



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

***Incidence de *Listeria monocytogenes* dans les aliments au niveau de
la région d'Alger***

Présenté par

***Allouchene Cylia
Mahmoudi Lamia***

Devant le jury :

Président(e) :	DJAGHBOUB S.	Assistante	ISV Blida
Examineur :	SELLALI S.	Assistante	ISV Blida
Promoteur :	BEN SEFIA S.	Dr. vétérinaire	IPA
Co-promoteur :	AKLOUL K.	M.A.A	ISV Blida

Année : 2015/2016

Dédicaces

Ce travail témoigne de mes respects :

*A mes parents,
en témoignage de leur amour et soutien,
encouragements et leurs grands sacrifices.
Que Dieu les préserve en bonne santé
et leur accorde longue vie.*

A mes frères et sœurs.

A toute ma famille

et mes amis.

A toutes les belles rencontres tout au long de ma vie studieuse.

A ceux qui me sont chers.

A toute la promotion 2015/2016,

*ainsi que tous ceux qui m'ont aidé à percer mon chemin dans le
savoir.*

Cylia

Dédicace

*Je tiens à dédier ce modeste travail
A mes parents,
En témoignage de leur amour et soutien.
Que Dieu les préserve en bonne santé
et leur accorde longue vie.
A mon oncle vava Abdallah.
A mes chères sœurs Sabrina et Feriel.
A mon frère Said.
A tous mes collègues de la promotion.*

Lamia

Remerciements

Nous remercions tout d'abord le bon Dieu qui nous a donné le courage, la force, la patience, la volonté et la santé afin d'accomplir notre travail.

Ce travail a été rendu possible grâce aux équipements mis à notre disposition au laboratoire d'analyse bactériologique des eaux et des aliments de l'Institut Pasteur d'Alger, nous tenons à remercier le professeur **KEZZAL** le directeur général de l'**IPA** de nous avoir permis de réaliser notre projet de fin d'étude.

Nous tenons à remercier infiniment **Mr BENSEFIA Sid Ahmed**, Docteur Vétérinaire à l'**IPA**, qui nous a confié le sujet et initié à la recherche en nous prodiguant ses précieux conseils, pour son aide précieuse qu'il n'a cessé de nous prodiguer durant ce stage et surtout pour sa gentillesse, son soutien, son esprit d'équipe, ses incessants encouragements. On lui exprime notre profonde reconnaissance.

Nous tenons également à présenter toute notre gratitude et nos remerciements à notre cher enseignant **Mr AKLOUL K.** pour son aide continue et son encouragement durant ce travail.

Nos vifs remerciements également à l'ensemble du personnel du laboratoire de bactériologie des eaux et des aliments et du service formation de l'**IPA**.

Nous adressons nos sincères remerciements aux **professeurs et enseignants de l'ISV de Blida** qui nous ont enseignés tout au long du cursus.

Nous tenons également à présenter toute notre gratitude et nos remerciements aux membres de jury qui ont bien voulu consacrer leur précieux temps pour juger notre travail.

Résumé

Listeria monocytogenes est un pathogène majeur en santé publique et en santé animale, l'origine alimentaire de la listériose humaine est bien établie. Elle est liée à certaines caractéristiques générales de *Listeria* comme la résistance extrême aux conditions du milieu extérieur. Notre étude bactériologique a porté sur l'isolement de *Listeria* ainsi que son dénombrement selon la norme ISO11290-1 et ISO11290-2. Sur 146 prélèvements d'aliments de différentes catégories (lait et produits laitiers, viandes et produits carnés, poissons et produits de la pêche, plats cuisinés ainsi que des écouvillonnages de surface), 10 souches de *Listeria monocytogenes* et 17 souches de *Listeria sp.* ont été isolées. Soit une incidence de 6.85% de *Listeria monocytogenes*.

A l'issue de l'identification bactériologique, nous obtenons : 5.71% de *L.monocytogenes* et 12.85% de *Listeria sp* dans le lait et les produits laitiers ; 11.11% de *L.monocytogenes* et 27.77% de *Listeria sp* dans les viandes et les produits carnés ; 8.1% de *L.monocytogenes* et 5.40% de *Listeria sp* dans les plats prêts à manger (PAM); aucune *L.monocytogenes* et 25% de *Listeria sp* dans les poissons et les produits de la pêche et enfin une seule *L.monocytogenes* au niveau des écouvillonnages de surface.

Il ressort de notre travail une impossibilité d'éliminer *Listeria* de l'environnement due à son caractère d'ubiquité et au non respect des mesures d'hygiène.

Mots clés: *Listeria* - bactériologique - denrées alimentaires –Zoonose.

Abstract

Listeria monocytogenes is a major pathogen in public health and in animal health, the food origin of the human listeriosis is well established. It is related to certain general characteristics of *Listeria* like extreme resistance to the conditions of the external medium. Our study is based on the insulation of *Listeria* and enumeration according to standard ISO11290-1 and ISO11290-2. 146 samples of food of various categories (milk and dairy products, meats and meat products, fish and fishery products, cooked dishes as well as swabs from surface), 10 strains of *Listeria monocytogenes* and 17 strains of *Listeria sp.* were isolated. That is to say an incidence of 6.85% of *Listeria monocytogenes*.

At the end of the bacteriological identification, we obtain 5.71 % of *L. monocytogenes* and *Listeria sp* 2.85 % in milk and milk products; 11.11% of *L. monocytogenes* and 27.77 % *Listeria sp* in meat and meat products; 8.1 % of *L. monocytogenes* and 5.40 % of *Listeria sp* in ready dishes to eat; no *L. monocytogenes* and 25% of *Listeria sp* in fish and fishery products and finally a single *L. monocytogenes* at the surface swabs.

From our work, we deduce that it is impossible to eliminate *Listeria* in the environment due to its ubiquitous nature and the non-compliance with hygiene measures.

Key Words: *Listeria* - bacteriologic - Foodstuffs –Zoonose.

ملخص

إن *Listeria* عامل ممرض ويرتبط ذلك إلى بعض الخصائص العامة للاستيريا والمقاومة الشديدة لظروف الوسط الخارجي بالنظر إلى الأصناف الكثيرة من المواد الغذائية المعروضة في السوق المحلية الجزائري و التي يمكن أن تسبب أمراض خطيرة. من خلال هذا البحث تم عزل 10 جذمات من *Listeria monocytogenes* و 17 جذمات من *Listeria sp.* من 146 عينات معالجة. في حدوث *Listeria monocytogenes* 6.85% .

في نهاية التحديد البكتريولوجي، تحصلنا على 5.71% من *Listeria monocytogenes* و 12.85% من *Listeria sp* في الحليب و منتجات الألبان؛ 11.11% *Listeria monocytogenes* و 27.77% *Listeria sp* في اللحوم و منتجات اللحوم, 8.1% من *Listeria monocytogenes* و 5.40% *Listeria sp* في الأطباق الجاهزة للأكل؛ لم يتم إيجاد *Listeria monocytogenes* و 25% من *Listeria sp* في الأسماك و المنتجات السمكية و أخيرا *Listeria monocytogenes* واحدة في مسحات السطح.

من خلال عملنا نستنتج انه من المستحيل القضاء على الليستيريا في البيئة نظرا لطبيعتها و عدم الامتثال لتدابير الصحة العامة.

كلمات البحث: الليستيريا - تأثير - الغذاء - Zoonose.

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I : généralités

I.1. Historique.....	3
I.2. Caractères biologiques.....	3
I.2.1. Taxonomie.....	3
I.2.2. Caractères morphologiques.....	4
I.2.3. Constitution antigénique.....	4
I.2.3.1. Sérotypie.....	4
I.2.4. Caractères culturels	5
I.2.4.1. Température de croissance	5
I.2.4.2. Potentiel Hydrogène (pH).....	6
I. 2.4.3. Activité de l'eau (AW).....	6
I. 2.4.4. Sel et croissance	6
I.2.5. Caractères biochimiques.....	6

Chapitre II : Epidémiologie

II.1. Importance en santé publique.....	7
II.2. Dose minimale infectieuse (DMI).....	7
II.3. Listériose humaine.....	7
II.3.1. Répartition géographique.....	7
II.3.2. Incidence.....	8
II.3.3. Source de contamination.....	8
II.3.4. Population à risque.....	8
II.4. Listériose animale	9
II.4.1. Caractère enzootique.....	9
II.5. Modalités de transmission.....	9
II.5.1. Les animaux	10
II.5.2. Les aliments	10
II.5.3. L'environnement	10

Chapitre III :Clinique

III.1. Physiopathologie.....	11
III.2. Cycle intracellulaire.....	11
III.3. Maladie chez l'Homme.....	12
III.3.1. Listériose de la femme enceinte	12
III.3.2. Listériose néonatale précoce.....	13
III.3.3. Listériose néonatale tardive.....	13
III.3.4. La Listériose invasive de l'enfant et de l'adulte.....	13
III.3.4.1. Bactériémie	13
III.3.4.2. Listériose neuro-méningée (Méningites, méningo-encéphalite, encéphalite.....	13
III.3.5. Les Listérioses non invasives	14
III.3.5.1. Gastro-entérites	14
III.3.5.2. Listériose cutanée.....	14
III.3.6. Diagnostic	14
III.3.6.1. Diagnostic direct	14
III.3.6.2. Diagnostic sérologique	14
III.3.7. Traitement	15
III.3.8. Prophylaxie.....	15
III.4. Maladie chez l'animal.....	15
III.4.1. Forme génitale	15
III.4.2. Forme nerveuse	16
III.4.3. Forme digestive	16
III.4.4. Formes septicémiques.....	16
III.4.5. Autres formes localisées	16
III.4.6.. Diagnostic.....	17
III.4.6.1. Diagnostic bactériologique.....	17
III.4.6.2. Diagnostic sérologique	17
III.4.7. Traitement	17
III.5.6. Prophylaxie	17
III.4.8.1. Au niveau de l'élevage	17
III.4.8.2. Au niveau des industries	18

Chapitre IV : *Listeria monocytogenes* dans les produits alimentaires

IV.1. Lait et produits laitiers	19
IV.1.1. Lait cru	19
IV.1.2. Fromages	20
IV.1.3. Autres produits laitiers	20
IV.2. Viande et produits carnés	20
IV.3. Poissons et produits de la pêche.....	22
IV.4. œufs et ovoproduits	22
IV.5. Produits d'origines végétales.....	22
IV.6. Influence du conditionnement sur la croissance de <i>Listeria monocytogenes</i>	23
IV.7. Classification des aliments selon le danger représenté par <i>Listeria monocytogenes</i>	25
IV.7.1. Aliments à risque maîtrisé.....	25
IV.7.2. Aliments sûrs.....	25
IV.7.3. Aliments sensibles	25
IV.8. Biofilms de <i>Listeria monocytogenes</i>	26
IV.9. Aspect réglementaire pour la recherche et l'identification des <i>L.monocytogenes</i> dans les aliments.....	27

Chapitre IV : Intoxications alimentaires

V.1.Définition.....	28
V.2. Facteurs favorisant les intoxications	28
V.3. Lieux où surviennent les intoxications alimentaires.....	30
V.4.. Les Toxi -Infections Alimentaires Collectives (TIAC).....	30
V.4.1. Evolution des Toxi-infections Alimentaires en Algérie	31
V.4.2. Aliments incriminés dans les TIAC en Algérie.....	33

Partie pratique :

1. Objectif	34
2. Matériel et méthode	34
2.1. Matériel.....	34
2.1.1. Matériel non biologique.....	34
2.1.2. Matériel biologique	34

2.2. Méthode	34
2.2.1. Recherche de <i>Listeria monocytogenes</i> (analyse qualitative).....	34
2.2.1.1. Identification du genre <i>Listeria</i>	38
2.2.1.2. Identification des espèces du genre <i>Listeria</i>	39
2.2.1.3. Conservation des souches de <i>Listeria monocytogenes</i> et <i>Listeria sp</i>	42
2.2.2. Dénombrement de <i>Listeria monocytogenes</i> (analyse quantitative).....	43
3. Résultats	46
3.1. Nombre de prélèvements.....	46
3.2. Analyses bactériologique.....	46
3.2.1. Recherche du genre <i>Listeria</i>	46
3.2.2. Recherche et identification de <i>Listeria monocytogenes</i>	47
3.3. Dénombrement des colonies	52
4. Discussion	54
5. Conclusion	57
6. Recommandations.....	56

Références

Annexes

Liste des figures

Figure 1: Représentation schématique du processus d'infection intracellulaire par <i>Listeria monocytogenes</i>	9
Figure 2: Incidence des TIAC en Algérie durant la période de 1999 à 2011	30
Figure 3: Evolution des TIAC en fonction des saisons	31
Figure 4 : Organigramme de la méthode ISO 11290-1.....	34
Figure 5: Enrichissement primaire dans Fraser demi	35
Figure 6: Enrichissement secondaire sur bouillon Fraser complet (tube de 10 ml).....	35
Figure 7: Isolement en strie sur gélose CHROMOGENIQUE.....	36
Figure 8: Aspect de <i>Listeria monocytogenes</i> sur gélose PALCAM.....	36
Figure 9: Aspect de <i>Listeria monocytogenes</i> sur gélose OCLA.....	37
Figure 10: Aspect de <i>Listeria sp.</i> Lors de la coloration de Gram.....	37
Figure 11: Test de mobilité.....	38
Figure 12: aspect de <i>Listeria</i> sur gélose mobilité (25°C).....	38
Figure 13: test d'hémolyse positive sur gélose au sang.....	39
Figure 14: CAMP test avant incubation.....	39
Figure 15 : CAMP test après incubation.....	40
Figure 16: Aspect d'une galerie API de <i>Listeria monocytogenes</i>	40
Figure 17: Aspect d'une galerie API de <i>L. innocua</i>	41
Figure 18: conservation par repiquage sur gélose nutritive inclinée.....	41
Figure 19: conservation par le froid (cryotubes à -80°C).....	42
Figure 20: Dénombrement de <i>Listeria</i>	43
Figure 21: Identification de <i>L.monocytogenes</i> et <i>Listeria sp</i> dans le lait et les produits laitiers.....	47
Figure 22 : identification par type de produit laitier.....	47
Figure 23: taux de contamination par <i>Listeria</i> pour chaque catégorie de viandes.....	48
Figure 24: contamination par <i>Listeria</i> des différents types de plats prêts à manger.....	49
Figure 25: Identification de <i>Listeria monocytogenes</i> et <i>Listeria sp</i>	51

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractères antigéniques des sérovars de <i>Listeria</i>	5
Tableau 2: <i>Listeria monocytogenes</i> dans les produits carnés fermentés.....	20
Tableau 3: Récapitulation des résultats relatifs à <i>Listéria monocytogenes</i>	23
Tableau 4: Aliments incriminés dans les toxi-infections alimentaires en Algérie en 2010 et 2011.....	32
Tableau 5: Nombre et nature des échantillons.....	45
Tableau 6: Taux de <i>Listeria sp.</i> présentes dans les denrées alimentaires analysées.....	46
Tableau 7: Résultats de l'identification des <i>Listeria</i> dans les laits et produits laitiers.....	46
Tableau 8: Résultats de l'identification des <i>Listeria</i> dans les viandes et produits carnés.....	47
Tableau 9: Poissons et produits de la pêche.....	48
Tableau 10. Résultats de l'identification des <i>Listeria</i> dans les plats cuisinés prêts à manger.....	49
Tableau 11: Ecouillons de surface.....	50
Tableau 12 : Taux d'incidence des <i>Listeria</i> dans les différentes catégories d'aliments.....	50
Tableau13 : Résultats du dénombrement et de l'identification biochimique des souches isolées.....	52

Liste des abréviations

ADH: Arginine Déshydrogénase.

AFSSA : Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments.

ALOA: Agar *Listeria* selon Ottaviani & Agosti.

BHIB: Brain-Heart Infusion Broth.

BPH: Bonnes pratiques d'hygiène.

CAMP: Christie, Atkins, Munch, Petersen.

CDC: Centers for Disease Control and Prevention (USA).

CRD : Centre de Recherche et de Développement (France).

DLC: Date Limite de Consommation.

FAO: Food and Agriculture Organization.

FDA: Food and Drugs Administration.

HACCP: Hazard Analysis Control Critical Point.

INSV: Institut National des Sciences Vétérinaire (Algérie).

ISO: International for Standardization Organization.

INVS: Institut National de Veille Sanitaire (France).

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne.

JORF : Journal Officiel de la République Française.

KGy: Kilo Gray.

Lm: *Listeria monocytogenes*.

LDC: Lysine Décarboxylase.

OCLA: Oxoid Chromogenic Listeria Agar.

ODC: Ornithine Décarboxylase

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PAM: plats prêts à manger

pH : Potential Hydrogen

TIAC: Toxi-infections alimentaires collectives

TSA : Tryptone Soja Agar

TSYEA: Tryptone Soy Yeast Extract Agar

UFC : Unité formant colonie

Introduction

Listeria monocytogenes est une bactérie ubiquitaire potentiellement nuisible à la santé humaine et animale, elle est à l'origine d'une zoonose infectieuse appelée « listériose ». Cette zoonose est d'autant plus préoccupante en raison de la capacité de *L. monocytogenes* à survivre à des basses températures de réfrigération et de congélation.

Cette maladie d'origine alimentaire se présente essentiellement sous forme de cas sporadiques, plus rarement par des cas groupés, voire de véritables épidémies (Plus de 88 épidémies ont été rapportées dans le monde selon la littérature **(CNRL, 2014)**).

Les risques épidémiques sont d'autant plus amplifiés par le fait que l'Algérie est importatrice de denrées alimentaires d'origine animale à partir de pays où des foyers de listériose ont été déclarés.

L. monocytogenes est présente en abondance dans l'environnement et les aliments. Malgré le fait qu'une grande variété d'aliments puisse être contaminée par *L. monocytogenes*, les poussées épidémiques et les cas sporadiques de listériose sont associés principalement aux aliments prêts à consommer **(FSA, 2011)**.

Listeria monocytogenes est un pathogène d'importance majeure en santé publique parce qu'il génère un très haut taux de mortalité chez les populations susceptibles telles que les personnes âgées, les gens immuno-supprimés ainsi que les nouveau-nés et les femmes enceintes. Par conséquent une surveillance étroite et ciblée de la *L. monocytogenes*, est nécessaire, pour des raisons évidentes de risque pour la santé publique.

La recherche et la maîtrise de techniques d'identification constituera à cet effet une assise scientifique pour la surveillance épidémiologique de toutes les denrées à risque et permettra de réagir rapidement au cas où une denrée quelconque révélera la présence de *Listeria*.

Pour cela, un contrôle bactériologique systématique s'impose et concerne à la fois les matières premières locales et/ou importées, les chaînes de fabrication et les produits finis. Il va sans dire, qu'une épidémie de Listériose coûterait plus cher que des actions de prévention.

L'objectif de notre travail a consisté à étudier l'espèce *L. monocytogenes* en tant que contaminant alimentaire responsable de toxi-infections alimentaires. Cette étude se base

Introduction

sur la détection de *L. monocytogenes* ainsi que son dénombrement dans les aliments en Algérie.

Cette étude s'articulera sur deux parties :

- Une partie bibliographique qui comporte quatre chapitres portant sur les généralités ; l'épidémiologie de *Listeria* ; *Listeria* dans l'alimentation et enfin les intoxications alimentaires.
- Une partie expérimentale consistant en une étude bactériologique (identification et dénombrement des *Listeria*) à partir de produits alimentaires variés (viandes, lait,...)

I.1. Historique

La découverte de *Listeria* est liée à des cas de listérioses humaines et animales étudiés au début du xx siècle. En 1918, Dumont et Cotoni isolèrent une bactérie du liquide céphalo-rachidien d'un soldat atteint de méningite (**Sautra et al., 1998**).

En 1926 à l'animalerie de l'université de Cambridge, Murray-Webb et Swann, isolèrent la même bactérie lors d'une épizootie touchant les lapins et les cobayes, et qui présentaient une mononucléose sanguine en plus des lésions de nécrose au niveau du foie, et ont adopté le nom de *Bacillus monocytogenes* (**Murray et al., 1926**). Un an plus tard, en Afrique du Sud, Pirie isola la même bactérie des foies des espèces de gerbille africaine, sous le nom de *Listerella hepatolytica* (**Gray et Killinger, 1966**).

En 1940, Pirie a proposé le nom de *Listeria monocytogenes* et définitivement accepté et retenue par les Approved Lists of Bacterial Names (**Euzèby et Tindall, 2004**).

Durant de nombreuses années, les listérioses furent principalement considérées comme des maladies des animaux même si des cas sporadiques et parfois dramatiques étaient décrits chez l'homme. L'intérêt pour *L. monocytogenes* (*Listeria monocytogenes*) grandit quand la transmission alimentaire fut prouvée en 1983 (**Schlech et al., 1983**). Depuis cette date, *L. monocytogenes* fait l'objet de nombreuses études et de surveillances accrues.

I.2. Caractère biologique

I.2.1. Taxonomie

Le genre *Listeria* comprend des bactéries Gram positif, non capsulées, non sporulées, et aéro-anaérobies facultatives mais cultivant mieux en aérobiose (**Euzeby, 2000**). Jusque dans les années 1970, leurs caractéristiques morphologiques leur ont conféré le statut de bactéries corynéforme. Mais depuis l'avènement des travaux de taxinomie numérique et l'apparition du séquençage partiel de l'ARN ribosomique 16S, il est maintenant clairement établi que les *Listeria* appartiennent à la branche des *Clostridii*, comme les *Staphylococcus*, les *Streptococcus*, les *Lactobacillus* et tous les autres bacilles Gram positif ayant un ADN dont le rapport GC est inférieur à 50% (**Collins, 1991**).

