



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique  
جامعة محمد البشير الإبراهيمي



Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

## Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filières : sciences Biologiques  
Spécialité: Microbiologie appliquée

Intitulé :

**SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE SUR CARACTERES ET  
METHODES BACTERIOLOGIQUES HORIZONTALES  
POUR DENOMBREMENT DES ESPECES *LISTERIA*  
*MONOCYTOGENES* DANS LES DENREES ALIMENTAIRES**

Présenté par :

Mme: Baatouche Amina  
Melle: Maadadi Lamis

Devant le jury :

Président : M<sup>me</sup>. SOUAGUI Yasmina M.C-B (Univ Bordj Bou Arreridj)

Encadrant: M. MERIBAI Abdelmalek M.C-B (Univ Bordj Bou Arreridj)

Examineur: M. SADRATI Nouari M.C-B (Univ Bordj Bou Arreridj)

Année Universitaire 2020/2021

## **Remerciement**

*Nous remercions Allah, le Tout Puissant, Qui nous a donné santé et force pour accomplir ce travail.*

*Nous tenons à exprimer notre gratitude à notre directrice de mémoire, Mr. **MERIBAI Abdelmalek**. Nous le remercions de nous avoir guidées, dirigées et aidées.*

*Monsieur et madame les jurées : **SOUAGUI Yasmina** et **SADRATI Nouari** de nous faire l'honneur d'examiner notre travail.*

*Un grand merci à nos familles et à tous nos proches amis qui nous ont accompagnées, aidées, soutenues et encouragées tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à tous les enseignants et toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.*



## Dédicace

*Du profond de mon cœur, je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents, **Ferhat** et **Zineb** pour tous leurs sacrifices, leurs amours inestimables, leurs tendresses, leurs soutiens dans les moments difficiles et leurs encouragements tout au long de mes études. Je vous remercie pour tout ce que vous avez fait pour moi et ce n'est jamais suffisant. Je vous aime et j'espère que vous êtes fières de moi.*

*A mon très cher mari, **Djalal** pour sa présence, sa patience, son soutien et son aide précieux.*

*À mes frères*

*Cher mon frère le docteur **Fares** merci pour leurs soutiens au long de mes études.*

*À ma chère fille **Rahil djana**.*

*À toute ma famille **Baatouche** et **Maadadi***

*À mes amies, la joie de ma vie, **Chaima**, **Meriem**, **Youssra**, **Lamis** et **Ahlam***

*À mes amies et mes camarades.*

*À tous qui m'aiment....*



***Baatouche Amina***



## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*À la lumière de mes yeux, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, le bonheur de ma vie mamère : **Massaouda** qui m'a apporté un appui durant toutes mes années d'études, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*À mon père **Ahmed** pour ses encouragements incessants et son soutien*

*À mes sœurs **chaima, Nadia, Widad** et ses enfants **Sohaib** et*

***Nour El Houda***

*À mon frère **sAbdRahim***

*À mes amis qui j'adore **Amina, Salma, Assia.***

*À toutes la famille MAADADI*

***MAADADI Lamis***



بكتيريا من *Listeria monocytogenes* بدائيات النوى الممرضة ، تنتقل عن طريق اللحوم ومنتجات اللحوم والحليب والجبن وبعض النباتات (السلطات). تشكل قدرة هذه الأنواع على التكاثـر على الأسطح و في سلاسل الغذاء سواء في البرد او في درجات حرارة منخفضة خطراً على المستهلكين وتحدياً تقنياً. هدف الدراسة هو تجميع المعرفة والبيانات ، من خلال التحليل النقدي للبيانات المتعلقة بهذه الانواع، لاستكشاف الطرق المختلفة المستخدمة لعزلها ، وحساب عددها في الغذاء وعلم الأحياء الدقيقة البيئية. الليستيرايوز هو مرض حيواني ، يستهدف الأنواع الحيوانية : الماعز والأبقار والأغنام والجمال . وهي تؤدي عند البشر إلى عدوى ، تكون قاتلة في بعض الأحيان ، مع مسار وبائي. من المحتمل أن تكون مخاطر الإصابة بهذه العدوى خطيرة بالنسبة للنساء الحوامل وحديثي الولادة وكبار السن و / أو الذين يعانون من نقص المناعة. حالياً ، ينتقل نوع *Listeria monocytogenes* الليستريا المستوحدة ، المعروف بأنه عامل ممرض / سام ، بشكل أساسي عن طريق الغذاء. حتى لو كان العزل ، وتحديد الأنواع ، في البداية يتم بناءً على البيانات السريرية ، والتقدم التقني ، والبيانات العلمية ، تم تسجيله ، للاستفادة من تطوير طرق (روتينية) للتطبيق لعزلها / تعدادها وتحديدتها في الغذاء والأحياء الدقيقة البيئية. شمل بحث / تعداد الليستريا تقليدياً طرقاً كلاسيكية ، بناءً على العديد من الإثراء الانتقائي ، متبوعاً بالعزل والتوصيف الانتقائي. تتميز هذه العزلات ثقافياً ، ظاهرياً ، شكلياً ، فسيولوجياً ، كيميائياً حيويًا ، نادرًا على المستوى الجزيئي. في الآونة الأخيرة ، تم تطوير الأساليب الجزيئية ، القائمة على استخدام الاختبارات السريعة ؛ مثل تقنية PCR ، ELISA. يتم حالياً تطبيق هذه الأساليب الجديدة في البحث ولا يمكن التغاضي عن إمكاناتها كاختبارات روتينية.

