

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

Contribution à la recherche de *Listeria* spp. dans le lait cru de collecte dans la Wilaya de Tizi-Ouzou.

Présenté par : SEKOUR Dahia.

AMRAR Amina.

Soutenu le : 05/06/2016.

Devant le jury composé de:

- **Président :** Mr HAMDI.TM.
- **Promoteur :** Mlle BOUAYAD L.
- **Examineur 1:**BOUHAMMED R.
- **Examineur 2 :** NOUICHI S.

Professeur à l'ENSV.
Maitre de Conférences Classe A.
Maitre Assistante Classe A.
Maitre Assistante Classe A.

Année universitaire : 2015/2016

Remerciements :

Mr HAMDI TAHA MOSSADEK, professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger d'avoir accepté de présider notre jury de thèse, qu'il retrouve ici l'expression de notre gratitude et nos hommages respectueux.

Mlle BOUHAMMED RADIA, Maître Assistante Classe A et Mme NOUICHI SIHEM, Maître Assistante Classe A, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail, qu'elles retrouvent ici le témoignage de notre reconnaissance.

Mlle BOUAYAD LEILA, Maître de Conférences Classe A, qui a eu la bienveillance d'accepter notre sujet de mémoire et qui a toujours gardé un œil sur notre étude ; qu'il nous soit permis de lui témoigner notre profonde reconnaissance et nos sincères remerciements.

Nos remerciements chaleureux à Mme ABDELLAOUI LYNDIA, Maître assistante à l'Institut des Sciences Vétérinaire de Blida pour son soutien, son aide et ses conseils.

Mr SEHAJM YACINE et Mr DIRAMI Hamid, pour leur aide précieuse, leur disponibilité et leur orientation, croyez en nos sincères considération.

A Louiza.

Sincères reconnaissance à tous le personnel des centres de collecte de Fréha et Timizart.

A tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace :

Au bon dieu.

A ma mère qui a veillé sur moi, et qui a su me transmettre ses valeurs et son chaleureux amour durant toutes ces années qui m'a encouragée et qui a veillé à ce que je réussisse à mes études, qui m'a permis de donner le meilleur de moi-même et me surpasser. Que Dieu te garde pour nous.

A mon très agréable père, pour sa confiance, ces sacrifices pour moi, qui s'est toujours donné du mal pour assurer mon bien être, J'espère que je suis à la hauteur de ce qu'il attend de moi. Qu'il trouve à travers ce modeste travail toute la reconnaissance et le respect que je lui dois.

A ma sœur Dahbia qui ma toujours redonné cofinance et mon beau frère Mehdi et leur adorable petite fille "Assia".

A mes deux aimables sœurs Fadma et Lina.

A mes deux frères Ali et Khelfa, que j'aime énormément

A mon binôme SEKOUR Dyhia et toute sa famille.

A mon âme sœur, pour les moments passés, présents et à venir, que la vie nous apporte tous ce que nous méritons ensemble.

A mon très cher ami AIT-BELKACEM Koceila Massinissa, je ne te remercierai jamais assez pour ta présence, tes encouragements et tous les bons moments qu'on a passés ensemble et je te serai toujours reconnaissante.

A mes ami(e)s de la promotion : Mounia, Ouardia, Kenza, ,Aghiles, Hicham, Sarah, Ferial, Djouher, Hanane, Célia, Aldja et Yacine, merci pour tous les merveilleux moments passés ensemble qui seront gravés à jamais dans ma mémoire.

A tous ce qui m'ont donné un coup de pousse pour persévérer.

A la médecine vétérinaire et aux animaux.

AMINA

Dédicaces

A mes chers parents, un faible témoignage de mon profond amour et de ma grande reconnaissance. Merci pour votre soutien et toute la confiance que vous placez en moi.

A mes grand mères : Aldjia, Ourida.

A mes chères sœurs : Ouïza, Lydia.

A mes chers frères : Farid, Ahmed, Sofiane, Moumouh.

A mes belles sœurs : Leïla, Ouardia.

Mes neveux et ma nièce : Lyna, Idir, Aylane.

A mes oncles, tantes, cousins et cousines.

A Belaid Ouaras.

A Dr Djoua Hand.

A mon binôme Amina Amrar.

A mes amis (e), Amel, Sara, Mounia, Ouardia, Kenza I, , Djouher, Ferial, Hanane, Aldja, Cylia, , Lyna, Kenza D, Selma, Samira, Zohra, Ikram, Leticia, Arezeki, Krimo, Aghiles H, Aghiles S, Hicham, Massi, Handi, Bilel, Abdo L, Abdo, Adel.

Dyha.

Liste des abréviations

%: Pourcentage.

Afssa : Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

Anses : Agence Nationale de sécurité sanitaire alimentation, environnement, travail.

API : Analytic Prophylactic Index.

A_w : Activité de l'eau.

Cnaol : Conseil nationale des appellations d'origine laitière.

FAO: Food and Agriculture Organisation.

HIDAOA: Hygiène et Industries des denrées alimentaires d'origines animales.

H₂O₂ : Peroxyde d'Hydrogène.

ISO: Internatinal Standarisation for Normalisation.

L : *Listeria*.

PALCAM: Polymixine B, Acriflavine, Lithium- chlorid, Ceftazidine, Esculine, D-Manitol.

PCR: Polymerase Chain Reaction.

pH : potentiel d'Hydrogène.

RTE: Ready To Eat.

RM: Rouge de Methyl.

Spp: Species Plurial.

TDA: Tryptophane Désaminase.

TSA : Trypto-caséine Soja.

TSBYE: Tryptic Soja Agar Yeast Extract.

TSI: Triple Sugar Iron.

UFC: Unité Formant colonies.

VP: Voges Proskauer.

WIV-isp : institut scientifique de la santé publique.

Liste des tableaux

Tableau 1: Les caractéristiques biochimiques du genre <i>Listeria</i> .	7
Tableau 2: Prévalence de <i>Listeria</i> spp. dans les différentes denrées d'origine animale.	14
Tableau 3 : Présence de <i>L.monocytogenes</i> dans quelques aliments.	15
Tableau 4 : Répartition des échantillons selon les centres de collectes.	17
Le tableau 5 : Prévalence globale de <i>Listeria</i> spp. dans le lait cru de collecte au niveau de quatre centres de collecte de la Wilaya de Tizi-Ouzou.	27
Tableau 6 : Prévalence des <i>Listeria</i> spp. par centre de collecte.	30

Plan de travail :

Introduction.....	1
Partie1 : Partie bibliographique.	
Chapitre I : Généralités sur le lait cru.....	2
I.1.Définitions.....	2
I.1.1. Générale.....	2
I.1.2. Réglementaire.....	2
I.2. Les sources de contamination du lait cru.....	2
I.2.1. Contamination physique.....	2
I.2.2. Contamination chimique.....	3
I.2.3. La microflore du lait.....	3
I.2.3.1. La microflore Originelle.....	3
I.2.3.2. La contamination externe.....	3
Chapitre II : <i>Listeria</i>	6
II.1. Bactériologie de <i>Listeria</i> spp.....	6
II.1.1. Taxonomie.....	6
II.1.2. Caractères morphologiques.....	6
II.1.3. Caractères cultureux.....	6
II.1.4. Caractères biochimiques.....	7
II.1.5. Méthodes de détections et d'identifications.....	7
II. 2. La listériose chez les animaux et chez l'homme.....	8
II. 2.1. Définition.....	8
II. 2.2. Mode de contamination.....	9
II. 2.3. Pathogénie.....	10
II. 2.4. Symptômes.....	10
II.2.5. Traitement.....	12
II.2.6. Prophylaxie.....	12
Chapitre III : <i>Listeria</i> dans le lait.....	13

III.1 Voies de contamination du lait	13
III.2. Prévalence de <i>Listeria</i> spp. dans les différentes denrées d'origine animale....	13
♦ En Algérie.....	13
♦ Dans le monde.....	13

Partie2 : Partie expérimentale.

I. Matériels.....	16
I.1. Echantillonnage.....	16
I.1.1. Lieu de prélèvement.....	16
I.1.2. Technique de prélèvements.....	16
I.2. Matériels de prélèvement et de laboratoire.....	17
I.3. Les milieux et les réactifs.....	17
II. Méthode.....	19
II.1. Recherche et Isolement de <i>Listeria</i>	19
II.2. Identification du genre <i>Listeria</i>	21
II.3. Identification des espèces du genre <i>Listeria</i>	22
III-Résultats et discussion.....	27
III.1. Prévalence globale de <i>Listeria</i> spp. dans le lait cru au niveau dans quelques centres de collecte de wilaya Tizi-Ouzou.....	27
III.2. Prévalence de <i>Listeria</i> spp. par centre de collecte.....	30
Conclusion.....	32
Recommandations.....	33
Références.	

Introduction

Le lait, destiné à l'alimentation humaine, est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée

(Alais, 1975).

Le lait cru est la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (Codex stan, 1999).