Depuis la première description de *Listeria* en 1926, la littérature a mentionné à l'heure actuelle quinze espèces (**Bakker et al, 2014**) :

- *Listeria monocytogenes* (1926) ; *L. grayi* (1966); *L. murrayi* (1971); *L. innocua* (1981); *L. welshimeri* et *L. seeligeri* (1983) ; *L. ivanovii* sub sp. *Ivanovii* en (1985), *L. ivanovii* sub sp. *Londoniensesis* (1992); *L. marthii* (2010); *L. recourtiae* (2010); *L. fleischmannii* (2013); *L. weihenstephanensis* (2013). *Listeria floridensis*, *L. aquatic*, *L. cornellensis*, *L. grandensis*, *L. riparia* (2014).

Selon le Bergy's Manual (2001), le genre *Listeria* fait partie de la famille des *Listeriaceae*, l'ordre des *Bacillales*, Classe III des *Bacilli* et du phylum III des *Firmicutes*, regroupées dans le règne des *Eubacte*.

I.2.2. Caractères morphologiques

L. monocytogenes est un bacille à Gram positif se présentant sous forme de bâtonnets réguliers de 0.5-2 µm de longueur sur 0.4-0.5 µm de diamètre, aux extrémités arrondies, associés parallèlement ou en courtes chaînes ou en paires sous forme de V. Dans les cultures âgées et en milieux carencés, des filaments de 6 à 20 µm peuvent se former. La bactérie n'est ni capsulée ni sporulée. Elle est mobile par des flagelles péritriches quand elle est cultivée à 20-25°C, et immobile ou faiblement mobile à 37°C (**AFSSA, 2000**).

I.2.3. Constitution antigénique

I. 2.3.1. Sérotypie

Le sérotype est déterminé par la reconnaissance d'antigènes de surface par des anticorps polyclonaux ou monoclonaux. C'est une méthode de typage utilisable que pour un nombre limité d'espèces bactériennes c'est-à-dire celle pour lesquelles des anticorps sont disponibles.

De plus, le nombre de sérotypes est variable en fonction de l'espèce bactérienne.

On distingue au sein du genre *Listeria* :

- 15 antigènes somatiques : antigènes O (I à XV)
- 5 antigènes flagellaires : antigène H (A à E).

La combinaison de ces différents facteurs dans une même bactérie permet de reconnaître 17 sérovars de *Listeria*. Dans les cas d'infection humaine les sérovars les plus fréquents sont : 4b (49%), 1/2 a (26%) et 1/2 b (19%) (**Larpent, 2004**).

Les différents caractères antigéniques des sérovars de *Listeria* sont consignés dans le tableau 1.

Tableau1 : Caractères antigéniques des sérovars de *Listeria* (**Larpent, 2000**).

Espèces	Sérovars
<i>L.monocytogenes</i>	1 /2a, 1/2b, 1 /2c, 3a, 3b, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e, 7
<i>L.innocua</i>	3, 6a, 6b, 4ab
<i>L.ivanovii</i>	5
<i>L.seeligeri</i>	1/2a, 1/2b, 1/2c, 4b, 4c, 4d, 6b
<i>L.welshimeri</i>	1/2a, 4c, 6a, 6b

1.2.4. Caractères cultureux

Listeria monocytogenes est capable de se développer en atmosphère aérobie ou anaérobie. Sur gélose nutritive, elle forme en 24-48 h à 37°C des colonies de 0,5 à 1,5 mm de diamètre, translucides, à reflets bleutés en lumière oblique. Sur gélose au sang de mouton ou de cheval, elle donne des colonies β -hémolytiques (**AFSSA, 2000**).

1.2.4.1. Température de croissance

La température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C. La croissance est démontrée expérimentalement entre -2°C et 45°C (**Augustin, 1999**).

Les températures minimales de croissance observables sur gélose trypticase-soja dans une durée d'incubation de 10 jours sont comprises entre 0.5 et 3.0°C, avec une moyenne de 1.1°C (**Junttila et al., 1988**). Si le temps d'incubation est supérieur à 50 jours, la température minimale de croissance atteint -0,4°C selon **Walker et al. (1990)**.

1.2.4.2. Potentiel Hydrogène (pH)

L.monocytogenes se multiplie entre pH 4.6 à 9,6 avec un optimum à pH 7.1 à l'optimum thermique entre 30°C et 37°C (**Pearson et Marth, 1990**). Ces valeurs « pH cardinaux » dépendent toutefois de la nature et de la concentration de l'acide, et de la nature du milieu. Ainsi, des pH minimaux de 4,5 à 5,6 à 5°C sont cités pour l'acide acétique ; un pH de 4.5 à 5.5 pour l'acide lactique ; un pH de 4 à 4.6 pour l'acide citrique et pH de 4 à 5.2 pour l'acide chlorhydrique (**Cheroutre-Vialette et al., 1989**). *Listeria monocytogenes* est plus tolérante aux pH alcalin qu'acides (**Nickalus, 2001**).

2.4.3. Activité de l'eau (Aw)

L'activité de l'eau représente la pression de vapeur d'eau d'un produit humide divisée par la pression de vapeur saturante à la même température. Plus l'Aw est élevée, plus il y a d'eau disponible pour le développement de ces micro-organismes, elle est comprise entre 0 et 1. *Listeria* se développe à un optimum d'aw = 0.97 mais peut se développer à 0.943 (**Larpent, 2004**).

2.4.4. Sel et croissance

Listeria monocytogenes ne se développe pas généralement dans les solutions contenant plus de 10 à 11% de NaCl (**Vasseur et al., 1999**). Toutefois, des souches peuvent survivre dans des saumures de fromagerie contenant de 13 à 14% de NaCl (**Farber et al., 1992**).

2.5. Caractéristiques biochimiques

La caractérisation biochimique des *Listeria* fait appel aux méthodes classiques d'identification :

une réponse **positive** est notée pour les tests : catalase, phosphatase alcaline, Voges-Proskauer (VP), rouge de méthylène (RM), hydrolyse de l'esculine, réduction du tellurite de potassium à 0.5%, réduction du bleu de méthylène, bêta-D-galactosidase, fermentation du glucose avec production d'acide lactique, acidification (en 48 heures) de l'amygdaline, du cellobiose, de l'esculine, du fructose, du mannose et de la salicine, acidification (2 à 6 jours) de l'alpha-méthyl-D-glucoside, et acidification (en 10 jours) du glycérol.

Une réponse **négative** est obtenue pour les tests : oxydase, citrate de Simmons, indole, uréase, gélatinase, caséinase, cellulase, hydrolyse de la tyrosine, hydrolyse de la xanthine, phénylalanine désaminase, LDC, ODC et ADH. Elles ne réduisent pas les nitrates en nitrites (**Euzeby, 2000 ; Larpent, 2004**).

II.1. Importance en sante publique

Si l'ingestion d'aliments contaminés reste souvent sans conséquences majeures chez un homme en bonne santé, elle peut être dramatique pour un patient dont l'immunité est débilitee. Elle induit en effet parfois la manifestation clinique de la maladie qui peut s'avérer mortelle. En France, le taux de mortalité de la listériose clinique peut atteindre 30% (**Bind, 1994**).

II.2. Dose minimale infectieuse (DMI)

La dose minimale d'infection est une des façons d'évaluer la capacité d'infection d'un microorganisme. Elle exprime la quantité minimum de germes nécessaire à création d'une infection dans des circonstances déterminées. (**Farber et Peterkin, 1991 ; Vazquez et al., 2001**).

Pour certaines bactéries pathogènes, la dose infectieuse minimale est bien déterminée, mais aucun chiffre ne peut être avancé avec certitude concernant *Listeria monocytogenes* dans la mesure où l'infection peut demeurer asymptomatique (**Federighi, 2005 ; Lebres, 2006**).

II.3. Listériose humaine

II.3.1. Répartition géographique

La distribution géographique des cas de listériose humaine n'est pas homogène. En effet, la listériose n'est pratiquement jamais signalée dans les pays en voie de développement (**Staine, 1996**). Ceci peut s'expliquer d'une part par le manque de moyens de diagnostic, d'autre part par un comportement alimentaire différent de celui que l'on peut avoir dans les pays industrialisés. En effet, le développement de produits non stérilisés conservés à des températures basses mais positives, l'allongement des durées de vies des produits transformés et leur consommation sans cuisson préalable, tendent à accroître le nombre de cas de listériose humaine. Par ailleurs, on note qu'au sein d'un pays industrialisé, la distribution géographique n'est pas homogène; la listériose tend en effet à avoir une incidence plus élevée dans les zones à forte urbanisation (**Bind et al., 1994 ; Goulet et al., 2001**).

II.3.2. Incidence

Dans le monde, l'incidence annuelle de la listériose (calculée en fonction du nombre de cas sporadiques) varie selon les études, de 1.6 à 14.7 cas par million d'habitants (**Schelcher et al., 1992**).

En France, l'incidence est de 4.4 par million d'habitant en 1999. Au moment de la mise en place de la Déclaration obligatoire en 1999, l'incidence était de 0.45 cas/100 000 habitants, soit une réduction par 3 de l'incidence en 15 ans (**Goulet et al., 2001**).

En 2006, on a observé un renversement de tendance avec une augmentation notable de l'incidence à 0.46 cas/100 000 habitants, puis à 0.50 cas/100 000 habitants en 2007. En 2008, l'incidence estimée de 0,45 cas/100 000 habitants est donc à un niveau proche de l'incidence de 2006 (**Goulet et al., 2008**).

Aux Etats-Unis ; chaque année, environ 1600 malades et 206 morts dues à listériose sont recensés par le Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (**Scallan et al., 2011**). L'incidence moyenne de la listériose en 2013 était 0.26 cas par 100000 individus (**CDC, 2014**).

II.3.3. Source de contamination

Les animaux malades ou les porteurs sains constituent pour l'homme la principale source de contamination (**Anonyme, 2011a**). L'homme contracte la maladie le plus souvent par ingestion de produits contaminés. Les produits les plus couramment incriminés sont le lait et les produits laitiers, les produits carnés, la charcuterie et les produits de la mer (**Millemann et al., 2000**). La contamination de ces produits peut être directe (excrétion de *L. monocytogenes* dans le lait en cas de mammites listériennes chez la vache laitière) ou surtout indirecte (contamination fécale au cours de la chaîne de production). Une transmission directe est possible, mais exceptionnelle. Des cas de transmission directe chez des vétérinaires ou des éleveurs ont été rapportés, notamment lors de mises bas ou d'avortement d'animaux infectés (**Tourdjman et al., 2014**).

II.3.4. Population à risque

Les infections à *Listeria monocytogenes* sont connues depuis 1920, s'observent essentiellement (mais pas uniquement) chez les femmes enceintes (quel que soit le terme de la

grossesse), les nouveau-nés contaminés par leurs mères et les individus présentant des troubles du système immunitaire dus à diverses causes.

Ces derniers sont classés, par le Centre National de Référence des Listeria, en trois groupes avec un niveau de risque décroissant :

- 1) personnes atteintes d'hémopathies, transplantées, atteintes de SIDA ;
- 2) personnes atteintes de cancers solides, d'hépatopathies et les hémodialysés ;
- 3) personnes diabétiques mal équilibrées et les alcooliques.

Classiquement, les personnes âgées sont considérées comme faisant partie des sujets à risque et certains chiffres publiés dans la littérature scientifique font état d'une incidence des listérioses 11 fois plus élevée à partir de 70 ans qu'entre 20 et 40 ans.

Toutefois, selon les données de l'Institut de Veille Sanitaire, de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments et du Centre National de Référence des Listeria, les sujets âgés bien-portants n'ont pas un risque beaucoup plus élevé que celui de la population générale. Il convient de noter que les enfants, même jeunes, ont un risque identique voire plus faible que celui de la population générale (**Anonyme, 2011b**).

II.4. Listériose animale

II.4.1. Caractère enzootique

L. monocytogenes a été isolé dans de très nombreuses espèces animales, généralement de porteurs intestinaux asymptomatiques. Les bovins, ovins et caprins peuvent développer des formes cliniques nerveuses et abortives, similaires à celles observées chez l'homme. En outre, l'encéphalite à Listeria a été décrite chez le porc et des septicémies dues à Listeria ont été observées chez des monogastriques (porc, carnivores, lapin, mais aussi veau ou agneau). Néanmoins, il est important de souligner que la transmission à l'homme se fait dans la plupart des cas par voie alimentaire et que la transmission directe de l'animal à l'homme n'est pas documentée (**AFSSA, 2006**).

III.5. Modalités de transmission

Trois sources principales sont impliquées (**Gourreau, 2011**) :

III.5.1. Les animaux

5 à 15% des bovins normaux (parfois plus à certaines période et pour certaines souches) excrètent *L.monocytogenes* dans les bouses ; de nombreuse espèces animales domestiques et sauvages sont également porteuses de la bactérie.

III.5.2. Les aliments

La contamination de l'ensilage et de l'enrubannage est souvent hétérogène, par « poche » (périphérie, déchirure de la bâche...) ; la concentration de *L.monocytogenes* peut alors être élevée ; l'eau de boisson, dans les abreuvoirs, est contaminée par la défécation ; le foin, les céréales, les tourteaux sont très rarement et très faiblement contaminés.

III.5.3. L'environnement

L. monocytogenes peut être isolée des litières, des refus d'ensilage, du sol, de l'eau ou elle peut persister plusieurs mois en condition favorable, sans se multiplier et bien qu'elle ne soit pas sporulée. La voie de pénétration dans l'organisme est orale.

III.1. Physiopathologie

Trois modes de contamination par *Listeria* ont été identifiés :

- Le contact direct avec l'animal, très rare pouvant être observé pour les vétérinaires lors d'interventions obstétricales chez les animaux infectés.
- Les infections nosocomiales, rares.
- La transmission alimentaire (très fréquente).

Chez l'homme, la voie de pénétration de cette bactérie est localisée aux voies aériennes supérieures (angines pharyngites, infections pseudo grippales), et aussi au niveau du tube digestif après absorption d'aliments contaminés (**Larpent, 2004**).

Le mode de contamination dominant est donc alimentaire avec atteinte du tube digestif puis d'autres organes ou tissus en plusieurs étapes : après ingestion d'aliments contaminés, les *Listeria* traversent l'intestin pour atteindre la circulation sanguine, ensuite elles sont captées essentiellement par le foie et se disséminent dans le système nerveux central ou le placenta.

A l'échelle de la cellule, *L.monocytogenes* se comporte comme un parasite intracellulaire facultatif, capable de survivre à l'extérieur de l'hôte mais aussi de pénétrer dans les cellules eucaryotes, de s'y multiplier et de passer directement d'une cellule à l'autre (**Moll et Moll, 2002 ; Larpent, 2004 ; Federighi, 2005**).

III.2. Cycle intracellulaire

Listeria monocytogenes est une bactérie entéro-invasive, à développement intracellulaire facultatif, capable de se multiplier dans la plupart des cellules des tissus de l'hôte infecté (**Schuchat et al., 1991; Avril, 2000**).

Une fois dans le cytoplasme, la bactérie se multiplie et s'entoure de l'actine de la cellule-hôte qui se polymérise en filament à un pôle. La structure qui en résulte, «en queue de comète », propulse la bactérie dans le cytoplasme. La bactérie repousse alors les membranes cellulaires des cellules adjacentes vers l'intérieur formant des protrusion allongés qui ressemblent à des pseudopodes. La vacuole à double membrane est lysée par la listériolysine (LLO) et la phospholipase, plcB jouant cette fois le rôle principal. Un nouveau cycle peut alors commencer. Les *Listeria* peuvent ainsi passer de cellule en cellule, sans les endommager, mais sans contact

direct avec le milieu extracellulaire, c'est-à-dire à l'abri des défenses immunitaires (**Hof et al, 1997; Vazquez et al, 2001a; Vazquez et al, 2001b**).

Le cycle intracellulaire de *Listeria monocytogenes* comprend les étapes suivantes :

1. Internalisation de la bactérie dans la cellule-hôte ;
2. Lyse de la vacuole d'endocytose et multiplication intra cytoplasmique ;
3. Déplacement intra cytoplasmique jusqu'à la membrane de la cellule-hôte ;
4. Création d'une protrusion endocytée par une cellule adjacente ;
5. Lyse de la vacuole à double membrane.

Le cycle de réplication intracellulaire est illustré ci-dessous (Figure1):

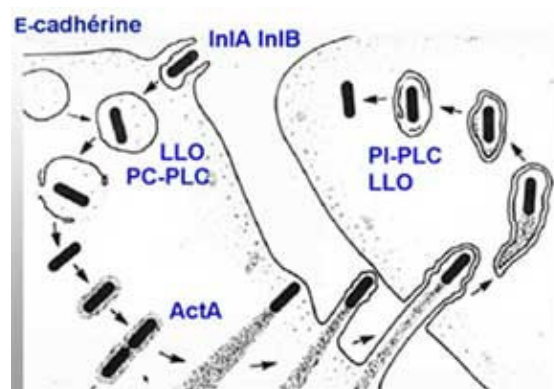


Figure1: Représentation schématique du processus d'infection intracellulaire par *Listeria monocytogenes* (**Cossart et al., 2003**).

InlA, internalineA; InlB, internaline B; LLO: listériolysine; PI-PLC, phosphatidyl-inositol Phospholipase C; Lécithinase

III.3. Maladie chez l'Homme

III.3.1. Listériose de la femme enceinte

Chez la femme enceinte, elle se traduit par un épisode fébrile, le plus souvent spontanément résolutif en quelques jours. Une remontée fébrile au moment du travail peut suivre une plus ou moins longue période d'apyrexie (**Struilou et Raffi, 1997 ; AFSSA, 2000**).

D'après **Marth (1988)** ; quelque fois, la listériose chez la femme enceinte peut être asymptomatique. Elle peut entraîner la contamination du fœtus (listériose fœto-maternelle) ou de l'enfant lors de l'accouchement (listériose néonatale) (**Canton et al., 1995**).

III.3.2. Listériose néonatale précoce

La listériose néonatale précoce, apparait dans les 7 premiers jours suivant l'accouchement. Elle est acquise lors de la phase bactériémique chez la mère, avant l'accouchement, et aussi par la voie ascendante transmembranaire (**Kolodner et al., 2003**).

III.3.3. Listériose néonatale tardive

La méningite isolée à *L. monocytogenes* est retardée jusqu'à deux semaines par rapport à la naissance. Son origine fait l'objet de plusieurs hypothèses : infection du liquide amniotique, abcès rétro placentaires. Le traitement rapide est, le plus souvent, suivi de guérison. Cette forme est rare : moins de 5 % des listérioses néonatales (**Goulet et al., 1986**).

La listériose néonatale nosocomiale a été décrite, mais reste excessivement rare (**Struilou et Raffi, 1997**).

III.3.4. La listériose invasive de l'enfant et de l'adulte

Ce type de Listériose se manifeste sur différentes formes :

III.3.4.1. Bactériémie

C'est le tableau clinique le plus souvent rencontré chez les sujets immunodéprimés. Elle peut se compliquer d'une endocardite ou de rares infections focales (**Bosseray et al., 1995**).

III.3.4.2. Listériose neuro-méningée (Méningites, méningo-encéphalite, encéphalite)

Cet ensemble de formes méningées (30% à 50%) se développent principalement chez les personnes âgées et en particulier les hommes de plus de cinquante ans.

La maladie évolue généralement sous un mode foudroyant (**Perret, 1990**).

La maladie débute par un syndrome pseudo-grippal suivi par les maux de tête, des douleurs aux jambes, une rigidité de la nuque, des nausées, des vomissements et une réaction de

photophobie, Un état de somnolence s'installe progressivement et entrecoupé de phases convulsives et de délire. L'évolution finale est le coma.

Ce tableau clinique n'est pas toujours complet. L'encéphalite due à *Listeria monocytogenes* comporte deux phases successives ; lors de la première phase, dont la durée est environ dix jours, on note les symptômes suivants : maux de tête, douleur dorsale, vomissements, conjonctivite et rhinite. La seconde phase débute par une fièvre importante puis par des troubles de système nerveux central (**Marth, 1988**).

III.3.5. Les listérioses non invasives

III.3.5.1. Gastro-entérites

Les gastro-entérites à *L.monocytogenes*, avec ou sans bactériémie, sont très rares (**Bosseray et al., 1995**).

III.3.5.2. Listériose cutanée

Cette affection semble être rencontrée occasionnellement chez des fermiers et des vétérinaires praticiens qui ont effectué des délivrances, des fouilles rectales ou des vêlages ou chez des bouchers après manipulation de carcasses. Des cas sont rapportés d'évolution défavorable vers une septicémie ou une méningite (**McLauchlin et Low, 1994**).

III.3.6. Diagnostic

III.3.6.1. Diagnostic direct

Le diagnostic est essentiellement fondé sur l'isolement bactériologique de *L.monocytogenes* du sang ou du Liquide Céphalo-rachidien (LCR). L'hémoculture est souvent le seul moyen pour diagnostiquer une encéphalite à *L.monocytogenes*, le LCR ne se positivant que lorsque l'infection diffuse aux méninges (et donc tardivement). Dans le cas de l'infection du nouveau-né ou du fœtus *L.monocytogenes* est isolé sur l'enfant (prélèvement gastrique, méconium), il peut être recherché dans le placenta (**AFSSA , 2000**).

III.3.6.2. Diagnostic sérologique

Basé sur la recherche des anticorps dirigés contre les facteurs de virulence (anticorps anti-listériolysine O) et les anticorps dirigés contre la bactérie (**Gaillard, 1995**).

III.3.7. Traitement

Le traitement de choix d'une listériose neuro-méningée est fondé sur l'association ampicilline- aminoside. Chez l'adulte, l'ampicilline est administrée par voie veineuse à la dose de 200 mg/kg/jour. Chez le nouveau-né et l'enfant, la dose d'ampicilline est portée à 400 mg/kg/jour pendant les premiers jours de l'infection. La pénicilline G à la dose de 300000 Unités Internationales (UI)/kg/jour peut remplacer l'ampicilline chez l'adulte. La gentamicine, associée à l'ampicilline, est administrée par voie musculaire ou veineuse à fortes doses (3-6 mg/kg/jour). La durée du traitement est de 3-4 semaines du fait de la possibilité de rechutes en cas de traitement trop court, surtout chez les sujets immunodéprimés. Si une listériose est suspectée et diagnostiquée par les hémocultures chez la femme enceinte, le traitement repose sur l'ampicilline (6 g/jour) par voie veineuse pendant trois semaines (**McLauchlin et al., 1991 ; Struillou et al., 1997**).

