

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

•••• – ••••
•••••

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE – EL HARRACH
ALGER

Mémoire de Magister en Sciences Vétérinaires

Option : Hygiène et Sécurité Alimentaire

THÈME

***Prévalences de *Listeria monocytogenes*
dans les viandes rouges dans la wilaya de Tizi-Ouzou***

Présenté par : Lila Agoune ép. Aba

Président : E. GUEZLANE

Promoteur : A.LEBRES

Co- promoteur : T.M. HAMDI

E xamineurs : K.BOUKHORS

A.CHAHED

B.BENBEDDOUCHE

Professeur (ENSV -Alger)

Maître de recherche (IPA)

Maître de conférences (A)(ENSV)

Maître de conférences(A) (ENSV)

Maître assistante classe(A)(ENSV)

Maître de conférences (A) (ENSV)

Année universitaire : 2008-2009

Remerciements

Je remercie vivement:

Monsieur, El hadj Ahmed Lebres, mon Promoteur, Maitre de recherche en microbiologie et chef de laboratoire à l'institut Pasteur d'Algérie pour m'avoir fait confiance, guidée, encouragée et conseillée.

Monsieur, Taha Mossadak Hamdi, mon Co-promoteur, maitre de conférences à l'école nationale supérieure vétérinaire, pour m'avoir aidée, guidée, encouragée à l'élaboration de ce travail.

Monsieur, le Professeur, E Guezlane Directeur de l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger, qui me fait l'honneur de présider mon Jury de soutenance.

Mesdames, Karima Boukhors, Maître de conférences à l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger et Amina Chahed, Maitre assistante à l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger,

Monsieur Badis Bendedouche, Maitre de conférences à l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger,

Qui me font l'honneur de participer au Jury de soutenance.

Je remercie également,

Monsieur Hadj-Kaddour, Directeur général adjoint à L'Institut National Supérieur de la Médecine Vétérinaire.

Monsieur Salah Athmane, Inspecteur vétérinaire, à la wilaya d'Alger, pour ses encouragements et son assistance matérielle et morale, qui m'a permis de faire cette thèse dans de bonnes conditions.

Messieurs, Boudjellab Badredine et Azzizi Djamel de l'institut Pasteur d'Algérie qui m'ont aidé durant l'élaboration de ce travail .

Enfin, mes remerciements ne seraient pas complets si je ne citais pas mes collaborateurs du laboratoire régional de Draa- Ben Khedda : Ouiza Malki, Karima, Ahcene Belhadj, Alem, qui m'ont accompagné durant l'élaboration de ce travail.

Sommaire

INTRODUCTION	1
Partie Bibliographique	
I Historique.....	3
II Données générales sur la bactérie <i>Listeria</i>	5
II-1 Taxonomie.....	5
II-1-1 Le genre <i>Listeria</i>	5
II-1-2 Les espèces du genre <i>Listeria</i>	5
II-2 Caractères bactériologiques.....	6
II-2-1 Caractères morphologiques.....	6
II-2-2 caractères culturels et physiologiques.....	7
II-2-2-1 Influence de la température.....	7
II-2-2-2 Influence du pH.....	7
II-2-2-3 Influence de l'activité de l'eau (A _w).....	7
II-2-2-4 Influence de la concentration en sel.....	8
II-3 Caractères biochimiques.....	8
II-4 Typage des souches de <i>Listeria monocytogenes</i>	10
II-4-1 La sérotypie.....	10
II-4-2 Macrorestriction de l'ADN.....	10
II-5 Méthodes d'isolement des <i>Listeria</i> dans les aliments.....	11
II-5-1 Enrichissement et isolement.....	11
II-5-2 Méthodes de recherche.....	12
II-5-3 Méthodes de dénombrement.....	12
II-5-4 Identification de <i>Listeria monocytogenes</i>	12
II-5-5 Méthodes alternatives.....	12
III Ecologie de <i>Listeria monocytogenes</i>	17
III-1 Habitat.....	17
III-2 Réservoirs vivants des <i>Listeria</i> (porteurs sains).....	17
III-2-1 Réservoirs animaux.....	18
III-2-2 Réservoirs humains.....	18

III-3 Contamination des denrées alimentaires par <i>Listeria monocytogenes</i>	19
III-4 Contamination des viandes par <i>Listeria monocytogenes</i>	20
III-5 Effet du froid et de la congélation sur la croissance de <i>Listeria monocytogenes</i> dans la viande fraîche.....	21
III-6 Les facteurs influençant la sensibilité de <i>Listeria monocytogenes</i> à la congélation....	23
IV Listériose.....	24
IV-1 Définition.....	24
VI-2 Modes de contamination.....	24
IV-3 Dose infectieuse (DMI).....	24
IV-4 Personnes à risque.....	25
IV-5 Pathogénie de l'infection.....	25
IV-5-1 Portes d'entrée.....	25
IV-5-2 Multiplication hépatique.....	26
IV-5-3 Contrôle de l'infection par les systèmes immunitaires.....	26
IV-5-4 Parasitisme intracellulaire.....	27
IV-5-5 Facteurs de virulence.....	29
IV-6 Clinique de la listériose.....	31
IV-6-1 Maladie chez l'homme.....	31
IV-6-1-2 Diagnostic et traitement de la listériose humaine.....	33
IV-6-2- Maladie chez animale.....	33
IV-6-2-2-Diagnostic et traitement de la listériose animale.....	35
IV-7 Epidémiologie de la listériose humaine.....	35
IV-7-1 Incidence et répartition de la listériose.....	36
Partie Expérimentale	
Objectifs.....	38
I Matériel et Méthode.....	39
I -1 Matériel.....	39
I- 2 Echantillonnage.....	39
I-3 Méthode.....	40
I-4 Expression des résultats.....	49
I-5 Autre mode d'identification des listeria.....	53
II Résultats et discussions	57
II-1 Résultats de l'analyse bactériologique.....	57

II-2 Résultats de l'identification biochimique et du dénombrement des souches isolées dans les différentes catégories de viandes.....	63
II-3 Prévalence des différentes espèces de Listeria dans les viandes fraîches.....	66
II--3-1 Prévalence des différentes espèces de Listeria dans les viandes bovines fraîches.....	66
II-3-2 Prévalences des différentes espèces de listeria dans les viandes ovines fraîches.....	66
II-3-3 Prévalences des différentes espèces de Listeria dans les viandes bovines hachées.....	69
II-3-4 Prévalences des différentes espèces de listeria dans les viandes bovines congelée désossées.....	70
II-3- 5 Valeurs N : Dénombrements de <i>Listeria monocytogenes</i>	71
Conclusion.....	73
Recommandations.....	75
Références bibliographiques	
Annexe.	

Liste des abréviations

Ac: Anticorps

Act A: Actine A.

AFNOR: Association Française de Normalisation.

ARN : Acide ribonucléique

DLC : Date Limite de la Conservation.

DMI : Dose Minimale de l'Infections.

DO : Déclaration Obligatoire.

C : Collagène.

CAMP- test: test de Christie Alkins Munck Peterson.

CNRL: Centre National de Référence des *Listeria*.

GN: Gélose Nutritive.

HACCP: Hazard Analysis Control Critical Point.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

H₂S : Hydrogène Sulfuré

IFN• •: Interféron gamma.

IL : Interleukine.

Ini : Internaline.

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique.

ISO: International Standards Organisation.

K Gray: Kilo Gray

kDa: Kilo Dalton.

Kg: Kilo gramme.

LCR : Liquide céphalo-rachidien.

LLO : Listeriolysine O.

MEE: Multilocus Enzyme Electrophoresis.

Misp: Médecin inspecteur de santé publique.

MK : Ménaquinone.

mPa : milli Pascal.

NaCl : Chlorure de sodium.

NF : Norme Française.

NK: Natural Killer.

O₂⁻ : anion super oxyde.

P : Protide.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

pH : Potentiel Hydrogène.

REA : Restriction Enzyme Analysis.

RM: Rouge de Methyl.

TIA : Toxi-infection Alimentaire.

TNF• : Tumor Necrosis Factor.

TSA- YE : Tryptose de soja à l'extrait de levure.

TSI : Triple Sugar Iron.

TSY-EB : Bouillon à la tryptone de soja à l'extrait de levure.

UFC: Unité Formant Colonie.

USDA: United States Department of Agriculture.

VP : Voges Proskauer.

Liste des tableaux

<u>Tableau I</u> : Caractères biochimiques communs au genre <i>Listeria</i>	8
<u>Tableau II</u> : Caractères bactériologiques différenciant les espèces de <i>Listeria</i>	9
<u>Tableau III</u> : Méthode de recherche de <i>listeria monocytogenes</i>	13
<u>Tableau IV</u> : Méthodes de dénombrement de <i>Listeria monocytogenes</i>	14
<u>Tableau V</u> : Méthodes alternatives validées par l'AFNOR pour la recherche ou le dénombrement de <i>Listeria</i> (au 30.05.2002).....	16
<u>Tableau VI</u> : Survie des <i>Listeria</i> dans l'environnement.....	17
<u>Tableau VII</u> : Pourcentage de contamination des différentes catégories d'aliments par <i>Listeria monocytogenes</i>	20
<u>Tableau VIII</u> : Epidémies de listériose survenues dans le monde de 1981 à 2003. D'après les données de la commission <i>Listeria</i> de l'AFSSA	37
<u>Tableau IX</u> : Répartition des échantillons.....	39
<u>Tableau X</u> : Lecture et interprétation des caractères portés sur la galerie Microbact™ <i>Listeria</i> 12 L.....	54
<u>Tableau XI</u> : Profil de <i>Listeria monocytogenes</i>	56
<u>Tableau XII</u> : Résultats de l'analyse bactériologique dans les différentes matrices de viande.....	57
<u>Tableau XIII</u> : Résultats de l'identification biochimique et du dénombrement des souches isolées dans les différentes catégories de viandes.....	64

Liste des figures

Figure 1 : Microscopie électronique à balayage de <i>Listeria monocytogenes</i>	6
Figure 2 : Schéma épidémiologique des listérioses humaine et animale.....	19
Figure 3 : Différentes étapes du cycle d'infection cellulaire in vivo de <i>Listeria monocytogenes</i>	26
Figure 4 : Etapes de parasitisme intracellulaire de <i>Listeria monocytogenes</i>	28
Figure 5 : Etapes du parasitisme intracellulaire de <i>Listeria monocytogenes</i>	29
Figure 6 : Les gènes de virulence de <i>Listeria monocytogenes</i>	30
Figure 7: Disposition des stries pour la réalisation d'un CAMP-test.....	48
Figure 8: Prévalence globale des <i>Listeria spp</i> dans les différentes matrices de viande.....	58
Figure 9 : Prévalence des <i>Listeria spp</i> dans les différentes catégories de viandes... ..	65

Liste des Photos

Photo n°1 : Aspect des <i>Listeria spp</i> sur gélose Palcam.....	42
Photo n° 2 : Aspect des colonies de <i>Listeria spp</i> sur gélose OXFORD	43
Photo n° 3 : Réaction de catalase.....	44
Photo n°4 : Aspect de <i>Listeria</i> au Gram en microscopie optique au grossissement 10 x 100 (VOM, 2005).....	44
Photo n° 5 : Les espèces du genre <i>Listeria</i> sont oxydase négative.....	45
Photo n°6 : Aspect de <i>Listeria monocytogenes</i> sur gélose au sang.....	47
Photo n° 7: Substrats biochimiques utilisés par le système Microbact™ <i>Listeria 12 L</i> pour l'identification des <i>Listeria</i>	53
Photo n° 8 : Aspect Microbact™ <i>Listeria 12 L</i> avant incubation.....	55
Photo n°9: Aspect de <i>Listeria monocytogenes</i> sur Microbact™ <i>Listeria 12 L</i>	56
Photo n°10: Aspect de <i>Listeria</i> sur gélose PALCAM.....	59
Photo n°11: Aspect de <i>Listeria</i> sur gélose OXFORD.....	59
Photo n°12 : Réaction de catalase.....	59
Photo n° 13 : Aspect de <i>Listeria monocytogenes</i> sur mannitol mobilité à 22°C	60
Photo n° 14: Réactions à la nitrate réductase (négative).....	60
Photo n° 15 : Galerie classique pour l'identification de <i>Listeria monocytogenes</i>	61
Photo n°16: Aspect de <i>Listeria monocytogenes</i> sur Microbact™ <i>Listeria 12 L</i>	61

RESUME

Listeria monocytogenes est l'agent causal de la listériose humaine et animale, elle fut décrite pour la première fois en 1926 par Murray et coll.

Ce n'est qu'en 1981 que le rôle des aliments dans la transmission de la maladie a été reconnu, lors d'une épidémie survenue au Canada.

Ses caractéristiques ubiquitaires, sa résistance à des conditions environnementales défavorables et sa survie à des températures de réfrigération de +4° en font un germe présent dans de nombreuses denrées alimentaires.

L'épidémie française de 1992, a permis de mettre en évidence la part non négligeable que tiennent les produits carnés et les viandes dans les contaminations humaines.

En Algérie des études ont mis en évidence la présence de *listeria monocytogenes* dans le lait.

Notre étude s'est orientée sur la recherche et le dénombrement de *listeria monocytogenes* dans les viandes bovines et ovines fraîches, dans les viandes bovines hachées et dans les viandes bovines congelées importées. Les résultats d'analyses révèlent la présence de *listeria monocytogenes* à un taux de 1,58 % sur un total de 510 échantillons analysés dans les différentes catégories de viandes.

Face au danger que représente ce germe pour la santé publique, une extrême vigilance doit être adoptée à l'encontre de tous ces produits à savoir le respect de la chaîne du froid ainsi que le respect des bonnes pratiques d'hygiène.

Mots clés : *Listeria monocytogenes*, viandes bovines fraîches, viandes ovines fraîches, viandes bovines hachées, viandes bovines congelées désossées, recherche et dénombrement des *Listeria*

SUMMARY

Listeria monocytogenes is the causative agent of human and animal listeriosis, it was first described in 1926 by Murray et al.

It was not until 1981 that the role of food in the transmission of the disease was recognized during an outbreak in Canada.

Its ubiquitous characteristics, its resistance to adverse environmental conditions and survival at refrigeration temperatures of 4 ° in a germ are present in many foods.

The French epidemic of 1992, helped to highlight the significant part that hold the meat products and meat in human infections.

In Algeria studies have revealed the presence of *Listeria monocytogenes* in milk.

Our study has focused on the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* in beef and fresh sheep in the minced beef and frozen beef imported. The test results reveal the presence of *Listeria monocytogenes* at a rate 1.58% on a total of 510 samples analyzed in different categories of meat.

Faced with the danger of this germ to public health, extreme vigilance should be taken against all these products to the respect of the cold chain and compliance with good hygiene practices.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, fresh beef, fresh sheep meat, minced beef, frozen beef, boneless, search and enumeration of *Listeria*

....

1926.

1981

.

° 4

1992

.

.

.

.... 1.58

510

.

.

:

INTRODUCTION

La consommation de produits alimentaires d'origine animale ou végétale n'est pas sans risques pour l'être humain. En effet, ces produits sont souvent exposés à des agents bactériologiques responsables de maladies infectieuses parfois mortelles chez l'homme.

Parmi ces agents, nous avons ciblé pour notre thème d'étude, le genre *Listeria* et plus spécifiquement *Listeria monocytogenes*. Cette bactérie, espèce type du genre *Listeria*, pathogène, non sporulée et non capsulée mais curieusement résistante, est largement répandue dans l'environnement (ensilages, pâturages, eaux usées, eau de mer...), dans les locaux d'élevages (litières...), en milieu industriel (chambres froides, salles de découpe, réfrigérateurs,...) et en milieu hospitalier (service de gynécologie et de maternité)...

Identifiée entre 1979 et 1980, elle est considérée aujourd'hui comme étant une bactérie à transmission alimentaire certaine et de ce fait, a suscité une grande inquiétude chez les consommateurs car en plus, elle a été largement médiatisée par la presse internationale.

La listériose est une infection bactérienne due à *Listeria monocytogenes*. C'est une Zoonose essentiellement animale et accidentellement humaine. Elle se manifeste majoritairement par des infections invasives touchant préférentiellement les sujets dont le système immunitaire est altéré (immunodéprimés, femmes enceintes et nouveau-nés, personnes âgées). Cliniquement, la listériose donne un tableau de méningite, encéphalite et/ou de méningo-encéphalite allant jusqu'à un état de septicémie, avec une létalité souvent élevée (20 à 30 %).

La dose minimale infectante ainsi que la durée d'incubation de la listériose humaine demeurent de nos jours deux grandes inconnues.

En Algérie, si la prévalence de *Listeria monocytogenes* dans les laits crus et dérivés est assez bien connue depuis quelques années, il n'en est pas moins concernant les viandes et produits carnés. C'est donc dans ce contexte et à titre préventif essentiellement, que nous nous sommes intéressés à l'étude de sa prévalence dans les viandes rouges aussi bien locales que celles d'importation.

Partie

Bibliographique

I - Historique

La Listériose, maladie bactérienne, évolue essentiellement sous forme de cas sporadiques et plus rarement sous forme d'épidémies.

L'agent causal est la *Listeria monocytogenes*, bactérie Gram positive, ubiquiste, très répandue dans l'environnement.

Elle contamine aussi bien l'Homme que l'animal.

Listeria monocytogenes est le nom officiellement admis pour cette bactérie depuis 1940, en l'honneur du docteur John Lister.

Cette bactérie fut isolée en 1926 par MURRAY, WEBB et SWANN lors d'épizooties chez des lapins et des cobayes qui présentaient une mononucléose sanguine et des lésions de nécrose au niveau du foie. Ils lui donnèrent le nom de *Bacterium monocytogenes* (AUDURIER, 1982).

En 1911, le suédois HULPHERS isola un germe très proche de *Listeria* nommé *Bacillus hepatitis*.

DUMON et COTONI ont isolé en 1918 une souche dans le liquide céphalo-rachidien d'un soldat atteint de méningite.

D'autres chercheurs isolèrent la même bactérie dans des circonstances différentes, il s'agit:

- En 1927, de PIRIE qui l'isola chez la gerbille en Afrique, et la décrivit sous le nom *Listerella hepatolytica* ;
- En 1929, GILL l'isola chez le mouton en Nouvelle-Zélande, et la décrivit sous le nom *Listerella ovis*;
- NYFELD l'isola chez l'Homme lors d'un syndrome mononucléosique sous le nom de *Bacterium monocytogenes hominis* en 1929 ;
- Dès 1933, BURN démontra le rôle de la bactérie dans l'infection périnatale (AUDURIER, 1982).
- En 1940, PIRIE proposa la nomenclature de *Listeria monocytogenes* qui sera retenue par « Approved Lists of Bacterial Names ».

Jusqu'en 1960, cette bactérie était très peu connue du monde médical et scientifique.

Elle fut isolée de prélèvements pathologiques humains, mais c'est plutôt en 1981 que la transmission alimentaire de la listériose humaine fut mise en évidence (MOLL et MOLL, 2002).

Depuis, plusieurs épidémies de listériose d'origine alimentaire ont été enregistrées de par le monde :

- Au Canada en 1981, le produit incriminé était une salade de choux conservée à 4 °C (41 cas ont été observés parmi lesquels on a enregistré 17 décès).
- Aux USA en 1988, des saucisses type « hot dog » ont causé 100 cas de listériose, dont 20 décès enregistrés).
- En France en 1992, des produits de charcuterie (langue de porc en gelée) ont entraîné 279 cas de listériose déclarés dont 63 décès.
- En France en 1995, du fromage a été à l'origine de 20 cas de listériose dont 4 décès.

En Algérie, les premiers cas de listériose humaine ont été décrits par BENALLEGUE *et coll.* en 1967.

En 1989, BELLOUNI a isolé 11 souches de *Listeria* dont 2 *Listeria monocytogenes* à partir de 87 placentas de bovins

En 1999, 5 cas humains ont été observés par RAMDANI et RAHAL.

En 2000, 1 cas humain a été observé à l'hôpital central de l'armée par NAIM. Durant cette même année, 10 souches de *Listeria* dont 7 *Listeria monocytogenes* ont été isolées par LEBRES à partir de 419 échantillons de denrées alimentaires autres que le lait.

En 2004, LEBRES et GUETTARNI ont isolé 28 souches de *Listeria* dont 10 *Listeria monocytogenes* à partir de 1432 échantillons de lait cru (LEBRES, 2006).

En 2007, HAMDANI et al ont isolé 11 de souches *Listeria monocytogenes* à partir de 153 échantillons de lait cru et 02 souches de *Listeria innocua* à partir de petit-lait.

II - Données générales sur la bactérie Listeria

II-1-Taxonomie

II-1-1-Le genre listeria

Le genre *Listeria* appartient à la branche phylogénétique des Clostridium, voisin des genres *Brochothrix*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Bacillus*. Cette position est reconnue sans ambiguïté avec les résultats de taxonomie numérique, de séquençage de l'ARNr 16S, et les caractéristiques chimiotaxonomiques tels que le faible G+C mol.p.10, la présence d'acide lipoteichoïques spécifiques de cette branche et l'absence d'acides mycoliques. (JACQUET, 2002).

La classification officielle du genre *Listeria*, d'après le *Bergey's Manuel* 2001 est la suivante :

Règne : Procaryotes.

Phylum : Firmicut.

Classe : Bacilli.

Ordre : Bacillales.

Famille : Listeriaceae.

Genre : *Listeria*.

II- 1-2-Les espèces du genre listeria

Pendant plusieurs années, le genre *Listeria* n'a comporté que la seule espèce *Listeria monocytogenes*. La recherche de plus en plus fréquente de *Listeria* dans des niches écologiques variées (essentiellement l'environnement et les porteurs sains) a conduit à l'isolement de souches atypiques dont l'étude taxonomique a montré qu'il s'agissait d'espèces. Le genre *Listeria* est constitué de deux branches distinctes : l'une regroupe

Listeria monocytogenes, *Listeria innocua*, *Listeria ivanovii subsp ivanovii*, *Listeria ivanovii subsp londoniensis*, *Listeria seeligeri* et *Listeria welshimeri* et l'autre *Listeria grayi*.

En effet le *Bergey's Manuel* de 1986 a mentionné 8 espèces :

- *Listeria monocytogenes*.
- *Listeria denitrificans* : fut isolée en 1948.
- *Listeria grayi* : fut isolée en 1966, espèce qui se caractérise par la fermentation du mannitol
- *Listeria murrayi* : fut isolée en 1971 par Welshimer. Bactérie qui fermente le mannitol et qui réduit les nitrates.
- *Listeria innocua* : fut isolée en 1981 par Seeliger.(non hémolytique et non pathogène).
- *Listeria seeligeri* et *Listeria welshimeri* : furent isolées en 1982.

- *Listeria ivanovii* : fut décrite en 1984 par Ivanov (provoque des avortements chez les ruminants). Elle compte deux sous espèces ; *ivanovii* et *londoniensis*.

II-2-Caractères bactériologiques

Parmi toutes les espèces du genre *Listeria*, nous avons décidé de réduire notre étude à celle de *Listeria monocytogenes*, seule bactérie du genre à être pathogène à la fois pour l'homme et pour l'animal.

Cette bactérie, contrairement aux autres espèces, est responsable d'épidémies de listériose humaine. A l'exception de *Listeria ivanovii* qui, elle, entraîne des avortements chez les petits ruminants seulement (EUZEBY, 2000).

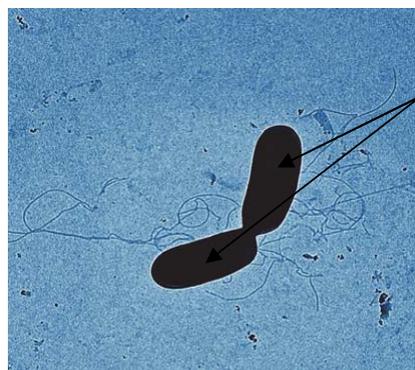
II-2-1- Caractères morphologiques

Listeria monocytogenes est un petit bacille Gram positif, aux extrémités arrondies, mesurant 0,5 à 2,0 μm de longueur sur 0,4 à 0,5 μm de diamètre.

C'est une bactérie saprophyte, asporulée, dépourvue de capsule, non alcoolico acido-résistante et ne possédant pas de granulations métachromatiques.

En microscopie optique, les cellules sont isolées ou regroupées en courtes chaînettes ou en palissades, parfois, elles forment entre elles des angles en «V» ou en «L» (Figure n° :1).

Listeria est mobile à 20-25°C grâce à un petit nombre de cils peritriches (1 à 5 flagelles), leur mobilité « en pirouette » lors de l'examen à l'état frais est caractéristique; sur gélose mobilité (SIM), *Listeria* présente un aspect particulier « en parapluie », et elles sont immobiles ou faiblement mobiles à 37 °C (LARPENT, 2004).



Deux bacilles en forme « V »

Photo n°1 : Microscopie électronique à balayage de *Listeria monocytogenes*

(STRANKA, 2002).

II-2-2- Caractères cultureux et physiologiques

Les *Listeria* ont un métabolisme aéro-anaérobie facultatif. Elles se cultivent bien sur de la gélose nutritive, de la gélose au sang ainsi que sur la gélose Mac Conkey Agar.

Leur croissance est stimulée par l'ajout de glucose ou de tryptose (0,2-1% du P/V), Il existe d'autres composants stimulateurs (adénine, guanine cytosine, thymine à raison de 2,5mg/l).

Listeria monocytogenes se développe aussi sur le milieu cœur cerveau, et les milieux à la peptone de caséine et de soja additionnés d'extrait de levure; l'apport d'esculine et de citrate de fer stimulent leur croissance.

Sur gélose au sang de cheval ou sur gélose au sang de mouton, on observe, après incubation, une zone étroite et diffuse d'hémolyse de type α . *Listeria monocytogenes* est également hémolytique pour les globules rouges de lapins et de l'homme. La mise en évidence de ce caractère est importante puisqu'il définit l'espèce et permet de faire la distinction avec les souches non hémolytiques, non virulentes (AUDURIER, 1982 ; EUZEBY, 2000).

II-2-2-1-Influence de la température

Listeria monocytogenes est capable de se multiplier à des températures comprises entre + 1°C à + 45°C, avec un optimum de croissance situé entre 30°C à 37°C (LARPENT, 2004).