Contaminé, il peut être un vecteur de transmission de germes pathogènes à l'homme et peut présenter un risque pour la santé humaine. L'évaluation de la qualité sanitaire et hygiénique du lait cru, destiné à la consommation ou à la transformation est donc essentielle pour la protection du consommateur. Le lait est à la fois un aliment traditionnel et une boisson d'un grand intérêt nutritionnel, car il représente un aliment de base presque complet. Les microorganismes trouvent dans le lait un substrat idéal pour leur développement.

La présence de nombreux facteurs de croissance permettra de satisfaire de nombreuses espèces microbiennes exigeantes et difficiles à cultiver dans un milieu moins complet dont les *Listeria*.

Listeria monocytogenes est un agent pathogène transmis par voie alimentaire que l'on peut retrouver dans les produits laitiers. La pasteurisation permet un assainissement efficace du lait avant sa transformation quand elle est bien conduite. Le problème se pose avec les fromages au lait cru.

Listeria est un bacille Gram Positif, largement répandue dans le milieu extérieur et possédant une très grande résistance (1 à 2ans). Elle est à l'origine de la Listériose, maladie affectant l'animal et l'homme (Lebres, 2006).

Chez l'animal, la listériose est sporadique et les cas peuvent être isolés ou rares, mais le portage sain peut être important. Chez l'homme, les accidents épidémiques dus à *Listeria monocytogenes* sont parfois graves. La listériose concerne des catégories bien précises de la population, à savoir la femme enceinte, les immunodéprimés et les personnes âgées.

En Algérie, la production nationale en lait cru et le développement des industries laitières sont en nette croissance ; les objectifs de notre étude sont de contribuer à déterminer la prévalence des *Listeria* et *Listeria monocytogenes* en particulier dans le lait cru de collecte et d'apporter des recommandations qui pourraient aider à minimiser le danger *Listeria* dans le lait cru.

Partie 1 :

Partie bibliographique.

Partie 2 :

Partie expérimentale.

Chapitre I : Généralités sur le lait cru

I.1. Définitions

I.1.1. Générale

Le lait est le produit élaboré par la glande mammaire des mammifères après la naissance du jeune. Le terme lait (sans autre précision) désigne le lait de vache ; le lait provenant d'une autre espèce doit être désigné par une dénomination « lait+le nom de l'espèce » (**Codex stan, 1999**).

I.1.2. Réglementaire

Le lait a été défini en 1908, au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant : « Le produit **intégral** de la **traite totale** et **ininterrompue** d'une femelle laitière **bien portante, bien nourrie** et **non surmenée**. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum (**Alais, 1975**).

Le *Codex Alimentarius* en 1999, le définit comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destinée à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur.

Le lait cru : Aux termes du **Règlement (CE) n°853/2004 du parlement Européen et du conseil de 29 Avril 2004 fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale**, le lait cru est le lait produit par la sécrétion de la glande mammaire d'animaux d'élevage non chauffé à plus de 40°C, ni soumis à un traitement avec un effet équivalent.

A ne pas le confondre avec le lait frais qui est en réalité le lait pasteurisé (72 à 85° C pendant 15 à 20 secondes).

I.2. Les sources de contamination du lait cru

I.2.1. Contamination physique

Le lait cru peut être contaminé par des particules étrangères comme du verre, du métal, des cheveux ou des poils, qui peuvent provenir soit de l'environnement des salles de traite (verre, bout de métal, plastique...), de l'animal lui-même (poils) ou du personnel qui s'occupe des animaux pendant la traite (cheveux) (**CAC/RCP 57-2004**).

I.2.2. Contamination chimique

Représentée essentiellement par la présence de résidus d'antibiotiques mais aussi par certaines substances telles que les produits chimiques de nettoyage et désinfection des citernes lorsqu'elles sont mal rincées (**CAC/RCP 57-2004**).

I.2.3. La microflore du lait

Elle peut être originelle ou provenant d'une origine externe.

I.2.3.1. La microflore originelle

La flore originelle se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis ; les genres dominants sont essentiellement des mésophiles. Il s'agit de microcoques, mais aussi des streptocoques lactiques et lactobacilles (**Vignola, 2002**).

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 UFC/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et protégé par des substances inhibitrices de la prolifération des germes appelées "lacténines" à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite). (**Cuq, 2007**).

La flore lactique assure la fermentation lactique, ainsi elle établit une certaine qualité hygiénique par acidification et production de bactériocines, acides organiques, peroxyde d'Hydrogène, CO₂, qui inhibent la croissance des bactéries pathogènes par antagonisme .La flore lactique assure également la synthèse d'acides aromatiques qui améliorent la qualité organoleptique finale des produits laitiers (**Bachtarzi, 2012**).

I.2.3.2. Contamination externe

A. Virus

Les principaux virus rencontrés dans le secteur laitier sont les virus de l'hépatite A et les bactériophages qui sont spécifiques des bactéries et ne présentent aucun danger pour la santé humaine (**F.A.O, 1995**).

B. Levures et moisissures

Levures et moisissures sont des contaminants habituels du lait et des produits laitiers; toutefois leur caractère fortement aérobic limite leurs proliférations aux interfaces des substrats avec

l'atmosphère. Le développement équilibré de levures et de moisissures ensemencées de manières naturelles et/ou dirigées sur de nombreux types de fromages, contribue efficacement par leurs activités enzymatiques élevées et variées à la protéolyse et à la lipolyse de la pâte au cours de l'affinage (Madji, 2008).

Certaines moisissures utilisées dans l'affinage des produits laitiers peuvent devenir dans certaines circonstances toxiques tel que « Les *Rhizomuco* », ce sont des agents d'affinage présents à la surface, parfois ils sont responsables d'accidents qui se caractérise par un défaut d'aspect des fromages, et par l'apparition de mauvais goûts (Cnaol, 2011).

C. Bactéries

Nombreuses sont les espèces bactériennes qui peuvent contaminer le lait cru, de la récolte jusqu'à la consommation :

C.1. La flore d'altération

Elle est responsable de la dégradation de la qualité organoleptique du lait (modification du goût, de l'odeur ...) ce qui réduira sensiblement sa durée de conservation.

Ex : *Pseudomonas*, *Entérobactéries* et les spores *Clostridium* spp (Michel et al., 2001).

C.2. la flore pathogène

Le lait contaminé par cette flore constitue un danger sur la santé de celui qui le consomme ;

Ex : *Salmonelles*, *Yersinia* et *Listeria*.

Ces contaminants peuvent provenir de :

➤ L'environnement

Telles que : *Entérobactéries*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Microcoques*, *Corynebactéries*, *Bacillus*, *Listeria*, etc..., par l'intermédiaire du matériel de traite, des fûts de stockage, du sol, de l'herbe et de la litière.

➤ Les matières fécales

Peuvent être à l'origine de la présence de *Clostridium*, d'*Entérobactéries*, de Coliformes et, éventuellement, d'*Entérobactéries* pathogènes (*Salmonella*) et autres pathogènes tels que *Yersinia* et *Listeria*.

➤ **l'animal lui-même**

Il peut s'agir d'agents de mammites: *Streptococcus pyogenes*, *Corynebactérium pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, etc.... Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en absence d'anomalies du pis : *Salmonella* ; *Brucella*, agent de la fièvre de Malte (Brucellose) ; *Mycobacterium bovis* et *tuberculosis* (agents de la tuberculose) ; *Bacillus anthracis* (agent du charbon) ; *Coxiella burnetii* (agent de la fièvre Q) et en particulier *Listeria monocytogenes*, agent de la listériose qui sera l'objet de notre étude.

Chapitre II : *Listeria***II.1. Bactériologie de *Listeria* spp.****II.1.1. Taxonomie**

Dans le **Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology**, 9^{ème} édition, Les *Listeria* sont présentées comme des bâtonnets Gram+, réguliers, non sporulés, appartenant au groupe des Bacillus / Clostridium avec *staphylococcus*, *stroptococcus*, *Lactobacillus*, *brochothrix* et *lactobacillus*. Les *Listeria* et *brochothrix* sont regroupés dans les *Listeriaceae*.

(Larpent, 2004).

La dernière classification : (Bouayad, 2009)

- **Classe :** *Bacilli*
- **Ordre :** *Bacillales*
- **Famille :** *Listeriaceae*

Il existe actuellement dix (10) espèces dans le genre *Listeria* : *L.monocytogenes*, *L.ivanovii*, *L.innocua*, *L. welshimeri*, *L. seelgeri* et *L.grayi* (Larpent, 2004). Les autres espèces sont : *L. marthii* (Graves et al., 2010), *L.rocourtiae* (Leclercq et al., 2010), *L.fleishmannii* (Bertsch et al, 2013) et *L.weihenstephanensis* (Lang Halter et al., 2013).

II.1.2. Caractères morphologiques

Les *Listeria* spp se présentent sous la forme de petits bacilles droits, de 0,4 à 0,5 µm de diamètre sur 0,5 à 02 µm de longueur, aux extrémités arrondies, se présentant de manière isolées ou groupées en V ou en L ou en palissades ou, parfois, en courtes chaînes. Ce sont des bactéries Gram positif, non capsulées, non sporulées, mobiles lorsqu'elles sont cultivées à 20-25 °C (ciliatures péritriches) ; cette mobilité se traduit par une image « en parapluie » caractéristique sur la gélose mobilité. Elle est immobile à 37° C (Le-Minor et Veron, 1973).

