-éviscération à une valeur supérieur à celle de la valeur de l'étape post- finition/réfrigération (37,5% et 30% respectivement) contrairement à ce qui est rapporté dans les unités A et B.

L. grayi n'est isolée qu'à l'étape post- finition/réfrigération à une prévalence de 5%.

L. welshimeri n'est isolée qu'à l'étape post- finition/réfrigération à une prévalence de 2,5%.

II.3.2. Répartition géographique des échantillons de volailles contaminés par *Listeria*.

Tout au long de la durée des prélèvements dans les trois unités d'abattage, nous notons que les volailles vivantes provenaient d'élevages très différents géographiquement. La répartition des carcasses de volailles contaminées par *Listeria* spp selon la région d'élevage est rapportée dans le tableau n°23 et la figure N°10.

Tableau n°23 : Répartition géographique des échantillons de volaille contaminés par *Listeria*.

Région	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. grayi</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. seeligeri</i>
Tizi- Ouzou	08	28	02	0	0
Béjaia	06	17	02	0	0
Sétif	1	3	02	0	0
Batna	2	5	02	0	0
Bouira	2	16	02	1	0

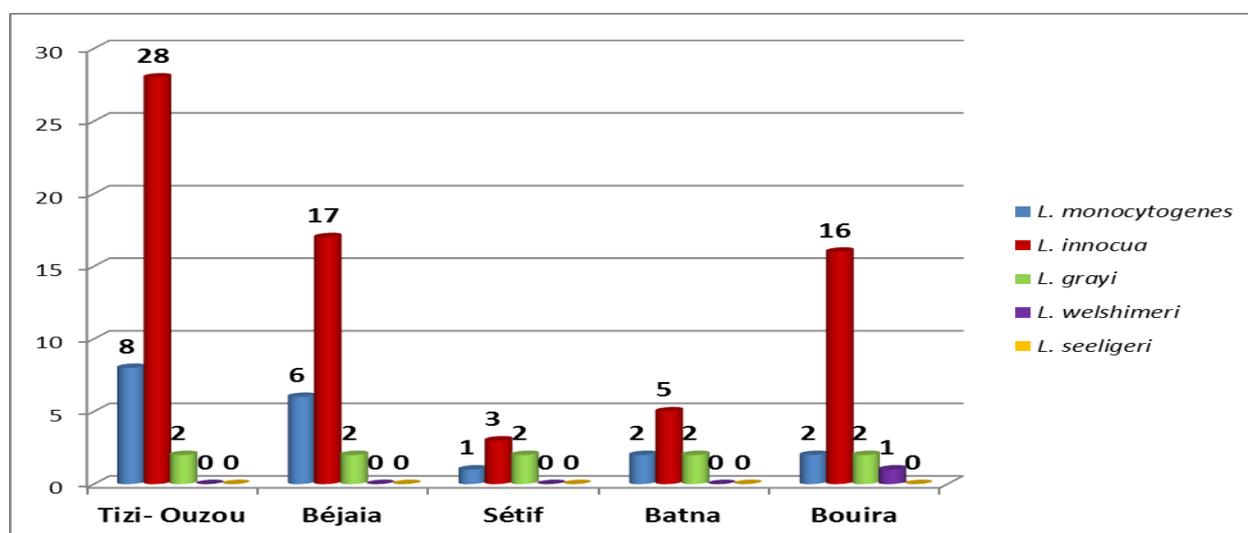


Figure N°10 : Répartition géographique des échantillons contaminés à *Listeria*

Quatre espèces différentes de *Listeria* sont isolées à partir de volailles provenant de Bouira, contre 3 espèces pour les wilayas de Tizi-Ouzou, Batna, Bejaia et Sétif (figure N°10).

Tizi Ouzou enregistre le nombre de carcasses contaminées par *L. innocua* le plus important (22), suivie par Bejaia (17).

La majorité des échantillons contaminés par *L. monocytogenes* provient des régions de Tizi-Ouzou (8) et Bejaïa (6).

II.4 .Prévalence et dénombrement des *Listeria* dans les produits carnés à base de viandes de volailles commercialisés dans les grandes surfaces à Alger.

Les résultats de recherche et dénombrement des *Listeria* dans les produits carnés à base de viandes de volailles commercialisés dans les grandes surfaces d'Alger, montrent que 96% des 98 échantillons testés sont négatifs à *Listeria*. Seule *L. innocua* et *L. seeligeri* sont isolées de cette catégorie de denrées. Les résultats détaillés sont rapportés dans le tableau n°24 et la figure N°11.

Tableau n°24 : Résultats de la recherche et du dénombrement des *Listeria* dans les produits carnés à base de volailles.

Unité (N°)	Nbre d'échantillons négatifs au dénombrement	Nbre d'échantillons positifs après enrichissement		
		<i>L. mono</i> N° %	<i>L. innocua</i> N° %	<i>L. seeligeri</i> N° %
unité 1 (24)	24 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Unité 2 (25)	25 (100%)	0 (0%)	1 (4%)	0 (0%)
Unité 3 (22)	22 (100%)	0 (0%)	1 (4,5%)	1 (4,5%)
Unité 4 (27)	27 (100%)	0 (0%)	1 (3,7%)	0 (0%)
Total (98)	98 (100%)	0 (0%)	3 (3,1%)	1 (1%)

N°= nombre d'échantillons, % = pourcentage des échantillons

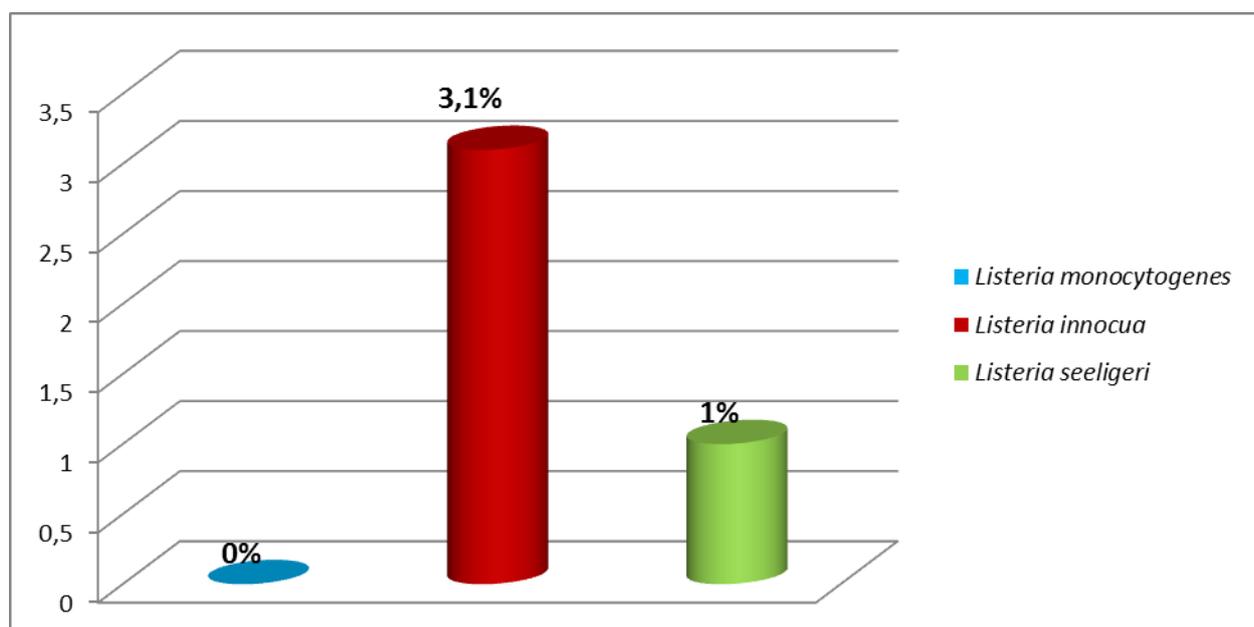


Figure N°11 : Prévalence globale des *Listeria* dans les produits carnés à base de viandes de volaille.

Le tableau n° 24 montre que le dénombrement des *Listeria* dans les produits carnés est négatif, mais après enrichissement des suspensions mères, 3,1% des échantillons deviennent positifs à *L. innocua* et 1% à *L. seeligeri*.

Le tableau montre aussi que dans l'unité 1, aucune *Listeria* n'est isolée, que dans l'unité 2 et 4, seule *L. innocua* est isolée à des prévalences de 4% et 3,7% respectivement. L'unité 3 enregistre l'espèce *L. seeligeri* en plus de *L. innocua*, leurs prévalences sont de 4,5% pour les deux espèces.

La figure N° 11 montre que la prévalence globale de *L. monocytogenes* dans les produits carnés à base de viandes de volailles commercialisés dans les grandes surfaces à Alger est de 0%, celle de *L. innocua* de 3,1% et celle de *L. seeligeri* de 1%.

II.5. Résultats de l'étude de la sensibilité des *Listeria* aux antibiotiques.

II.5.1. Résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de *L. monocytogenes*.

L'étude de la sensibilité des *L. monocytogenes* et *L. innocua* isolées aux antibiotiques donne les résultats qui sont rapportés dans le tableau n° 25 pour *L. monocytogenes* et le tableau n° 27 pour *L. innocua*. Dans les tableaux sont représentés les diamètres des zones d'inhibitions des antibiotiques en millimètre.

Tableau n° 25: Résultats des antibiogrammes des différentes souches de *L. monocytogenes*.

Reference des souches	Antibiotiques testés et diamètres des zones d'inhibition en mm																
	P	AMP	AMX	IPM	RA	TE	E	C	CIP	MXF	LVX	TMP	GM	FA	VA	FOS	SXT
2013/00023	23	24	25	25	30	22	33	27	23	24	25	25	38	20	22	00	34
2013/00024	24	24	27	28	30	22	35	28	22	22	25	22	35	22	22	00	38
2013/00025	26	26	26	28	22	32	28	32	21	27	24	28	28	22	22	00	40
2013/00026	24	24	26	27	25	28	27	22	24	27	25	25	24	20	21	00	34
2013/00030	24	21	22	28	30	29	32	29	23	24	20	25	30	22	20	00	34
2013/00031	24	24	26	27	26	27	27	22	21	24	20	29	23	19	21	00	36
2013/00033	23	20	24	29	30	27	34	29	24	22	19	30	34	20	21	00	40
2013/00034	22	20	25	29	31	33	33	27	25	22	22	29	33	20	21	00	38
2013/00036	22	21	25	28	22	34	32	28	22	20	22	29	28	20	23	00	34
2013/00037	22	22	26	29	22	34	36	30	20	22	22	24	30	20	23	00	40
2013/00038	26	24	23	28	20	30	30	24	23	22	25	24	28	20	23	00	36
2013/00039	30	24	24	28	20	28	28	28	21	24	30	24	24	19	20	00	38
2013/00041	29	24	24	28	30	27	35	27	20	22	28	22	30	20	20	00	37

2013/00042	29	24	25	28	16	26	24	26	20	24	28	24	32	19	23	00	40
2013/00043	29	22	25	28	28	26	32	28	20	24	25	22	29	19	21	00	34
2013/00046	29	20	26	27	22	30	32	30	21	24	25	27	28	22	21	00	40
2013/00049	24	24	26	26	26	27	25	23	22	26	25	28	24	22	22	00	38
2013/00050	29	22	26	27	28	26	32	30	21	24	24	27	32	22	22	00	36
2013/00051	24	22	26	29	22	28	30	26	23	26	28	27	28	22	22	00	32
2013/00052	24	20	26	28	24	23	28	28	22	26	23	28	28	22	22	00	38
2013/00054	24	20	26	26	20	26	24	26	20	25	23	28	32	22	23	00	38
2013/00055	25	21	25	26	20	30	30	24	20	26	23	29	24	19	23	00	32
2013/00056	24	23	24	26	23	24	30	24	20	26	23	22	22	22	23	00	31
2013/00058	24	23	24	26	34	24	36	30	21	26	23	29	32	19	20	00	34
2013/00059	25	20	24	26	20	28	28	28	21	26	25	29	30	20	20	00	34
2013/00060	20	20	23	22	23	24	25	22	21	24	25	28	25	22	23	00	36

Comme le montre le tableau n°25, toutes les valeurs des diamètres des zones d'inhibition engendrées par les antibiotiques testés sont plus ou moins importantes selon l'antibiotique testé. En l'absence de références concernant l'interprétation des diamètres des zones d'inhibition et concernant la détermination des points critiques des différents antibiotiques concernés, nous considérons que la présence de toute zone d'inhibition correspond à la sensibilité de la souche concernée. Ainsi, Les souches de *L. monocytogenes* isolées sont toutes sensibles à tous les antibiotiques testés. Exception faite pour la fosfomycine ou aucune zone d'inhibition n'est enregistrée pour toutes les souches de *L. monocytogenes*, ceci confirme le caractère de résistance naturelle de ce germe à cet antibiotique. Le tableau nous montre aussi la sensibilité des *Listeria* testées vis-à-vis des nouvelles molécules fluoroquinolones (lévofloxacine, ciprofloxacine, et moxifloxacine). Toutes les souches testées montrent des diamètres d'inhibition assez importants.

II.5.2. Résultats de l'étude des concentrations minimales inhibitrices des souches de *L. monocytogenes*.

Les résultats de l'étude des concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques des souches de *L. monocytogenes* sont rapportés dans le tableau n°26 et la figure N°12.

Tableau n°26 : Concentration minimales inhibitrices (CMI) des antibiotiques testés sur les souches de *L. monocytogenes*

Référence IPP des souches	Référence Alger	P (mg /ml)	AMP (mg /ml)	Cotrimethoxasol SXT (mg /ml)	Triméthoprime TMP (mg /ml)
2013/00023	LM 2	0,094	0,094	0,016	0 ,064
2013/00024	LM3	0,125	0,125	0,016	0,094
2013/00025	LM4	0,19	0,19	0,032	0,094
2013/00026	LM5	0,19	0,19	0,023	0,125
2013/00030	LM9	0,064	0,064	0,016	0,047
2013/00031	LM10	0,125	0,125	0,012	0,064
2013/00033	LM 12	0,125	0,125	0,016	0,064
2013/00034	LM 13	0,125	0,125	0,008	0,094
2013/00036	LM 15	0,38	0,38	0,008	0,047
2013/00037	LM 16	0,064	0,064	0,016	0,125
2013/00038	LM 17	0,25	0,25	0,032	0,094
2013/00039	LM 18	0,25	0,25	0,032	0,094
2013/00041	LM 20	0,125	0,125	0,016	0,047
2013/00042	LM 21	0,19	0,19	0,012	0,047
2013/00043	LM 22	0,094	0,094	0,016	0,094
2013/00046	LM 25	0,19	0,19	0,008	0,125
2013/00049	LM 28	0,094	0,094	0,023	0,125
2013/00050	LM 29	0,19	0,19	0,016	0,047
2013/00051	LM 30	0,125	0,125	0,016	0,064
2013/00052	LM 31	0,125	0,125	0,016	0,064
2013/00054	LM 33	0,19	0,19	0,012	0,047
2013/00055	LM 34	0,25	0,25	0,032	0,125
2013/00056	LM 35	0,19	0,19	0,023	0,064
2013/00058	LM 37	0,094	0,094	0,016	0,125
2013/00059	LM 38	0,25	0,25	0,032	0,064
2013/00060	L M 39	0,25	0,25	0,064	0 ,125

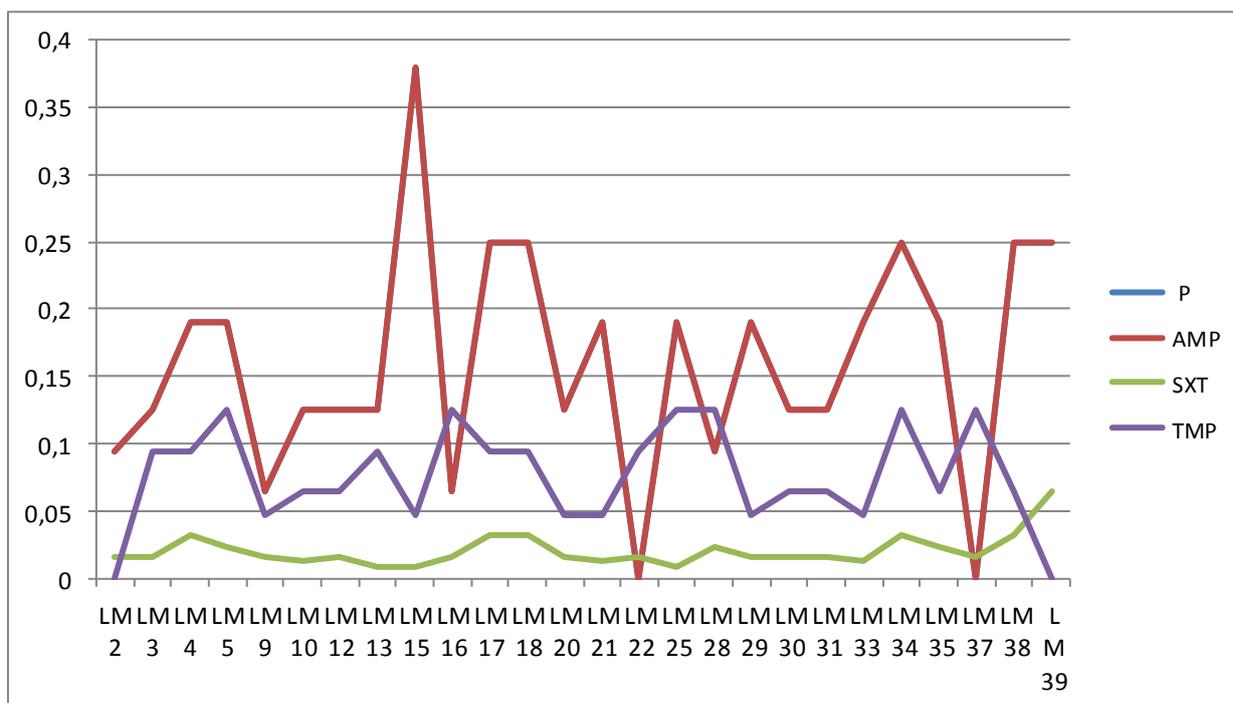


Figure N°12 : Valeurs des CMI des antibiotiques testés sur *L. monocytogenes*

Le tableau n°26 et la figure N°12 montrent que toutes les souches de *L. monocytogenes* testées sont sensibles aux quatre antibiotiques utilisés, les valeurs de CMI sont très variables mais restent toujours en dessous des valeurs critiques indiquées par le CLSI.

La sensibilité à la pénicilline et à l'ampicilline sont identiques comme le montre la figure N°12.

La sensibilité des souches au SXT est très prononcée, la valeur inhibitrice minimale est de 0,008 mg/ml et la maximale ne dépasse pas les 0,064mg/ml. La pénicilline et l'ampicilline o enregistrent une CMI minimale de 0,094mg/ml, ce qui indique leurs fortes activités contre *L. monocytogenes*.

Certaines souches sont plus sensibles à l'association triméthoprime/ sulfaméthoxazole qu'au triméthoprime seul ; c'est le cas de LM 5, LM 16, LM 37.

II.5.3. Résultats de l'étude de la sensibilité de *Listeria innocua* aux antibiotiques.

Les résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *L. innocua* sont rapportés dans le tableau n° 27. Les résultats sont exprimés par les diamètres en millimètres des zones d'inhibition.

Tableau n° 27: Résultats des antibiogrammes de quelques souches de *L. innocua* testées.

	P	AMP	C	GM	E	SXT	TE	RA
ATCC	26	26	26	30	34	36	22	28
LI 1	24	24	24	24	00	35	08	20
LI 6	23	25	33	35	00	38	00	27
LI 7	23	23	26	32	34	36	00	24
LI 8	26	23	28	28	32	24	00	22
LI 11	25	25	32	30	00	37	00	28
LI 14	23	23	26	26	28	32	00	20
LI 19	24	25	28	26	30	30	00	26
LI 23	24	24	27	28	30	38	00	26
LI 24	23	25	28	30	32	34	00	21
LI 26	26	23	28	26	26	26	00	22
LI 27	26	23	26	24	28	34	00	22
LI 32	23	23	22	30	00	29	00	24
LI 36	24	26	32	28	32	40	00	22
LI 40	26	26	28	30	33	30	00	26

Le tableau n°27 montre que les 14 (100%) souches de *L. innocua* sont résistantes à la tétracycline, parmi elles 4 (28,5%) montrent une double résistance (tétracycline/ érythromycine).

II.6. Caractérisation phénotypique

La caractérisation phénotypique ou Sérogroupage, des souches de *L. monocytogenes* isolées, effectuée par amplification de l'ADN par la technique Polymerase Chain Reaction (PCR Multiplex) telle que décrite par Doumith et *al.* en 2004, montre que les 26 souches testées appartiennent à trois sérogroupes distincts : IIa, IIb et IVb (tableau n° 28, photo N°4).

U:\IMAGES GELS\PCR\PCR 2013\01\090113A.sgd
1357744456 - 001 CNR mercredi 9 janvier 2013 16:15:54 B=34162 W=45317 G=1,00 I=0,080s

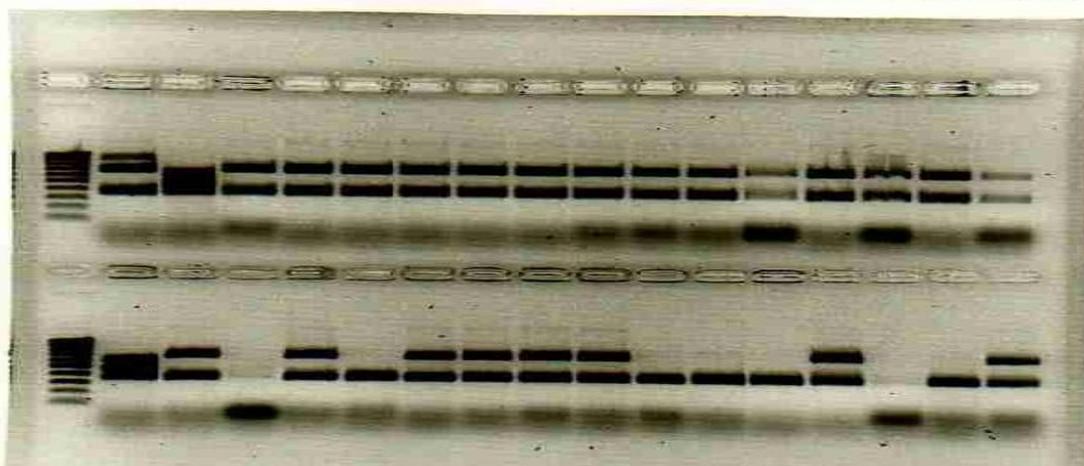


Photo N°4 : Photo du gel d'électrophorèse des fragments d'ADN. (Photo personnelle)

Tableau n°28 : Sérogroupage des souches de *L. monocytogenes* isolées.

Ref de la souche	Ref IPP	Sérogroupe
LM 22	2013/00043	IIa (1/2a ou 3a)
LM 29	2013/00050	IIa (1/2a ou 3a)
LM 31	2013/00052	IIa (1/2a ou 3a)
LM 09	2013/00030	IIa (1/2a ou 3a)
LM 10	2013/00031	IIa (1/2a ou 3a)
LM 12	2013/00033	IIa (1/2a ou 3a)
LM 16	2013/00037	IIa (1/2a ou 3a)
LM 20	2013/00041	IIa (1/2a ou 3a)
LM 30	2013/00051	IIa (1/2a ou 3a)
LM 37	2013/00058	IIa (1/2a ou 3a)
LM 38	2013/00059	IIa (1/2a ou 3a)
LM 04	2013/00025	IIa (1/2a ou 3a)
LM 05	2013/00026	IIa (1/2a ou 3a)
LM 17	2013/00038	IIa (1/2a ou 3a)
LM 25	2013/00046	IIa (1/2a ou 3a)
LM 28	2013/00049	IIa (1/2a ou 3a)
LM 34	2013/00055	IIa (1/2a ou 3a)
LM 39	2013/00060	IIa (1/2a ou 3a)
LM 35	2013/00056	IIa (1/2a ou 3a)
LM 03	2013/00024	IIa (1/2a ou 3a)
LM 13	2013/00034	IIa (1/2a ou 3a)
LM 02	2013/00023	IIa (1/2a ou 3a)
LM 15	2013/00036	IIb (1/2b ou 3b ou 3c)
LM 21	2013/00042	IIb (1/2b ou 3b ou 3c)
LM 33	2013/00054	IIb (1/2b ou 3b ou 3c)
LM 18	2013/00039	IVb (4b ou 4d ou 4e)

Sur les 26 souches isolées, 22 (84,6%) appartiennent au sérogroupe IIa, ce qui fait de lui le sérogroupe dominant ; 1, 3 (11,5%) au sérogroupe IIb et 1 souche (3,8%) au sérogroupe IVb (figure N°13).

Chaque sérogroupe est constitué de deux ou trois sérovars, aussi, le sérogroupe IIa comprend deux sérovars (1/2a et 3a), le sérogroupe IIb comprend trois sérovars (1/2b, 3b et 3c) et le sérogroupe IVb comprend trois sérovars (4b, 4d et 4e).

Notre phénotypage s'arrête au stade sérogroupage sans affiner la caractérisation au sérovars, pour la raison que le sérogroupe IIa est majoritairement constitué du serovar 1/2a, le sérogroupe IIb du serovar 1/2b alors que le sérogroupe IVb est majoritairement constitué du serovar 4b (Meng et al., 2007).

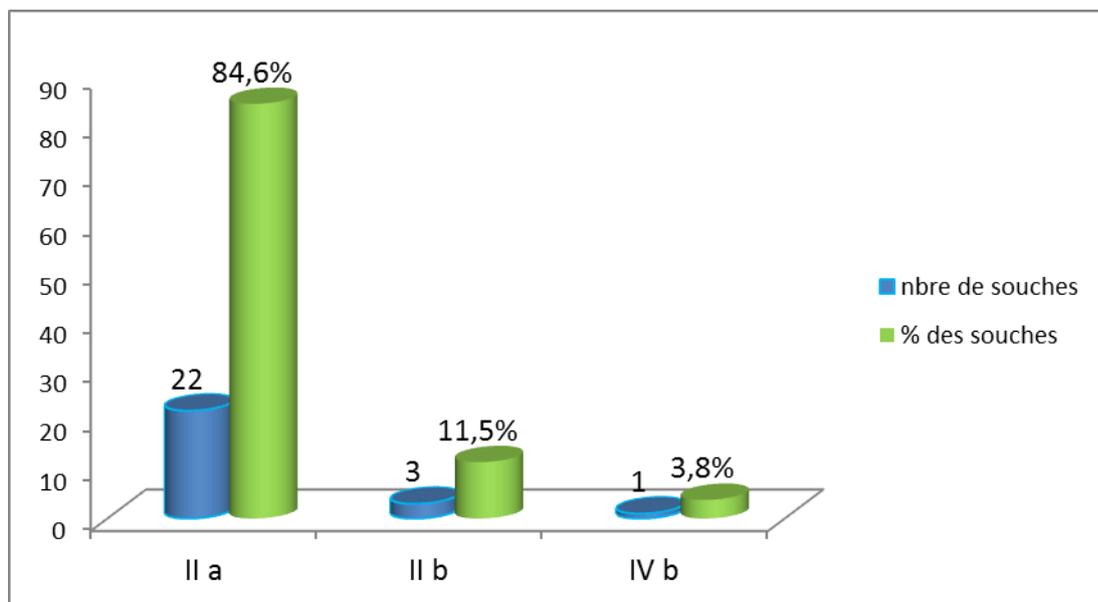


Figure N° 13 : Sérogroupes des *L. monocytogenes* isolées.

II.6.1.Répartition des sérogroupes par unité d'abattage.

Les souches de *L. monocytogenes* phénotypées proviennent de trois unités d'abattage différentes. La répartition des sérogroupes par unité d'abattage est répertoriée dans le tableau n°29.

Tableau N°29. Répartition des sérogroupes par unité d'abattage.

Unité	Séro-groupe IIa		Séro-groupe IIb		Séro-groupe IVb	
	Nbre de Souches	(%)	Nbre de Souches	(%)	Nbre de Souches	(%)
A	8	(100%)	0	(0%)	0	(0%)
B	5	(100%)	0	(0%)	0	(0%)
C	9	(69,2%)	3	(23%)	1	(7,7%)

Nos résultats montrent que toutes les souches (100%) isolées à partir des 2 unités d'abattage A et B appartiennent à un seul et même séro-groupe IIa, tandis que les souches isolées à partir de l'unité C appartiennent à 3 sérogroupes différents : 9 (69,2%) au séro-groupe IIa, 3 (23%) au séro-groupe IIb et 1 (7,7%) au séro-groupe IVb. Le tableau n°29 montre que les trois unités présentent le séro-groupe IIa comme étant le séro-groupe dominant.

II.6.2.Répartition géographique des sérogroupes identifiés.

Les souches de *Listeria* isolées et identifiées proviennent de trois unités d'abattage différentes, ces unités s'approvisionnent en volailles vivantes de nombreuses régions d'Algérie connues pour leurs élevages de volaille. Lors de la caractérisation phénotypique des souches, nous constatons que certains sérogroupes sont spécifiques à une région, alors que d'autres sont communs à plusieurs.