La croissance des *Listeria* a été démontrée expérimentalement entre - 2°C et + 45°C (CATTEAU, 2006).

II-2-2-2-Influence du pH

Listeria monocytogenes peut se développer à des pH compris entre 4,6 et 9,6 avec un optimum à pH neutre ou légèrement alcalin de 7,2 à 7,6. (ROCOURT *et al*, 2000).

La croissance de *Listeria 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 (LARPENT, 2004).

II-2-2-3-Influence de l'activité de l'eau (A w)

L'optimum de croissance de *Listeria monocytogenes* est obtenu pour une valeur de l'activité de l'eau (A w) de 0,97 mais elle ne peut se multiplier à des valeurs inférieures de l'activité de l'eau (A w) de 0,92.

II-2-2-4-Influence de la concentration en sel

Les listeria sont halotolérantes et toutes les souches peuvent se développer en présence de 10% à 20% de chlorure de sodium (NaCl). (EUZEBY, 2000).

La croissance de *Listeria* dépend de la température et de la nature du milieu. Cette bactérie peut survivre au moins 132 jours à + 4°C en milieu « « Trypticase Soya Broth » avec 25% de chlorure de sodium (NaCl), et a une Aw de 0,83 (LARPENT, 2004).

II-3-Caractères biochimiques

Listeria monocytogenes est catalase positive, oxydase négative. Cette bactérie fermente sans gaz de nombreux glucides : le glucose, le lévulose, le maltose.

Listeria monocytogenes hydrolyse l'esculine. Elle n'attaque ni l'urée, ni les nitrates. Elle n'est pas protéolytique. Elle ne produit ni indole, ni H₂S. Elle est phosphatase alcaline positive. Les réactions au rouge de méthyle (RM) et de Voges-proskauer (VP) sont toutes deux positives.

Les principaux caractères biochimiques communs au genre *Listeria* sont consignés dans le tableau I.

Les caractéristiques biochimiques des différentes espèces de *Listeria* sont résumées en annexe 1.

Tableau I : Caractères biochimiques communs au genre *Listeria* (LARPENT, 2004).

Réactions positives	Réactions négatives
<ul style="list-style-type: none">• Mobilité 22°C.• Catalase.• Glucose, fructose, mannose, amygdaline, salicine, céllobiose, maltose, tréhalose, maltose.• VP, RM.• Esculine.• Type respiratoire : aéro- anaérobie.• Réduction du lait tournesolé.	<ul style="list-style-type: none">• Oxydase.• Gaz en glucose.• Uréase.• Indole.• Gélatinase.• H₂S.

Les espèces du genre *Listeria* se différencient par un petit nombre de caractères biochimiques.

ROCOURT distingue les six espèces à l'aide de cinq caractères (tableau II) :

L'hémolyse, le test de Christie- Atkins- Munch- Pertersen (CAMP-test) avec *Rhodococcus equi* (*R equi*) et *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), la réduction des nitrates et la production d'acides à partir de D- mannitol et du D- xylose (CATTEAU, 1996 ; MOLL et MOLL, 2002).

Tableau II : Caractères bactériologiques différenciant les espèces de *Listeria* (ROCCOURT et JACQUET, 2000).

Espèces	Hémolyse	CAMP-test <i>S. aureus</i> *	CAMP-test <i>R. equi</i> **	D-xylose	L-Rhmnose	α-Méthyl-D- mannoside	Ribose	Mannitol
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>L. ivanovii</i> Subsp <i>ivanovii</i>	+	-	-	+	-	-	+	-
<i>L. ivanovii</i> Subsp <i>Londoniensis</i>	+	-	+	+	-	variable	-	-
<i>L. innocua</i>	-	-	-	-	variable	+	-	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-	-	+	variable	+	-	-
<i>L. seeligeri</i>	+	+	-	+	-	-	-	-
<i>L. grayi</i>	-	-	-	-	-	non défini	-	+

+ Positif ; - Négatif.

3 espèces de *Listeria* sont • hémolytiques sur gélose au sang de mouton :

Listeria monocytogenes provoque une zone d'hémolyse étroite autour de la colonie.

Listeria seeligeri est faiblement hémolytique.

Listeria ivanovii produit une zone d'hémolyse très large.

Les autres espèces de *Listeria*, sont non hémolytiques.

L'activité hémolytique est le seul marqueur phénotypique qui les distingue.

Listeria monocytogenes et *Listeria innocua*, sont les deux espèces présentant les mêmes caractéristiques. (NADEAU, 1998)

Les espèces du genre *Listeria* sont différenciées grâce au CAMP- test que l'on effectue sur gélose au sang de mouton.

Une réaction positive se traduit par une accentuation de l'hémolyse • au contact de *Staphylococcus aureus* ou au contact de *Rhodococcus equi*.

Listeria ivanovii est camp-test positif avec *Rhodococcus equi* tandis que *Listeria monocytogenes* et *Listeria seeligeri* sont CAMP -test positif avec *Staphylococcus aureus*

II-4- Typage des souches de *Listeria monocytogenes*

Il existe plusieurs méthodes de typage phénotypique et moléculaire pour *Listeria monocytogenes*. La sérotypie et l'analyse des profils de macrorestrictions d'ADN étaient les méthodes les plus appropriées pour la surveillance microbiologique de la listériose humaine.

II-4-1-La sérotypie

La sérotypie est restée pendant plusieurs années la seule méthode de typage utilisée pour *Listeria monocytogenes*. Elle permet de reconnaître, grâce à la combinaison de 15 antigènes somatiques et de 5 antigènes flagellaires, 13 serovars pour *Listeria monocytogenes*.

La sérotypie est toutefois limitée par son faible pouvoir discriminant ; en effet, pour les souches d'origines humaines, seulement 3 serovars sont essentiellement rencontrés : 1/2a, 1/2b et 4b. Les serovars 4b sont responsables, selon les années, de 30 à 65 % des cas sporadiques de listériose humaines. Des souches de ce serovar ont été responsables de la plupart des épidémies.

Au sein des souches d'origines alimentaires, le serogroupe 1/2a (serovar 1/2a, 1/2b et 1/2c) est majoritaire et représente environ 70% des isollements. (JACQUET, 2002). Les sérovats de *Listeria monocytogenes* sont indiqués en annexe 2.

II-4-2-Macrorestriction de l'ADN.

La macrorestriction de l'ADN consiste à générer des fragments d'ADN de plus de 40 kb, qui sont séparés par électrophorèse en champ pulsé. Cette méthode est particulièrement discriminante, puisque par exemple, au sein des souches de l'épidémie de 1992 (présentant même serovar et même lysovar), l'analyse des profils de macrorestriction d'ADN a mis en évidence plus de 30 variétés avec trois enzymes de restriction. Cette méthode a montré son efficacité pour l'identification des souches épidémiques au cours des épidémies de 1993, 1995, 1997 et 1999-2000 en France (JACQUET, 2002).

II-5- Méthodes d'isolement des listeria dans les aliments

La détection des listeria dans les aliments est un problème relativement nouveau : les listeria n'ont en effet longtemps concerné que le domaine médical ou vétérinaire et ce n'est qu'à la suite d'accidents relativement récents, principalement celui de Californie en 1985 que le rôle des aliments a été suspecté (VERHOYE, 2002).

Rechercher un petit nombre de Listeria dans un aliment polymicrobien est relativement difficile. Il est nécessaire de disposer de milieux sélectifs parfois inhibiteurs. Or les cellules de Listeria ont souvent subi des traitements divers (chaleurs, froid...) et sont dans un état physiologique qui rend leur recherche et leur dénombrement souvent délicat voire impossible (VERHOYE, 2002)

II-5-1-Enrichissement et isolement

Les premières méthodes d'enrichissements sélectifs décrits reposent sur le caractère psychrotrophe de listeria monocytogenes. GRAY en (1994) décrit une méthode d'enrichissement à froid qui donne des résultats intéressants. Ces méthodes bien qu'efficaces ne sont plus employées en routine compte tenu des délais nécessaires à l'obtention des résultats. Une meilleure connaissance de la résistance de listeria à de nombreux inhibiteurs a permis la mise au point de très nombreux milieux d'enrichissement et d'isolement .Parmi ces inhibiteurs citons :

Tellurite de potassium décrit par SCHOER 1944,

Phényl-éthanol par Mc BRIDE et GIRARD 1960,

Acide nalidixique par BEERENS et TAHON CASTEL 1966,

Acriflavine par RALOVITCHET al 1971,

De façon à faciliter le repérage de listeria, quelques systèmes physiques ou biochimiques ont été mis au point :

L'observation des colonies par transillumination oblique selon la méthode D'Henry : les colonies de listeria apparaissent bleutées.

L'addition d'esculine proposée par DOMINGUEZ RODRIGUEZ et al. : *Listeria monocytogenes* hydrolyse l'esculine et donne des colonies auréolées de noir en présence de citrate de fer ammoniacal.

L'addition de mannitol et de rouge phénol : selon ROCCOURT et al en 1997, *Listeria monocytogenes* ne fermente pas le mannitol, ce qui permet de différencier les colonies de listeria de celles des Enterococci (VERHOYE, 2002).

II-5-2 Méthodes de recherche

Les méthodes de recherches nécessitent

- § un enrichissement unique suivi d'un isolement sur un ou plusieurs milieux gélosés
- § Un enrichissement primaire sur milieu sélectif, suivi d'un enrichissement secondaire sur un milieu au pouvoir sélectif suivi lui-même d'un isolement sur un ou plusieurs milieux gélosés. (VERHOYE, 2002)

Les méthodes de référence pour la recherche des *Listeria* sont :

- § Les méthodes « International Standards Organisation » ISO. 11 290- 1 (relatives à la recherche qualitative des *Listeria monocytogenes*).
- § La méthode NF V08- 055 est une méthode de routine française.

Ces méthodes sont représentées dans le tableau III.

Tableau III : Méthode de recherche de *listeria monocytogenes* (VERHOYE, 2002)

	NF EN ISO 11 290	V8-055		
Enrichissement primaire	Fraser 1/2 30°C 24h	Fraser 1/2 30°C 24h		
Enrichissement secondaire	Fraser 37°C 48h	Fraser 37°C 48h		
Isolement sélectif	Palcam et Oxford 37°C 24(a48) h	Palcam (+ Oxford si nécessaire) 37°C 24h (a48) h		
Repiquage sur TSAYE	5 colonies	5 colonies		
Confirmation genre	Gram Catalase (Mobilité 25°C)	Gram Catalase (Mobilité 25°C)		
Confirmation espèce	Hémolyse CAMP Test Rhamnose Xylose	Hémolyse Galerie	CAMP Galerie	CAMP Rhamnose Xylose

II-5-3 Méthodes de dénombrement

Pour suivre l'évolution des listeria au cours de la fabrication de certains produits alimentaires, ou pour avoir une meilleure connaissance des points à risques dans un atelier de transformation et enfin pour répondre à l'évolution des critères (VERHOYE, 2002).

Les méthodes de référence pour la recherche il s'agit de :

§ ISO. 11 290- 2 (relative à la recherche quantitative des *Listeria monocytogenes*).

§ La méthode NF V08- 062st une méthode de routine française.

Ces méthodes sont représentées dans le tableau IV

Tableau IV : Méthodes de dénombrement de *Listeria monocytogenes* (VERHOYE, 2002)

	NF EN ISO 11 290-2	V08-062		
Revivification	EPT ou Fraser 1/2 sans agents sélectifs 20°C 1h	EPT ou Fraser 1/2 sans agents sélectifs 20°C 1h		
Dénombrement en surface	Palcam 37°C 24(a48) h	Palcam et oxford 37°C 24(a48) h		
Repiquage sur TSAYE	5 colonies/Boite	5 colonies/Boite		
Confirmation genre	Gram Catalase (Mobilité 25°C)	Gram Catalase (Mobilité 25°C)		
Confirmation espèce	Hémolyse CAMP Test Rhamnose Xylose	Hémolyse Galerie	CAMP Galerie	CAMP Rhamnose Xylose

II-5-4 Identification de *Listeria monocytogenes*

5 colonies obtenues sur gélose sélective sont repiquées sur gélose trypticase soja et incubées à 37°C durant 24 heures.

Listeria monocytogenes est identifiée par les caractères suivants gram +, catalase +, mobiles camp test + sur staphylococcus aureus et – sur Rhodococcus equi, hémolyse +, xylose- et rhamnose +. (VERHOYE, 2002).

II-5-5-Méthodes Alternatives :

De façon à mieux contrôler la contamination de *Listeria monocytogenes* dans nos aliments ou dans l'environnement, il est utile de disposer de méthodes de recherches rapides.

Pour des raisons de sensibilité l'étape préliminaire d'enrichissement est indispensable.

Parmi ces méthodes : l'utilisation des sondes moléculaires permettent rapidement de caractériser soit le genre *Listeria* soit l'espèce *Listeria monocytogenes* (ACCUPROBE).

Les méthodes basées sur la PCR, cytométrie de flux, l'immunofluorescence directe et l'impédancemétrie, ainsi que le développement de milieux chromogènes qui facilitent le repérage des colonies de *Listeria monocytogenes*. (Rapid'Lmono et l'ALOA) développés par SANOFI et AES laboratoire.

Les Méthodes de recherches rapides et les milieux de cultures chromogènes validées par l'AFNOR sont résumés dans le tableau V.

Tableau V : Méthodes alternatives validées par l'AFNOR pour la recherche ou le dénombrement de *Listeria* (au 30.05.2002)

	Genre <i>Listeria</i>	Espèce <i>Listeria monocytogenes</i>
Milieux de culture		Rapid' L. mono (R) (BIORAD) Rapid' L. mono (D) (BIORAD) ALOAIL monodisk (R) (AES) Chromagar <i>Listeria</i> (R)
Tests immunologiques	<i>Listeria</i> Rapid-Test (OXOID)	
Tests immuno enzymatiques	Vidas <i>Listeria</i> (BIOMERIEUX)	Transia Plate L mono (DIFFCHAMB) Vidas L. <i>monocytogenes</i> (BIOMERIEUX)
Tests d'hybridation moléculaire		Genètrak <i>Listeria monocytogenes</i> (DIFFCHAMB) Accuprobe <i>Listeria monocytogenes</i> (BIOMERIEUX)
PCR		Probelia <i>Listeria monocytogenes</i> (BIORAD).

III - Ecologie de *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes est une bactérie saprophyte, ubiquiste, hydrotellurique, très largement répandue dans l'environnement (tableau VI). Elle est capable de se multiplier dans le milieu extérieur d'où la difficulté dans la prévention des accidents. A ceci s'ajoute que *Listeria monocytogenes* est un hôte naturel des êtres vivants (Homme et animal) (EUZEBY2000).

Tableau VI: Survie des *Listeria* dans l'environnement (LARPENT, 2000)

ECHANTILLONS	TEMPERATURES EN °C	SURVIE EN JOURS
Sols stériles	Hiver / printemps été	154
Fèces des ruminants	5	182 - 2190
Boues activées (surfaces)	28 - 32	35
Ensilages	5	180 - 2190
Eaux	2-8	790 - 928

III-1-Habitat

Le milieu extérieur est considéré comme l'habitat naturel du germe.

Listeria monocytogenes est essentiellement trouvée au niveau : des sols (sols boueux ou humides), des eaux (douces, de mer, de vase, d'égout,...), sur les végétaux en décomposition. On la retrouve également dans les locaux d'habitation (périphérie des conduites d'évacuation, réfrigérateurs, serpillières, torchons,...etc.), dans les locaux de fabrication, de transformation et dans les locaux d'élevage (litières, mangeoires, abreuvoirs, ensilages, etc.).

III-2- Réservoirs vivants des *Listeria* (porteurs sains)

Dans une grande majorité des cas, la bactérie est présente sans entraîner de phénomènes pathologiques et se comporte comme un véritable commensal : on parle alors de portage sain.

De nombreux travaux, à la suite de ceux de SEELIGER en 1961 et de KILLINGER en 1966, ont montré que les sites d'hébergements préférentiels lors de portage sain sont : le tractus gastro- intestinal, la mamelle, le tractus génital ou le rhinopharynx.

III-2-1-Réservoirs animaux

La plupart des animaux domestiques ou sauvages peuvent héberger des *Listeria monocytogenes*.

Selon, AUDURIER, (1982) ; MOLL et MOLL, (2002), 10% à 30 % des bovins, ovins, porcins et poulets hébergent cette bactérie en portage sain.

Listeria monocytogenes sont isolées des fèces de ces animaux qui sont principalement des porteurs sains susceptibles de disséminer les bactéries dans l'environnement. En élevage : 80% du cheptel peut être porteur (WELSH, 1983 ; BOURGEOIS 1996).

III-2-2- Réservoirs humains

Le portage sain chez l'homme est aussi important que chez l'animal ; 5 à 10% des humains hébergent *Listeria monocytogenes* dans le tractus gastro-intestinal ou dans le tractus génital ou dans le rhinopharynx. Cette valeur peut être de 90% chez les techniciens de laboratoire (EUZEBY, 2000).

Toutes ces considérations montrent que *Listeria monocytogenes* est un germe ubiquitaire très répandu dans le milieu extérieur et est capable de se multiplier.

Les animaux tout comme l'homme y trouvent une source de contamination pour, à leur tour, devenir des réservoirs et réensemencer ce germe par leurs sécrétions.

La figure 2 représente les différentes voies de contamination et les interactions entre les différents secteurs, environnement, animaux, aliments et l'homme.

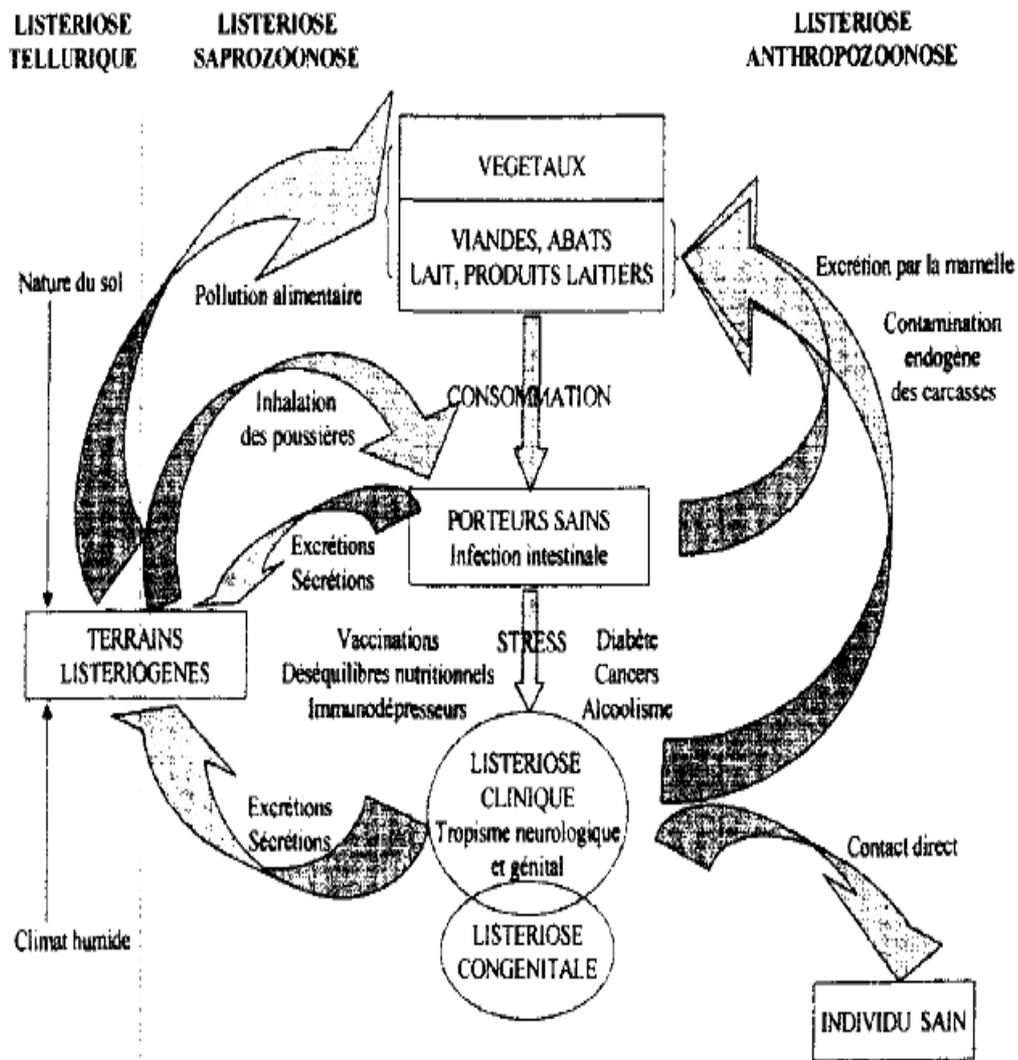


Figure n° 2 : Schéma épidémiologique des listérioses humaine et animale (FRESSE, 1993).

III-3- Contamination des denrées alimentaires par *Listeria monocytogenes*.

Du fait de son caractère ubiquiste, *Listeria monocytogenes* peut contaminer les aliments à différents stades (Sutra, 1998)

Le Tableau VII, nous renseigne sur le taux de contamination des différentes catégories d'aliments par *Listeria monocytogenes*.

Tableau VII : Pourcentage de contamination des différentes catégories d'aliments par *Listeria monocytogenes* (PUJOL-DUPUY, 2004).

Type de produit	Pourcentage de contamination par <i>L. monocytogenes</i> (%)
Produits carnés	16
Produits de la mer	10, 2
Produits laitiers	4, 7
Produits végétaux	4, 5
Pâtisseries	4, 3

III-4-Contamination des viandes par *Listeria monocytogenes*

Les viandes crues sont souvent contaminées par *Listeria monocytogenes*. Leur nombre est en général faible, mais il semble aujourd'hui difficile d'éviter leur présence dans ce produit. (CATTEAU, 2006).

La récente éclosion de listériose au Canada en août, 2008 a été provoquée par des produits à base de viandes. En effet l'implication des produits carnés dans l'apparition de cas de Listériose a été établie dès 1987. (McLAUHLIN et al, 1991).

Listeria monocytogenes a été isolée dans la viande de bœuf, de mouton, de porc, de cheval, de buffle, de chèvre et de volaille. Selon des études effectuées, le pourcentage d'échantillons positifs variait de 0% à 50%. (CATTEAU, 1996 ; MOLL et MOLL, 2002).

L'abattoir constitue l'un des points critiques majeurs de l'hygiène des viandes et l'abattage des viandes est considéré comme l'étape où les plus grandes opportunités de contamination existent (80 % à 90% de la microflore des viandes parvenant aux consommateurs résultent de contaminations survenues à l'abattoir). (DENNA• et al, 2001).

Les opérations d'abattage de bétails tels que le saignement, le dépouillement et l'éviscération exposent le muscle stérile aux contaminants microbiologiques qui sont présents sur la peau et dans les régions digestives. Une contamination par les opérateurs ou via l'environnement est aussi possible tout au long de la filière de transformation, distribution ou consommation (CORANTIN et al, 2005).

Les carcasses et les viandes de découpe peuvent être contaminées par les animaux de boucherie porteurs du germe, mais également par le taux d'humidité et la température

environnante au cours des opérations d'abattage et de transformation des viandes. (DENNA•, 2001 ; LARPENT, 2004).

La croissance de *Listeria monocytogenes* sur la viande dépend de plusieurs facteurs : la manipulation (coupes et contact avec des surfaces souillées), les types de muscles, les différents procédés de transformation faisant intervenir divers facteurs, tels que la température, le pH, l'Aw, la concentration en sel, et le type de microflore associée. (CARLIER et al, 1996).

La viande hachée de bœuf et de porc, présentent des taux de contaminations par *Listeria monocytogenes* de l'ordre de 25 % et 16 %. (DUCARME, 2002).

Listeria monocytogenes peut donner lieu à des contaminations croisées tout au long de la chaîne de fabrication des produits « viandes » et ultérieurement en cuisine (JOUVE, 1996).

Des études ont démontré que plusieurs bactéries mésophiles à l'origine de toxi-infections alimentaires (TIA) ont été isolées de la viande fraîche à savoir: *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter spp*, *Echerichia coli enterohemorragico* et *Listeria monocytogenes*.

La majeure partie de ces micro-organismes ne peut se développer à des températures de réfrigération. Cependant, quelques uns d'entres eux comme *Yersinia enterocolitica* et *Listeria monocytogenes* peuvent se développer à ces températures et par conséquent, constituer un risque pour la santé du consommateur (DJENANE, 2005).

III-5- Effet du froid et de la congélation sur la croissance de *Listeria monocytogenes* dans la viande fraîche

Ø La réfrigération

Listeria monocytogenes peut croître à des températures comprises entre 1°C à 45°C. L'entreposage des viandes, à une température de 2 à 3°C permet, selon ELMNASSER *et al* (2006), de diminuer considérablement le taux de croissance de ce pathogène par formation d'une couche protectrice en surface alors qu'une température de 7°C (température réglementaire en Europe et en Algérie) permet largement la croissance de *Listeria monocytogenes* (NICKLAUS, 2001).

Ø La congélation

Listeria monocytogenes met en place des systèmes d'adaptation au stress froid (températures de congélation) en entraînant des changements au niveau de la synthèse

protéique, de la membrane et des autres structures cellulaires pour l'adaptation aux nouvelles conditions environnementales. Elle fait intervenir les mécanismes suivants :

-Ajustement de la fluidité membranaire par un changement de composition en acides gras membranaires.

-Accumulation des solutés compatibles de l'environnement et synthèse des protéines du choc froid. (ELMNASSER *et al* ,2006).

✓ **Modification de la perméabilité**

L'adaptation bactérienne aux basses températures entraîne une modification de la quantité et de la composition lipidique membranaire dont le but est d'assurer une fluidité membranaire optimale dans un processus appelé "adaptation homéovisqueuse"

L'adaptation aux basses températures de *Listeria monocytogenes* est accomplie par les types de ramification iso et anteiso et par la diminution de la longueur de la chaîne des acides gras ; les acides gras ramifiés (ramification anteiso) augmentent ainsi la fluidité de la membrane cytoplasmique, (ELMNASSER *et al*, 2006).