II.1.3. Caractères cultureux

Listeria est une bactérie ubiquiste, tellurique, très largement répandue dans l'environnement et qui possède de grandes capacités de résistance dans le milieu extérieur (1 à 2 ans dans le sol).

- **O₂ :** ce sont des bactéries aero-anaérobies facultatives.

- **Température de croissance** : Bactéries psychotropes entre $- 2^{\circ}$ et $+ 45^{\circ}\text{C}$, température optimale entre $+ 30^{\circ}$ et $+ 39^{\circ}\text{C}$
- **pH de croissance** : entre 4,6 et 9,6 pH optimal 7,1.
- **Atmosphère** : cultive bien en conditions de micro-aérophilie, mais également en aérobiose et en anaérobiose. Peut cultiver en présence de 30% de CO_2
- **Activité de l'eau** : A_w minimale 0,90 si le glycérol est utilisé pour ajuster à l' A_w , 0,92 à 0,93 si le NaCl (=11,5% NaCl).
- **Sels et croissance** : *Listeria monocytogenes* est capable de se développer en présence de 10% NaCl, mais d'autres souches peuvent se développer avec 12% de NaCl (afssa, 2006).

II.1.4. Caractères biochimiques

Résumés dans le tableau N°01

Tableau n° 1: Les caractéristiques biochimiques du genre *Listeria* (Larpent, 2004).

Caractéristiques	Réaction
Catalase	+
Glucose, fructose, mannose	+
Oxydase	-
Esculine	+
Gaz	-
VP, RM	+
Urée, Indole	-
H_2S	-
Gélatine	-

II.1.5. Méthodes de détections et d'identifications

Différentes méthodes ont été proposées pour la recherche de *Listeria*, en particulier dans les aliments. Cette recherche est relativement simple lorsque les *Listeria* sont abondantes dans le prélèvement, cependant, les *Listeria* sont en général en petit nombre et souvent accompagnées d'une flore associée abondante (flores lactiques) (Larpent, 2004).

✓ Méthodes bactériologiques classiques

2 méthodes de références :

- **NF EN ISO 11290-1** : méthode horizontale pour la recherche (qualitative).
- **NF EN ISO 11290-2** : Partie 2 : méthode de dénombrement (quantitative).

Ces deux méthodes sont basées sur une succession d'étapes pour rendre détectables les *Listeria*. Deux étapes d'enrichissement en bouillon sélectifs et deux isolements sur géloses sélectives sont nécessaires pour obtenir des colonies présumées *Listeria*. S'en suit une confirmation biochimique des souches.

✓ **Autres méthodes**

Elles appartiennent à différentes catégories :

- Celles utilisant des milieux de culture spéciaux (milieux chromogènes= Rapid L-mono).
- Celles mettant en œuvre des méthodes immunoenzymatiques.
- Celles utilisant les principes de la biologie moléculaire (PCR) (**afssa, 2006**).

II.2. La listériose chez les animaux et chez l'homme

II.2.1. Définition

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

Les *Listeria* sont surtout virulentes chez des personnes à risque dites « YOPI » :

Y : Yong : les Nouveaux nés.

O : Old : les sujets âgés.

P : Pregnant : femmes enceintes.

I : immunodeficiency : immunodéprimés.

La Listériose est transmise principalement par l'intermédiaire des aliments, et sa pathogénie met en jeu le passage du microorganisme de la lumière digestive aux cellules réticuloendothéliales du foie et de la rate.

La réaction immunitaire contre *Listeria* se caractérise par une bactéricidie précoce médiée par les macrophages, suivie par une réponse cellulaire.

La déficience immunitaire rencontrée chez les YOPI en plus des facteurs de virulence spécifiques du microorganisme tels que l'hémolysine favorise la persistance de l'agent pathogène et donc sa multiplication intense et sa dissémination dans l'organisme.

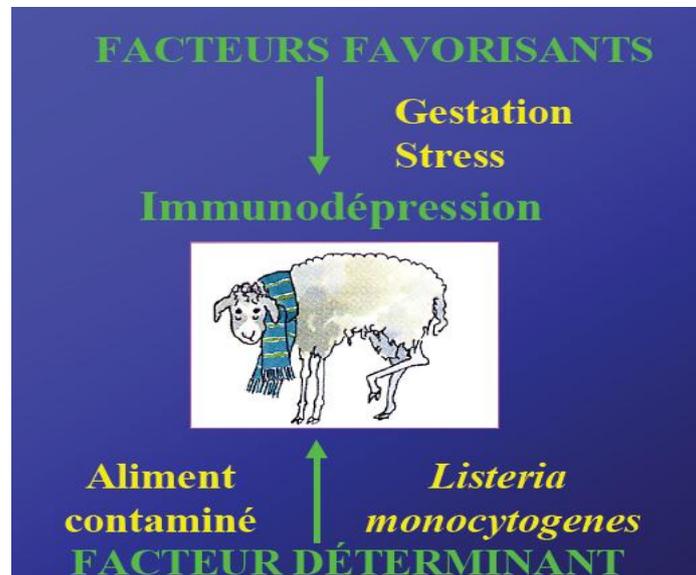


Figure n°01 : Facteurs favorisant et déterminants l'apparition de la Listériose.

Source : (Anonyme, 2008).

II.2.2. Mode de contamination

La Listeria est une bactérie ubiquiste, tellurique, très largement répandue dans l'environnement et résistante dans le milieu extérieur. La transmission par voie alimentaire est la plus importante (99 % des cas). La transmission directe est possible mais rare.

En effet, la femme enceinte peut transmettre l'infection à son fœtus *in utero* par passage transplacentaire des bactéries ou durant l'accouchement.

La transmission directe a été observée chez des vétérinaires et des fermiers après la mise bas d'un animal infecté ou lors d'avortements liés à une listériose animale.

La transmission nosocomiale, dans des services de gynécologie-obstétrique ou des nurseries, est rare (Anses, 2011).

II.2.3. Pathogénie :

Chez l'homme, l'infection commence par l'ingestion d'aliments contaminés. *Listeria* doit ensuite passer la barrière stomacale, traverser la paroi intestinale pour atteindre la circulation sanguine et se disséminer dans le système nerveux central ou le placenta.

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

La gravité des infections causées par ce germe est liée au pouvoir invasif de ce pathogène capable de pénétrer, de se multiplier et de se propager dans plusieurs types de cellules eucaryotes et est aussi capable de vaincre les trois barrières principales rencontrées dans l'hôte: la barrière intestinale, la barrière du sang-cerveau et la barrière placentaire (**Farber et Peterkin, 1991**).

L.monocytogenes est une bactérie à développement intracellulaire (parasite intracellulaire). Elle pénètre dans la cellule par phagocytose, inclue alors dans le phagolysosome, elle échappe à la destruction grâce à la production de listériolysine qui détruit la membrane vacuolaire, elle se trouve alors libre dans le cytoplasme où elle se multiplie activement. Elle provoque la polymérisation de l'actine cellulaire et s'en trouve mobilisée jusqu'à la membrane cytoplasmique formant des évaginations et poussant des pseudopodes à l'intérieur des cellules voisines qui sont donc infestées de proche en proche (**Cossart, 2010**).

II.2.4. Symptômes

➤ Chez l'animal

L'infection est essentiellement due à *L. monocytogenes* et *L.ivanovii* et occasionnellement par *L.seeligeri* (**Larpent, 2004**). La maladie chez les ruminants se manifeste sous 4 formes :

- **La forme septicémique** qui aboutit rapidement à la mort et touche surtout les jeunes,
- **La forme génitale** à l'origine d'avortements surtout lors du dernier tiers de gestation auxquels font suite une rétention placentaire et une métrite voire quelques fois une mammites,
- **La forme nerveuse** qui associe des signes oculaires (strabisme...) des signes généraux (torpeur, coma...) et des signes fonctionnels (paralysie faciale unilatérale, trouble de l'équilibre avec démarche en cercle...).
- La forme qui est probablement la plus répandue est une **infection latente** qui se révèle à l'occasion d'un stress important ou le développement d'autres pathologies comme un parasitisme intestinal (**DOZ, 2007**).



Figure N°02 : Strabisme (bovin)

Source : (Anonyme, 2008).



Figure N°03 : Hémiplégie faciale(Ovin).

Source : (Anonyme, 2008).

➤ Chez l'homme

L'infection est induite essentiellement par *L.monocytogenes* et occasionnellement par *L.ivanovii*. (Larpen, 2004).

La personne infectée par la listériose peut présenter différents symptômes, les plus fréquents sont les suivants:

- Fièvre (39-40°C) ;
- Céphalées, douleurs musculaires, nausées, vomissements.
- Diarrhée ou constipation.

Des formes plus graves peuvent survenir comme des méningites, encéphalites et septicémies.