En cas d'allergie aux pénicillines, le triméthoprim-sulfaméthoxazole, associé à la gentamicine, donne de bons résultats. Les modèles expérimentaux confirment que les antibiotiques les plus efficaces sont l'ampicilline et le triméthoprim-sulfaméthoxazole (**Spitzer, 1986**).

III.3.8. Prophylaxie

- 1) La prophylaxie de la listériose humaine est basée essentiellement sur l'information des populations à risque et sur l'éducation sanitaire.
- 2) Eviter la consommation de lait cru et de produits à base de lait cru, cuire soigneusement les aliments crus d'origine animale.
- 3) Se laver les mains, nettoyer les ustensiles de cuisine après la manipulation d'aliments non cuits.
- 4) S'assurer que la température du réfrigérateur est suffisamment basse: 4°C. Respecter les dates limites de consommation (**Euzéby, 2000**).

III.4. Maladie chez l'animal**III.4.1. Forme génitale**

Elle peut s'observer chez les femelles gestantes de la plupart des espèces domestiques. Elle se caractérise par un avortement qui survient le plus généralement dans les derniers mois ou dernières semaines de gestation (**AFSSA, 2000**).

Dans 80% des cas, chez les animaux nourris aux ensilages, l'avortement a lieu le plus souvent quatre semaines après l'ouverture du silo, ce qui tend à faire croire que ces quatre semaines constituent, la durée de l'incubation de l'infection (**Bienfet et al., 1969**).

Les cas peuvent être isolés ou groupés en fonction des conditions d'élevage, des méthodes alimentaires et de la qualité des végétaux distribués (**AFSSA, 2000**).

III.4.2. Forme nerveuse

Elle s'observe chez des animaux de tous âges et de toutes espèces, les cas sont généralement sporadiques. Cette forme peut apparaître dans un troupeau après une série d'avortements. La maladie survient brutalement (**AFSSA, 2000**).

D'après **Minor et al. (1973)**, l'avortement se situe le plus souvent entre le quatrième et le septième mois et quelque fois entre le sixième et le huitième mois.

Des signes nerveux associés à une hyperthermie apparaissent: mouvements incoordonnés, répétitifs, les animaux «poussent au mur» et tournent en rond d'où l'appellation de «circling disease», paralysie, dyspnée (**Cottureau et al., 1972**).

Les animaux meurent rapidement malgré des traitements, Seuls les jeunes porcs peuvent présenter des troubles frustrés qui guérissent en général spontanément (**AFSSA, 2000**).

III.4.3. Forme digestive

Dans certaines espèces (bovins, ovins, équins, carnivores), on peut observer quelquefois une entérite avant la survenue d'autres formes (**AFSSA, 2000**).

III.4.4. Formes septicémiques

Ces formes découlent des formes précédentes et sont souvent observées chez de très jeunes animaux (formes néo-natales) (**AFSSA, 2000**).

Les symptômes sont ceux d'une septicémie banale: fièvre, congestion généralisée, coma. L'évolution est rapidement fatale (**Cottureau et al., 1973**).

III.4.5. Autres formes localisées

Chez certaines espèces, diverses formes localisées sont observables :

- formes cutanées : carnivores, poissons
- formes respiratoires : bovins, ovins, caprins, carnivores, lagomorphes ...,
- Formes sous cutanées : lagomorphes,... (**AFSSA, 2000**).

.–Des infections oculaires ont également été décrites chez le mouton, ainsi que des mammites chez les bovins, pouvant être à l’origine de la contamination du lait (**Bennet, 2010**).

III.4.6. Diagnostic

III.4.6.1. Diagnostic bactériologique

Le diagnostic est fait à partir de prélèvements effectués sur les animaux : avortons, placenta, système nerveux central (encéphale, cervelet, bulbe), cœur et sang du cœur, foie, rate, peau éventuellement. L’ensemencement se fait sur milieux adéquats après broyage des échantillons prélevés.

III.4.6.2. Diagnostic sérologique

La détection des anticorps anti *Listeria* est peu spécifique, elle peut avoir une utilité purement indicative si elle est effectuée sur plusieurs sérums d’animaux d’une exploitation à surveiller, mais l’isolement du germe reste la méthode de certitude (**AFSSA, 2000**).

III.4.7. Traitement

En pratique, on utilise l’association ampicilline-gentamicine, ou spiramycine-métronidazole ou ampicilline-colistine, ou les tétracyclines pendant 7 à 10 jours au moins, en fonction des formes médicamenteuses. On associe au traitement antibiotique un complexe vitaminique B en intra veineuse, pendant 3 jours. En cas d’avortement, on peut utiliser de l’amoxicilline localement par voie intra-utérine et par voie générale (**Joncour, 1998**).

III.4.8. Prophylaxie

III.4.8.1. Au niveau de l’élevage

Il faut assurer une correcte préparation et conservation de l’ensilage. Certains auteurs préconisent l’ensemencement des ensilages avec des souches de *Lactococcus lactis* ou de *Lactobacillus plantarum* qui inhibent la croissance des *Listeria*.

Un dépistage systématique en vue de détecter les vaches excrétrices. La réforme des femelles est une nécessité. (**Euzéby, 2000**)

III.4.8.2. Au niveau des industries

La prophylaxie de la listériose sera fondée sur :

- ✓ La sélection rigoureuse des matières premières,
- ✓ Le strict respect des plans de nettoyage et de désinfection, le strict respect des Bonnes pratiques de fabrication (BPF) ,
- ✓ Respect de la chaîne du froid et réduction des dates limites de consommation (**Euzéby, 2000**).

V.1.Définition

L'intoxication alimentaire est une maladie courante généralement bénigne mais qui, parfois, peut être mortelle. Elle se produit lorsqu'une personne absorbe un aliment ou une boisson contaminée (e) par une bactérie ou une toxine. Il peut arriver, très rarement, que les toxines provenant de produits chimiques ou de pesticides causent une intoxication alimentaire. Il peut être difficile de savoir si un aliment ou une boisson est contaminé(e), car son aspect, son goût et son odeur peuvent être inchangés. L'intoxication alimentaire peut affecter une personne, ou bien un groupe de personnes si elles ont toutes mangé le même aliment contaminé. La plupart des intoxications alimentaires sont dues à des toxines produites par les bactéries ou par la quantité de bactéries elles-mêmes. Certaines bactéries peuvent se développer (se multiplier) d'une à plusieurs millions dans les bonnes conditions d'humidité, de terrain alimentaire, de chaleur et de temps. Plus il y a de bactéries présentes, plus il y'a de risques de contracter une infection ou une maladie. Les types de bactéries infectieuses les plus courantes sont le *Campylobacter*, l'*E. Coli* et la salmonelle (**Anonyme, 2008**)

En général, on entend par maladies d'origine alimentaire les affections qui résultent de l'exposition à des micro-organismes pathogènes, tels que bactéries, virus et parasites, et tendent à avoir des effets sérieux sur la santé humaine. Toutefois, des toxi-infections alimentaires chroniques, et parfois même aiguës, peuvent aussi être imputables à la présence, intentionnelle ou non, dans les aliments, de substances chimiques diverses telles que les résidus de pesticides et de médicaments vétérinaires, les additifs alimentaires non autorisés, les mycotoxines, les bio toxines et les nucléides radioactifs. On trouvera dans le document de travail CRD3 un aperçu des principaux types de contaminants responsables de maladies d'origine alimentaire. (**FAO, 2005**).

On parle d'intoxication alimentaire seulement pour les maladies d'origine alimentaire provoquées par l'ingestion de produits non comestibles ou toxiques (médicaments vétérinaires, métaux lourds, champignons vénéneux, produits chimiques). Ces toxiques peuvent être d'origine biologique ou chimique (**Malvy, 2003**)

Les maladies dues à une contamination microbiologique des aliments sont un problème de santé publique important qui ne cesse de prendre de l'ampleur. La plupart des

pays qui disposent d'un système de notification des cas de maladie d'origine alimentaire ont apporté la preuve que, depuis plusieurs décennies, il y a eu accroissement de l'incidence des maladies dues à des micro-organismes présents dans les aliments, notamment *Salmonella* spp, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* ou *E. coli* O157, entre autres.

Les substances chimiques sont elles aussi à l'origine de nombreux cas de maladie d'origine alimentaire, encore que leurs effets soient souvent difficiles à relier à un aliment particulier. Les contaminants chimiques dans les aliments comprennent des substances toxiques naturelles comme les mycotoxines ou bien des contaminants d'origine environnementale comme les dioxines, le mercure, le plomb ou les radionucléides. Les additifs alimentaires, les pesticides et les médicaments vétérinaires sont eux aussi largement utilisés, et il est indispensable de s'assurer qu'ils le sont sans danger.

La surveillance des maladies d'origine alimentaire et de la contamination des aliments est un outil essentiel pour l'évaluation des risques. C'est pourquoi les efforts portent essentiellement sur la mise au point de méthodes appropriées dans ces deux domaines pour fournir les données nécessaires à l'évaluation quantitative des risques microbiologiques et chimiques.

(FAO/OMS, 2002)

En Algérie, les intoxications alimentaires sont en hausse constante. L'Algérie enregistre chaque année entre 3000 et 5000 cas d'intoxication collective déclarés, selon Dr Hadj Lakhel Belkacem, médecin de l'INSP **(Dadi, 2009)**.

V.2. Facteurs favorisant les intoxications

Certains facteurs augmentent le risque d'intoxication alimentaire :

- le non-respect des dates de péremption ;
- le non-respect des températures de stockage ;
- une rupture de la chaîne du froid (aliment surgelé conservé au chaud...)
- la consommation d'aliments restés trop longtemps au chaud ;
- une mauvaise cuisson des aliments... **(Anonyme, 2012)**

V.3. Lieux où surviennent les intoxications alimentaires

Le pourcentage qu'elles représentent est en effet de plus de 40 %. Sur le nombre total de flambées en Europe soit 17 960 cas (Nombre de flambées pour lesquelles l'agent responsable a été identifié), 22 % étaient survenues dans des établissements de restauration collective comme les restaurants, cafétérias ou cantines ; 8,7 % dans des écoles, des jardins d'enfants ou des homes d'enfants ; 3 % dans des hôpitaux, 2 % dans des magasins de détail, 1,5 % dans des institutions, 1 % dans des maisons pour personnes âgées et le reste en divers autres endroits **(FAO/OMS, 2002)**.

En 2010 et 2011 en Algérie, les TIAC ont atteint des taux de 12,8 et 13,87 cas par 100000 habitants respectivement **(REM, 2011)**. Ces taux de TIAC ont été notifiés en milieu familial (40%) et en restauration collective (60%) **(Mouffok, 2011)**

V.4. Les Toxi -Infections Alimentaires Collectives (TIAC)

Les infections transmises à l'homme par les aliments (salmonellose, listériose, Campylobactériose, yersiniose, toxoplasmose, infections virales) persistent dans les pays industrialisés. L'importance de leur maîtrise est justifiée d'une part par le coût des manifestations aiguës et, d'autre part, par celui de la prise en charge des pathologies secondaires ou réactionnelles. Leur fréquence reste élevée malgré les mesures de surveillance et de prévention prises au niveau de la production, distribution et conservation des aliments. La contamination de ces aliments peut être le fait de la matière première (animale ou végétale), d'une contamination par l'environnement, l'homme ou un autre aliment (contamination croisée) **(Anonyme ,2010)**.

Dans la majorité des cas, les TIAC sont dus à la présence de Salmonelles. D'autres bactéries connues sont également à l'origine de TIAC comme *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* (très récemment mis en cause d'ailleurs), *Campylobacter jejuni* (provoquant le syndrome de Guillain-Barré) ou encore les *Shigelles*. Retrouver ces bactéries dans nos assiettes met en avant, la plupart du temps, un manque d'hygiène du matériel utilisé et/ou du personnel tout au long de la chaîne alimentaire, une potentielle présence de nuisibles (mouches, rongeurs ...) voir même une contamination du sol (pour les légumes par exemple, un manque de nettoyage pourra donc être mis en avant) **(Doriane, 2011)**.

Les TIAC sont des accidents aigus d'intoxication consécutifs à l'ingestion d'aliments contaminés par des bactéries ou par leurs toxines. Un foyer de TIAC est défini par l'apparition d'au moins deux cas groupés d'une symptomatologie similaire, en générale digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire **(Buisson et Teyssou, 2002)**

Comme en France, dans les pays de Maghreb, les TIAC sont des maladies à déclaration obligatoire. En Algérie, la déclaration obligatoire des maladies est régie par l'arrêté N° 179/MS/CAB du 17/11/90 fixant la liste de maladies à déclaration obligatoire et les modifications de notification et la circulaire N° 1126/MS/DP/SDPG du 17/11/90 relative au système de surveillance des maladies transmissibles.

V.4.1. Evolution des Toxi-infections Alimentaires en Algérie

En Algérie, le nombre total de foyers déclarés est de 82 foyers avec 2807 personnes touchées dont 5 décédées durant l'année 2011 **(Mouffok, 2011)**

L'année 2011 était caractérisée par une augmentation des TIAC par rapport à l'année 2010 comme cela est indiqué dans la figure 2.

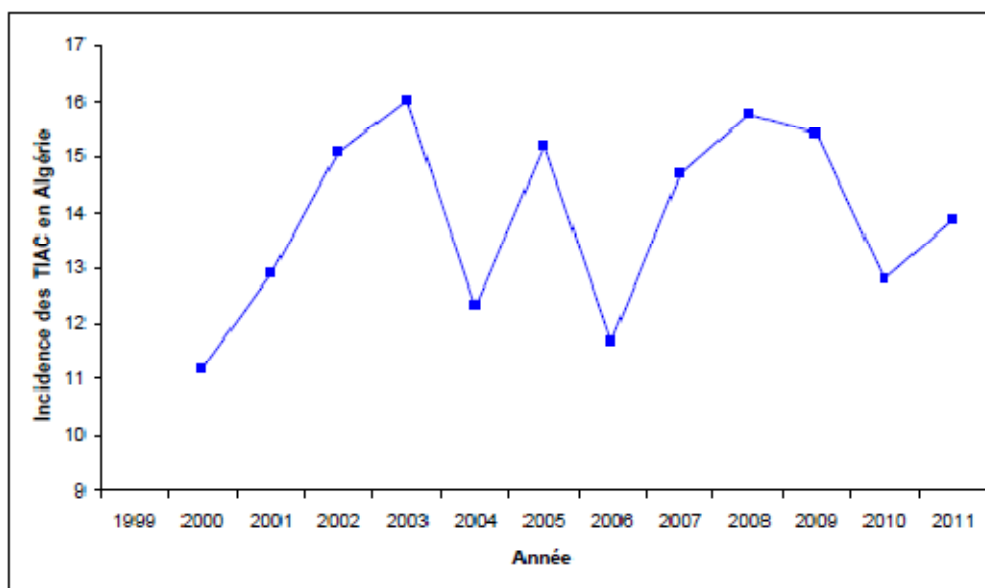


Figure 2: Incidence des TIAC en Algérie durant la période de 1999 à 2011 (INSP, 2011).

Comme le montre la figure 3, l'augmentation du nombre de TIAC déclarées était observée durant la période estivale quand la demande des repas rapides et la consommation hors foyer augmentent. La non prise de conscience des consommateurs à respecter la chaîne de froid, l'insuffisance des conditions d'hygiène et les températures ambiantes élevées comptent parmi les principaux facteurs favorisant la présence et la multiplication des pathogènes.

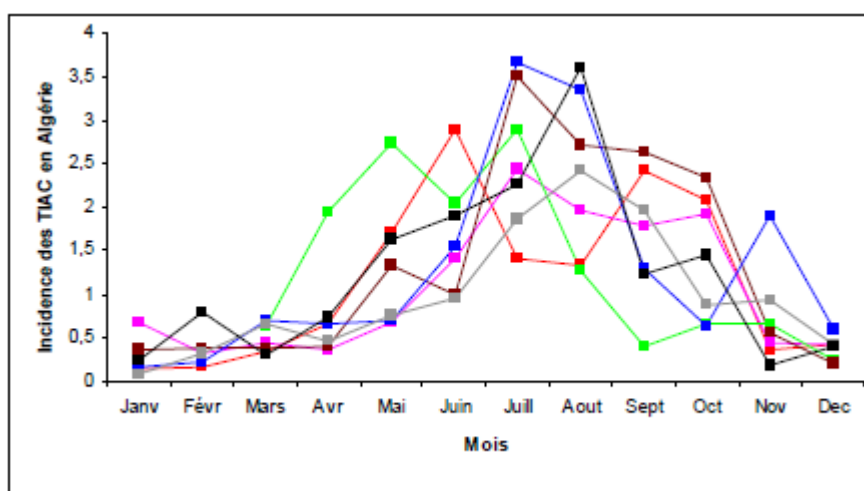


Figure 3: Evolution des TIAC en fonction des saisons (INSP ,2011).

2011, _ 2010, _ 2009, _ 2008, _ 2007, _ 2006, _ 2005

Au Maroc, 1070 cas de TIAC ont été enregistrés en 2011 (**Hammou et al., 2012**). Le nombre de cas réel est certainement en dessus de celui enregistré malgré l'existence d'un système de surveillance des maladies d'origine alimentaire adéquat (**FAO, 2005**). Cela peut être dû aux contraintes techniques liées aux moyens de transport et de communication.

Les agents impliqués dans les TIAC dans les pays du Maghreb sont *Salmonella ssp*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Clostridium Perfringens* (**Aoued et al., 2010 ; Mouffok, 2011**).

En France, 1153 foyers TIAC ont été déclarés en 2011, affectant 9674 personnes, dont 7 sont décédées. Le nombre de foyers déclarés en 2011 a augmenté de 12% par rapport à 2010 (**INVS, 2011**). L'agent responsable le plus fréquemment incriminé ou suspecté était l'entérotoxine staphylococcique (33% des foyers), les salmonelles (17% des foyers), *Bacillus cereus* (17%) et *Clostridium perfringens* (11%) (**INVS, 2011**).

V.4.2. Aliments incriminés dans les TIAC en Algérie

Les aliments incriminés (tableau 4) dans les TIAC en Algérie sont le couscous, les eaux, le lait et les produits laitiers, les œufs, les pâtisseries ainsi que les viandes et les produits carnés (**Mouffok, 2011**).

Tableau 4: Aliments incriminés dans les toxi-infections alimentaires en Algérie en 2010 et 2011 (**Mouffok, 2011**).

Aliments incriminés	2010	2011
Viandes et produits carnés	46	47
Pâtisseries	15	17
Couscous	13	14
Lait et produits laitiers	12	11
Œufs	08	07
Eaux	06	04
Total	100%	100%

Chapitre IV *L. monocytogenes* dans les produits alimentaires

Dans le domaine de l'agroalimentaire, la contamination des produits est souvent très aléatoire. *Listeria* est un germe ubiquitaire, ce qui explique que la contamination d'un produit puisse intervenir à tous les stades soit : de sa fabrication ; son conditionnement ; au stockage ; à la commercialisation et même dans l'assiette du consommateur.

Par leur origine et leur composition, certains aliments sont plus susceptibles que d'autres de contenir des *Listeria* (**Maciel de Souza et al., 2008**).

L'altération microbienne des denrées alimentaires est synonyme d'un développement microbien croissant responsable de mise hors consommation du produit à cause des changements sensoriels (couleur, odeur et texture).

Les denrées alimentaires destinés à être consommés directement sans subir une cuisson ou une autre transformation efficace, pour éliminer ou ramener à un niveau acceptable les microorganismes dangereux, sont les plus incriminés dans les différents cas de listériose (**Rocourt et al., 2003**).

IV.1. Lait et produits laitiers

IV.1.1. Lait cru

Le lait cru est un aliment très fréquemment consommé dans de nombreux pays et en grandes quantités. En tant que produit agricole à l'état brut, il est souvent contaminé par *Listeria*, la fréquence de contamination par *Listeria monocytogenes* varie de 0 à 45% depuis la collecte du lait jusqu'aux consommateurs.

Les fermes utilisant des seaux ont un taux élevé de *Listeria* dans le lait. Ce lait cru contaminé utilisé en fabrication fromagère, particulièrement en pâte molle croûte fleurie ou croûte lavée permet aux *Listeria* de se multiplier au cours de l'affinage (en particulier près de la croûte) et explique les épidémies décrites.

Des accidents ont pu être observés également dans des fabrications utilisant des laits « Thermisés » ou insuffisamment chauffés ou des fabrications utilisant des laits convenablement pasteurisés mais décontaminés en cours de fabrication (saumurage, contamination par le matériel) (**Larpent, 2004**).

Chapitre IV *L. monocytogenes* dans les produits alimentaires

IV.1.2. Fromages

Au cours de la transformation, on estime que 0,5 % à 10 % des fromages sont contaminés par *L. monocytogenes* ; il s'agit essentiellement des fromages à pâte molle, cependant 75 % des fromages contaminés présentent des niveaux faibles de 1 à 100 *L. monocytogenes*/g. Toutefois, certains fromages à pâte molle pasteurisée peuvent en contenir jusqu'à 10⁶ germes/g de produit (**Rocourt, 1988**).

La contamination peut être limitée à la croûte ou être étendue à la pâte. En effet, *Listeria* suit en général l'évolution du pH qui n'est pas homogène dans le fromage (le gradient du pH peut atteindre une ou deux unités entre le cœur et la croûte). Le développement des *Listeria* est donc plus favorable sous croûte, grâce aux flores de surfaces qui alcalinisent la matrice (**Saana, 1994**).

Le comportement des *Listeria monocytogenes* est très variable selon les fromages (**Larpen, 1997**).