✓ **Modification de l'activité métabolique**

La croissance de *Listeria monocytogenes* aux basses températures est liée :

- Ø À l'accumulation de solutés organiques tels que la glycine bêtaïne et la carnitine .ce sont les osmolytes les plus utilisés par cette bactérie pour la cryotolérance (résistance au froid). ANGELIDIS *et al*, 2002, ont montré que la glycine bêtaïne était le cryotolérant favori de *Listeria monocytogenes* pour sa croissance.
- Ø À l'induction d'un groupe spécifique de protéines nommées protéines de choc froid (Csps : cold shock proteins) (ELMENASSER *et al*, 2006).

III-6-Les facteurs influençant la sensibilité de *Listeria monocytogenes* à la congélation

✓ **Etat physiologique de la bactérie**

GENOT (2000), a constaté que les bactéries montrent une très grande fragilité lorsqu'elles sont en phase exponentielle de croissance. La bactérie est moins influencée par le refroidissement en phase de latence car l'activité métabolique est réduite.

✓ **Température d'entreposage avant congélation**

Un entreposage à 4°C avant congélation augmente la résistance de *Listeria monocytogenes* car leur niveau de survie est de 90% (ELMNASSER *et al*, 2006). Ceci indique que la survie est influencée par les conditions préalables de congélation.

SINDIC (2005), rapporte que la congélation à -198°C puis le stockage à -18°C est plus létale pour *Listeria monocytogenes* que la congélation et le stockage à -18°C.

✓ **Vitesse et température de congélation**

La congélation lente est plus traumatisante pour la bactérie que la congélation rapide. Résultats confirmés par LEYRAL et VIERLING (2001), par le fait de la formation de cristaux de glace plus gros et par l'augmentation de la cryoconcentration des solutés à l'intérieur des cellules.

D'après ROSSET (1996), les températures de congélation élevées, détruisent un plus grand nombre de protéines fonctionnelles notamment les enzymes.

✓ **Effet des cryoprotecteurs**

Les cryoprotecteurs sont des composés chimiques qui permettent aux cellules bactériennes de maintenir leur viabilité aux basses températures de la congélation.

Certains constituants de la matrice alimentaire ont un effet protecteur vis-à-vis de l'action létale de la congélation sur *Listeria monocytogenes*, tels que le NaCl, la matière grasse, le glycérol, le glucose...etc. (ROSSET, 1996).

IV - Listériose

IV-1-Définition

La listériose est une maladie d'origine bactérienne, commune à l'homme, et à l'animal dont l'agent causal est *Listeria monocytogenes*.

La listériose se traduit cliniquement, par des gastro-entérites, des bactériémies, des septicémies, des méningites, ou méningo-encéphalites, des avortements avec une morbidité relativement faible (3 à 6 cas / million d'habitants / an) mais avec une létalité élevée, de l'ordre de 20% à 30% (COSSART, 2004 ; GOULET et al, 2004).

VI-2-Modes de contamination

La listériose humaine est due essentiellement à la consommation d'aliments contaminés par *Listeria monocytogenes* (99% des cas aux USA) (ROGEAUX, 1999).

AUDURIER, (1982) et LARPENT, (2004) décrivent 3 modes de contamination :

- **Contamination directe** : c'est le mode de contamination le plus fréquent, consécutif à l'ingestion d'aliments contaminés (lait, viande, crudités).

Cette contamination peut se faire par l'intermédiaire du milieu extérieur (sol, poussière, fumier) ou par des sécrétions et excréments animales (membranes fœtales, fèces).

- § **Contamination directe avec l'animal** : très rare, observée chez les vétérinaires lors d'interventions obstétricales sur des animaux infectés.

- § **Contamination nosocomiale** : rare, la contamination interhumaine est possible, il s'agit des infections croisées entre nouveau-nés.

IV-3-Dose infectieuse (DMI)

La consommation d'un aliment contaminé, n'induit pas automatiquement une infection chez l'homme. Le taux de contamination doit atteindre un seuil bien déterminé qui constitue la dose minimale infectieuse est qui est, selon ROCOURT (1999), le plus petit nombre de bactéries capable de générer une infection.

Si l'idée est intéressante, notamment comme base de réflexion en matière de réglementation alimentaire, sa détermination est difficile en raison de l'intervention de divers facteurs : l'état de santé de l'hôte, la virulence de la souche, le type et la quantité de l'aliment ingéré (PEIRIS, 2005).

Les résultats de dénombrement de *Listeria monocytogenes*, dans les aliments impliqués dans des épidémies ou encore dans des cas sporadiques, permettent actuellement une approche de la dose minimale infectieuse, estimée à 100 UFC par gramme (g) ou millilitre (ml).

(BORNERT *et al*, 2003),

En effet l'analyse de ces données montre qu'aucun cas de listériose humaine n'aurait été causé par un aliment contaminé par moins de 100 UFC par g ou ml.

IV-4-Personnes à risque

La listériose humaine concerne essentiellement les femmes enceintes, les nouveau-nés contaminés par leur mère, les individus présentant des troubles du système immunitaire et les personnes âgées (BERCHE, 2002 ; HERRO, 2006).

Selon le Centre National de Référence des *Listeria* (CNRL) France on distingue 3 groupes de personnes dites sensibles à la listériose:

- Personnes atteintes d'hémopathie, transplantées, atteintes de SIDA ;
- Personnes atteintes de Cancer et les hémodialysées ;
- Personnes diabétiques, mal équilibrées et les alcooliques.

IV-5- Pathogénie de l'infection

Listeria monocytogenes est un parasite intracellulaire facultatif, capable de se multiplier dans les monocytes et les macrophages résidents des tissus, mais les polynucléaires neutrophiles sont très listéricides.

Cette bactérie peut aussi envahir les cellules épithéliales, et s'y multiplier. Elle peut aussi envahir les fibroblastes, les hépatocytes et les cellules endothéliales.

Cette multiplication intracellulaire est à l'origine des foyers granulomateux disséminés dans les tissus, avec accumulation de cellules inflammatoires.

À partir de ces foyers, *Listeria monocytogenes* peut se disséminer par voie sanguine et infecter ainsi le système nerveux central et le placenta (STRUILLOU et RAFFI, 1997 ; PEIRIS, 2005).

IV-5-1- Portes d'entrée

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.

D'autres portes d'entrée ont été suspectées mais non démontrées. Notamment les voies respiratoires supérieures (angine, pharyngite, infection pseudo grippale).

Une fois l'épithélium digestif traversé, les bactéries prolifèrent particulièrement au niveau des Plaques de Peyer où elles sont phagocytées par les macrophages résidents dans la lamina propria.

A ce niveau, elles circulent libres ou dans des macrophages via la lymphe, vers les ganglions lymphatiques régionaux puis vers la circulation sanguine et faciliteraient ainsi l'invasion ultérieure d'organes tels la rate et le foie (BERCHE *et al*, 2000 ; HERRO, 2006).

IV-5-2- Multiplication hépatique

Le foie et la rate présentent les principaux organes filtres du système sanguin. À ce niveau, les bactéries sont très rapidement ingérées et détruites par les cellules phagocytaires du système réticulo-endothélial et en particulier par les macrophages résidents du foie, les cellules de Kupffer.

Les bactéries survivantes peuvent se multiplier dans les macrophages et/ou envahir les hépatocytes adjacents qui représentent un site privilégié de multiplication intracellulaire. La multiplication bactérienne dans les tissus entraîne une réponse inflammatoire intense avec la formation de granulomes (BERCHE *et al*, 2000).

Les études menées sur différents animaux, tels le lapin, le rat, le cobaye et la souris ont permis d'envisager le scénario d'infection animale le plus probable (figure n° :3).

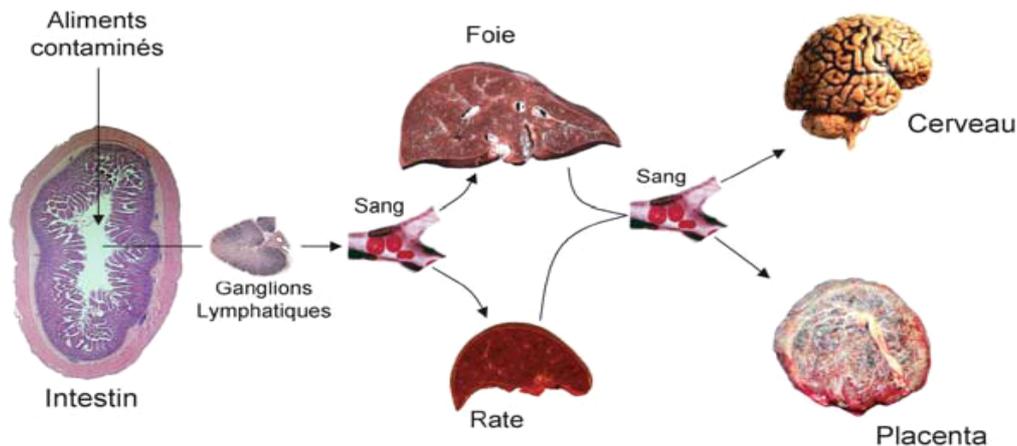


Figure n° 3 : Différentes étapes du cycle d'infection cellulaire *in vivo* de *Listeria monocytogenes* (HERRO, 2006).

IV-5-3- Contrôle de l'infection par les systèmes immunitaires

La réponse immunitaire déclenchée par *Listeria monocytogenes* fait intervenir les polynucléaires neutrophiles (listéricide), les macrophages, les cellules Natural Killer (NK) et les lymphocytes T qui s'organisent en granulome. Les macrophages infectés par *Listeria monocytogenes* libèrent de l'interleukine 1 (IL1), de l'interleukine6 (IL6), du TNF• (Tumor

Necrosis Factor) et de l'interleukine 12(IL12), et présentent les peptides antigéniques de *Listeria* aux lymphocytes T CD4 et CD8.

L'IL12 crée un microenvironnement favorable à l'expression d'un programme de différenciation des lymphocytes CD4 type TH1 qui produit de l'interféron gamma (IFN•) et de l'interleukine 2 (IL2). L'interféron gamma (IFN•) active les cellules phagocytaires et augmente leur pouvoir bactéricide.

L'interleukine 2 (IL2) entraîne la prolifération des lymphocytes CD8 cytotoxiques. Des lymphocytes T mémoires spécifiques qui sont responsables d'une clairance bactérienne rapide en cas de réinfection (STRUILLOU et RAFFI, 1997).

La plupart du temps, le système immunitaire à médiation cellulaire, contrôle l'infection chez les sujets immunocompétents qui feront une infection souvent asymptomatique.

Cependant, si l'inoculum est massif ou, chez certains sujets fragilisés, l'infection n'est pas contrôlée par le système immunitaire au cours de la phase hépatique et les bactéries sont relâchées 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 *et al*, 2000).

Le rôle de l'immunité humorale dans l'infection à *Listeria monocytogenes* est moins bien défini (STRUILLOU et RAFFI, 1997).

IV-5-4- Parasitisme intracellulaire

Le parasitisme intracellulaire de *Listeria monocytogenes* est le mécanisme crucial du pouvoir pathogène, expliquant le caractère invasif des bactéries et leur capacité de dissémination. BERCHE (2002).

La bactérie entre en contact étroit avec la cellule hôte, grâce à l'interaction entre l'internaline, une protéine de 80 Kda codée par le gène *intA* et exposée à la surface de la bactérie, et des récepteurs de type E-cadherine présents sur les cellules de l'hôte (BERCHE, 1995 ; BIERNE *et al*, 2004).

Cette interaction spécifique, induit dans les cellules eucaryotes telles que les cellules Caco-2 (lignée de cellules intestinales humaines) un processus s'apparentant à la phagocytose.

Une deuxième protéine de surface, l'internaline B (Inl B) agit pour favoriser l'entrée dans certaines cellules telles que les hépatocytes. Ces interactions spécifiques induisent, dans les cellules eucaryotes, un processus s'apparentant à la phagocytose de la bactérie (BRESABOIS *et al*, 2000). Les bactéries sont dans un phagosome et gagnent le cytoplasme.

PEIRIS (2005), rapporte que la bactérie échappe rapidement au phagosome par l'action de deux protéines, la listeriolysine O (LLO), une exotoxine hémolytique de 58 Kda, codée par le gène *hly*, et la phosphatidylinositol phospholipase C (PI-PLC), codée par le gène *plcA*.

La bactérie accède ainsi au cytoplasme où elles se multiplient et polymérisent l'actine F en actine G, créant des « comètes » d'actine qui propulsent les bactéries vers la membrane cytoplasmique des cellules adjacentes. Ceci est dû à la protéine Actine A (Act A) qui permet la dissémination des bactéries de cellules en cellules. (COSSART, 1995).

Dans la nouvelle cellule la bactérie est entourée d'une double membrane cytoplasmique qu'elle lyse par l'action de la phosphatidylcholine phospholipase C (PC-PLC), codée par le gène *plcB*, la bactérie commence ainsi un nouveau cycle de multiplication (BERCHE, 2001).

Les différentes étapes du parasitisme intracellulaire de *Listeria monocytogenes*, sont illustrées dans la figure n° :4 et 5.

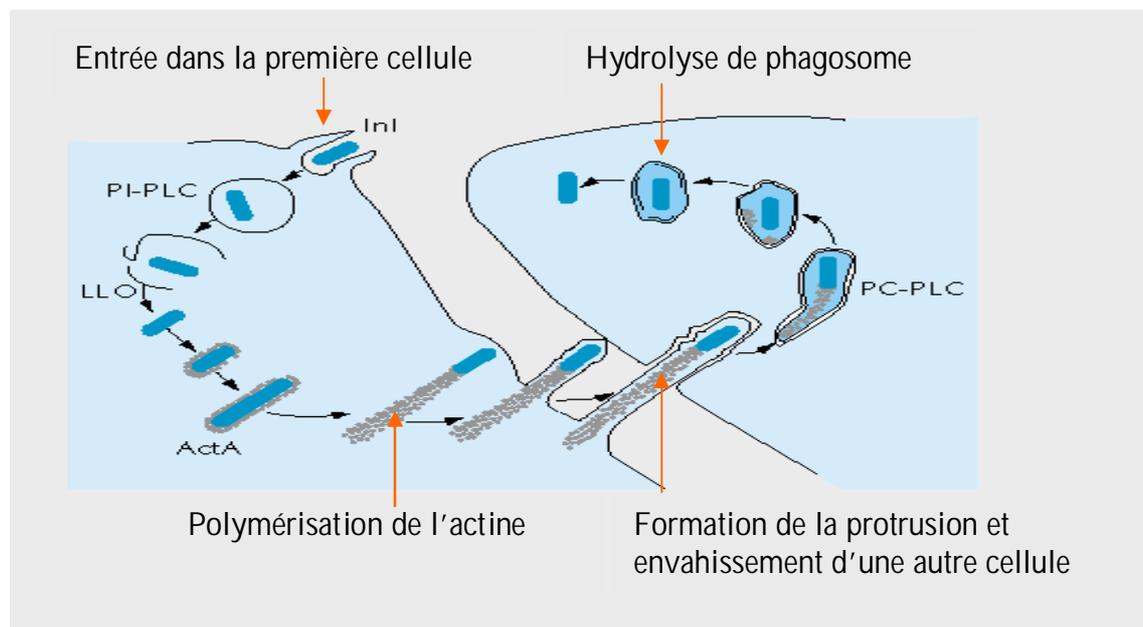


Figure n° 4 : Etapes de parasitisme intracellulaire de *Listeria monocytogenes* (BERCHE, 1999)

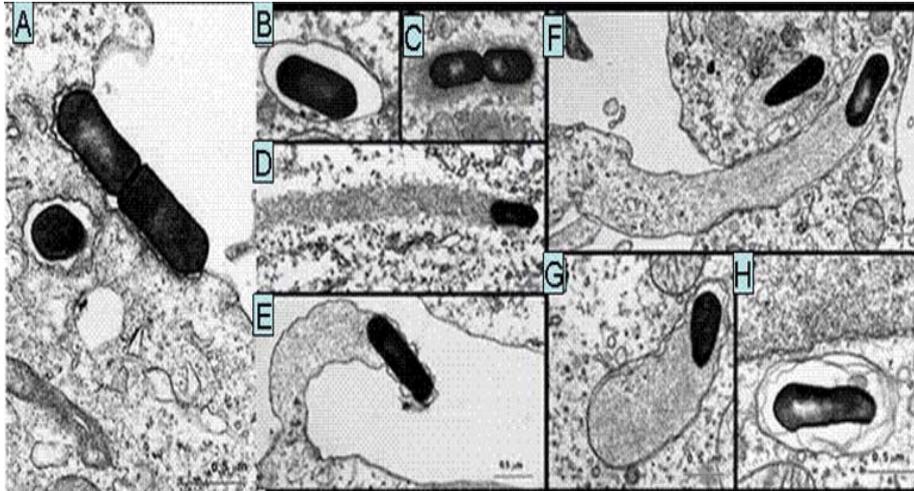


Figure 5: Etapes du parasitisme intracellulaire de *Listeria monocytogenes* (HERRO, 2006)

A : adhésion et entrée, **B** : bactérie à l'intérieur de la première vacuole, **C** : multiplication intracellulaire, **D** : polymérisation d'actine et mouvement intracellulaire, **E** : formation de la protusion, **F** : passage de cellule en cellule, **G** : bactérie à l'intérieur de la seconde vacuole à deux membranes, **H** : lyse de la seconde vacuole.

IV-5-5- Facteurs de virulence

Les facteurs de virulence sont définis comme étant des substances produites par les microorganismes et qui peuvent nuire à la relation hôte bactérie. Ce terme comprend toutes les composantes du microorganisme pouvant intervenir dans l'établissement d'une infection.

Selon (NADEAU, 1998 ; LARPENT, 2004), les gènes impliqués dans la virulence de *Listeria monocytogenes* sont aussi présents chez *Listeria ivanovii* et *Listeria seeligeri*, une espèce généralement non pathogène.

L'emplacement des principaux gènes intervenants dans la virulence de *Listeria monocytogenes* sont illustrés dans la figure n° :6.

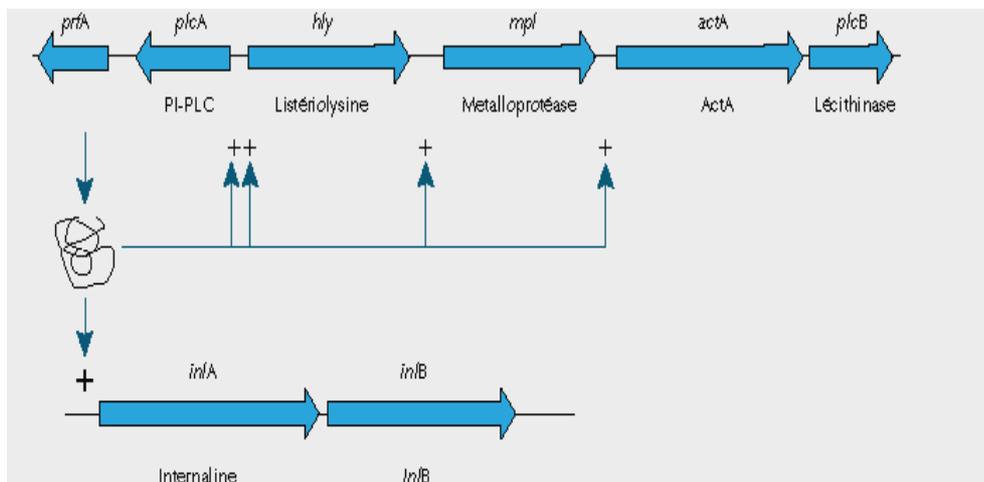


Figure n° 6 : Les gènes de virulence de *Listeria monocytogenes* (JACQUET, 2002).

a. Internaline

Les internalines sont des protéines qui favorisent l'attachement et l'internalisation d'une bactérie pathogène aux cellules épithéliales de l'hôte.

Les premières internalines sont exprimées grâce au gène *inl* AB. La première partie du codon, le gène *inl* A est essentielle pour *Listeria monocytogenes* dans l'invasion des cellules épithéliales. Il code pour une protéine (internaline A) de 80 kDa. La deuxième partie du codon, le gène *inl* B code pour une protéine (internaline B) de 65 kDa essentielle pour l'entrée de *Listeria monocytogenes* dans les hépatocytes (NADEAU, 1998).

b.Hemolysine

L'activité hémolytique de *Listeria monocytogenes* est due à la sécrétion, par toutes les souches de cette espèce, d'une exotoxine thiol dépendante dénommée listériolysine O, protéine de 58 kDa codée par le gène *hly* et régulée par le gène *prfA* (LARPENT, 2004).

La listériolysine O (LLO) possède une activité maximale à pH 5, et elle est inactive à pH 7. Cette propriété expliquerait que cette protéine puisse lyser la vacuole intra cytoplasmique (dont le pH est acide) sans altérer la membrane cytoplasmique des cellules (EUZEBY, 2000).

c. Lipases

Deux phospholipases C ont été identifiées chez *Listeria monocytogenes*.

§ La première est une phospholipase C phosphatidyl-inositol spécifique (PI-PLC) de 36 kDa et codée par le gène *Plc-A*. L'hydrolyse du phosphatidyl-inositol et le glycosyl-

phosphatidyl- inositol libère des produits capables de mobiliser le calcium dans le milieu intracellulaire, ce qui active la polymérisation de l'actine nécessaire à la phagocytose de la bactérie par la cellule et au mouvement de la bactérie (NADEAU, 1998 ; LARPENT, 2004).

§ La seconde est une phosphatidylcholine phospholipase C (PC-PLC) appelée aussi lécithinase. C'est une enzyme zinc dépendante de 29 kDa codée par le gène *plcB*. Chez *L. monocytogenes*, la lécithinase est nécessaire pour lyser la double vacuole formée lors du déplacement de la bactérie de cellule en cellule durant l'infection (NADEAU, 1998 ; LARPENT, 2004).

d.Queue d'actine

L'assemblage asymétrique de l'actine requiert de la protéine de surface act A de 90 kDa codée par le gène *iact A*. Cette queue d'actine propulse la bactérie de manière aléatoire dans le cytoplasme et induit la formation de protubérances cellulaires qui seront phagocytées par la cellule adjacente pour donner naissance à des vacuoles à double membranes. Cette stratégie permet aux bactéries de se disséminer au sein d'un tissu sans jamais quitter le cytoplasme (EUZEBY, 2000).

d.Catalase et superoxyde dismutase

La catalase et la superoxyde dismutase sont des enzymes qui détoxifient les composés toxiques de l'oxygène, comme l'anion superoxyde (O_2^-), ces enzymes sont produites par les macrophages et les neutrophiles et permettent ainsi à la bactérie de survivre. (NADEAU, 1998).

De nouveaux facteurs de virulence de *Listeria monocytogenes* ont été identifiés, dont une protéine liant la fibronectine et un système à deux composants qui régulent la structure des acides lipotechoïques. La comparaison des génomes de *Listeria monocytogenes* et *Listeria innocua*, non pathogènes, a permis d'identifier d'autres protéines de virulence dont une hydrolase de sels biliaires qui permet la persistance de la bactérie dans l'intestin, une autolysine qui participe à l'entrée des bactéries dans les cellules, une phosphatase, ainsi qu'une nouvelle internaline (GRISON, 2006).

IV-6-Clinique de la listériose

IV-6-1-Maladie chez l'homme

En médecine humaine on distingue deux formes cliniques qui sont :

La listériose non invasive et la listériose invasive.

§ Listériose non invasive :

Connue aussi sous le nom de gastro-entérite fébrile à *Listeria monocytogenes*. Elle se manifeste après quelques heures d'incubation sous forme de diarrhées, céphalées, fièvres et myalgies. Elle survient suite à la consommation d'aliments massivement contaminés par des personnes immunocompétentes (BUCHANAN *et al*, 2004).

§ Listériose invasive

Selon BERCHE (2002), la période d'incubation est de 3 jours à 8 semaines. Dans ce cas l'infection digestive se propage à d'autres organes stériles. Elle touche essentiellement les sujets fragiles.

Il s'agit de l'infection du nouveau-né et de la femme enceinte et de l'infection de l'adulte (PEIRIS, 2005).

- **Listériose materno-fœtale et du nouveau-né**

Cette infection est souvent observée au cours du troisième trimestre, elle est le plus souvent réduite à un épisode pseudo grippale qui s'accompagne de fièvre, de pharyngite, de céphalées, de myalgies. Les formes fœto-maternelles représentent environ 30% des infections sporadiques à *Listeria*.

Cette forme peut se traduire par un avortement, la naissance d'un enfant mort né ou la naissance d'un enfant contaminé (STRUILLLOU et RAFFI, 1997 ; HERRO, 2006).

La contamination du fœtus peut se faire de deux manières :

-Directement par voie sanguine In utero ou dans 90% des cas, avec colonisation du placenta où plusieurs abcès se forme.

-Durant la période précédant l'accouchement. Dans 10 % des cas, la contamination peut être ascendante par l'intermédiaire du liquide amniotique ou alors s'effectuer au cours du passage dans les voies génitales (PUJOL- DUPUY, 2004).

Chez le nouveau né, on distingue deux formes.

Forme néonatale précoce :

Le fœtus est infecté In utero suite à une bactériémie chez la mère quelques heures après l'accouchement. La maladie se présente sous la forme d'une septicémie. On observe alors des granulomes dans différents organes, en particulier, le foie. (ROGEAUX, 1999 ; BRESABOIS *et al*, 2000).

Forme néonatale tardive :

Elle est observée quelques jours ou quelques semaines après la naissance. Elle se traduit par une infection du système nerveux central (méningite), elle est due à une contamination lors du passage par les voies génitales contaminées.

Il peut s'agir exceptionnellement d'une contamination nosocomiale. La mortalité est variable (5 à 17%), elle est surtout liée au degré de prématurité (PUJOL- DUPUY, 2004).

Ø Listériose de l'adulte

La symptomatologie repose sur des bactériémies, des infections du système nerveux central (méningites, méningo-encéphalites, encéphalites), mais aussi sur des formes rares (endocardites, abcès de localisations diverses, hépatite, pleurésie, ostéomyélite, arthrite, etc.).

Il est à noter que des cas de listériose non invasive sont de plus en plus observés. Des formes cliniques semblent être en relation avec l'intervention de causes favorisantes : diabète, alcoolisme, maladie virales (PUJOL-DUPUY, 2004).