La répartition géographique des sérogroupes selon les régions d'origine des volailles vivantes est rapportée dans le tableau n° 30 et la figure N°14.

Tableau n° 30. Répartition géographique des sérogroupes identifiés.

	Bejaïa	Bouira	Tizi Ouzou	Sétif	Batna
Sérogroupe IIa	7/7 (100%)	1/3 (33,3%)	10/12 (83,3%)	1/1 (100%)	2/2 (100%)
Sérogroupe IIb	0 (0%)	2/3 (66,6%)	1/12 (8,3%)	0 (0%)	0 (0%)
Sérogroupe IVb	0 (0%)	0 (0%)	1/12 (8,3%)	0 (0%)	0 (0%)

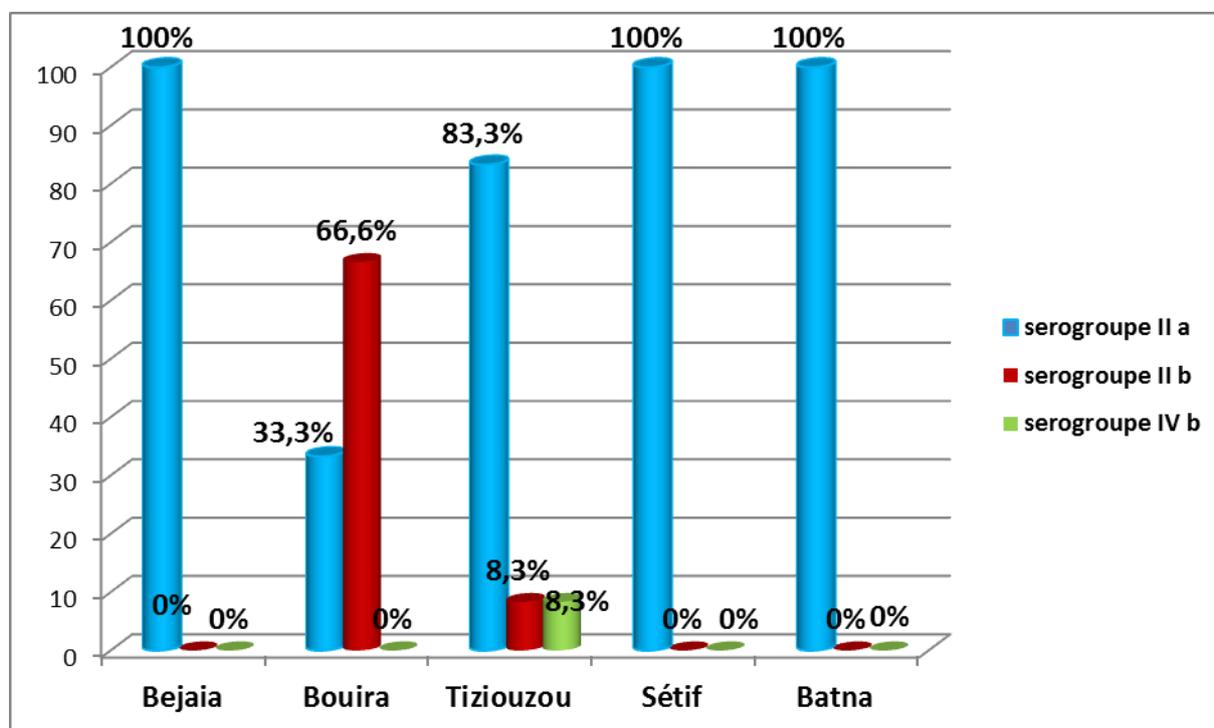


Figure N°14. Prevalence des sérogroupes selon la région d'origine des volailles vivantes

La figure N°14 montre que la répartition des sérogroupes est homogène pour certaines régions d'origine des volailles vivantes, ainsi Bejaia, Sétif et Batna enregistrent une prévalence de 100% des souches appartenant au sérogroupe IIa. Ce résultat nous permet de dire que c'est le sérogroupe dominant dans les échantillons que nous avons étudiés.

Dans la région de Bouira, deux sérogroupes sont identifiés, il s'agit du sérogroupe IIa avec une prévalence de 33,3% et du sérogroupe IIb avec une prévalence de 66,6%.

La région de Tizi Ouzou enregistre une hétérogénéité remarquable des phénotypes, tous les sérogroupes identifiés sont retrouvés dans cette région avec des prévalences de 83,3%, 8,3% et 8,3% pour les sérogroupes IIa, IIb et IVb respectivement. Il est à noter que le nombre le plus élevé de souches isolées proviennent de cette dernière région d'où peut-être cette hétérogénéité phénotypique.

La figure N° 14 montre que le sérogroupe dominant est le même dans toutes les localités ; IIa pour Tizi -ouzou, Batna, Sétif et Bejaia. L'exception est faite pour Bouira où c'est le sérogroupe IIb qui est dominant.

II.7. Caractérisation génotypique ou pulsotypage.

La caractérisation génotypique ou pulsotypage des souches de *L. monocytogenes* isolées est effectuée par la méthode de l'électrophorèse en champ pulsé (PFGE) suivant le protocole de PULSNET Europe (Graves et Swaminathan, 2001). Deux enzymes de restriction (*AscI* et *ApaI*) sont utilisés dans ce test. Les résultats obtenus après la restriction par chaque enzyme et de la restriction combinée des deux enzymes sont présentés ci-dessous.

II.7.1. Résultats de la macrorestriction par l'enzyme *AscI* :

La restriction par l'enzyme *AscI* donne différents profils selon la migration des fragments de l'ADN dans le gel de l'électrophorèse (photo N°5). Ces profils, pulsotypes ou génotypes sont comparés à ceux déjà existant dans la Collection *Listeria* de l'Institut Pasteur de Paris (CLIP) pour voir s'ils sont déjà répertoriés ou pas (Tableau n°31).

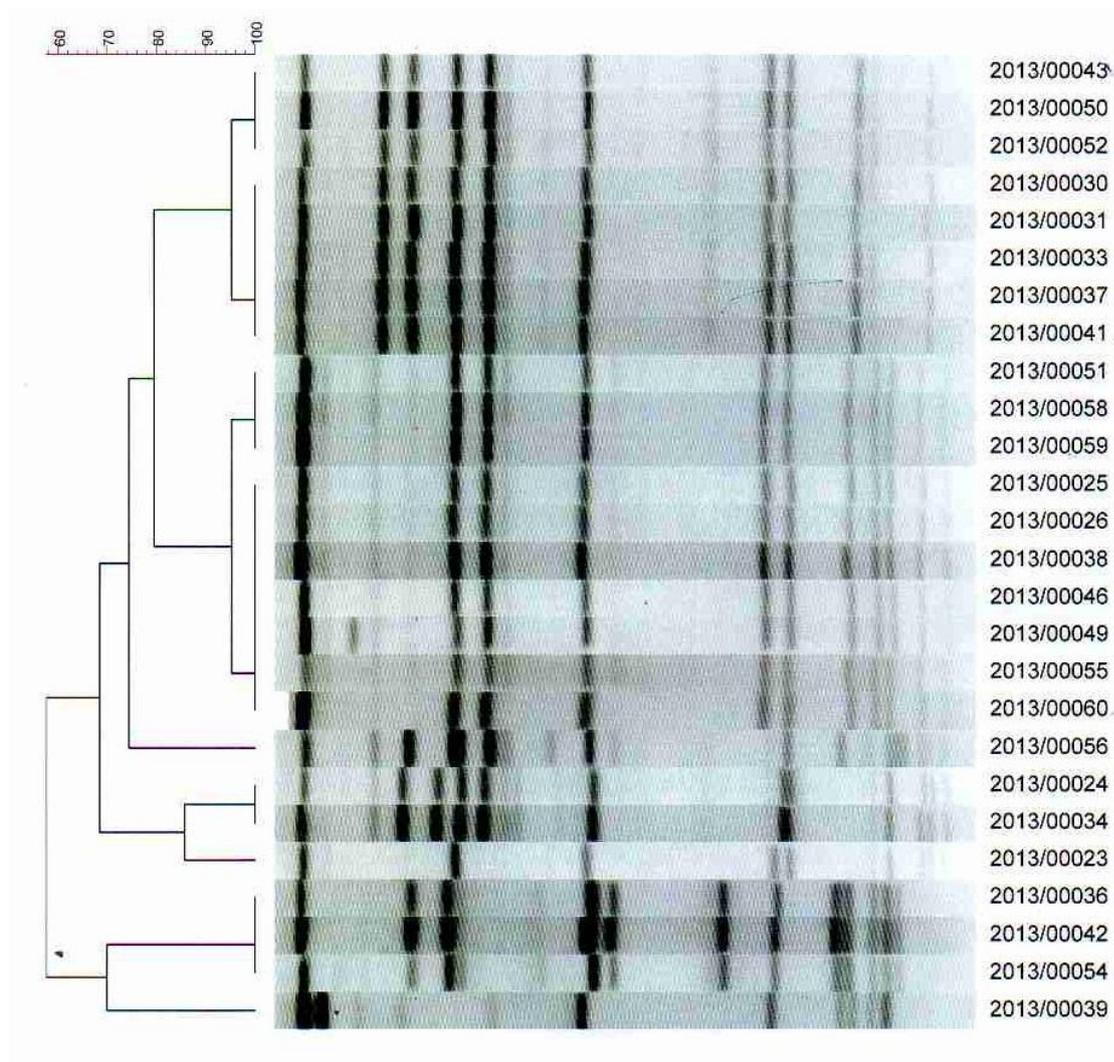


Photo N° 5: Profils de restriction par l'enzyme *AscI* et leurs dendrogrammes (Photo personnelle)

Tableau n° 31: Pulsotypes des souches de *L. monocytogenes* isolées, après macrorestriction par l'enzyme *AscI*.

Réf de la souche	Réf IPP	Sérogroupe	PFGE TypeAscI (collection IPP)	Unité d'abattage	Origine de la volaille
22	2013/00043	IIa	030308	A	Bejaia
29	2013/00050	IIa	030308	A	Bejaia
31	2013/00052	IIa	030308	B	Batna
09	2013/00030	IIa	030308	A	Bejaia
10	2013/00031	IIa	030308	C	Bouira
12	2013/00033	IIa	030308	A	Bejaia
16	2013/00037	IIa	030308	A	Bejaia
20	2013/00041	IIa	030308	A	Bejaia
30	2013/00051	IIa	060409	C	TO
37	2013/00058	IIa	060409	A	Bejaia
38	2013/00059	IIa	060409	C	TO
04	2013/00025	IIa	060409	C	TO
05	2013/00026	IIa	060409	C	TO
17	2013/00038	IIa	060409	C	TO
25	2013/00046	IIa	060409	C	TO
28	2013/00049	IIa	060409	B	Batna
34	2013/00055	IIa	060409	C	TO
39	2013/00060	IIa	060409	C	TO
35	2013/00056	IIa	050207	B	Sétif
03	2013/00024	IIa	010607	B	TO
13	2013/00034	IIa	010607	B	TO
02	2013/00023	IIa	241006	A	Bejaia
15	2013/00036	IIb	190307 bis	C	TO
21	2013/00042	IIb	190307 bis	C	Bouira
33	2013/00054	IIb	190307 bis	C	Bouira
18	2013/00039	IVb	151005	C	TO

TO=Tizi-Ouzou

II.7.1.1. Analyse visuelle des profils de la macrorestriction par l'enzyme *AscI* :

Le traitement visuel des photos du gel de la macrorestriction avec l'enzyme *AscI* (Photo N°5) permet de constater que chaque isolat génère un profil particulier, que nous regroupons en **9** profils ou pulsotypes différents en fonction de leur similitude. Les profils sont définis en fonction du nombre de bandes et de la localisation des fragments d'ADN obtenus par la restriction. Sont considérés comme pulsotypes différents, ceux qui présentent plus d'une bande de différence.

Ainsi, nous retrouvons 3 clusters constitués de profils uniques et 6 clusters regroupant les souches dont les profils de restriction sont indiscernables, c'est-à-dire qu'ils présentent 100% de similarité.

A. Les profils ou pulsotypes uniques : Trois souches de *L.monocytogenes* présentent des profils uniques :

- La souche référencée CLIP 2013/00056 présente un profil unique comprenant 15 bandes.
 - La souche référencée CLIP 2013/00023 présente un profil unique comprenant 9 bandes.
 - La souche référencée CLIP 2013/00039 présente un profil unique comprenant 8 bandes
- Le taux de similarité entre les profils des CLIP 2013/00056 et 2013/00023 est de 70 % alors qu'il est de 60% pour les trois profils.

B. Les profils à 100% de similarité : Ce sont des profils ou les fragments d'ADN issus de la restriction subissent la même migration, ces profils sont au nombre de 6.

1. **Le profil donné par deux souches** : représenté par les souches référencées : CLIP 2013/00024 et CLIP 2013/00034, comprenant 12 bandes.
2. **Le profil donné par trois souches** : les souches sont groupées par trois pour donner un même profil de restriction, ce sont :
 - **Le profil présenté par les souches référencées** : CLIP 2013/00043, CLIP 2013/00050 et CLIP 2013/00052, qui comprend 10 bandes.
 - **Le profil présenté par les souches référencées** : CLIP 2013/00051, CLIP 2013/00059 et CLIP 2013/00058, qui comprend 11 bandes.
 - **Le profil présenté par les souches référencées** : CLIP 2013/00042, le CLIP 2013/00054 et CLIP 2013/00036, qui comprend 13 bandes.
3. **Le profil donné par cinq souches** : Il s'agit d'un groupe de souches référencées : CLIP : 2013/00031, 2013/00030, 2013/00033, 2013/00037 et 2013/00041, ce profil comprend 10 bandes.
4. **Le profil donné par sept souches** : Il s'agit d'un groupe de 7 souches, qui donnent un profil à 100% de similarité, ce sont celles référencées : CLIP ; 2013/00025, 2013/00026, 2013/00038, 2013/00046, 2013/00055, 2013/00060 et 2013/00049, ce profil est à 11 bandes.

II.7.1.2. Analyse automatisée des profils de la macrorestriction par l'enzyme *AscI* avec le logiciel BioNumerics.

Les profils PFGE ont été analysés avec le logiciel BioNumerics en utilisant le coefficient de Dice et l'algorithme UPGMA. Les profils qui présentaient plus de 95 % de similarité sont regroupés en un seul groupe ou Cluster, ils comprenaient le même nombre (n) de bandes et la différence à une seule bande (n+1) est tolérée (Photo N°5). Sont considérées comme souche indiscernables, celles dont le taux similarité est supérieur à 98% (Tenover et *al.*, 1995)

Les 9 profils identifiés sont regroupés en 7 groupes ou Clusters nommés de A à G:

- **Cluster A** : Il regroupe les profils de huit souches référencées CLIP 2013/00043, 2013/00050, 2013/00052, 2013/00030, 2013/00031, 2013/00033, 2013/00037 et 2013/00041, c'est un profil à 9 bandes.
- **Cluster B** : Il regroupe les profils de dix souches référencées CLIP : 2013/00051, 2013/00058, 2013/00059, 2013/00025, 2013/00026, 2013/00038, 2013/00046, 2013/00049, 2013/00055 et 2013/00060, c'est un profil à 11 bandes.
- **Cluster C** : C'est un profil unique, représenté par la souche référencée CLIP : 2013/00056, c'est un profil à 15 bandes.
- **Cluster D** : Il regroupe les deux profils des souches référencées CLIP : 2013/00024 et 2013/00034, il comprend 12 bandes.
- **Cluster E** : Profil unique, représenté par la souche référencée CLIP : 2013/00023, il comprend 9 bandes.
- **Cluster F** : Il regroupe les trois profils des souches référencées CLIP : 2013/00036, 2013/00042 et 2013/00054, c'est un profil à 13 bandes.
- **Cluster G** : Profil unique, représenté par la souche référencée CLIP : 2013/00039, il comprend 8 bandes.

L'interprétation numérique des profils nous permet de ressortir les mêmes profils uniques déjà identifiés par le traitement visuel des photos du gel et de regrouper les profils en groupes ou Cluster pour les réduire à sept.

Cette analyse nous permet également de mesurer les degrés ou taux de similarité entre les profils ; ainsi la similarité atteint 80% pour les profils A et B et 70% pour les profils A, B, C, D et E.

Les profils F et G présentent une similarité de 70% entre eux, mais se sont un peu éloignés des autres profils et la similarité baisse à 60%.

Le tableau n°31, permet de constater que 3,84% des profils de restriction sont présentés par les souches du séro groupe IVb, 11,5% par les souches du séro groupe IIb et 84,6% par les souches du séro groupe IIa.

II.7.2. Résultats de la macrorestriction par l'enzyme *Apal* :

La restriction par l'enzyme *Apal* donne différents profils (photo N°6). Ces profils sont comparés à ceux déjà existant dans la Collection *Listeria* de l'Institut Pasteur (CLIP) pour voir s'ils sont déjà répertoriés ou pas (Tableau n°32).

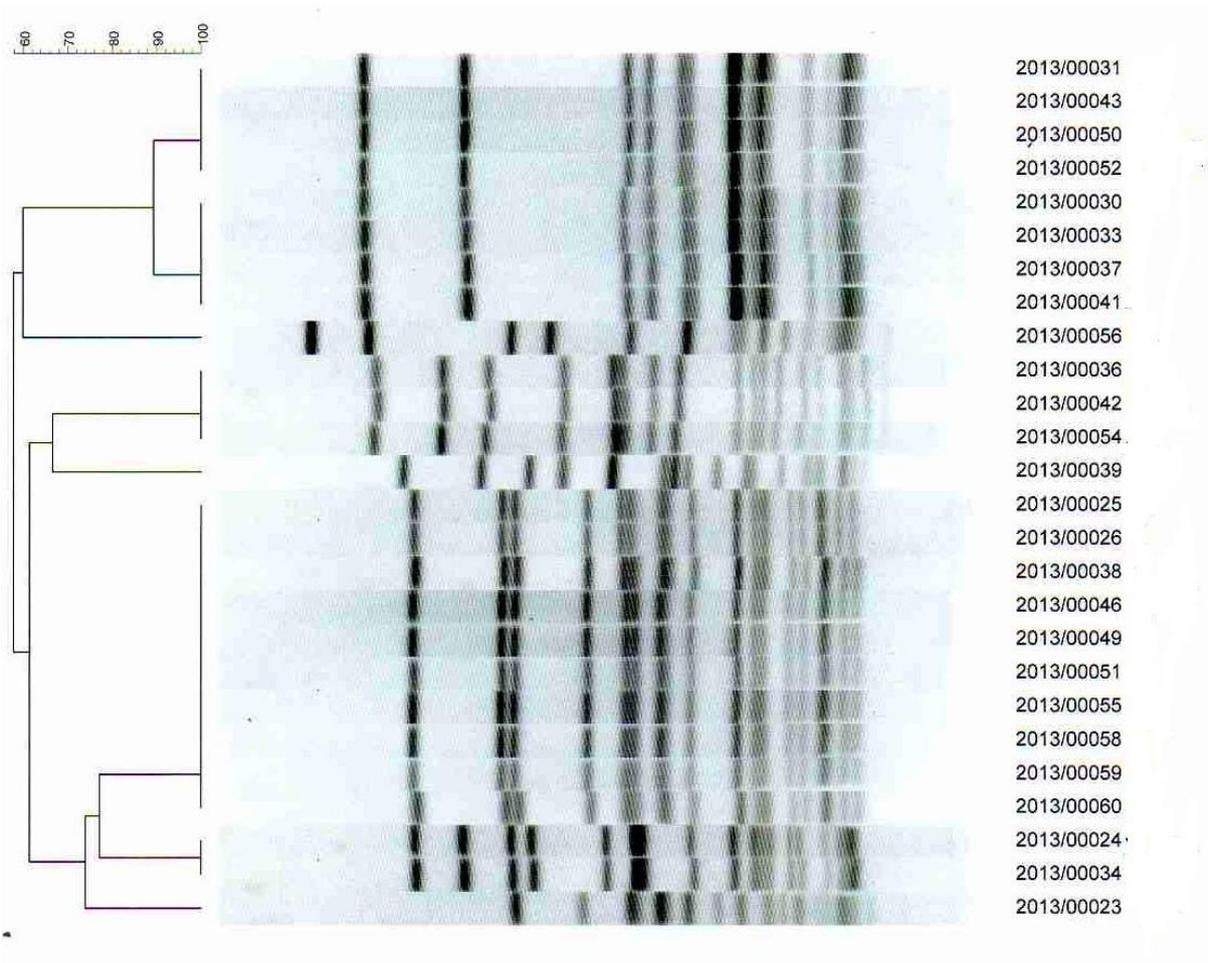


Photo N°6 : Profils de restriction par l'enzyme *ApalI* et leurs dendrogrammes (Photo personnelle)

Tableau n° 32: Pulsotypes des souches de *L. monocytogenes* isolées, après macrorestriction par l'enzyme *Apal*.

Réf de la souche	Réf IPP	Sérogroupe	PFGE Type <i>Apal</i> Collection IPP	Unité <i>d'abattage</i>	Origine de la volaille
22	2013/00043	IIa	271106	A	Bejaia
29	2013/00050	IIa	271106	A	Bejaia
31	2013/00052	IIa	271106	B	Batna
09	2013/00030	IIa	271106	A	Bejaia
10	2013/00031	IIa	271106	C	Bouira
12	2013/00033	IIa	271106	A	Bejaia
16	2013/00037	IIa	271106	A	Bejaia
20	2013/00041	IIa	271106	A	Bejaia
30	2013/00051	IIa	060409	C	TO
37	2013/00058	IIa	060409	A	Bejaia
38	2013/00059	IIa	060409	C	TO
04	2013/00025	IIa	060409	C	TO
05	2013/00026	IIa	060409	C	TO
17	2013/00038	IIa	060409	C	TO
25	2013/00046	IIa	060409	C	TO
28	2013/00049	IIa	060409	B	Batna
34	2013/00055	IIa	060409	C	TO
39	2013/00060	IIa	060409	C	TO
35	2013/00056	IIa	050207bis	B	Sétif
03	2013/00024	IIa	010607bis	B	TO
13	2013/00034	IIa	010607bis	B	TO
02	2013/00023	IIa	241006	A	Bejaia
15	2013/00036	IIb	301009	C	TO
21	2013/00042	IIb	301009	C	Bouira
33	2013/00054	IIb	301009	C	Bouira
18	2013/00039	IVb	151005	C	TO

II.7.2.1. Analyse visuelle des profils de la macrorestriction par l'enzyme *ApaI* :

Le traitement visuel des photos du gel de la macrorestriction avec l'enzyme *ApaI* nous permet d'observer que chaque isolat génère un profil particulier, que nous pouvons regrouper en **8** profils différents en fonction de leur similitude. Les profils sont définis en fonction des différences d'une ou de plusieurs bandes entre les souches. L'analyse visuelle permet d'observer 3 clusters à profils uniques et 5 clusters regroupant les souches dont les profils de restriction sont indiscernables, c'est-à-dire qu'ils présentent 100% de similarité

A. Les profils uniques : Trois souches de *L. monocytogenes* présentent des profils uniques :

- La souche référencée CLIP 2013/00056 qui présente un profil unique à 11 bandes.
- La souche référencée CLIP 2013/00023 qui présente un profil unique à 12 bandes.
- La souche référencée CLIP 2013/00039 qui présente un profil unique à 15 bandes

Le taux de similarité entre les trois profils est de 60%.

B. Les profils à 100% de similarité : ce sont des profils ou les fragments d'ADN issus de la restriction subissent la même migration, ces profils sont au nombre de 5.

1. **Le profil donné par deux souches** : Représenté par les souches référencées : CLIP 2013/00024 et CLIP 2013/00034, comprenant 17 bandes.
2. **Le profil donné par trois souches** : Représentés par les souches référencées : CLIP 2013/00042, CLIP 2013/00054 et CLIP 2013/00036 comprenant 16 bandes.
3. **Le profil donné par quatre souches** : Quatre souches donne le même profil de restriction, ce sont :
 - **Le profil donné par les souches référencées** : CLIP 2013/00043, CLIP 2013/00050, CLIP 2013/00052 et CLIP 2013/00031 qui comprend 12 bandes.
 - **Le profil donné par les souches référencées** : CLIP 2013/00030, CLIP 2013/00033, CLIP 2013/00037 et CLIP 2013/00041 qui comprend 12 bandes.
4. **Le profil donné par 10 souches** : Il s'agit du groupe de 10 souches qui ont donné un profil à 100% de similarité, ce sont celles référencées : CLIP 2013/00025, CLIP 2013/00026, CLIP 2013/00038, CLIP 2013/00046, CLIP 2013/00051, CLIP 2013/00055, CLIP 2013/00059, CLIP 2013/00060, CLIP 2013/00049 et CLIP 2013/00058, qui comprend 16 bandes (Photo N°6).

II.7.2.2. Analyse automatisée des profils de la macrorestriction par l'enzyme *ApaI* avec le logiciel BioNumerics.

Les profils PFGE ont été analysés avec le logiciel BioNumerics en utilisant le coefficient de Dice et la méthode UPGMA. Les profils qui présentaient plus de 95 % de similarité sont regroupés en un seul groupe.

Les 8 profils identifiés sont regroupés en 7 groupes ou Cluster nommés de A à G :

- **Cluster A** : Il regroupe les profils des souches référencées : CLIP 2013/00031, 2013/00043, 2013/00050, 2013/00052, 2013/00030, 2013/00033, 2013/00037 et 2013/00041.
- **Cluster B** : C'est un profil unique représenté par la souche référencée : CLIP 2013/00056.
- **Cluster C** : Regroupe les profils des souches référencées : CLIP 2013/00036, 2013/00042, et 2013/00054.
- **Cluster D** : Il s'agit d'un profil unique représenté par la souche référencée : 2013/00039.
- **Cluster E** : regroupe les profils des souches référencées : CLIP 2013/00025, 2013/00026, 2013/00038, 2013/00046, 2013/00049, 2013/00051, 2013/00055, 2013/00058, 2013/00059 et 2013/00060.
- **Cluster F** : regroupe les profils des souches référencées : CLIP 2013/00024 et 2013/00034
- **Cluster G** : Il s'agit d'un profil unique représenté par la souche référencée : 2013/00023.

L'interprétation numérique des profils permet de ressortir les mêmes profils uniques déjà identifiés par le traitement visuel des photos de gel et de regrouper les profils pour les réduire à sept groupes ou clusters.

Cette analyse permet également de mesurer les degrés de similarité entre les profils, ainsi la similarité atteint 80% pour les profils F et E, 75% pour les profils E, F et G, 60% pour les profils C, D, E, F et G et les profils A et B, mais elle n'est que de 55 % pour l'ensemble des profils (photo N°6).

Le tableau n° 32, permet de constater que 3,84% des profils de restriction sont présentés par les souches du sérotype IVb, 11,5% par les souches du sérotype IIb et 84,6% par les souches du sérotype IIa.

II.7.3. Résultats combinés des macrorestrictions par les enzymes *ApaI* et *AscI* :

Dans la synthèse des résultats des restrictions enzymatiques, il est observé que la combinaison des profils de macrorestriction des deux enzymes en même temps, a excellent pouvoir de discrimination permettant de mieux caractériser les souches de *L. monocytogenes* que lorsque l'interprétation se faisait pour chaque enzyme à part (Buchrieser et al., 1993).

L'utilisation du logiciel BIONUMERICS permet de combiner les deux profils de restriction obtenus par l'enzyme *ApaI* et *AscI*, de donner les pourcentages de similarité entre les profils et de les comparer à ceux existant dans la base de données du CCOMS (profils associées à des cas de listériose humaine, animale ou encore prélevées de l'environnement ou d'aliments en Europe).

II.7.3.1. Analyse visuelle des profils de restriction combinées des deux enzymes *ApaI* et *AscI*.

Le traitement visuel des photos du gel de la restriction combinée des deux enzymes, permet de distinguer **10** profils différents (Photo N°7). 4 clusters à profils uniques et 6 clusters regroupant les souches dont les profils de restriction sont indiscernables, c'est-à-dire qu'ils présentent 100% de similarité

A. Les profils uniques : Quatre souches de *L.monocytogenes* présentent des profils uniques :

Les mêmes trois profils uniques identifiées lors du traitement visuel des photos des gels de restriction de chacun des deux enzymes, ressortent lors de la combinaison des deux profils. Ce sont les souches référencées : CLIP 2013/00056, CLIP 2013/00023 et CLIP 2013/00039.

Un quatrième profil unique, particulier à cette combinaison est identifié, il est représenté par la souche référencée : CLIP 2013/00031.

Le taux de similarité entre les quatre profils est de 60%.

B. Les profils à 100% de similarité : Ce sont des profils ou les fragments d'ADN issus de la restriction subissent la même migration, ces profils sont au nombre de 6.