IV.1.3. Autres produits laitiers

On peut ajouter que *L. monocytogene* sa été retrouvée dans d'autres produits laitiers comme le lait concentré non sucré, les crèmes glacées, ou certains laits secs (**McLauchlin, 1987**). *Listeria* peut également contaminer les yaourts, à 4°C. La survie de la bactérie dépend du pH initial : pour un pH égal à 3,5 et en présence de bactériocines produites par *Lactobacillus acidophilus*, *L.monocytogenes* n'est plus détectée après deux jours de conservation, si le pH initial atteint la valeur de 3,93 (**Moll et Moll, 2006**).

La multiplication de *Listeria* est possible dans du beurre insuffisamment égoutté, même conservé au froid (**Amgar, 1991**).

IV.2. Viande et produits carnés

Une augmentation constante de contaminations par *Listeria* chez les animaux de boucherie ainsi que chez les volailles a été constatée. Les risques de contamination sont augmentés avec les ensilages peu acidifiés (**Davies et Board., 1998**).

Ces porteurs de germes peuvent facilement contaminer les carcasses et l'environnement au cours des opérations d'abattage et de transformation des viandes, ce qui explique que des

Chapitre IV *L. monocytogenes* dans les produits alimentaires

Il a été démontré, que lors de la découpe primaire des carcasses appartenant à différentes espèces zootechniques, les couteaux, les tapis, les tables, et autres machines sont fréquemment à l'origine de la contamination par *Listeria monocytogenes*. L'examen bactériologique de la contamination des surfaces démontre clairement l'origine environnementale de ces *Listeria monocytogenes* (Maciel de Souza et al., 2008).

Listeria monocytogenes a été isolée dans les usines en cours de production et après les opérations de nettoyage et de désinfection. Ceci tendrait donc à prouver la persistance de ces souches sur les surfaces entartrées ou recouvertes d'un biofilm, tout en sachant qu'un apport continu de *Listeria monocytogenes* est réalisé par la matière première (viande crue) et entretenu ensuite sur les produits cuits par l'intermédiaire de croisements de circuits. Des populations adaptées de *Listeria* ont été remarquées sur les viandes et les saucisses (Dykes, 2003).

Les produits carnés sont une cause importante d'épidémie et les cas rapportés sont en augmentation et non en diminution comme pourrait le faire croire les efforts d'hygiène des industriels. Les produits de charcuterie sont préparés avec un mélange de viande et de graisse de porcs qui peuvent être crues (saucissons, chair à saucisse). Ces types de produits ont souvent été incriminés dans les épidémies de listériose et les *Listeria* sont présentes en proportion importante (Larpen, 2004).

Larpen a répertorié la présence de *Listeria monocytogenes* dans les produits carnés .dans le tableau 2.

Tableau 2 : *Listeria monocytogenes* dans les produits carnés fermentés (Larpen, 1995).

Pays	<i>Listeria monocytogenes</i>	Produits
USA	20%	Saucisses fermentés
G.B	16%	Saucisses et salamis
	52%	Saucisses
	8%	Salamis et saucissons
Italie	3%	cuits Salamis
	57%	Jambons

➤ Cas particuliers des volailles

L'animal vivant est la principale source de contamination. Peu de données littéraires sont accordées aux *Listeria* dans les volailles. Cependant, les risques ne sont pas nuls puisque 36% des échantillons de poulets prélevés contenaient des *Listeria* (Cantoni et Valenti, 1990), et que

Chapitre IV *L. monocytogenes* dans les produits alimentaires

Listeria monocytogenes a été détectée sur 23% des carcasses de poulet rôtis (**Bailey et al., 1989**) par ailleurs, **Larpent (1992)** affirme que l'air des poulaillers peut entre autres contenir des *Listeria*.

IV.3. Poissons et produits de la pêche

Certains poissons et coquillages pourraient être contaminés par *L. monocytogenes* (**Parihar et al, 2008**). La fréquence de contamination des poissons est considérable pour le poisson frais. Ce niveau de contamination varie en fonction de l'origine, de la saison, de la technique de pêche, de la manipulation des poissons et du mode de conservation (réfrigération, congélation) (**Jemmi et al., 2002**).

Listeria monocytogenes constitue le risque microbiologique majeur dans le saumon fumé. En effet, la fréquence de contamination du saumon fumé par cette bactérie varie entre 10 et 75 % des lots selon les études de (**Ben Embarek, 1994 ; Cortesi et al, 1997 ; Heinitz et Johnson, 1998**) avec un taux généralement inférieur à 10 UFC/ g dans les produits en sortie usine. Cette bactérie pousse d'avantage dans la chair du le homard et dans la chair de crabe (**Farber et Peterkin, 1991**).

IV.4. Œufs et ovoproduits

Certains analyses microbiologiques montrent que *L. monocytogenes* peut survivre dans les conditions de stockage des ovoproduits (produits déshydratés à 5°C et 20°C durant 6 mois ; œufs liquides à 0°C et -18°C pendant 2 à 24 semaines). *L.monocytogenes* capable de se développer à 4°C dans l'albumine, le jaune d'œufs et l'œuf entier contenant du saccharose à 25%. (**Brackett et Beuchat, 1991**).

IV.5. Produits d'origines végétales

La préparation, puis la transformation des matières premières en légumes prêts à l'emploi, sont des facteurs favorisant la contamination initiale ou croisée. La température est un facteur important de fixation de la bactérie sur les tissus végétaux (**Gorski et al., 2003**).

Une mauvaise manipulation et transformation des matières primaires en légumes prêts à l'emploi, sont des facteurs favorisant la contamination initiale ou croisée.

Chapitre IV L. monocytogenes dans les produits alimentaires

L.monocytogenes a une aptitude de se croître à des températures de conservations de plusieurs légumes (asperge, brocoli, et chou-fleur à 4°C, laitue à 5°C, endive et chicorée à 6,5°C). La conservation sous atmosphère modifiée n'a pas d'effet sur la croissance (**Allende et al., 2002**).

IV.6. Influence des modes de conditionnement sur la croissance de *Listeria monocytogenes*

D'après **Dakosta (1995)** (Tableau3) ni l'emballage sous vide ni l'emballage sous atmosphère modifiée ne garantissent systématiquement une protection suffisante contre la croissance de *Listeria monocytogenes* au cours d'un stockage prolongé, le risque étant bien entendu d'autant plus grand que la température est plus élevée.

Chapitre IV *L. monocytogenes* dans les produits alimentaires

Tableau 3: Récapitulation des résultats relatifs à *Listéria monocytogenes* (DACOSTA, 1995).

	Produit	Temp é	Croissance de <i>Listeria monocytogenes</i>		
			Sous air	Sous vide	Sous atm modifiée
Berrang et al, 1989	Légumes	4°C	(+) ou (o)		(+) ou (o)
		15°C	(++)		(++)
Gill et Reichel, 1989	Vian.de bœuf pH sup à6.0	10°C		(++)	
		5°C		(++)	(++)
		2°C		(+)	
		0°C		(o)	
Grau et Vanderlinde, 1990	Vian.de bœuf. pH5.5 à 5.7	0°C		(o)	
		5.3°C		(+)	
	Vian.de bœuf. pH6.0 à 6.1	0°C		(o)	
Hudson et al, 1994	Vian.de bœuf	-1.5°C		(+)	(-)
		3°C		(++)	(+)
Avery et al ,1994	Vian.de bœuf	5°C		(++)	(-)
		10°C		(+++)	(-)
Ingham et al, 1990	Vian.de volaille	3°C	(+++)		(+)
		7°C	(+++)		(++)
		11°C	(+++)		(++)
Wimpfheimer et al, 1990	Vian.de volaille	4°C			(-) sous atm.Anaer obie
		4°C	(++)		(o) sous atm.Aerob ie
Mershall et al, 1991	Vian.de volaille	3°C	(+)		(+) ou (o)
		7°C	(++)		(+)
		11°C	(+++)		(+++)
Farber et Daley,1994	Vian.de volaille	4°C	(+)		(+) ou (o)
		10°C	(+++)		(+) ou (o)
Van Laack et al, 1993	Vian.de porc	1°C	(+)	(+)	

IV.7. Classification des aliments selon le danger représenté par *Listeria monocytogenes*

Trois catégories d'aliments ont été définies selon le danger représenté par *Listeria monocytogenes* (Kaismoune, 2009).

IV.7.1. Aliments à risque maîtrisé

Ces aliments sont exempts de *Listeria monocytogenes* au stade d'achat, puis qu'ils sont soumis à des mesures de maîtrise microbiologique appropriées ou ayant subi un traitement listéricides, dont l'efficacité a été démontrée pour des niveaux de contamination habituellement détectée avant traitement en fonction de la maîtrise microbiologique des étapes antérieures de la vie du produit (traitement thermique de 65° C à cœur pendant 2 min ou traitement équivalent si la température à cœur est supérieure à 65° C, ionisation à 5 kGy). Ces aliments sont exempts de *Listeria monocytogenes* au stade de la consommation, parce qu'ils sont consommés selon des recommandations appropriées portées à la connaissance du consommateur, par exemple par un système d'étiquetage (conditions de cuisson, délai de consommation après ouverture), ou en l'absence de telles recommandations, parce que le mode de consommation habituel comporte une étape listéricides (Kaismoune, 2009).

7.2. Aliments sûrs

Les aliments sûrs sont des aliments qui ont une saveur légèrement aigre ou acide (acidifié), les caractéristiques de ces aliments ne permettent pas la croissance de *Listeria monocytogenes*. Ainsi, ces aliments sont considérés comme ne présentant pas de risque en général pour le consommateur, à condition que le niveau de contamination initiale soit conforme au seuil réglementaire ; plus particulièrement, pour certaines populations à risque pour lesquelles un seuil pourrait être défini sur la base d'une appréciation des risques, à condition que le niveau de contamination initiale soit inférieur à ce seuil (Kaismoune, 2009).

7.3. Aliments sensibles

Les caractéristiques de ces aliments permettent la croissance de *Listeria monocytogenes*. S'ils sont contaminés par *Listeria monocytogenes*, ces aliments peuvent présenter un niveau de

Chapitre IV *L. monocytogenes* dans les produits alimentaires

contamination par ce micro-organisme supérieur au seuil défini comme représentant un risque pour le consommateur, sur la base d'une appréciation des risques **(Kaismoune, 2009)**.

IV.8. Biofilms de *Listeria monocytogenes*

La capacité de *Listeria monocytogenes* à former des biofilms est l'une des caractéristiques très importantes de ce microbe ayant un impact important dans l'industrie alimentaire. En effet, ceux-ci peuvent se former sur une grande variété de surfaces dans les usines de production alimentaire telles que les surfaces d'acier inoxydable ou de plastique qui entre dans la composition des équipements et les convoyeurs **(Stepanović et al., 2004)**.

La structure des biofilms joue un rôle clé dans leur résistance et leur persistance, temporelle d'une structure de biofilms formé par des souches *Listeria monocytogenes* sur deux types de supports en acier inoxydable, AISI 304 2B et AISI316 2R. La méthode de dénombrement, la motilité, la microscopie par fluorescence et l'analyse d'images ont été combinées pour étudier l'évolution dynamique de la formation et de la structure du biofilms. Les résultats confirment la variabilité inter souches des espèces de *Listeria monocytogenes* relatives à la structure et à l'évolution de structure du biofilm. Deux types de biofilms ont été observés : homogène ou plat et hétérogène ou groupé. Des différences dans les groupes et dans le processus d'attachement et de détachement sont principalement dues la topographie et à la composition des deux surfaces bien un effet dû à la mobilité a également été constaté **(Mosquera et al., 2014)**.

La contamination après traitement dans les usines de transformation alimentaire a toujours été une source importante de *Listeria monocytogenes* dans les produits de charcuterie prêts à être consommés, et donc une cause majeure de cas de listériose humaine et d'éclosions. Les évaluations récentes des risques suggèrent que la majorité des cas de listériose chez l'homme sont liés à la consommation de produits de charcuterie ou des PAM (plats prêts à manger) contaminés qui peut être due à la contamination par *Listeria monocytogenes* qui se produit au niveau de la distribution **(Simmons, 2014)**.

Chapitre IV *L. monocytogenes* dans les produits alimentaires

IV.9. Aspect réglementaire pour la recherche et l'identification des *L.monocytogenes* dans les aliments

Listeria monocytogenes est recherchée dans le cadre d'analyses réglementaires et de l'autocontrôle. Elle peut être à l'origine d'une intoxication alimentaire grave. Plusieurs pays ont choisi un système de « tolérance nulle » pour la présence de *Listeria monocytogenes* dans les denrées alimentaires se fondant sur la gravité de la listériose et sur le fait que l'on ne connaît pas la dose minimale infectieuse. Cette approche signifie que le microorganisme doit être absent dans les aliments prêts à être consommés.

➤ **Aux USA**

La FDA (Food and Drugs Administration) et le département Américain de l'agriculture ont adopté un critère zéro de tolérance de la bactérie dans les aliments vendus prêts à la consommation (**Lebres, 2006**).

➤ **En France**

Le conseil supérieur de l'Hygiène publique de France et l'AFSSA (Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments) ont d'abord exigés l'absence de *Listeria monocytogenes* dans 25 ml ou g dans le lait crû et fromages à base de lait cru. Plus tard, ils ont décidés pour une tolérance en fin de DLC (Date Limite de Consommation), à condition que le seuil a la DLC soit inférieur à 100 ufc/g du produit (**JORF, 2006**).

➤ **En Algérie**

Compte tenu de la situation épidémiologique mondiale, il a été proposé et retenu par l'arrêter du 24 janvier 1998, l'absence de *Listeria monocytogenes* dans 25ml de lait cru. Cette norme a même été étendue à un grand nombre de produits alimentaires prêts à être consommés (produits laitiers frais, produits carnés) ainsi qu'aux produits de la pêche fumés (**JORA, 1998**).

L'intérêt de la recherche de *L.monocytogenes* est confirmé par l'importance que lui accorde le journal officiel de la république algérienne démocratique et populaire (JORA) N°3, arrêté du 21 Châabane 1426 correspondant au 25 septembre 2005 rend obligatoire la méthode de recherche de *Listeria monocytogenes* dans le lait et les produits laitiers.

Partie pratique

1. Objectif : L'objectif principal de l'enquête a consisté en la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* dans les produits alimentaires.

2. Matériel et méthode

L'enquête a été effectuée au niveau de l'institut Pasteur service bactériologie alimentaire d'Alger (Delly Brahim) entre Février et Avril 2016.

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel non biologique

(Voir annexe A)

2.1.2. Matériel biologique

Les prélèvements d'échantillons alimentaires ont été réceptionnés par le laboratoire pour contrôle de routine ou dans le cadre d'une enquête bactériologique. Ces échantillons provenaient de restaurants collectifs (entreprises, résidence universitaire) et d'établissements hôteliers de la région d'Alger.

Ces prélèvements représentaient différents groupes alimentaires: Lait et produits laitiers, viande et produits carnés, plats cuisinés prêts à manger, produits de la pêche ainsi que des écouvillonnages de surface sur des plateaux de restaurants collectifs.

2.2. Méthode

Les tests effectués pour l'isolement de *Listeria* ainsi que son dénombrement ont été réalisés selon la norme ISO11290-1 et ISO11290-2.

2.2.1. Recherche de *Listeria monocytogenes* (analyse qualitative)

En général, la recherche de *Listeria monocytogenes*, nécessite au moins quatre étapes successives (Figure 4).

- Prise d'essai

Pour la préparation de la suspension mère ; on utilise comme diluant le milieu d'enrichissement primaire sélectif (Fraser-demi).

Partie pratique

On prend 25 g de l'aliment à analyser, on le met dans un sac stérile, on ajoute le bouillon Fraser-demi et on réalise un broyage à l'aide d'un STOMACHER pendant 1 min (ou moins si l'aliment est de nature liquide).

Enrichissement primaire (25 gr ou 25 ml dans 225 ml de milieu Fraser au 1/2) Incubation à 30° C pendant 18 à 24 h



Enrichissement secondaire 0,1ml sur Fraser en tubes de 10 ml,



Isolement en stries sur gélose **Chromogénique** ou **Palcam** Incubation à 37° C pendant 24 à 48 h



Sélection de trois à cinq colonies caractéristiques et isolement en stries sur une autre plaque de gélose **Chromogénique** ou **Palcam** Incubation ±37° C pendant 24/48 h



Purification sur gélose TSYEA



Incubation ± 37° C pendant 24 h (ou plus, si nécessaire)



Identification biochimique

Figure 4: Organigramme de la méthode ISO 11290-1.

➤ Jour 1: Enrichissement primaire

L'enrichissement primaire est réalisé sur bouillon FRASER-demi réparti en flacons stériles à raison de 225 ml auxquels nous ajoutons 2 ml de supplément (SRO156E = antifongique) et 25 g (ou 25 ml) de l'échantillon à analyser. Le tout est bien homogénéisé puis incubé à 30°C pendant 24 heures (figure 5).



Figure 5: Enrichissement primaire dans Fraser demi.

NB : au cours de l'incubation une coloration noire peut se développer, cela indique la présomption de présence de *Listeria* (Certaines souches de microorganismes hydrolysant l'esculine (entérocoques) peuvent entraîner le noircissement du milieu).

➤ Jour 2 : Enrichissement secondaire et premier isolement

Après 24 à 48 h d'incubation de la suspension mère, 0.1 ml de la culture obtenue (sans ou avec noircissement) est ajoutée dans un tube à essai qui contient 10 ml du bouillon Fraser -demi et incubé à 37°C pendant 24 h (figure 6).



Figure 6: Enrichissement secondaire sur bouillon Fraser complet (tube de 10 ml).

D'autre part, à partir de l'enrichissement primaire, on ensemence par stries sur gélose Palcam ou Chromogénique et on incube à 37°C pendant 24 h (l'isolement est pratiqué quelque soit la coloration du milieu) (figure 7).



Figure 7: Isolement en strie sur gélose Chromogénique.

➤ Jour 3 : Lecture et isolement

Après incubation de l'enrichissement secondaire, on effectue un isolement comme cela a été effectué pour l'enrichissement primaire, on incube à 37°C pendant 24h.

Après incubation pendant 24h et plus (si le développement est faible ou si aucune colonie n'est observée après 24h d'incubation), nous examinons les boîtes afin de rechercher la présence de colonies présumées être *Listeria sp.*

- Sur gélose Palcam : colonies sous forme de colonies vertes avec des reflets grisâtres, ou vert olive d'environ 1 mm de diamètre avec parfois un centre noir mais toujours entourées d'un halo noir. Après 48 h, les *Listeria spp* se présentent sous forme de colonies vertes de 1.5 à 2 mm de diamètre avec une dépression centrale et entourées d'un halo noir (figure 8).

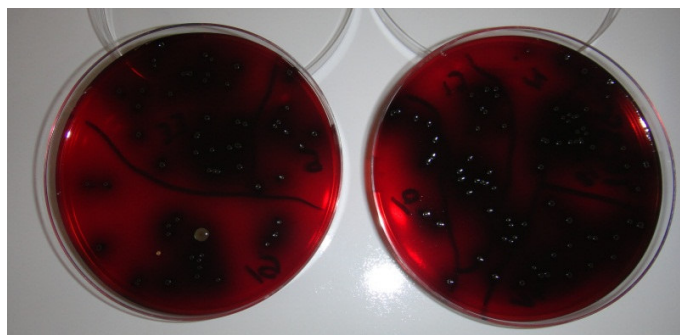


Figure 8: Aspect de *Listeria monocytogenes* sur gélose Palcam.

- Sur gélose OCLA (Chromogénique): Les colonies caractéristiques de *Listeria monocytogenes* apparaissent bleues à bleu vert et sont entourées d'un halo opaque. Les autres espèces de *Listeria* forment des colonies bleues à bleu vert, sans halo. Il est à

Partie pratique

noter que des souches de *Listeria ivanovii* peuvent présenter des colonies caractéristiques, de tailles néanmoins plus réduites (Figure 9).

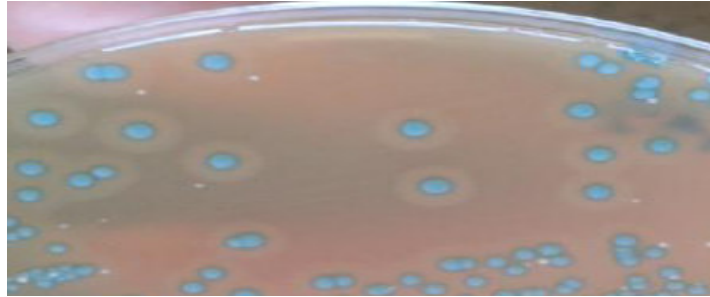


Figure 9: Aspect de *Listeria monocytogenes* sur gélose OCLA.

➤ Jour 4 : Identification biochimique

Les colonies caractéristiques ayant poussé sur les géloses vont faire l'objet de tests biochimiques basés sur :

2.2.1.1. Identification du genre *Listeria*

a. Coloration de Gram

Les *Listeria spp* apparaissent sous forme de petits et minces bacilles Gram positif (Figure 10).

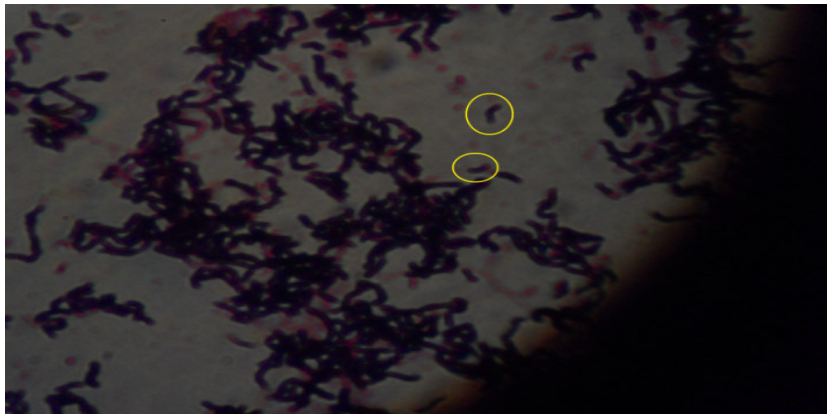


Figure 10 : Aspect de *Listeria sp.* Lors de la coloration de Gram.

b. Réaction de la catalase (positif)

On préleve une colonie isolée et on la met en suspension sur une lame dans une goutte de peroxyde d'hydrogène, la formation de bulles indique une réaction positive.