Les femmes enceintes peuvent ressentir des symptômes semblables à ceux de la grippe mais l'infection peut également être à l'origine de fausse couche, d'accouchement prématuré et de contamination du nouveau-né qui risque alors de développer une septicémie ou une méningite (WIV- ISP, 2015).

II.2.5. Traitement

Listeria monocytogenes est sensible aux antibiotiques suivants : Ampicilline, céphaloridines, érythromycines, furazolidone, néomycine ; elle possède une sensibilité moindre aux oxytétracycline, gentamycine, Pénicilline G et la nalidixique et les sulfonamides (Larpen, 2004).

Le traitement est d'autant plus efficace qu'il est instauré rapidement et prolongé jusqu'à la guérison complète.

II.2.6. Prophylaxie

- **Chez l'animal**

- Dépistage et isolement des malades.
- Traitement ou élimination des malades.
- Métaphylaxie dans un troupeau où on a déjà relevé des cas (oxytétracycline retard 500 mg à 1g).
- Désinfection des sols et des bâtiments avec la merthiolate ou par la chlorhexidine.

- **Chez l'homme**

- Respecter l'hygiène domestique : nettoyer ustensiles et surfaces de travail avant et après usages et laver les mains après la manipulation de produits crus.
- Pour les femmes enceintes et les personnes à risque, il est recommandé d'éviter les aliments les plus fréquemment contaminés par *L. monocytogenes* tels que les fromages au lait cru surtout à pâte molle.

Chapitre III : *Listeria* dans le lait**III.1. Voies de contamination du lait**

De nombreux aliments ont causé des épidémies de listériose : végétaux crus (salades de choux, carottes), poissons fumés, produits à base d'œufs crus, charcuteries Dans cette liste, les produits laitiers ont été incriminés dans la moitié des épidémies recensées dans le monde

(FRGDS, février 2000).

Il existe deux voies de contamination du lait de vache par *Listeria monocytogenes* :

- **L'environnement** : est l'origine la plus fréquente ; les ensilages mal conservés constituent la principale source primaire. Les vecteurs sont les bouses et la contamination à lieu lors de la traite.
- **Endogène** : la présence d'une vache excrétrice atteinte d'une mammite subclinique à *L. monocytogenes* est responsable d'une contamination durable du lait de troupeau. Cette voie de contamination est rare (**MÉNARD et al., 1994**).

III.2. Prévalence de *Listeria* spp dans les différentes denrées d'origine animale**◆ En Algérie**

Les données retrouvées dans la littérature sont répertoriées dans le tableau N°2.

Tableau n° 1: Prévalence de *Listeria* spp. dans les différentes denrées d'origine animale :

Année de l'étude	Nombre et nature des échantillons testés	Nombre de cas positifs	Espèces de <i>Listeria</i> isolées	Nombre /Prévalence de cas positifs
2000 (LEBRES)	Différentes denrées alimentaires	10	<i>L.monocytogenes</i>	07
			<i>L.innocua</i>	03
2002 (LEBRES)	Lait cru (1287)	24	<i>L.monocytogenes</i>	08
			<i>L.innocua</i>	15
			<i>L.ivanovii</i>	01
	Fromage au lait cru	4	<i>L.monocytogenes</i>	02
			<i>L.innocua</i>	02
2003 (BENDEDOUCHE ET LEBRES)	Aliments variés (400)	10	<i>L.monocytogenes</i>	07
			<i>L.innocua</i>	03
2006 (LEBRES)	Lait cru (2995)	/	<i>L.monocytogenes</i>	1.9%
			<i>L.innocua</i>	1.3%
2007 (HAMDI et al.)	Lait cru prélevé dans les fermes (153)	/	<i>L.monocytogenes</i>	2.6%
	Lait cru prélevé dans les Tanks de collecteurs (80)	/	<i>L.monocytogenes</i>	7.5%
2009 (BOUAYAD)	Aliments prêt à consommer (RTE) (227)	21	<i>L.monocytogenes</i>	2.6 %
			<i>L.innocua</i>	4.8 %
			<i>L.ivanovii</i>	1.3 %
			<i>L.welshimeri</i>	0.4 %

♦ **Dans le monde :**

La notion de « **Listériose, maladie alimentaire** » est apparue en 1972 avec la relation entre les épidémies de Listérioses ovines et ensilage de maïs.

En pathologie humaine, cette notion de maladie d'origine alimentaire est apparue pour la première fois en 1981 lors de l'épidémie des Provinces Maritimes au Canada, où 34 cas de Listérioses fœto-maternelles et 7 cas de Listérioses chez les adultes (**Schlech et al, 1988**) . Beaucoup d'épidémies de listériose humaine ont touché de nombreux pays, nous citerons quelques une dans le tableau N°03.

Tableau n° 2 : Présence de *L.monocytogenes* dans quelques aliments (SKOVGAARD, 1988).

Aliments	Pays	Echantillons positifs (%)
Lait cru	Etats Unis	12
	Espagne	46
	France	4
Fromages à pâte molle	France	14
	Italie	16
Produits carnés	France	21
	Allemagne	14

Objectifs

- L'objectif de notre étude est de contribuer à évaluer la prévalence de contamination par *Listeria* spp. en particulier *Listeria monocytogenes* dans le lait cru de collecte dans quelques centres de collecte de la wilaya de Tizi-Ouzou.

I. Matériels

I.1. Echantillonnage

I.2.1. Lieu de prélèvement

Le présent travail a été réalisé durant la période allant du mois d'Octobre 2015 au mois de Décembre 2015.

Nous avons effectué 49 prélèvements de lait cru dans 4 centres de collecte au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou (tableau N°4) :

- 2 centres au niveau de la commune de Fréha.
- 2 centres au niveau de la commune de Timizart.

L'heure de prélèvement s'étend de 8h jusqu'à 10 h de matin (selon l'arrivée des collecteurs).

I.2.2 . Technique de prélèvements

Désinfecter le robinet de la citerne par de l'alcool. Ouvrir le robinet pour éliminer les premiers jets, remplir les flacons de 250 ml.

Chaque flacon est identifié (N° du prélèvement).

Acheminement :

Les échantillons sont acheminés vers le laboratoire d'HIDAOA de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire dans une glacière isotherme le jour même du prélèvement.

Le tableau n°4 : Répartition des échantillons selon les centres de collectes.

Date	Nombre d'échantillons	Commune	N° de centre
25/10/2015	6	TIMIZART	1
	4	TIMIZART	2
02/11/2015	5	TIMIZART	1
	7	TIMIZART	2
16/11/2015	11	FREHA	3
21/11/2015	11	FREHA	3
	5	FREHA	4

I.2. Matériels de prélèvement et de laboratoire

Prélèvement

Flacons stériles 250 ml, briquet, coton, alcool, icebags et glacière.

Matériels de laboratoires

- Flacons, tubes à essai, pipettes Pasteur, lames, micropipettes, boîtes de pétri, anse de platine.
- Balances pour préparer les milieux.
- Microscope optique.
- Autoclave.
- Etuves réglées à 25°C, 30°C, 37°C (**mammert^R**).

I.3. Les milieux et les réactifs

◆ Milieux

Nous avons suivi la norme ISO 11290-1.

- ✓ Gélose PALCAM, plus additifs
- ✓ Gélose OXFORD, plus additifs
- ✓ Bouillon FRASER, plus additifs
- ✓ Gélose Tryptone Soja Agar Yeast Extract (TSYAE).
- ✓ Gélose Three Sugar Iron (TSI).
- ✓ Mannitol mobilité.
- ✓ Urée Indole.

- ✓ Milieu Clark et Lubs.
- ✓ Gélose Esculine.
- ✓ Galerie API.

◆ **Réactifs**

- ✓ H₂O₂.
- ✓ Pour la coloration de Gram : Violet de Gentiane, alcool, lugol, fuchsine.
- ✓ Réactif de Kowacs.
- ✓ Réactifs Voges-Proskauer (VPI, VPII).
- ✓ Rouge de méthyle (RM)
- ✓ Réactif Tryptophane Désaminase (TDA).
- ✓ réactif ZYM.

II. Méthode :

Nous avons utilisé pour la recherche des *Listeria* la méthode ISO 11290-1(1996). C'est la méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* à partir des denrées alimentaires.

Domaine d'application : Cette méthode consiste en la recherche des *Listeria* dans toutes les catégories de denrées alimentaires.

II. 1. Recherche et isolement de genre *Listeria* :

Mode opératoire : La recherche des *Listeria* par la méthode ISO est représentée par le logigramme N°01.