IV-6-1-2-Diagnostic et traitement de la listériose humaine

Le diagnostic d'une listériose est fondé, selon CATTEAU (2006), sur l'isolement de pathogène à partir de prélèvements cliniques, tels que le sang et le liquide céphalorachidien.

L'hémoculture est souvent le seul moyen pour diagnostiquer une encéphalite à *Listeria monocytogenes*, puisque le liquide céphalorachidien ne se positive qu'après infection des méninges (BRESABOIS *et al*, 2000).

Dans le cas d'une infection néonatale, FLANDROIS (1997), rapporte que l'isolement de *Listeria monocytogenes* sur l'enfant se fait à partir de prélèvements surtout du liquide gastrique ou dans le placenta. Le diagnostic sérologique a peu d'intérêt.

Le traitement d'une listériose, chez l'homme, repose sur une antibiothérapie, qui doit être administrée le plus tôt possible, et s'étale sur une période de 3 à 4 semaines.

Selon BERCHE (2001), *Listeria monocytogenes*, est sensible à la pénicilline G, à l'amoxicilline, aux aminosides et aux tétracyclines.

Une résistance naturelle de *Listeria monocytogenes* est notée vis-à-vis de certains antibiotiques, notamment les céphalosporines et la fosfomycine (EUZEBY, 2000).

IV-6-2-Maladie chez l'animale

Chez les animaux tous les cas de listériose observés ont une origine alimentaire, La principale source de contamination pour les ruminants est l'ingestion d'ensilage de mauvaise qualité et fortement contaminé (pH élevé, broyage trop grossier des végétaux, présence de terre ou stockage à l'extérieur, lessivage par les pluies, mauvaise protection par des bâches abîmées, etc.). Ces ensilages peuvent parfois contenir jusqu'à 10^7 bactéries par Kg (EUZEBY, 2000 ; BERCHE *et al*, 2000).

La contamination de ses ensilages constitue l'origine principale de la contamination animale. En élevage, on retient un taux de portage de 80% du cheptel (BOUGHRIRA *et al*, 2004).

L'office fédéral de la santé publique et le CNRL suisse ont annoncé pour l'année 2006, 20 cas de listériose dont 10 chez les moutons, 5 chez les chèvres et 5 chez les bovins.

Certains auteurs comme AUDURIER, (1982) ; BERCHE, GAILLARD et SIMONET, (1991) ; CATTEAU, (1996) ; BERCHE *et al*, (2000) ; DOZ, (2007) déclarent que la listériose animale survient principalement en hiver et au printemps.

Cependant, Il n'existe aucune relation entre les épidémies du bétail observées en hiver et au printemps et celles observées chez l'homme durant la période estivale. (NADEAU, 1998).

Ø Maladie chez les Ruminants

Listeria monocytogenes est responsable chez les ruminants domestiques, de méningo-encéphalite, de septicémie, d'avortement et de mammite.

§ Avortement :

Il résulte d'une contamination qui peut être due à *Listeria monocytogenes* et *Listeria ivanovii* de l'utérus gravide par voie hématogène. Après une durée d'incubation de 5 à 12 jours, les animaux sont affaiblis et anorexiques, présentant une fièvre et une diarrhée profuse, mais parfois, aucun signe clinique n'est observé. L'avortement survient le plus souvent dans les derniers mois ou les dernières semaines de gestation (CATTEAU *et al*, 2000 ; EUZEBY, 2000).

§ Méningo-encéphalite :

C'est une forme classique chez les adultes mais aussi chez les très jeunes animaux. Elle se traduit par une prostration, une marche en cercle (« circling disease »), une perte de l'équilibre. Dans certains cas, on peut aussi observer des hyperthermies, strabisme, chute des paupières, chute des oreilles, difficultés de mastication,

dysphagie, salivation excessive. Malgré les traitements, les animaux meurent rapidement. Chez les ovins, et les caprins, la mort survient au bout 2 à 3 jours mais chez les bovins, la durée est plus longue (4 à 14 jours). (EUZEBY, 2000).

§ **Septicémie** :

Elle est observée principalement chez les nouveau-nés et les jeunes animaux et aussi chez les brebis gravides. Elle se traduit par une fièvre, une entérite sévère, des lésions d'ulcération, des abcès au niveau de la muqueuse intestinale et des plaques de Peyer. (EUZEBY, 2000).

§ **Mammites** :

Il arrive que les vaches ou les chèvres fassent une mammité à *Listeria*. Bien que rares, ces mammites présentent un danger pour la santé publique en raison de la présence des *Listeria* dans le lait. Ces mammites à *Listeria* sont souvent invisibles à l'œil nu, et le seul signe est parfois l'augmentation des leucocytes (FATET *et al*, 2001; SIMON *et al*, 2007).

Selon, EUZEBY, (2000), des uvéites, des kératoconjunctivites, des pneumonies, des endocardites et des myocardites ont également été décrites.

Ø **Chez les autres espèces animales**

Des septicémies accompagnées de nécrose hépatique sont habituelles chez les rongeurs : lapins, cobayes, souris, chinchilla, ainsi que chez les oiseaux chez lesquels on peut noter des lésions dégénératives au niveau du myocarde et péricardite.

La maladie est plus rare chez les chevaux, carnivores et poissons. (AUDURIER, 1982 ; EUZEBY, 2000).

IV-6-2-2-Diagnostic et traitement de la listériose animale

Le diagnostic repose sur l'isolement de la bactérie à partir de prélèvements effectués sur les animaux malades ; avortons, placenta, système nerveux...etc. L'ensemencement se fait sur milieu sélectif après broyage des échantillons (SIMON, 2001).

Le traitement, utilisé en pratique, est l'une des associations : ampicilline-gentamicine, Spiramycine - métronidazole, ampicilline-colistine ou les tétracyclines, pendant 7 à 10 jours au moins (SIMON, 2001).

IV-7- Epidémiologie de la listériose

En 1953, POTEL, a émis l'hypothèse de la transmission alimentaire de la listériose humaine. Celle-ci n'a été confirmée que 30 ans plus tard, en 1981 lors de l'épidémie survenue au Canada (la salade de choux en était l'origine). (STRUILLOU et RAFFI, 1997 ; LARPENT, 2004).

La listériose humaine se présente sous l'une des trois formes Sporadiques, Infections nosocomiales, Epidémies. (ROCOURT, 1998).

Les épidémies d'origine alimentaires sont, incontestablement les plus fréquentes et se soldent, généralement par 20 à 30% de mortalité.

IV-7-1- Incidence et répartition de la listériose

L'incidence annuelle de la listériose est souvent assez faible (moins de 10 cas par million d'habitants), mais le taux de mortalité qu'elle entraîne est assez élevé (20 à 30% des cas) (SINDIC, 2005).

La répartition géographique de cette maladie est mondiale, mais il semble qu'elle est plus fréquente dans les pays industrialisés.

En Europe 0.3 à 7.5 cas /million d'habitants ; aux USA 4.4 cas/ million d'habitants.

Reste à savoir maintenant si les différences dans le taux d'incidence entre les pays industrialisés et les pays en voie de développement, sont dus aux différences géographiques réelles ou aux différences dans les habitudes alimentaires ou encore dans les différences concernant le diagnostic et les modes de déclaration. Ou alors que des épidémies de listériose soient passées inaperçues dans le tiers-monde (BUCHANAN *et al*, 2004).

En Algérie comme dans de nombreux autres pays d'Afrique la situation, selon RAMDANI-BOUGUESSA et RAHAL (2000), est difficile à évaluer car peu d'études sont faites sur ce sujet, de plus n'étant pas une maladie à déclaration obligatoire, on ne peut connaître le nombre de cas annuel.

En Algérie aucune épidémie n'a été rapportée et seuls deux cas sporadiques ont été signalés, au moment où en France, la listériose est devenue une maladie à déclaration obligatoire depuis 1998.

Les principales épidémies de listériose humaines, ont été répertoriées dans le monde en fonction de leur localisation, des denrées en cause, des années et du nombre de cas. Elles sont illustrées dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Epidémies de listériose survenues dans le monde de 1981 à 2003. D'après les données de la commission *Listeria* de l'AFSSA (PUJOL-DUPUY, 2004).

Pays	Année	Nombre de cas	Aliment impliqué
Canada	1981	41	Salade de chou.
USA	1983	49	Lait pasteurisé.
Suisse	1983-1987	122	Fromage a pâte molle (vacherin).
Danemark	1985-1987	35	?
USA	1985	>142	Fromage à pâte molle (mexicain style).
Royaume uni	1987-1989	>350	
Irlande			Pâté.
USA	1989	10	Crevettes.
Australie	1990	9	Pâté.
Nouvelle Zélande	1992	2	Moules fumées
France	1992	279	Charcuterie : langue de porc en gelée.
France	1993	38	Charcuterie : rillettes.
Italie	1993	39	Salade de riz.
Suède	1994-1995	9	Poisson fumé.
USA	1994	45	Lait chocolaté.
France	1995	36	Fromage à pâte molle : brie
Italie	1997	>1000	Salade de maïs et de thon
Finlande	1997 ?	5	Poisson fumé.
France	1997	14	Fromage à pâte molle : pont L'Evêque, Livarot
USA	1998-1999	101	Hot dog.
Finlande	1998-1999	1	Beurre.
France	1999	3	Fromage à pâte molle : type Epoisse
France	1999	10	Charcuterie : rillettes.
Finlande	1999-2000	10	Poisson.
France	10/1999-2/2000	32	Charcuterie : langue de porc en gelée.
France	5/2002-6/2002	9	Charcuterie : saucisse à tartiner.
France	9/2002-1/2003	8	Charcuteries : mortadelle

Partie Expérimentale

OBJECTIFS :

Au début de notre travail, nous nous sommes fixés deux objectifs principaux :

1. Mise en place de la technique de recherche et de dénombrement des *Listeria* dans les denrées alimentaires au niveau du laboratoire régional de Draa ben khedda.
2. Evaluation du degré de contamination (qualitatif et quantitatif) des viandes rouges vendues en l'état dans la willaya de TIZI-OUZOU.

Nous avons effectué notre travail au laboratoire régional de Draa-ben-Khedda à Tizi-Ouzou, qui est rattaché à l'institut national de la médecine vétérinaire.

La confirmation des souches *Listeria* a eu lieu au niveau du laboratoire des *Listeria* de l'Institut Pasteur d'Algérie à Dély Ibrahim.

Notre travail s'est échelonné sur une période de 10 mois soit de septembre 2006 à juin 2007.

MATERIEL
ET
METHODE

I- Matériel Et Méthode.

I- 1-Matériel

Nous avons utilisé le matériel usuel de laboratoire de microbiologie alimentaire (annexe4)

I-2- Echantillonnage

Notre étude a été réalisé sur 510 échantillons toutes viandes confondues, viande bovines et ovines fraîches, viandes bovines hachées et viandes bovines congelée désossée importées.

Leur répartition figure dans le tableau IX ci-après.

Tableau IX : Répartition des échantillons

Nature des produits	Nombre de prélèvements
Viandes Bovines Fraîches	120
Viandes Bovines Hachées	120
Viandes Bovines Congelées Désossés	150
Viandes Ovines Fraîches	120
Total	510

Les échantillons, pour essai, concernant les viandes fraîches bovines, ovines et les viandes bovines hachées ont été prélevés au hasard dans 06 boucheries différentes du centre ville de Tizi-Ouzou sur une période allant du mois de six (6) mois allant du mois de Janvier 2007 à juin 2007.

Cet échantillonnage a été sélectionné conformément aux règles d'échantillonnage et aux textes législatifs en vigueur.

Quant aux échantillons de viandes bovines congelées importées (V.B.C.D), ils ont été acheminés par les services vétérinaires des postes frontières du port de Bejaia pour des contrôles bactériologiques de routine. Ces derniers sont transportés dans des camions frigorifiques en respectant la chaîne de froid. Ces prélèvements arrivent aux laboratoires à l'état congelé, dans des cartons scellés avec le cachet de l'inspecteur vétérinaire, accompagnés d'une demande d'analyses dans laquelle sont mentionnées toutes les informations relatives aux prélèvements y compris l'origine et la date de congélation. L'échantillonnage, pour cette dernière catégorie, s'est effectué sur une période de 10 mois soit de septembre 2006 à juin 2007.

I-3- Méthode

Au cours de notre travail, la méthode d'analyse utilisée est la méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* dans les produits destinés à la consommation humaine et animale. Cette méthode est décrite dans la norme ISO 11 290 partie 2.

Méthode ISO 11290 - 2. Dénombrement de Listeria à partir des viandes.

Objet et domaine d'application.

Cette méthode consiste en la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* dans toutes les catégories de denrées alimentaires.

Ø Définition de *Listeria monocytogenes*

Microorganisme formant des colonies typiques sur milieu sélectif solide décrit et possédant les caractéristiques biochimiques, morphologiques et physiologiques décrites lorsque l'essai est effectué conformément à la présente norme.

Ø Dénombrement des *Listeria monocytogenes*

Détermination du nombre d'Unités Formant Colonies (UFC) de *Listeria monocytogenes*, dans une quantité déterminée de produit, lorsque l'analyse est effectuée conformément à la présente norme.

Principe

Le dénombrement de *Listeria monocytogenes* nécessite six étapes successives :

- Ø Préparation de la suspension mère;
- Ø Revivification pendant une heure à 20°C ;
- Ø Inoculation en surface du milieu sélectif solide coulé dans une ou deux boîtes de Pétri, avec une quantité déterminée de l'échantillon liquide ou de la suspension mère dans le cas d'autres produits ;
- Ø Incubation des boîtes à 35°C ou 37°C et examen après 24 h et 48 h ;
- Ø Confirmation des colonies présumées de *Listeria monocytogenes*;
- Ø Calcul du nombre de *Listeria monocytogenes* à partir du nombre de colonies confirmées par gramme de produit.

Référentiels.

- L'application correcte de cette méthode nécessite au préalable l'utilisation de certains référentiels parmi lesquels nous citerons :
- Norme ISO 11290 - 1 : Recherche des *Listeria* dans les denrées alimentaires.

- Norme ISO 11290 - 2 : Dénombrement de *Listeria monocytogenes* dans les denrées alimentaires.
- Norme AFNOR.NF V08-055 : Recherche des Listeria dans les denrées alimentaires.
- Norme AFNOR.NF V08-010 : Règles générales pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique.
- Norme NF EN ISO 6887-1 : Suspension mère et dilution décimales ; 1.règles générales.
- Norme NF V08-057-2 : Microbiologie alimentaire Directives générales pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique.
- Norme XP V 08 – 102 : Règles générales pour le comptage des colonies et pour l'expression des résultats.
- Norme XP V 08 – 102 : Règles générales pour le comptage des colonies et pour l'expression des résultats.
- Norme NF ISO - 7218 : Règles générales pour les examens microbiologiques.

Mode opératoire

Le mode opératoire nécessite six étapes successives parmi lesquelles :

Prise d'essai, suspension mère et dilution.

Pour préparer la solution mère, utiliser comme diluant :

- Ø Soit de l'Eau Peptonée Tamponnée,
- Ø Soit le milieu de base du bouillon Fraser au demi sans addition d'agents sélectifs : ce milieu peut être utilisé comme diluant pour le produit alimentaire si la méthode de recherche (ISO 11290-1) et la méthode de dénombrement sont effectuées sur le même échantillon pour essai. Cette opération permet d'éviter la préparation de deux suspension meres.les agents sélectifs ne sont ajoutés à la suspension mère qu'après la prise d'essai pour dénombrement.
- Ø Laisser reposer la suspension mère pendant 1h ± 5 minutes à 20 °C en utilisant, si nécessaire une étuve afin de revivifier les microorganismes stressés.si une gamme de dilution est utilisée, la préparer après revivification.

Ensemencement

A l'aide d'une pipette stérile transférer 0,1 ml de la suspension mère à la surface de chacune des boîtes contenant de gélose Palcam ou Oxford (fondue, refroidie, additionnée des agents

sélectifs correspondants, coulée en boîtes puis séchée). Répéter l'opération avec les dilutions suivantes à l'aide de nouvelles pipettes, comme le montre le logigramme ci-après.

Étaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface du milieu en évitant de toucher les bords de la boîte avec l'étaleur. Utiliser un étaleur stérile pour chaque boîte.

Laisser les boîtes fermées pendant 15 minutes environ à la température ambiante pour permettre à l'inoculum d'être absorbé dans la gélose.

Retourner les boîtes et les incuber à l'étuve à 35°C ou à 37 °C, soit en atmosphère aérobie, soit en atmosphère micro aérobie dans une jarre contenant un mélange gazeux.

Dénombrement des colonies caractéristiques

Après incubation, pendant 24h, et 18 h à 24 h supplémentaires, si le développement est faible ou si aucune colonie n'est observée après 24h d'incubation, examiner les boîtes afin de rechercher la présence de colonies présumées être des *Listeria spp.*

Dans le cas d'une incubation en atmosphère micro aérobie, laisser la gélose retrouver sa couleur pourpre en laissant les boîtes de gélose Palcam à l'air libre pendant 1h.

Après 24h d'incubation, les colonies caractéristiques de *Listeria spp.*, se présentent sous forme de petites ou très petites colonies vertes avec des reflets grisâtres ou vert olive, avec parfois un centre noir mais toujours entouré d'un halo noir.

Après 48 h d'incubation, les *Listeria* se présentent sous forme de colonies vertes de 1,5 à 2 millimètre de diamètre avec une dépression centrale et entourées d'un halo noir.

Compter alors toutes les colonies présumées être des *Listeria spp* pour chacune des boîtes contenant au moins 150 colonies caractéristiques et non caractéristiques.

Aspect des Listeria sur milieu Palcam

La photo n° : 1 montre l'aspect typique de *Listeria* sur gélose Palcam.

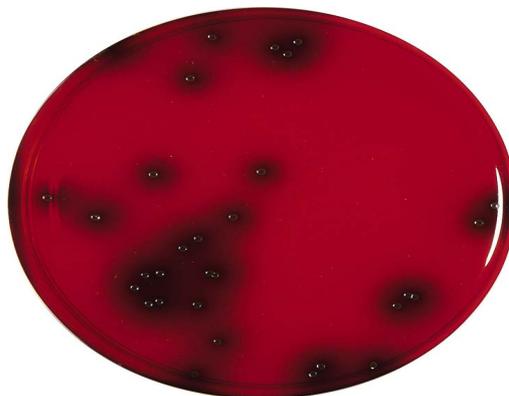


Photo n°1 : Aspect des *Listeria spp* sur gélose Palcam

Source :AES laboratoire

Aspect des Listeria sur milieu Oxford

La photo n° : 2, montre l'aspect typique de Listeria sur gélose Oxford



Photo n° 2 : Aspect des colonies de *Listeria spp* sur gélose OXFORD

Source :AES laboratoire

Confirmation du genre Listeria :

L'identification du genre *Listeria* est basée sur la coloration de Gram (petits bacilles Gram positifs) et la recherche de la catalase (catalase positive).

- Sélectionner des colonies pour la confirmation : pour cela, retenir les boîtes contenant au maximum 150 colonies présumées être des *Listeria spp* à toutes les dilutions et, si possible au niveau de deux dilutions successives ;
- Sélectionner trois à cinq colonies présumées sur chaque boîte retenue. Si une boîte présente moins de cinq colonies présumées, sélectionner pour la confirmation toutes les colonies présumées ;
- Ensemencer en stries les colonies sélectionnées sur la surface des boîtes de Pétri contenant de la gélose trypticase soja à l'extrait de levure (TSYEA) qui seront incubées à leur tour à l'étuve à 35°C ou à 37°C pendant 18 à 24h.

§ Réaction de catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la libération de molécules d'eau et d'oxygène à partir du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), un produit métabolique toxique pour les bactéries.

Pour se faire, on dépose sur une lame de microscope deux gouttes séparées de H_2O_2 à 20 volumes, la première servira de témoin et sur la seconde on dépose une colonie à tester. Le dégagement de bulles de gaz instantanément traduit une réaction est positive. Cette réaction est illustrée dans la photo n° :3.



Catalase -

Catalase +

Photo n° 3 : Réaction de catalase

Source : photo personnelle

§ Coloration de Gram

Effectuer une coloration sur de gram sur une colonie isolée. Au microscope optique, les *Listeria* se présentent sous forme de petits bacilles minces Gram positif en forme de « V » ou de « L », parfois en courtes chaînettes comme le montre la photo n° :4.

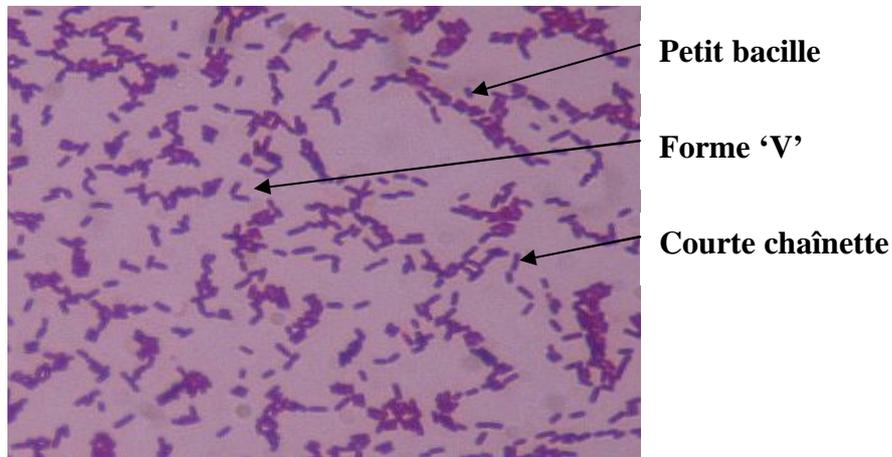


Photo n° 4 : Aspect de *Listeria* au Gram en microscopie optique au grossissement 10 x 100 (VOM, 2005)

Confirmation de l'espèce Listeria monocytogenes

§ Examen de la mobilité.

La mobilité peut être observée soit :

- § à l'état frais entre lame et lamelle. Dans ce cas, prélever une colonie et la mettre en suspension dans un tube contenant le bouillon à la tryptone de soja et à l'extrait de levure (TSYEB). Incuber à 25 °C pendant 8 à 24h jusqu'à ce qu'un trouble soit observé. Déposer ensuite une goutte entre lame et lamelle et l'examiner au microscope optique au grossissement 100 x 10. Les *Listeria spp.*, apparaissent sous forme de bacilles minces et courts animés d'une mobilité en pirouette ;

§ en milieu gélosé (gélose mobilité ou mannitol mobilité) dans ce cas, ensemercer par piqûre centrale deux tubes de gélose mobilité ou mannitol mobilité à partir d'une colonie typique. Le premier tube sera incubé à 25 °C, le second à 37 °C pendant 24 h à 48h. A 25 °C, *Listeria* spp donne une image typique de sapin renversé, témoignant de son caractère micro aérophile à 25°C.

§ **Esculine**

La mise en évidence de l'hydrolyse de l'esculine se traduit par l'apparition d'un halo noir autour des colonies de *Listeria* sur les géloses Palcam et Oxford (JOFFIN C. et JOFFIN J N., 2003).

§ **Réaction d'oxydase**

Cette réaction est aussi simple qu'instantanée. Il suffit de prendre un bâtonnet d'oxydase, mettre son extrémité en contact avec une colonie caractéristique, le laisser ensuite à l'air libre pendant 2 à 3 minutes. Le virage spontané au violet indique une réaction positive, cette réaction est illustrée dans la photo n° :5.

Aspect négatif du test



aspect positif du test

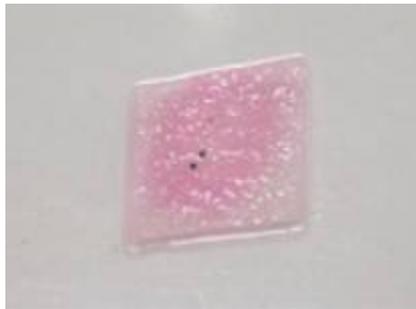


Photo n° 5 : Les espèces du genre *Listeria* sont oxydase négative.

Source : photo personnelle

§ **Réaction Voges Proskauer et Rouge de Méthyle**

La mise en évidence des voies fermentaires est de grande utilité pour le diagnostic des microorganismes. Beaucoup de bactéries et particulièrement les *Listeria* empruntent la voie dite des acides mixtes.

Une culture ayant poussée sur gélose de MH est ensemercée dans un tube contenant un milieu glucosé (Clarck et Lubs) puis incubée pendant 24h. Après incubation, verser la moitié du tube dans un autre tube stérile.

Le premier servira à la recherche de la réaction VP, après adjonction des réactifs créatine (VP I) puis l'alphanaphtol (VP II). Déposer le tube ouvert sur la paille en position inclinée pendant environ cinq minutes. Si la couleur vire au rouge orange, la réaction est dite positive ;

Le second servira à la recherche de la réaction RM. Ainsi le virage de la couleur au rouge vif après adjonction du réactif RM indique une réaction positive.

Listeria monocytogenes est VP positif et RM positif.

§ Réduction des nitrates

Une culture dense est réalisée sur un bouillon nitraté à partir de la gélose de TSAYE, que l'on incube à 37 °C pendant 24h. Après incubation, on rajoute 3 gouttes du réactif Nitrate I (acide sulfanilique), ensuite 3 gouttes du réactif Nitrate II (•-naphtylamine), puis observé est:

- L'apparition d'une coloration rouge ou rose indique la présence d'ions nitrites. Cela signifie que la bactérie possède une nitrate réductase capable de réduire les nitrates jusqu'au stade nitrites.
- Si le milieu reste incolore, on ajoute un peu de poudre de zinc, composé capable de réduire les ions nitrates en ions nitrites, puis agiter. La lecture se fera après quelques minutes :

§ Si l'on observe l'apparition d'une coloration rouge, cela signifie qu'il y a eu formation d'ions nitrites par l'action du zinc. Il restait donc des ions nitrate dans le tube, la bactérie ne possède pas de nitrate réductase.

§ si le milieu reste incolore, cela signifie qu'il ne restait plus de nitrates dans le tube pour réagir avec le zinc, et que les bactéries les avaient réduits au delà du stade nitrites, donc la réaction est positive.