1. **Le profil donné par deux souches** : Représenté par celui donné par les souches référencées : CLIP 2013/00024 et CLIP 2013/00034, ce profil est déjà identifié lors de l'étude des profils pour chaque enzyme.
2. **Le profil donné par trois souches** : Les souches se sont groupées par trois pour donner un même profil de restriction ce sont :
 - **Le profil donné par les souches référencées** CLIP : 2013/00036, CLIP2013/00042 et CLIP 2013/00054.
 - **Le profil donné par les souches référencées** CLIP : 2013/00051, CLIP2013/00058 et CLIP 2013/00059.
 - **Le profil donné par les souches référencées** CLIP : 2013/00043, CLIP2013/00050 et CLIP 2013/00052.
3. **Le profil donné par quatre souches** : Les souches se sont regroupées par quatre pour donner un même profil de restriction, ce sont les souches référencées : CLIP 2013/00030, CLIP 2013/00033, CLIP 2013/00037 et CLIP 2013/00041.
4. **Le profil donné par 7 souches** : Il s'agit du groupe de 7 souches qui ont donné un profil à 100% de similarité, ce sont celles référencées : CLIP 2013/00025, CLIP 2013/00026, CLIP 2013/00038, CLIP 2013/00046, CLIP 2013/00049, CLIP 2013/00055, et CLIP 2013/00060.

II.7.3.2. Analyse automatisée des profils combinés de la restriction des deux enzymes *AscI* et *ApaI* avec le logiciel BioNumerics.

Les profils PFGE sont analysés avec le logiciel BioNumerics. Les profils de restriction *ApaI* et *AscI* sont combinés, ceux qui présentaient un taux de plus de 95 % de similarité sont réunis en un seul groupe (photo N°7).

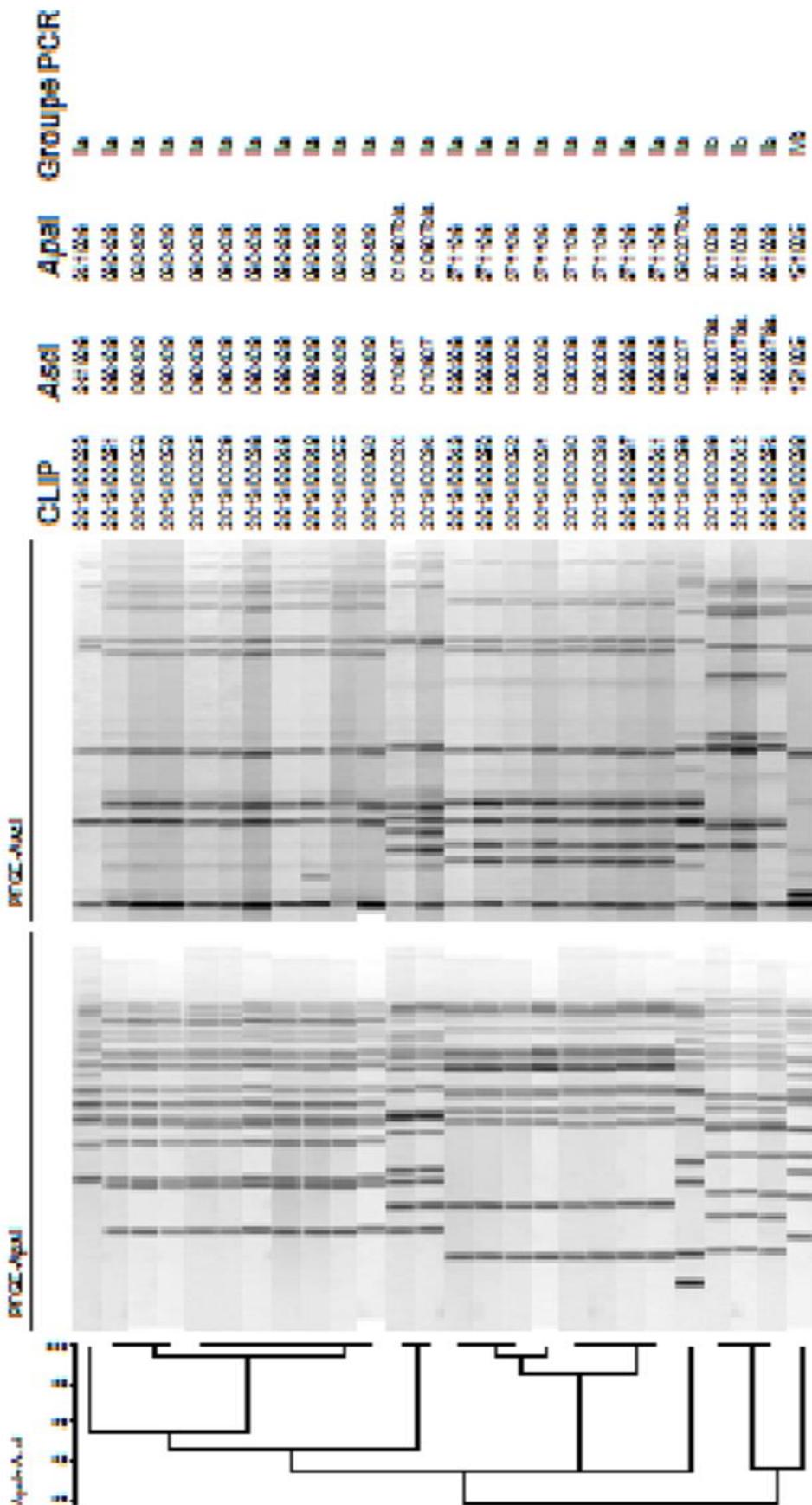


Photo N°7 : Profils de restriction combinée des enzymes *Apal* et *AscI* des 26 isolats.

Les 10 profils identifiés ont été regroupés dans 7 groupes ou Clusters : Chaque Cluster est comparé aux profils similaires répertoriés dans la base de données du CCOMS

Cluster I : Profil unique correspondant à la souche référencée : CLIP 2013/00023, similaire à celui identifié 241006 par *AscI* et *ApaI* . Ce profil représente 3,8% des souches isolées.

Cluster II : Profil unique correspondant à la souche référencée : CLIP 2013/00039, similaire à celui identifié 151005 par *AscI* et *ApaI*. Ce profil représente 3,8% des souches isolées.

Cluster III : Profil unique correspondant à la souche référencée : CLIP 2013/00056, similaire à celui identifié 050207 par *AscI* et 050207bis par *ApaI*. Ce profil représente 3,8% des souches isolées.

Cluster IV : Regroupant les profils des souches référencées : CLIP 2013/00051, 2013/00058, 2013/00059, 2013/00025, 2013/00026, 2013/00038, 2013/00046, 2013/00049, 2013/00055 et 2013/00060, similaire à celui identifié 060409 par *AscI* et *ApaI*. Ce profil représente 38,4% des souches isolées.

Cluster V : Regroupant les profils des souches référencées : CLIP 2013/00043, 2013/00050, 2013/00052, 2013/00031, 2013/00030, 2013/00033, 2013/00037 et 2013/00041, similaire à celui identifié 030308 pour *AscI* et 271106 pour *ApaI*. Ce profil représente 30,7% des souches isolées.

Cluster VI : Regroupant les profils des souches référencées : CLIP 2013/00034, et 2013/00024, similaire à celui identifié 010607 pour *AscI* et 010607 bis pour *ApaI*. Ce profil représente 7,7% des souches isolées.

Cluster VII : Regroupant les profils des souches référencées : CLIP 2013/00036, 2013/00054 et 2013/00042, similaire à celui identifié 190307bis pour *AscI* et 301009 pour *ApaI* par le CCOMS. Ce profil représente 11,5% des souches isolées.

La prévalence des différents profils identifiés par la combinaison des restrictions des deux enzymes est rapportée par la figure N°15.

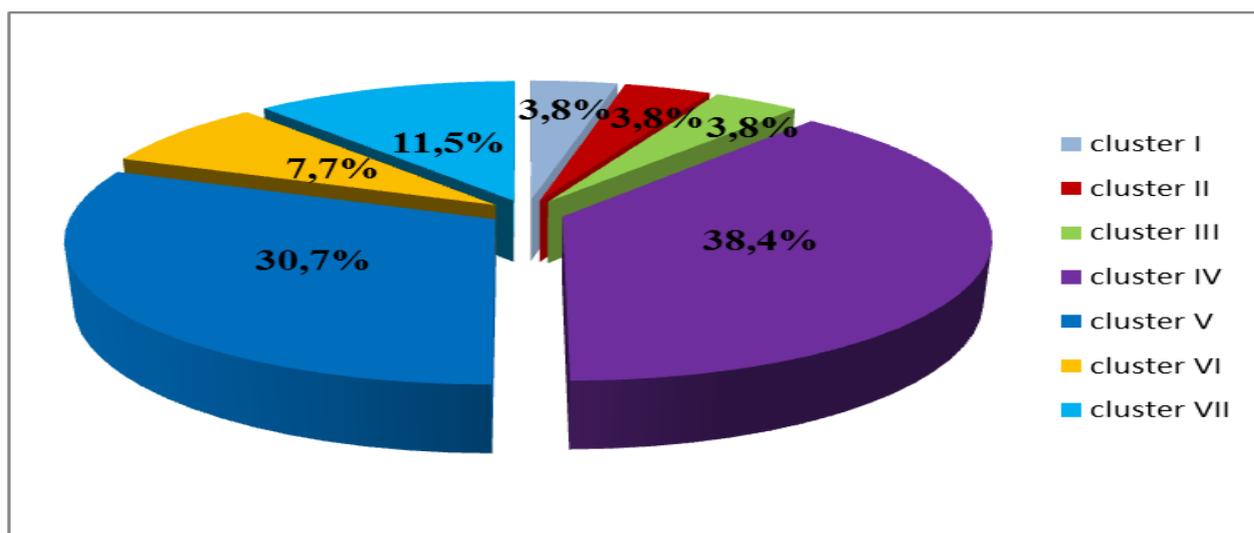


Figure N°15 : Prévalence des profils de restriction combinée des enzymes *ApaI* et *AscI*

La figure N°15 montre 38,4% des profils observés appartiennent au cluster IV, 30,7% au cluster V, 11,5 % au cluster VII, 7,7% au cluster VI. Les clusters à profils uniques (I, II et III) représentent chacun 3,8% des profils observés.

II.7.3. Relation génotype/ phénotype.

Nous répartissons les différents profils de restriction combinée obtenus par l'action des deux enzymes selon les sérogroupes des souches obtenues après caractérisation phénotypique. Les résultats sont rapportés dans le tableau n°33.

Tableau n°33 : Répartition des génotypes selon les sérogroupes.

Profil de restriction	Sérogroupe IIa	Sérogroupe IIb	Sérogroupe IVb
Cluster I	1	0	0
Cluster II	0	0	1
Cluster III	1	0	0
Cluster IV	10	0	0
Cluster V	8	0	0
Cluster VI	2	0	0
Cluster VII	0	3	0

Le tableau n°33, montre que toutes les souches du même cluster appartiennent toutes au même sérogroupe :

- Le cluster II ; à profil unique appartient au sérogroupe IVb.
- Le cluster VII ; les trois souches appartiennent au sérogroupe IIb.
- Les clusters I, III, IV, V et VI ; toutes les souches appartiennent au sérogroupe IIa.

Le tableau N°33 montre également que certaines souches peuvent appartenir à un même phénotype (sérogroupe) et présenter une diversité génétique importante, aussi, les 20 souches qui appartiennent au sérogroupe IIa ont des profils génétiques (de restriction) très diversifiés, elles ont les profils de 5 Clusters différents : I, III, VI, V et VII. Les souches qui appartiennent au sérogroupe IIb et IVb présentent toutes le même profil génétique.

II.7.4. Caractérisation des souches provenant d'un même échantillon.

Certaines souches isolées dans notre étude proviennent du même échantillon, leurs sérotypes et profils PFGE sont similaires dans certains cas et différents dans d'autres. Ces résultats sont représentés dans le tableau n° 34

Tableau n°34: Sérotypes et profils PFGE des souches qui proviennent d'un même échantillon.

Souches provenant du même échantillon	Sérotypes respectifs	Profils PFGE respectifs
2013/00037, 2013/00041 et 2013/00058	Ila, Ila et Ila	V, V et IV
2013/00051 et 2013/00038	Ila et Ila	IV et IV
2013/00024 et 2013/00034	Ila et Ila	VI et VI
2013/00042 et 2013/00054	Iib et Iib	VII et VII
2013/00039 et 2013/00025	IVb et Ila	II et IV

Le tableau n°34 montre que dans un même échantillon peuvent cohabiter des souches de *L. monocytogenes* de phénotype et génotype très différents, comme c'est le cas pour les souches 2013/00039 et 2013/00025 qui appartiennent chacune à un séro groupe et profil génétique particulier. Un autre échantillon contient trois souches de phénotype identique (Ila) mais les génotypes sont le même pour deux souches et différents pour la troisième (2013/00037, 2013/00041 et 2013/00058 respectivement).

II.7.5. Répartition des profils génétique dans les unités d'abattage.

Les souches de *Listeria* isolées dans notre étude provenaient de trois unités d'abattage différentes, nous avons réparti les profils génétiques identifiés par rapport à ces unités, les résultats obtenus sont exprimé dans le tableau n°35.

Tableau n°35 : Répartition des génotypes par unités d'abattage.

	Cluster I	Cluster II	Cluster III	Cluster IV	Cluster V	Cluster VI	Cluster VII
Unité A	+	-	-	+	+	-	-
Unité B	-	-	+	+	+	+	-
Unité C	-	+	-	+	+	-	+

Le tableau n° 35 montre que certains clusters sont spécifiques à une unité donnée, c'est le cas pour les clusters III et VI que l'on ne retrouve qu'au niveau de l'unité d'abattage B. Les clusters II et VII sont retrouvés uniquement au niveau de l'unité d'abattage C. Le cluster I, est retrouvé uniquement au niveau de l'unité d'abattage A. Les clusters communs au trois unités sont les clusters IV et V.

II.7.5.1. Répartition et prévalence des profils génétique dans l'unité d'abattage A.

Dans l'unité A, sur les 8 souches de *Listeria* isolées, nous identifions trois profils de restriction différent à des taux assez variables (Figure N°16).

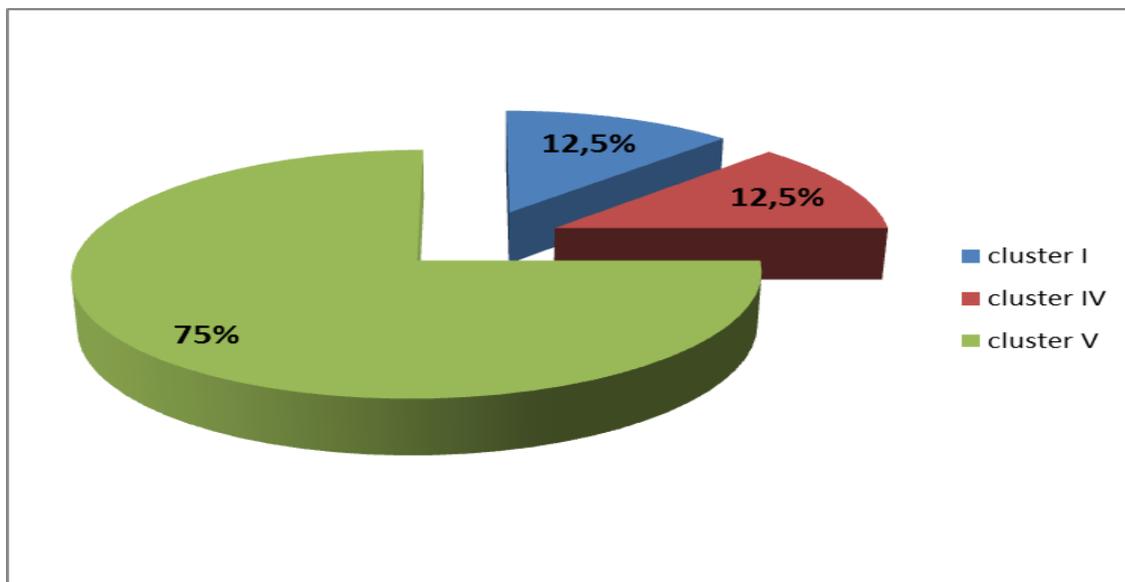


Figure N°16 : Taux d'apparition des trois profils génétique identifiés dans l'unité A.

La figure N°16, montre que seuls trois profils sont identifiés dans l'unité A, les taux de répartition de ces profils sont assez hétérogènes, ainsi la majorité des souches (75%) appartiennent au profil V, 12,5% au profil IV et 12,5% au profil particulier à cette unité qui est le profil I.

II.7.5.2. Répartition et prévalence des profils génétiques dans l'unité d'abattage B.

Dans l'unité B, certains clusters sont communs à toutes les unités (IV et V) et d'autres lui sont particuliers III et VI. Les prévalences de ces différents profils sont exprimées dans la figure N°17.

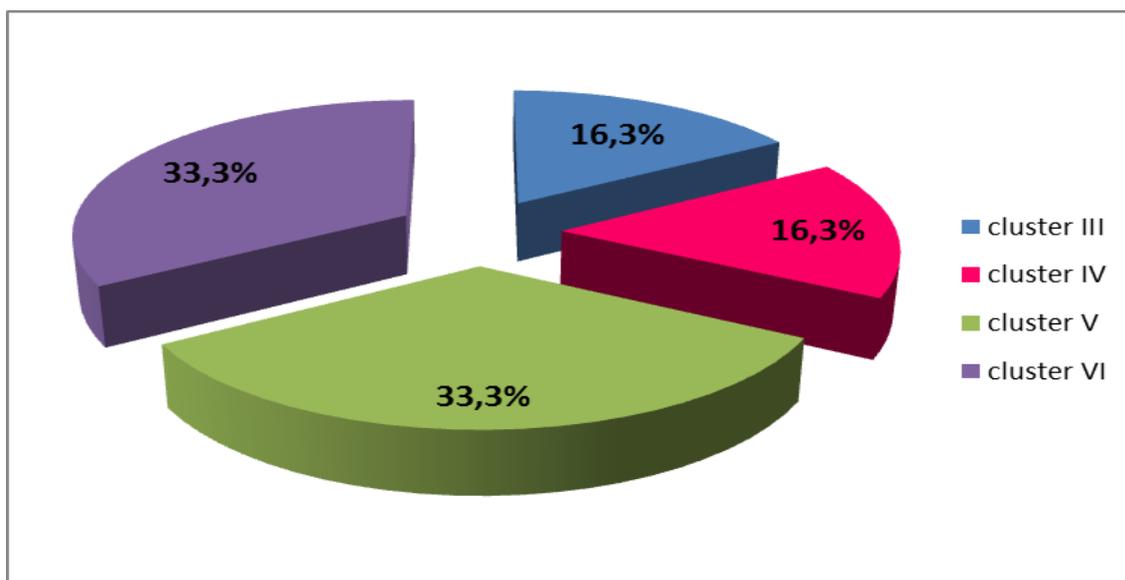


Figure N° 17: Taux d'apparition des quatre profils génétique identifiés dans l'unité B.

La figure N° 17 montre que dans l'unité B, les profils identifiés sont hétérogènes, deux profils particuliers à cette unité, il s'agit des profils III et VI, qui sont identifiés à des taux de 16,3% et 33,3% respectivement, le reste des souches ont des profils qui sont déjà retrouvés dans les autres unités, 33,3% parmi elles appartiennent au profil V et VI.

II.7.5.3. Répartition et prévalence des profils génétique dans l'unité d'abattage C.

Le plus grand nombre de souches est isolé dans l'unité C, les profils génétiques de ces souches est variable, quatre profils différents sont identifiés : le IV et le V, présents dans les autres unités sont représenté par 61,5% et 7,7% des souches, respectivement. Les profils particuliers II et VII ont des prévalences de 7,7% et 23% respectivement (Figure N°18).

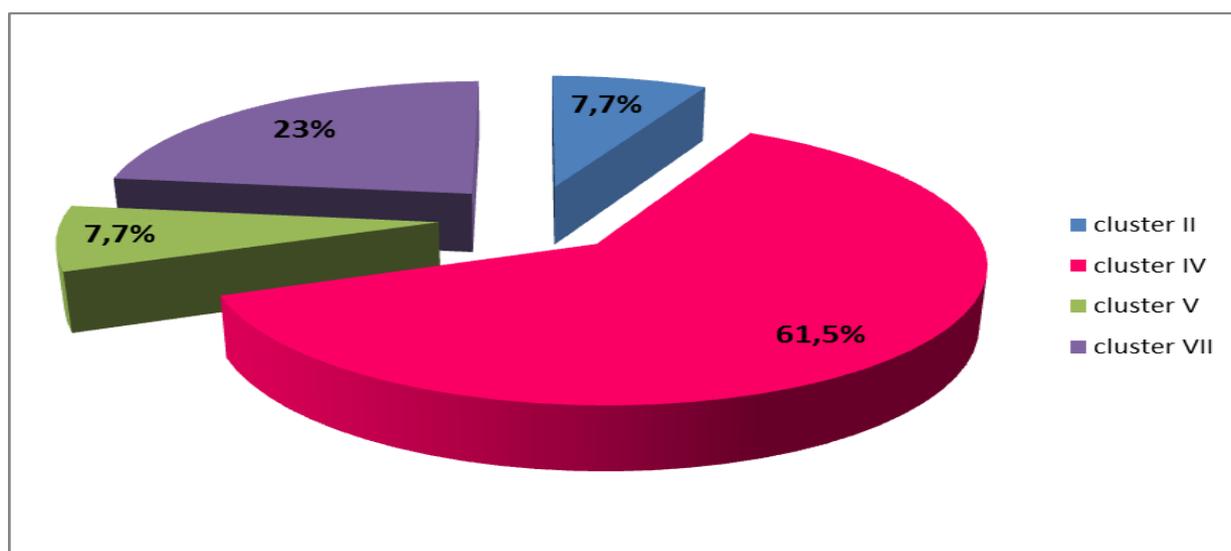


Figure N°18. Prévalence des profils génétique dans l'unité d'abattage C

II.7.6. Répartition géographique des profils génétiques.

La répartition des différents profils génétiques obtenus selon les régions d'origine des volailles vivantes, est rapportée dans le tableau n°36.

Tableau n° 36: Répartition géographique des profils génétiques.

Région	Cluster I	Cluster II	Cluster III	Cluster IV	Cluster V	Cluster VI	Cluster VII
Bejaia	+	-	-	+	+	-	-
Tizi-Ouzou	-	+	-	+	-	+	+
Sétif	-	-	+	-	-	-	-
Bouira	-	-	-	-	+	-	+
Batna	-	-	-	+	+	-	-

Le tableau n° 36 montre que la wilaya de Tizi-Ouzou enregistre une diversité génétique assez importante ; quatre sur sept des profils génétiques identifiés sont retrouvés dans cette région. Les wilayas de Bejaia, Bouira et Batna enregistrent deux profils chacune.

Sétif est la seule région où nous enregistrons qu'un seul profil génétique, ce dernier est unique et n'est pas retrouvé dans les autres localités. Bejaia et Tizi-Ouzou enregistrent également des profils uniques qui n'ont pas été retrouvés ailleurs.

Nous avons combiné entre les données sur la distribution des profils génétique selon l'unité d'abattage où sont isolées les souches de *Listeria* et selon les régions géographiques d'où provenaient les volailles vivantes. Nous observons que certains profils sont rares et particuliers aux unités d'abattage où ils sont identifiés, c'est le cas des :

- Profil I : Profil particulier à l'unité A. cette unité enregistre d'autres profils différents du profil I et la région d'où proviennent les volailles vivantes en l'occurrence Bejaia enregistre des profils génétiques diversifiés.
- Profil II : Profil particulier à l'unité C, la volaille vivante provient de Tizi-Ouzou, l'unité enregistre d'autres profils génétiques et la région aussi.
- Profil VII : Profil particulier à l'unité C, la volaille vivante provient cette fois de deux régions différentes ; Tizi-Ouzou et Bouira.

DISCUSSION

III.1. Prévalence globale des *Listeria* dans la volaille fraîche et dans les produits carnés à base de volaille dans la wilaya d'Alger.

Les valeurs de contamination par *Listeria spp* et *L. monocytogenes* que nous enregistrons dans le poulet frais (46,6% et 8,9% respectivement) s'avèrent supérieures à celles enregistrées par certains auteurs (Mahmood et al., 2003 ; Kozačinski et al., 2006 ; Cohen et al., 2007 ; Ennaji et al., 2008), elles sont par contre nettement inférieures à celles rapportées dans de nombreuses études menées dans de nombreux pays sur un intervalle de temps assez long. La contamination des viandes de poulet par *Listeria* est bien documentée dans de nombreux pays, les prévalences enregistrées varient d'un pays à un autre et d'une année à une autre.

Ainsi, au Royaume Uni, Pini et Gilbert (1988) enregistrent un taux de contamination par *L. monocytogenes* de 60% dans le poulet frais, aux USA ce taux est de 23% (Bailey et al., 1989).

Wong et al. (1990) à Taiwan, rapportent que 50% des carcasses de poulets sont contaminées, alors que Farber et al. (1989) au Canada, rapportent que 56,3% des échantillons de viandes de volailles sont contaminés par *Listeria*.

En Irlande du Nord, Lawrence et Gilmour (1994) enregistrent une prévalence de contamination dans du poulet frais prélevé dans des unités de transformation de 91%, 59% et 33% pour *Listeria spp*, *L. monocytogenes* et les autres espèces de *Listeria*, respectivement.

En Norvège, en 1991 Rørvik et Yndestad enregistrent un taux de contamination de 61%, ces mêmes auteurs ont rapporté en 2003, un taux de contamination de 41% et 50% par *Listeria spp* et *L. monocytogenes* respectivement.

Dans d'autres études, il est rapporté que les taux de contamination de la volaille fraîche par *L. monocytogenes* atteignaient les 45%, 84% et 96% (Franco et al., 1995 ; Uyttendale et al., 1999).

Jay (1996) aux Etats Unis d'Amérique, rapporte que 17% des viandes fraîches de poulet sont contaminées par *L. monocytogenes*.

En Espagne la contamination a atteint les 64% selon Franco et al. (1995) ; alors que Capita et al. (2001) enregistrent des taux de contamination de 95%, 32%, 66%, 7%, 4% et 2% pour *Listeria spp*, *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. grayi* et *L. ivanovii* respectivement, les échantillons de carcasses de volaille sont prélevés dans le commerce du détail.

Soultos et al. (2003) en Irlande du Nord, rapportent que 48% des viandes de poulet vendus au détail sont contaminées par *Listeria spp*. dont 18% par *L. monocytogenes*.

Au Pakistan, Mahmood et al. (2003) rapportent que 12,5% des viandes de poulet vendu au détail sont contaminés par *Listeria spp*. dont 5% par *L. monocytogenes*.

Teixeira et al. (2004) au Portugal, rapportent un taux de contamination par *Listeria spp* de 60% dans du poulet frais (cuisse).

Hilbert et al. (2004) en Autriche, rapportent des taux de contamination par *L. monocytogenes* de 26% et de 14% dans de la viande de poulet et de dinde respectivement.

Van Nierop et al.(2005) dans une étude menée sur des carcasses de volailles prélevées dans le commerce de détail en Afrique du Sud, enregistrent une prévalence globale pour *L. monocytogenes* de 19,2 % (dans 99 carcasses de poulet frais et poulet congelé), en utilisant une méthode de culture conventionnelle. En utilisant la PCR pour détecter les *Listeria* dans ces carcasses, la prévalence globale a fortement augmenté de 19,2 à 60,6%.

Yucel et al. (2005) enregistrent des taux de contamination de 69%, 11,5% et 57,6% par *Listeria spp*, *L. monocytogenes* et *L. innocua* respectivement dans du poulet prélevé dans le marché de détail en Turquie.

Kozačinski et al. (2006) rapportent des taux de contamination par *L. monocytogenes* de 3,03% dans de la viande de poulets prélevée sur le marché en Croatie.

Cohen et al. (2007) au Maroc rapportent un taux de contamination de 0,5% dans le poulet prélevé dans le commerce de détail.

Lihan (2007) rapporte un taux de contamination de 34,8% et de 24,1% par *Listeria spp.* et *L. monocytogenes* respectivement dans de la viande de volaille en Malaisie.

Jalali et Abedi (2008) en Iran rapportent que sur 66 carcasses de poulet prélevées dans le commerce du détail, seule *L. innocua* est isolée à une prévalence de 4,5%.

Ennaji et al.(2008) au Maroc enregistrent une contamination de 20, 3%, 1,3%, 16,2% et 2,7% de *Listeria spp*, *L. monocytogenes*, *L. innocua* et *L. welshimeri* respectivement sur du poulet frais prélevé au détail.

En Chine, Shi et al. (2010) isolent *L. monocytogenes* à partir de 8,94% des échantillons de poulet frais collectés auprès des commerces de détail.

Kalender (2012) en Turquie, enregistre dans du poulet vendu au détail, un taux de contamination de 65,5%, 17,8%, 36,7%, 5,5%, 4,4% et 1,1% par *Listeria spp*, *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seligeeri* et *L. grayi* respectivement.

En Iran, Fallah et al. (2012) rapportent des taux de contamination par *L. monocytogenes* de 14,1% et 12,2% dans du poulet frais et poulet prêt à cuire respectivement, prélevés dans le marché de détail en Iran, le taux de contamination sur l'ensemble des produits testés, y compris les RTE atteint 38,8% pour *L. monocytogenes* et 46,3% pour *L. innocua*.

Comme le montrent toutes ces études, la contamination par *Listeria spp.* est très variable, elle peut fluctuer de 48% à 95% (Soultois et al., 2003 ; Capita et al., 2001), celle de *L. monocytogenes* peut osciller entre 0% et 96% (Jalali et Abedi, 2008 ; Cohen et al., 2007 ; Franco et al., 1995 ; Uyttendale et al., 1999).