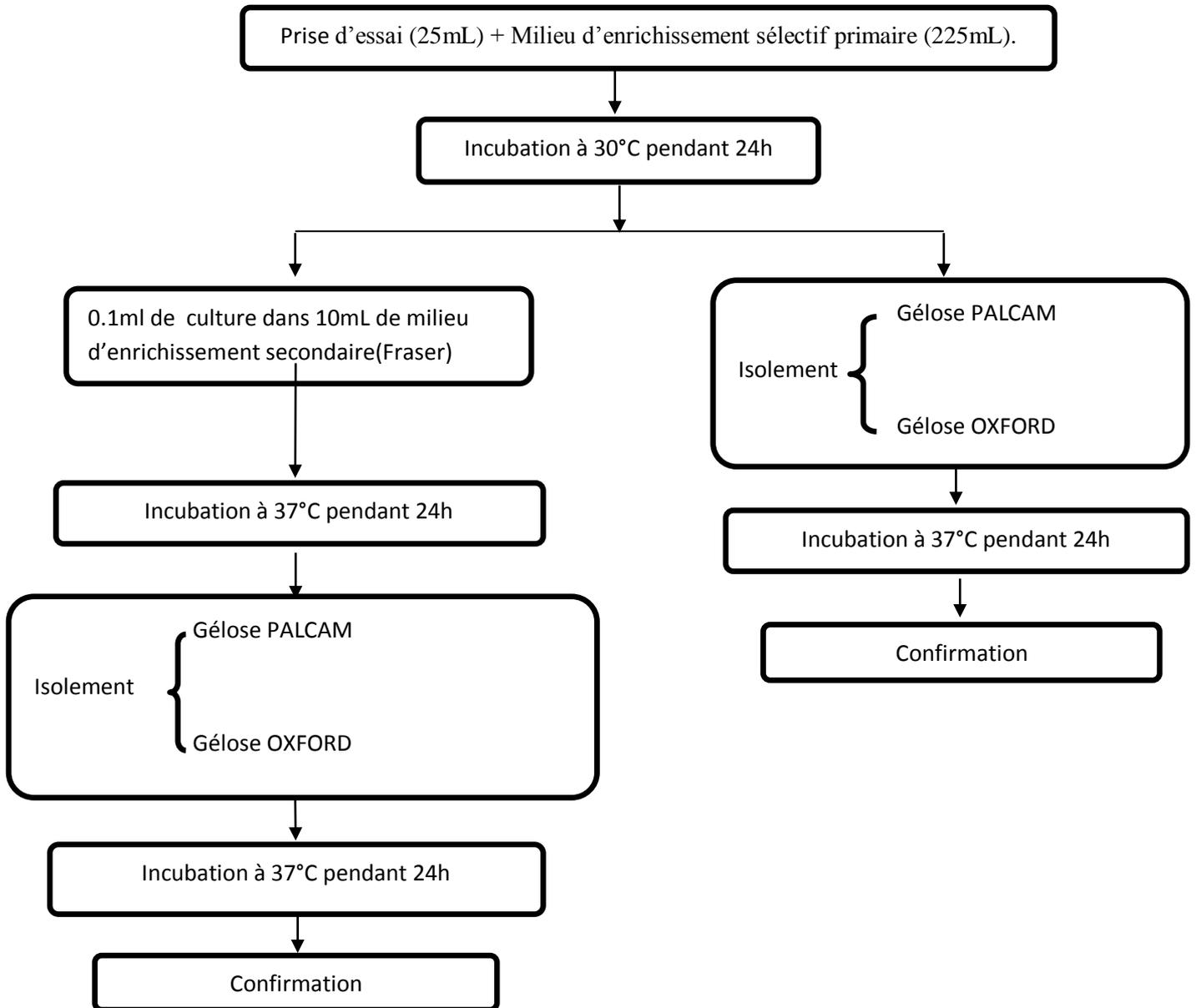


Figure N°4 : Représentation schématique du mode opératoire pour la recherche des *Listeria* (BOUAYAD, 2012).

II.2. Identification du genre *Listeria*

Aspect de *Listeria* spp. sur :

- ◆ **Gélose PALCAM** : Les *Listeria* spp. se présentent sous forme de petites colonies vertes avec des reflets grisâtres, ou vert olive de 1.5mm à 2 mm de diamètre avec parfois un centre noir mais toujours entourées d'un anneau noir (**Figure N°05**).

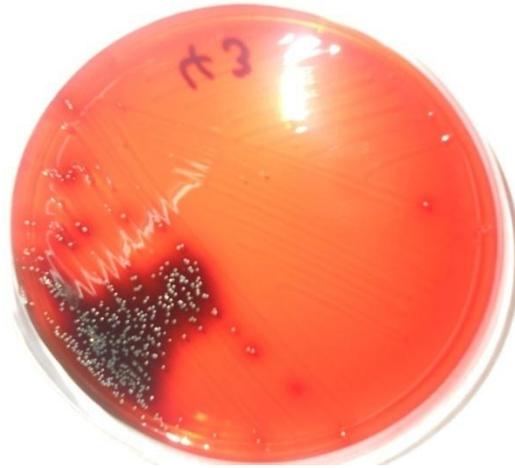


Figure N°05 : Aspect de *Listeria* spp. sur Gélose PALCAM.

(Photo personnelle).

- ◆ **Gélose OXFORD** : *Listeria* spp. se présentent sous forme de petites colonies de couleur grisâtres entourées d'un anneau noir (**Figure N°06**).



Figure N°06 : Aspect de *Listeria* spp. sur Gélose OXFORD.

(Photo personnelle).

- ◆ **Coloration de Gram :** Effectuer une coloration de Gram d'une colonie isolée. Les *Listeria* spp. apparaissent sous forme de petits bacilles Gram⁺ souvent détachées ou réunies en forme de « V » ou de « L » (**Figure N°07**).



Figure N°07: Aspect de *Listeria* spp. sur microscope après coloration de Gram.

Source: (Anonymes, 2016).

II.3. Identification des espèces du genre *Listeria*

L'identification des différentes espèces du genre *Listeria* est basée sur la recherche de :

- ◆ **Réaction de Catalase**

Placer une goutte de peroxyde d'Hydrogène sur une lame de microscope. Prélever une colonie avec une pipette pasteur et l'émulsionner doucement dans la goutte puis on observe l'apparition de bulles qui indiquent une réaction positive (**Figure N°08**).

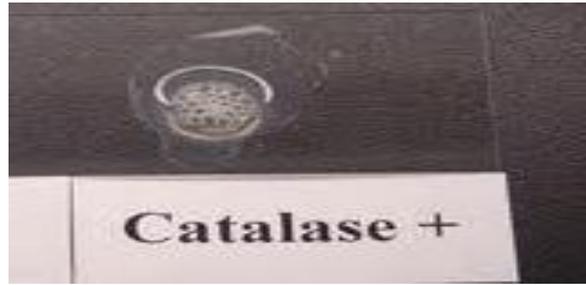


Figure N°08 : Aspect de la réaction Catalase Positive.

Source : (Anonymes, 2016).

♦ **Mobilité**

Le germe *Listeria* est mobile à 20 et 25°C, cette mobilité est mise en évidence par 2 ensemencements par piqûres centrales sur des géloses mobilité. *Listeria* donne une image typique d'ombrelle (**Figure N°09**).

♦ **Réaction VP et RM**

- On ensemence un tube du milieu de Clark et Lubs avec une colonie prélevée sur de la gélose TSYEA et on l'incube à 37°C pendant 24h.

- Verser la moitié du tube dans un autre tube stérile ; l'un servira à la recherche de la réaction VP et l'autre pour la recherche de la réaction RM.

Lecture

• **VP**

- Si la coloration initiale (jaune) vire au rouge orangé → Réaction positive.

- Si elle reste jaune → Réaction négative.

• **RM**

- S'il y'a virage de la couleur à la rouge → réaction positive.

- Si elle reste jaune → Réaction négative.

- *Listeria* est VP+ et RM+ (**Figure N°09**).

♦ **Les caractéristiques biochimiques sur TSI**

La gélose TSI est utilisée pour mettre en évidence la fermentation du glucose, du lactose, du saccharose ainsi que la production de gaz et d'H₂S (**Figure N°09**).

On ensemence un tube de gélose TSI avec une colonie prélevée sur gélose TSYEA puis on fait une piqûre centrale.

Lecture

	Réaction positive	Réaction de <i>Listeria</i>
Glucose (culot)	Coloration Jaune	+
Saccharose/Lactose (ponte)	Coloration Jaune	-
Production de gaz	Décollement	-
H₂S	Coloration noire	-

♦ **L'Esculine**

- Ensemencer un tube effilé de gélose Esculine par pique centrale et incuber à 37°C pendant 24H, une réaction positive se traduit par une coloration noirâtre de tout le tube.
- *Listeria* est esculine + (**Figure N°09**).

♦ **L'Urée –Indole**

- Le milieu Urée –Indole permet la recherche de l'uréase, TDA et la production de l'Indole.
- On ensemence un tube du milieu Urée-Indole avec une colonie prélevée sur de la gélose TSYEA et on l'incube à 37°C pendant 24h.

Lecture :

- Si le milieu vire au rouge violacé → Réaction positive → Uréase ⁺
- Verser la moitié du tube dans un autre tube stérile. L'un servira à la recherche d'Indole et l'autre pour la recherche de la réaction TDA.
 - Ajouter quelques gouttes du réactif de Kowacs → Formation d'un anneau rouge à la surface → Réaction positive.
 - Ajouter quelques gouttes du réactif TDA à l'autre tube → Formation d'un précipité de la couleur marron foncé → Réaction positive.
- *Listeria* est Urée(-), Indole(-) et TDA(-) (**Figure N°09**).