Partie pratique

2.2.1.2. Identification des espèces du genre *Listeria*

a. Examen de la mobilité

On prend une colonie et la met dans le bouillon cœur-cerveau pour l'enrichissement puis on incube à 37°C pendant 24h. Après 24h, on réensemence par une piqûre centrale dans quatre tubes de Mannitol mobilité, à 25°C (T° ambiante), 30°C, 37°C, 44°C (bain marie) respectivement, pendant 24h (Figure 11).

A 25°C, *Listeria* donne une image typique de sapin renversé (ou en parapluie), témoignant de son caractère micro-aérophile (*Listeria* est toujours mobile lorsqu'elle est cultivée à 20-25°C alors qu'elle est peu ou pas à 37°C et aux autres températures) (Figure 12).



Figure 11: Test de mobilité.



Figure 12: Aspect de *Listeria* sur gélose mobilité (25°C).

On examine le développement autour de la piqûre. Si la culture n'est pas suffisante, on incube jusqu'à cinq jours supplémentaires et on observe à nouveau.

NB : Il est aussi possible d'observer la mobilité à l'état frais entre lame et lamelle (petits bacilles mobiles par une ciliature péritriche).

b. Recherche de l'hémolyse

Un ensemencement a été effectué sur la gélose au sang de cheval à 7% en stries. Après une incubation de 24 à 48 heures à 37°C.

L. monocytogenes produit une zone d'hémolyse légère étroite de β -hémolyse autour de la colonie, *L. ivanovii* produit une zone franche d'hémolyse très prononcée ou multiple, alors que les autres espèces de *Listeria* ne produisent pas de zone d'hémolyse.



Figure 13: Test d'hémolyse positive sur gélose au sang.

C. Essai de CAMP (Christie, Atkins, Munch, Petersen)

Ce test a été proposé pour une meilleure distinction entre souche hémolytique et non hémolytique. Il est effectué à l'aide de deux souches de référence : une souche de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et une souche de *Rhodococcus equi* CIP 54/72.

On ensemence par strie simple chacune des deux souches de référence sur gélose au sang les deux stries doivent être parallèles et diamétralement opposés. Il est nécessaire que l'inoculum soit étroit cela en tenant la pipette perpendiculaire à la gélose.

Perpendiculairement à ces souches, ensemencer la souche à tester de manière à ce qu'elle ne se touche pas avec les deux souches de référence mais ne soit séparées que d'environ 1 à 2 mm, plusieurs souches isolées peuvent être testées sur la même boîte.

Ensemencer en même temps des cultures témoins de *L. monocytogenes* et *L. ivanovii*.

Incuber à 37°C pendant 36 à 48h.

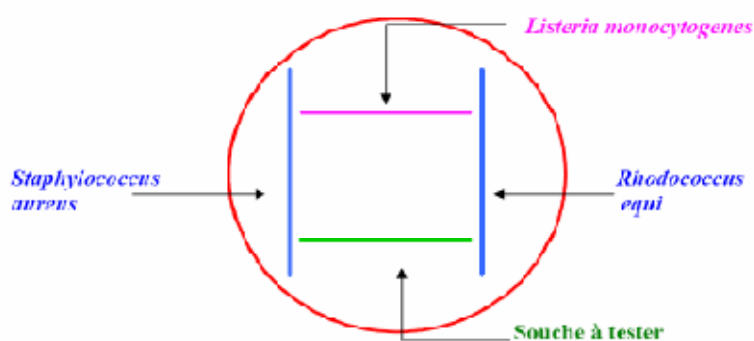


Figure 14 :CAMP test avant incubation.

Partie pratique

Pour l'identification de *L. monocytogenes*, on observe l'accentuation de l'hémolyse autour de la zone adjacente perpendiculairement à la strie de *Staphylococcus aureus*, sous forme d'une pelle ou d'une brèche.

L'identification de *Listeria ivanovii* peut également être confirmée par la mise en évidence de l'hémolyse accentuée autour de la zone adjacente perpendiculairement à la strie de *Rhodococcus equi*.

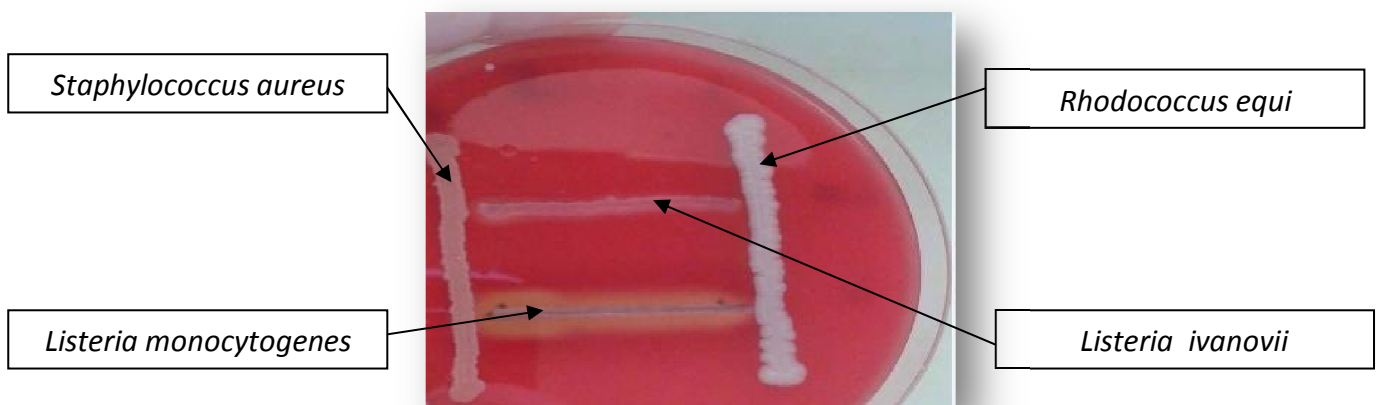


Figure 15 : CAMP test après incubation.

D. Galerie biochimique (Api *Listeria*): Système rapide d'identification des *Listeria* utilisant des tests standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données spécifiques.

La galerie Api *Listeria* est constituée de 10 micro-tubes ou cupules contenant les substrats déshydratés qui permettent la réalisation de tests enzymatiques ou des fermentations de sucres disposés comme c'est représenté dans la figure 16 et 17.



Figure 16: Aspect d'une galerie API de *Listeria monocytogenes*.

Partie pratique

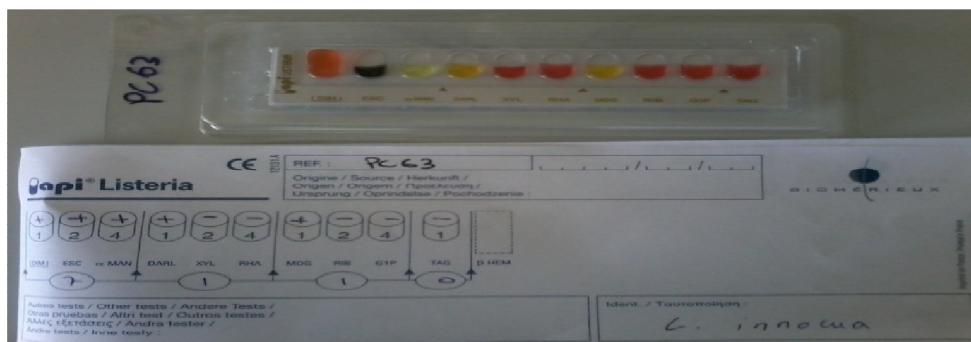


Figure 17: Aspect d'une galerie API de *L. innocua*.

Après l'inoculation, l'incubation se fait à 37°C pendant 18 à 24 h en aérobiose, Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés. La lecture est réalisée visuellement et par addition d'une goutte de réactif ZYM B au test DIM. Ce test est essentiel pour la différenciation entre *L. monocytogenes* pour laquelle il est négatif et *L. innocua* pour laquelle il est au contraire positif. La lecture des réactions est effectuée sur la base du tableau de lecture fournit par le Fabricant. L'identification est obtenue grâce à un profil numérique (Annexe C).

2.2.1.3. Conservation des souches de *Listeria monocytogenes* et *Listeria sp*

a. Sur gélose nutritive inclinée

On procède à un repiquage sur la gélose nutritive à partir de colonies purifiée sur la gélose TSA (Figure 18). Il est recommande de faire un repiquage trimestriel car il y'a risque de dessèchement de la gélose et donc éviter la perte de la souche.

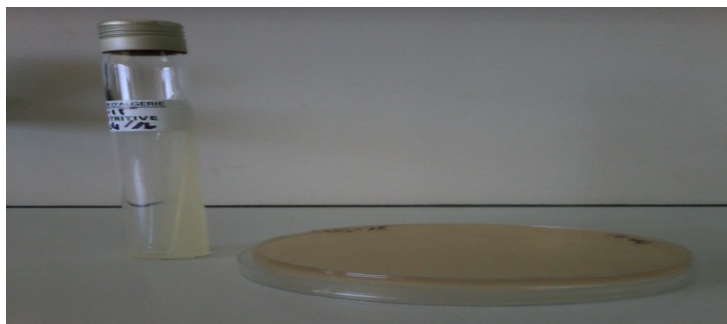


Figure 18: Conservation par repiquage sur gélose nutritive inclinée.

b. Par congélation

On met en suspension de colonies prises sur gélose TSA dans des cryotubes contenant 1ml de bouillon BHIB et 2 gouttes de glycérol, puis on conserve à -80°C (Figure 19).

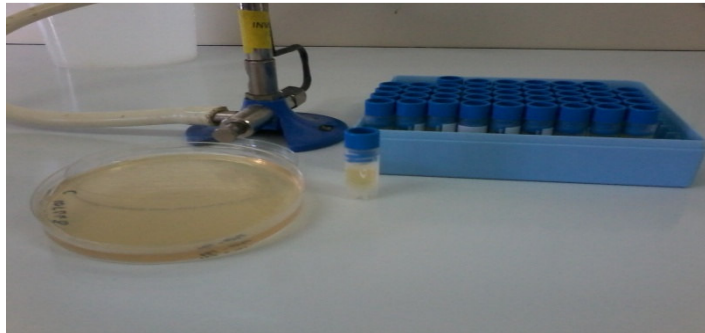


Figure 19: Conservation par le froid (cryotubes à -80°C)

2.2.2. Dénombrement de *Listeria monocytogenes* (analyse quantitative)

Le dénombrement de *Listeria monocytogenes* à partir des denrées alimentaires est effectué selon la méthode ISO 11290-2.

a. Principe

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

- Préparation de la suspension mère dans un diluant.
- Revivification pendant une heure à 20°C .
- Ensemencement en surface (par étalement) du milieu sélectif solide dans deux boîtes de pétri, à raison de 0.1ml chacune.
- Incubation des boîtes précédentes à 35 ou 37°C et examen après 24 à 48 heures.
- Confirmation des colonies présumées de *Listeria monocytogenes*.
- Calcul du nombre de *Listeria monocytogenes* à partir du nombre de colonies confirmées par gramme ou par millilitre.

b. Mode opératoire

➤ Prise d'essai, suspension mère et dilutions

Se réalise soit avec de l'eau peptonée tamponnée, soit avec le milieu de base Fraser-demi sans addition d'agents sélectifs. Cette opération permet d'éviter la préparation de deux suspensions mères.

Les agents sélectifs ne sont ajoutés à la suspension mère pour la recherche de *Listeria* (ISO11290-1) qu'après la prise d'essai pour le dénombrement.

Partie pratique

Laisser reposer la suspension mère pendant une heure à 20°C en utilisant, si nécessaire, une étuve afin de revivifier les microorganismes stressés.

Si une gamme de dilutions est utilisée, la préparer après revivification.

➤ **Inoculation et incubation** : A l'aide d'une pipette stérile, nous transférons 0.1ml de la suspension mère à la surface de chacune des boites contenant de la gélose PALCAM ou Chromogénique. Nous répéterons l'opération avec les dilutions suivantes à l'aide de nouvelles pipettes. Nous étalons soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface de la gélose en essayant de ne pas toucher les bords de la boite avec l'étaleur (stérile pour chaque boite).

Nous laissons les boites fermées pendant environ 15mn à température ambiante pour permettre à l'inoculum d'être absorbé dans la gélose, Nous retournons les boites et nous les incubons à 35 ou 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 (18 à 24h supplémentaires, si le développement est faible ou aucune colonie n'est observée après 24h d'incubation), on examine les boites afin de rechercher la présence de colonies présumées être *Listeria spp.*

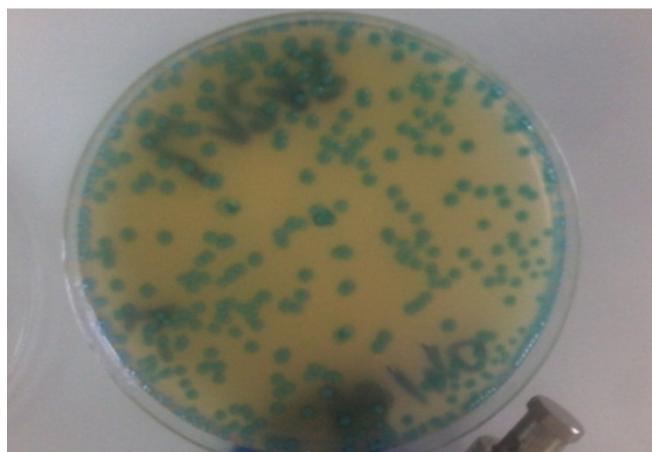


Figure 20: Dénombrement de *Listeria*.

Partie pratique

➤ Confirmation du genre *Listeria sp*

Même procédure telle que décrite dans la page 37

c. Expression des résultats

on a 2 cas :

- Si le nombre de colonies est supérieur ou égal à 10, on applique la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{V \cdot 1,1 \cdot d}$$

Où :

$\sum c$ nombre de colonies sur les deux boites retenues de deux dilutions successives et dont au moins une contient au moins 10 colonies

V volume de l'inoculum appliqué à chaque boite, en millilitres ;

d dilutions correspondant à la première dilution retenue (d=1 si le produit liquide ensemencé directement (échantillon pour essai) est retenu)

- Si le nombre de colonies est inférieur à 10 ou aucune colonie, on applique la formule suivante

$$N=1/d$$

d est le taux de dilution de la suspension mère ou de la première dilution ensemencé ou retenue (d=10⁰ =1 lorsque l'échantillon pour essai de produit liquide directement ensemencé est retenu).

Nous reportons les résultats comme suit :

« Moins de 1/d micro-organismes par millilitres » (produits liquides), ou suspension mère (autres produits).

Résultats et discussion

Introduction

Partie Bibliographique

Chapitre I :
Généralités

Chapitre II :
Epidémiologie

Chapitre IV :

***Listeria monocytogenes dans les produits
alimentaires***

Chapitre V :
Intoxications alimentaires

Partie pratique

Annexes

Références bibliographiques

Chapitre III :
Clinique

References

-A-

- ADAMS CE. , ARCHER D, BILLE J, BILLO N, BIND J.L, BREER C. et al.** 1988. Foodborne listeriosis. Bulletin of the World Health Organisation, pp 66, 421-428.
- Akpolat N., Elci S., Atmaca S. and Gül K.,**2004. *L. monocytogenes* in Products of Animal Origin in Turkey. *Vet. Res. Commun* **28**:561-567.
- Afssa, 2000.** agence française de sécurité sanitaire des aliments. Rapport de la commission d'étude des risques liée à *Listeria monocytogenes*. Section A; physiologie de *L. monocytogenes*. pp. 11, 37, 38, 40.
- Afssa, 2006.**agence française de sécurité sanitaire des aliments fiche élaborée par M.CATTEAU en Juin 2006. Coordination scientifique : R.Lailler
- Allende A., Laxens L., Devlieghere F., Debevere J., Artes F.,** 2002. Effect of super atmospheric oxygen packaging on sensorial quality spoilage, and *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas caviae* salads. *J. Food. Prot.* 65. pp. 1565-1573.
- Amgar A.,**1991. Compte-rendu de la conférence internationale *Listeria* et sécurité alimentaire *Ed. laval. ASEPT* 54:220.
- Anonyme,2008.** Food poisoning | French | Translated 04/08 © Queen's Printer and Controller of HMSO 2008. Intoxication alimentaire [www.nhs.uk/translationfrench/Documents/Food Poisoning French FINAL.pdf](http://www.nhs.uk/translationfrench/Documents/Food_Poisoning_French_FINAL.pdf) Consulté le 10/06/2016
- Anonyme, 2010.** Les toxi-infections alimentaires collectives : aspects cliniques et épidémiologiques, - © Université Médicale Virtuelle Francophone, Collège des Enseignants de Nutrition Date de création du document 2010-2011). http://campus.cerimes.fr/nutrition/enseignement/nutrition_13/site/html/cours.pdf
- Anonyme, 2012.** Intoxications alimentaire causes et traitement (<http://www.santemagazine.fr/maladie-intoxication-alimentaire-causes-symptomes-traitement-164.html>) Publié le 07.02.2012 consulté le 9 juin 2016.

Anonyme , 2011a <https://www.anses.fr/fr/documents/MIC2011sa0171Fi> pdf consulté 17/06/ 2016

Anonyme 2011 b

<http://www.gds38.asso.fr/web/gds.nsf/8cb279f7ace047aac1256c0f004cf0d5/b8f30bc24984ce58c125728f006c12ad!Open Document>. consulté 17/06/2016

Anonyme, 2013.Groupe eurofins, détection problématique de Listeria 2013,
www.eurofiens.fr/documents consulté le 16-06-2016

Aoued L., Benlarabi S. and Soulaymani-Bencheikh R.,2010. Maladies d'origine alimentaire Définitions, Terminologie, Classifications. *Toxicol. Maroc.* 6, 1-16.

Augustin, J-C.,1999. Modélisation de la dynamique de croissance et populations de monocytogenes dans les aliments. Thèse doctorat, Université Lyon 1.

Avril J. L., Dabernat H. and Denis F., 2000.Bactériologie clinique. 3^{eme} Ed. *Ellipse* 145:608.

-B-

Bakker H. C., Warchocki S., Wright E. M., Allred A. F., Ahlstrom C. and al., 2014. *L. floridensis* sp. nov., *L. aquatica* sp. nov., *L. cornellensis* sp. nov., *L. riparia* sp. nov. and *L. grandensis* sp. nov., from agricultural and natural environments. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiol.* **64**:1882-1889.

Belomaria M., Ahami A.O.T., Aboussaleh Y., Elbouhali B., Cherrah Y. and Soulaymani A., 2007. Origine environnementale des intoxications alimentaires collectives au Maroc: Cas de la région du Gharb Chrarda Bni Hssen. *Antropo.* 14, 83-88.

Ben Embarek ,1994. Detection and growth of *Listeria monocytogenes* in sea foods.

Bennet L., 2010 *Listeria monocytogenes*, in: Principles and practice of infectious diseases, 7th edition, Mandell G, Bennett J, Dolin R Editors. :2707-14. *int. Journal Food Microbiol* 23 : 17-34.

Benkadour K.,2002. Les toxi-infections alimentaires collectives (Situation épidémiologique des TIAC au Maroc, 1992-2001). *in* Rapport du séminaire national sur Le système HACCP dans le domaine de l'hygiène alimentaire. Rabat – du 8 au 10 mai 2002.

Benetti et al.,2012. Thalyta Marina Benetti ; Cristina LeiseBastos Monteiro; Márcia Regina Beux; Wanda Moscalewski Abrahão 2012 (Comparison of selective agars recommended by

method ISO 11290-1 and chromogenic agars for the isolation of *Listeria* sp. in refrigerated sausages) Department of Basic Pathology, Federal University of Paraná, Department of Pharmacy, Federal University of Paraná, Section of Food Microbiology, Paraná State Central Laboratory.

Bienfet V., Lomba F. et Binot H. Une affection en recrudescence ou trop souvent méconnue ? L'encéphalite à *Listeria monocytogenes*. Annales de médecine vétérinaire. Fascicule VI, Tome 113, 1969, pp 345-357.

Bind J.L., DELAVAL J., 1994 Les listérioses. Bull. Soc. Vét. Prat. de France, , 78, 387-407.

Bosseray, A., Bouchard, O., Mallaret, M.R. Mallaret, Leclercq, P., Lemoine, J.P. and Micoud, M.,1995. Is listeriosis a problem for physicians? Results of prospective survey. Med. Mal. Infect. 25: 257-265.

Brackett R.E. et Beuchat L.R.,1991. Survival of *L. monocytogenes* in whole egg yolk powders and in liquid whole eggs. *Food Microbiol.* 8 :331-337.

Buisson Y. et Teyssou R.,2002. Les toxi-infections alimentaires collectives. Revue française des laboratoires. 348, 61-66.

- C-

Canton P., May T., Hoen B.,1995. Human listeriosis : diagnostic issues. Med. Mal. Infect. 25: 244-250.

Cantoni, C., Valenti, M., et d'Aubert, S.,1990. *Listeria spp.* In alcuni alimenti e problematiche relative alla sua presenza. *Ingegneria Alimentare.* 6 :22-23.

CDC, 2000. Intoxications alimentaires associées à l'ingestion de crosses de fougère –Québec 1999. Relevé des maladies transmissibles au Canada. 26-20, 165-176.

CDC, 2010 Human Listeriosis caused by *Listeria ivanovii*.journal vol16.

Cheroutre-Vialette M., Lebert I., Hebraud M., Labadie J.C. et Lebert A.,1998. Effects of pH and aw stress on growth of *L. monocytogenes*.Int. J. Food. Microbiol.42: 71-7.

Christison C.A., Lindsay D. and Von Holy A., 2008. Microbiological survey of ready-to-eat foods and associated preparation surfaces in ret D. ail delicatessens, Johannesburg, South Africa. *Food Control.* 19:727-733.

CNRL, 2014. Bilan annuel d'activités. Institut Pasteur de Paris.