**الكلمات المفتاحية:** ، الليستريوز ، الأطعمة ، العد ، التقنية . *listeria monocytogenes*

## Résumé

*Listeria monocytogenes*, procaryote, pathogène, transmise par viandes, produits carnés, laits, fromages et certains végétaux (salades). La capacité de l'espèce à s'y multiplier sur les surfaces, dans les chaînes alimentaires, lors de froids, à basse température, constitue un risque pour le consommateur, un défi technologique. L'objectif d'étude est de faire une synthèse des connaissances, données, par analyse critique du DATA relié à l'espèce, d'explorer différentes méthodes utilisées pour son isolement, dénombrement en Microbiologie alimentaire et d'environnement. La Listériose; une zoonose, ciblant les espèces animales: caprines, bovines, ovines et camelines. Chez l'homme, elle se traduit par une infection, parfois mortelle, d'évolution épidémique. Le risque de cette toxi-infection est potentiellement grave pour les femmes enceintes, nouveaux nés, personnes âgées et/ou immunodéprimées.

Actuellement, l'espèce *Listeria monocytogenes*, reconnue comme pathogène/toxinogène, a une transmission essentiellement alimentaire. Même si l'isolement, l'identification de l'espèce, s'est initialement, basée sur des données cliniques, des progrès techniques, des données scientifiques, ont été enregistrés, au profit du développement des méthodes (de routine) d'application pour son isolement/dénombrement et identification en microbiologie alimentaire et d'environnement. La recherche/dénombrement des *Listeria monocytogenes*, impliquait traditionnellement, des méthodes classiques, basées sur plusieurs enrichissements sélectifs, suivi d'isolement sélectif et de caractérisation. Ces isolats, sont caractérisés sur le plan cultural, phénotypique, morphologique, physiologique, biochimique, rarement sur le plan moléculaire. Plus récemment, des méthodes moléculaires, basées sur l'usage des tests rapides, ont été développées; comme la PCR, technique ELISA. Ces nouvelles méthodes, sont actuellement d'application dans la recherche, leur potentiel, comme tests de routine, ne peut être négligé.

**Mots clés:** *Listeria monocytogenes*, Listériose, Aliments, dénombrement, Technique.

## ✓ Abstract

*Listeria monocytogenes*, prokaryote, pathogen, transmitted by meats, meat products, milk, cheese and certain plants (salads). The ability of the species to multiply there on surfaces, in food chains, cold, at low temperature, constitutes a risk for consumers, a technological challenge. The study objective is to synthesize knowledge, data, by critical analysis of DATA related to the species, to explore different methods used for its isolation, enumeration in food and environmental microbiology. Listeriosis; a zoonosis, targeting animal species: goats, cattle, sheep and camels. In humans, it results in an infection, sometimes fatal, with an epidemic course. The risk of this toxi-infection is potentially serious for pregnant women, newborns, the elderly and / or immunocompromised. Currently, the species *L.monocytogenes*, recognized as a pathogen / toxinogen, is mainly transmitted through food. Even if the isolation, the identification of the species, was initially, based on clinical data, technical progress, scientific data, were recorded, for the benefit of the development of (routine) methods of application for its isolation / enumeration and identification in Food and Environmental Microbiology. The search / enumeration of *L. monocytogenes* traditionally involved classical methods, based on several selective enrichments, followed by selective isolation and characterization. These isolates are characterized culturally, phenotypically, morphologically, physiologically, biochemically, rarely at molecular level. More recently, molecular methods, based on the use of rapid tests, have been developed; as PCR, ELISA technique. These new methods are currently being applied in research and their potential as routine tests cannot be overlooked.