♦ **L'Hémolyse**

Prélever une colonie isolée à partir de la gélose TSYEA et on l'ensemence sur gélose au sang de mouton en effectuant des petites piques en surfaces et incubé à 37°C, pendant 24 à 48h. L'hémolyse se traduit par la formation d'une zone étroite et claire autour des colonies; elle est qualifiée d'hémolyse de type β.



**Figure N°09 : résultats de la galerie biochimique classique.
(Photo personnelle).**

◆ Galerie API

API *Listeria* est un système d'identification des *Listeria* utilisant des tests standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données spécifiques.

Principe : Galerie API *Listeria* comporte 10 micro tubes ou cupules contenant des substrats sous forme déshydratés qui permettent la réalisation des tests enzymatiques ou les fermentations des sucres.

Mode opératoire :

- Avant d'ensemencer une galerie, il faudrait d'abord s'assurer de la purification de la souche sur gélose TSA.
- Après humidification avec de l'eau distillée et l'identification de la boîte, la galerie biochimique est placée dans cette boîte.
- Réaliser une suspension d'opacité de 0.5 Mac-Ferland réalisée avec les colonies caractéristiques et les ampoules de la suspension fournies.
- A l'aide d'une pipette Pasteur cette suspension bactérienne est répartie dans les cupules, seule la cupule du test D est remplie complètement.
- Refermer la boîte et mise en incubation 37°C pendant 24h en anaérobiose.

Lecture

- Avant de procéder à la lecture, nous devons rajouter au test DIM une goutte du réactif ZYM et on laisse pendant 3 à 4 min.
- Toutes les réactions sont observées et notées (positives ou négatives).
- Une codification des réactions obtenues, proposées par le fabricant permet leur transformation en chiffres : Un profil numérique de 4 chiffres est obtenu, il permet l'identification de la souche en question en la comparant à la liste des profils fournis par le fabricant.

III. RESULTATS ET DESCUSSION

III.1. Prévalence globale de *Listeria* spp. dans le lait cru au niveau dans quelques centres de collecte de wilaya Tizi-Ouzou

Sur les 49 échantillons testés, 03 étaient positifs à *Listeria* spp. soit une prévalence de 6.12%. 46 échantillons étaient négatifs soit un taux de 93.8 % de négatifs.

Les prévalences des différentes espèces de *Listeria* isolées sont réparties dans le tableau n°5 et la figure N°09.

Le tableau n°5 : Prévalence globale de *Listeria* spp. dans le lait cru de collecte au niveau de quatre centres de collecte de la Wilaya de Tizi-Ouzou.

Nombre d'échantillons	<i>Listeria</i>							
	<i>monocytogenes</i>		<i>ivanovii</i>		<i>welshimeri</i>		<i>Listeria</i> spp.	
	N	%	N	%	N	%	N	%
49	0	0	1	2.04	2	4.1	3	6.12

N : Nombre d'échantillons positifs.

% : Pourcentage d'échantillons positifs

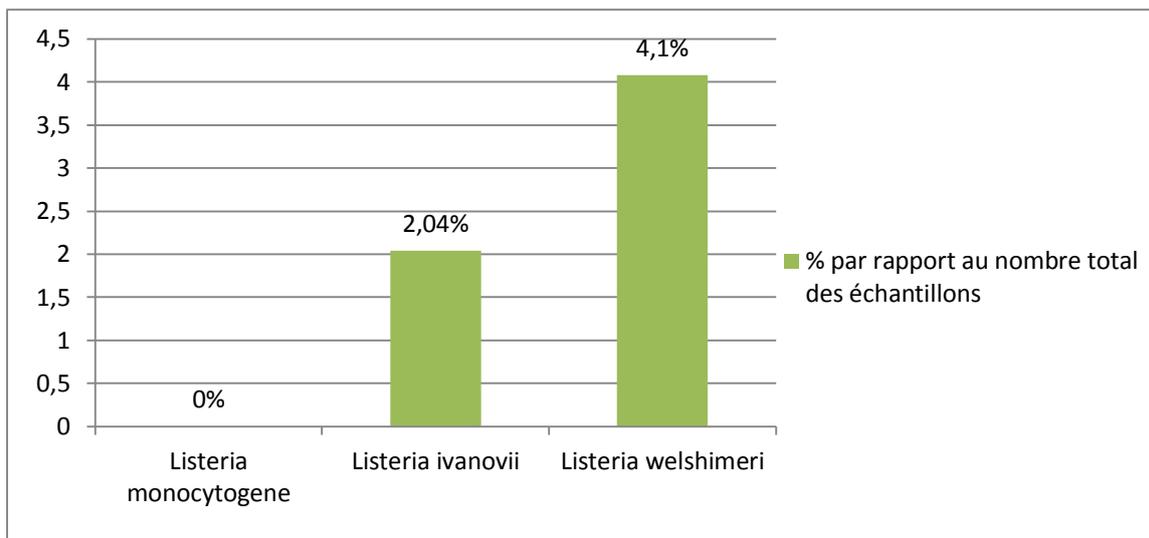


Figure N° 10: Prévalence globale de *Listeria* spp. dans le lait cru de collecte au niveau de quatre centres de collecte de la Wilaya de Tizi-Ouzou.

Le tableau N°05 et la figure N°10 nous montrent que trois (6,12%) des échantillons sont positifs à *Listeria* spp. ; un échantillon est contaminé par *L. ivanovii* avec une prévalence de 2.04% par rapport au nombre total d'échantillons, les deux autres le sont par *Listeria welshimeri* soit une prévalence de 4.1%.

Aucune *Listeria monocytogenes* n'a été isolée dans les 49 échantillons que nous avons analysés.

Au cours de notre étude nous avons enregistré une prévalence de contamination par *Listeria* spp. de 6.12% et de 0% pour *Listeria monocytogenes*, alors que dans des études antérieures réalisées en Algérie et portant sur la même denrée, différents résultats ont été avancés ainsi :

Lebres en 2002, dans une étude effectuée au niveau des exploitations laitières des régions de Alger, Ain Defla, Boumerdes et Blida, a rapporté que sur 1287 échantillons du lait cru, 24 étaient positifs à *Listeria*. Les espèces isolées étaient réparties comme suit : 8 *L.monocytogenes*, 15 *L.innocua* et 1 *L.ivanovii* soit une prévalence de 0.6% pour *L.monocytogenes* ,1.16% par *L.innocua* et 0.07% par *L.ivanovii*.

Bendedouche et Lebres en 2003 ont rapporté une prévalence de 3,31% pour *Listeria* spp. 2,2% pour *L. monocytogenes* et de 1% pour *L. innocua*.

Lebres en 2006 a rapporté une prévalence de 1.9% de *L.monocytogenes* et une prévalence de 1.3% de *L.innocua* et cela sur 2995 d'échantillons de lait crus analysés.

Hamdi et al. en 2007 dans une étude effectuée au niveau des Wilayas Alger et Blida, ont rapporté une prévalence de 2.6% par *L.monocytogenes* dans le lait prélevé dans les fermes ; et une prévalence de 7.5% par *L.monocytogenes* dans le lait prélevé dans les tanks de collecteurs.

Les espèces retrouvées et les prévalences rapportées par ces auteurs sont différentes par rapport à celles que nous avons enregistrées. Tous ces auteurs ont observé la présence de *L. monocytogenes* alors que nous, nous avons enregistré une prévalence de 0%, ceci pourrait s'expliquer par :

- ◆ Le nombre d'échantillons très réduit que nous avons analysé.
- ◆ La présence d'une flore lactique où de contamination importante qui rentre en concurrence avec *Listeria monocytogenes* et ne la laisse pas apparaître (**Rosset, 2001 ; Bouayad, 2009**).
- ◆ La haute sensibilité de *Listeria monocytogenes* à l'acriflavine ; antibiotique utilisé comme additif dans les géloses d'isolement. (**Beumer et al, 1996**).

Il est vrai que nous n'avons pas isolé *L. monocytogenes*, mais nous ne pourrions pas confirmer que les échantillons analysés en étaient exempts. Tous les chercheurs s'accordent à dire que la présence des autres espèces de *Listeria* est indicatrice de contamination par *L. monocytogenes*, la concurrence inter-espèces masque la présence de *L.monocytogenes* (**Curiale et Lewus, 1994**).

La contamination du lait par *Listeria* spp. semble inévitable, vu le caractère ubiquiste de cette bactérie. Les voies de contamination sont nombreuses elles peuvent être :

- ✓ **Endogène** : Le lait est contaminé au moment de son excrétion, lorsque la vache est atteinte d'une mammite à *Listeria*. (**MÉNAR et al., 1994**).
- ✓ **Exogène** : via l'environnement contaminé par *Listeria* ; la litière, les matières fécales, les trayons souillés, le matériel de traite mal nettoyé et mal désinfecté et ce, pendant la traite ou juste après. Cette voie externe semble la principale source de contamination du lait cru à la ferme. (**KAISMOUNE, 2009**).