Collins M.D, Wallbanks S, Lane D.J, Shah J, Nietupski R, Smida J et al., 1991 Phylogenetic analysis of the genus *Listeria* based on reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41, 240-246.

Cortesi M.L., Sarli T., Santoro A., Murru N., Pepe T., 1997. Distribution and behavior of *Listeria monocytogenes* in three lots of naturally contaminated vacuum-packed smoked salmon stored at 2 and 10 °C, *Int. J. Food Microbiol.* 37-209-214.

Cossart P., Pizarro-Cerdá J. and Lecuit M.,2003. Invasion of mammalian cells by *L. monocytogenes*: functional mimicry to subvert cellular functions **13**:23-31.

Cottureau, P. et Laval, A., 1972. Les aspects cliniques de la listériose chez les animaux domestiques et de laboratoire. *Bulletin de la Société des Sciences Vétérinaires et de Médecine Comparée*, 74, 6, 447-454.

-D-

DACOSTA Yves ,1995. Effets compares des divers modes de conditionnement stir la croissance des bacteries pathogines responsable des intoxications alimentaires.

Dadi, S.,2009. 5000 cas chaque année d'intoxication alimentaires en Algérie.L'Expression 17 - 08 – 2009.

Dalton C.B., Austin C.C., Sobel J., Hayes P.S. and Bibb W.F. (1997) An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria*. *The N. Engl. J. Med.* **336**:100-106.

Davies, H.G., Board R., 1998. The microbiology of meat and poultry, Blackie cademic and professional, London. 15, 4668-4674.

Doriane,2011 **Qualité et Sécurité Alimentaire (8 août 2011),**
<http://www.blogagroalimentaire.com/microorganismes-responsables-de-tiac> **consulté le 18/06/2016.**

Dykes, 2003. Influence of the adaptation of *Listeria monocytogenes* population structured or homogenous habitats on subsequent growth on processed meat. *Int. J. Microbiol* 25: 301-306.

-E-

El-Shenawy M., El-Shenawy M., Manes J and Soriano JM.,2011. *Listeria spp.* in street-vended ready-to-eat foods. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.* **6**:5-6.

Euzéby JP.,2000 Bactériologie Vétérinaire :Les Listeria.

www.bacterio.cict.fr/bacdico/nomstaxons.html. 25 Juin 2000, pp 1-35

Euzeby J.P and Tindall B.J. ,2004. valid publications of new names or new combinations: making use of the Validation Lists. *ASM News***70**:258-259.

-F-

FAO ,2005. FAO/WHO regional meeting on food safety for the Near East, Amman, Jordan. The impact of current food safety systems in the Near East/Eastern Mediterranean region on human health. Available at

ftp.fao.org/es/esn/food/meetings/NE_wp2_en.pdf. accessed 22 February 2012.

FAO/OMS,2002. CONFERENCE PANEUROPEENNE FAO/OMS SUR LA SALUBRITE ET LA QUALITE DES ALIMENTS BUDAPEST (HONGRIE), 25-28 FEVRIER 2002, STATISTIQUES SUR LES MALADIES D'ORIGINE ALIMENTAIRE EN EUROPE RISQUES MICROBIOLOGIQUES ET CHIMIQUES.

<http://www.fao.org/3/a-x6865f.pdf>

Farber et Peterkin,1991. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev* 55: 476-511.

Farber J.M., Coates F. and Daley E.,1992. Minimum water activity requirements for the growth of *L.monocytogenes*.*Lett.Appl. Microbiol.***15**:103-105.

Farber J.M and Peterkin P.I.,2000. *L. monocytogenes*. In: Lund BM, Baird-Parker TC, Gould GW, edit. The microbiological safety and quality of foods. *Gaithersburg (MD): Aspen* **111**:1178-1232

Federighi M. (2005). Bactériologie alimentaire compendium d'hygiène des aliments. 2^{ème}Ed. *Economica***95**:97-125.

Fleming D.W.,M.D.,Stephen L Cochi,M.D.,Kristine L. MacDonald,M.D.,Jack Brondum,D.V.M.,MS.,Peggy s. Hayes,B.S.,Brian D. Plikaytis, M.S., Marion B. Holmes, B.S., A.Audurier, Ph.D., Claire V. Broome,M.D.,et Arthur L. Reingold,M.D .,1985. Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *N. Engl. J. Med.* **312**:404-407.

Flessa S., Lusk D.M., Harris L.J.,2005. Survival of *Listeria monocytogenes* on fresh and frozen strawberries. *Int. J. Food Microbiol.* pp 101, 255-262.

FSA: Food Standards Agency 2011. Strategy for Wider Implementation of HACCP. Paper FSA FDA01/07/11,14November2011.

-G-

Gaillard, J.L., Gholizadeh, Y. and Pron, B.,1995. Diagnosis of human listeriosis: new approaches. *Med. Mal. Infect.*25: 251-256.

<http://etudiant.vetalfort.fr/pedago/theses/ovins/htm/bacterienne/listeriose.htm>

Gorski, Palumbo, and Mandrell ,2003. Attachment of *Listeria monocytogenes* to radish tissue is dependent upon temperature and flagellar motility. *Appl. Environ* 69 : 258- 266S.

Goulet V . Leonard, J.L. and Celers, J.,1986. Etude épidémiologique de la listériose humaine en France en 1984.*Revu Epidém. Et Sante publique* 34 :191-195

GOULET V, JACQUET Ch, LAURENT E, ROCOURT J, VAILLANT V, de VALK J., 1999 La surveillance de la listériose humaine en France **en 1999**. *B.E.H,* 2001, 34.

Gourreau JM, Sylvie Chastant , Renaud Maillard, Jean-Marie Nicol, François Schelcher., 2011.*Guide pratique des maladies des bovins. Éditions FranceAgricol , 25 rue Ginoux, 75015 Paris.*

Gray M. L and Killinger A. H.,1966. *L.monocytogenes* and *Listeria* infections. *Bacterio. Rev.* **30:**309-382.

Guiraud J- P , Jean Philippe Rosec., 2004. *Pratique des normes en microbiologie alimentaire AFNOR 2004,* page 181-182.

-H-

Haeghebaert S., Le Querrec F., Gallay A., Bouvet P., Gomez M. and Vaillant V.,2002. Les toxoinfections alimentaires collectives en France, en 1999 et 2000. *Bull. Epidémiol. Hebd.* 23, 104-109.

Hammou J., Benmamoun A., El Menzhi O., Bennouna M., Barkia A., Hasbi B. and Elajroumi H.; 2012. Étude communautaire sur le trachome cécitant chez les populations les plus désavantagées au Maroc. *Bull. Épidémiol.* Edi Avril, 4-9.

Heinitz M.L., Johnson J.M., 1998. The incidence of *Listeria* spp., *Salmonella* spp., and *Clostridium botulinum* in smoked fish and shellfish, *J. Food Prot.* 61 -318-323.

Hof H., Nichterlein T. and Kretschmar M.,1997. Management of listeriosis.*Clin. Microbiol.* **10**:345-57.

-I-

INSP ,2010. Info-santé. Bulletin d'information de santé publique, Algérie.

INSP, 2011. Info-santé. Bulletin d'information de santé publique, Algérie.

INVS,2011. Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives. Données de la déclaration obligatoire.

-J-

JACQUET Ch., BROUILLE F., SAINT-CLOMENT C, CATIMEL B, ROCOURT J., 1999. La listériose humaine en France en 1998. Données du Centre National de Référence des Listeria. B.E.H, 37, 15-16.

Jacquet C, Rocourt, J., 1993 : Microbiologie des Listeria et épidémiologie de la listériose humaine. L'information du Bio technicien, T1, N°1,11-18.

Jemmi T., Pak S.I., and Salman M.D., 2002. Prevalence and risk factors for contamination with *L.monocytogenes* of imported and exported meat and fish products in Switzerland, 1992-2000. *Prev. Vet. Med.* **54** :25-56.

Joncour, G. ,1998. Episodes aigus d'uvéite : étude sur quatre troupeaux laitiers au cours du premier trimestre 1997, en Bretagne. *Point. Vét.*29 (192): 433-440.

J.O.R.A.,1998 : Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire. N°35. Ministère du commerce.

Journal officiel de la république française ,2006. Guide Législatif et Réglementaire. DGAL/SDHA n°8155 du 12 Décembre 2000. Critères microbiologiques applicables aux aliments. 2006, pp 1-15.

Juntilla, J.R., Niemelä, S.I. and Hirn, J.,1988. Minimum growth temperatures of *Listeria monocytogenes* and non-haemolytic listeria.*J.Appl.Bacteriol.* 65: 321-327
Bajard, S., Rosso, L., Fardel, G. and Flandrois, J.P. (1996). The particular behaviour of *Listeria monocytogenes* under sub-optimal conditions.*Int. J. Food Microbiol.* 29: 201-211.

-K-

Kaimoune Nawel 2009 *Listeria monocytogenes* et les produits alimentaires.

Post-Graduation Spécialisé. Filière *Sciences Alimentaires et Nutrition Option Alimentatio., Nutrition et Santé.* UNIVERSITE MENTOURI – CONSTANTINE.

Kolodner J. L., Gray J. T. and Fasse B. B.,2003. Promoting transfer through case-based reasoning: Rituals and practices in Learning by Design™ classrooms. *Cognitive Sc. Quarterly* **3**:119-170

-L-

Larpent, 1992. *La microbiologie de la fermentation panaiere*, Jean-Paul Larpent, Numéro 8 de *Agro-alimentaire information*, ISSN 0998-4240. 65p.

Larpent J.P., 1995. Les listérioses, les *Listeria* et les produits alimentaires. In *Les Listeria*. Tech. Et doc. Lavoisier, Paris **40** :41-53.

Larpent, 1997. LARPENT (J.P.) et LARPENT-GOUGAUD (M.): Mémento Technique de Microbiologie. Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 3^{ème} édition, 1997, 1039pages.

Larpent Jaun-Paul, 2000. 2^{ème} édition 11, rue Lavoisier F.75384 Paris codex 08, pp16 .ISBN :2-7430.0382-0 (2^{ème} édition), pp 16.

Larpent J. P.,2004. *Listeria*. 3^{ème} édition. Technique et documentation. Londres- Paris-New York. Lavoisier. ISBN : 2- 7430-065769.

Lebres EA,2006. Etude de prevalence et analyse du risque de *L.monocytogenes* dans laits crues dans la région centre. Thèse de doctorat. Université El-taref.

Le Minor I., Veron M., 1973. Le Genre *Listeria*. Bacteriologies Médicale. Vol 33, ,pp 559-569

-M-

Maciel de Souza V., Franceschini S.A., Martinez C.R., Ratti R. P. and Elaine C.P.,2008. Survey of *Listeria spp.* In matched clinical, food and refrigerator samples at home level in Brazil. *Food Control* **19** :1011–1013.

Malvy D, Djossou F, Le Bras., 2003. Infections et toxi-infections d'origine alimentaire et hydrique : orientation diagnostique et conduite à tenir. EMC Pathologie professionnelle et de l'environnement.

Marth E.H., 1988. Disease characteristics of *Listeria monocytogenes* FOOD TECHNOLOGY .42, 165-168.

Mathieu Tourdjman, 2014. Listériose humaine : une zoonose d'origine alimentaire, Édith Laurent, Alexandre Leclercq, revue francophone des laboratoires-juillet/août 2014n°464//.

McLauchlin J.,1987. *L. monocytogenes* advances in the taxonomy and epidemiology of listeriosis in human. *J. appl. Bacteriol.* **63** :1-11.

McLauchlin, J. Hall, S.M., Velani, S.K. and Gilbert, R.J.,1991. Human listeriosis and pate: a possible association. *Brit. Med. J.*303: 773-775.

McLauchlin, J. and Low, J.C., 1994. Primary cutaneous listeriosis in adults : an occupational disease of veterinarians and farmers. *Vet. Rec.* 135: 615-617.

Millemanny, Remyd, Brugere-Picaux J., 2000. La listeriose des ruminants .Diagnostic, traitement et prevention.*Point vet.* 31, 313-316.

Moll M. et Moll N .,2002. Sécurité alimentaire du consommateur. 1^{ème}Ed .lavoisier, Paris 26: 26-45.

Moll M. et Moll N.,200). Sécurité alimentaire du consommateur. 2^{ème} Ed. lavoisier , Paris 26 : 26-45.

Mosquera Fernández, P. Rodriguez Lopez, M.L. Cabo, E. Balsa Canto, 2014 .Numerical spatiotemporal characterization of *Listeria monocytogenes* biofilms. *International Journal of Food Microbiology Volumes 182183, ilms. International Journal of Food Microbiology Volumes 182183,16 July 2014, Pages 2636.*

Mouffok F. (2011). Situation en matière de TIA en Algérie de 2010 à 2011. 2eme congrès Maghrébin sur les TIA, Tunis le 14-15 décembre, 2011.

Murray E. G. D., Webb R. E. and Swann M. B. R., 1926. A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed *Bacillus Bacterium monocytogenes*.*J. of Path.andBacteriol.***29**:407-439.

-N-

Nickalus D., 2001. *Listeria monocytogenes* dans les produits carnés. Etude bibliographique N°53. Ecole nationale vétérinaire. Lyon.

-P-

Parihar V. S., Lopez-Valladares G., Danielsson-Tham M.-L.,2008. Characterization of human invasive isolates of *Listeria monocytogenes* in Sweden 1986–2007. *Foodborne Path. and Dis.* **5**:755–761.

Pearson, L.-J. and Marth, E.H.,1990. *Listeria monocytogenes*-threat to a safe supply: a review. *J. Dairy Sci.*73 (4): 912-928.

PERRET M ., 1990; Les listerioses humaines et leur origines alimentaire. Thèse de doctorat vétérinaire, faculté de Médecine de Nantes. 104 pages.

-R-

REM ,1999 à 2011. Situation épidémiologique de l'année 2009 sur la base des cas déclarées l'I.N.S.P. Relevés Épidémiologiques mensuels. N° 1 à 22.

Rocourt J.,1988. Listériose humaine aspects cliniques et épidémiologiques. Rôle de l'alimentation. In Journées internationales de l'Association des directeurs de laboratoire (APDILA). Session « Contrôle des aliments ». APDILA, Paris 5 :29-40.

Rocourt J., BenEmbarek P., Toyofuku H. et Schlundt J. 2003. Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: the FAO/WHO approach. *FEMS Immunol Med Microbiol.* Vol. 35(3). pp. 263-237.

Ryser E.T.?1999. Incidence and behavior of *Listeria monocytogenes* in unfermented dairy products. In: Ryser ET, Marth EH (eds.) *Listeriosis and Food Safety*. Marcel Dekker. Inc. New York, USA.41: 299-358

-S-

Saana M. ,1994. Listériose et contamination du lait et des produits dérivés du lait. *Point. Vét.* 26 : 69-78.

Sautra L., Federighi M. et Jouve J., 1998. Manuel de bactériologie alimentaire. Ed Polytechnica, pp : 133-162.

Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM., 2011 Food borne illness acquired in the United States—major pathogens [PDF - 9 pages]. *Emerging infectious diseases.*17(1):7-1.

Schuchat A., Swaminathan B., and Broome C.V., 1991. Epidemiology of human listeriosis. *Clin. Microbiol. Rev.*4:196-183.

Schlecht, W. F., Lavigne, P. M., Bortolussi, R. A., Allen, A. C., Haldane, E. V., Wort, A. J., Hightower, A. W., Johnson, S. E., King, S. H., Nicholls, E. S. & Broome, C. V.,1983. Epidemic listeriosis -evidence for transmission by food. *New England Journal of Medicine.* 308, 203-206.

Scelcher F., Valarcher J.F., Maennlein E., Costard S., De Clermont R., Espinasse J., 1992.

Listériose des ruminants et santé humaine. Point Vét. 24, 27-39.

Shynoor D. et Cossart P., 1994. Le pouvoir pathogène de *L. monocytogenes* ; *Annales de l'Institut Pasteur de Paris. Vol 5, n°3* 19:202-211.

Simmons, Courtenay; Stasiewicz, Matthew J.; Wright, Emily; Warchocki, Steven; Roof, Sherry; Kause, Janell R.; Bauer, Nathan; Ibrahim, Salam; Wiedmann, Martin; Oliver, Haley F., 2014.

Listeria monocytogenes and *Listeria* spp. Contamination patterns in retail delicatessen establishments in three U.S. states. *Journal of Food Protection*, Number 11, November 2014.

Spitzer, P. G., Hammer, S. M. and Karchmer, W., 1986. Treatment of *L. Monocytogenes* infection with trimethoprim-sulfamethoxazole: case report and review of the literature. *Rev. Infect. Dis.* 8: 427-430.

Stainer .R F, Maillot E., 1996. Epidémiologie de la listériose en France. *Epidémiol. Santé Anim.* 29, 37-42.

Stepanović, S., I. Ćirković, L. Ranin and M. S. Vabić-Vlahović ,2004. "Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface." *Lett Appl Microbiol* 38(5): 428-432.

Struillou, L. and Raffi, F., 1997. Listérioses. *Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris). Maladies Infectieuses*, 8-017-R-10, Thérapeutique, 25-039-A-10, pp.7.

-T-

Tourdjmane M, Donguy MP, Leclercq A, Fredriksen N, Remonnay J., 2016. Épidémies d'infections à *Listeria monocytogenes* dans l'est de France, **2014**. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire. **8p.**

-V-

Vasseur C., Baverel L., Hébraud and Labadie J.M., 1999. Effect of osmotic, alkaline, acid or thermal stresses on the growth and inhibition of *L. monocytogenes*. *J. Appl. Microbiol.* **86**:469-476.

Vaissaire, J., 2000. Epidémiologie des listérioses animales en France. *Bull. Acad. Natle. Méd.* 184(2): 275-286.

Vlaemyneck G., Lafarge V., Scotter S.,2000. Improvement of the detection of *Listeria monocytogenes* by the application of ALOA, a diagnostic, chromogenic isolation medium. *J. Appl. Microbiol.* 88(3) : 430-41.

Vazquez J., Belmont A.S., and Sedat J.W.,2001a. Multiple regimes of constrained chromosome motion are regulated in the interphase *Drosophila* nucleus. *Curr. Biol.* 11. 1227-1239.

Vazquez Boland J.A., Dominguez Bernal G., Gonzalez Zorn B., Kreft J. and Goebel W.,2001b. Pathogenicity islands and virulence evolution in *Listeria*. *Microbes. Infect.* 3:571-584.

Vázquez-Boland JA, Kuhn M., Berche P., Chakraborty T., Domínguez-Bernal G., Goebel W. et al., 2001. *Listeria* pathogénese et les déterminants moléculaires de virulence. *Clin. Microbiol. Rev.* 14:584-640.

-W-

Walker, S.J., Archer, P. and Banks, J.G .,1990. Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. *J. App.Bacteriol.*68: 157-162.

-Y-

Yücel N., Citak S. and Önder M.,2005. Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria* species in meat products in Ankara,Turkey. *Int. journal of food Microbiol.* 22:241-245.

Résultats et discussion

3. Résultats

3.1. Différents types de prélèvements

Au cours de notre étude, 146 échantillons de diverses origines alimentaires (Tableau 5) ont été traités.

Tableau 5 : Répartition des prélèvements réceptionnés.

Catégories	Nombre (n)	Pourcentage (%)
Aliments cuisinés prêts à manger	37	25.34
Ecouvillonnages de surface	17	11.6
Lait et produits laitiers	70	47.94
Produits de la pêche	04	2.73
Viandes et produits carnés	18	12.32
Total	146	

Le lait et Les produits laitiers représentent presque la moitié des prélèvements

3.2. Analyses bactériologiques

3.2.1 .Recherche du genre *Listeria*

Le tableau 6 représente le taux de positivité à *Listeria*,

Tableau 6 : Taux de *Listeria sp.* présentes dans les denrées alimentaires analysées.

	Nombre	Pourcentage (%)
Prélèvements positifs	27	18.50
Prélèvement négatifs	119	81.50
Total	146	100

D'après le tableau 6, environ un quart des prélèvements (18.50%) sont positifs à *Listeria sp.*

Résultats et discussion

3.2.2. Recherche et identification de *Listéria monocytogenes*

a. Lait et produits laitiers

Le tableau 6 rapporte les résultats de l'analyse bactériologique des prélèvements de laits et produits laitiers (Lait de vache) réalisé sur 70 prélèvements (le tableau répertorie seulement les échantillons positifs à *Listeria*)

Tableau 7 : Résultats de l'identification des *Listeria* dans les laits et produits laitiers.

Echantillon	Code	Résultats	
		<i>L. monocytogenes</i>	Autres <i>Listeria</i>
Lait cru	J	-	+
Fromage à pâte dure	L646	+	-
Fromage à pate molle	L1007	+	-
Fromage pate dure	L1008	+	-
Fromage pate dure	L1009	+	-
Fromage traditionnel cru	L1189	-	+
Fromage pate molle	L1212	-	+
Fromage pate dure	L1213	-	+
Lait cru	L1412	-	+
Lait cru	L1416	-	+
Lait cru	L1417	-	+
Lait cru	L1419	-	+
Lait cru	L1420	-	+
Total		4	9

Sur 70 échantillons de lait et produits laitiers, 13 souches de *Listeria* ont été mises en évidence (figure 22) dont 4 *Listeria monocytogenes* soit (5.71%) et 9 *Listeria sp.* (12.85%).

Résultats et discussion

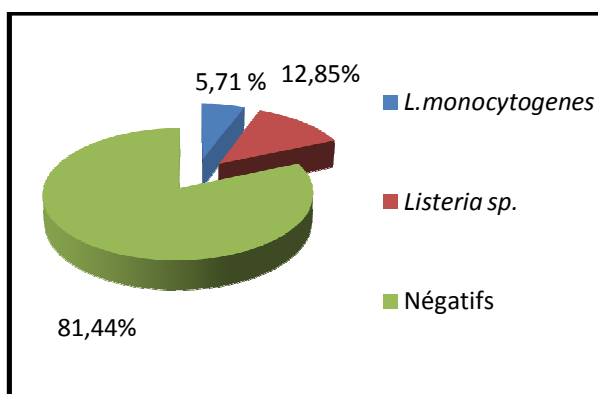


Figure 22: Identification de *L.monocytogenes* et *Listeria sp* dans le lait et les produits laitiers.