Les *Listeria spp* ne possèdent pas l'enzyme nitrate réductase sauf *Listeria murayi*.

§ Formation d'indole et dégradation de l'urée

Réaliser une culture dense sur un tube contenant de l'urée- indole à l'aide d'une colonie ayant poussée sur gélose TSAYE, puis incuber à 37 °C pendant 24h. Le lendemain, versé la moitié du tube dans un autre tube stérile :

§ Le virage de la couleur initiale (orange) au rose signifie une réaction positive ;

§ Après adjonction de quelques gouttes du réactif Kowacs. La présence d'indole se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge en surface.

Les *Listeria spp* sont uréase et indole négatifs.

§ Recherche de l'hémolyse.

La recherche de l'activité hémolytique, nécessite un ensemencement sur de la gélose au sang de mouton ou sang de cheval à 5 % en stries et par spot. Après une

incubation de 24 h à 48 h à 35 °C, les géloses sont examinées sous un éclairage intense. *Listeria monocytogenes* produit une zone d'hémolyse • (photo n° :6) étroite et légère autour du point de piqûre, *Listeria seeligeri* est faiblement hémolytique tandis que *Listeria ivanovii* produit une zone franche d'hémolyse très prononcée. Les autres espèces de *Listeria* ne produisent pas de zone d'hémolyse.

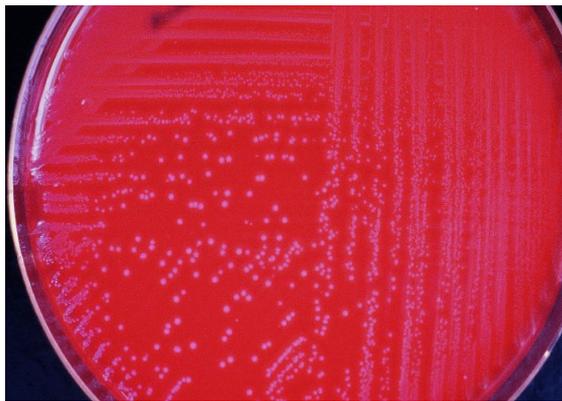


Photo n°6 : Aspect de *Listeria monocytogenes* sur gélose au sang

Source : www.micobe-educ.org

§ **CAMP- test**

Le CAMP-test est réalisé sur gélose TSA additionnée de 5 % de globules rouges de mouton lavés et remis en suspension dans un volume de tampon égal au volume initial de sang.

- § ensemencer par strie simple chacune des cultures de *Staphylococcus aureus* et de *Rhodococcus equi* sur la gélose au sang de mouton. Les deux stries doivent être parallèles;
- § de façon similaire et perpendiculairement à ces stries, ensemencer les souches de *Listeria* à tester. Les extrémités des stries de *Listeria* doivent être très proches des stries de *Staphylococcus aureus* et de *Rhodococcus equi* mais séparées d'environ 1 mm à 2 mm comme l'indique la figure 7.
- § incuber à 37 °C pendant 18 à 24 h.

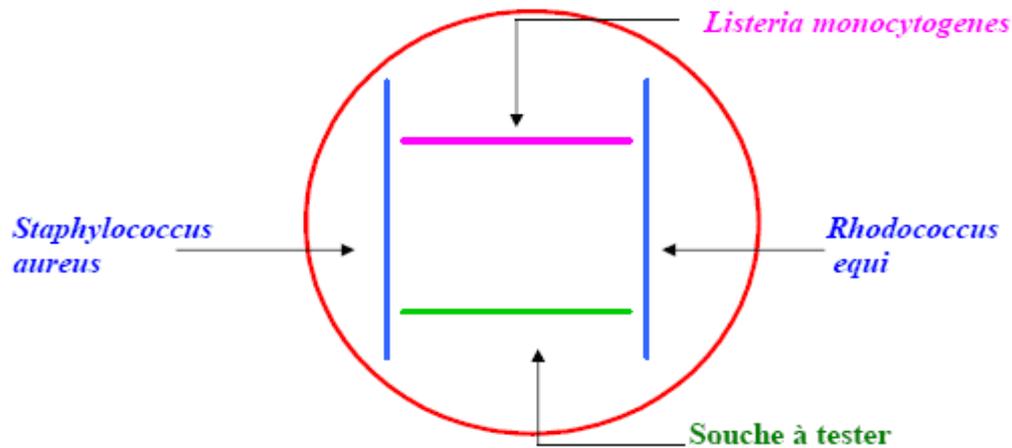


Figure n°7: Disposition des stries pour la réalisation d'un CAMP-test

§ Utilisation des glucides

- **xylose et rhamnose** : Inoculer à l'aide d'une anse bouclée chaque bouillon pour l'utilisation du xylose et du rhamnose à partir de la culture sur TSAYE. Incuber à 35 °C ou 37 °C jusqu'à 5 jours. L'évolution de la couleur du violet au jaune indique une réaction positive.
- *Listeria monocytogenes* est Rhamnose positif et Xylose négatif.
- **mannitol** : ensemercer par piqûre centrale un tube de mannitol mobilité à partir d'une colonie typique. l'utilisation du mannitol se traduira par une acidification qui est mise en évidence par le virage de la couleur (rouge de phénol) :
 - le virage de la couleur au jaune indique l'acidification du milieu. Dans ce cas, le mannitol est utilisé comme source de carbone et d'énergie. La réaction est positive ;
 - si le milieu reste rouge, le mannitol n'est pas utilisé et la réaction est négative.
- *Listeria monocytogenes* est mannitol négatif.

§ Fermentation des sucres

La fermentation des sucres détermine la capacité de la bactérie d'utiliser plus d'un des sucres (glucose, lactose ou le saccharose), avec ou sans production de gaz et de produire du sulfure d'hydrogène (H₂S). En partant d'une colonie, ensemercer le culot de la gélose Triple Sugar Iron (TSI)

Listeria spp acidifient la pente et le culot mais ne produisent pas de gaz ni de H₂S.

§ Utilisation du Citrate

Le milieu est présenté sous forme de gélose inclinée. La pente estensemencée par une strie longitudinale, réalisée à l'anse, à partir d'une colonie isolée sur MH. Dans ce milieu, le Citrate est l'unique source de carbone. L'utilisation de ce substrat, pour la plupart des bactéries pouvant le cataboliser, est une utilisation aérobie, et se traduit par une alcalinisation du milieu.

Toutes les *Listeria spp* sont Citrate perméase négatif.

I-4- Expression des résultats

Pour qu'un résultat soit valable, on estime en général qu'il est nécessaire de calculer la valeur de **a** pour chacune des boites retenues selon la formule suivante : en prenant en considération les boites contenant au minimum 15 colonies.

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

Où :

b : est le nombre de colonies répondant aux critères d'identification ;

A : le nombre total de colonies repiquées en vue de l'identification ;

C : le nombre total de colonies dénombrées sur la boite.

Arrondir à un nombre de colonies calculées à deux chiffres significatifs.

Calculer ensuite la valeur du nombre N de microorganisme présents dans l'échantillon pour essai, en tant que moyenne pondérée à partir de deux dilutions successives à l'aide des formules suivantes.

Ø Mode de calcul

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

$$N = \frac{\sum a}{V(n_1 + 0,1n_2)d} \text{ Listeria monocytogenes/g}$$

Où :

• **a** : est la somme des *Listeria monocytogenes* identifiées sur chaque boite retenue et qui compte au moins 15 colonies ;

V : est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boite en millilitre ;

n₁ : est le nombre des boites retenues à la première dilution ;

n₂ : est le nombre de boites 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.

Retenir comme résultat le nombre de *Listeria monocytogenes* par millilitre (produits liquides) ou par gramme (autres produits), exprimé par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance appropriée de 10.

§ Estimation des petits nombres

Ø Si les deux boîtes au niveau de la suspension mère, contiennent moins de 15 colonies de *Listeria monocytogenes*, calculer le nombre de colonies confirmées pour chaque boîte en utilisant la formule suivante :

$$N_E = \frac{a}{d.V} \text{ Listeria monocytogenes/g}$$

Calculer la moyenne arithmétique, y , des colonies comptées sur deux boîtes.
Le résultat sera exprimé comme suit :

Nombre estimé de *Listeria monocytogenes* par gramme

$$N_E = \frac{y}{d.V} \text{ Listeria monocytogenes/g}$$

Où :

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue ;

V : est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte en millilitre.

Ø Si les deux boîtes, au niveau de la suspension mère, ne contiennent aucune colonie, exprimer Le résultat sera exprimé comme suit :

$$\text{moins de } \frac{1}{d.V} \text{ Listeria monocytogenes/g}$$

Où :

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue ;

V : est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte en millilitre.

Exemple :

Nous avons pris comme exemple le troisième cas positif de viande bovine hachée.
(Tableau XV) :

A la première dilution boîte N°1 retenue (10^{-1}), C = 4 ; A =3 et b=1.

A la première dilution boîte N°2 retenue (10^{-1}), C =0

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

$$a_1 = \frac{1}{3} \times 4 = 1$$

La deuxième boîte ne contient aucune colonie et donc : C = 0 ; b= 0

$$a_2 = 0$$

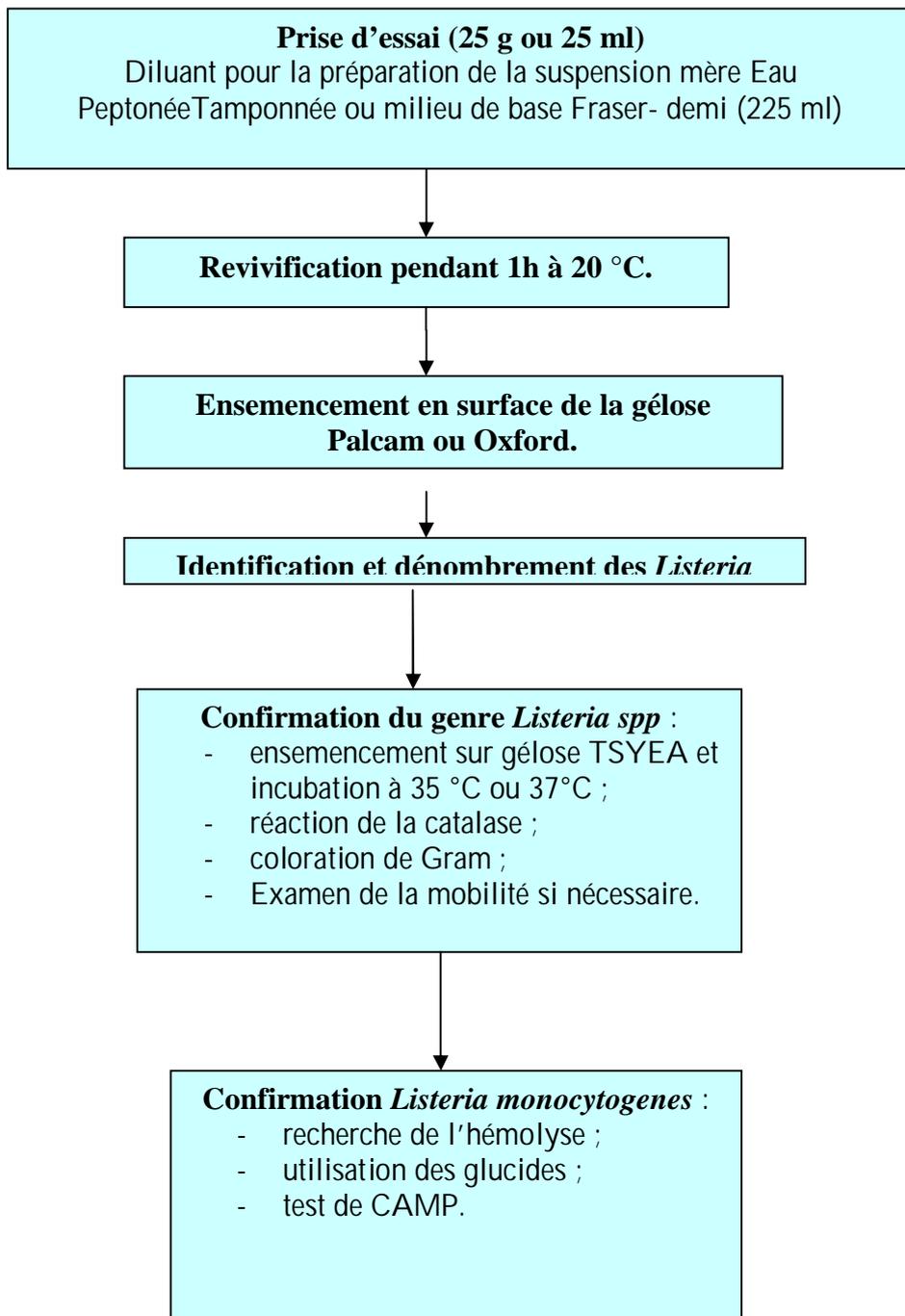
Puis calculer la valeur du nombre N à l'aide de cette formule :

$$N_E = \frac{y}{d.V} \text{ *Listeria monocytogenes*/g}$$

$$N_e = 1,0.10^2 \text{ UFC/g.}$$

Logigramme :

Représentation schématique du mode opératoire ISO 11290-2



I-5- Autre mode d'identification des Listeria.

L'identification rapide de *Listeria monocytogenes* peut se faire également :

- Soit à l'aide d'une galerie biochimique miniaturisée de type API-Listeria
- Soit à l'aide d'une galerie biochimique miniaturisées de type Microbact™ *LISTERIA* 12 L

Au cours de notre travail, nous avons procédé à l'identification de quelques souches de *Listeria* par cette dernière.

Galerie biochimique microbact™ Listeria 12 L (Oxoid)

Microbact™ *Listeria* 12 L est un système de micro substrats normalisés conçu pour identifier les espèces de *Listeria*, isolées dans des spécimens cliniques, alimentaires et associés à des aliments.

Dans le Kit on y trouve :

- § un plateau support ;
- § la notice du produit technique ;
- § des formulaires compte rendu ;
- § 20 flacons contenant 3 ml de milieux de suspension Microbact™ *Listeria* 12 L à base d'agents tampons et de peptones servant à préparer l'inoculum ;
- § 1 diluant à hémolysine.

Principe du test.

Le système Microbact™ *Listeria* 12 L simule les substrats biochimiques classiques dont on se sert pour identifier *Listeria spp.* Chaque bandelette d'identification comporte 12 tests (11 tests avec utilisation de sucres et 1 test d'hémolyse rapide) comme l'indique la photo suivante.



Photo n° 7 : Substrats biochimiques utilisés par le système Microbact™ *Listeria* 12 L pour l'identification des *Listeria*

Source : photo personnelle

La dénomination des substrats contenus dans les cupules est la suivante :

ESC: Esculine; **MAN:** Mannitol ; **XYL:** Xylose ; **ARL:** Arabitol ; **RIB:** Ribose ; **RHA:** Rhamnose ; **TRE:** Trehalose ; **TAG:** Tagadose ; **G1P:** Glucose-1-Phosphate ; **MDG:** •-Methyl-D-Glucoside ; **MDM:** •-Methyl-D-Mannose ; **HEM :** Hémolyse.

Les réactions qui se produisent durant la période d'incubation sont mises en évidence soit par un changement de couleur dans les tests avec utilisation de sucres, soit par la lyse d'hématies de mouton dans le test d'hémolyse.

Le tableau X présente le substrat présent dans chaque cupule, le principe réactionnel impliqué et les changements de couleur spécifiques :

Tableau X : Lecture et interprétation des caractères portés sur la galerie Microbact™ *Listeria 12 L.*

Cupule N°	Désignation	Principe de la réaction	Réaction		commentaires
			Négative	positive	
1	Esculine	Hydrolyse de L'Esculine	Jaune	Noir	
2	Mannitol	Utilisation de sucres spécifiques conduisant à la production de produits terminaux acides	Pourpre	Jaune	L'indicateur pourpre de bromocrésol change de couleur quand on utilise un sucre approprié produisant de l'acide
3	Xylose		Pourpre	Jaune	
4	Arabitol		Pourpre	Jaune	
5	Ribose		Pourpre	Jaune	
6	Rhamnose		Pourpre	Jaune	
7	Tréhalose		Pourpre	Jaune	
8	Tagatose		Pourpre	Jaune	
9	Glucose-1-phosphate		Pourpre	Jaune	
10	Methyl-D-Glucose		Pourpre	Jaune	
11	Methyl-D-Mannose		Pourpre	Jaune	
12	Hémolyse	Hémolyse des hématies	Dépôt des hématies	Marron	S'il y'a de l'hémolysine, les hématies se lysent et tout le contenu de la cupule vire au marron. S'il n'y a pas d'hémolysine, les hématies intactes se déposent rapidement au fond de la cupule et il se forme alors un dépôt rouge à peine visible.

Mode opératoire

- § Les cultures bactériennes à étudier doivent être considérées comme potentiellement dangereuses et doivent être manipulées de façon appropriée par un personnel compétant et averti ;
- § Avant de faire le test, vérifier les isolats pour s'assurer qu'ils appartiennent au genre *Listeria* (mobilité à 25°C, immobilité à 37°C, produisant une réaction catalase positive et une réaction oxydase négative, bacille Gram positif court) ;
- § Sortir une bandelette réactive de son sachet en papier d'aluminium et la placer sur le plateau- support fourni à cet effet ;
- § Réchauffer le réactif hémolysine jusqu'à ce qu'il soit à température ambiante ;
- § Sélectionner une seule colonie isolée dans une culture pure de 18 h à 24 h et émulsifier dans le milieu de suspension *Listeria*. Bien mélanger pour obtenir une suspension homogène ;
- § Retirer le couvercle de la bandelette réactive ;
- § Au moyen d'une micro pipette, déposer 100 µl de la suspension bactérienne dans chaque cupule ;
- § Ajouter une goutte du réactif à hémolysine dans la cupule numéro 12 ;
- § Remettre le couvercle en place ;
- § Incuber à 37°C pendant 24 h.

La photo n° :8 indique l'aspect de la Microbact™ *Listeria* 12 L avant l'incubation



Photo n° 8 : Aspect Microbact™ *Listeria* 12 L avant incubation

Source : photo personnelle

A la fin de l'incubation, les résultats des réactions sont lus visuellement et interprétés en fonction du tableau de lecture et interprétation des caractères figurant dans la notice du produit.

REMARQUE: toutes les espèces de *Listeria* doivent être positives pour l'Esculine, l'Arabitol et le Tréhalose. Un progiciel d'identification assistée par ordinateur pour identifier les souches.

Pour la recherche de *Listeria monocytogenes*, faire une comparaison entre les réactions obtenues au test et celles décrites dans le tableau XI :

Tableau XI : Profil de *Listeria monocytogenes*.

<i>ESC</i>	<i>MAN</i>	<i>XYL</i>	<i>ARL</i>	<i>RIB</i>	<i>RHA</i>	<i>TRE</i>	<i>TAG</i>	<i>GIP</i>	<i>MDG</i>	<i>MDM</i>	<i>HEM</i>
+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+

L'analyse d'une souche de *Listeria monocytogenes* par Microbact™ *Listeria* 12 L donne l'aspect illustré par la photo suivante :



Photo n° :9: Aspect de *Listeria monocytogenes* sur Microbact™ *Listeria* 12 L.

Source : photo personnelle

RESULTATS

ET

DISCUSSIONS

Au cours de notre étude, nous avons dans un premier temps, évalué La prévalence des *Listeria* dans les différentes matrices de viandes commercialisées dans la région de Tizi-Ouzou, ce qui se traduit par les résultats de l'analyse bactériologique et dans un second temps, identifié et quantifié le nombre de *Listeria* isolées, ce qui se traduit par les résultats de l'identification et du dénombrement de *Listeria* contenus dans 25 grammes de produit. L'ensemble de nos résultats figure dans les tableaux ci-après et suivis de leurs interprétations.

II-1- Résultats de l'analyse bactériologique

Les résultats de l'analyse bactériologique de l'ensemble des prélèvements de viandes analysés selon la méthode horizontale ISO 11 290 partie 2, pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* figurent dans le tableau XII ci-après.

Tableau XII : Résultats de l'analyse bactériologique dans les différentes matrices de viande.

Nature des prélèvements	Nombre total prélèvements	Cas positifs		Cas négatifs	
		Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Viandes Bovines Fraîches	120	7	5,83	113	94,16
Viandes Bovines Hachées	120	5	4,16	115	95,84
Viandes Bovines Congelées Désossées	150	3	2	147	97,50
Viandes Ovines Fraîches	120	8	6,66	112	93,33
Total	510	23	4,50	487	95,50

Ce tableau montre que sur les 510 échantillons de viandes traités,

- *Listeria.spp* a été mise en évidence dans **23 cas**, soit à un pourcentage de **4,50 %**,
- 487 cas se sont révélés négatifs, soit à un pourcentage de 95,50 %.

Ces résultats montrent également que sur :

- § les 120 prélèvements de viandes bovines fraîches analysés, nous avons :
 - ✓ 7 cas positifs, soit un pourcentage de **5,83%**.
 - ✓ 113 cas négatifs, soit à un pourcentage de 94,16 %.
- § les 120 prélèvements de viandes bovines hachées analysés, nous avons :
 - ✓ 5 cas positifs soit un pourcentage **4,16%**.
 - ✓ 115 cas négatifs soit un pourcentage de 95,84 %.
- § les 150 prélèvements de viandes bovines congelées désossées analysés, nous avons :
 - ✓ 3 cas positifs soit un pourcentage de **2,50%**.
 - ✓ 147 cas négatifs soit à un pourcentage 97,50 %.
- § les 120 prélèvements de viandes ovines fraîches analysés, nous avons :
 - ✓ 8 cas positifs soit un pourcentage **6,66%**.
 - ✓ 112 cas négatifs soit un pourcentage de 93,33 %.

La prévalence globale des *Listeria spp* dans les différentes matrices de viande sont représentée dans l'histogramme suivant.

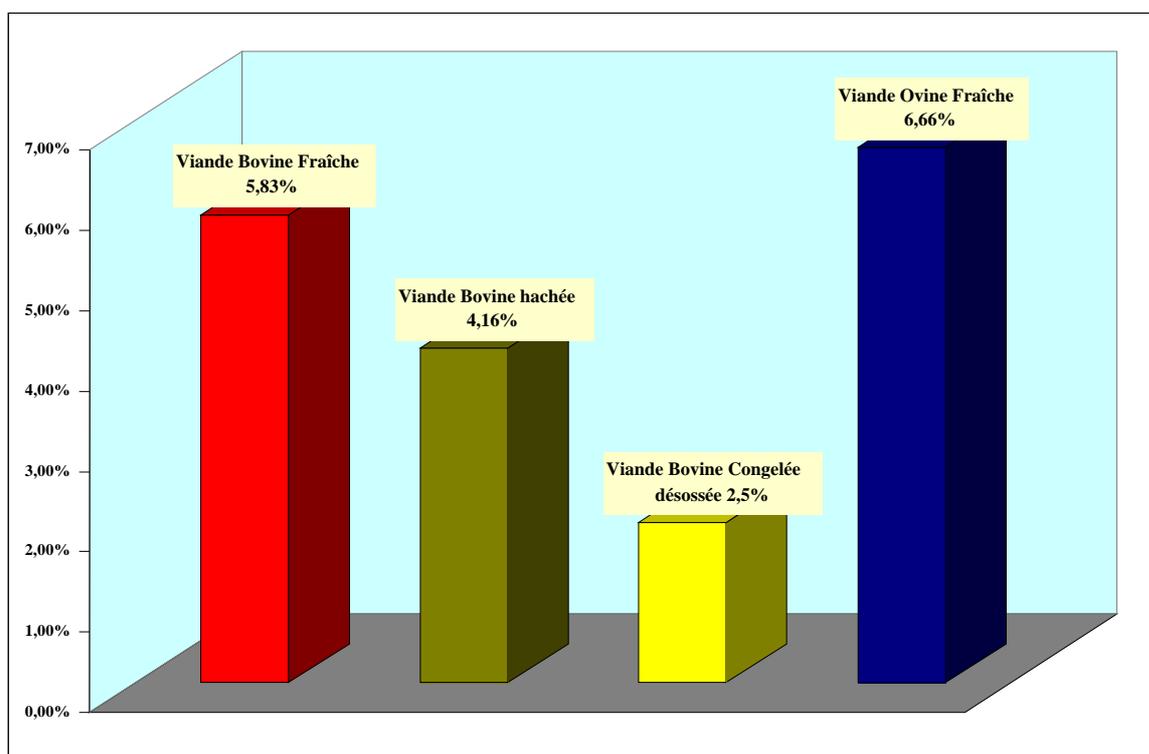


Figure 8: Prévalence globale des *Listeria spp* dans les différentes matrices de viande.

Les photos suivantes ont été prises au niveau du laboratoire de Drâa Ben Khedda lors des différentes étapes de diagnostic.

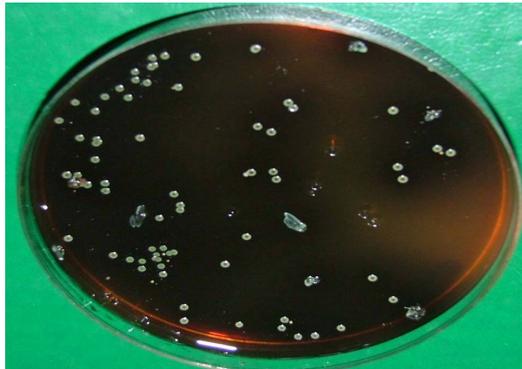


Photo n° 10 : Aspect de *Listeria* sur gélose PALCAM

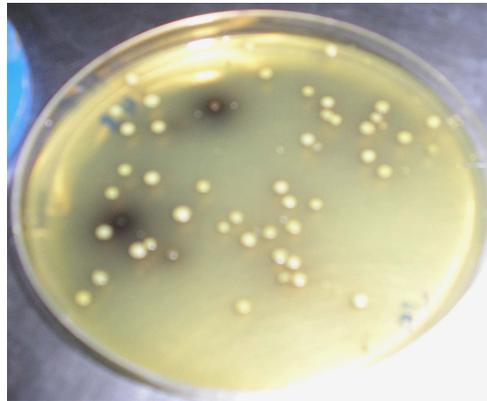


Photo n° 11 : Aspect de *Listeria* sur gélose OXFORD

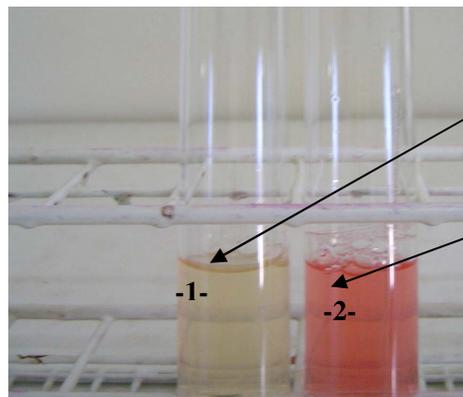


Photo n° 12 : Réaction Catalase



**Mobilité en
forme de
parapluie**

Photo n° 13 : Aspect de *Listeria monocytogenes* sur mannitol mobilité à 22°C



**Milieu incolore
(Réaction
négative)**

**Coloration rouge
après ajout de la
poudre de zinc
(Réaction négative)**

Photo n° 14: Réaction à la nitrate réductase (négative)



Photo n° 15 : Galerie classique pour l'identification de *Listeria monocytogenes*



Photo n°16: Aspect de *Listeria monocytogenes* sur Microbact™ *Listeria 12 L*

Le pourcentage de cas positifs soit **4,50%** pour *Listeria spp*, obtenu au cours de notre étude est similaire et comparable avec les résultats rapportés dans la bibliographie internationale.