**Keywords:** *Listeria monocytogenes*, Listeriosis, Foods, enumeration, Technique.

## Sommaire

<i>Liste des abréviations</i> .....	
<i>Liste des figures</i> .....	
<i>Liste des tableaux</i> .....	
<i>Introduction</i> .....	1

### Chapitre I : Caractères bactériologiques

I. Historique et Taxonomie.....	2
I.1. Morphologiques.....	2
I.2. Biochimiques.....	3
I.3. Cultureux.....	4
I.4. Antigéniques.....	5
I.5. Physiologie de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	6
I.5-1. Température et croissance.....	6
I.5-2. pH et croissance.....	7
I.5 -3. Pression osmotique (Na Cl).....	7
I.5 -4. L'activité de l'eau (aw) .....	7
I. 6. <i>Listeria monocytogenes</i> et les produits alimentaires.....	8
I.6.1. Lait et produits laitiers .....	8
I.6.2. Viandes et produits carnés.....	9
I.6.3. Produits d'origine végétale.....	10
I.7.Pouvoir Pathogène de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	11
I.8.Epidémiologie.....	12

### Chapitre II : Techniques de recherche et dénombrement de listeria dans différents denrées alimentaires

II. Méthodes de recherche et dénombrement des listeria dans les denrées alimentaires.....	15
II.1.Méthode d'isolement.....	16
II.2.Méthodes normalisées.....	16
II.2.a.Méthode de détection (ISO 11290-1) .....	17
II.2.b.Méthode de détection (ISO 11290-2) .....	18
II.2.c.Méthode AFNOR.....	19
II.3.Identification génotypique.....	21



II.3.a.PCR.....	22
II.4.Autres techniques et méthodes de recherche et dénombrement des listeria spp.....	23
II.4.1. Technique USDA.....	23
II.4.2. Réaction ELISA.....	25
II.4.3.L'immuno-capture.....	26
II.4.4Techniques bactériologique et immunoenzymatique de recherche de listeria spp....	27
II.5.Futures Orientations pour la détection et l'identification des <i>L. Monocytogenes</i> .....	28
II.5.1.Tests ciblant l'ARN.....	28
II.5.2. Transcription inverse (RT)-PCR.....	28
II.5.3.PCR en temps réel.....	28
II.5.4.Amplification basée sur la séquence d'acides nucléiques (NASBA).....	29
<b>Conclusion</b> .....	30
<b>Référence</b> .....	
<b>Annexes</b> .....	

## *Liste des abréviations*

<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>AFNOR</b>	Association Française de Normalisation
<b>AFSSA</b>	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
<b>A<sub>w</sub></b>	Activite of water
<b>CAMP</b>	Christie-Atkins-Munch-Peterson-Test
<b>FDA</b>	Food and Drugs Administration
<b>ISO</b>	International Standard Organisation
<b>JORADP</b>	Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire
<b><i>L.m</i></b>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<b>Na Cl</b>	Chlorure de Sodium
<b>ND</b>	Non determine
<b>PCR</b>	Polymérase Chain Réaction
<b>SIDA</b>	syndrome immunodéficitaire acquis
<b>pH</b>	Potentiellhydrogen
<b>USDA</b>	United States Drug Administration
<b>V<sub>a</sub></b>	Variable
<b>ONPG</b>	Ortho-Nitro-Phényl-β -Galactosidase
<b>OMS</b>	Organisation Mondial de la santé
<b>ELISA</b>	Enzyme-linked immunosorbent assay

## *Liste des figures*

<b>Numéro</b>	<b>Intitulé</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	Micrographie de <i>L. monocytogenes</i> (Herro R, 2006).	<b>3</b>
<b>Figure 2</b>	Gènes des <i>Listerias</i> impliqués dans la virulence et infection des humains (Matle <i>et al.</i> , 2020).	<b>11</b>
<b>Figure 3</b>	Overview of isolation, identification and typing methods for <i>Listeria</i> and <i>L. monocytogenes</i> in foods and environmental samples (Gasnov <i>et al.</i> , 2004).	<b>16</b>
<b>Figure 4</b>	Représentation schématique du mode opératoire pour la recherche de <i>Listeria monocytogenes</i>	<b>15</b>
<b>Figure 5</b>	Méthode officielle pour dénombrement des <i>L. monocytogenes</i> (Lebre S E. A. et Mouffok F., 1999 ; JORA N°03, 2006)	<b>20</b>