Toutes ces études montrent que les valeurs de prévalence des *Listeria* et en particulier *L. monocytogenes* dans la volaille fraîche sont très variables d'un pays à un autre. Différents facteurs développés ci-dessous peuvent influencer sur ces valeurs.

En premier lieu, la technique d'isolement utilisée (culture ou test rapide), ceci est rapporté par l'étude de Van Nierop et al. (2005), où la prévalence de *L. monocytogenes* est passée de 19,2% lors de l'utilisation d'une méthode bactériologique classique, à 60,6% lors de l'utilisation de la PCR, cette dernière étant plus sensible, peut détecter aussi bien les formes viables que les formes non viables des germes.

Le type de tissu prélevé sur la carcasse pour analyse peut également avoir une influence sur ces valeurs; ainsi, Bailey et al. (1989) enregistrent une prévalence de 37% dans des échantillons de peau de poulet de chair, alors que Genegeorgis et al. (1989, 1990) rapportent des taux de 42,5% et 54% dans des échantillons de peau des ailes et de peau des cuisses respectivement.

L'endroit où est prélevé l'échantillon influence aussi ces valeurs. Ainsi les valeurs diffèrent en fonction du lieu de prélèvement (abattoirs, commerce du détail, grandes surfaces et petites échoppes) tel que rapporté par différents auteurs (Farber et Peterkin, 1991 ; Miettinen et al., 2001 ; Cohen et al., 2007).

Góskoy et al. (2004) notent que les conditions de transport et d'abattage des volailles telles que le respect de la diète hydrique avant abattage et les différentes étapes de transformation, contribuent à minimiser le passage des germes du tractus intestinal vers les carcasses lors de l'éviscération.

Des études antérieures (Petran et Swanson, 1993; Curiale et Lewus, 1994 ; Capita et al., 2001) ont démontré que la prévalence de *L. monocytogenes* est généralement beaucoup plus élevée que celle détectée. La méthode de culture utilisée pour isoler ce pathogène ne permet pas en fait de le détecter d'une manière efficace, les milieux d'enrichissement utilisés (Fraser) ne permettent pas la croissance de *L. monocytogenes* en présence de *L. innocua*, cette dernière a une croissance plus rapide que les autres espèces et va ainsi les masquer (Curiale et Lewus, 1994). Genigeorgis et al. (1989) affirment que la présence de *L. innocua* est souvent de deux à trois fois plus élevée que celle de *L. monocytogenes*.

Toutes ces observations laissent penser que les taux de contamination que nous rapportons sont en fait très inférieurs aux taux de contamination réels, d'autant plus que nous enregistrons une prévalence de *L. innocua* trois fois supérieure à celle de *L. monocytogenes*.

III.2.Dénombrement des *Listeria* dans les volailles fraîches et produits carnés à base de volaille dans la wilaya d'Alger.

Le dénombrement des *Listeria* dans les carcasses de volailles fraîches issues des abattoirs et des produits carnés à base de viandes de volailles par la méthode utilisée révèle que 100 % des échantillons sont négatifs. Cependant, après enrichissement des suspensions mères par des additifs permettant aux *Listeria* stressées ou endommagées d'être revivifiées, 33% des 310 échantillons présentent une contamination à *Listeria*. Ce résultat suggère que la

contamination initiale est infime et indétectable avant enrichissement, le fait de rajouter à la suspension mère des suppléments sélectifs favorables à la croissance des *Listeria* a permis aux quelques germes présents lors de la contamination initiale, de croître et d'augmenter en nombre, mais de rester toujours à des valeurs inférieures à 100 UFC/g.

Si nous prenons en considération les valeurs seuil du rapport du Codex Alimentarius de 1992 (ALINORM 09/32/13) qui considère que ce niveau est sans danger pour le consommateur, nous pouvons dire que les produits testés sont sans danger particulier.

Mais en prenant en considération les nouvelles définitions des relations dose-infection actuellement utilisées dans le domaine de la microbiologie alimentaire, qui ne sont plus définies selon l'effet seuil mais selon l'hypothèse que chaque cellule bactérienne a la même probabilité de provoquer l'infection chez un consommateur, où la DMI est remplacée, par un autre critère « la DIn » qui définit la dose nécessaire pour créer une infection chez n% des personnes exposées ayant consommé l'aliment dans des circonstances déterminées (Gale, 2003) et en prenant en considération l'hypothèse selon laquelle l'infection peut survenir après ingestion répétée de plusieurs doses faibles par la consommation d'aliments faiblement contaminés (ex: beurre, pâté, etc.) sur une période de quelques jours dans une situation domestique (Lyytikainen et al., 2001), nous pouvons estimer que ces niveaux de contamination peuvent constituer un risque pour le consommateur.

les pratiques alimentaires des consommateurs peuvent faire que ce niveau de contamination augmente jusqu'à devenir dangereux : (i) si les viandes de volailles sont conservées pendant plusieurs jours dans le réfrigérateur à des températures allant de 0°C à 4°C, le nombre des *Listeria* peut augmenter au vu de leur caractère psychrotrophe et peuvent ainsi arriver à un nombre qui s'avèrera dangereux (Lund, 2000 ; Van Nierop et al., 2005), (ii) ces viandes peuvent également contaminer les autres aliments qui se trouvent dans le réfrigérateur, en particulier les aliments prêts à consommer (RTE) via une contamination croisée, ces derniers ne subissent pas un traitement listéricide particulier ils ne sont que réchauffés, leur consommation peut provoquer une infection à *Listeria* chez les personnes à risque (Almeida et al., 2005a).

III.3.Prévalence des *Listeria* dans les abattoirs et répartition géographique des volailles contaminées.

L'étude menée dans les trois abattoirs avicoles montre que les prévalences de *Listeria spp* sont similaires dans les unités B et C (48%), celle enregistrée dans l'unité A (42%) est légèrement inférieure, malgré des rythmes d'abattage et des sources d'approvisionnement très différentes.

Dans les trois unités, les taux de contamination à *Listeria* à l'étape post-éviscération sont faibles par rapport à ceux enregistrés à l'étape pos-réfrigération, 7,7/77%, 22/72,5% et 40/57,5% respectivement dans les unités A, B et C. Ces résultats confirment bien le caractère psychrotrophe de *Listeria* qui sont indétectables à l'étape éviscération ; mais après 24h dans une chambre froide à 0°C, la croissance des *Listeria* est évidente, et devient détectable après enrichissement.

Les schémas de contamination sont très proches dans les unités A et B, où l'on observe que la contamination à l'étape post-éviscération est assez faible par rapport à celle notée lors de l'étape post-finition/réfrigération ; *L. monocytogenes* n'est isolée que dans l'étape post-finition/ réfrigération, et seules trois espèces de *Listeria* sont identifiées (*monocytogenes*, *innocua* et *grayi*).

Dans l'unité C, la contamination à l'étape post-éviscération est similaire et tout aussi élevée que celle de l'étape post-finition/ réfrigération. *L. monocytogenes* est isolée aussi bien dans l'étape post-éviscération que dans l'étape post-finition/réfrigération, une autre espèce (*L. welshimeri*) autre que les trois suscitées est aussi isolée.

L. innocua reste l'espèce la plus communément retrouvée dans les trois unités.

Les études antérieures effectuées sur les *Listeria* dans des abattoirs avicoles montrent des résultats très différents en fonction des objectifs visés ; certaines s'intéressent à l'évolution de la contamination le long de la chaîne d'abattage, d'autres à la recherche des *Listeria* dans l'environnement des abattoirs et non dans les carcasses (écologie microbienne), et d'autres à la recherche de souches résidentes.

Ainsi, Bailey et al. (1989) rapportent un taux de contamination par *Listeria spp.* dans des carcasses de poulet de chair issus de trois abattoirs de 37% et un taux de contamination par *L. monocytogenes* de 23%.

Genigeorgis et al. (1989) rapportent un taux de contamination par *L. monocytogenes* dans la peau des cuisses et des ailes de poulet en fin de ligne de production dans les abattoirs de 36,7% et 70% respectivement, ces taux augmentent à 52 % et 72% après un stockage au froid à 4°C pendant 4 jours confirmant aussi le caractère psychrotrophe de la bactérie.

Berrang et al. (2000) observent que le taux de contamination par *Listeria spp.* augmente après l'éviscération, ce qui suggère que la contamination des carcasses s'effectue pendant le processus de fabrication, notamment pendant et après les étapes éviscération / finition. Ces résultats sont confortés par les observations d'Ojeniye et al. (1996) et de Rørvik et al. (2003).

Chasseignaux et al. (2001) dans une étude menée dans un abattoir avicole enregistrent un taux de contamination par *L. monocytogenes* de 16% sur les carcasses de poulet, alors que sur les autres produits découpés, le taux atteint les 35%.

Whyte et al. (2004) rapportent dans une étude menée sur des carcasses dans des abattoirs des prévalences de 86%, 6%, 6% et 2% pour *L. innocua*, *L. monocytogenes*, *L. grayi* et *L. seeligeri* respectivement, comme dans toutes les études menées sur les *Listeria* dans les poulets, *L. innocua* reste l'espèce la plus communément isolée. Dans cette étude, les prévalences des *Listeria* varient selon le lieu de prélèvement le long de la chaîne d'abattage et également selon l'heure du prélèvement, ainsi les prévalences les plus élevées sont enregistrées à la fin du refroidissement, elles atteignent les 72% (AM) et 100% (PM). Les prévalences des *Listeria* après plumaison et lavage atteignent les 40% (AM) et 20% (PM).

Almeida et al. (2005a) rapportent un taux de contamination de 40%, 20% et 10% par *L. monocytogenes*, *L. innocua* et *L. grayi* respectivement, sur des blancs de poulet prélevés dans un abattoir.

Almeida et al. (2005b) isolent *L. innocua*, *L. monocytogenes* et *L. grayi* à partir de 90,3%, 9,7% et 6,8% respectivement de leurs échantillons. Dans cette même étude, il est constaté que *L. innocua* est isolée à toutes les étapes de l'abattage et que *L. monocytogenes* n'est isolée qu'à la fin du processus de l'abattage après l'étape de refroidissement. Dans cette même étude la contamination par *Listeria* spp. passe de 33,3% à l'étape post-éviscération à 76,2% à l'étape post finition/ réfrigération avant emballage.

Dans une étude menée par Lopez et al. (2008) dans cinq abattoirs de volaille en Espagne, il est enregistré une contamination des carcasses de poulet par *L. monocytogenes* de l'ordre de 38%, il est noté également que les prévalences de contamination passent de 0% sur des carcasses prélevées avant l'éviscération à 60% sur des carcasses prélevées après éviscération et refroidissement.

Chiarini et al. (2009) enregistrent une prévalence de contamination par *L. monocytogenes* de 14,4% sur des carcasses prélevées dans un abattoir qui pratique une éviscération automatique contre 19,4% sur des carcasses prélevées dans un abattoir qui pratique une éviscération manuelle confirmant que les fortes manipulations manuelles augmentaient la dissémination des *Listeria*. Dans cette étude la contamination est plus importante après l'étape de refroidissement.

Sjöman (2010) enregistre un taux total de contamination par *L. monocytogenes* de 62%, repartit différemment dans les trois abattoirs avicoles sujets de l'étude, ainsi les taux de 56%, 78% et 31% sont enregistrés respectivement dans les abattoirs X, Y et Z

Svobodová et al. (2012) enregistrent une prévalence de contamination de 7,5%, de *Listeria* spp. 75% sont des *L. welshimeri* et 25% des *L. innocua*, *L. monocytogenes* n'est pas isolée dans cette étude.

Les prévalences de *Listeria* spp. enregistrées dans ces études sont nettement supérieures à celles que nous enregistrons dans chaque abattoir individuellement, mais les prévalences (20/26+ 29/40+23/40 enregistrées dans les unités A, B et C, respectivement) nous donne une contamination globale de 72% à la fin du processus de fabrication et ce résultat s'accorde avec la plupart des études suscitées. La contamination par *L. monocytogenes* est par contre très variable, elle varie de 0% (Svobodová et al., 2012) se rapproche des 8,9% que nous enregistrons (Whyte et al., 2004 ; Almeida et al., 2005b) et atteint des valeurs nettement supérieures aux nôtres (Sjöman, 2010 ; Genigeorgis et al., 1989).

L. monocytogenes n'est détectée dans les unités A et B, qu'après l'étape de finition et stockage au froid, un résultat similaire est rapporté par Almeida et al. (2005b). Dans l'unité C la contamination par *L. monocytogenes* est détectée aussi à l'étape post-éviscération contrairement aux deux unités A et B, cette observation est en accord avec les travaux de Lopez et al. (2008).

Toutes ces études suggèrent que la contamination des carcasses entières ou des autres produits de découpe de poulet dans les abattoirs survient pendant les étapes de transformation, en particulier après l'étape de l'éviscération, elle augmente le long de la ligne d'abattage et atteint des niveaux très importants à la fin de cette ligne à l'étape « finition et refroidissement ». Les prélèvements de carcasses effectués à l'entrée de l'abattoir, juste après la saignée et l'échaudage sont contaminés par *Listeria* mais à des taux assez faibles par rapport à ceux enregistrés après éviscération, finition et stockage au froid (Skovgaard et Morgen , 1988 ; Genigeorgis et *al.*, 1989 ; Berrang et *al.*, 2000 ; Whyte et *al.*,2004 ; Almeida et *al.*,2005b ; Lopez et *al.*, en 2008 ; Chiarini et *al.*, 2009).

Les études ayant concerné la recherche des sources de contamination démontrent que le contenu caecal n'est pas la seule source de contamination des carcasses. Rørvik et *al.* dans leur étude en 2003, observent que la prévalence de contamination par *L. monocytogenes* du contenu caecal du poulet de chair est assez faible par rapport à celle enregistrée sur les carcasses qui leurs correspondent, cette constatation conforte les études antérieures, notamment celle de Cox et *al.* (1997) et supposent que la contamination vient essentiellement de l'environnement de l'unité d'abattage comme rapporté par Miettinen et *al.* (2001) et Ojeniyi et *al.* (1996).

La contamination des carcasses proviendrait au cours du processus d'abattage via les machines, couteaux et autres ustensiles de l'abattoir qui seraient mal désinfectés (Ojeniyi et *al.*, 1996). Dans l'étude de Cox et *al.* (1997) la contamination passe de 0% à 15% sur des échantillons prélevés juste après saignée et à la fin du processus après refroidissement respectivement. Dans l'étude de Lopez et *al.* (2008) les prélèvements environnementaux et de surfaces de contact dans les abattoirs indiquent que sur toute la ligne d'abattage, c'est dans la zone d'éviscération que la contamination est la plus élevée, ce qui suggère que l'environnement et les surfaces de contact constituent la source majeure de contamination des carcasses.

Dans une étude menée en Thaïlande par Kanarat et *al.* (2010) sur des poussins dans les couvoirs et des poulets de chair prélevés dans des fermes montre que ces échantillons ne présentent aucune contamination par *Listeria spp.* alors que les carcasses prélevées dans les abattoirs et les produits carnés prêts à consommer (RTE) à base de volaille sont contaminés par *L. monocytogenes* à des prévalences de 2,5% et 0,2% respectivement. Ceci confirme que la contamination survient pendant l'opération d'abattage et lors des autres étapes de transformations.

Nous avons constaté le long de l'étude effectuée au niveau des abattoirs que la contamination des carcasses par *Listeria* est faible. Les dénombrements s'avèrent négatifs sur 100% des échantillons analysés, alors qu'après un enrichissement sélectif des bouillons de culture, 47% de ces échantillons montrent une contamination positive à tous les genres de *Listeria spp.* Cette contamination est surtout détectée après stockage au froid des carcasses (20/26+ 29/40+23/40 dans les unités A, B et C, respectivement). Les carcasses sortent de l'abattoir, contaminées à des niveaux inférieurs à 100UFC/g, mais si elles sont stockées plusieurs jours

chez le détaillant ou encore chez le consommateur, la croissance bactérienne continue et peut atteindre des niveaux qui peuvent représenter un danger pour le consommateur. Ce danger sur la santé est indirect ; dans le réfrigérateur du consommateur, le risque de contamination croisée avec les RTE qui s'y trouvent est important (Almeida et al., 2005a). Si ces viandes ne sont pas cuites correctement, les *Listeria* peuvent survivre. Carpenter et Harrison (1989) démontrent que les *L. monocytogenes* peuvent survivre dans des viandes de volailles à un traitement thermique de 65,5°C et afficher une croissance significative après stockage au froid pendant 4 semaines.

L'approvisionnement des abattoirs en volaille se fait via plusieurs élevages avicoles, répartis entre le centre et l'Est algérien. Les prévalences de contamination par *Listeria spp* et *L. monocytogenes* en particulier varient d'une région à une autre ou d'un pays à un autre, ceci suggère que ces bactéries ont une croissance préférentielle dans certains endroits qui pourrait être due à la différence des environnements des unités de transformation, de l'activité humaine, du management des fermes d'élevage de volailles ou de bétail, des pratiques agricoles, du type d'aliment prélevé, de la méthode d'échantillonnage, de la saison ou encore de la méthode d'isolement utilisée (Hansen et al., 2006).

III.4. Prévalence et dénombrement des *Listeria* dans les produits carnés à base de viandes de volailles commercialisés dans les grandes surfaces à Alger.

La recherche et le dénombrement des *Listeria* dans cette catégorie d'aliment montrent que la contamination par *L. monocytogenes* est négative. D'autres espèces, comme *L. innocua* et *L. seeligeri* sont isolées à des prévalences très faibles ; 3,1% et 1% respectivement. Ces *Listeria* n'ont pu être isolées qu'après enrichissement sélectifs des suspensions mères, ce qui suggère que leur nombre est <100UFC /g d'aliment. Dans une étude antérieure menée en 2012, sur des produits carnés à base de volaille et de viandes rouges, nous rapportons la même prévalence de contamination négative pour *L. monocytogenes* (0%) et une prévalence de contamination de 8,7% pour *L. ivanovii* (Bouayad et Hamdi, 2012). La présence des *Listeria* autres que l'espèce *monocytogenes* dans un produit ne le rend pas systématiquement propre à la consommation, car la présence d'une quelconque *Listeria spp* mène à la conclusion que *L. monocytogenes* pourrait être présente (Waldroup, 1996).

De nombreuses enquêtes sont conduites pour rechercher les *Listeria* dans les RTE particulièrement dans les produits carnés dans de nombreux pays. Ces produits sont souvent incriminés dans des cas de listériose. La notion du produit carné RTE varie d'un pays à l'autre, selon leur composition (poulet, dinde, bœuf, porc ou mélange de toutes ces viandes) et selon les processus de fabrication (traitement thermique, séchage, fermentation, fumage, etc.....). Tous ces facteurs contribuent à la fluctuation des taux de contaminations observés par les différents auteurs.

Dans une étude menée sur divers produits carnés prédécoupés à base poulet, Velani et Gilbert (1990) enregistrent des prévalences globales de 1,1% et 2,1% pour *L. monocytogenes* et *Listeria spp* respectivement, dans le luncheon meat, les prévalences rapportées sont de 0% pour *L. monocytogenes* et 5% et *Listeria spp*.

Gilbert et *al.* (1993) dans une étude menée sur du pâté fabriqué à base de différents types de viandes, enregistrent une prévalence de contamination par *L. monocytogenes* de 10% en 1989 et de 4% en 1990. Dans cette même étude, ils constatent que les pâtés vendus prédécoupés en vrac (à la demande) sont plus contaminés que ceux qui sont vendus déjà prédécoupés et emballés.

Farber et Daley (1994) au Canada enregistrent des prévalences de 7%, 12%, 1% et 1% pour *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri* et *L. ivanovii* respectivement, dans du pâté prédécoupé. Tous les échantillons positifs contiennent moins de 10 UFC/g de *Listeria*.

Dans une étude menée aux USA par Lawrence et Gilmour (1994), les prévalences de contaminations enregistrées dans du poulet cuit sont de 8%, 0% et 8% pour *Listeria spp*, *L. monocytogenes* et les autres espèces de *Listeria* respectivement. Cette contamination n'excède pas les 100UFC/g.

Wang et Muriana (1994) rapportent des prévalences de contamination dans de la Saucisse de Frankfurt, de 10%, 7,5% et 2,5% par *Listeria spp*, *L. monocytogenes* et *L. innocua*, respectivement.

Dans une étude de Rijpens et *al.* (1997), les prévalences de *Listeria spp* et *L. monocytogenes* enregistrées dans des produits carnés prédécoupés à base de viande de poulet sont de 42% et 23% respectivement, alors que dans les produits carnés à base de dinde, les prévalences ont des valeurs de 26% pour *Listeria spp* et 5% pour *L. monocytogenes*. Dans cette même étude la contamination par *Listeria spp* passe de 11% dans les produits carnés emballés à 41,7% une fois déemballés d'où l'importance de la contamination croisée via l'environnement des lieux de vente.

Nichols et *al.* (1998) rapportent une prévalence de 3% sur 528 échantillons de pâté à base de poulet, les niveaux de contamination vont de moins 200UFC /g d'aliment à 10⁵ UFC/g. Dans cette même enquête il est rapporté que les taux de contamination des produits carnés dans les grandes surfaces sont faibles par rapport à ceux enregistrés dans les petites échoppes, ceci serait dû à la maîtrise des températures de conservation ou à la faible compétitivité des *Listeria* vis-à-vis des autres germes. Dans l'étude de Wong et *al.*(2005) le même constat est fait sur des échantillons de pâté où le taux de contamination par *L. monocytogenes* ne dépasse pas les 0,3%, ces échantillons présentaient une contamination par des moisissures, confirmant ainsi l'inhibition de la croissance des *Listeria* par compétitivité des autres genres bactériens.

Luchansky et *al.*(2003) dans une étude menée sur la saucisse de Frankfurt à base de dinde rapporte que les prévalences de *L. monocytogenes* varient de 0,07% à 16% selon l'unité de transformation où les échantillons sont prélevés.

Teixeira et *al.* (2004) au Portugal rapportent une prévalence de *L. monocytogenes* de 3% sur 132 échantillons de produits carnés locaux.

Wong et *al.* (2005) dans une étude menée sur du pâté, enregistrent une contamination par *L. monocytogenes* de 0,3%.

Dans l'étude de Yucel et al. (2005) menée sur de la viande de volaille RTE, il est enregistré une prévalence de contamination de 17,8%, 3,5%, 10,7% et 3,5% pour *Listeria spp*, *L. monocytogenes*, *L. innocua* et *L. grayi* respectivement.

Gibbons et al. (2006) au Trinidad, rapportent que les niveaux de contamination par *Listeria spp* dans le Chicken jumbo, Chicken Frank (RTE à base de volaille locaux) et le jambon de dinde sont inférieurs à 100UFC/g.

Siriken et al. (2006) en Turquie sur des saucisses locales prêtes à consommer (Soudjouk) enregistrent des taux de 9%, 7% et 1% de contamination par *Listeria spp*, *L. monocytogenes*, *L. innocua* et *L. ivanovii*, respectivement.

Doyle et al. (2006) rapportent que dans les surfaces commerciales, *L. monocytogenes* est transféré aux RTE prédécoupés, via les scies et les couteaux utilisés pour la découpe.

La prévalence de *L. monocytogenes* dans différents types de saucisses varie de 0% à 21% dans de nombreux pays à travers le monde (Siriken et al., 2006) .

Trajkovic-Pavlovic et al. (2007) enregistrent un taux de contamination par *L. monocytogenes* de 0%.

Uyttendaele et al. (2009) enregistrent une prévalence de contamination par *L. monocytogenes* dans les produits carnés prédécoupés de 1,1% et les niveaux de contamination n'excèdent pas les 100 UFC/g de produits.

Gormley et al. (2010) dans une étude menée sur 2359 échantillons de produits carnés (RTE) à base de différents types de viandes, enregistrent une prévalence de contamination par *L. monocytogenes* de 0,04% avec des niveaux de contamination ≤ 100 UFC /g et une prévalence de 0,3% avec des niveaux de contamination >100 UFC/g.

Kovačević et al. (2012) enregistrent 0% de contamination par *L. monocytogenes* dans 40 échantillons de produits carnés RTE.

Toutes ces études montrent que les prévalences de contamination par *L. monocytogenes* des produits carnés RTE sont pour une grande majorité négatives (Velani et Gilbert ,1990 ; Lawrence et Gilmour , 1994 ; Trajkovic-Pavlovic et al., 2007 ; Kovačević et al., 2012). Les résultats que nous enregistrons au cours de notre étude corroborent ceux rapportés par ces auteurs. D'autres auteurs rapportent des cas de contamination par *L. monocytogenes* avec des prévalences qui varient entre 0,04% et 10% (Gilbert et al., 1993 ; Wong et al.,2005 ; Gormley et al., 2010), une valeur maximale de contamination de 23% est enregistrée par Rijpens et al.(1997).

La contamination par *Listeria spp* est très variable d'un auteur à un autre et d'un pays à un autre, elle varie de 2,1% à 42% comme le montrent les études citées précédemment, les valeurs de 4% et 3,1% que nous rapportons pour *Listeria spp* et *L. innocua* respectivement restent faibles et dans la moyenne de tout ce qui a été rapporté auparavant. Ces taux faibles pourraient être dus soit à la maîtrise des conditions d'hygiène et de température dans les

grandes surfaces échantillonnées, comme le signalent Nichols et *al.* (1998), soit à la faible compétitivité des *Listeria* vis-à-vis des autres contaminants en particulier aux moisissures comme le rapportent Wong et *al.* (2005).

Le niveau de contamination dans les échantillons positifs à *Listeria* reste faible et la majorité des auteurs notent un taux inférieur à 100UFC/g (Farber et Daley, 1994 ; Gibbons et *al.*, 2006 ; Uyttendaele et *al.*, 2009). Nos travaux confirment les résultats de ces auteurs, puisque nous rapportons le même niveau de contamination par les *Listeria* dans les produits carnés RTE commercialisés dans les grandes surfaces commerciales à Alger.

La contamination des produits carnés cuits pourrait avoir comme source, la matière première à partir desquelles ils sont fabriqués, surtout si cette matière première est fortement contaminée et que le processus de fabrication utilisé ne peut assurer la destruction totale de ce pathogène (Farber et Peterkin, 1991 ; Pierre et Veit, 1996). La contamination pourrait également survenir post-traitement listricide à l'occasion d'une cross-contamination entre les produits crus et cuits, d'autant plus que ces produits sont soumis généralement à des traitements thermiques supérieures à 82°C (Teixeira et *al.*, 2004 ; Lawrence et Gilmour, 1994 ; Bouayad et Hamdi, 2012). C'est cette contamination croisée qui est la plus probable, vu que tous ces produits subissent des traitements thermiques effectifs pour l'élimination des *Listeria* (Lawrence et Gilmour, 1994).

Certains auteurs notent que la contamination via l'environnement est plus fréquente que la contamination via la matière première (Rørvirk et *al.*, 1995 ; Berrang et *al.*, 2002). Dans les locaux où sont fabriqués où vendus les produits carnés RTE, les surfaces de contact auxquelles *Listeria* a une capacité d'attache très importante sont à l'origine de cette contamination croisée. Les bactéries attachées et fixées peuvent former des microcolonies dynamiques sur les surfaces d'attache, la croissance et la multiplication de ces bactéries permettent la formation d'une couche de biofilm multicellulaire à partir de laquelle les bactéries sont continuellement libérées dans l'environnement (Mosteller et Bishop, 1993 ; Whyte et *al.*, 2004).

Les scies de découpe constituent l'une des surfaces de contact les plus incriminées dans la contamination croisée, ce qui rend les produits prédécoupés encore plus contaminés que les produits qui ne le sont pas. Uyttendaele et *al.* (1999) rapportent que la contamination des produits carnés augmente de 1,56% avant tranchage à 6,65% après tranchage. Ces scies continuent à contaminer les produits découpés le long de la période de vente, surtout qu'elles ne sont nettoyées qu'une fois par jour à la fin du travail comme constaté lors de notre travail. Humphrey (1990) rapporte dans son étude que 31% des scies de découpe chez les détaillants sont contaminées par *Listeria spp*, dont 13% par *L. monocytogenes*. Les résultats de notre étude corroborent ceux de Gormley et *al.* (2010) et de Humphrey (1990) qui rapportent une contamination négative à *L. monocytogenes* dans les produits carnés RTE. Angelidis et Koutsoumanis (2006) notent que la manipulation et le pré-découpage des produits carnés RTE peuvent accroître le risque de contamination par *L. monocytogenes*.

La dangerosité des produits carnés RTE, réside dans le fait qu'ils ont une durée de conservation au froid assez longue, et qu'ils renferment toutes les conditions nécessaires pour

la croissance des *Listeria* (nutriments). Les *Listeria* vont croître tout le long de la durée de conservation et atteindre des niveaux supérieurs à 100UFC/g et peuvent ainsi, être à l'origine de cas de listériose humaine une fois ces produits consommés, c'est pour cela qu'ils sont classés dans la catégorie des produits à haut risque (Farber et Daley, 1994).

Les produits contaminés peuvent être sujet à des rappels de produits très importants et causer ainsi des pertes économiques considérables. Aux USA en 2012, 16 rappels de produit pour cause de contamination par *L. monocytogenes* concernent 219.924 kg de produits très variés, parmi eux 98.997,5 kg de produits carnés à base de poulet et autres viandes (FSIS, 2012).