En effet, des études effectuées, par M. CATTEAU en 1996, MOLL et MOLL en 2002, révèlent un taux de contamination des échantillons de viandes de l'ordre de 0 à 50%.

Le portage intestinal et l'excrétion des germes tels que *Listeria* est lié à l'existence d'animaux porteurs sains, c'est-à-dire qui hébergent le germe sans manifestations de signes cliniques (LAVAL et al. 1997).

Les animaux peuvent être des porteurs sains de *Listeria* pendant de longs mois, les carcasses et les viandes de découpe en hébergent fréquemment mais en quantité faible, moins de 100 dans 1 gramme ou 1 cm² (LARPENT, 1995). Chez les animaux, un portage intestinal asymptomatique des *Listeria* de l'ordre de 5 à 70 % a été observé (SLUTSKER et SCHUCHAT, 1999).

Selon les pays, la viande est plus ou moins contaminée. Ainsi, les *Listeria* détectées sont en quantité supérieure à 1000 UFC/gramme dans 55% des échantillons de viandes vendues au détail en Australie, et seulement 4% en Norvège. (LARPENT, 1995).

En Nouvelle Zélande, le taux de contamination des viandes crues par *Listeria spp* est de l'ordre de 50% (HUDSON et al, 1992).

LEVINE et al 2001, rapporte que le taux de contamination des viandes aux USA varie entre 0,89 et 3,5%.

Une étude réalisée en Iran sur de la viande rapporte des résultats de l'ordre de 6,7% (JALALI et ABEDI, 2008).

D'autres études révèlent que ces contaminations ont pour origine une contamination primaire qui débute à la ferme, les bactéries sont introduites dans la chaîne de transformation des viandes par les animaux eux même qui les véhiculent au niveau de leurs tubes digestifs et leurs peaux (ROSSET 1982, FOURNAUD 1982), éléments qui constituent les principales sources de contaminations des carcasses au moment de l'abattage (FOURNAUD 1978, CARTIER 1997) ;

Ces mêmes auteurs affirment que c'est lors de la dépouille que s'effectue l'essentiel du transfert des germes du cuir à la carcasse et que la principale source de contamination des carcasses se fait à hauteur de 60% par le cuir de l'animal et 10% par le tractus digestif.

DENNA• et al, 2001, considèrent que l'abattoir constitue l'un des points critiques majeurs de l'hygiène des viandes et l'abattage des animaux est considéré comme l'étape où les plus

grandes opportunités de contamination existent ; ces études révèlent un taux de contamination de l'ordre de 80 à 90%.

Les opérations d'abattage de bétails telles que le saignement, le dressage et l'éviscération exposent le muscle stérile aux contaminants microbiologiques qui sont présents sur la peau et dans les régions digestives. Une contamination par les opérateurs ou via l'environnement est aussi possible tout au long de la filière de transformation, distribution ou consommation (CORANTIN *et al*, 2005).

II-2- Résultats de l'identification biochimique et du dénombrement des souches isolées dans les différentes catégories de viandes.

Les résultats de l'identification biochimique et du dénombrement de l'ensemble des souches isolées à partir des différentes matrices de viandes traitées figurent dans le tableau XIII.

Toutefois, il faut noter que chaque cas positif est susceptible d'être contaminé par une ou plusieurs espèces de *Listeria*. La norme ISO 11290 partie 2 préconise l'identification de 3 à 5 colonies et l'application de l'équation mathématique en vue du dénombrement de l'ensemble des colonies présumées être des *Listeria spp* en parallèle.

Les résultats de l'identification biochimique et du dénombrement des *Listeria spp* dans les différentes matrices viandes sont rapportés dans les tableaux (XIV à XVII) annexes 3.

Tableau XIII : Résultats de l'identification biochimique et du dénombrement des souches isolées dans les différentes catégories de viandes.

Nature des prélèvements	<i>L.monocytogenes</i>		<i>L.innocua</i>		<i>L.welschimeri</i>		<i>L.ivanovii</i>	
	Cas (+)	%	Cas (+)	%	Cas (+)	%	Cas (+)	%
Viandes Bovines Fraîches (120)	3 (10 ² - 2.10 ²)	2,5	4 (10 ² - 2.10 ²)	3,33	/		/	
Viandes Bovines Hachées (120)	2 (10 ²)	1,66	3 (10 ² - 2.10 ²)	2,5	/		/	
Viandes Bovines Congelées Désossées (150)	1 (10 ²)	0,66	1 (2.10 ²)	0,66	1 (10 ²)	0,66	/	
Viandes Ovines Fraîches (120)	2 (10 ² - 2.10 ²)	1,66	4 (10 ² - 2.10 ²)	3,33	/		2 (10 ² - 3,3.10 ²)	1,66
Total = 510	8	1,58	12	2,35	1	0,19	2	0,39

L'identification biochimique et le dénombrement des 23 souches de *Listeria spp* isolées à partir des 510 prélèvements de viandes traitées a révélé :

- ✓ La présence **8** souches de ***Listeria monocytogenes*** dont le dénombrement est compris entre 10^2 et 2.10^2 UFC dans 25 grammes de produit, soit un taux de **1,58 %**
- ✓ La présence de **12** souches de *Listeria innocua* dont le dénombrement est compris entre 10^2 et 2.10^2 UFC dans 25 grammes de produit, soit un taux de **2,35 %**
- ✓ La présence d'**une** souche de *Listeria welshimeri* à raison de 10^2 dans 25 grammes de produit, soit un taux de **0,19 %**
- ✓ La présence de **2** souches de *Listeria ivanovii* dont le dénombrement est compris entre 10^2 et $3,3.10^2$ UFC dans 25 grammes de produit,, soit un taux de **0,39 %**.

Ces résultats sont représentés également dans l'histogramme suivant.

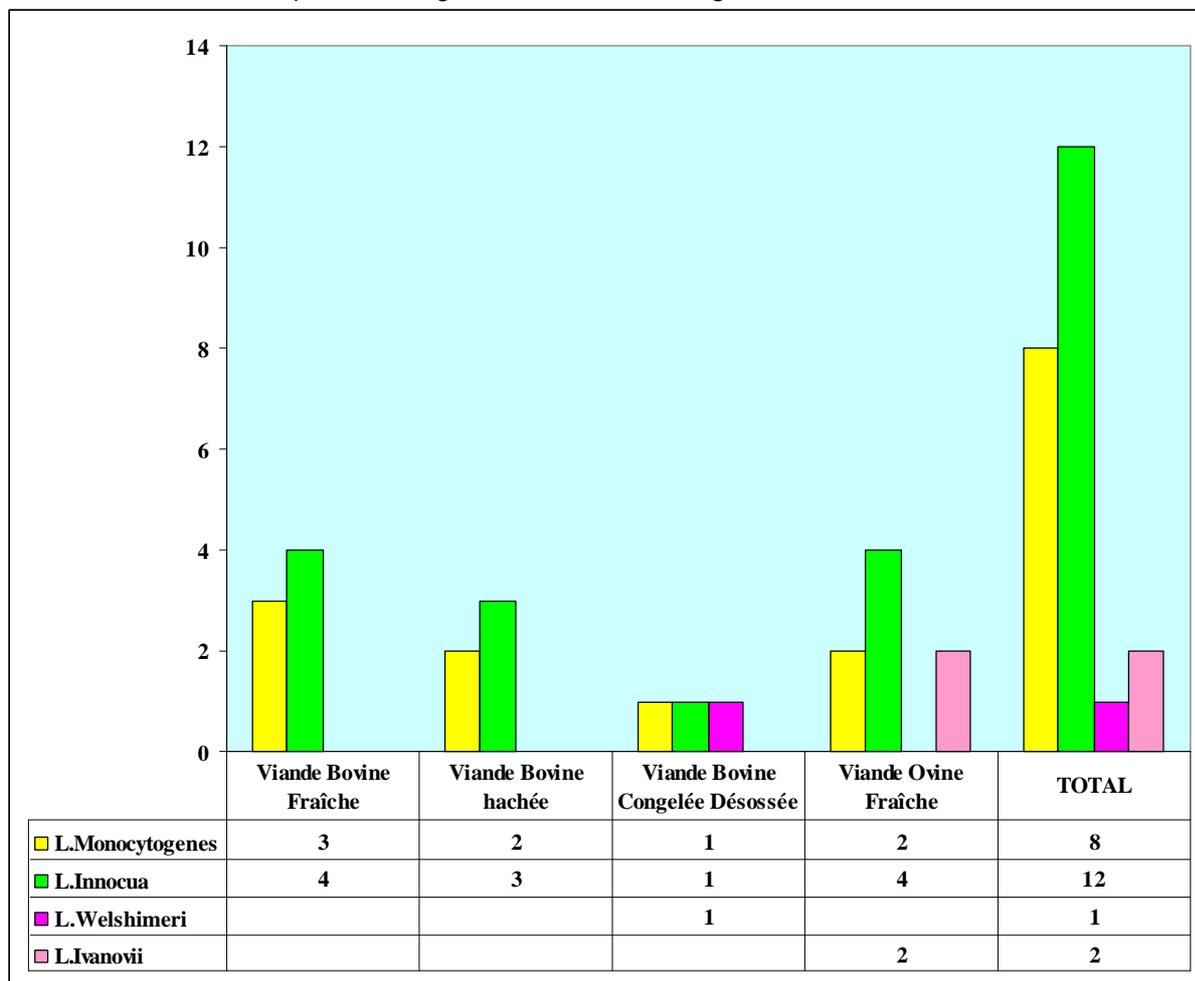


Figure 9 : Prévalence des *Listeria spp* dans les différentes catégories de viandes.

II-3- Prévalence des différentes espèces de *Listeria* dans les viandes fraîches.

II-3-1- Prévalence des différentes espèces de *Listeria* dans les viandes bovines fraîches.

Les résultats de l'identification biochimique et du dénombrement ont permis de mettre en évidence la présence de 7 souches de *Listeria* parmi les 120 prélèvements de viandes bovines fraîches analysés et dont la répartition suit :

Souches isolées :

- ✓ **3 souches de *Listeria monocytogenes*** dont le dénombrement est compris entre 10^2 et $2 \cdot 10^2$ UFC dans 25 g de produit.
- ✓ 4 souches de *Listeria innocua* dont le dénombrement est compris entre 10^2 et $2 \cdot 10^2$ UFC dans 25 g de produit.

II-3-2-Prévalences des différentes espèces de *Listeria* dans les viandes ovines fraîches

Les résultats de l'identification biochimique et du dénombrement ont permis de mettre en évidence la présence de 8 souches de *Listeria* parmi les 120 prélèvements de viandes ovines fraîches analysés et dont la répartition suit :

Souches isolées :

- ✓ **2 souches de *Listeria monocytogenes*** dont le dénombrement est compris entre 10^2 et $2 \cdot 10^2$ UFC dans 25 g de produit.
- ✓ 4 souches de *Listeria innocua* dont le dénombrement est compris entre 10^2 et $2 \cdot 10^2$ UFC dans 25 g de produit.
- ✓ 2 souches de *Listeria ivanovii* dont le dénombrement est compris entre 10^2 et $3,3 \cdot 10^2$ UFC dans 25 g de produit.

Sur les deux catégories de viandes fraîches analysées, nous avons retrouvés :

- 7 souches de *Listeria spp* dans les viandes bovines fraîches dont 3 *monocytogenes*,
- 8 souches de *Listeria spp* dans les viandes ovines fraîches dont 2 *monocytogenes*.

Parmi les 15 souches de *Listeria spp* retrouvées au niveau de ces échantillons de viande, nous avons donc pu isolé et identifié :

- 5 souches de *Listeria monocytogenes*,
- 8 souches de *Listeria innocua*,
- 2 souches de *Listeria ivanovii*

Bien que *Listeria innocua* ne soit pas pathogène pour l'homme ni pour les animaux, sa prédominance est claire. En effet, *Listeria innocua* aurait un avantage sélectif sur *Listeria monocytogenes* par une croissance plus rapide en bouillon sélectif lors de la procédure d'enrichissement, ce qui conduit à des rapports de concentration *Listeria monocytogenes* / *Listeria innocua* très faibles, (CURIALE et LEWUS, 1994 ; MacDONALD et SUTHERLAND, 1994).

D'après BEUMER et al (1996), cette différence serait due à l'acriflavine, à laquelle *Listeria monocytogenes* serait plus sensible que *Listeria innocua*. D'autres auteurs suggèrent que l'avantage en faveur de *Listeria innocua* au cours de la procédure d'enrichissement puisse être dû à une inhibition de *Listeria monocytogenes* par *Listeria innocua* (YOKOYAMA et al, 1998)

Le taux de contamination des viandes fraîches par *Listeria* serait consécutif aux différentes opérations qui ont lieu après l'abattage, en effet plusieurs études internationales ont révélées les différentes étapes susceptibles d'induire la contamination des viandes par ce germe.

COTTIN *et al* (1985), ont montré que sur 487 bovins sains abattus, *Listeria monocytogenes* a été isolée dans 15 cas.

La qualité microbiologique de l'eau utilisée pour le douchage des carcasses, le lavage et la désinfection dans le processus d'abattage a une grande incidence sur la contamination superficielle des carcasses; elle apporte une flore abondante très diversifiée (ZUCCA et al, 1990).

Selon SOINNEAU (1993), 80 à 90 % de la microflore des viandes provenant des consommateurs résulte d'une contamination qui survient à l'abattoir essentiellement lors de l'abattage (contamination agonique) et des opérations ultérieures (contamination *post mortem*). Ce même auteur, attribue une part importante des contaminations des viandes fraîches par le matériel d'abattage et les locaux d'abattage.

D'après, JOUVE (1996), le matériel d'abattage et le personnel qui manipule les carcasses, constituent une source majeure de contamination pour les viandes. Plus tard, la découpe va induire une profonde redistribution des bactéries présentes exclusivement en surfaces des carcasses, les germes vont alors coloniser les surfaces nouvellement mises à nu par le travail des viandes (CARTIER1999). Les nombreux contacts dont font l'objet les pièces de découpe (contact avec les autres pièces, les tables, les outils, les opérateurs et l'air ambiant...) jouent un rôle majeur dans cette redistribution (CARTIER 1997, CARTIER 1999).

La contamination des viandes de découpe par *Listeria monocytogenes* est fréquente. Ces contaminations ont lieu au cours des opérations d'abattage et de transformation des viandes (DENNAI, 2001 ; LARPENT, 2004).

Les viandes crues sont assez souvent contaminées par *Listeria monocytogenes*. Leur nombre est généralement faible mais il semble aujourd'hui difficile d'éviter la présence occasionnelle de ce germe, vu son caractère ubiquiste (CATTEAU, 2006).

D'autres facteurs influençant la croissance et la multiplication de *Listeria monocytogenes* dans les viandes fraîches, viennent s'ajouter à cela, soit :

- Ø L'entreposage des viandes, à une température comprise entre 2 et 4°C permet, selon ELMNASSER *et al* (2006), de diminuer considérablement le taux de croissance de ce pathogène par la formation d'une couche protectrice en surface, et l'obtention d'une température à cœur de 7°C ce qui favorise le développement d'une flore lactique qui joue un rôle protecteur par acidification de la viande, mais en parallèle une température de 7°C (norme réglementaire en Europe et en Algérie journal officiel du 08/12/1999) permet aisément la croissance *Listeria monocytogenes* (NICKLAUS, 2001).
- Ø Selon, ROSSET, (1996) l'activité d'eau (Aw) en profondeur de la viande fraîche (comprise entre 0,98-0,99), permet largement la croissance de *Listeria monocytogenes*.
- Ø Le pH de la viande fraîche (compris entre 5,5 et 6,2), est en faveur de la croissance de *Listeria monocytogenes*. Cependant cette croissance reste étroitement liée à la température d'entreposage et à la flore résidente dans la viande (CHRISTEANS, 2001).
- Ø Selon, BEUMER, (1997), une flore lactique abondante inhiberait la croissance de *Listeria monocytogenes*, par la sécrétion de bactériocines et/ou la production de l'acide lactique. Selon ce même auteur la croissance de *Listeria monocytogenes* est stimulée par l'activité protéolytique de *Pseudomonas spp*, souvent présente dans ce type de viandes.
- Ø Le transport des carcasses de différentes espèces se fait souvent dans le même véhicule ce qui peut donner lieu à des contaminations croisées d'où la présence d'un taux de contamination à peu près comparable entre viandes bovines fraîches et ovines fraîches.

II-3-3-Prévalence des différentes espèces de *Listeria* dans les viandes bovines hachées

Les résultats de l'identification biochimique et du dénombrement ont permis de mettre en évidence la présence de 5 souches de *Listeria* parmi les 120 prélèvements de viandes ovines fraîches analysés et dont la répartition suit :

Souches isolées :

- ✓ **2 souches de *Listeria monocytogenes*** dont le dénombrement est de 10² UFC dans 25 g de produit.
- ✓ 3 souches de *Listeria innocua* dont le dénombrement est compris entre 10² et 2. 10² UFC dans 25 g de produit.

Cette étude nous a permis d'évaluer la prévalence de *Listeria monocytogenes* dans les viandes bovines hachées. Le taux de contamination de cette catégorie de viande est de l'ordre de 1,66%. Nos résultats sont inférieurs aux résultats d'études rapportés par différentes bibliographies internationales.

En effet, une étude canadienne réalisée par EKLUND *et al*, (1994) a évalué l'incidence de *Listeria monocytogenes* à 7,40 %, alors qu'au Maroc, KRIEM et ROCOURT, 2003 ont évalué l'incidence de *Listeria monocytogenes* à 6,10 % dans des échantillons de viandes hachées.

Deux autres études réalisées en Suisse, la première en 2002 par DANUSER, a permis de mettre en évidence *Listeria monocytogenes* dans les viandes hachées à une fréquence de l'ordre de 10,83%, la seconde en 2004 par BILLE, révèle que la prévalence de *Listeria monocytogenes* varie entre 0 et 10 % dans les viandes hachées crues.

D'autres auteurs cités par LARPENT, (2004) comme NICOLAS *et al*, (1985) et LAHELLEC *et al*, (1996) ont observé la présence de *Listeria monocytogenes* respectivement dans 8 % et 7,40 % des échantillons de viandes hachées analysés.

A l'inverse, nos résultats restent inférieurs à d'autres résultats rapportés par d'autres auteurs tels que BUNCIC, (1991) qui a révélé la présence de *Listeria monocytogenes* dans la viande hachée à une incidence de 69 % et BERCHE, (2000) qui a révélé sa présence à un taux de l'ordre de 28%.

LARPENT, (2004) rapporte une incidence de 39 % de *Listeria monocytogenes* dans de la viande hachée. ARAGON ALEGRO *et al*, (2007) ont rapporté son incidence à un taux de 67,5 %. toujours dans de la viande hachée.

II-3-4-Prévalences des différentes espèces de *Listeria* dans les viandes bovines congelées désossées.

Les résultats de l'identification biochimique et du dénombrement ont permis de mettre en évidence la présence de 3 souches de *Listeria* parmi les 150 prélèvements de viandes bovines congelées désossées analysés et dont la répartition suit :

Souches isolées :

- ✓ **1 souche de *Listeria monocytogenes* dont le dénombrement est de 10^2 UFC** dans 25 g de produit.
- ✓ 1 souche de *Listeria innocua* dont le dénombrement est 2.10^2 UFC dans 25 g de produit.
- ✓ 1 souche de *Listeria welshimeri* dont le dénombrement est de 10^2 UFC dans 25 g de produit.

Tout d'abord il faudrait signaler qu'en Algérie, les viandes bovines désossées et congelées sont des viandes d'importation, par conséquent, tous les microorganismes susceptibles d'être présents sont des microorganismes importés, d'où l'installation d'un contrôle bactériologique et d'une surveillance très assidus. Lors de notre travail et sur les échantillons analysés, l'incidence de *Listeria monocytogenes* est de 0,66%.

La présence de *Listeria monocytogenes* dans les viandes congelées peut être attribuée au fait que cette bactérie est très résistante aux différents facteurs d'agressions externes stress notamment au froid.

Les travaux de JOUVE en 1996, rapportent un taux de contamination par *Listeria spp* de l'ordre de 22% pour *Listeria monocytogenes*, 18% pour *Listeria innocua* et 4% pour *Listeria welshimeri* sur 1994 échantillons des viandes bovines congelées.

D'après, ROSSET, (1996), certains constituants de la matrice alimentaire ont un effet protecteur vis-à-vis de l'action létale de la congélation sur *Listeria monocytogenes*, tels que le NaCl, les matières grasses, le glycérol, le glucose... Selon BENSARD et al, (2002), *Listeria monocytogenes* reste viable même aux basses températures

Des études plus récentes effectuées par ELMENASSER *et al* en 2006 ont permis de mettre en évidence les différents systèmes mis en œuvre par *Listeria monocytogenes* pour résister au stress et au froid. Selon cet auteur une température d'entreposage à 4°C avant congélation augmente la résistance de *Listeria monocytogenes* aux basses températures ; leur niveau de survie est de 90%.

Selon BENSARD et al, (2002), *Listeria monocytogenes* reste viable même aux basses températures. L'état physiologique dans lequel se trouve ce pathogène lors de la congélation, est un état viable non cultivable, ce qui peut constituer un vrai problème pour la santé publique surtout que *Listeria monocytogenes* reprend ses activités métaboliques et son pouvoir pathogène juste après la décongélation.

Le faible taux de présence de *Listeria monocytogenes* dans les viandes bovines congelées peut être du à l'état de stress dans lequel se trouve la bactérie.

D'après ELMENASSER *et al*, 2006, le nombre de bactéries décrites sous formes Viables Non Cultivables (VNC) a largement augmenté ces dernières années. Selon cet auteur, les basses températures font partie des facteurs les plus importants, induisant la perte de capacité à former des colonies.

En effet la présence de ces cellules stressées sous formes viable non cultivable dans les aliments pose un problème de santé publique et de sécurité des aliments, étant donné que les souches ne peuvent pas être détectées par les procédures standard d'isolement.

II-3- 5-Valeurs N : Dénombrements de *Listeria monocytogenes*.

Le risque de contracter la listériose est évalué en fonction des résultats du dénombrement de *Listeria monocytogenes* et des populations susceptibles de consommer le produit (personnes à risques). Les valeurs «N» obtenues lors de l'analyse des différents échantillons de viandes nous révèlent des valeurs comprises entre 10^2 et 2.10^2 UFC dans 25 g de produit.

Ainsi, dans les viandes bovines et ovines Fraîches, nous retrouvons :

- Trois prélèvements pour lesquels les valeurs N sont supérieurs à 100 UFC / 25 g de produit ; ces échantillons représentent un danger potentiel pour les populations dites à risques susceptibles de contracter la maladie.
- Cinq prélèvements avec des valeurs égales à 100 UFC / 25 g de produit. Ces échantillons représentent aussi un danger moindre mais le risque de contracter la listériose est surtout lié à l'état physiologique (immunologique) des consommateurs.

Bien que la dose minimale infectante ne soit pas connue avec certitude, elle varie avec le statut immunitaire du consommateur et de la virulence de la souche. Toutefois, les aliments incriminés dans des cas de maladies (sporadiques et/ou épidémiques) contenaient en général plus de 1000 *Listeria monocytogenes* /g de produit.

En Finlande en 1999, 12 des 13 échantillons de beurre pasteurisé à l'origine de listériose contenaient moins de 100 *Listeria monocytogenes* /g (EUZEBY, 2000).

Concernant les produits crus, il est possible de tolérer la présence de *Listeria monocytogenes* à condition qu'au moment de la date limite de consommation (DLC), le produit ne contienne pas plus de 100 *Listeria monocytogenes* par g de produit (VERHOYE, 2002).

Conclusion

Conclusion :

Les nouvelles habitudes de consommation des produits à base de viandes prêt-à-manger sont souvent à l'origine de nombreuses Toxi-infections alimentaires prenant parfois une allure collective ou de maladies affectant directement le système nerveux central ou périphérique.

Les enquêtes microbiologiques menées à chaque fois, ont permis de déceler soit la prolifération de micro-organismes dans les produits consommés ou alors l'émergence de nouveaux micro-organismes. Nous citons à titre d'exemple, la récente épidémie de listériose survenue au Canada en été et en automne 2008. Cette dernière, a été provoquée par des produits à base de viandes « prêt-à-manger », entraînant le décès de 20 personnes.

En Algérie, bien que la prévalence de *Listeria monocytogenes* est assez bien connue dans les laits et dérivés, il n'en est pas de même pour les viandes vendues localement et encore moins pour les viandes d'importation. Notre travail n'a pas la prétention de répondre entièrement à la question de la prévalence, néanmoins, il rapporte un taux de l'ordre de 1,58% de *Listeria monocytogenes* sur 510 échantillons de viandes analysées. Ce taux, certes faible et similaire à certains taux rapportés par la littérature internationale est loin d'être négligeable ; il prouve d'une part, la présence de *Listeria monocytogenes* aussi bien dans les viandes vendues localement que dans les viandes d'importation, et nécessite d'autre part, inévitablement une surveillance ardue de la part des services de contrôle officiels.