III.2. Prévalence de *Listeria* spp. par centre de collecte

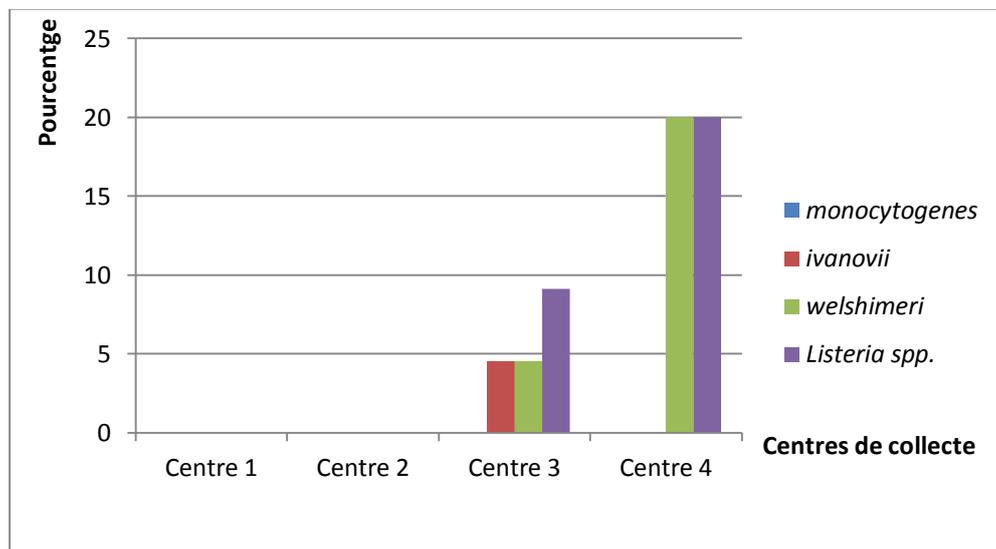
Nous avons repartis les résultats de contamination du lait cru par centre de collecte, les résultats obtenus sont rapportés par le tableau n°6 et la figure N°10.

Tableau n°6 : Prévalence des *Listeria* spp. par centre de collecte.

N° de centre	Nombre d'échantillons	<i>Listeria</i>							
		monocytogenes		ivanovii		welshimeri		Listeria spp.	
		N°	%	N°	%	N°	%	N	%
1	11	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
2	11	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
3	22	0	(0)	1	(4.54)	1	(4.54)	2	9,1
4	5	0	(0)	0	(0)	1	(20)	1	20

N : Nombre d'échantillons positifs.

% : Pourcentage d'échantillons positifs.

Figure N° 11 : Répartition des espèces de *Listeria* spp. et leurs prévalences par centre de collecte.

Comme le montrent le tableau N°6 et la figure N°11, les centres de collecte 1 et 2 n'ont montré aucune contamination par *Listeria* dans 22 échantillons collectés, nous donnant ainsi des prévalences de 0% pour toutes les espèces.

Sur les 22 échantillons collectés au niveau de centre de collecte N°3, deux étaient positifs à *Listeria* spp. avec une prévalence de 9.09 % par rapport au nombre d'échantillons collecté dans ce centre. Les deux espèces isolées sont *L. ivanovii* et *L. welshimeri*, elles ont enregistré la même prévalence de 4.54% par rapport au nombre d'échantillons collectés dans ce centre.

Dans le centre N°4, nous avons prélevé 5 échantillons, nous n'avons enregistré qu'un seul échantillon positif à *Listeria* et c'était pour l'espèce *welshimeri*. La prévalence enregistré est de 20% par rapport au nombre d'échantillons pris dans ce centre.

Les collecteurs qui alimentent les centres de collecte de Timizart (1et 2) sont différents de ceux qui alimentent Fréha (3 et 4), mais ils collectent au niveau de même région dans différentes fermes. Cette donnée laisserait penser que la contamination du lait par *Listeria* ne provient pas des fermes mais dans les tanks des collecteurs puisque le lait provient des mêmes fermes. Ceci laisserait penser aussi que les collecteurs qui alimentent les centres de collecte de Fréha, ont leurs tanks contaminés par des souches de *Listeria* qui ont formé des biofilms et qui continuent ainsi à contaminer le lait cru collecté.

(Hamdi et al., 2007).

Conclusion

Listeria monocytogenes est un agent pathogène ubiquiste très répandu dans le milieu extérieur, sa transmission se fait par voie alimentaire par le biais de l'ensilage chez l'animal et par l'ingestion d'aliments contaminés chez l'homme.

Notre étude a porté sur 49 échantillons de lait cru collectés dans quatre centres de collectes de la région de Tizi-Ouzou. Les quatre centres des deux communes de Timizart et Fréha possèdent chacun ses propres collecteurs. Les collecteurs ramènent leur lait des différentes fermes situées sur le territoire des deux communes.

L'analyse du lait a montré que 3 échantillons étaient positifs à *Listeria* spp. avec une prévalence globale de 6,12% et de 0% pour *L. monocytogenes*. Nous n'avons pas isolé *L. monocytogenes* dans nos échantillons mais la présence d'autres espèces indique qu'elle pourrait être présente juste qu'elle n'a pas pu être détectée.

Les centres de collecte de Timizart n'ont enregistré aucune contamination par *Listeria*. Toute la contamination a été observée à Fréha. Les collecteurs sont particuliers à chaque centre, mais ils collectent au niveau de même région dans différentes fermes, ceci laisse penser que la contamination du lait proviendrait des tanks de collectes mal désinfectés où *Listeria* a pu former des biofilms qui libèreraient les germes à chaque fois qu'un lait est collecté dans ces tanks.

Recommandations :

Les recommandations suivantes sont faites pour minimiser à faute d'éradiquer, la contamination du lait par l'agent pathogène *Listeria monocytogenes*. Ces recommandations commencent à la ferme pour se terminer chez le consommateur en suivant l'adage « de la fourche à la fourchette ».

1. Dans les élevages

La prévention des contaminations par *Listeria* dans les élevages passe par une hygiène à tous les niveaux:

➤ Hygiène des aliments

- Pas de terre dans les fourrages lors de la fauche ou la distribution
- Une bonne acidification pour les ensilages ; ils doivent être correctement préparés et conservés.
- Contrôle par des analyses, de la qualité de l'eau de forage distribuée.
- Veiller à la propreté des abreuvoirs et des auges.

➤ Hygiène des animaux et des bâtiments d'élevages

- La prophylaxie passe nécessairement par le dépistage systématique en vue de détecter les vaches excrétrices.
- Maintenir la propreté des abords des bâtiments et autour des points d'eau.
- Maintenir la propreté des litières par un raclage fréquent.
- Le maintien des mamelles et des animaux dans un bon état de propreté facilite la préparation de la traite.

➤ Hygiène de la traite

Avant et après la traite, Assurer une bonne qualité du nettoyage des pis, du matériel et ainsi que de la salle de la traite (pour ces derniers, une désinfection est obligatoire).

- Utilisation des désinfectants adéquats auxquels *Listeria monocytogenes* est sensible (Détergent acide anionique, ammonium quaternaire, iode, hypochlorite).
- Contrôle de l'eau utilisée
- Propreté du tank du lait : nettoyage et désinfection rigoureuses des tanks.

2. En industrie alimentaire

- Veiller à la pasteurisation du lait.
- Mise en place d'un plan de nettoyage-désinfection rigoureux pour lutter contre la formation de biofilms à *Listeria*.

3. Chez le consommateur

- Informer les personnes à risque sur le danger *Listeria*.

- Education sanitaire des individus avec recommandation d'éviter la consommation de lait cru et de produits à base de lait cru et de cuire soigneusement les aliments crus d'origine animale.
- Se laver les mains, nettoyer les ustensiles de cuisine après la manipulation d'aliments non cuits.