III.5. Sensibilité des *Listeria* aux antibiotiques.

II.5.1. Discussion de la sensibilité aux antibiotiques de *L. monocytogenes*

L. monocytogenes est connue pour être sensible à un large éventail d'antibiotiques actifs sur les bactéries Gram positifs. La résistance aux antibiotiques des souches humaines de *L. monocytogenes* reste rare, la première multirésistance est décrite en 1988 par Poyart-Salmeron et al. (1990). Depuis, plusieurs publications signalent des cas de résistance à un ou plusieurs antibiotiques pouvant appartenir à de nombreuses classes de médicaments, comme les tétracyclines, macrolides, aminosides et triméthoprime (Join-Lambert et Kayal, 2006).

Bien que la résistance aux antibiotiques chez *L. monocytogenes* soit peu fréquente, il est démontré qu'elle est capable d'évoluer et de devenir multirésistante en raison d'une conjugaison avec *Enterococcus spp.* ou *Staphylococcus spp.* que ce soit dans les voies gastro-intestinales des animaux ou dans les usines de transformation alimentaire. Cette mutation serait due à l'acquisition de plasmides codant pour la résistance aux antimicrobiens (Charpentier et Courvalin, 1999 ; Navratilova et al., 2004).

On sait peu sur la résistance aux antibiotiques de *L. monocytogenes* issue d'isolats non humains (Granier et al., 2011) et c'est dans le but de contribuer à la connaissance de l'évolution de ce caractère au sein de ces souches que nous menons cette étude. Nous analysons la sensibilité des *L. monocytogenes* isolées aux antibiotiques et de quelques souches de *Listeria innocua* à titre comparatif.

Nos résultats confirment que *L. monocytogenes* d'origine alimentaire reste sensible à une large gamme d'antibiotiques, l'ensemble des souches testées montre une sensibilité significative vis-à-vis de tous les antibiotiques utilisés. La résistance naturelle de *Listeria monocytogenes* à la fosfomycine (Courvalin et Charpentier, 1999) est confirmée également (tableau N°25). Le même résultat est rapporté par Hilbert et al. (2004) qui n'enregistrent aucun cas de résistance chez des souches de *L. monocytogenes* d'origine alimentaire aux antibiotiques suivants : tétracycline, pénicilline, gentamicine, vancomycine, cotrimoxazole, érythromycine, chloramphénicol et streptomycine. D'autres auteurs rapportent également des taux de 100% de sensibilité à la majorité des antibiotiques utilisés en thérapie de choix ou de substitution en cas de listériose humaine (Korsak et al., 2012 ; Cosansu et al., 2012).

Listeria est connu pour sa résistance aux fluoroquinolones anciennes, tel l'acide nalidixique, mais la sensibilité aux nouvelles fluoroquinolones comme la lévofloxacine, ciprofloxacine, et moxifloxacine est confirmée (tableau N°25).

Bien que la sensibilité de *L. monocytogenes* aux antibiotiques soit confirmée, certaines études menées sur des souches alimentaires démontrent que ces dernières commencent à acquérir des résistances. Ainsi, Roberts et al. (1996) isolent une souche alimentaire résistante à l'érythromycine ; dans une étude menée sur 1001 souche de *Listeria* isolées des denrées alimentaires, la résistance acquise à au moins un antibiotique est retrouvée chez 0,6% des *L. monocytogenes* contre 19,5% chez *L. innocua* (Join-Lambert et Kayal, 2006). Meng et al. (2007) enregistrent pour la première fois des résistances au Cotrimoxazole ; Filiouis et al. (2009) rapportent que sur 210 isolats provenant de diverses denrées alimentaires, une seule souche, isolée à partir de viande de bœuf est résistante à la tétracycline.

Shi et al. (2010) rapportent aussi des résistances aux antibiotiques chez des souches de *L. monocytogenes* isolées d'aliments destinés à la consommation humaine. Aussi 17,8 % des souches sont résistantes à un seul antibiotique, 11% à deux, et 18,9% des isolats présentent une résistance à plus de deux antibiotiques. La résistance à la tétracycline qui est la plus communément rapportée sur des souches alimentaires est détectée sur 15,6% des souches, suivie de la résistance à la streptomycine (12,2%). Les résistances au cotrimoxazole sont enregistrées chez 5 souches, à la pénicilline chez une souche, à l'ampicilline chez 2 souches et à la gentamicine chez une seule souche.

Jia et al. (2011) rapportent que sur 80 isolats alimentaires, 16,8 % montrent une résistance à un antibiotique ou plus. La résistance à l'imipénème est la plus importante avec une prévalence de 12,5%.

Granier et al. (2011) confirment la sensibilité des *Listeria* d'origine alimentaire et environnementale à la majorité des antibiotiques utilisés dans le traitement de choix ou de substitution de la listériose, mais rapportent la résistance de deux souches à l'érythromycine, deux à la tétracycline, une de ces dernière est également résistante à la triméthoprim.

Korsak et al. (2012) enregistrent 100 % de sensibilité aux mêmes antibiotiques testés lors de notre étude : ampicilline, amoxicilline, gentamicine, érythromycine, triméthoprim, rifampicine, vancomycine, chloramphénicol et sulfaméthoxazole, sur des souches alimentaires de *L. monocytogenes*, corroborant ainsi avec nos résultats, mais parlent également de deux souches (0,42%) présentant une résistance aux antibiotiques, l'une à la tétracycline – minocycline et l'autre à la ciprofloxacine-norfloxacine.

Cosansu et al. (2012) rapportent une sensibilité de 100% des souches aux antibiotiques testés, exception faite pour la streptomycine où 7% des isolats sont résistants.

Fallah et al. (2012) rapportent des résistances assez élevées des souches de *L. monocytogenes* à l'ampicilline, pénicilline, fluoroquinolones et à la tétracycline.

Toutes ces études s'accordent à dire que *L. monocytogenes* d'origine alimentaire, à l'instar de celles isolées à partir de l'environnement ou de cas cliniques de listériose, reste sensible à

une large gamme d'antibiotique, mais commence à acquérir des résistances à un seul antibiotique ou plus, les taux de résistances restent faibles et varient entre 0,42% à 18,9% (Korsak et al., 2012 ; Shi et al., 2010).

Les résistances acquises ces dernières années concernent des antibiotiques auxquels *Listeria* est connue pour être sensible comme la pénicilline et l'ampicilline (Fallah et al., 2012) et également des antibiotiques auxquels aucune résistance n'est enregistrée auparavant comme c'est le cas de l'imipenème et le cotrimoxazole (Jia et al., 2011 ; Meng et al., 2007 ; Shi et al., 2010).

III.5.2. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des souches de *Listeria monocytogenes*.

Les résultats de l'étude des valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de 4 antibiotiques sur les *L. monocytogenes* (tableau N°26) montrent que toutes les souches testées sont sensibles aux quatre antibiotiques utilisés, les valeurs de CMI sont très variables mais restent toujours en dessous des valeurs critiques indiquées par le CLSI.

La sensibilité des souches à la pénicilline et à l'ampicilline est identique et les valeurs de CMI sont assez basses (figure N°12), la CMI minimale étant de 0,094mg/ml, ce qui indique leurs fortes activités contre *L. monocytogenes*. Dans l'étude de Moellering et al. (1972) la pénicilline est légèrement plus active que l'ampicilline, mais les valeurs de CMI de ces deux antibiotiques sont relativement basses pour toutes les souches testées, corroborant ainsi avec nos résultats. Chez Korsak et al. (2012) ce sont la rifampicine et la triméthoprimine qui montrent les CMI les plus faibles.

La sensibilité des souches au SXT est très prononcée, la valeur inhibitrice minimale est de 0,008 mg/ml et la valeur maximale de la CMI ne dépasse pas les 0,064mg/ml. Certaines souches sont plus sensibles à l'association triméthoprimine/ sulfaméthoxazole qu'à la triméthoprimine seule ; c'est le cas des souches LM 5, LM 16, LM 37, sachant que dans cette association, c'est la triméthoprimine qui semble être la plus active des deux molécules (Charpentier et Courvalin, 1999). Ceci confirme que l'association et l'action en synergie est plus active que si chaque antibiotique est utilisé seul. Dans une étude de Charpentier et Courvalin (1999) il est rapporté que certaines souches de *L. monocytogenes* sont sensibles à l'association Triméthoprimine/ sulfaméthoxazole, mais résistantes à la triméthoprimine seule.

L. monocytogenes isolée de source alimentaire reste rarement résistante aux antibiotiques utilisés dans le traitement de la listériose humaine. L'apparition des phénomènes de résistance serait due à la pression sélective exercée par l'utilisation exagérée par les médecins vétérinaires des anti-infectieux comme traitement lors d'affections chez les animaux destinés à la boucherie et des volailles ou comme supplément alimentaire promoteurs de croissance, ces facteurs exacerbent l'apparition des antibiorésistances des microorganismes chez ces animaux et leur transmission à l'homme via la chaîne alimentaire (Hilbert et al., 2004, Wang et al., 2006).

II.5.3. Sensibilité des souches de *Listeria innocua* aux antibiotiques.

Toutes les souches de *L. innocua* testées (100%) sont résistantes à la tétracycline, 28,5% montrent une double résistance à la tétracycline et à l'érythromycine (tableau N°27).

En comparant la distribution des résistances vis-à-vis de deux antibiotiques (tétracycline et érythromycine) selon l'espèce, nous observons que 100 % des souches de *L. monocytogenes* isolées sont sensibles à ces deux antibiotiques (tableau N°25) ; alors que 100% des souches de *L. innocua* étudiées sont résistantes à la tétracycline, parmi lesquelles 28,5 % sont résistantes aux deux antibiotiques en même temps (tétracycline et érythromycine) (tableau N° 27), tel que rapporté par Charpentier et Courvalin (1999). Selon Walsh et al. (2001), les niveaux élevés de résistance aux antibiotiques observés chez *L. innocua* suggèrent que la capacité à acquérir ces résistances est liée à l'espèce. Néanmoins, les raisons de cette différence restent jusqu'au jour d'aujourd'hui inconnues (Join-Lambert et Kayal, 2006).

Slade et Collins-Thompson (1990) sont les premiers à rapporter un cas de résistance de *L. innocua* à la tétracycline, Franco Abuin et al. (1994) rapportent également des cas de résistance à la tétracycline de 8 souches de *L. innocua*.

Le taux de résistances des souches de *L. monocytogenes* que nous rapportons est nul (0%) par rapport à celui des *L. innocua* (100%). Nos résultats concordent avec ceux de certains auteurs qui rapportent des taux de résistance plus faibles chez *L. monocytogenes* que chez *L. innocua*. Ainsi, Walsh et al. (2001) indiquent un pourcentage plus élevé de *L. innocua* résistantes (19,5%) aux antibiotiques que celui de *L. monocytogenes* (0,5%). Le même cas de figure est rapporté par Yan et al. (2012) qui enregistrent un taux de résistance de 9,1% pour *L. monocytogenes* et de 13,3% pour *L. innocua*.

Yucel et al. (2005) enregistrent une résistance à l'ampicilline chez 66% des souches de *L. monocytogenes* contre 96% chez *L. innocua* et une résistance au chloramphénicol chez 12% des souches de *L. innocua*, contre 0% chez *L. monocytogenes*.

Dans notre étude, toutes les souches de *L. monocytogenes* sont sensibles aux antibiotiques testés, alors que les souches de *L. innocua* isolées en même temps à partir du même échantillon présentent des résistances à certains antibiotiques. Ces résultats nous amènent à supposer la possibilité de transmission de ces résistances de l'espèce *innocua* à l'espèce *monocytogenes*. Des expériences in vitro montrent que le transfert d'éléments génétiques portant des gènes de résistance est possible entre les deux espèces de *Listeria* (Charpentier et Courvalin, 1999), mais aucune étude ne confirme ce transfert in vivo.

III.6. Caractérisation phénotypique :

La caractérisation phénotypique des souches de *L. monocytogenes* isolées par la technique de la PCR Multiplex révèle que les 26 isolats testés appartiennent à trois sérogroupes distincts (IIa, IIb, IVb), avec des prévalences très variables : 84,6% pour le séro groupe IIa ; 11,6% pour le IIb et 3,8% pour le séro groupe IVb. Les sérotypes 4b, 1/2a et 1/2b sont incriminés dans la plupart des épidémies de listériose humaine (Wiedmann et al., 2011) ces sérotypes dominant dans les sérogroupes que nous rapportons, ce qui laisse suggérer que si les

conditions de contamination sont rassemblées, à savoir l'ingestion d'un nombre important de ces souches, des cas de listériose humaine pourraient survenir.

Dans les études antérieures, chaque auteur rapporte un serovar ou un sérotype dominant à des prévalences très différentes, cette variation du type et de la prévalence est fonction de la localité où ils sont identifiés, comme le confirme l'étude de Meng *et al.* (2007).

Bailey *et al.* (1989) rapportent que 64% de 33 isolats appartiennent au serovar 1/2b, 18% au serovar 1/2c et 6% au serovar 3b.

Miettinen *et al.* (2001) rapportent que 65% de leurs isolats appartiennent au serovar 1/2c, 25% au serovar 1/2a et 10% au serovar 4b.

Chasseignaux *et al.* (2001) notent que 64% de leurs isolats appartiennent au serovar 1/2a, 14% au serovar 1/2b.

Gilberth *et al.* (2005) rapportent que 60% de leurs isolats appartiennent au serovar 1/2a, 26% au serovar 1/2b et 9% au serovar 4b.

Meng *et al.* (2007) dans une étude menée sur des aliments vendus dans le commerce de détail isolent 26 souches à partir de carcasses de poulet élevé conventionnellement et 45 souches à partir de poulet « Bio », une fois caractérisées par la PCR Multiplex, ces souches sont réparties dans 3 sérotypes distincts : les souches isolées des poulets élevés conventionnellement appartiennent aux sérotypes IIa (50%) et IIb (44,3%), alors que les souches issues du poulet « Bio » appartiennent aux sérotypes IIa (15,6%) et IVb (73,3%).

Fugett *et al.* (2007) rapportent que dans les souches alimentaires, le sérotype IIa surpasse le sérotype IIb.

Brito *et al.* (2008) en utilisant la PCR Multiplex pour sérotyper 80 souches de *L. monocytogenes* d'origine différentes (humaines, environnementales et alimentaires) obtiennent 5 sérotypes distincts ; 41,3% des isolats appartiennent au sérotype IVb, 30% au sérotype IIb, 16,3% au sérotype IIa, 7,5% au sérotype IIc et 5% au sérotype L.

Lopez *et al.* (2008) rapportent que 89,4% de leurs isolats issus de carcasses de volailles ou d'environnement des abattoirs avicoles appartiennent au sérotype 1/2b et 10,6% au sérotype 1/2a.

Chiarini *et al.* (2009) rapportent que 41%, 2,4%, 9% et 47,6% de leurs isolats obtenus de carcasses ou de l'environnement de deux abattoirs avicoles appartiennent aux sérotypes IIa, IIb, IIc et IVb, respectivement.

Shi *et al.* (2010) rapportent que les souches isolées à partir de poulets frais appartiennent aux sérotypes, 1/2a, 1/2b et 4b. Le sérotype IIa est dominant (78% des souches isolées) suivi du sérotype IIb (21%).

Nucera *et al.* (2010) notent que 45%, 22%, 16% ; 6% et 3% de leurs isolats appartiennent au serovar, 1/2a, 1/2c, 4b /4e, 1/2b et 3a respectivement.

Fallah et *al.* (2012) répartissent leurs isolats de *L. monocytogenes* obtenus de viandes de volailles en 4 sérotypes ; 4b (44,9%), 1/2a (40,8%), 1/2b (10,2%) et 1/2c (4,08%).

Dans notre étude, le sérotype IIa est dominant à 84,6%, beaucoup d'auteurs signalent le sérotype IIa ou le sérotype 1/2a comme dominant par rapport aux autres sérotypes ou sérotypes dans leurs enquêtes (Chasseignaux et *al.*, 2001 ; Gilberth et *al.*, 2005 ; Chiarini et *al.*, 2009 ; Nucera et *al.*, 2010 ; Shi et *al.*, 2010). Les résultats de la caractérisation par la PCR Multiplex de Shi et *al.* (2010) se rapprochent de ceux que nous enregistrons.

Gilberth et *al.* (2005) démontrent que l'utilisation de l'acide nalidixique et l'acriflavine comme supplément de l'enrichissement, influence la présence des sérotypes et fait apparaître les sérotypes du sérotype IIa en surnombre. Ceci pourrait expliquer les résultats obtenus dans notre étude, puisque nous avons utilisé les mêmes antibiotiques comme éléments sélectifs de l'enrichissement. Bruhn et *al.* (2005) confirment la corrélation positive entre ces antibiotiques et les sérotypes du sérotype IIa. La prédominance du sérotype 1/2a indique sa bonne adaptation à l'écosystème (Shi et *al.*, 2010 ; Korsak et *al.*, 2012).

La prédominance du sérotype IIb est rapportée par Meng et *al.* (2007) et Lopez et *al.* (2008), celle du sérotype IIc par Miettinen et *al.* (2001) et la prédominance du sérotype IVb par Brito et *al.* (2008).

Les sérotypes 1/2a, 1/2c et 4b sont les plus communément retrouvés dans les industries alimentaires, ils sont considérés comme étant ubiquitaires (Autio et *al.*, 2002 ; Nucera et *al.*, 2010).

La Répartition des sérotypes par unité d'abattage permet de constater que le sérotype IIa est prédominant dans les trois unités, confirmant ainsi les constatations de Luchansky et *al.* (2003) qui rapportent que chaque unité qui manipule des carcasses ou des viandes de volaille présente un sérotype dominant. Dans l'étude de Lopez et *al.* (2008) la répartition des sérovars par unité d'abattage a montré que sur les 5 abattoirs sujets de leur enquête, le serovar 1/2b s'est avéré dominant.

100% des souches isolées des unités A et B appartiennent au sérotype IIa, alors que les souches isolées de l'unité C appartiennent à trois sérotypes différents (IIa, IIb et IVb). La variété des sérotypes dans cette unité pourrait indiquer que les sources de contamination sont nombreuses et variables (Chiarini et *al.*, 2009).

La répartition géographique des sérotypes par région d'élevage des poulets, sujets de notre étude, montre une grande homogénéité pour certaines régions. Ainsi, Bejaia, Sétif et Batna enregistrent une prévalence de 100% des souches appartenant au sérotype IIa. Dans la région de Bouira, deux sérotypes sont identifiés IIa et IIb. La région de Tizi-Ouzou se démarque par une hétérogénéité des phénotypes assez remarquable. Tous les sérotypes identifiés sont retrouvés dans cette région, cette hétérogénéité phénotypique pourrait avoir pour origine le nombre élevé de souches isolées dans le poulet provenant de cette région.

Le séro groupe IIa domine dans 4 régions sur 5 (Tizi-Ouzou, Batna, Sétif et Bejaia), Shi et *al.* (2010), dans une étude menée dans 9 localités d'une province de Chine, montrent que le serovar 1/2a est dominant dans 8 régions sur neuf.

Le séro groupe IIb est dominant dans la région de Bouira prédominance selon la localité est déjà rapportée par Doyle et *al.* (1990) ainsi que Meng et *al.* (2007).

III.7. Caractérisation génotypique.

Dans la caractérisation génotypique des souches isolées, nous utilisons deux enzymes connues pour leur pouvoir de restriction important (*ApaI* et *AscI*), chacune génère un nombre de profil particulier.

Toutes les souches étudiées sont typables par ces deux enzymes. Ce qui veut dire que les restrictions produisent des fragments d'ADN qui migrent en champ pulsé selon une disposition particulière facile à interpréter par la suite. La macrorestriction par l'enzyme *AscI*, génère 7 clusters, la macrorestriction par l'enzyme *ApaI*, génère également 7 clusters. La combinaison des deux restrictions génère 7 clusters, dont certains sont uniques et d'autres regroupent des profils indiscernables, ce concept est rapporté par Hamdi et *al.* (2007) et Brito et *al.* (2008).

Différents auteurs de différents pays ayant utilisés cette technique de caractérisation à leurs isolats issus de viandes de volailles, ont obtenu des résultats assez diversifiés selon l'enzyme utilisé ou encore le nombre de souches caractérisées.

Ainsi, Aureli et *al.* (1999) en Italie, caractérisent 25 souches de *L. monocytogenes* obtenues à partir de carcasses de poulets prélevées dans un abattoir contrôlé pendant 7 mois, ils enregistrent que l'enzyme *ApaI* donne 2 profils et l'enzyme *AscI* en donne 3, la combinaison des restriction des deux enzymes donne 3 profils.

Dans une étude menée en Finlande sur des souches de *L. monocytogenes* isolées d'abattoir de volaille par Miettinen et *al.* (2001), les restrictions par les enzymes *ApaI* et *AscI* génèrent 12 et 13 profils différents, alors que la combinaison des deux en produit 14 profils.

Meng et *al.* (2007) identifient 9 profils PFGE uniques donné par 71 isolats de poulets.

Brito et *al.* (2008) identifient sur 80 souches de *L. monocytogenes*, 33 profils de restriction différents par l'enzyme *AscI*, 44 par l'enzyme *ApaI* et 62 profils de restriction combinée des deux enzymes.

Shi et *al.* (2010) en n'utilisant que l'enzyme *ApaI*, obtiennent 20 profils de restriction qu'ils regroupent en 8 Clusters.

Sjöman (2010) obtient 12 profils par l'enzyme *ApaI* et 13 par l'enzyme *AscI*, la combinaison des deux restrictions génère 14 profils de restriction. Ces profils sont repartis dans trois sérogroupes ; IIa (65%), IIc (25%) et IVb (10%).

Cette caractérisation génotypique permet en premier lieu de donner une empreinte génétique très précise à une souche de *L. monocytogenes* et de pouvoir comparer par la suite, les souches alimentaires aux isolats cliniques pour confirmer ou pas que ce sont ces souches qui sont à l'origine des cas cliniques épidémiques ou sporadiques. Elle permet également de constater que les profils issus de la restriction par l'enzyme *AscI* appartiennent tous aux mêmes profils générés par l'enzyme *ApaI* et vice et versa, contrairement aux études où il est rapporté qu'un même profil de restriction par un enzyme pouvait générer plusieurs profils lors de la restriction par un autre enzyme, tel que suggéré par Lopez et al. (2008) qui rapportent qu'un même profil *ApaI* génère 3 ou 4 profils *AscI* différents.

La caractérisation génotypique permet également de comparer nos souches à celles répertoriées dans la base de données du CCOMS du CNR *Listeria* de L'institut Pasteur de Paris. Cette comparaison permet de constater que les profils de ces souches y sont déjà inventoriés. Les souches du CNR *Listeria* ont pour origine soit des aliments incriminés dans des cas de listériose ou des cas cliniques, ce qui signifie que nos souches peuvent être à l'origine de cas de listériose humaine si les conditions de contamination sont réunies.

L'étude de la distribution des groupes de profils (clusters) par phénotypes permet de mettre en évidence que les souches d'un même phénotype peuvent présenter une diversité génétique importante. Cependant les isolats ayant le même profil PFGE appartiennent tous au même sérotype. Cette constatation est rapportée par de nombreux auteurs : Meng et al. (2007), Lopez et al. (2008).

Shi et al. (2010) notent que différentes souches appartiennent au même sérotype ou serovar mais présentent une diversité génétique distinguée par des profils de restriction différents, aussi, le sérotype 1/2a présente 11 profils PFGE différents et le sérotype 4b, 5 profils différents. Chasseignaux et al. (2001) confirment que la majorité des profils de restriction correspondent à un seul sérotype ou sérotype, mais rapportent également des cas où certains profils de restriction combinée *ApaI* et *SmaI* correspondaient à différents sérotypes.

L'autre observation qui ressort de cette étude, est que la souche appartenant au sérotype IVb possède un profil génétique particulier et unique. Miettinen et al. (2001) dans leur étude rapportent également que le serovar 4b produit un seul profil PFGE, pour les autres sérotypes, ils rapportent différents profils génétiques, ainsi, le serovar 1/2a regroupe 10 profils et le serovar 1/2c (que nous n'avons pas isolé) 3 profils différents.

La répartition des isolats par profil génétique et par sérotype permet aussi de constater qu'un même échantillon peut contenir des souches différentes phénotypiquement et/ou génotypiquement. Certaines souches étudiées appartiennent au même sérotype et présentent des profils PFGE similaires, d'autres souches peuvent appartenir à des sérotypes différents et présenter des profils génétiques diversifiés, comme c'est le cas pour les souches : 2013/00039 et 2013/00025 qui sont isolées à partir du même échantillon. Un

constat similaire est établi par Nucera et *al.* (2010), qui notent que les isolats qui proviennent d'un même échantillon peuvent avoir des profils PFGE différents de l'ordre de 80% sans pour autant donner d'explication à ce phénomène.

III.7.1. Répartition des profils génétiques par unités d'abattage et régions d'élevage de volaille.

La répartition par unité d'abattage permet de mettre en exergue les notions de souches provenant de la même région, ceci s'applique aux souches présentant une similarité des profils génétiques issus d'abattoirs différents, ce cas de figure est rapporté par Brito et *al.* (2008).

La notion de profil génétique dominant est une autre conclusion qui ressort de cette répartition. Chaque abattoir étudié enregistre un profil qui domine les autres, ainsi le profil IV domine dans l'abattoir « C », V et VI sont égaux et dominant dans l'abattoir « B » et le profil V dans l'abattoir « A ». Ceci corrobore les résultats des travaux de Miettinen et *al.* (2001) selon lesquels dans chaque unité d'abattage, il existe un profil dominant. La notion du pulsotype dominant à des valeurs différentes d'un abattoir à un autre est rapportée également par Lopez et *al.* (2008).

Un autre concept représenté par l'ubiquité des pulsotypes résulte aussi de cette répartition, suggéré par le fait que certains profils (IV et V) sont communs à plusieurs wilayas qui sont soit limitrophes comme Bejaia, Tizi-Ouzou ou encore Bouira/ Tizi-Ouzou, ou très éloignées comme c'est le cas de Batna. Ceci confirme de nombreux travaux rapportant les mêmes résultats, ainsi, le phénomène des profils PFGE communs aux unités d'abattage mais aux origines géographiques différentes et largement répandus est déjà observé par Buchrieser et *al.* (1991) et Chasseignaux et *al.* (2001). Cette dispersion des profils pourrait être due aux mouvements des volailles vivantes à travers les voies commerciales.

Outre les constatations portées ci-dessus, cette répartition permet aussi d'émettre des hypothèses : La première étant la spécificité des profils génétiques aux régions où ils ont été identifiés ; ainsi le profil III (unique et rare) n'est isolé que dans l'unité B et ayant pour origine la région de Sétif, puisque l'unité B a enregistré d'autres profils, on ne peut que supposer que ce profil est spécifique à la région de Sétif, tel que suggéré par Shi et *al.* (2010) qui rapportent que les profils rares sont spécifiques à leurs sources. Le même cas de figure concerne le profil I pour la région de Bejaia et le profil II pour la région de Tizi-Ouzou.

La deuxième hypothèse est que certaines souches pourraient être des souches résidentes et former des niches écologiques, ainsi la combinaison entre la distribution des profils génétiques par unité d'abattage et par région géographique d'où proviennent les volailles vivantes, permet d'observer des souches particulières aux unités d'abattage. Dans les études de Wulff et *al.* (2006) et Fugget et *al.* (2007), il est rapporté le phénomène de la souche résidente dans les abattoirs, ces souches sont particulières aux unités où elles sont observées. Ces résultats laissent supposer que les souches particulières aux unités d'abattage isolées au cours de notre étude, pourraient être des souches résidentes. Des études ultérieures axées sur ce phénomène pourraient confirmer ou infirmer cette supposition.

Conclusion

Listeria monocytogenes, est un germe pathogène transmis par voie alimentaire, ubiquitaire et résistant, il représente un grand problème en médecine humaine non à cause du nombre de malades qui sont signalés chaque année, mais surtout à cause des taux de mortalité de l'ordre de 25 à 30 % qui sont enregistrés. Ce germe pose aussi un problème majeur pour les industriels agro-alimentaires chez qui les rappels massifs des produits contaminés par ce pathogène causent des pertes économiques considérables.

Depuis la reconnaissance de la voie alimentaire comme mode de transmission de la listériose suite à l'épidémie survenue en 1981 au Canada, l'intérêt des chercheurs a porté sur l'incidence et le comportement des *Listeria* dans différentes matrices alimentaires. Suite aux quatre grandes épidémies de listériose qu'ont vécu les Etats unis d'Amérique en 1988, où la consommation de produits RTE à base de viandes de volailles a été incriminée, l'intérêt porté à ce germe s'est généralisé à cette catégorie d'aliment et la présence des *Listeria* dans les viandes de volailles est largement documentée dans de nombreux pays.

Cette étude a atteint ses objectifs :

- les *Listeria* sont isolées, identifiées et dénombrées dans les carcasses de volailles dans les unités d'abattage et dans les produits carnés fabriqués à base de viandes de volailles, commercialisés dans les grandes surfaces commerciales de la région d'Alger.
- la sensibilité des souches de *L. monocytogenes* isolées aux antibiotiques est évaluée selon les recommandations du CLSI.
- les souches de *L. monocytogenes* isolées sont caractérisées phénotypiquement et génotypiquement.