Par ailleurs, de par sa capacité à se développer à basse température et à développer des biofilms, *Listeria monocytogenes*, constitue un véritable problème pour les industries agro-alimentaire et donc pour la santé publique, mais sa large répartition dans l'environnement rend difficile son éradication totale. La filière viande est particulièrement concernée par ce problème, vu les multiples risques de contamination tout au long des chaînes de fabrication allant de l'abattoir aux boucheries jusqu'aux consommateurs.

Il faut noter cependant que différentes mesures de maîtrise capables de réduire les fréquences de la contamination sont citées dans les recommandations et pourraient éventuellement réduire le risque *Listeria*.

RECOMMENDATIONS

RECOMANDATIONS

PRECAUTIONS A PRENDRE POUR LA PREVENTION DE LA LISTERIOSE EN GENERAL.

AU NIVEAU DES LABORATOIRES

Poursuite de l'enquête de Listériose et l'étaler à d'autres produits et dans d'autres régions du pays,

Mise en place de la méthode de dénombrement de *Listeria monocytogenes* particulièrement les produits qui permettent sa croissance et sa multiplication, Mise en place de techniques rapides de type RapidL'mono, Dépistage à l'importation de denrées animales et d'origine animale, surtout lorsqu'il s'agit d'importation à partir de pays endémiques, Evoluer vers la certification ISO des laboratoires.

AU NIVEAU DES ELEVAGES

Dépistage précoce et isolement des animaux malades ou porteurs sains au niveau des élevages intensifs de bovins laitiers modernes, particulièrement dans les cas d'avortements, Détruire les cadavres, avortons, placentas.

Dépistage à partir de l'environnement (alimentation, ensilage),

Dépistage à l'importation, au niveau des lazarets, surtout lorsqu'il s'agit d'importation d'animaux, à partir de pays endémiques,

Veiller à mettre en place des plans réguliers de nettoyage, désinfection et dératisation

AU NIVEAU DES HOPITAUX ET CLINIQUES

Dépistage précoce de Listériose particulièrement dans les cas d'avortements chez les femmes enceintes, Mise en place des équipes compétentes chargées des 'enquêtes hospitalières notamment au niveau des services de maternité, Veiller à mettre en place des plans réguliers de nettoyage, désinfection et dératisation.

AU NIVEAU DES POUVOIRS PUBLICS

Mettre en place le plus rapidement possible un système de veille sanitaire, Encourager le développement de la certification ISO et HACCP dans les entreprises à caractère agro-alimentaires, Utilisation des nouveaux outils de contrôle préconisés par l'OMS et la FAO tels que l'analyse des risques en mettant en place dès à présent, des équipes de scientifiques chargés de l'évaluation des risques concernant :*Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts à consommer, *Salmonella enteritidis* dans les viandes crues et viandes de volailles, *Campylobacter jejunii* , *Escherichia coli* O 157 :H7 dans les viandes hachées, *Vibrio parahaemolyticus* dans les produits de la mer. Prendre en considération leurs résultats et désigner les équipes chargées de la gestion des risques, Utilisation de sources crédibles

concernant la communication sur les risques, Suivre et contrôler les décisions prises, en insistant sur la mise en place et le respect des outils de traçabilité.

PRECAUTIONS A PRENDRE POUR LA PREVENTION DE LA LISTERIOSE CHEZ LES FEMMES ENCEINTES, LES PATIENTS IMMUNO-DEPRIMES ET LES PERSONNES AGEES ALIMENTS A EVITER

Eviter la consommation de lait cru,

Eviter la consommation de fromages à pâte molle au lait cru,

Enlever la croûte des fromages avant consommation,

Eviter la consommation de fromages vendus râpés,

Eviter la consommation de poissons fumés,

Eviter la consommation de produits de charcuterie cuite consommés en l'état,

Ex : pâté, rillettes, produits en gelée, et si achetés, préférer les produits préemballés et les consommer rapidement après leur achat.

Eviter la consommation de produits de charcuterie crue consommés en l'état – Les faire bien cuire avant consommation,

Eviter la consommation de coquillages crus.

REGLES D'HYGIENE A RESPECTER

Cuire soigneusement les aliments crus d'origine animale (viandes, œufs) et Laver soigneusement les légumes crus et les herbes aromatiques,

Conserver les aliments crus (viandes, légumes ...) séparément des aliments cuits ou prêts à être consommés,

Après la manipulation d'aliments non cuits, se laver les mains et nettoyer les ustensiles de cuisine qui ont été en contact avec ces aliments,

Nettoyer fréquemment et désinfecter ensuite avec de l'eau javellisée votre réfrigérateur,

Les restes alimentaires et les plats cuisinés doivent être réchauffés soigneusement avant consommation immédiate.

Eviter le contact avec les animaux à risque (bovins, ovins, oiseaux).

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. AASE, B., Sundheim, G., Langsrud S., Rørvik L., 2000. Occurrence of and possible mechanism for resistance to a quaternary ammonium compound in *L. monocytogenes*. *Int. J. Food. Microbiol*, 62: 57-63.
2. AUDURIER A. (1982). *Listeria* ; in « Bactériologie Médicale », 1^{ère} Edition., Flammarion Médecine – Sciences, Paris, Pp. 557- 567.
3. ANCELLE T., COLIN P. et DELMAS M.C. (2003). Morbidité et Mortalité Dues Aux Maladies Infectieuses D'Origine Alimentaire En France. Institut De Veille Sanitaire. Réalisé Dans Le Cadre D'Une Collaboration Avec L'AFSSA, Pp. 86- 91.
4. ANONYME 3. (2004). Module De La Conception à La Naissance. Faculté De Médecine ULPF 67000. Strasbourg, Pp.59-61.
5. ANONYME 5. (2005). Moyens De Maîtrise Du Danger Echerichia coli 0157 : H 7 et Autres « STEC ». Fiche 5 : Atelier De Fabrication De Viande Hachée, Pp. 18-19.
6. ARAGON ALEGRO L.C, ARAGON C.D, ZANGIACOMI MARTINEZ E, LANGRAF. M, DORA GOMBOSSY B. et DESTRO M.T. (2007). Performance of a Chromogenic Medium for the Isolation of *Listeria monocytogenes* In Food. *Science Direct. Food Control* 19 (2008) 483-486.
7. ARBAULT P. et DAUSSANT J. (2005). Méthodes D'Analyse Immunochimiques Pour Le Contrôle De Qualité Dans Les IAA. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.
8. ARRETE 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. Journal Officiel N° 3 du 18 Dou El Hidja 1426 Correspondant Au 18 janvier 2006. (JORA).
9. AVRIL JL., DABERNAT H., DENIS F. et MONTUL H. (2000). *Listeria* ; in : « Bactériologie Clinique », 3^{ème} Edition, Morketing, Paris, Pp.140-150.
10. BERCHE P. (1999). Physiopathologie et Diagnostic Bactériologique Des Infections Materno- Infantiles à *Listeria monocytogenes*. Médecine Thérapeutique/ Pédiatrie. Volume 2, Numéro 1, 33- 9, Janvier- Février 1999. *Revue Maladies Mitochondriales*- 1. JHON LIBBEY Eurotext.
11. BERCHE P. (2001). L'émergence de nouveaux risques d'origine alimentaire. *Annales de biologie clinique*, Pp 1-10.
12. BERCHE P. (2002). Cours De Bactériologie Médicale. Faculté De Médecine Necker, Enfants Malades. Paris, Pp.1-10.

13. BERCHE P., BRISABOIS A., CATTEAU M., FLANDROIS J.P., LABADIE J C, ROCOURT. J., SALVAT G., VAISSAIRE J., VAILLANT V., VIDON D. et VRANCKX R. (2000). Rapport De La Commission D'étude Des Risques Liés à *Listeria monocytogenes*. Rapport De La Commission *Listeria* De L'AFSSA, Pp.1-143.
14. BERCHE P. et ROCCOURT J. (1999). *Listeria*, Le Bacille Qui Fait Peur. Hôpital Necker Enfants Malades. Université Paris V.
15. BERCHE P., GAILLARD J. L. et SIMONET M. (1991). Bactériologie : Les Bactéries Des Infections Humaines, Flammarion, Médecine Sciences.
16. BESNARD V., CAPELIER J.M., FEDERIGHI M. et JUGIAU F. (2000). Formation à La Recherche et L'identification Des *Listeria* Dans Les Aliments. Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes. Méthodes De Détection De *Listeria monocytogenes* Dans Les Aliments, Pp. 82.
17. 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 Microbiology*](#), 13, (2): 137-148.
18. BEUMER, R.R., TE GIFFEL, M.C., SPOORENBERG, E., ROMBOUITS, F.M., 1996. *Listeria* species in domestic environments. *Epidemiol. Infect.* 117 (3): 437 – 442.
19. BILLE J. (2004). Epidémiologie et Maladies Infectieuses « *Listeria* et Denrées Alimentaires ». Bulletin N° 5. Institut De Microbiologie Lausanne, Pp.60-63.
20. BOUGHRIRA C., BELKHIR R. et HAMMADI H. (2004). *Listeria monocytogenes* et Listériose. Laboratoire De Contrôle De Qualité et De La Répression Des Fraudes, ANNABA, 23000, ALGERIE.
21. BORNERT G., LEROUX D. et GORSANE J. (2003). Etude de comportement de *L. monocytogenes* dans les rillettes à 4 et à 8°C. *Médecine Vétérinaire*, Vol 154, n° 3, Pp ; 189-194.
22. BOURGEOIS C.M., MEXLE J.F. Et ZUCCA J. (1996). Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments ; in : « Microbiologie Alimentaire, Tome 1 ». Techniques et documentation, 1^{ère} Edition, LAVOISIER, Paris, Pp. 314-400.
23. BRISABOIS A., BERCHE P., CATTEAU M., FLANDROIS JR., LABADIE JC., ROCOURT J., SALVAT G., VAILLANT V. et VIDON D. (2000). Rapport de la commission d'étude des risques liés à *L. monocytogenes*, AFSSA, Pp. 5-40.
24. BUCHANAN R, LINQVIST R. et ROSS T. (2000). Hazard Identification and Hazard Characterization of *Listeria monocytogenes* in Ready-to Eat Food. Joint FAO/WHO

Expert Consultation Assessment of Microbiological Hazards in Foods, FAO Headquarters, Rome, Italy, 17- 21 July 2000, Pp. 1- 72.

25. BUCHANAN R., LINQVIST R., SMITH M., TODD E. et WHITING R. (2004). Evaluation des Risques Liés à *Listeria monocytogenes* dans les Aliments Prêts à Consommer. Résumer Interprétatif. Archives de Document de la FAO, Pp.1-54.
26. BUNCIC S. (1991). The Incidence of *Listeria monocytogenes* in Slaughtered Animals in Meat and in Meat Product in Yugoslavia. *Int. J. Food Microbiol.* 12, Pp. 173-180.
27. CARLIER, V., AUGUSTIN, J.C., ROZIER, J., 1996. Destruction of *L. monocytogenes* during ham cooking process. *Appl. Environ. Microbiol.* 59 : 592 – 595.
28. CARLIER V. (2000). *Listeria monocytogenes* et Rillettes. Bulletin De L'Académie Vétérinaire De France. 73, Pp. 75-81.
29. CARTIER P. (2004). Point de Repères en Matière de Qualité Microbiologique. Viandes Bovines. Institut de L'Elevage, Service Viande, Pp. 175-179.
30. CARTIER P. (2006). Challenge Tests *Listeria* Sur Viandes Prêtes à Consommer D'Origine Bovine. Institut De L'Elevage. Unité De Programme « Hygiène et Technologie Des Viandes ». Bilan D'Activités 2006, Pp. 9-10.
31. CATTEAU M. (1996). Le Germe *Listeria* ; in : « Microbiologie Alimentaire Tome 1 » : Aspect Microbiologique De la Qualité et De La Sécurité Des Aliments. Science et Techniques Agroalimentaires, 2^{ème} édition, Lavoisier, Paris, Pp. 91 – 102.
32. CATTEAU M. (2006). Fiche de Description du Danger Transmissible par les Aliments. *Listeria monocytogenes*, Rapport de l'AFSSA, Pp 1-4.
33. CHAILLOU S. (2005). Etudes Différentielle Des Résistances Aux Agents Antimicrobiens Alimentaires (Epices, Enfumage) Entre *Lactobacillus sakei* et *Listeria monocytogenes*. Unité Flore Lactique et Environnement Carnés (FLEC). INRA.
34. CHEFTEL J.C., CHEFTEL H. et BESANÇON P. (1977). Introduction à la Biochimie et à La Technologie Des Aliments. 2 Volumes. Edition Lavoisier, Paris.
35. CHRISTIEANS S. (2005). Viande Bovine et Micro-organismes Pathogènes. La Température et La Durée de Stockage Sont des Facteurs Déterminants. Sciences et Techniques. Viande Produits Carnés. Vol 23 (2), Pp. 39-45.
36. CHRISTIEANS S. (2006). Viande et Hachée Artisanale. Qualité, DLC et Challenges Tests. Sciences et Techniques. Viande Produits Carnés. Vol 24 (5), Pp. 163-168.
37. COIGNARD M. (1999). Les Méthodes Alternatives De Recherche et De Dénombrement De *Listeria* ; in « Compte Rendu De la *Listeria*. Laval Le 20 Novembre 1998 ». ASEPT L'Hygiène Dans La Qualité. Pp 1-25.

38. CORANTIN H., QUESSY S., GAUCHER M. et HOUDE A. (2005). Efficacité De Pasteurisation De Vapeur en Commandant Des Risques Microbiologique Des Carcasses Inférieures De Vache à Une Usine Commerciale. Article Pub Med, 69, Pp. 200-207.
39. COSSART P. (2004). Interactions Bactérie- Cellule. Rapport D'Activité 2004. Institut Pasteur.
40. CURIALE, MS., LEWUS. (1994). Detection of *Listeria monocytogenes* in samples containing *Listeria innocua*. J. Food Protects. 57:1048-1051
41. DANUSER J. (2002). Listérias- Un Risque Sanitaire. Rapport 2001 Sur les Zoonoses. (3/2002) Magazine de L'Office Vétérinaire Fédérale (OVF), Pp. 14-15.
42. DANUSER J. (2006). Listerias. Magazine de l'Office Vétérinaire Fédérale (OVF),
43. DAUBE G. (2003). Stratégie De Contrôle Des Maladies Transmissibles. Ministère De La Communauté Française, Direction Générale De La Santé, Pp. 1-3
44. DELACUVELLERIE P. (1999). Viande, Lipides et Alimentation Equilibrée. Health And Food Focus. Bulletin Nutritionnel Destiné Au Corps Médical. Publication De Sciences Today, Pp. 1-9.
45. DE MARC Y. (2003). Rapport D'Activité 2003 ; Centre National De Référence De *Listeria*, Institut Scientifique De Santé Publique, Bruxelles.
46. DENAÏ N., KHARRATI B. et ELYACHIOUI M. (2001). Appréciation De La Qualité Microbiologique Des Carcasses De Bovins Fraîchement Abattus. Article Original n° : 145, Pp. 270- 274.
47. DJENANE D. (2005). Les Systèmes Antioxydants et Antimicrobiens Pour Prolonger La Durée De Conservation De La Viande Fraîche. Résumé De Thèse Doctorale. Université De Zaragoza. Espagne 2002, Pp.1-73.
48. DOZ H. (2007). La Listériose. Bulletin GDS, Rhône Alpes, Pp. 34-35.
49. DUCARME X. (2002). La *Listeria* Omniprésente Dans La Viande Hachée. Sécurité Alimentaire. Article De La Libre Belgique.
50. DUCOFFRE G. (2006). Informations Sur La Listériose. Maladies Infectieuses. Laboratoire Vigies, Institut Scientifique De Santé Publique, Section Epidémiologie, Pp.1-4.
51. EKLUND M.W., POYSKY F.T., RANJPYE L.C., LASHBROOK M., PETERSON E. et PETROY G.A. (1994). Incidence and Sources of *Listeria monocytogenes* in Cold-Smoked Fishery Products and Processing Plants. J. Food Prot. 58 (5): 502_508.

52. ELMNASSER N., RITZ-BRICAUD M., GUILLOU S., LEROI F., ORANGE N., BAKHROUF A. et FIDERIGHI M. (2006). Réponse de *L. monocytogenes* au stress osmotique et au froid : implication en sécurité alimentaire. *Rev. Méd. Vét.*, Vol 2, n° 157, Pp. 92-110.
53. FATET P., SIMON J L. et DOZ H. (2007). Les Listeria et La Listériose. Bulletin GDS. Rhône Alpes.
54. FAUCHERE J.L. et AVRIL J.L. (2002). Bacilles Gram positif ; in : «Bactériologie médicale et générale ». Ellipses, édition Marketing, Paris, Pp. 297-300.
55. FENLON, D.R., 1989. Silage as a potential source of *L. monocytogenes* in food chain. *Microbiol . Alim. Nut. , 7* : 171 – 173.
56. FOSSE J. et MAGRAS G. (2004). Dangers Biologiques et Consommation Des Viandes. Technique et Documentation ; Lavoisier, Pp. 133- 140.
57. FOURNAUD.J., (1982). Type de germes dans la filiere viande aux differents stades. *Ann.institut Pasteur de Lille,17,*143-153.
58. FRANCOIS K. (2005). Effect of environment and précultural conditions in the lag phase of *L. monocytogenes* at the individual cell level. Thèse de doctorat en biologie appliquée, faculté des sciences agronomiques de Gembloux, Université de Gent, Belgique, Pp. 10-95.
59. FRAYSSE J. et DARRE A. (1990). Produire Des Viandes : Sur Quelles Bases Economiques et Biologiques ? Techniques et Documentation, Lavoisier. V1
60. FRENEY J., RENAUD F. et ROCOURT J. (1994). Listeria ; in : «Bactériologie ».édition Scientifiques, ELSEVIER, Paris, Pp. 35-40
61. FRESSE, P., 1993. *L. monocytogenes* dans le lait et les produits laitiers. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire, Toulouse, 68 pages.
62. GANDEMER G. et GOUTEFONGEA R. (2004). Lipides et Qualité des Aliments d'Origine Animale. INRA prod. Anim.1, Pp.37-42.
63. GASTINEL P. (1957). Précis De Bactériologie Médicale, 2^{ème} édition, Masson et C^{ie}.
64. GINGRAS B., LECLERC JM., DANIEL G., CHEVALIER P. et LAFERRIERE M. (2000). Les Risques à La Santé Associés Aux Activités De Production Animale Au Québec. Document De Référence Réalisé Par Le Comité De La Santé et Des Services Sociaux, Pp. 56-58.
65. GIRARD J. P. (1990). Technologie De La Viande et Des Produits Carnés. Techniques et Documentation. INRA, Pp. 215-222.
66. GOULET V., JACQUET C. et MARTIN P. (2004). Surveillance De La Listériose En France, Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (BEH), n° :9, Pp.33.

67. GRAY, M. L., 1960 b. Silage feedind and Listeriosis (a possible link in the relationship between) *J. Ann. Vet. Med. Ass.*; 1: 205 – 208.
68. GRISON J. (2006). Listeria et Listériose. Institut Pasteur, Rapport Annuel, Pp.29.
69. GUIRAUD J.P. et ROSEC J.P. (2004). Pratique des Normes en Microbiologie Alimentaire. AFNOR, Pp. 181-194.
70. HADD X. (2006). De L'Eleveur Au Consommateur. La Qualité Sanitaire Des Viandes C'est L'Affaire De Tous. Centre d'Information des Viandes (CIV), Pp. 1-4.
71. HAMDIT., NAIM. M., MATIN.P. , JACQUET.C.2007. Identification and molecular characterization of listeria monocytogenes isolated in raw milk in the region of algeriers (Algeria) *int. j. food microbiol.* 116(2007):190-193.
72. HERRO R. (2006). Implication Du PTS Dans La Régulation Du prfA, Activateur Transcriptionnel Des Gènes De Virulence De Listeria monocytogenes. Thèse Doctorale Présentée à l'Unité De Microbiologie Et Génie Moléculaire, Paris XI, Pp.1-170.
73. HIRSCH M. (2005). Avis De L'Agence Française De Sécurité Sanitaire Des Aliments Sur La Révision De L'Avis 2000- SA- 0094. Sur La Classification Des Aliments Au Regard Du Risque Représenté Par Listeria monocytogenes et Les Protocoles De Tests De Croissance. Maison Alfor, Pp. 1-13.
74. HOCQUETTE J.F., ORTIGUES-MARTY.I., DAMON M., HERPIN. P. et GEAY. Y. (2000). Métabolisme Energétique des Muscles Squelettiques Chez les Animaux Producteurs de Viande. *INRA Prod. Anim.*, 13, Pp. 185-200.
75. HUDSON.J., MOTT.S.J., DELACY.K.M., EDRIDGE.A.L., (1992) incidence and coincidence of listeria spp., motile aeromonads and Yersinia enterocolitica on ready-to eat flesh foods. *int.j.food.microbiol*;16:99-108.
76. JACQUET C. (1995). Listeria et listériose humaine ; in : « Sécurité alimentaire du consommateur ». 1^{ère} édition, Techniques et documentation, LAVOISIER, Paris, Pp. 24-38.
77. JACQUET C. (2002). Listeria et listériose humaine ; in : « Sécurité alimentaire du consommateur ». 2^{ème} édition, Techniques et documentation, LAVOISIER, Paris, Pp. 29-40.
78. JALALI .M. ABEDI. d., 2008 prevalence of listeria species in food products in Isfahan, Iran .*int.j.food Microbiol.* 122, (2008):336-340.
79. JOFFIN C. et JOFFIN J.N. (2003). Microbiologie Alimentaire. 5^{ème} édition. Collection Biologie Technique, Pp. 146-152.

80. JOUVE J L. (1996). La Qualité Microbiologique des Aliments. Maîtrise et Critères. Centre National d'Etudes et de Recommandations Sur la Nutrition et l'Alimentation. Polytechnica, 2^{ème} Edition, Pp. 202-250.
81. KARIB.H., BAZRI L., ROSSET.R (1994). Appréciation de l'hygiène des abattoirs par l'analyse bactériologique des carcasses bovines. viandes et produits carnés, 15,79-82.
82. KRIEM M.R. et ROCOURT J. (2003). Phenotypic Molecular Characterization Of Listeria spp. Strains Isolated From Meat Products in Morocco. Sciences Des Aliments. INRA. V. 23 (2), Pp. 293- 303.
83. LAHELLEC C., SALVAT G. et BRISABOIS A. (1996). Incidence Of Listeria In Food. Pathol. Biol., 44, Pp.808-815.
84. LARPENT J. P. (1985). Eléments De Microbiologie. Gourgond Collection : Enseignement Des Sciences. Hermann, Editeurs Des Sciences et Des ARTS.
85. LARPENT J P, 1995. Les Listeria. Techniques et documentation. Edition : Lavoisier. Février 1995, pp 1 – 140.
86. LARPENT JP. (2004). Les Listeria. 3^{ème} édition, Lavoisier, Paris, Pp.1-239.
87. LARPENT J. P. et LARPENT M. (1997). Mémento-Téchnique De Microbiologie. Gourgond Collection 3^{ème} édition, Lavoisier, Paris, Pp. 559-575.
88. LEBRES E. (2006). Etude De Prévalence et Analyse Du Risque Des Listeria monocytogenes Dans Les Laits Crus Dans La Région Centre. Thèse Doctorale en Science Vétérinaire, Option Microbiologie. Centre Universitaire d'El Taref, Institut Des Sciences Vétérinaires, El-Taref, Algérie.
89. LEBRET.B., LEFAUCHEUR. L. et MOUROT. J. (2002). La Qualité de la Viande. Influence Des Facteurs d'Elevage Non Génétique Sur Les Caractéristiques du Tissu Musculaire. INRA Prod. Anim., 12, Pp. 11-16
90. LECUIT M. et COSSART P. (2000). De Cadherine en Cadherine. La E Cadherine. Porte D'Entrée De Listeria monocytogenes. Médecine Sciences, V 16, Pp. 128-130.
91. LECUIT M. et COSSART P. (2005). Bases Moléculaires Du Tropisme Fœtoplacentaire et Diagnostic De Listeria monocytogenes. Médecine Sciences, V 21, n° : 1, Pp. 17-19.
92. LEVINE.P.,ROSE.B.,GREEN.S.,RAMSON.G.,HILL.W.,2001.pathogen testing of ready to eat meat and poultry products collected at federally inspected establishment in united sttes,1990 to 1999.j.food protect.,64:1188-1193.
93. LEYRAL G Y. et VIERLING E. (2001). Microbiologie et Toxicologie des Aliments. Hygiène et Sécurité Alimentaires. Sciences des Aliments, Edition Doin, 3^{ème} Edition, Pp. 168-172.

94. LIN YT., LABBE RG. et SHETTY K. (2004). Inhibition Des *Listeria monocytogenes* Dans Des Systèmes De Poissons et Viande Par Utilisation Des Synergies Phytochimiques D'Origan et De Canneberge. Laboratoire De Chenoweth, Département Des Sciences De L'Alimentation. Université Du Massachusettes.
95. LINDEN G. et LORIENT D. (1994). Biochimie Agro- Industrielle : Valorisation Alimentaire De La Production Agricole. Techniques et Documentation ; Masson ; Paris, Pp. 139-159.
96. LITTLE C.L., TAYLOR F.C., SAGOO S.K., GILLESPIE I.A., GRANT K. et MC LAUHLIN J. (2007). Prevalence And Level Of *Listeria monocytogenes* And Other *Listeria* Species In Retail Pre-Packaged Mixed Vegetable Salads In The UK. Published By ELSEVIER. Ltd. Food Microbiology 24 (2007) 711-717.
97. LOI n° 04-02 du 23 Juin 2004. Fixant les Règles Applicables aux Pratiques Commerciales. Journal Officiel N° 41 du 9 Joumada El Oula 1425 Correspondant au 27 Juin 2004. (JORA).
98. LOSIER D. (1996). Suivie De *L. monocytogenes* Dans Du Homard Chauffé Après Une Pré exposition à La Chaleur. Thèse Présentée Pour Répondre Aux Exigences Partielles De La Maîtrise ès Sciences. Ecole De Nutrition et D'études Familiales. Centre Universitaire de Moncton.
99. LUNDEN .J.M., MIETTINEN .M. K., AUTIO T. J. et KORKEALA. H. J. (2000). Persistent *Listeria monocytogenes* Strains Show Enhanced Adherence to Food Contact Surface After Short Contact Times. J Food Prot 63, 1204-7.
100. MCDONALD, F et SUTHERLAND A, D, (1994) .Important differences between generation time of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* in two enrichment broth. Journal of Dairy Res,61.;pp:433-436
101. McLauchlin , J., Hall, S.M., Velani, S.K, Golbert, R.J., 1991. Human Listeriosis and pâté: a possible association. *Brit Med. J*, 303: 773 -775.
102. 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.
103. METIVIER. (1999). Inhibition Des *Listera* Par Les Bactériocines Des Bactéries Lactiques ; in « Compte Rendu De *Listeria*. Laval Le 20 Novembre 1998 ». ASEPT L'Hygiène Dans La Qualité, Pp. 14
104. MOLL M. et MOLL N. (2002). Sécurité Alimentaire Du Consommateur. Technique et Documentation, 2^{ème} Edition, Lavoisier, Paris, Pp.35-51.