Références :

1. **Afssa, juin 2006** .Fiche a été élaborée par M. CATTEAU en Juin 2006.
2. **Alais C. 1975**. Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris.
3. **Anses, Décembre 2011**.Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments.
4. **Anonyme, 2008**. La Listériose. ENVAIfort.
5. **Anonyme 1, 2016**. www.microbes.-edu.org.
6. **Anonyme 2, 2016**. www.microbeonline.com.
7. **Bachtarzi. N, 2012**. Qualité microbiologique du lait cru destinée à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien. Mémoire de magister en sciences alimentaires option biotechnologie alimentaire, Université MENTOURI Constantine . 123 pages et annexes.
8. Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology, 9^{ème} édition. Vol 2, Williams and Wilkins Baltimore, 1986.
9. **Bertsch D, Rau J, Eugster MR, Haug MC, Lawson PA, Lacroix C, Meile L. (2013)**. *Listeria fleischmannii* sp. Nov., isolated from cheese. *Int J Syst Evol Microbiol*. 63: 526-532.
10. **Beumer, R.R.; Giffel M.C.; Anthonie S.V.R.; and 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.
11. **Bouayad, L, 2009**. Prévalence des *Listeria* dans les produits prêts à consommer (Ready to eat food) dans la wilaya d'Alger, mémoire de magister en sciences vétérinaires, option Hygiène alimentaire, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger. 88 pages et annexes.
12. **Bouayad, L, 2012**. Etude de la prévalence, de la sensibilité aux antibiotiques et caractérisation moléculaire des souches de *Listeria* isolées dans les viandes de volailles dans la région d'Alger, thèse de doctorat en sciences vétérinaires, option hygiène et sécurité des aliments, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger. 123 pages et annexes.
13. **CAC/RCF 57-2004** .Code d'usages en matière d'hygiène pour le lait et les produits laitiers.
14. **Cnaol, juillet 2011**. Microflore du lait. Ouvrage collectif coordonné par Cecile Laithier (institut d'élevage).
15. **Codex Alimentarius ,1999** . Lait et produits laitiers.
16. **Codex stan, 1999**. Standard for named animals fats.
17. Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève. 1908
18. **Cossart, P.2010**. The Maverick Bacterium. The scientist.<http://www.the-scientist.com/articles.view/articleNo/27896/title/The-Maverick-Bacterium/>.
19. **Cuq J.L. (2007)**. Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier.
20. **Curiale, M.S., Lewus, C., 1994**. Detection of *L. monocytogenes* in samples containing *Listeria innocua*. *J. Food protect.*, 57 : 1048-1051.
21. **Doz, H, 2007**. La listériose. Page 34, 35.

22. **F.A.O (1995)** : Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection
FAO : Alimentation et nutrition n°28. Page consultée
www.fao.org/docrep/t4280f/T4280F00.htm. Avril 2016.
23. **Farber, J. M., Peterkin, P.I., 1991.** *L. monocytogenes*, a food-borne pathogen.
Microbiol. Rev., 55: 476-511
24. **FRGDS, 2000** Les listeria et la listériose article page 4. GIE Lait-Viande Rhône-Alpes
– 003 – février 2000.
25. **Graves, L.M., Helsel, L.O., Steigerwalt, A.G., Wiedmann, M., Dwaminathan, B. and Sauders, B.D. (2010).** *Listeria marthii* sp.nov; isolated from the naturel environment, Finger Lakes National Forest. *Int J Syst Evol Microbiol.* 60: 1280-1288.
26. **Hamdi, T., Naim, M., Matin, P., Jacquet. C. 2007.** Identification and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated in raw milk in the region of Algiers (Algeria) *Int. J. Food Microbiol.*, 116(2007): 190-193
27. **Hassan, L., Mohammed, H.O., McDonough, P.L. 2001.** Fram-management and milking practices associated with the presence of *Listeria monocytogenes* in New York states dairy herds. *Pre.Vet. Med.* 51, 2001, pp. 63-73.
28. **Kaismoune, N. 2009.** *Listeria monocytogenes* et les produits laitiers. Mémoire magister en filières sciences alimentaires et nutrition option Alimentation, Nutrition et Santé Intitulé Gestion de la Qualité des Aliments (GESQUAL). Page 89 et annexes.
29. **Labres, E., Bendeddouche, B. 2003.** Fréquence des *Listeria* en Algérie entre 1998 et 2000. *Actes inst. Agro. Vet.* 23 : page 65 et 72.
30. **Labres, E., Badis, A., Mouffok, F., Guetarni, D., Ouzrout, R. 2002.** contamination du lait cru de vache par *listeria monocytogenes* : cas de quelques exploitations laitières. *Sciences & Technologie C – N°22, décembre (2004)*, pp. 117-120.
31. **Lebres, E, 2006.** Etude de prévalence et analyse du risque de *listeria monocytogenes* dans les laits crus dans la région du centre, thèse doctorale en médecine vétérinaire, option microbiologie, institut des sciences vétérinaires, El Taref. 158 pages et annexes.
32. **Lang Halter, E., Neuhaus, K., Scherer, S. 2013.** *Listeria weihenstephanensis* sp. Nov., isolated from the water plant *Lemna trisulca* taken from a freshwater pond. *Int J Syst Evol Microbiol.* 63: 641-647.
33. **Larpent, J.P. 2004.** Les *Listeria*. 3^{ème} Edition. Techniques et documentation, Lavoisier, 239 pages et annexes.
34. **Le Minor, L., Veron, M. 1973.** Le genre *Listeria*. *Bactériologie médicale*. Vol 33; pp: 559 – 569.
35. **Leclercq, A., Clermont, D., Bizet, C., Grimont, P.A.D., Le Flèche-Mateos, A., Roche, S.M., Buchrieser, C., Cadet-Daniel, V., Le Monnier, A., Lecuit, M., et Allerberger, F. 2010.** *Listeriarocourtia* sp. Nov. *I. J. Syst. Evol Microbiol.* 60: 2210–2214
36. **Leclercq, A., Clermont, D., Bizet, C., Grimont, P.A.D., Le Flèche-Mateos, A., Roche, S.M., Buchrieser, C., Cadet-Daniel, V., Le Monnier, A., Lecuit, M., et Allerberger, F. 2010.** *Listeria rocourtia* sp. Nov. *I.J.Syst. Evol Microbiol.* 60 : 2210-2214.

37. **Madji, A. 2008.** Maitrise de la technologie fromagère et contrôle qualité des fromages. http://www.memoireonline.com/01/13/6660/m_Maitrise-de-la-technologie-fromagere-et-contrle-qualite-des-fromages-AOC25.htm/ consultée Mai 2016.
38. **Menard, J.L., Sanaa, M., 1994.** Origines et prévention de la contamination du lait cru par *listeria monocytogenes*. Pages 265-268.
39. **Michel, V., Hauwuy, A., Chamba, J.F. 2001.** La Flore microbienne de laits crus de vache : diversité et influence des conditions de production. pp.575-592.
40. Règlement (CE) n°853/2004 du parlement Européen et du conseil de 29 Avril 2004. Hygiènes des denrées alimentaires d'origine animale.
41. **Rosset, R. 2001.** Microbial growth and cold. Study of the particular case of *L. monocytogenes*. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*. 185, (2) : 287-298.
42. **Schlech W.F., Lavigne P.M., Bortolussi R.A., Allen A.C., Haldane E.V., Wort A.J., Hightower A.W., Johnson S.E., King S.H., Nicholis E.S., Broome C.V. 1983.** epidemic listeriosis. Evidence for transmission by food. *New Engl. J. Med.*, 308, pp. 203-206.
43. **Skovgaard, N. 1988.** Listeriosis: a food-borne zoonotic disease. *Scand. Dairy Ind* , pp. 5-7.
44. **Vignola, C. 2002.** Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada
42. **WIV- ISP, 2015.** Fiche informative et précautions à prendre par les femmes enceintes, les patients immunodéprimés et les personnes âgées. https://www.wiv-isp.be/Matra/PDFs/Listeria_groupe_risque.pdf. page consultée janvier 2016.

Résumé :

Le lait cru constitue un milieu favorable à la croissance de plusieurs espèces de microorganismes dont certains sont pathogènes et peuvent être à l'origine de plusieurs maladies et intoxications humaines.

Notre étude expérimentale a porté sur la recherche et l'identification biochimique des listeria à partir de 49 échantillons de lait cru en provenance de quatre centres de collecte dans la région de Tizi-Ouzou. Sur les 49 prélèvements de lait cru analysés trois (6.12%) étaient positifs à *Listeria* ; un échantillon est contaminé par *L. ivanovii* (2.1%) et deux par *L. welshimeri* (4.1%).

Mots clés : lait cru, *Listeria* spp. , Tizi-Ouzou.

ملخص:

يعتبر الحليب الطازج وسطا ملائما لتكاثر البكتيريا المتسببة في ظهور الكثير من الأمراض و التسممات عند الإنسان. إن العمل التجريبي الذي قمنا به بغية البحث و التعريف البيوكيميائي للستيريا انطلقا من 49 عينة حليب طازج جلبت من 4 مراكز تجميع الحليب المتواجدة في منطقة تيزي وزو(فريجة ، تيميزار) . من بين 49 عينة تم تحليلها ، ثلاثة (6.12%) منها وجدت إيجابية بما في ذلك : 1 (2.1%) لستيريا إيفانوفي و 2 لستيريا الشيميري. **كلمات مفتاح :** الحليب الطازج ، لستيريا، تيزي وزو.

Summary:

Raw milk is considered as an ideal environment for the growth of several sorts of microorganisms, some of them are pathogenic and can be at the origin of several food borne diseases and human poisonings.

Our experimental study concerned the research and biochemical identification of listeria from 49 samples of unpasteurized milk, from four centers of collection in the region of Tizi-Ouzou. On 49 analyzed samples of unpasteurized milk three (6.12 %) were positive to *Listeria*; one sample was contaminated by *L. ivanovii* (2.1 %) and two by *L. welshimeri* (4.1 %).

Key word: Raw milk, *Listeria*, Tizi-Ouzou.