La recherche des *Listeria* sur les carcasses de volailles dans les abattoirs, a permis d'enregistrer des prévalences respectives de 46,7% et 8,9% pour *Listeria spp.* et *L. monocytogenes*. Le dénombrement des *Listeria* dans les carcasses issues des abattoirs révèle que tous les échantillons positifs, l'étaient à des valeurs inférieures à 100UFC/g. Il est vrai que ces niveaux de contamination (<100UFC/g) sont sans danger pour le consommateur, mais des erreurs d'utilisation du consommateur (réfrigérateur domestique) peuvent faire que ces niveaux de contamination augmentent et deviennent dangereux en contaminant les autres aliments, en particulier les aliments prêts à consommer (RTE).

L'étude menée dans les trois abattoirs avicoles montre que les prévalences de *Listeria spp* sont similaires dans les unités B et C (48%) et légèrement supérieures à celle enregistrée dans l'unité A (42%), et ce, malgré des rythmes d'abattage et des sources d'approvisionnement diverses .

Les schémas de contamination sont très proches dans les unités A et B où la contamination par *Listeria spp* lors de l'étape post-éviscération est assez faible par rapport à celle observée lors de l'étape post finition /réfrigération où *L. monocytogenes* n'est isolée que dans cette dernière étape.

Dans l'unité C, la contamination par *Listeria spp* à l'étape post-éviscération est tout aussi élevée que celle notée lors de l'étape post finition /réfrigération et *L. monocytogenes* est isolée dans les deux étapes.

Ces résultats suggèrent que la contamination des carcasses survient pendant les étapes de transformation en particulier après l'étape d'éviscération, augmente le long de la ligne d'abattage et atteint des niveaux très importants à la fin de cette ligne à l'étape finition et refroidissement. *Listeria innocua* reste l'espèce la plus communément retrouvée dans les trois unités.

La deuxième partie de notre étude consacrée aux produits carnés à base de viande de volailles commercialisés dans les grandes surfaces d'Alger (n=98) a permis d'enregistrer des prévalences respectives de 3,1% et 1% pour *L. innocua* et *L. seeligeri*. Nous observons l'absence de contamination de ces produits par *L. monocytogenes*. Cette contamination serait le résultat d'une contamination croisée via l'environnement de vente de ces produits. Les niveaux de contamination dans les RTE positifs ne dépassent pas les 100UFC /g d'aliment. Ce résultat corrobore la majorité des travaux rapportés par de nombreux auteurs, où la plupart des RTE analysés sont négatifs à *L. monocytogenes*, ces faibles taux seraient dus soit à la maîtrise des conditions d'hygiène et de température dans les grandes surfaces, soit à la faible compétitivité des *Listeria* vis-à-vis des autres contaminants. La présence des autres espèces de *Listeria* autres que *monocytogenes* dans un produit ne le rend pas systématiquement propre à la consommation, car la présence d'une quelconque *Listeria spp* mène à la conclusion que *L. monocytogenes* pourrait être présente.

L'étude de la sensibilité des souches de *L. monocytogenes* isolées aux antibiotiques a confirmé que les souches alimentaires sont sensibles de manière significative aux antibiotiques à l'instar des souches humaines. L'étude des valeurs de CMI de 4 antibiotiques sur *L. monocytogenes*, montre que toutes les souches testées sont très sensibles aux antibiotiques utilisés, ces valeurs de CMI sont largement en dessous des valeurs critiques indiquées par le CLSI. Cependant, toutes les souches de *L. innocua* testées (100%) sont résistantes à la tétracycline, 28,5% parmi elles, montrent une double résistance à la tétracycline et à l'érythromycine, ces niveaux élevés de résistance aux antibiotiques chez *L. innocua* seraient dus à sa capacité à acquérir des résistances.

La caractérisation phénotypique des souches de *L. monocytogenes* isolées par la technique de la PCR Multiplex révèle que les 26 isolats testés appartiennent à trois sérogroupes distincts (IIa, IIb, IVb), avec des prévalences très variables : 84,6% pour le séro groupe IIa ; 11,5% pour le séro groupe IIb et 3,8% pour le séro groupe IVb. Les sérotypes 4b, 1/2a, 1/2b sont incriminés dans la majorité des épidémies de listériose humaine, ces sérotypes appartiennent et dominant dans les sérogroupes que nous identifions dans notre étude.

La répartition des sérogroupes par unité d'abattage nous permet de confirmer la notion du séro groupe dominant. Dans les trois unités prospectées, nous constatons que le séro groupe IIa prédomine à 84,6%.

La répartition géographique des sérogroupes par région d'élevage des poulets montre une grande homogénéité pour certaines régions (wilayas de Bejaia, Sétif et Batna) qui enregistrent une prévalence de 100% du séro groupe IIa. La région de Tizi Ouzou se démarque par une hétérogénéité des phénotypes remarquable, où tous les sérogroupes identifiés sont retrouvés. Ces résultats confirment que certains sérogroupes sont omniprésents dans toutes les régions d'élevage du poulet comme c'est le cas pour le séro groupe IIa dans notre étude.

La caractérisation génotypique au moyen de la PFGE des 26 isolats de *L. monocytogenes* permet d'identifier après analyse des profils de restriction par les deux enzymes *ApaI* et *AscI*, 7 clusters différents, dont trois profils uniques (clusters, I, II et III). Les 4 autres clusters regroupent des profils indiscernables. La distribution des groupes de profils (clusters) par phénotype permet de constater que les souches d'un même phénotype peuvent présenter une diversité génétique importante, certains profils sont soit particuliers aux unités d'abattage ou à certaines régions d'élevage, soit omniprésents.

Les prévalences de contamination des carcasses de volailles par *Listeria* à la sortie des abattoirs, que nous rapportons dans cette étude sont assez importantes, alors que les niveaux de contamination sont faibles et ne constituent pas un danger à ce stade. Le problème que pourrait poser cette contamination est la prolifération de ces germes psychrotrophes lors de la période de stockage au froid que ce soit chez le détaillant ou chez le consommateur lors de la contamination croisée des autres aliments, en particulier les RTE.

L'étude phénotypique et génotypique des souches de *L. monocytogenes* isolées a permis d'identifier des souches appartenant aux grandes lignées phénotypiques impliquées dans la majorité des épidémies de listériose humaine. Cette caractérisation a permis de donner une empreinte génétique à chaque souche, leur comparaison avec les souches déjà répertoriées dans la base de donnée du CCOMS du CNR de l'IPP(France) a permis de retrouver des similitudes avec des souches déjà incriminées dans des cas de listériose humaine, ce qui suggère que si les conditions de contamination des humains se présentent, ces souches peuvent engendrer des cas graves de listériose. Tous ces résultats nous conduisent à proposer les recommandations suivantes :

Dans les abattoirs :

- Mettre en œuvre les mesures nécessaires pour réduire le niveau de contamination microbienne des carcasses, en instaurant des mesures d'hygiène plus rigoureuses, quand à la désinfection de l'environnement et de toutes les surfaces en contact avec les carcasses ou non, puisque elles constituent la source majeure de contamination.
- Etudier la possibilité d'introduire la chlorure à l'eau de l'échaudage ou à l'eau de rinçage des carcasses après éviscération tel que pratiquée dans beaucoup de pays.
- Equiper les dispositifs de rinçage des carcasses avec des brosses qui par action mécanique réduiraient la contamination microbienne des carcasses de façon significative.

- Mettre en place un plan de nettoyage des ustensiles et plans de travail.
- Mettre en place un système de gestion des risques (HACCP).

En médecine humaine :

Donner plus d'importance à ce germe, le rechercher à chaque fois que des cas de méningites, d'avortements ou de gastroentérite fébriles où les autres germes pathogènes pouvant les causer ne sont pas identifiés. Depuis 2002 aucun cas de listériose humaine n'est rapporté officiellement, ce qui laisse penser que l'incidence de cette pathologie est largement sous-estimée.

Créer un laboratoire associé qui aura pour but de collecter toutes les souches de *Listeria* isolées de cas cliniques, d'aliments ou de l'environnement, de les identifier phénotypiquement et de leur donner des empreintes génétiques qui seraient d'une grande utilité dans les investigations des *Listeria* lors des enquêtes épidémiologiques relatives aux cas de listériose humaine . Ce laboratoire doit maîtriser les techniques d'identification génotypique standard à l'instar de la PFGE, qui constitue la méthode la plus fiable utilisée au jour d'aujourd'hui lors des enquêtes épidémiologiques sur la listériose humaine.

REFERENCES

1. **Aase, B., Sundheim, G., Langsrud S., Rørvik L., 2000.** Occurrence of and possible mechanism for resistance to a quaternary ammonium compound in *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food. Microbiol.*, 62, 57-63.
2. **Aba, L.2009.** Prévalences des *Listeria monocytogenes* dans les viandes. Thèse de magister en sciences vétérinaires. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire. Alger. 81 pages et annexes.
3. **AFSSA, 2000.** Rapport de la commission *Listeria* de l'AFSSA Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, rendu public le 27 avril 2000.
4. **Ahamed N, Marth E H , 1989.** Behavior of *Listeria monocytogenes* at 7, 13, 21, and 35°C in tryptose phosphate broth acidified with acetic, citric, or lactic acid. *J Food Protect*, 52: 688 – 695.
5. **ALINORM 09/32/13.** Avant-projet de critères microbiologiques relatifs à la présence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts à consommer. p. 69. Appendice II.
6. **Almeida, P.F., Loura, C.A.C. et Almeida, R.C.C. (2005 a).** The incidence and level of *listeria spp.* And *listeria monocytogenes* contamination in processed poultry at poultry processing plant. *J. Food Safety.* 25 : 19–29.
7. **Almeida, P. F., Barbalho, T.C.F., Almeida, R. C.C. and Hofer, E. (2005b).** Prevalence of *Listeria spp.* at a poultry processing plant in Brazil and a phage test for rapid confirmation of suspect colonies. *Food Control* 16 : 211–216
8. **Almeida, G., Morvan, A., Magalhes, R., Santos, I., Hogg, T., Leclercq, A., Teixeira, P., Research Team. 2010.** Distribution and characterisation of *Listeria monocytogenes* in clinical isolates in Portugal, 1994-2007. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis* 29: 1219-1227.
9. **Angelidis, A.S. et Koutsoumanis, K.2006.** Prevalence and concentration of *Listeria monocytogenes* in sliced ready to eat meat products in the Hellenic retail market. *J.Food.Prot .* 69: 938-942.
10. **Anonyme, 1989a.** Listeriosis from pre-cooked chicken reported in Britain. *Food. Chem. News.*30: 26-27.
11. **Anonyme, 1991.** *Listeria monocytogenes*. Recommendations by the National Advisory Committee on Microbiological Criteria Foods. *Int. J. Food. Microbiol.*, 14, 185-246.
Anonymous, 1989b. Listeriosis associated with consumption of turkey franks .*Mort.Wikly Rept.* 38: 267
12. **Anonyme, 2000.** Rapport de la commission d'étude des risques liés à *Listeria monocytogenes*. Juillet 2000. AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, Contamination des viandes par *Listeria monocytogenes* pp : 27.

- 13. Arrêté du 21 Chaabane 1426** correspondant au 25 septembre 2005 rendant obligatoire la méthode de recherche de *Listeria monocytogenes* dans le lait et les produits laitiers. JO N°03 :2006
- 14. Arumugaswamy, R.K., Ali, G.R.R. et Hamid, S.N.N.**1994. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in foods in Malaysia. *I.J. Food Microbiol* 23: 117-121.
- 15. Audurier, A., Rocourt, J., Courtieu, A.L., 1977.** Isolement et caractérisation de *Listeria monocytogenes*. *Annales de microbiologie de l'Institut Pasteur de Paris*. Vol 128 A, pp :185– 198.
- 16. Augustin, J. C., 1999.** Modélisation de la dynamique de croissance des populations de *Listeria monocytogenes* dans les aliments. Thèse de Doctorat, Université de Lyon 1.
- 17. Aureli, P., Pourshaban, M., Gianfranceschi, M. et Gattuso, A.**1999. Use of molecular typing method to evaluate the control of *Listeria monocytogenes* contamination in a poultry meat processing plant. *Ital. J. Food. Sci* 11: 257-264.
- 18. Autio, T., Iinuma, J., Fredriksson-Ahomaa, M., Björkroth, J., Sjöberg, A.M. et Korkeala, H.** 2002. Similar *Listeria monocytogenes* profiles detected in several foods originating from different sources. *I.J. Food Microbiol.* 77: 83-90.
- 19. Bailey, J.S., Fletcher, D.L. et Cox, N.A.** 1989. Recovery and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* from broiler chicken in the southeastern United States. *J. Food. Prot* 52: 148-150.
- 20. Barnes, R., Archer, P., Stack, J. et Istre, G.R.** 1989. Listeriosis associated with consumption of turkey franks. *Morbid. Mortal. Weekly. Rep.* 38: 267-268.
- 21. Barnier, E., Vincent, J.P., Catteau, M., 1988.** *Listeria* et environnement industriel. *Sciences Alimentaires*, vol 8, pp : 239-242.
- 22. Bellouni, R., 1990.** *Listeria monocytogenes*: bactériologie et épidémiologie. Thèse doctorat en sciences médicales, *INESM, Université d'Alger*, pp.165.
- 23. Bellouni, R., Rahal, K., 1997.** La listériose en Algérie. *Le Journal du Praticien*, vol 4, (6), 246-250.
- 24. Ben Embarek, P. K., 1994.** Presence, detection, and growth of *Listeria monocytogenes* in seafoods: A review. *Int. J. Food. Microbiol*, 23:17-34.
- 25. Benallegue, A., Benhassine, M., Hadji, A., Grangaud, J.P., Mazouni, M., 1968.** Méningite à *Listeria monocytogenes*. *Algérie Médicale*, 5 (1) : 29- 32.
- 26. Bendeddouche, B. et Lebres, E.** 2003. Fréquence des *Listeria* en Algérie entre 1998 et 2000. *Actes inst. Agro. Vet.*23: 65-72.

- 27. Benhassine, M., Merad, B., 1969.** Les méningites purulentes en Algérie : étude bactériologique de 133 cas. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, 47 : 13 – 26.
- 28. Berche, P., Gaillard, J.L., Geoffroy, C., Alouf, J.E. , 1987.** T cell recognition of listeriolysin O is induced during infection by *Listeria monocytogenes*. *J Immunol* 139 : 3813-3832.
- 29. Berche, P., 1999.** Physiopathologie et diagnostic bactériologique des infections materno-infantiles à *Listeria monocytogenes*. *Infections Néonatales II*. Vol 2, n°1, pp : 33-39.
- 30. Berche, P., Brisabois, A., Catteau, M., Flandrois, J.P. , Labadie, J.C., Rocourt, J., Salvat, G., Vaissaire, J., Vaillant, V., Vidon, D. et Vrancks, R. 2000.** Rapport de la commission d'étude des risques liés à *Listeria monocytogenes*. Rapport de la commission de l'AFSSA. *P : 1-143*.
- 31. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 9^{ème} edition, 1994.** Edited by John G. Holt Williams & Wilkins, Baltimore ISBN 0-683-00603-7.
- 32. Berrang, M.E., Lyon, C.E. et Smith, D.P . (2000).** Incidence of *Listeria monocytogenes* on pre-scaled and post –chill chicken *J. Appl. Poult. Research* 9: 546-550.
- 33. Berrang, M.E., Meinersmann,R.J., Korthcutt, J.K. et Smith, D.P . 2002.** Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from a poultry further processing facility and from fully cooked products. *J. food. Prot.* 65: 1574-1579.
- 34. Bertsch D, Rau J, Eugster MR, Haug MC, Lawson PA, Lacroix C, Meile L. (2013).** *Listeria fleischmannii* sp. nov., isolated from cheese. *Int J Syst Evol Microbiol.* 63:526-532.
- 35. Beumer, R.R.; Giffel M.C.; Anthonie S.V.R.; Cox L.J., 1996.** The effect of acriflavine and nalidixic acid on the growth of *Listeria* spp. in enrichment media. *Food Microbiol* , 13: 137-148.
- 36. Bibb, W.K., Gelin, B.G., Weaver, R., Schwartz, B., Plikaytis, B.D., Reeves, M.W., Pinner, R.W., Broome, C.V., 1990.** Analysis of clinical and food-borne isolates of *Listeria monocytogenes* in the United States by multilocus enzyme electrophoresis and application of polymorphic of the method to epidemiologic investigations. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 : 3126 – 3129.
- 37. Bille, J., 1989.** Anatomy of a foodborne Listeriosis outbreak. In : Foodborne Listeriosis, Proceedings of a Symposium on september 7, 1988 in Wiesbaden. B. Behr's GmbH and Co, Hamburg, 29 – 36.
- 38. Bind, J.L., Delaval, J., 1994.** Les Listérioses. *Bull. Soc. Vet. Prat. De France.* 78 : 387-407.
- 39. Bind, J.L., Avoyne, C., Delaval, P., 1996.** Analyse critique des méthodes d'isolement, de dénombrement et d'identification des *listeria* en agro-alimentaire. *Path Biol.* 44 (9) : 757 – 768.
- 40. Blackman, I.C and Frank, J.F. (1996).** Growth of *Listeria monocytogenes* as a biofilm on various food-processing surfaces. *J. Food Microbiol.* 32: 343-355.

- 41. Boerlin , P., Rocourt, J., Piffaretti, J.C., 1991.** Taxonomy of the genus *Listeria* by using multilocus enzyme electrophoresis. *Int J System Bacteriol*,41: 59-64.
- 42. Boerlin, P., Rocourt, J., Grimont, F., Grimont, P.A.D., Jacquet, C., Piffaretti, J.C., 1992.** *Listeria ivanovii* subsp. *londoniensis* subsp. Novi. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42:69-73.
- 43. Boerlin, P., Bannerman, E., Ischer, F., Rocourt, J., Bille, J., 1995.** Typing *Listeria monocytogenes* : a random amplification on of polymorphic DNA with 5 other methods. *Res. Microbiol.* 146 : 5 – 49.
- 44. Bornert,G., Leroux, D. et Gorsane, J.2003.** Étude du comportement de *Listeria monocytogenes* dans les rillettes à 4 et à 8°C. *Med. Vét.* 154 : 189-194.
- 45. Bouayad, L. et Hamdi, T.M. 2012.** Prevalence of *Listeria spp.* in ready to eat foods (RTE) from Algiers. *Food Control* 23 : 397-399.
- 46. Boukadida J., Bel Hadj Taher N., Seket B., Monastiri K., Salem N., Snoussi N., 2002.** L'antibiothérapie initiale des infections materno-foetales doit inclure l'ampicilline même dans les pays où la listériose est exceptionnelle. *Bull Soc Pathol Exot*, , 95, 117-118.
- 47. Brito, L., Neves, E., Lourenço, A., Silva, A.C., Coutinho, R. (2008).** Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) analysis of *Listeria monocytogenes* isolates from different sources and geographical origins and representative of twelve serovars. *Syst. Appl.Microbiol.* 31: 387-392.
- 48. Bruhn, J.B., Vogel, B.F. et Gram, L.2005.**Bias in the *Listeria monocytogenes* enrichment procedure : Lineage 2 strains outcompete lineage I strains in University of Vermont selective enrichments. *Appl. Environ. Microbiol* 71: 961-967.
- 49. Brunt, L.M., Portnoy, D.A., Unanue, E.R., 1990.** Presentation of *Listeria monocytogenes* to CD8⁺ T cells requires secretion of hemolysin and intracellular bacterial growth. *J Immunol* 145 : 3540-3546.
- 50. Buchrieser, C., Brosh, R.,et Rocourt, J. 1991.** Use of pulsed field gel electrophoresis to compare large DNA-restriction fragment of *Listeria monocytogenes* strains belonging to sérogrupe ½ and 3. *I.J. Food. Microbiol.* 14: 297-304
- 51. Buchrieser, C., Brosh, R., Catimel, B. et Rocourt, J. 1993.** Pulsed-fieldgel electrophoresis applied for comparing *listeria monocytogenes* strains involved in outbreaks. *C. J.Microbiol.* 39: 395-401.
- 52. Buncié, S., 1991.** The incidence of *Listeria monocytogenes* in slaughtered animals,in meat, and meat production Yougoslavia. *Int . J. Food Microbiol*, 12 : 173 – 180.
- 53. CAC/GL 50-2004 :** Directives générales sur l'échantillonnage. Codex Alimentarius. *Page 1 -77*
- 54. CAC/RCP 58-2005 :** Code d'usages en matière d'hygiène pour la viande. *Page 1- 55*

- 55. Camilli, A., Tilney, L.G., Portnoy, D.A., 1993.** Dual roles of *plcA* in *Listeria monocytogenes* pathogenesis. *Mol Microbiol.* 8 : 143-157.
- 56. Canton, P., May, T. and Hoen, B. (1995).** Human listeriosis : diagnostic issues. *Med. Mal. Infect.* 25: 244-250.
- 57. Capita, R., Alonso-Callejo, C., Moreno, B. and Garcia-Fernandez, M.C. (2001).** Occurrence of *Listeria* species in retail poultry meat and comparison of a cultural/immunoassay for their detection. *Int. J. Food Microbiol.* 65: 75-82.
- 58. Carles, B., Jacquet, C., Duthoit, M.L., Facon, J.P., Rocourt, J., 1999.** Evaluation d'un nouveau milieu de culture pour la détection rapide de *Listeria monocytogenes* dans les produits alimentaires. *Laborama.* 6 : 52 – 53
- 59. Carpenter, S. et Harrison, M.A.1989.** Survival of *Listeria monocytogenes* on processed poultry. *J. Food. Sci.* 54: 556-557.
- 60. Casolari, C., Facinelli, B., Fabio, U., Rocourt, J., Varaldo, P.E., 1990.** Restriction endonuclease analysis of chromosomal DNA from *Listeria monocytogenes* . *Eur J Epidemiol*, 6 : 319 – 322
- 61. Catteau, M., 1999.** *Listeria monocytogenes* : un problème de méthode d'analyse. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.*, 14 : 99 -101.
- 62. CE N° 852/2004 :** Document d'orientation relatif à l'échantillonnage et à l'analyse microbiologique des denrées alimentaires dans le cadre des contrôles officiels effectués en application du règlement (CE) n°882/2004
- 63. CE N° 2073/2005 :** Règlement (CE) No 2073/2005 de la commission du 15 novembre 2005, concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE). (JO L 338 du 22.12.2005, p. 1)
- 64. Centers for Diseases Control. 2000.** Multistate outbreak of listeriosis - United States, 2000. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 49: 1129-1130.
- 65. Centers for Diseases Control. 2002.** Outbreak of listeriosis - northeastern United States, 2002. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 51: 950-951.
- 66. Centers for Diseases Control , 2012;** Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Whole Cantaloupes from Jensen Farms, Colorado. <http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/index.html>; site consulté le 26/08/2013 à 13h 08.

- 67. Centers for Disease Control and Prevention, 2013a.** Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Crave Brothers Farmstead Cheeses, Posted July 5, 2013 4:00 PM, <http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-07-13/index.html>. Site consulté le 11/07/2013 à 12h42.
- 68. Centers for Disease Control and Prevention, 2013b,** Listeria outbreaks <http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-07-13/index.html>. Site consulté le 18/08/2013 à 16h40.
- 69. Charpentier, E., Gerbaud, G. Jacquet C, Rocourt Jet Courvalin, P.1995.**Incidence of antibiotic resistance in *Listeria* species. *J. Infect. Dis* 127: 277-281
- 70. Charpentier, E., Courvalin, P. 1999.** Antibiotic resistance in *Listeria spp* . *Antimicrob. Agents Chemother* . 43: 2103 – 2108.
- 71. Chasseignaux, E.,Toquin, M.T.,Ragimbeau, C., Salvat, G., Colin, P. and Ermel,G.(2001).** Molecular epidemiology of *Listeria monocytogenes* isolates collected from the environment, raw meat and raw products in two poultry and pork-processing plants. *J.Appl. Microbiol* 91: 888-899.
- 72. Cheftel, J. C., Culioli, J., 1997.** Effects of High pressure on meat: A review. *Meat. Sci.* 46 (3): 211 – 236.
- 73. Chiarini , E. , Tyler , K., Farber , J. M., Pagotto , F., et Destro, M. T. 2009.** *Listeria monocytogenes* in two different poultry facilities: Manual and automatic evisceration. *Poult. Sci* 88:791–797
- 74. Christie, R., Atkins, N. E., Munch, P., 1944.** Anote on a lytic phenomen shown by group B Streptococci. *Austr. Exp. Bioland Med Sci.* 22 : 97 – 98.
- 75. Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2006. M45-A. Methods for Antimicrobial Dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. Approved guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne, Pennsylvania, USA.
- 76. Cohen, N., Ennadj, H., bouchrif, B., hassar, M. et Karib, H.2007.** Coparative study of microbiological quality of raw poultry meat at various seasons and for different slaughtering proceses in Casablanca(Morocco). *J. Appl. Poult. Res*16: 502-508.
- 77. Cosansu, S., Altuntas, E.G., Kocan,D., Ayhan1,K., Juneja, V.K. et Materon, L. 2012.** Antibiotic and Bacteriocin Sensitivity of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from Different Foods. *Food and Nutr Sci.* 3 : 363-368.
- 78. Cossart, P., Vicente, M.F., Mengaud, J., Baquero, F., Perez-Diaz, J.C., Berche, P. 1989.** Listeriolysin O is essential for virulence of *Listeria monocytogenes* : direct evidence obtained by gene complementation. *Infect Immun* ; 57 : 3629-3636.

- 79. Cossart, P. 2010.** The Maverick Bacterium. The scientist, 1. <http://www.the-scientist.com/articles.view/articleNo/27896/title/The-Maverick-Bacterium/> téléchargé le 15/09/2013.
- 80. Cox, L.J., 1991.** Les microorganismes contaminants dans les industries agro-alimentaires : colonisation, détection et maîtrise. *Colloque de la Société Française de Microbiologie* .pp 19-34.
- 81. Cox, N.A., Bailey, J.S. et Berrang, M.E. (1997).** The presence of *Listeria monocytogenes* in the integrated poultry industry. *J. Appl. Poult. Research* 6: 116-119.
- 82. Curiale, M.S. et Lewus, C.W. 1994.** Detection of *Listeria monocytogenes* in samples containing *Listeria innocua*. *J. Food. Prot.* 57: 1048-1051.
- 82. Czuprynski, C.J., Henson, P.M., Campbell, P.A. , 1984.** Killing of *Listeria monocytogenes* by inflammatory neutrophils and mononuclear phagocytes from immune and nonimmune mice. *J Leuk Biol* ; 35 : 193-208.
- 83. Dauphin, G., Ragimbeau , C., Malle, P., 2001.** Use of PFGE typing for tracing contamination with *Listeria monocytogenes* in three cold-smoked salmon processing plants. *Int J Food Microbiol* 64:51-61.
- 84. De Chastellier, C., Berche, P., 1994.** Fate of *Listeria monocytogenes* in murine macrophages : evidence for simultaneous killing and survival of intracellular bacteria. *Infect Immun*; 62 : 543-553.
- 85. Donnelly, C.W., 1999.** Conventional methods to detect and isolate *Listeria monocytogenes*. In : Ryser ET. *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*, 2nd Edition. Marcel Dekker Inc., New-York, 225 – 260.
- 86. Doucet-Populaire, F., Trieu-Cuot, P., Dosbaa, I., Andreumont, A. et Courvalin, P. 1994.** Inducible transfer of conjugative transposon Tn 1545 from *Enterococcus faecalis* to *Listeria monocytogenes* in the digestive tracts of gnotobiotic mice. *Antimicrob. Agents . Chem.*35: 185-187.
- 87. Doumith, M., Buchrieser, C., Glaser, P., Jacquet, C. and Martin, P. (2004).** Differentiation of the Major *Listeria monocytogenes* Serovars by multiplex PCR. *J.Clin. Microbiol.* 42(2): 3819-3822.
- 88. Doyle, M.P., Johnson, J.L. et Cassens, R.G. 1990.** *Listeria monocytogenes* and other *Listeria spp* in meat and meat products A review. *J.Food.protect* 53: 81-91.
- 89. Doyle, M.P., Lin, C.M., Takeuchi, K., Zhang, L., Dohm, C.B., Meyer, J.D., Hall, P.A. 2006.** Cross-contamination between processing equipment and deli meats by *listeria monocytogenes*. *J .Food. Protect*, 69: 71-79.