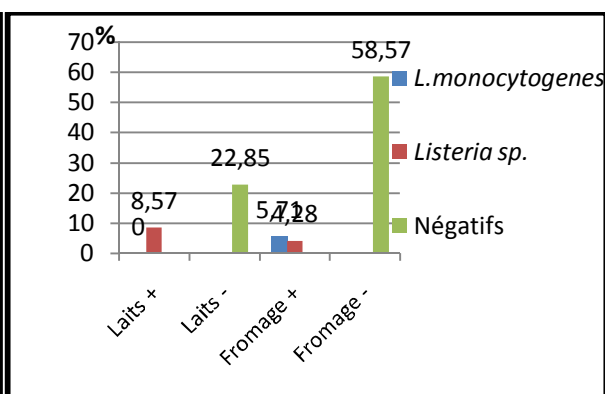


Figure 23: Identification par type de produit Laitier.

Parmi ces produits laitiers, 48 échantillons de fromages ont été testés : 4 se sont révélés contaminés par *Listeria monocytogenes* (Figure 23). Il se pourrait qu'une contamination par la machine de découpe soit mise en cause.

Sur 22 échantillons de lait, 9 *Listeria sp.* ont été mises en évidence et aucune *Listeria monocytogenes* n'a été retrouvée (figure 23).

b. Viandes et produits carnés

La présence de *Listeria* dans la viande et les produits carnés est rapportée par le tableau 8.

Tableau 8: Résultats de l'identification des *Listeria* dans les viandes et produits carnés.

Echantillon	code	Résultats	
		<i>L.monocytogenes</i>	Autre <i>listeria sp</i>
Viande hachée crue	V009	+	-
Viande hachée crue	V010	-	+
Steak haché cru	V011	-	+
Chorizo	V016	-	+
Cachir	V017	+	-
Escalope hachée crue	V019	-	+
Escalope crue	V020	-	+
Total		2	5

Résultats et discussion

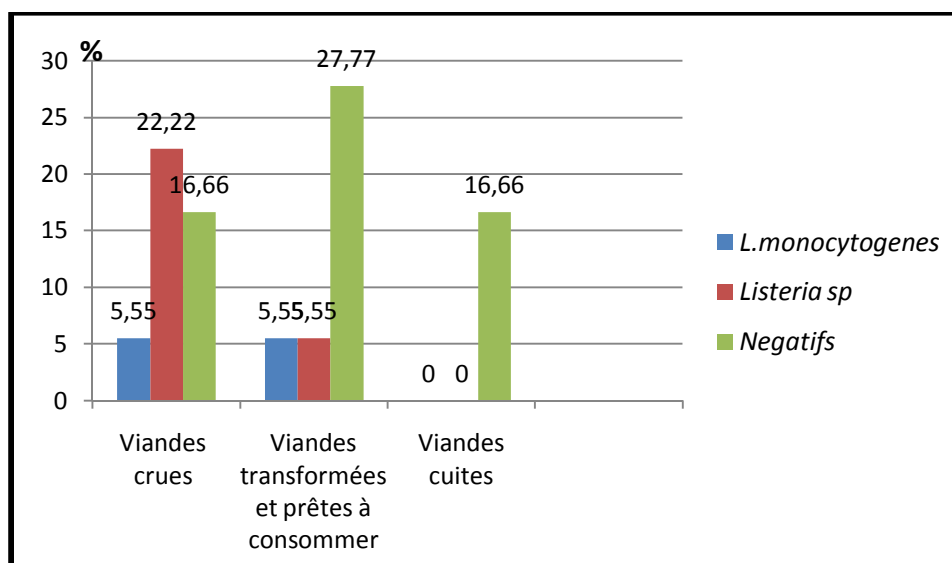


Figure 24 : taux de contamination par Listeria pour chaque catégorie de viandes.

L'identification biochimique a montré la prédominance de *Listeria sp* (27.77%) par rapport à *Listeria monocytogenes* (11.11%) (18 échantillons testés).

c. Poissons et produits de la pêche

Le tableau 9 ci-dessous représente le résultat de la recherche de *Listeria* dans les poissons et produits de la pêche.

Tableau 9: Poissons et produits de la pêche.

Echantillon	Code	Résultats	
		<i>L. monocytogenes</i>	Autres <i>Listeria sp.</i>
Merlan séché	V05	-	+
		0	1

Sur le total de 4 échantillons de poissons et produits de la pêche analysés, aucune souche de *L. monocytogenes* n'a été isolée alors qu'une seule souche de *Listeria sp* a été trouvée.

d. Plats cuisinés prêts à manger

Le tableau suivant représente les résultats de la recherche de *Listeria* selon le type de produit alimentaire sur 37 plats cuisinés.

Résultats et discussion

Tableau 10 : Résultats de l'identification des *Listeria* dans les plats cuisinés prêts à manger.

Echantillon	Code	Résultats	
		L. monocytogenes	Autres <i>Listeria</i> sp.
Salade variée	PC14	+	-
Riz en sauce + poisson	PC35	-	+
Sandwich complet viande hachée	PC40	+	-
Sandwich complet viande hachée	PC63	-	+
Salade macédoine	I12	+	-
Total		3	2

Parmi 8 échantillons de crudités testés (figure 25), *L.monocytogenes* a retrouvée dans 2 échantillons de plats cuisinés, et cela est probablement dû à un manque d'hygiène et à une contamination croisée. Une mauvaise manipulation et transformation des matières primaires en légumes prêts à l'emploi, sont des facteurs favorisant la contamination initiale ou croisée.

Une faible proportion de contamination des plats à base de viande est observée, ce qui prouve que les plats cuisinés ne sont pas écartés de la probabilité d'une contamination due à une mauvaise manipulation après la cuisson et à des contaminations croisées également.

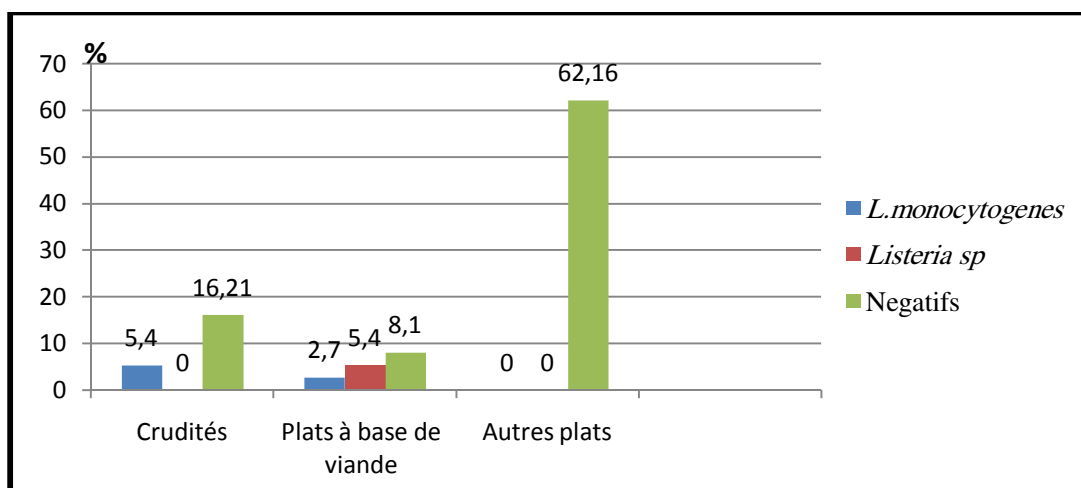


Figure 24 : contamination par *Listeria* des différents types de plats prêts à manger.

e. Ecouvillons de surfaces

Le tableau suivant représente les résultats de la recherche de *Listeria* à partir des écouvillonnages de surface.

Résultats et discussion

Tableau 11: Ecouillons de surface.

Echantillon	Code	Résultats	
		<i>L.monocytogenes</i>	Autres <i>Listeria sp.</i>
Plateau en acier inoxydable	EC7	+	-
		1	0

Sur le nombre total de 17 écouillons de surface effectués, une seule souche de *Listeria monocytogenes*, a été isolée. Cette dernière est capable de former des biofilms, qui représentent une source de contamination de l'aliment en contact avec une surface contenant un biofilm. Ceci prouverait la présence d'une contamination croisée et donc la contamination de l'aliment à partir d'une surface contenant un biofilm, probablement due au manque d'hygiène lors de la préparation des plateaux qui doivent contenir des aliments lors du service dans les restaurations collectives.

❖ Incidence de *Listeria* dans les aliments

Le tableau 12 et la figure 21 résument les taux d'incidence des *Listeria* dans les différents aliments.

Tableau 12 : Taux d'incidence des *Listeria* dans les différentes catégories d'aliments.

Catégorie d'aliment	Nombre	Négatif		<i>L.monocytogenes</i>		Autre <i>Listeria sp.</i>	
		Nb	%	Nb	%	Nb	%
Lait et produits laitiers	70	57	81.42	4	5.71	9	12.85
Viandes et produits carnés	18	11	61.11	2	11.11	5	27.77
Prêt a manger	37	32	86.48	3	8.1	2	5.40
Poissons et produits de la pêche	4	3	75	0	0	1	25
Ecouillons de surfaces	17	16	94.11	1	5.88	0	0
Total	146	119	81.5	10	6.85	17	11.64

Résultats et discussion

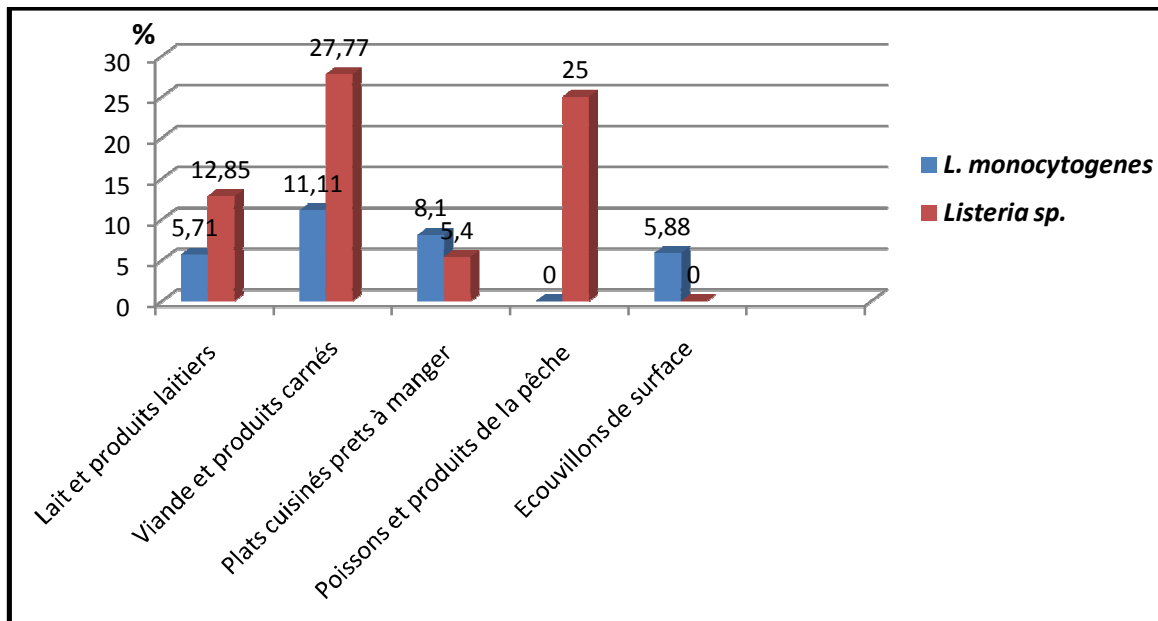


Figure 25: Identification de *Listeria monocytogenes* et *Listeria sp.*

Les produits les plus contaminés par *L. monocytogenes* (présence dans 25g ou 25 ml) appartiennent au groupe des viandes et produits carnés avec (11.11%).

3.3. Dénombrement des colonies

Le dénombrement sur le milieu OCLA est effectué à partir de la dilution 10^{-1} et 10^{-2} et un volume de 0.1 mL Les résultats du dénombrement, exprimé par les valeurs «N», obtenus selon les équations mathématiques dictées par la norme ISO 11290-2 pour l'ensemble des cas positifs et de l'identification biochimique sont rapportés dans le tableau 13 :

Résultats et discussion

Tableau13 : Résultats du dénombrement des souches isolées.

Code	Nombre de colonies	Valeur de N (UFC/25g ou ml)		Identification biochimique
		10 ⁻¹	10 ⁻²	
L646	6	<10	<10	<i>L.monocytogenes</i>
L1007 L1008 L1009	0	<10	<10	<i>L.monocytogenes</i>
L1189 L1212				
L1213 L1412 L1429	0	<10	<10	SP
L1416	10	9.09 x 10 ²	<10	sp
L1417	4	<10	<10	sp
L1420	17	1.54 x10 ³	<10	sp
V009	0	<10	<10	<i>L.monocytogenes</i>
V010-V011 V016	0	<10	<10	<i>L.monocytogenes</i>
V017	18	1.63 x10 ³	<10	<i>L.monocytogenes</i>
V019	50	4.54 x10 ³	<10	sp
V020	22	2 x10 ³	<10	sp
I12	0	<10	<10	<i>L.monocytogenes</i>
PC14	0	<10	<10	<i>L.monocytogenes</i>
PC35	0	<10	<10	<i>L.monocytogenes</i>
PC40	81	7.36 x 10 ³	<10	<i>L.monocytogenes</i>
PC63	0	<10	<10	<i>L.monocytogenes</i>
EC7	0	<10	<10	<i>L.monocytogenes</i>

Résultats et discussion

4. Discussion

La méthode classique de culture a été réalisée selon la norme ISO 11290-1. Toutefois, dans la présente étude, pour l'isolement de *Listeria* par la méthode ISO 11290-1 et le dénombrement selon l'ISO11292-2, nous avons utilisé la gélose PALCAM et Chromogénique.

L'utilisation de l'agar PALCAM, en combinaison avec un support chromogène est recommandée pour renforcer l'isolement de *Listeria* (Benetti et al., 2012).

Les milieux PALCAM et Oxford ont été développés pour l'isolement sélectif des *Listeria* sur la base de l'hydrolyse de l'esculine, qui contribuent à leur différenciation des autres bactéries. Bien qu'ils ont été trouvés efficaces pour l'isolement des *Listeria* des produits alimentaires avec des cellules blessés et / ou riches en microflore concurrentiel, ils ne sont pas en mesure de permettre la visualisation distinctif des colonies de *L. monocytogenes*, par conséquent, leur utilisation comme milieu d'isolement ne permet pas une détection rapide de cet agent pathogène. Ainsi, différents milieux chromogènes tels qu'OCLA et ALOA ont été développés pour répondre à ce besoin (Vlaemynck et al., 2000).

Dans notre étude, l'utilisation de la gélose chromogène OCLA a facilité la détection de *L. monocytogenes* dans les cultures mixtes de *Listeria sp.*, l'identification présomptive de *L. monocytogenes* a été possible après les 24 h suivant l'enrichissement, comparativement à 3-4 jours supplémentaires et nécessaires en utilisant la gélose PALCAM.

L'importance de l'isolement et l'identification des autres souches de *Listeria* telles que *L. innocua* ne permet pas d'exclure la présence de *L. monocytogenes* (Anonyme, 2013), ainsi que la présence de *L. ivanovii* qui peut être potentiellement pathogène pour l'homme (CDC, 2010).

Les infections causées par *L. monocytogenes* ont un faible taux d'incidence, mais le degré élevé de mortalité, les classes parmi les groupes à haut risque (Vázquez-Boland et al., 2001). Nos résultats de l'analyse de divers produits alimentaires révèlent une incidence de 18,49 % pour les *Listeria*, avec la prédominance des *Listeria sp.* (11,64 %), tandis que *L. monocytogenes* est retrouvé dans 6,16 % des échantillons analysés.

Le dénombrement de *L. monocytogenes* sur le milieu OCLA révèle une moyenne de 11.83×10^3 UFC/ml ou g. Ces résultats sont supérieurs aux normes citées par la réglementation

Résultats et discussion

européennes (2073/2005), qui fixe à 100 UFC/ ml ou g le niveau de tolérance de *L.monocytogenes* dans les aliments prêts à consommer, et en ramenant à zéro la tolérance pour les aliments ayant subi un traitement thermique à l'emballage final. ON constate la large contamination des produits testés dans notre enquête.

La réglementation Algérienne exige l'absence totale des *Listeria* dans les produits alimentaires quelque soit leur nature.

Les résultats de notre étude ont conclu qu'aucun échantillon sur les 22 de lait cru n'a révélé la présence de *L.monocytogenes*, cela pourrait sans doute l'expliquer par le faible nombre de prélèvement ou bien que nos laits provenaient d'élevages à hygiène satisfaisante. La contamination des laits crus par *L.monocytogenes* n'est pas écartée, du fait qu'ils ont été impliqués dans une éclosion de listériose en 1983 (**Fleming et al., 1985**), le lait provenait de plusieurs fermes.

En 1994, dans le Midwest des États-Unis d'Amérique, (**Dalton et al., 1997**) et (**Ryser, 1999**), Ont révélés que le lait contenait jusqu'à 109 UFC / ml de *L. monocytogenes*. Ce lait était apparemment bien pasteurisé, ce qui indique qu'il y avait un tel niveau de contamination dans le lait que certains organismes ont survécu à la pasteurisation ou, plus probablement, la contamination post-traitement a eu lieu dans l'usine.

La contamination du lait pourrait s'expliquer par (**Ryser, 1999**) et (**Farber et Peterkin, 2000**) :

- Les souches de *L. monocytogenes* se trouvent dans l'environnement agricole et peuvent être transmises aux vaches par la consommation d'ensilage et de foin L'agent pathogène peut aussi provoquer une mammite qui permet à l'organisme d'être continuellement excrétée dans le lait.
- Il a souvent été isolé de la traite des granges et de l'équipement de transformation des produits laitiers.

Sur 48 échantillons de fromage analysés, 4 fromages ont donné un résultat positif à la recherche et l'identification de *L.monocytogenes*, il s'agit de 3 fromages à pâte dure et 1 à pâte môle, ce qui représente un pourcentage de 8,33 % par rapport au total des fromages analysés.

Résultats et discussion

Ces résultats comparés à ceux obtenus au niveau de l'IPA d'Alger entre 2001-2015 (cette comparaison reste relative du fait que le nombre d'échantillons est différent), sont très élevés (1460 échantillons)

La contamination peut être causée lors de l'affinage ; les enzymes d'origine microbienne participent très activement aux modifications de texture et au développement de la saveur, ce qui confère ses caractéristiques organoleptiques aux fromages. Ce phénomène provoque également une remontée de la valeur du pH au niveau de la croûte. Cette augmentation de pH et les conditions d'aérobiose en surface sont des conditions favorables au développement de *Listeria monocytogenes*. Pour cette raison certaines croûtes, dont celles des pâtes molles, présentent un risque de contamination élevé (**Larpent, 2004**).

Il est aussi probable qu'une contamination se fait i au niveau des ateliers de fromagerie, eux même contaminés, ou bien par les matières premières (laits crus), et notamment par le non respect des bonnes pratiques de fabrication et d'hygiène (BPH,BPF). Peuvent également être responsable de la contamination des fromages.

En ce qui concerne les échantillons de fromages à base de lait cru (fabriqués de manière traditionnelle), les échantillons se sont révélés négatifs mais le nombre d'échantillons est insuffisant pour évaluer la fréquence des *Listeria* dans cette catégorie de produit.

L'analyse des viandes et produits carnés a révélée qu'un échantillon de viande hachée était contaminé par *L.monocytogenes* (sur 12 échantillons de viande hachée)

Un taux de 5.5% de viandes et produits carnés sur 18 échantillons sont contaminés par *L. monocytogenes*.

Le résultat obtenu par Akpolat et al, (2004) qui a isolé *L. monocytogenes* à partir de 830 échantillons de viandes pendant 2ans est de 5%.

- La présence des *Listeria* dans les produits carnés crus peut survenir à différents stades, et selon plusieurs sources (**Maciel de Souza et al., 2008**).
- Une contamination fécale directe ou indirecte à partir de la surface corporelle lors de l'abattage des animaux, ou l'éviscération.
- Une contamination lors de la transformation des viandes, soit à partir des locaux ou du matériel, soit à partir des opérateurs. Il a été démontré, que lors de la découpe primaire

Résultats et discussion

des carcasses appartenant à différentes espèces zootechniques, les couteaux, les tapis, les tables, et autres machines sont fréquemment à l'origine de la contamination par *Listeria monocytogenes*. L'examen bactériologique de la contamination des surfaces démontre clairement l'origine environnementale de ces contaminations. En outre, un échantillon de viande froide (Cachir) a été positif pour la présence de *L. monocytogenes* (5,5% sur le total de 18 échantillons de viandes et de produits carnés) à partir d'un point de vente. Nous pensons que la contamination serait principalement de poste cuisson.

Notre étude a également évalué la présence de *L.monocytogenes* dans les aliments prêts-à-manger. Il est donc probable que des aliments contaminés par cet organisme sont quotidiennement consommés de façon journalière.

Une étude similaire effectuée à Johannesburg (**Christison et al., 2008**) a révélé une incidence de *L. monocytogenes* de 4 % dans les PAM. L'analyse statistique a révélé qu'il existe une relation entre le type d'aliment et la présence de l'une des *Listeria sp.* ou *L. monocytogenes*. Dans le groupe des produits à base de viande, l'isolement de *L. monocytogenes* était plus élevé dans les sandwichs de viande hachée que d'autre type de sandwiches (Tableau 8).

Dans l' ensemble, les résultats obtenus pour cette catégorie d'aliment, sont similaires aux conclusions données par **El-Shenawy et al (2011)**, à partir d'échantillons de PAM (sandwichs et plats traditionnels) prélevés dans les voies publiques en Egypte.