105. NADEAU N. (1998). Incidence Au Québec et Virulence D'Isolats Alimentaires Des *Listeria* sp. Mémoire Présenté à La Faculté Des Etudes Supérieures De L'Université Laval Pour L'Obtention Du Grade Maître ès Science (M.Sc). Microbiologie Immunologie, Faculté De Médecine, Pp1-176.
106. NICOLAS J.A. et VIDAUD N. (1985). Contamination Des Viandes et Des produits De Charcuterie Par *Listeria monocytogenes* en Haute-Vienne. *Sci. Aliment.*, 5, Pp.175-179.
107. NORME INTERNATIONALE ISO 11290-2 : 1998 (F). Microbiologie Des Aliments. Méthode Horizontale Pour La Recherche De *Listeria monocytogenes*. Partie 2 : Méthode De Dénombrement.
108. PECCIO A., AUTIO T., KORKEALA H., ROSMINI R. et TREVISANI M. (2003). *Listeria monocytogenes*. *Letters in applied Microbiology*, Vol. 37.
109. PEIRIS W.I.P. (2005). *L. monocytogenes* a food-borne pathogen. Section of food-associated pathogens, faculty of veterinary medicine and animal science. Swedish university of agricultural sciences.
110. PUJOL- DUPUY C. (2004). Accidents Alimentaires D'Origine Bactérienne Liés à La Consommation De Laits et Produits Laitiers. Thèse Doctorale Présentée à L'Université CLAUDE BERNARD, Lyon, (Médecine- Pharmacie), Lyon Paris.
111. ROCOURT J. (1999). *Listeria/Listériose : Des Réponses et Des Questions*. CHLOÉ-DOC. Le Bulletin De Liaison Des Banques De Données. NUTRIPID et CERINUT. Numéro 53 Mai/ Juin 1999.
112. ROCOURT J. et JACQUET C. (2000). Epidemiology of Humain Listeriosis and Sea Food Microbiology, *Bibliome*, Pp. 197- 208.
113. ROGEAUX O. (1999). Listériose. *Encycl. Méd. Chir.*, ELSEVIER, Paris, 3p.
114. ROSSET R., MEZIANE J., CIQUARDN. et ROSSEL V. (1974). Influence de la congélation sur les aliments protéiques. Edition CDIUPA, Paris.
115. ROSSET R. (1982).les intoxications alimentaires. Journées d'étude sur l'hygiène alimentaire, 13 p
116. ROSSET R. (1996). Autres viandes et produits carnés ; in : « Microbiologie des aliments tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments ». Edition techniques et documentation, LAVOISIER, Paris, Pp. 332-345.
117. ROSSET R. (2001). Croissance microbienne et froid, Etude de cas particulier de *Listeria. monocytogenes*, Pp1-10.

118. ROSSET, R., (2001). Microbial growth and cold. Study of the particular case of *L. monocytogenes*. *Bulletin de L'Académie nationale de médecine*; 185, (2) : 287-98.
119. 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.
120. SIMON JL., FATET P. et DYE M. A. (2001). La *Listeria* et La Listériose. Bulletin GDS. Rhône Alpes.
121. SLUTSKER.L. SCUCHAT.A., 1999. Listeriosis in humans, pages 75-79 in E.T. Ryser and E.H Marth eds. *Listeria, Listeriosis and food safety*. food science and technology. New York, Marcel Dekker, Inc
122. STROUILLOU L. et RAFFI F. (1997). Listérioses. *Encycl. Med. Chir (ELSEVIER. PARIS) : Maladies Infectieuses*, 8- 017- R- 10, Thérapeutique, 25- 039- A 10, 7p.
123. SUTRA L. (1998). *Listeria monocytogenes* ; in « Manuel De Bactériologie Alimentaire », Pp. 133 – 162.
124. TAP J. (2005). Mise Au Point D'une Puce à ADN Pour Le Typage et L'Etude De La Biodiversité De *Listeria*. Rapport De Stage Mars- Août 2005. Institut Pasteur. Département Structure et Dynamique Des Génomes. Unité Génomique Des Micro-organismes Pathogènes. Université Paris XII Val De Marne.
125. THEVENOT D., DELIGNETTE- MULLER M.L., CHRISTIENS S. et VERNZOY-ROZAND C. (2007). *Listeria monocytogenes*. Prévalence de *Listeria monocytogenes* Dans 13 Charcuteries Salaisons et Leurs Produits. Sciences et Techniques. Viande Produits Carnés. Vol 25 (6), Pp. 224-228.
126. TREMOLIERE J., SERVILLE Y., JACQUET R. et DUPIN H. (1984). Manuel D'Alimentation Humaine. Tome 2 : Les Aliments. ESF ; 9^{ème} édition, Pp. 38-65.
127. RAHAL K. et RAMDANI-BOUGUESSA N. (2000). Neonatal listeriosis in Algeria: The first two cases. *Clinical microbiology and infection*, Vol. 6, n° 3, Pp. 108-111.
128. VERHOYE, (2002). microbiologie et méthode de laboratoire ,cours international de microbiologie et maîtrise de la sécurité des aliments, institut Pasteur de Lille .unité 2 : laits et produits laitiers Pp.7-23.
129. VIERLING E. (2003). Sciences Des Aliments Tome 2. Aliments et Boissons : Filières et Produits, 2^{ème} Edition. Doin Editeurs.
130. WEISS , J., SEELIGER, H. P. R. , 1975. Incidence of *L. monocytogenes* in nature. *Appl.Microbiol.* 5: 29 – 32.

131. WELSH, R.D., 1983. Equine abortion caused by *L. monocytogenes* serotype 4 .*J. Am. Vet Assoc.*; 182 : 291
132. YOKOYAMA.E. MARUYAMA, S, KATSUBE.Y.1998.production of bacteriocin-like-substance by *Listeria innocua* against *Listeria monocytogenes*.*int.J.Food.Microbiol.*40:133-137.
133. ZAGOREC M. (2006). Une Bactérie Pour Préserver La Viande ; in « La Lettre de l'Institut National de la Recherche Agronomique. INRA la Lettre n°13, Janvier 2006, Pp. 4.
133. ZUNDEL E. (2000). Maîtrise Du Portage et De L'Excrétion D'Agents Pathogènes : Le Cas De *Listeria*, *Revue Production Animale De L'INRA*, Pp. 27-30.
134. ZUNDEL E. (2007). L'Excrétion Fécale Sporadique De *Listeria monocytogenes* Chez Le Mouton Est Concomitante D'Une Infection Transitoire Asymptomatique. Fait Marquant De L'Unité De Recherche « Infection Animale et Santé Publique ». Institut De L'Elevage. Ecole Nationale Vétérinaire D'Alfort.

Webographie

135. ANONYME 1. (2007). Food Poisoning. National Public Health Service For Wales. <http://www.wales.nhs.uk/sites3/page.cfm?orgId=719&pid=22953> .
136. ANONYME 2. (2001). 10 Points Clés d'Actualité Sur La Listériose. *Revue Nature, Atmosphère, Clinique (NAC)*, N° 4. <http://www.laboratoires-genevrier.com>.
137. ANONYME 4. (1998). 2^{ème} Note D'Information Sur Le Froid et L'Alimentation : *Listeria monocytogenes* et Aliments Réfrigérés. Institut International Du Froid. www.iifiir.org, Pp.1-3.
138. ANONYME 6. (2007). L'Hygiène Alimentaire Nettoyer, Séparer, Cuire, Refroidir. Catalogue N° CIB – 3146984. Queens Park Of Ontario. www.health.gov.on.ca/indexf.html , Pp.1-6.
139. DAUBE G. (2001). Les Risques Microbiologiques Liés à L'Alimentation. www.madaoufmv.Ulg.ac.be, Pp. 1-4.
140. EUZEBY J. P. (2000). Dictionnaire De Bactériologie Vétérinaire : Les *Listeria*. www.bacterio.cict.fr/bacteriocronstaxon:htpm, Pp. 1-35.

141. OMEÑACA TERES F. (2003). Infección Por Listeria monocytogenes: Septicemia. Hospital Materno Infantil La Paz. (Madrid).
www.zambon.es/.../03mujer/atlas/fichas/7107.htm
142. STRANKA H. (2002). Mikrobiální P•vodci Alimentárních Onemocn•ní L. monocytogenes. www.szpi.gov.cz/cze/print.asp?id=54158&chapte...
143. VOM J. (2005). Untersuchung Von Silagen Auf Listerien. Im [Futtermittelinstitut Stade](http://www.laves.niedersachsen.de/master/C12115017_N15487600_L20_D0_I826.html) des LAVES werden fortlaufend Silagen auf Listerien untersucht, um einen Überblick über die mögliche Belastung zu erhalten.
http://www.laves.niedersachsen.de/master/C12115017_N15487600_L20_D0_I826.html

ANNEXES

Annexe 1

Caractéristiques biochimiques des différentes espèces de *Listeria* et de *Jonesia* (D'après Bergey's Manual, 1986 cité par LARPENT, 2004)

Esp Caractéristiques	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. seelgeri</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. grayi</i>	<i>L. murrayi</i>	<i>Jonesia dentrificans</i>
Bâtonnets irréguliers	-	-	-	-	-	-	-	+
β - hémolyse	+	-	+	-	+	-	-	-
CAMP-test (<i>St. aureus</i>) CAMP = Christie, Alkins, Munch, Petersen	+	-	+	-	-	-	-	-
CAMP-test (<i>Rhodococcus equi</i>)	-	-	-	-	+	-	-	-
Production d'acides à partir de :								
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+
L-arabinose	-	-	-	-	-	-	-	+
Dextrine	±	-	-	-	-	+	+	+
Galactose	±	-	-	-	±	+	+	+
Gluconate	-	-	-	-	-	+	+	-
Glycogène	-	-	-	-	-	-	-	+
Lactose	±	+	+	-	+	+	+	+
D-Lyxose	-	-	-	-	-	+	+	-
Mannitol	-	-	-	-	-	+	+	-
Mélezitose	±	+	±	±	±	-	-	-
Mélibiose	-	-	-	-	±	-	-	-
α-Méthyl-D-glucoside	+	+	-	±	+	+	+	-
α-Méthyl-D-mannoside	+	+	-	+	-	-	-	-
L.Rhamnose	+	±	-	±	-	-	±	-
Sorbitol	±	-	-	-	-	-	-	-
Amidon soluble	-	-	-	-	-	+	+	-
Saccharose	-	±	-	-	±	-	-	+
D-xylose	-	-	+	+	+	-	-	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+
D-tagatose	±	±	±	±	-	-	-	●
D-turanose	±	±	±	±	±	-	+	●
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+	+	-
Hydrolyse de :								
Urée	-	-	-	-	-	-	-	-
Cellulose	-	-	-	-	-	-	-	+
Hippurate	+	+	±	±	+	-	-	-
Amidon	±	±	-	-	-	-	-	+
Esculine	+	+	+	+	+	+	+	+
Lécithinase	±	±	-	-	+	-	-	-
Phosphatase acide (APIZym)	+	+	+	+	+	-	-	-
Phosphoamidase (APIZym)	+	+	+	+	+	-	-	●
Réduction de NO ₃ en NO ₂	-	-	+	±	-	-	+	+
Pathogénicité pour la souris	+	-	-	-	+	-	-	+
G + C (% mol)	37-39	36-38	36	36	37-38	41-42	41-42,5	56-58

Annexe 2

Sérovars de *Listeria* (D'après BIND, 1990 cité par LARPENT, 2004)

ESPÈCES	SÉROVARS	ANTIGÈNES SOMATIQUES (O)	ANTIGÈNES FLAGEL.
<i>Listeria monocytogenes</i>	1/2a	I II (III)	A B
	1/2b	I II (III)	A B C
	1/2c	I II (III)	B D
	3a	II (III) IV	A B
	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 VI 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	A B C
<i>Listeria innocua</i>	6a	(III) (V) (VI) (IX) X	A B C
	6b	(III) (V) (VI) (VII) IX X XI	A B C
	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) X	
	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	(III) (V) VI VIII	A B C
6b	(III) (V) (VI) (VII) IX X XI	A B C	
<i>Listeria grayi</i>		(III) XII XIV	E

Annexe 3

Tableau XIV: résultats viandes bovines fraîches

échantillons	Boîte n°1 (SM)				Boîte n°2 (SM)				y	V	d	N (UFC)/g	espèces
	b1	C1	A1	a1	b2	C2	A2	a2					
1	3	5	5	3	0	13	5	0	1,5	0,1	0,1	2,010²	L.monocytogenes
2	1	1	1	1	0	12	5	0	1	0,1	0,1	1,010²	L.monocytogenes
3	1	4	5	1	2	2	2	2	1,5	0,1	0,1	2,010 ²	L.innocua
4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,1	0,1	1,010 ²	L.innocua
5	0	2	2	0	2	5	5	2	1	0,1	0,1	1,010 ²	L.innocua
6	1	3	3	1	2	2	2	2	1,5	0,1	0,1	2,010 ²	L.innocua
7	1	11	5	2	2	2	2	2	2	0,1	0,1	2,010²	L.monocytogenes

Tableau XV : résultats viandes bovines hachées.

échantillons	Boîte n°1 (SM)				Boîte n°2 (SM)				y	V	d	N (UFC)/g	espèces
	b1	C1	A1	a1	b2	C2	A2	a2					
1	1	1	1	1	0	4	3	0	1	0,1	0,1	1,010²	L.monocytogenes
2	2	3	3	2	1	2	2	1	1,5	0,1	0,1	2,010 ²	L.innocua
3	1	4	3	1	0	0	0	0	0,5	0,1	0,1	1,010²	L.monocytogenes
4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,1	0,1	1,010 ²	L.innocua
5	0	2	1	0	2	3	5	2	1	0,1	0,1	1,210 ²	L.innocua

Tableau XVI : résultats viandes bovines congelées désossées.

échantillons	Boîte n°1 (SM)				Boîte n°2 (SM)				y	V	d	N (UFC)/g	espèces
	b1	C1	A1	a1	b2	C2	A2	a2					
1	1	1	1	1	0	5	4	0	1	0,1	0,1	1,010²	L.monocytogenes
2	1	4	3	1	2	3	2	3	1,5	0,1	0,1	2,010 ²	L.innocua
3	0	2	2	0	2	5	5	2	1	0,1	0,1	1,010 ²	L.welshimeri

Tableau XVII : résultats viandes ovines fraîches

échantillons	Boîte n°1 (SM)				Boîte n°2 (SM)				y	V	d	N (UFC)/g	espèces
	b1	C1	A1	a1	b2	C2	A2	a2					
1	3	5	5	3	0	13	5	0	1,5	0,1	0,1	2,010²	L.monocytogenes
2	1	1	1	1	0	12	5	0	1	0,1	0,1	1,010²	L.monocytogenes
3	1	4	5	1	2	2	2	2	1,5	0,1	0,1	2,010 ²	L.innocua
4	1	5	3	2	1	4	3	1	0	0,1	0,1	1,510 ²	L.ivanovii
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,1	0,1	1,010 ²	L.innocua
6	0	2	2	0	2	5	5	2	1	0,1	0,1	1,010 ²	L.innocua
7	1	3	11	5	6,6	0	0	0	0	3,3	0,1	3,310 ²	L.ivanovii
8	7	6	5	5	2	2	6	5	2	2	0,1	2,010 ²	L.innocua

Annexe 4

Nous avons utilisé le matériel usuel de laboratoire de microbiologie alimentaire

Ø **Appareillage**

- § Agitateur électrique ;
- § Autoclave (121°C);
- § Balance de précision type SARTORUS (max : 300 g,+/- 0.01);
- § Broyeur « Stomacher » ;
- § Bain Marie ;
- § Combiné : Réfrigérateur – Congélateur ;
- § Distillateur ;
- § Étuves ;
- § Four Pasteur ;
- § Hotte à flux laminaire vertical et horizontal ;
- § Microscope optique ;
- § Piptus.

Ø **Verrerie**

- § Boîte de Petri ;
- § Flacons en verre stériles de 500 et de 1000 ml ;
- § Fioles (50, 100, 500 ml) ;
- § Lames et lamelles ;
- § Pipettes Pasteur ;
- § Pipettes graduées stériles de 1, 2, 5 et 10 ml ;
- § Râteaux en verre stérile ;
- § Tubes à vis stériles.

Ø **Autres matériels**

- § Anse à boucle ;
- § Bec – bunzen ;
- § pH-mètre
- § Pinces ;
- § Portoirs en plastique ;
- § Sachets « stomacher » ;
- § Seringues stériles ;
- § Spatules ;

Ø **Produits et réactifs**

- § Ampoules de sang ;
- § Bâtonnets d'oxydase ;
- § Colorants de Gram : Violet de gentiane, Lugol, Fushine et l'alcool éthylique ;
- § Eau distillée déminéralisée ;
- § Eau distillée stérile ;
- § Eau oxygénée (H₂O₂) ;
- § Huile à immersion ;
- § Huile de vaseline ;
- § Poudre de Zinc ;
- § Réactif de Kowacs ;
- § Rouge de méthyle (R.M) ;
- § Réactif de Griss : Nitrate I, Nitrate II ;
- § Suspension d'une opacité égale à 0,5 Mac Farland ;
- § Voges proskauer I et II (VPI et VPII) ;
- Tubes héparinés et/ou citratés ;

Annexe 5

Ø Formule des milieux de culture

1-Milieu de base du bouillon Fraser demi

Composition

Constituants	quantités
<ul style="list-style-type: none">• Digestat enzymatique de tissus animaux ;• Digestat enzymatique de caséine ;• Extrait de viande ;• Chlorure de Sodium (NaCl) ;• Na₂ HPO₄, 2H₂O ;• KH₂ HPO₄.• Esculine ;• Eau.	<ul style="list-style-type: none">• 5,0 g• 5,0g• 5,0g• 20,0g• 12,0g• 1,35g• 1,0g• 1000 ml

Principe

- la forte teneur en NaCl permet d'accroître la sélectivité du milieu ;
- les phosphates agissent comme système tampon pour le maintien du pH ;
- le chlorure de lithium inhibe la plupart des Entérocoques susceptibles d'hydrolyser l'esculine.

Préparation

Dissoudre les composants du milieu dans de l'eau distillée, en chauffant si nécessaire. Ajuster le pH à 7,2 à 25°C.

Répartir le milieu par quantités nécessaires pour l'examen dans des flacons. Stériliser ensuite le milieu à 121°C pendant 15 minutes.

Annexe 6

2- Eau Peptonée Tamponnée Composition

Constituants	Quantités
• Digestat enzymatique de tissus animaux ;	• 10,0g
• Chlorure de Sodium (NaCl) ;	• 5,0g
• Na ₂ HPO ₄ , 12H ₂ O ;	• 9,0g
• KH ₂ HPO ₄ ;	• 1,5g
• Eau distillée.	• 1000ml

Préparation

Dissoudre les composants dans de l'eau distillée, en chauffant si nécessaire. Ajuster le pH à 7,0 à 25°C

Répartir le milieu dans des flacons, stériliser ensuite à 121°C pendant 15minutes.

3- Milieu d'isolement sélectif : gélose Palcam Composition

Constituants	Quantités
• Peptones ;	• 23,0g
• Amidon ;	• 1,0g
• Chlorure de Sodium (NaCl) ;	• 5,0g
• Extrait de levure ;	• 3,0g
• Agar- agar ;	• 9 à 18g
• D- glucose ;	• 0,5g
• D- mannitol ;	• 10,0g
• Esculine ;	• 0,8g
• Citrate de fer (III) ammoniacal ;	• 0,5g
• Rouge de phénol ;	• 0,08g
• Chlorure de lithium (Li Cl) ;	• 15,0g
• Eau.	• 960ml

Principe

- la peptone favorise la croissance des *Listeria* ;
- l'extrait de levure est une source du complexe vitaminique B ;
- le glucose et l'amidon représentent les sources énergétiques du développement ;
- le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique ;
- la fermentation du mannitol par les germes contaminants qui pourraient cultiver, et mise en évidence par le virage au jaune du rouge de phénol, permettant ainsi d'orienter le diagnostic.

Préparation

Faire dissoudre le milieu puis le refroidir à une température de l'ordre de 50°C. Ajouter par la suite 2,25 ml du supplément Palcam reconstitué. Homogénéiser et couler en boîtes de Petri stériles. Laisser solidifier sur pailleuse puis les sécher à l'étuve. Les boîtes ainsi préparées peuvent également être conservées à 4°C pendant 4 à 5 jours.

Annexe 7

✓ Supplément sélectif pour gélose Palcam

Composition

Constituants	Quantité
<ul style="list-style-type: none">• Sulfate de polymyxine • ;• Ceftasidime ;• Acriflavine.	<ul style="list-style-type: none">• 5,0mg• 10,0mg• 2,5mg

Il s'agit d'un mélange de deux antibiotiques (polymyxine et ceftasidime) et d'un colorant antiseptique (l'acriflavine).

- la polymyxine inhibe les Gram négatifs, y compris *Pseudomonas aeruginosa*, ainsi que quelques Gram positifs ;
- la ceftasidime est un antibiotique à large spectre auquel *Listeria* est résistante.

Préparation

On reconstitue le supplément en y ajoutant aseptiquement 5 ml d'eau' distillée stérile. Mélanger doucement et soigneusement, puis répartir en boîtes de Pétri, qu'on laisse refroidir et sécher sur paillasse.

Les boîtes ainsi préparées peuvent être gardées à +4°C, pendant au plus 48 à 72 heures.

4- Milieu d'isolement sélectif : gélose Oxford

Composition

Constituants	Quantités
<ul style="list-style-type: none">• Gélose Columbia ;• Esculine ;• Citrate ammoniacal ferrique ;• Chlorure de lithium ;• Eau.	<ul style="list-style-type: none">• 39,0g• 1,0g• 0,5g• 15,0g• 1000ml

✓ Supplément sélectif pour gélose Oxford

Composition

Constituants	Quantités
<ul style="list-style-type: none">• Cycloheximide ;• Colistine ;• Acriflavine ;• Céfotétan ;• Fosfomycine.	<ul style="list-style-type: none">• 200,0 mg• 10,0 mg• 2,5 mg• 1,0 mg• 5,0 mg

Annexe 8

Préparation

Verser 27,75 g de gélose de base dans 500 ml d'eau distillée. Porter doucement à ébullition jusqu'à dissolution. Stériliser 15 minutes à 121°C à l'autoclave. Laisser refroidir à 50°C et ajouter le contenu d'un flacon de supplément reconstitué avec 5 ml d'éthanol/eau distillée stérile à parties égales. Bien mélanger et répartir.

5-Gélose au sang de mouton

Composition

Constituants	Quantités
<ul style="list-style-type: none">• Digestat enzymatique de tissus animaux• Digestat enzymatique de foie• Extrait de levure• Chlorure de sodium• Agar-Agar• Eau	<ul style="list-style-type: none">• 15,0 g• 2,5 g• 5,0 g• 5,0 g• 9 à 18,0 g• 1000 ml

Préparation

Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau, en portant à ébullition. Ajuster le pH à 7,3 à 25°C, puis répartir dans des flacons. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Les flacons seront ensuite refroidis ; au moment de leur utilisation, ils seront fondus, puis refroidis à environ 45°C, puis on leur ajoute aseptiquement, six ampoules de sang de mouton défibriné. Mélanger soigneusement, puis répartir en boîtes de Petri. Ce milieu est utilisé pour la mise en évidence de l'hémolyse.

6- Gélose mobilité

Composition

Constituants	Quantités
<ul style="list-style-type: none">• Digestat enzymatique de caséine ;• Digestat enzymatique de tissus d'animaux ;• Agar-agar ;• Eau.	<ul style="list-style-type: none">• 20,0g• 6,1g• 3,5g• 1000ml

Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau, en portant à ébullition. Ajuster le pH à 7,3 à 25 °C. Répartir le milieu par quantité d'environ 5 ml dans des tubes. Stériliser pendant 15 minutes à l'autoclave réglé à 121 °C.

Annexe 9

7- bouillon pour l'utilisation des glucides (Rhamnose et Xylose)

Ø Milieu de base

Composition

Constituants	Quantités
<ul style="list-style-type: none">• Protéose peptone ;• Extrait de viande ;• Chlorure de Sodium (NaCl) ;• Pourpre de bromocrésol ;• Eau.	<ul style="list-style-type: none">• 10g• 1g• 5g• 0,02g• 1000ml

Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau, en chauffant si nécessaire. Ajuster le pH à 6,8 à 25 °C.

Repartir le milieu par quantité nécessaire pour l'examen dans des tubes. Stériliser pendant 15 minutes à l'autoclave réglé à 121 °C.

Ø Solutions des glucides

Constituants	Quantités
<ul style="list-style-type: none">• Glucides ¹⁾• Eau	<ul style="list-style-type: none">• 5g• 100
¹⁾ L- rhamnose ou L- xylose	

Préparation

Dissoudre séparément chaque glucide dans 100 ml d'eau stérilisé par filtration.

Ø Pour le milieu complet

Ajouter aseptiquement x ml de solution à 9 x ml de milieu de base.