- 90. Dramsi, S., Biswas, I., Maguin, E., Braun, L., Mastroeni, P., Cossart, P., 1995.** Entry of *Listeria monocytogenes* into hepatocytes requires expression of InIB, a surface protein of the internalin multigene family. *Mol Microbiol* ; 16 : 251-261.
- 91. Dramsi, S., Bourdichon, F., Cabanes, D., Lecuit, M., Fsihi, H., Cossart, P., 2004 .**FbpA, a novel multifunctional *Listeria monocytogenes* virulence factor. *Mol Microbiol*; 53(2):639-649.
- 92. Duffy, L.L., Vanderlinde, P.B, Grau, F.H., 1994.** Growth of *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed cooked meats: effects of pH, aw, nitrite and ascorbate. *Int J Food Microbiol.* ; 23(3-4):377-90
- 93. Dumon, J., Cotoni, L., 1921.** Bacille semblable à celui du rouget de porc rencontré dans le LCR d'un méningitique. *Ann. Inst. Pasteur*, 35 : 625 – 633.
- 94. Dunn, P.L., North, R.J., 1991.** Early gamma interferon production by natural killer cells is important in defense against murine listeriosis. *Infect Immun* 59 : 2892-2900.
- 95. Dykes, G.A,** Geornaras, I., Papathanasopoulos, M.A. et Von Holy, A. (1994). Plasmid profiles of listeria species associated with poultry processing. *Food. Microbiol* 11 : 519-523.
- 96. EFSA. 2007.** Request for updating the former SCVPH opinion on *Listeria monocytogenes* risk related to ready-to-eat foods and scientific advice on different levels of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods and the related risk for human illness. *The EFSA Journal* . 599, 1-42
- 97. El-Kest S E , Marth E H , 1991.** Strains and suspending menstrua as factor affecting death and injury of *Listeria monocytogenes* during freezing and frozen storage. *J Dairy Sci*, 74 : 1209 – 1213.
- 98. El Marrakchi, A., Kriem, M.R. et Hamama, A. 1998.**Prevalence of *Listeria* spp. on a variety of meat products in Morocco. *Microbiol. Alim. Nutr.* 16: 179-187.
- 99. Ennaji, H., Timinouni,M., Ennaji, M.M., Hassar, M., et Cohen, N. 2008.** Characterization and antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from poultry and red meat in Morocco. *Infect Drug Resist.* 1: 45–50.
- 100. Errebo Larsen, H. et Seeliger, H.P.R. 1966.** A mannitol fermenting *Listeria*, *Listeria grayi* sp. n. Proceedings of the Third International Symposium on Listeriosis July 13-16, Bilthoven, 1966, p. 35.]
- 101. Euzéby, J.P., 2000.** (Page consultée le 25 juin 2004) Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire, *Listeria*. Adresse URL : <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/nomstaxons.html>.

- 102. Fallah, A. A., Saei-Dehkordi, S. S., Rahnama, M., Tahmasby, H. et Mahzounieh, M. 2012.** Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Listeria* species isolated from poultry products marketed in Iran. *Food control*. 28 : 327–332
- 103. FAO, OMS, 2002.** Forum mondial des responsables de la sécurité sanitaire des aliments. Marrakech. Maroc. 28 au 30 janvier 2002. pp 1-223.
- 104. Farber, J.M., Sanders, G.W. et Johnston, M.A. 1989.** A survey of various foods for the presence of *Listeria* species. *J. Food. Prot.* 52: 456-458.
- 105. Farber, J.M., Peterkin, P.I., 1991.** *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev.*, 55, 476-511.
- 106. Farber, J. M., Coates, F., Daley, E., 1992.** Minimum water required for the growth of *Listeria monocytogenes*. *Lett. Appl. Microbiol.* 15 : 103 – 105.
- 107. Farber, J.M. et Daley, E. 1994.** Presence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally-contaminated meats. *I.J. Food. Microbiol.* 22: 33-42.
- 108. Fenlon, D.R., 1989.** Silage as a potential source of *Listeria monocytogenes* in food chain. *Microbiol. Alim. Nut.*, 7 : 171 – 173.
- 109. Fenlon, D.R., Wilson, J., Domachie, W., 1996.** The incidence and level of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing. *J. Appl. Bacteriol.* 81 : 641 – 650.
- 110. Fendri C., Kechrid A., Chebbi F., Ben Hassan A., Ben Redjeb S., 1989.** La listériose en Tunisie : à propos de 3 cas. *Med. Mal. Infect.*, 19, 470- 471.
- 111. Feng, P. 1997.** Impact of Molecular Biology on the Detection of Foodborne Pathogens. *Mol. Biotech.* 7:267-278.
- 112. Feng-ing Wang, Ming-kai Chern, Chi-wang Li, Min Yan, Yu-hsien Hsieh (2012).** Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria* species in food products in Taipei, Taiwan. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 6(22), pp. 4702-4706
- 113. Felton, D.R., 1999.** *Listeria monocytogenes* in the natural environment. In : Ryser ET, Marth EH. *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*, 2nd Edition, Marcel Dekker inc., New-York, pp : 21 – 37.
- 114. Feresu, S.B., Jones, D., 1988.** Taxonomic studies on *Bronchotrix*, *Eresipelothrix*, *Listeria* and atypical *Lactobacilli*. *J Gen Microbiol*, 134 : 1165-1183.

- 115. Filiouis, G. , A. Johansson, J. Frey, and V. Perreten. 2009.** Prevalence, genetic diversity and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from open-air food markets in Greece. *Food Control* 20:314-317.
- 116. Franco Abuin C M, Quinto Fernandez E J, Fente Sampayo C, Rodriguez Otero J L, Dominguez Rodriguez L, Cepeda Saez A. 1994.** Susceptibilities of *Listeria* species isolated from food to nine antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother*;38:1655–1657.
- 117. Franco C.M., Quinto E.J., Fente C., Rodriguez-Otero JL., Dominguez L, and Cepeda A. (1995).** Determination of the principal sources of *Listeria* spp. Contamination in poultry meat and a poultry processing plant. *J. Food Protect* 12, 1320-1325.
- 118. Frank, J.F et Koffi, R.A. 1995.** Surface-adherent growth of *Listeria monocytogenes* is associated with increased resistance to surfactant sanitizers and heat. *J. Food. Prot.*53: 550-554.
- 119. Frye, D.M., Zweig, R., Sturgeon, J., Tormey, M., LeCavalier, M., Lee, I., Lawani, L., and Mascola, L. 2002.** An outbreak of febrile gastroenteritis associated with delicatessen meat contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Clin. Infect. Dis.* 35: 943-949.
- 120. FSIS/USDA. 2012.** Recall Summary for Calendar Year 2012
www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/recalls-and-public-health-alerts/recall-summaries. Consulté le 15/09/2013.
- 121. Fugget, E., Shonmker-Bopp, D., Dumas,N., Corby, J.et Wiedmann, M.2007.** Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) analysis of temporally matched *Listeria monocytogenes* isolates from human clinical cases, foods, ruminant farms, and urban and natural environments reveals source-associated as well as widely distributes PFGE types. *J. Clin. Microbiol.*45: 865-873.
- 122. Gale, P. (2003).** Developing risk assessments of waterborne microbial contaminations. *Water and Wastewater microbiology*. London, Elsevier ed: 263-280)
- 123. Gaillard, J.L., Berche, P., Fréhel, C., Guin, E., Cossart, P., 1991.** Entry of *L. monocytogenes* into cells is mediated by internalin, a repeat protein reminiscent of surface antigen from Gram-positive cocci. *Cell* ; 65 : 1127-1141.
- 124. Gaillard, J.L., Gholizadeh, Y. and Pron, B. (1995).** Diagnosis of human listeriosis: new approaches. *Med. Mal. Infect.* 25: 251-256.
- 125. Garrido, V., Torroba, L., Garcia-Jalon, I., Vitas, A. 2008.** Surveillance of listeriosis in Navarre, Spain, 1995-2005—epidemiological patterns and characterization of clinical and food isolates. *Euro. Surveill* 13(49): pii= 19058.
- 126. Gaya, P., Sartalegui, C., Medina, M., Nunez, M. 1996.** Occurrence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in raw caprine milk . *J.Dairy Sci*, 79 (11) : 1936 – 1941.

- 127. Genigeorgis, C. A., Dutulescu D. and Garayzabal J.F. 1989 .** Prevalence of *Listeria spp* at the supermarket and slaughterhouse level. *J. Food Prot .52: 618- 621*
- 128. Genigeorgis, C. A., Oanca, P. et Dutulescu, D. 1990.** Prevalence of *Listeria spp* in turkey meat at the supermarket and slaughterhouse level. *J. Food. Prot. 53: 282-288.*
- 129. Geoffroy, C., Raveneau, J., Beretti, J.L., Lecroisey, A., Alouf, J.E., Berche, P., 1991.** Purification and characterization of an extracellular 29-kDa phosphatidylcholine-phospholipase C from *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun 59 : 2382-2388.*
- 130. Gibbons, I.S., Adesiyun, A., Seepersadsingh, N. et Rahman. S. 2006.** Investigation for possible source(s) of contamination of ready to eat meat products with *Listeria spp*. And other pathogen in a meat processing plant Trinidad. *Food Microbiol 23: 359-366.*
- 131. Gilbert, R.J. et Pini, P.N .1988.** Listeriosis and food transmission. *Lancet. Feb27: 472*
- 132. Gilbert, R.J, McLauchlin, J. et Velani, S.K.1993.** The contamination of pâté by *Listeria monocytogenes* in England and Wales in 1989 and 1990. *Epidemiol. Infect.110: 543-551.*
- 133. Gilbert, S.E., Call, J.E., Morgan Wallace, F., Scott, V.N., chen, Y. and Luchansky, B.2005.** Relatedness of *Listeria monocytogenes* isolates recovered from selected Ready To Eat Foods and listeriosis patients in the United states. *Appl. Environ. Microbiol. 8115-8122.*
- 134. Giovannaci, I., Ragimbeau, C., Queguiner, S., Salvat, G., Vendeuvre, J.L., Carlier, V., Ermel, G., 1999.** *Listeria monocytogenes* in pork slaughtering and cutting plants use of RADP, PFGE and PCR-REA for tracing and molecular epidemiology. *Int. J. Food Microbiol, 53 : 127 – 140.*
- 135. Gohil, V. S., Ahmed, M. A., Davies, R., Robinson R. K. 1995.** Incidence of *Listeria spp*. in retail foods in the United Arab Emirates. *J. Food Protect. 58: . 102-104).*
- 136. Goret, P., Joubert, L., 1976.** Epidémiologie pathogénique des Listérioses chez les ruminants. Hypothèses de travail. *Med. Mal. Infect., 6, 9 bis, 21-29.*
- 137. Gormley, F.J., Little, C.L., Grant, K.A., de Pinna,E. et McLauchlin, J. 2010.** The microbiological safety of ready-to- eat specialty meats from markets and specialty food shops : A UK wide study with à focus on *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiol. 27: 343-249.*
- 138. Góskoy, E.O., Kirkan, S. et Kók, F. 2004.** Microbiological quality of broiler carcasses during processing in two slaughterhouses in Turkey. *Poult sci 83: 1427-1432.*
- 139. Goulet, V., Jacquet, C., Vaillant, V., Rebiere, I., Mouret, E., Lorente, C., Maillot, E., Stainer, F., Rocourt, J., 1995.** Listeriosis from consumption of raw milk cheese. *Lancet, 345 : 1581 – 1582.*

- 140. Goulet, V., Pierre, O., 2004.** Impact de la réduction des concentrations élevées en *Listeria monocytogenes* dans les aliments consommés en l'état sur l'incidence de la Listériose humaine. Comptes-rendus de la conférence internationale ASEPT. Congrès LAVAL, 17-18 mars 2004
- 141. Granier, S. A., Moubarek, C., Colaneri, C., Roussel, S., Courvalin, P. et Brisabois, A. 2010.** Antimicrobial susceptibility among *Listeria monocytogenes* isolates from non-human sources in France over a ten year period. Book of abstracts. ISOPOL XVII. May 5-8th 2010. Alfanega congress centre in Porto, Portugal.
- 142. Graves, L.M et Swaminathan, B., 2001.** PulseNet standardized protocol for subtyping *Listeria monocytogenes* by macrorestriction and pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol.* 65(1-2):55-62.
- 143. Graves, L.M., Helsel, L.O., Steigerwalt, A. G., Morey, R. E., Daneshvar, M. I., Roof, S. E., Orsi, R. H., Fortes, E. D., Milillo, S. R., den Bakker, H. C., Wiedmann, M., Swaminathan, B. and Sauders, B. D. (2010) .** *Listeria marthii* sp. nov., isolated from the natural environment, Finger Lakes National Forest. *Int J Syst Evol Microbiol.* 60:1280-1288.
- 144. Gray, M. L., 1960 b.** Silage feedind and Listeriosis (a possible link in the relationship between) *J. Ann . Vet . Med. Ass.* 1 : 205 – 208.
- 145. Gray ML, Killinger AH. 1966** *Listeria monocytogenes* and listeric infections. *Bacteriol Rev.* 30 : 309–382
- 146. Gudmundsdóttir, S., Gudmundsdóttir, B., Lauzon, H.L., Einarsson, H., Kristinsson, K. G., Kristjánsson, M., 2005.** Tracing *Listeria monocytogenes* isolates from cold-smoked salmon and its processing environment in Iceland using pulsed-field gel electrophoresis. *Int. J. Food Microbiol*, 101, 41-51.
- 147. Hall S.M., Pelerin M., Soltanpoor N. et Gilbert R.J.(1995) .**A case control study of sporadic Listeriosis in England and Wales. XII International Symposium on Problems of Listeriosis, Perth, western Australia, 2-6 October 1995 Western Australia: Promaco Convention Pty ltd
- 148. Hamdi, T.M, Naïm, M., Martin, P., Jacquet, C. 2007.** Identification and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated in raw milk in the region of Algiers (Algeria). *I. J. Food. Microbiol* 116: 190–193
- 149. Hansen, C.H., Vogel, B.F. et Gram, L. 2006.** Prevalence and survival of *Listeria monocytogenes* in Danish aquatic and fish-processing environments. *J. Food. Protect* 69: 2113-2122.
- 150. Harty, J.T., Bevan, J., 1992.** CD8⁺ T cells specific for a single nonamer epitope of *Listeria monocytogenes* are protective *in vivo*. *J Exp Med* 175 : 1531-1538.
- 151. Helke, D.M .et Wong, A.C.I. 1994.** Survival and Growth of *Listeria monocytogenes* and *salmonella typhimurium* on stainless steel and buna-N rubber. *J. Food. Protect.* 57: 963-968.

- 152. Herman, L., 1997.** Detection of viable and dead *Listeria monocytogenes* by PCR. *Food Microbiol*, 14 : 103 - 110.
- 153. Hilbert, F., Mayrhofer, S., Paulsen, P. et Smulders, F.J.M. 2004.** Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. *I. J. Food. Microbiol.* 97: 23-29.
- 154. Hof, H., Rocourt, J., 1992.** Is any strain of *Listeria monocytogenes* detected in food a health risk. *Int. J. Food Microbiol*, 16, 173-182.
- 155. Hof, H., Nichterlein T., Kretschmar, M., 1997.** Management of listeriosis. *Clin Microbiol Rev.* 10: 345-357.
- 156. Hof, H. 2001.** *Listeria monocytogenes*: a causative agent of gastroenteritis? *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect Dis.* 20: 369-373.
- 157. Humphrey, T.J. 1990.** *Listeria* contamination of retail meat slicers. *PHLS Microbiol Digest.* 3
- 158. Ivanov, I., 1957.** La listériose chez les ovins et les caprins .*Bull . Off. Intern. Epizoot.*, 48 : 571 – 583.
- 159. IVWA, 2012 :** Inspection Vétérinaire de la Wilaya d'Alger, bilan annuel 2012.
- 160. Jacquet, C.H., Bille, J., Rocourt, J., 1992.** Typing of *Listeria monocytogenes* by restriction polymorphism of the ribosomal ribonucleic acid gene region. *Zbl Bakt* , 276 : 356 – 365.
- 161. Jacquet, C. H., Reynaud, A., 1994.** Differences in the sensitivity to eight disinfectants of *Listeria monocytogenes* strains as related to their origin . *Int J Food Microbiol*, 22 : 79 – 83.
- 162. Jacquet, C., Catimel,B., Brosch,R., Buchrieser,C., Dehaumont,P., Goulet,V., Lepoutre,A., Veit,P. et Rocourt,J. 1995.** Investigations related to the epidemic strain involved in the french listeriosis outbreak in 1992. *Appl. Env. Microbiol.* p. 2242-2246.
- 163. Jacquet, C., Gouin, E., Jeannel, D., Cossart, P., Rocourt, J. 2002.** Expression of ActA, Ami, InlB, and Listeriolysin O in *Listeria monocytogenes* of Human and Food Origin. *Appl Environ Microbiol.*68: 616-622.
- 164. Jalali, M. et Abedi, D (2008).** Prevalence of *Listeria* species in food products in Ispahan, Iran. *I. J. Food. Microbial* 122: 336-340.
- 165. Jay,J. 1996.** Prevalence of *Listeria spp* in meat and poultry products. *Food Control*, 7: 209-214.
- 166. Jia J, Bi ZW, Chen YZ, Hou PB, Zhang M, Shao K, Bi ZQ.2011.** Antibiotic resistance and molecular typing of *Listeria monocytogenes* from foods in Shandong province from 2009 to 2010. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 45:1065-1067.

- 167. Johnson, J.L., Doyle, M.P., Cassens, R.G., 1990.** *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in meat and meat products – A review. *J. Food Protect*, 53 : 81 – 91.
- 168. Joint- Lambert, O.F. et Kayal, S.2006.** *Listeria monocytogenes*, In: Couravalin, P., Leclercq, R. et Bingin, E. Eds) Antibiogramme , 2 ed. Eska editions 2006 , chapitre 29, p. 365-369.
- 169. Jouve, J.L., 1996.** La qualité microbiologique des aliments. Maîtrise et critères, 2^{ème} édition. Edition Polytechnica, Paris, pages 372- 444.
- 170. Kaczmarek, E.B. et Jones, D.M. 1989.** Listeriosis and ready cooked chicken. *Lancet*. i: 549.
- 171. Kalender, H.2012.** Prevalence of *Listeria* Species in Ground Beef and Chicken Meat Sold in Eastern Turkey. *Pak Vet J*, 32: 456-458.
- 172. Kalmokof, M.L., Daley, E., Austin, J.W., Farber, J.M., 1999.** Bacteriocin-like inhibitory activities among various species of *Listeria*. *Int . J. Food Microbiol*, 50 (5) : 191 – 201.
- 173. Kanarat, S., Nijthavorn, N. et Sukhapesna, J. 2010.** Prevalence of *Listeria monocytogenes* in chicken production chain in Thailand. Book of abstracts. ISOPOL XVII. May 5-8th 2010. Alfandega congress center in Porto, Portugal.
- 174. Kerr, K.G. Dealler, S.F. et Lacey, R.W. 1988a.** *Listeria* in cook-chill food. *The lancet* 332: 37-38.
- 175. Kerr, K.G., Dealler, S.F. et Lacey, R.W. 1988b.** Materno-fetal listeriosis from cook-chill and refrigerated food. *Lancet*. ii. 1133.
- 176. Knudsen, G.M, Olsen, J.E, Dons, L., 2004.** Characterization of DegU, a response regulator in *Listeria monocytogenes*, involved in regulation of motility and contributes to virulence. *FEMS Microbiol Lett* ; 240 (2):171-179.
- 177. Korsak, D., Borek, A., Daniluk, Grabowska, A. et Pappelbaum, K. 2012.** Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* strains isolated from food and food processing environment in Poland. *I. J. food. Microbiol*. 158: 203-208.
- 178. Kovačević J, Mesak LR, Allen KJ. 2012.** Occurrence and characterization of *Listeria* spp. in ready-to-eat retail foods from Vancouver, British Columbia. *Food Microbiol*.30:372-378.
- 179. Kozačinski, L., Hadžiosmanović, M. et Zdolec, N. 2006.** Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market. *Veterinarski Arhiv* 76 : 305-313.
- 180. Lang Halter E, Neuhaus K, Scherer S. 2013.** *Listeria weihenstephanensis* sp. nov., isolated from the water plant *Lemna trisulca* taken from a freshwater pond. *Int J Syst Evol Microbiol*. 63:641-647.

- 181. Larpent J P, 1995.** Les Listeria. Techniques et documentation. Edition : Lavoisier. Février 1995, pp 1 – 140.
- 182. Larpent, J.P., 2000.** Les Listeria. 2^{ème} Edition .Techniques et Documentation, Lavoisier, 165 pages et annexes.
- 183. Larpent, J.P., 2004.** Les Listeria. 3^{ème} Edition .Techniques et Documentation, Lavoisier, 239 pages et annexes.
- 184. Lawrence I.M. and Gilmour A, 1994.** Incidence of *Listeria spp* and *Listeria monocytogenes* in a poultry processing environment and poultry product and their rapid confirmation by multiplex PCR. *Appl. Env. Microbiol* 60: 4600-4604
- 185. Lawrence, L.M. et Gilmour,A. 1995.** Characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from poultry products and from the poultry processing environment by random amplification of polymorphic DNA and multilocus enzyme electrophoresis. *Appl. Env. Microbiol.*61: 2139-2144.
- 186. Lebres, E., 2002.** Listériose bovine en Algérie: Isolement et Identification à partir du lait cru de vache. Mémoire de Magister en Sciences vétérinaires. ISV Blida, Université de Blida, pp : 1 – 105.
- 187. Lebres, E.A. 2006.** Etude de prévalence et analyse de risque de *Listeria monocytogenes* dans les laits crus dans la région centre. Thèse doctorale. Institut de Sciences Vétérinaires. Centre universitaire d’El Tarf.
- 189. Leclercq, A., Clermont, D., Bizet, C., Grimont, P.A.D., Le Flèche-Mateos, A., Roche, S.M., Buchrieser, C., Cadet-Daniel, V., Le Monnier, A., Lecuit, M., et Allerberger, F. 2010.** *Listeria rocourtiae* sp. Nov. *I. J. Syst. Evol Microbiol.* 60: 2210–2214
- 190. Le Minor, L., Veron, M., 1973.** Le genre *Listeria*. *Bactériologie médicale*. Vol 33; pp: 559 – 569.
- 191. Lihan, S, 2007.** Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from chicken and beef. *Thesis of Doctor of Philosophy, Universiti Putra Malaysia*
- 192. Linnan, M.J., Mascola, L., Lou, X.D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., Hird, D.W., Yonekura, M.L., Hayes, P., Weaver, R., Audurier, A., Plikaytis, B.D., Fannin, S.L., Kleks, A., Broome, C.V., 1988.** Epidemic Listeriosis associated with Mexican-Style cheese. *N Eng J Med*, 319 : 823 – 828.
- 193. Loncarevic, S., Tham, W and Danielsson-Tham, M. (1994).** Occurrence of *Listeria* species in broilers pre-and post-chilling in chlorinated water at two slaughterhouses. *Acta Vet. Scand.*35:149-154

- 194. Lopez, V., Ortiz, S., Corujo, A., Lopez, P., Navas, J., Moreno, R. et Martinez-Suarez, V. 2007.** Traceback identification of an ingredient (pork dewlap) as the possible source of *Listeria monocytogenes* serotype 4b contamination in raw chicken products. *J. Food Prot.* 70: 1513- 1517
- 195. Lopez, V., Ortiz, S., Corujo, A., Lopez, P., Navas, J., Poza, D., Moreno, R. et Martinez-Suarez, V. 2008.** Different contamination patterns of lineage I and II strains of *Listeria monocytogenes* in a Spanish broiler abattoir. *Poult Sci.* 87: 1874- 1882.
- 196. Luchansky, B.J., Morgan Wallace, F., Call, J.E., Porto, A.C.S., Cocoma, G.J., The ERRC Special Project Team. 2003.** Recovery rate of *Listeria monocytogenes* from commercially prepared frankfurters during extended refrigerated storage. *J.Food.protect.* 66: 548-591.
- 197. Lund, B.M., 2000.** Principles and application of food preservation techniques. In: Lund, B.M., Baird-Parker, T.C.,Gould, G.W.(Eds). The microbiological safety and quality of food, vol I. Aspen publishers, Gaithersburg, Maryland, p. 134.
- 198. Lyytikainen, O., Autio, T., Maijala, R., Ruutu, P.P., Honkanene-Buzalski, T., Miettinen, M., Hatakka,M., Mikkola, J., Anttila, V.J., Johanson, T., Rantala, L., Aalto, T., Korkeala, H., Siitonen, A., 1999.** An outbreak of *Listeria monocytogenes* serotype 3a infections from butter in Finland. *J Infect Dis* , 181: 1838 – 1841.
- 199. Mackaness, G.B., 1962.** Cellular resistance to infection. *J Exp Med* ; 116 : 381-406.
- 200. Mahmood M.S., Ahmed, A.N. et Hussain, I. 2003.** Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Poultry Meat, Poultry Meat Products and Other Related Inanimates at Faisalabad. *Pakistan Journal of Nutrition* 2: 346-349.
- 201. Makino, S.-J., Kawamoto, K., Takeshi, K., Okada, Y., Yamasaki, M., Yamamoto, S., and Igimi, S. 2005.** An outbreak of food-borne listeriosis due to cheese in Japan. *Int. J. Food Microbiol.* 104: 189-196.
- 202. Maupas, Ph., Philippon, A., Audurier, A., Borderon, E. and Boulard, P. 1971.** Epidémiologie et pathogénie des listérioses. *Sem. Hop. Paris* 47-43-44: 2475-2480.
- 203. McClure, P.J., Beaumont, A.L., Sutherland, J.P., Roberts, T.A. 1997.** Predictive modelling of growth of *Listeria monocytogenes*. The effects on growth of NaCl, pH, storage temperature and NaNO₂. *Int. J. Food. Microbiol.* 34 (3): 221-232.
- 204. McDowell, D.A., Jackson, V., Blair, I.S., Kennedy, J., Bolton, D.J. 2007.** The incidence of significant foodborne pathogens in domestic refrigerators. *Food Control.* 18: 346- 351.
- 205. McLauchlin , J., Hall, S.M., Velani, S.K, Golbert, R.J., 1991.** Human Listeriosis and paté : a possible association. *Brit Med . J* , 303 : 773 -775.

- 206. McLauchlin, J., Van Der Mee-Marquet, N., 1998.** Listeriosis. p. 127-140. In : Zoonoses, Biology, Clinical Practice and Public Health Control, S.R. PALMER, LORD SOULSBY, D.I.H. SIMPSON, Oxford university press, 948 pages.
- 207. Mead, P. S., Slutsker, L., Dietz, V., McCraig, L. F., Bresee, J. S., Shapiro, C., Griffin, P. M., and Tauxe, R. V. 1999.** Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 607-625.
- 208. Meier, J., Lopez, L. 2001.** Listeriosis: an emerging food-borne disease. *Clin Lab Sci.* 14:187-192.
- 209. Menard, J.L., Serieys, F., 1993.** *Listeria* à la ferme. *Rev. Laitière Française* ; 525,27.
- 210. Meng, J, Zhang, Y., Yeh, E., Hall, G., Cripe, J. et Bhagwat, A.A . 2007.** Charaterization of *Listeria monocytogenes* isolated from retail foods. *Int.J. Food. Microbiol* 113: 47-53.
- 211. Mengaud, J., Dramsi, S., Gouin, E., Vazquez-Boland, J.A., Milon, G., Cossart, P., 1991.** Pleiotropic control of *Listeria monocytogenes* virulence factors by a gene that is autoregulated. *Mol Microbiol*, 5 : 2273-2283.
- 212. Miettinen, M.K, Palmu, L., Björkroth, K.J. et Korkeala, H.(2001).** Prevalence of *Listeria monocytogenes* in broilers at the abattoir, processing plant and retail level. *J. Food. Protect* 64: 994-999.
- 213. Milohanic, E., Glaser, P., Coppee, J.Y., Frangeul, L., Vega, Y., Vazquez-Boland, J.A., Kunst, F., Cossart, P., Buchrieser, C., 2003.** Transcriptome analysis of *Listeria monocytogenes* identifies three groups of genes differently regulated by PrfA. *Mol Microbiol*; 47(6):1613-25.
- 214. Moellering, R.C., Medoff, J.G., Leech, I., Wennersten, C., Kunz, L.J., 1972.** Antibiotic synergism against *Listeria monocytogenes*. *Antimicrob Agents and Chem*, 1: 30-34.
- 215. Mosteller, T.M. et Bishop, J.R. 1993.** Sanitizer efficacy against attached bacteria in a milk biofilm. *J.Food. Prot* 56: 34-41.
- 216. Mounier, J., Ryter, A., Coquis-Rondon, M., Sansonetti, P.J., 1990.** Intracellular and cell-to-cell spread of *Listeria monocytogenes* involves interaction with F-actin in the enterocytelike cell line Caco-2. *Infect Immun* ; 58 : 1048-1058.
- 217. Murray, E.G.D., Webb, R.A., Swann, M.B.R., 1926.** A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leukocytosis ,caused by a hitherto undescribed bacillus: *Bacterium monocytogenes*. *J Pathol Bacteriol*, 29 : 407 – 439.
- 218. Naïm, M., 1987.** A propos d'un cas de Listériose chez un immuno-déprimé. Journées Médico-chirurgicales, HCA, Alger.