5. Conclusion

Les produits alimentaire les plus contaminées par *Listeria* sont Les produits les plus contaminés par *L.monocytogenes* (présence dans 25g ou 25 ml) appartiennent au groupe des viandes et produits carnés avec (11.11%), suivi par les laits et produits laitiers (9.33%), ensuite les PAM (8,1%), puis celui des écouvillonnages de surfaces (5.88%). les poissons et produits de la pêche se sont révélés négatifs à *L.monocytogenes*.

Notre étude à montré qu'il est important de préciser que la contamination des produits alimentaire par des germes pathogènes tel que *L. monocytogenes* représente un réel danger pour la santé humaine surtout que les niveaux de contamination et les matrices concernées par cette étude sont un paramètre qu'il est important de prendre en compte, par rapport à la présence de *L. monocytogenes*, il est donc important de renforcer les critères de détection des

Résultats et discussion

Listeria sp. et *L.monocytogenes* et cela en renforçant la réglementation par rapport a cette recherche.

En conclusion, il ressort de notre travail une quasi impossibilité d'éliminer *Listeria* de l'environnement due à son caractère d'ubiquité et du non respect des règles d'hygiène.

Les propositions actuelles de l'Union européenne en vue de consolider les directives d'hygiène alimentaire envisagent actuellement l'application des procédures de gestion de la sécurité sanitaire des aliments fondés sur les principes HACCP, y compris la documentation et la vérification, à tous les secteurs de la chaîne alimentaire, à l'exception de la production primaire (AFSSA, 2002).

6. Recommandations

Les résultats de notre étude démontrent la présence de *Listeria* dans les produits alimentaires, ce qui conditionne le caractère dangereux pour la santé publique, il est donc important de prendre en compte nos résultats et qu'ils stimulent et encouragent à faire d'autre recherches.

Il est urgent de mettre en place un réseau de surveillance épidémiologique dans le but de maîtriser la situation en prenant les mesures préventives nécessaires par le contrôle systématique des produits à risque comme les fromages, viandes , laits et produits laitiers. La mise en œuvre de systèmes similaires de sécurité sanitaire des aliments dans la restauration et locaux commerciaux, combinés avec une formation adéquate et l'application des principes de base de l'hygiène alimentaire HACCP, pourrait apporter une contribution significative à assurer la qualité microbiologique satisfaisante des aliments prêts-à-manger.

Annexes

Annexe A :

Gros matériel utilisé :

1. Balance



Figure 26 : Balance électrique

2. Homogénéisateur, Mélangeur, Mixeur :



Figure 27 : Homogénéisateur de type péristaltique (stomacher)

3. Réfrigérateur, chambre froide :

4. Autoclave :



Figure 28 : Autoclave

Annexes

6. Matériel d'incubation (étuve et bain marie) :



Figure 29 : Etuve à 55°C

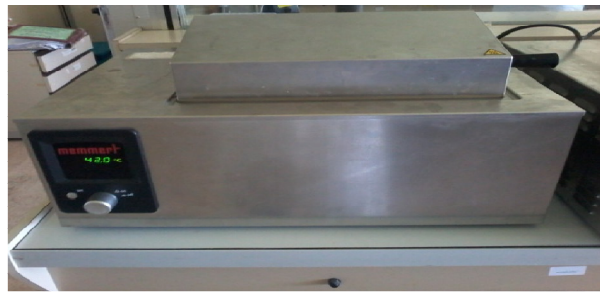


Figure 30 : Bain marie à 44°C

7. Bec bunsen :



Figure 31 : Bec bunsen

Annexe B

Formule des milieux de culture

1. Bouillon FRASER.



Figure 32 : FRASER déshydraté



Figure 33 : Bouillon FRASER avec son supplément

Composition :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone de protéase	5,0
Tryptone	5,0
Extrait de viande de bœuf	5,0
Extrait de levure	5,0
NaCl	20,0
Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	12,0
KH ₂ PO ₄	1,35
Esculine	1,0
Chlorure de lithium	3,0

Principes :

- 1) La forte teneur en chlorure de sodium permet d'accroître la sélectivité du milieu.
- 2) Les phosphates agissent comme système tampon pour le maintien du pH.
- 3) Le chlorure de lithium inhibe la plupart des Entérocoques susceptibles d'hydrolyser l'esculine.

Annexes

Préparation :

Faire dissoudre les composants dans de l'eau, puis chauffer modérément jusqu'à dissolution complète. Ajuster le pH à 7,2.

Répartir ensuite le milieu à raison de :

- 4) 225 ml par flacon qui serviront aux enrichissements primaires,
- 5) 10 ml par tubes qui serviront aux enrichissements secondaires.

Stériliser ensuite le milieu à 121°C pendant 15 minutes.

Supplément sélectif pour Bouillon Fraser.

Au moment de l'utilisation du bouillon Fraser au demi tout comme le bouillon

Fraser, ils doivent être additionnés de leur supplément dont la formule est la suivante :

Constituants	Quantité
Acide nalidixique	22,5 mg
Acriflavine	28,125 mg
Citrate de Fer (III) ammoniacal	1,125 g

Reconstituer stérilement un flacon de supplément par 22,5 ml d'un mélange 1/1 eau/éthanol stérile (soit 11,25 ml d'eau distillée stérile et 11,25 ml d'éthanol).

Mélanger doucement pour dissoudre, puis ajouter ensuite aseptiquement :

- 6) 2,25 ml de la solution ainsi préparée, à 225 ml de bouillon Fraser au demi,
- 7) 0,10 ml de la solution ainsi préparée, à 10 ml de bouillon Fraser.

Bien mélanger avant d'introduire l'inoculum.

Une fois reconstitué, le supplément doit être maintenu à +4°C, à l'abri de la lumière et ne doit pas dépasser les 8 jours.

Ce supplément est un mélange inhibiteur composé de 2 antimicrobiens et d'un réactif : le citrate de fer, dont les rôles sont les suivants :

- 8) L'acide nalidixique bloque la réplication de l'ADN des microorganismes sensibles à cet antimicrobien (Gram négatifs surtout),
- 9) L'acriflavine supprime la croissance de la microflore secondaire Gram positif, y compris *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*,
- 10) Le citrate de fer ammoniacal permet de visualiser l'esculétine produite par *Listeria* à partir de l'esculine présente dans le milieu.

Annexes

En présence des ions ferriques, l'esculétine forme un complexe noir qui apparaît progressivement. La présence de fer favorise également la croissance des *Listeria*.

2. Gélose PALCAM



Constituants	Quantité en g/l
Peptone	23,0
Amidon	1,0
Agar - Agar	20,0
Chlorure de sodium	5,0
D(-) mannitol	10,0
Ammonium de fer III citrate	0,5
Esculine	0,8
Glucose	0,5
Chlorure de lithium	15,0
Rouge de Phénol	0,08

Figure 34 : Gélose PALCAM et milieu sélectif pour gélose PALCAM

Principes :

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

Préparation :

Faire fondre le milieu puis le refroidir à une température de l'ordre de 48°C.

Ajouter par la suite 2,25 ml du supplément Palcam reconstitué.

Homogénéiser et couler en boîtes de Pétri 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.

Annexes

Supplément sélectif pour gélose Palcam

Constituants	Quantité
Sulfate de Polymyxine B	5,0 mg
Ceftazidime	10,0 mg
Acriflavine	2,5 mg

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

16) La Polymyxine B inhibe les Gram négatifs, y compris *Pseudomonas aeruginosa*, ainsi que quelques Gram positifs.

17) La Ceftazidime est un antibiotique à large spectre auquel *Listeria* est résistante.

Mode d'emploi.

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 pailleasse.

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

3. Gélose TSAYE

Composants	Quantité
Bouillon tryptone soja (1)	30,0 g
Extrait de levure	6,0 g
Agar Agar	9 à 18,0 g (2)
Eau	1000 ml
(1) Digestat enzymatique de caseïne	17,0 g
Digestat enzymatique de farine de soja	3,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Hydrogénophosphate dipotassique	2,5 g
Glucose	2,5 g
(2) selon le pouvoir gélifiant de l'Agar-Agar	


Annexes

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 ou dans des tubes, selon les préférences. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Les tubes seront refroidis en position inclinée. Les flacons seront refroidis en position debout; au moment de leur utilisation, ils seront fondus, puis refroidis à environ 45°C, puis coulés en boîtes de Pétri.

4. Gélose au sang de mouton :



Composants	Quantité
Digestat enzymatique de tissus animaux	15,0 g
Digestat enzymatique de foie	2,5 g
Extrait de levure	5,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar Agar	9 à 18,0 g
Eau	1000 ml

Figure 35 : Gélose nutritive avec un tube de sang de mouton

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 deux ampoules de sang de mouton défibriné. Mélanger soigneusement, puis répartir en boîtes de Pétri. Ce milieu est utilisé pour la mise en évidence de l'hémolyse.

Annexes

5. Gélose TSA

Composants	Quantité en g/l
Tryptone de caseïne	15
Farine de soja	5
Chlorure de sodium	5
Agar	20

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 deux ampoules de sang de mouton défibriné. Mélanger soigneusement, puis répartir en boîtes de Pétri. Ce milieu est utilisé pour la mise en évidence de l'hémolyse dans le Camp-test.

6. Gélose Mobilité.

Composants	Quantité
Digestat enzymatique de caseïne	20,0 g
Digestat enzymatique de tissus animaux	6,1 g
Agar Agar	3 à 6 g
Eau	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 tubes à raison de 5 ml par tube. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Il s'agit d'un milieu semi-solide qui favorise la mobilité des germes. Il doit donc être régénéré au bain-marie avant utilisation et l'ensemencement se fera alors par piqûre centrale.

Annexes

7. Gélose Chromogénique :



Figure 36: Gélose Chromogénique déshydraté de type (OCLA)



Figure 37: Suppléments du milieu (OCLA) Chromogénique



Figure 38 : OCLA chromogène (solide) et ses suppléments

Il s'agit d'un milieu sélectif utilisé pour les différenciations, isolement et dénombrement de *Listeria monocytogenes* dans les produits alimentaires, les échantillons de l'environnement et les prélèvements pathologiques d'origine animale, même fortement contaminés.

Préparation

Mettre en suspension 34,5 g de milieu de base déshydraté dans 480 ml d'eau distillée ou déminéralisée puis Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution. Répartir en flacons de 500 ml. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes refroidir et maintenir à 44-47°C.

Si le milieu est complet (solide), faire fondre le milieu de base pendant le minimum de temps nécessaire à sa reliquification totale. Refroidir et maintenir à 44-47°C

Annexes

Annexe C

Tableau : Lecture et Interprétation des caractères portés sur la galerie API *Listeria*.

Tests	Composants Actifs	Qté mg/cup.	Réactions	Résultats	
				Négatif	Positif
DIM	Substrat enzymatique	0,106	Différenciation L. innocua /L. monocytogenes	<u>ZYMB/< 3min</u> orange pâle rose beige gris beige	
ESC	Esculine Citrate de fer	0,16 0,024	Hydrolyse (ESCuline)	Jaune pâle	Noir
α-MAN	4-nitrophényl-αD-mannopyranoside	0,045	α-MANnosidase	Incolore	Jaune
DARL	D-Arabitol	0,4	Acidification (D-ARAbitol)		
XYL	D-Xylose	0,4	Acidification (Xylose)		
RHA	L-Rhamnose	0,4	Acidification (Rhamnose)	Rouge / rouge orangé	Jaune/ jauné orangé
MDG	Méthyl-αD-glucopyranoside	0,4	Acidification (Méthyl-αD-Glucopyranoside)		
RIB	D-Ribose	0,4	Acidification (Ribose)		
G1P	Glucose-1-Phosphate	0,4	Acidification (glucose-1-phosphate)		
TAG	D-Tagatose	0,4	Acidification (TAGatose)		

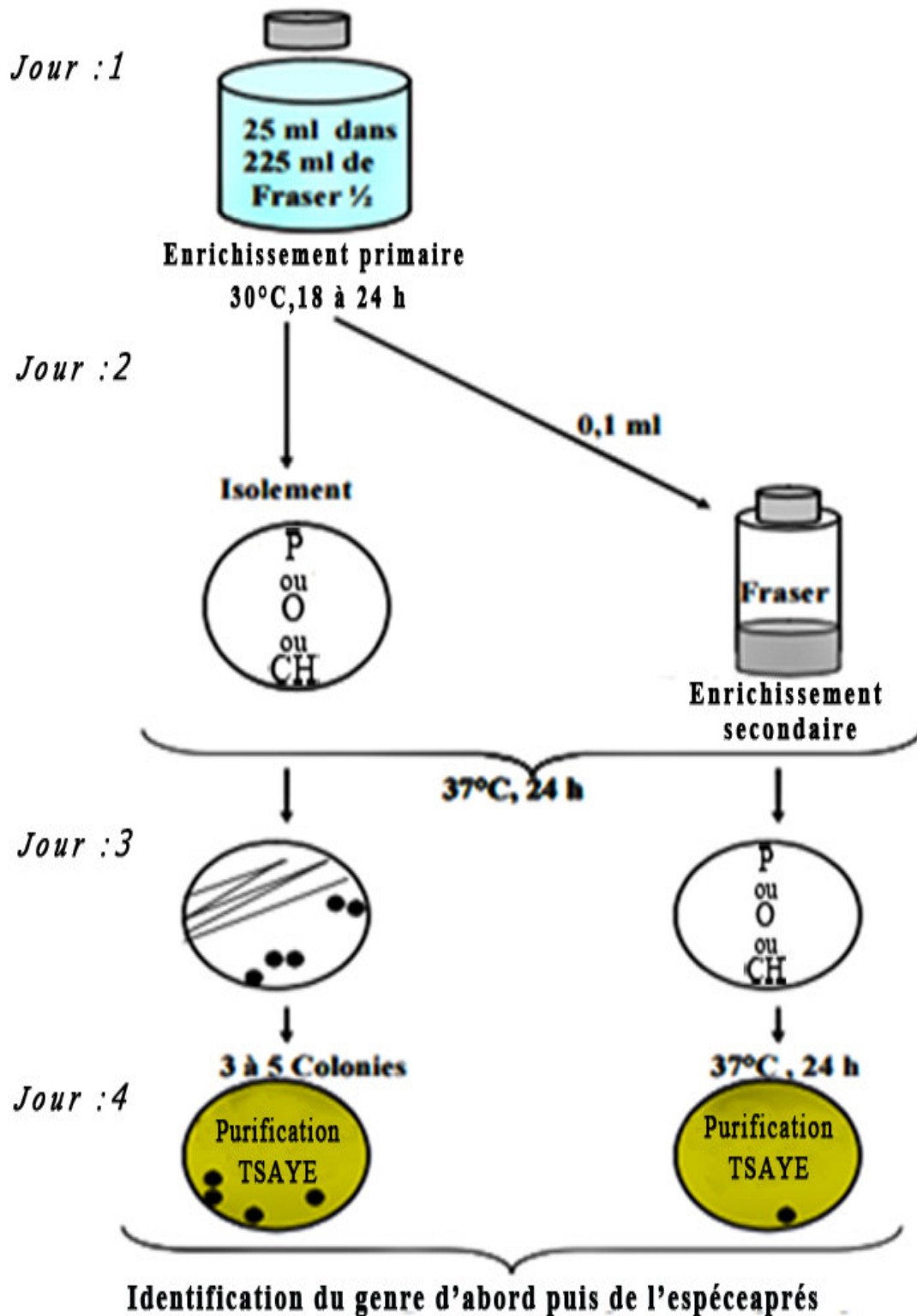
Annexes

Tableau : LISTE DES PROFILS NUMERIQUES DES LISTERIA SUR
GALERIE API

2150	Listeria ivanovii	3750	Listeria ivanovii
2170	Listeria ivanovii	3770	Listeria ivanovii
2250	Listeria ivanovii	6010	Listeria monocytogenes
2310	Listeria seeligeri / ivanovii	6110	Listeria monocytogenes / innocua
2311	Listeria welshimeri	6120	Listeria grayi
2330	Listeria ivanovii	6130	Listeria grayi
2340	Listeria ivanovii	6150	Listeria monocytogenes
2350	Listeria ivanovii	6310	Listeria seeligeri / welshimeri
2370	Listeria ivanovii	6311	Listeria welshimeri
2410	Listeria monocytogenes	6410	Listeria monocytogenes
2510	Listeria monocytogenes	6450	Listeria monocytogenes
2550	Listeria monocytogenes /ivanovii	6510	Listeria monocytogenes
2711	Listeria welshimeri	6520	Listeria grayi
2750	Listeria ivanovii	6550	Listeria monocytogenes
2770	Listeria ivanovii	6701	Listeria welshimeri
3110	Listeria seeligeri/innocua/ivanovii	6711	Listeria welshimeri
3120	Listeria grayi	7110	Listeria innocua
3130	Listeria grayi / ivanovii	7111	Listeria welshimeri
3150	Listeria ivanovii	7120	Listeria grayi
3170	Listeria ivanovii	7130	Listeria grayi
3210	Listeria seeligeri / ivanovii	7301	Listeria welshimeri
3250	Listeria ivanovii	7310	Listeria seeligeri/welshimeri/innocua
3270	Listeria ivanovii	7311	Listeria welshimeri
3300	Listeria seeligeri / ivanovii	7320	Listeria grayi
3310	Listeria seeligeri	7330	Listeria grayi
3311	Listeria welshimeri	7500	Listeria innocua
3330	Listeria ivanovii	7510	Listeria innocua
3340	Listeria ivanovii	7511	Listeria welshimeri
3350	Listeria ivanovii	7520	Listeria grayi
3360	Listeria ivanovii	7530	Listeria grayi
3370	Listeria ivanovii	7701	Listeria welshimeri
3520	Listeria grayi	7710	Listeria welshimeri / innocua
3711	Listeria welshimeri	7711	Listeria welshimeri
3730	Listeria ivanovii	7720	Listeria grayi

Annexe D

Schéma représentatif de la méthode ISO 11290-2



Annexe E

Présentation de l'Institut Pasteur d'Algérie

L'Institut Pasteur d'Alger fut créé en 1894, à l'initiative des Docteurs Jean Baptiste Paulin TROLARD et H. SOULIE.

L'Institut Pasteur d'Algérie fait en outre partie actuellement, du Réseau International des Instituts Pasteur (RIIP), dont la coordination est assurée par l'Institut Pasteur de Paris.

Leur objectif commun est d'élaborer un programme de coopération scientifique notamment pour :

18) La protection de la santé publique, en particulier pour la surveillance et le contrôle épidémiologique des maladies infectieuses et parasitaires (Sida, grippe, tuberculose, paludisme, choléra...)

19) La participation aux grands programmes internationaux ou régionaux de recherche.

1. Principales analyses et prestations de service :

20) Analyse demandée par les services vétérinaire officiels :

21) Inspections programmées, avec plans de surveillance adaptés à la restauration collective et aux organismes hôteliers

22) Investigations relatives aux toxi-infections alimentaires de collectivités (TIAC)

23) Les analyses d'Autocontrôle bactériologiques pour les industriels englobant :

24) Un plan de Maîtrise Sanitaire (PMS)

25) Avec HACCP Contrôle de surfaces, de matières premières, en cours de fabrication, produits finis...

2. Impact de la bactériologie alimentaire sur :

La qualité bactériologique d'un produit alimentaire présente deux aspects :

1. la qualité hygiénique qui caractérise le risque pour la santé du consommateur.
2. la qualité commerciale qui caractérise l'existence ou le risque d'altération du produit.

La maîtrise de ces qualités implique de bonnes pratiques de fabrication, de stockage et de distribution. Le but de l'analyse microbiologique des aliments est de :

26) S'assurer que le niveau de contamination du produit apte à être consommé ne présente aucun risque de prolifération bactérienne et surtout aucun danger pour la santé du consommateur.

27) De conférer à l'aliment une protection intrinsèque contre la prolifération microbienne.

Annexes

L'activité au sein du service de Bactériologie des aliments est très diverse. Il s'agit de contrôler :

28) Les aliments produits au sein des unités de production, et les produits importés inspectés et échantillonnés par les vétérinaires inspecteurs aux postes frontières donc les produits finis. L'objectif est de vérifier la conformité du produit à des critères microbiologiques.

3. Principales analyses bactériologiques :

Les analyse et recherche bactériologique que nous effectués aux niveaux du laboratoire sont:

29)La recherche des micro-organismes responsables d'altération qui regroupent les germes capables d'altérer la qualité marchande de l'aliment (Flore aérobie totale, ASR, levures et moisissures.)

30)Les germes témoins de contamination fécale (Coliformes totaux, coliformes fécaux *Streptocoque D*,)

31) Le deuxième type d'analyse consiste à mettre en évidence les germes suspects d'être à l'origine de toxi-infections alimentaires (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella mineurs*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*...) L'analyse se limite à prendre en charge le plat témoin et à rechercher les germes qui sont potentiellement pathogènes pour le consommateur.

32) Le troisième type de contrôle touche les produits en cours de fabrication ou de préparation (cuisines) ou bien la vérification de l'état hygiénique des lieux de fabrication, de stockage. Pour ces produits des examens en cours de fabrication ou du produit fini sont intéressants et utiles dans un cadre préventif. En cas de problèmes, l'enquête a pour but de situer les contaminations quand elles existent et à envisager les moyens de les enrayer.

33) Qualité bactériologique des cosmétiques et pouvoir inhibiteur intrinsèque.

34) Pouvoir bactéricide des produits d'entretien.

35) Recherche des résidus antibiotiques dans les laits. (Delvotest et technique dediffusion en gélose)

36) Germes capables d'altérer la qualité marchande de l'aliment

Conformément à la Bonne Pratique de Laboratoire et selon ISO 7218 : 2007(F) ainsi que les modes opératoires et instruction de LBAE, il est recommandé que tous les appareils et matériel soient propres et en bon état de fonctionnement.

Annexes

Ainsi avant toute utilisation, il est recommandé de procéder à la vérification du matériel ainsi qu'à son contrôle de ses performances lors de son utilisation et que ce dernier soit adapté à la finalité prévue.