- 219. Navratilova, P., J. Schlegelova, A. Sustackova, et al. 2004.** Prevalence of *Listeria monocytogenes* in milk, meat and foodstuff of animal origin and the phenotype of antibiotic resistance of isolated strains. *Vet Med. Czech.* 49:243-252.
- 220. Nicholas, J. A., Espaze, E.P., Catimel, B., Vidaud, N., Rocourt, J., Courtieu, A., 1989.** Isolation of *Listeria* from french meat products. *Zbl Bakt*, 272 : 242 – 247.
- 221. Nicolas, J. A., 1983.** Rôle de la consommation d'ensilage dans la Listériose ovine. *Microbiol. Alim. Nutr.* 1 : 71 – 76.
- 222. Nguyen-Thé, C., Carlin, F., 2000.** Fresh and Processed vegetables. In : Rapport de la commission d'étude des risques liés à *Listeria monocytogenes*, juillet 2000, AFSSA. Maisons-Alfort : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. pp : 1 – 143.
- 223. Nichols, G., Mclauchlin, J. et de Louvois, J. 1998.** The contamination of paté with *Listeria monocytogenes* –results from the 1994 European community - coordinated food control program for England and Wales. *J.Food. Protect.* 61: 1299-1304.
- 224. Nørrung, B. 2000.** Microbiological criteria for *Listeria monocytogenes* in foods under special consideration of risk assessment approaches. *I. J. Food. Microbiol* 62: 217-221.
- 225. Nucera, D., Lomonaco, S., Bianci, D.M., Decastelli, L., Grassi, M.A., Bottero, M.T. et Civera, T. 2010.** A five year surveillance report on PFGE types of *Listeria monocytogenes* isolated in Italy from food and food related environments. *I.J Food. Microbiol.* 140: 271-276.
- 226. Nyfeld, A., 1929.** Etiologie de la mononucléose infectieuse. *Cah. Rech. Soc. Biol.* 101 : 590.
- 227. Ojeniyi, B. Wegener, H.C., Jensen, N.E. et Bisgaard, M. 1996.** *Listeria monocytogenes* in poultry and poultry product epidemiological investigation in seven Danish abattoirs. *J. Appl. Bacteriol* 80: 395-401.
- 228. Olier, M., Garmyn, D., Rousseaux, S., Lemaitre, J.P., Piveteau, P., Guzzo, J., 2005** Truncated internalin A and asymptomatic *Listeria monocytogenes* carriage: in vivo investigation by allelic exchange. *Infect Immun*;73(1): 644-648
- 229. Osterholm, M.T., Potter, M.E., 1997.** Irradiation pasteurisation of solid foods : taking food safety to the next level. *Emerg. Infect. Dis.* 3 : 575 – 577.
- 230. Pagan, G., Condon, S., Sala, F.J., 1997.** Effects of several factors on the heat-shock-induced thermotolerance of *Listeria monocytogenes* . *Appl. Environ. Microbiol.* 63 : 3225 – 3232.
- 231. Palumbo, S.A., Williams, A.C., 1991.** Resistance of *Listeria monocytogenes* to freezing in foods. *Food Microbiol*, 8 : 63 – 68.

- 232. Pestre-Alexandre, M., Nicolas, J.A., 1976.** Etude du réservoir animal dans la listériose. *Med. Mal. Infect.*, 6, 9 bis, 30-34.
- 233. Papiernik, P., Lucidarme, P., Pons, J.-C. (1995).** Feto-maternal listeriosis in a teaching hospital maternity on 25000 births from 1980 to 1990. *Med. Mal. Infect.* 25: 233-237.
- 234. Petran, R.L., Swanson, K.M.J., 1993.** Simultaneous growth of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua*. *J. Food Protect.* 7: 616-618.
- 235. Picard-Bonnaud, F., Cottin, J., Carbonnelle, B. 1989.** Preservation of the virulence of *Listeria monocytogenes* in different sorts of soil. *Acta Microbiol Hung.* 36(2-3):269-72.
- 236. Pierre, O. et Veit, P. 1996.** Monitoring plan *Listeria monocytogenes* contamination in food distribution, results of the plans 1993-1994. *Week. Epidemiol.Bull.* 45: 195-197.
- 237. Pini, P.N. and Gilbert, R.J. 1988.** The occurrence in the UK of *Listeria* species in raw chicken. *Int.J.food Microbiol.* 6:317
- 238. Pinner, R.W., Schuchat A., Swaminathan B., Hayes P.S., Deaver K.A., Weaver R.E., Pikaytis B.D., Reeves M., Broome V.V. and Wenger J.D. 1992.** Role of foods in sporadic Listeriosis. *J. Ameri Medic Asso.* 267: 2046
- 239. Pirie, J.H., 1927.** A new disease of veld todents “ Tiger ” river disease “ The South African”. *Inst. Med Res.* III, pp: 163 – 186.
- 240. Portalier, V., 2002.** *Listeria monocytogenes* dans le lait et les produits laitiers : Etude bibliographique, thèse de doctorat en médecine vétérinaire, n° 139. Université Claude Bernard Lyon I, 133 pages et annexes.
- 241. Poyart-Salmeron C., Carlier C., Trieu-Cuot P., Courtieu A.L. and Courvalin P. 1990.** Transferable plasmid -mediated antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Lancet* 335, 1422–1426.
- 242. Pritchard, T.J., Flanders, K.J. et Donnelly, C.W. (1995).** Comparison of the incidence of *Listeria* on equipment versus environmental sites within dairy processing plants. *Int. J. Food. Microbiol.* 26: 375-384.
- 243. Pron, B., Boumaila, C., Jaubert, F., Sarnacki, S., Monnet, J.P., Berche, P., Gaillard, J.L., 1998.** Comprehensive study of the intestinal stage of listeriosis in a rat ligated ileal loop system. *Infect Immun* 66 : 747-755.
- 244. Pujol-Dupuy, C. 2004.** Accidents alimentaires d’origine bacterienne liés à la consommation de ts laitiers. Thèse doctorale. Université Claude Bernard. Lyon.

- 245. Ramdani, N., 1992.** Listériose néonatale: à propos de 2 cas isolés en néonatalogie .CHU Béni-Messous, Alger In : Bellouni R. Rahal K. 1997. La Listériose en Algérie, *J. Prat.*, 1997, 4, 246-250.
- 246. Ramdani, N., Bouguessa, N., Rahal, K., 2000.** Neonatal listeriosis in Algeria : the first two cases. *Clin. Microbiol Infect*, 6 (3) : 108 – 111.
- 247. Raybourne, R.B.2002.** Virulence testing of *Listeria monocytogenes*. *J. AOAC. Int.* 85: 515-523.
- 248. Reis, H.J., Potel, J., Krebs, A., 1951.** Granulomatosis infantiseptica Gesamte. *Inn. Med.* 6 :1-7.
- 249. Rijpens, N.P., Jannes, G. et Herman, L.M.F. 1997.** Incidence of *Listeria spp.* and *Listeria monocytogenes* in Ready To Eat chicken and turkey products determined by Polymerase Chain Reaction and Line Probe Assay Hybridization. *J.Food.Prot.* 60: 548-550.
- 250. Ristori, C. A., Rowlands, R. E. G., Martins, C. G., Fávero, L. M. et Franco, B. D. G. M.2010.** *Listeria monocytogenes* in raw meat products marketed in the city of Sao Paulo, Brazil. Incidence and counts data for risk assessment. Book of abstracts. ISOPOL XVII. May 5-8th 2010. Alfandega congress centre in Porto, Portugal.
- 251. Roberts, M. C. , B. Facinelli , E. Giovanetti , and P. E. Varaldo.1996.** Transferable erythromycin resistance in *Listeria spp.* isolated from food. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:269-270.
- 252. Rocourt, J.et Bille, J.1979.** foodborne listeriosis. Rapport trimestriel des statistiques sanitaires mondiales.50 :67-73.
- 253. Rocourt, J., Audurier, A., Courtieu, A.L., Durst, J., Ortel, S., Schrettenbrunner, A., Taylor, A.G., 1985.** A multi-centre study on the phage typing of *Listeria monocytogenes*. *Zbl Bakt Hyg A* , 259 : 489 – 497.
- 254. Rocourt, J., Seeliger, H.P.R., 1985.** Distribution des espèces du genre *Listeria*. *Zbl Bakt Hyg. A.* 259: 317 – 330.
- 255. Rocourt, J., 1988.**Taxonomy of the genus *Listeria*. *Infect.*, 16 : 89 – 91.
- 256. Rocourt, J., Boerlin, P. Grimont, F. Jacquet, C., Piffaretti, J.C., 1992.** Assignment of *Listeria grayi* and *Listeria murrayi* to a single species, *Listeria grayi*, with a revised description of *Listeria grayi*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42:171-174.
- 257. Rocourt, J., Jacquet, C., 1994.** Epidémiologie des infections humaines à *Listeria monocytogenes* en 1994 : Certitudes et interrogations. *Annales de microbiologie de l'Institut Pasteur de Paris, Actualités.* 5 (3) : 168 – 174.

- 258. Rocourt, J., Renaud, F., Freney, J., 1994.** *Listeria*. In : J., Freney, F., Renaud, W., Hansen, C., Bollet : Manuel de Bactériologie Clinique, 2ème édition, Elsevier, collection Option Bio, 1994, pp. 833-849.
- 259. Rocourt, J., 1996.** Taxonomie du genre *Listeria* et typage de *Listeria monocytogenes*. *Pathol Biol.*44, (9). 749 -756.
- 260. Rocourt, J. et Cossart, P. 1997.***Listeria monocytogenes*, p337-352. In M.P.Doyle, L.R. Beuchat, and T.J. Montville(ed). Food Microbiology fundamentals and frontiers. ASM Press, Washington.D.C.
- 261. Rocourt, J., 1998.** The recognition and identification of *Listeria* species by classical methods. *Turk. J. Infection.* 2 (4) : 471 – 485
- 262. Rocourt, J. , Cossart, P., 1998.** *Listeria monocytogenes* . Foodborne pathogenic bacteria. Editions Michael P. Doyle. 5 : 337 – 352.
- 263. Rocourt, J. 1999.** *Listeria*/Listériose : Des réponses et des questions. Bulletin de liaison banque de donnée. Nutripid et Cerinut. Num 53.
- 264. Rocourt, J., 2000.** *Listeria* et Listériose : Position phylogénétique et classification du genre *Listeria*. *Précis de bactériologie clinique*, 46 : 943- 952.
- 265. Rørvik, L.M. et Yndestad, M. (1991).** *Listeria monocytogenes* in foods in Norway. *Int .J. Food. Microbiol.* 13: 97-104.
- 266. Rørvik, L.M., Caugant, D.A. et Yndestad, M. 1995.** Contamination patterns of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria spp.* In a salmon slaughterhouse and smoked salmon processing plant. *I. J. Food. Microbiol;* 25: 19-27.
- 267. Rørvik, L.M., Aase, B., Alvestad, T. et Caugant, D.A. (2003).** Molecular epidemiological survey of *Listeria monocytogenes* in broilers and poultry product. *J. Appl. Microbiol* 94: 633-640.
- 268. Rouquette, C., de Chastellier, C., Nair, S., Berche, P., 1998.** The ClpC ATPase is a gene-ral stress protein required for virulence and promoting early bacterial escape from the phagosome of macrophages. *Mol Microbiol* ; 27 : 1235-1245.
- 269. Roy, B., Ackerman, H.W., Pandian, S., Picard, G., Goulet, J., 1993.** Biological inactivation of adhering *Listeria monocytogenes* by listeriaphages and quaternary ammonium compound. *Appl Environ Microbiol*, 59 : 2914 – 2917.
- 270. Ruhland, G.J., Fielder,F. , 1987.** Occurrence and biochemistry of lipoteichoic acids in the genus *Listeria*. *System Appl Microbiol* , 9 : 40 – 46.
- 271. Ryser, E.T., Marth, E.H., 1999.** *Listeria, Listeriosis, and food safety*. Ryser E.T., Marth E.H. (Eds) Second edition, revised and expanded. Marcel Dekker Inc., N.Y., USA, 738p.

- 272. Ryser, E.T.2007.** Incidence and behavior of *Listeria monocytogenes* in poultry and egg products. Pages 571-615 in *Listeria, listeriosis and food safety*. E. T. Ryser and E.H. Marth, eds. CRC press, Boca Raton, FL.
- 273. Sanaa, M., 1994.** Listériose et contamination du lait et des produits dérivés du lait. *Point Vét.*, 26, 69-78.
- 274. Schaack, M.M., Marth, E.H., 1988 a.** Behaviour of *Listeria monocytogenes* in skim milk and in yogurt mix during fermentation by thermophilic lactic acid bacteria. *J. Food . Protect.*, 51, 607-614.
- 275. Schwartz , W.F., Ciesielski C.A.,Broome C.V.,Gaventa S.,Brown G.R.,GellinB.G., Hightower A.W. and Macola I. 1988.** Association of sporadic listeriosis with consumption of uncooked hot dogs and uncooked chicken. *Lancet*.october 1: 779-782.
- 276. Seeliger , H.P.R., Höhne, K., 1979.** Serotyping of *Listeria monocytogenes* and related species . In : *Methods in Microbiology* , Bergant , Norris, New-York, 13 , pp : 31 – 49.
- 277. Seeliger , H.P.R., Jones, D., 1986.** *Listeria* , pp. 1235-1245. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2, 9th ed. P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt (eds). Williams & Wilkins, Baltimore.
- 278. Schlech, W. F. , Lavigne, P. M. , Bortolussi, R. A. , Allen, A. C. , Haldane, E. V. , Wort, A. J., Hightower, A. W. , Johnson, S. E. , King, S. H. , Nicholls, E.S. , Broome, C. V. , 1983.** Epidemic Listeriosis-evidence for transmission by food. *N . Engl . J. Med .* 308 : 203 – 206.
- 279. Schwarzkopf, A., 1996.** *Listeria monocytogenes* : Aspects of pathogenicity. *Pathol. biol.*, vol. 44, n° 9, pp. 745-824.
- 280. Sergelidis, D., Abraham, A., Sarimvei, A., Panoulis, C., Karaioannoglou, P., Genigeorgis, C., 1997.** Temperature distribution and prevalence of *Listeria spp.* in : domestic,retail,and industrial refrigerators in Greece. *Int . J. Food Microbiol.* 34 (2) : 171 – 177.
- 281. Shi, L., Yan, H. Neogi, S.B., Mo, Z., Guan, W., Shen, X., Zhang, S., Li, L., Yamasaki, S. et Zhong, N. 2010.** Prevalence and characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* isolates in Heibei province of Northern China, 2005-2007. *I. J. Food. Microbiol*144: 310-316.
- 282. SIAL, 2013.** Communiqué de presse. http://www.sial-dz.com/communiqué_de_presse.php, téléchargé le 22/09/2013.

- 283. Silk, B.J., Cartwright, E. J. , Jackson, K. A., Johnson, S. D., Graves, L. M. et Mahon, B. E.2013.** Listeriosis Outbreaks and Associated Food Vehicles, United States, 1998–2008. Emerging infectious diseases, *Volume 19, Number 1—January 2013*
- 284. Sim, J., Hood, D., Finnie, L., Wilson, M., Graham, C. et Hudson, J.A.2002.** A series of incidents of *Listeria monocytogenes* non- invasive febrile gastroenteritis involving ready to eat meats. *Lett. Appl. Microbiol.* 35: 409-413.
- 285. Siriken, B., Pamuk, S., Özakin, C., Gedikoglu, S., Eyigör, M.2006.** A note on the incidences of *salmonella spp.*, *Listeria spp.* And *Escherichia coli* O157:H7 serotypes in Turkish sausage (Soudjouk), *Meat Sciences* 72: 177-181
- 286. Sjöman, M. 2010.** the use of serotyping and PFGE-typing of *Listeria monocytogenes* in food processing contamination studies and human foodborne infections. *These de doctorat. University of Helsinki. Finland.*
- 287. Skovgaard, N. and Morgen C.A. 1988.** Detection of *Listeria spp* in faeces from animals, in feeds and raw foods of animal origin. *Int. J. Food Microbiol.*6: 229.
- 288. Slade P J, Collins-Thompson D L. 1990.** *Listeria*, plasmids, antibiotic resistance, and food. *Lancet.* 336:1004.
- 289. Slutsker, L., Schuchat, A., 1999.** Listeriosis in humans, Pages 75-95 in E. T. Ryser and E. H. Marth, eds. *Listeria, Listeriosis and Food Safety.* Food Science and Technology. New York, Marcel Dekker, Inc.
- 290. Sohier, R., Benazet, F., Piechaud, M., 1948.** Sur un germe du genre *Listeria* apparemment non pathogène. *Ann. Inst. Pasteur.* 74 : 54 - 57
- 291. Soutos, N., Koidis, P., Madden, R.H. 2003.** Presence of *Listeria* and *salmonella spp* in retail chicken in Northern Ireland. *Lett. Appl.*37: 421-423.
- 292. Stackebrand , E., Ludwig, W., Schleifer, K.H. 1984 .** 16SrRNA analysis of *Listeria monocytogenes* and *Bronchotrix thermosphacta*. *FEMS Microbiol. lett,* 25 : 199 – 204.
- 293. Struillou, L. and Raffi, F. (1997).** Listérioses. *Encyl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris). Maladies Infectieuses,* 8-017-R-10, Thérapeutique, 25-039-A-10, pp.7
- 294. Svobodová, I., Bořilová1, G. , Hulánková, R. et Steinhauserová, I. 2012.** Microbiological quality of broiler carcasses during slaughter processing. *ACTA VET.* 81: 37–42.
- 295. Tenover, F.C., Arbeit, R.D., Goering,R.V., Mickelsen, P.A., Murray, B.E., Persing, D.H. et Swaminathan, B. 1995.** Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by Pulsed- Field Gel Electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J. Clin. Microbiol.* 33: 2233-2239.

- 296. Tienungoon, S., Ratkowsky, D. A., McMeekin, T. A., Ross, T., 2000.** Growth Limits of *Listeria monocytogenes* as a Function of Temperature, pH, NaCl, and Lactic Acid. *Appl. Env. Microbiol*, 66 (11). 4979-4987.
- 297. Teixeira, P., Mena, C., Almeida, G., Carneiro, L., Hogg, T., Gibbs, P.A. 2004.** Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. *Food. Microbiol* 21: 213-216.
- 298. Toquin, M.T., Salvat, G., Eono, F., Colin, P., 1993.** La maîtrise du risque de *Listeria* dans les entreprises de charcuterie salaisons. Colloque de la Société Française de Microbiologie. « Flash sur les micro-organismes pathogènes » pp : 96 – 100.
- 299. Trajkovic-Pavlovic, L.B., Popovic, M.B., Novacovic, B.D. et Gusman-Pasterko, V.P. 2007.** Occurrence of *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* in some retail food products in Novi Sad. *Cent. Eur. J. Public Health*. 15: 167- 171.
- 300. Uyttendaele, M.R., Neyt, K.D., Lips, R.M. et Debevere, J.M. (1997).** Incidence of *Listeria monocytogenes* in poultry and poultry products obtained from Belgian and French abattoirs. *Food. Microbiol* 14: 339-345.
- 301. Uyttendaele, M., de Troy, P. et Debevere, J. (1999).** Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. *J. Food. Protect* 62: 735-740.
- 302. Uyttendaele, M., Busschaert, P., Valero, A., Geeraerd, A.H., Vermeulen, A., Jacxsens, L., Goh, K.K., De Loy, A., Van Impe, J.F. et Devlieghere, F. 2009.** Prevalence and challenge tests of *Listeria monocytogenes* in Belgian produced and retailed mayonnaise-based deli-salads, cooked meat products and smoked fish between 2005 and 2007. *J. Food. Microbiol* 133: 94–104.
- 303. Vaissaire, J., 2000.** Epidémiologie des listérioses animales en France. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*. 184 (2) : 275- 286.
- 304. Van Nierop, W., Dusé, A.G., marais, E., Aithma, N., Thothobolo, N., Kassel, M., Stewart, R., Potgieter, A., Fernandes, B., Galpin, J.S. et Bloomfield, S.F. 2005.** Contamination of chicken carcasses in Gauteng, South Africa, By *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter*. *I. J. Food. Microbiol.* 99: 1-6.
- 305. Vasseur, C., Baverel, L., Hébraud, M., Labadie, J., 1999.** Effect of osmotic, alkaline, acid or thermal stresses on the growth and inhibition of *Listeria monocytogenes*. *J. Appl. Microbiol.* 86 : 469 – 476.
- 306. Velani, S. et Gilbert, R.J. 1990.** *Listeria monocytogenes* in prepacked ready-to-eat sliced meats. *PHLS Microbiol Digest*. 3

- 307. Vitas, A.I., Aguado, V., Garcia-Jalon , I.2004.** Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). *Int. J. Food. Microbiol* 90 : 349-356.
- 308. Vlaemynck, G., Lafarge, V., Scotter, S., 2000.** Improvement of the detection of *Listeria monocytogenes* by the application of ALOA, a diagnostic, chromogenic isolation medium. *J. Appl Microbiol.* 88 : 430 – 441.
- 309. Waldroup, A.L. 1996.** Contamination of raw poultry with pathogens. *World Poultry. Sci* .52, 7-25, 84, 87, 90, 93.
- 310. Walsh D, Duffy G, Sheridan JJ, Blair IS, McDowell DA (2001).** Antibiotic resistance among *Listeria*, including *Listeria monocytogenes*, in retail foods. *J. Appl. Microbiol.*, 90: 517–522.
- 311. Wang, C. et Muriana, P.M. 1994.** Incidence of *Listeria monocytogenes* in packages of retail franks. *J. Food. Protect.* 57: 382- 386.
- 312. Wang, G.H., K.T. Yan, X.M. Feng, S.M. Chen, A.P. Lui, Y. Kokubo. 1992.** Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from retail meats in Beijing. *J. Food Prot.* 55 :56.58.
- 313. Wang. H.H, Manuzon, M., Lehman, Wan, M.K., Luo, H.L., Wittum, T.E., Yousef, A. et Bakaletz, L.O. 2006.** Food commensal microbes as a potentially important avenue in transmitting antimicrobial resistance genes. *FEMS. Microbial. Lett.* 254:326-331.
- 314. Weiss , J., Seeliger, H. P. R. , 1975.** Incidence of *Listeria monocytogenes* in nature . *Appl . Microbiol.* 5 : 29 – 32.
- 315. Welsh, R.D., 1983.** Equine abortion caused by *Listeria monocytogenes* serotype 4 .*J. Am . Vét Assoc.* 182 : 291 .
- 316. Welshimer, H. J. , Donker-Voet, J. , 1971 .** *Listeria monocytogenes* in nature. *Appl. Microbiol.* 21 (3) : 516 – 519.
- 317. Wendtland, A. et Bergann, T. 1994.** *Listeria monocytogenes* occurrence in a factory for slaughtering, carvening and meat processing. *Fleischwirtschaft* . 74: 1329-1331.
- 318. Whyte, P., McGill, K., Monahan, C. et Collins, J.D.2004.** The effect of sampling time on the levels of micro-organisms recovered from broiler carcasses in a commercial slaughter plant. *Food microbiol.* 21: 59-65.
- 319. Wiedmann, M., den Bakker, H.C. et Orsi, R.H. 2011.** *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology and phenotypic characteristics. *I.J. Medic. Microbiol.* 301: 79-96.
- 320. Wong, H.C., Chao, W.L. et Lee, S.J., 1990.** Incidence and characterization of *Listeria monocytogenes* in foods available in Taiwan. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 3101-3104.
- 321. Wong, T.L., Carey-Smith, G.V., Hollis, L. et Hudson, J.A. 2005.** Microbiological survey of prepackaged pate and ham in New Zealand. *Lett. Appl. Microbiol.*41: 106-111.

- 322. Yan, M., Wang, F.I., Chern, M.K. , Li, C.W. et Hsieh, Y. H. 2012.** Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria* species in food products in Taipei, Taiwan. *A. J. Microbiol Res.* 6: 4702-4706.
- 323. Yucel, N., Çitak, S. et Önder, M . 2005.** Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria* species in meat products in Ankara, Turkey. *Food Microbiol* 22 : 241–245
- 324. Zellagui, R. 2012.** Contribution à la détermination des points critiques sur une chaîne d'abattage de volailles. Thèse de magister en médecine vétérinaire, n° 1045. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire Alger, 113 pages et annexes.

ANNEXES

Annexe I :

I. Solution de lyse.

Réactifs	Pour 1ml
NaOH 10N	5 μ l
SDS 10%	25 μ l
H ₂ O PPI en ampoule	970 μ l

Annexe II.

II. MIX PCR

Réactifs	Par réaction
Tampon Taq 10X	10 μ l
MgCl ₂ 50mM	4 μ l
dNTP 2,5 mM	8 μ l
Mix oligonucléotides	10 μ l
H ₂ O PPI en ampoule	67, 6 μ l
Taq polymérase	0,4 μ l

Résumé

L'étude menée pour l'isolement et l'identification des *Listeria* dans les volailles fraîches issues des unités d'abattage et dans les produits carnés fabriqués à base de viande de volaille commercialisés en grande surface à Alger a révélé que 103 échantillons des 310 testés sont positifs à *Listeria*, ce qui correspond à une prévalence globale de 33,2%.

Dans les abattoirs, 46,6% des échantillons sont positifs à *Listeria spp*, dont 8,9% à *L. monocytogenes*. Les schémas de contamination suggèrent que la contamination des carcasses survient pendant les étapes de transformation, elle prend de l'importance à la fin du processus, à l'étape « finition et réfrigération ».

Dans les produits carnés fabriqués à base de viande de volaille commercialisés en grandes surfaces, tous les échantillons sont négatifs à *L. monocytogenes*, seul quatre (4%) des échantillons sont positifs à *Listeria spp*.

Le dénombrement des *L. monocytogenes* dans tous les échantillons positifs est <100UFC/g.

L'étude de la sensibilité de *L. monocytogenes* aux antibiotiques testés confirme son caractère sensible à la majorité des antibiotiques.

26 isolats ont fait objet à un sérogroupage par PCR-Multiplex et a une caractérisation par la méthode PFGE avec utilisation de deux enzymes de restriction ; *ApaI* et *AscI*. Trois sérogroupes sont identifiés (IIa, IIb et IVb). Le séro groupe IIa est commun à tous les abattoirs. Les 10 différents profils PFGE obtenus sont groupés en 7 clusters, certains sont communs aux trois abattoirs, alors que d'autres sont particuliers aux abattoirs où ils ont été identifiés.

Mots clés : Abattoirs, carcasses volailles, RTE, *Listeria*, prévalences, sensibilité aux antibiotiques, caractérisation moléculaire.

Abstract

The study conducted for isolation and identification of *Listeria* in poultry carcasses from broiler abattoirs and ready to eat poultry products commercialized in supermarkets in Algiers revealed that 103 of 310 samples tested were positive for *Listeria*, which corresponds to an overall prevalence of 33.2%.

In abattoirs, 46.6% of samples were positive for *Listeria spp*, including 8.9% *L. monocytogenes*. Patterns of infection suggest that carcass contamination occurs during processing steps, it becomes higher at the end of the process, at the « packaging and refrigeration » step.

In ready to eat poultry products commercialized in supermarkets, all samples were negative for *L. monocytogenes*, only four (4%) samples were positive for *Listeria spp*.

Counting *L. monocytogenes* in all positive samples were lower than 100UFC / g.

The study of sensitivity of *L. monocytogenes* to the tested antibiotics confirms its sensitivity to the most antibiotics.

26 isolates were subject to Multiplex - PCR serogrouping and characterization by PFGE method using two restriction enzymes, *Apal*, and *AscI*. Three serogroups were identified (IIa, IIb and IVb). Serogroup IIa is common to all abattoirs. 10 different obtained PFGE profiles are grouped into seven clusters; some are common to all abattoirs, while others are specific to abattoirs where they were identified.

Keywords: Abattoir, poultry carcasses, RTE, *Listeria*, prevalence, sensitivity to antibiotics, molecular characterization

ملخص

كشفت الدراسة لعزل وتحديد الليستيريا في الدواجن الطازجة في وحدات الذبح و منتجات اللحوم المصنوعة من لحوم الدواجن التي تباع في محلات السوبر ماركت في العاصمة الجزائرية أن 103 من اصل 310 عينة تم اختبارها إيجابية لالليستيريا ، و هذا يتطابق مع معدل انتشار 33.2 % .

في المسالخ ، كان 46.6 % من العينات إيجابية لالليستيريا ، بما في ذلك 8.9 % لبيستريا مونسيوتوجين .

أنماط التلوث تشير إلى حدوث تلوث الذبيحة يتم أثناء خطوات المعالجة و التصنيع ، يصبح اكثر اهمية في نهاية هذه العملية، في مرحلة " التوضيب و التبريد " .
في منتجات اللحوم المصنوعة من لحوم الدواجن التي تباع في محلات السوبر ماركت ، كانت جميع العينات سلبية من الليستيريا مونسيوتوجين، أربعة (4 %) منها فقط إيجابية للبيستريا spp.

دراسة حساسية البيستريا مونسيوتوجين للمضادات الحيوية تؤكد حساسيته لمعظم المضادات الحيوية .

تميز 26 عزلات وفقا Multiplex - PCR serogrouping وتوصيف بواسطة طريقة PFGE باستخدام اثنين من الانزيمات ، AscI و ApaI ، اثبت ان كل العزلات تنتمي إلى ثلاثة زمرة هي (IIa, IIb, IVb) . الزمرة IIa هي الاكثر شيوعا في جميع المسالخ .
10 مقاطع PFGE مختلفة تم تحصيلها في سبع مجموعات ، بعضها مشترك بين جميع المسالخ ، في حين أن آخرين محددة إلى المسالخ حيث وجدت .

مفتاح الكلمات : مسالخ، ذبائح الدجاج، مواد جاهزة للاستهلاك، لبيستريا، مدى انتشار، حساسية للمضادات الحيوية، التوصيف الجزيئي.