## *Liste des tableaux*

Numéro	Intitulé	Page
Tableau 1	Caractères biochimiques communs au genre <i>Listeria</i> (Larpent, 2004) (BOUBENDIR Abdelhafid, 2012).	3
Tableau 2	Caractères bactériologiques différenciant les espèces de <i>Listeria</i> (Rocourtet Jacquet, 2000)	4
Tableau 3	Caractères antigéniques des sérovars de <i>Listeria</i> (Larpent, 2000 ; Lawrence et al., 2000 ; Larpent, 2004)	6
Tableau 4	Caractéristiques de croissance des <i>Listeria monocytogenes</i> en conditions de laboratoire (souches dépendantes) (Anonyme, 2020).	8
Tableau 5	Contamination des viandes par <i>L. monocytogenes</i> .	9
Tableau 6	Les espèces animales affectée par Listériose (Lebres E. A, 2006)	13
Tableau 7	Liste non exhaustive d'épidémies de Listériose liées à la consommation de denrées alimentaires contaminées. (Vivant, 2014).	14
Tableau 8	Méthodes de mise en évidence des <i>L. monocytogenes</i> : méthodes normalisées et méthodes validées de détection et de dénombrement (au 01/07/00) (Anonyme., 2000).	21
Tableau 9	Principaux méthodes bactériologiques (Lebres E A, 2006).	24
Tableau 10	Critères de choix d'une technique (Lebres EA, 2006).	24
Tableau 11	Reaction Elisa (Hilan et al., 1998).	26



# Introduction



## Introduction

---

Actuellement *Listeria monocytogenes* est un agent pathogène d'origine alimentaire, ubiquitaire, associé à de nombreuses hospitalisations et à des épidémies de maladies d'origine alimentaire dans le monde (Osman et al., 2020). *L. monocytogenes* provoque la listériose chez les humains et les animaux et peut être trouvée dans des variétés d'aliments et des produits laitiers (Skowron et al., 2019) (Abdeen et al., 2021). La listériose est l'une des infections d'origine alimentaire les plus sévères avec un faible taux de morbidité mais un taux de létalité très élevé (20 à 30% des cas) et un taux de prédilection important pour les personnes immunodéprimées (nouveau-nés, personnes âgées, personnes sous traitement immunosuppresseur, etc.) et les femmes enceintes (Donovan, 2015 ; Goulet et al., 2012). La capacité de cette bactérie à persister dans les produits tout au long de la chaîne alimentaire et à s'y multiplier, y compris à basse température, constitue un risque pour le consommateur (Brisabois, 2008). Depuis la reconnaissance de *L. monocytogenes* en tant qu'agent pathogène d'origine alimentaire, des progrès rapides dans le développement de méthodes d'isolement et d'identification, Initialement s'articulé sur des données cliniques (Gasanov, 2005; Sutherland and Porritt, 1997). L'identification impliquait traditionnellement des méthodes de culture basées sur l'enrichissement sélectif suivis de caractérisation des *Listeria spp.* basée sur la morphologie des colonies, la fermentation du sucre et les propriétés hémolytiques (Gasanov, 2005). Le choix des étapes, des bouillons d'enrichissement, des milieux de culture est un sujet d'une grande controverse. La lenteur est l'inconvénient de ces méthodes classiques, dit de routine, 4 jours à 5 jours d'incubation sont nécessaires pour l'obtention des résultats concluants.

L'objectif de la présente étude est de faire synthèse des connaissances actuelles, par analyse critique des données scientifiques relatives à l'espèce *Listeria monocytogenes*, de passer en revue, les différentes méthodes utilisées pour son isolement, dénombrement et identification, d'explorer / évaluer les perspectives pour des nouveaux tests rapide, pour la surveillance des *listeria sp.* dans les aliments et l'environnement.



**Chapitre I : Caractères  
bactériologiques**



# Chapitre I : Caractères bactériologiques

I .Historique et Taxonomie:

I .1. Morphologiques.

I .2. Biochimiques

I .3. Cultureux

I .4. Antigéniques

I .5. Physiologie de *Listeria monocytogenes*

I.5.1. Température et croissance

I.5.2. pH et croissance

I.5.3. Pression osmotique (Na Cl)

I. 6. *Listeria monocytogenes* et les produits alimentaires

I.6.1. Laits et produits laitiers

I.6.2. Viandes et produits carnés

I.6.3. Produits d'origine végétale

I.7.Pouvoir Pathogène de *Listeria monocytogenes*

I.8.Epidémiologie



### I .Historique et Taxonomie:

*L. monocytogenes*, espèce type du genre *Listeria*, doit son nom à la mémoire du Docteur John Lister (**Boubendir , 2012**), est une bactérie à Gram positif, qui a été isolée pour la première fois en juillet 1924, en Angleterre, par Murray et ses collaborateurs, lors d'une épidémie chez des lapins et des cobayes de laboratoire (épizootie) qui présentaient une mononucléose sanguine et des lésions de nécrose au niveau du foie ( **Herro, 2006**).

Ils lui donnèrent alors le nom de "*Bacterium monocytogenes*" (**Lebres E.A, 2006**) puis renommée "*Listerella hepatolytica*" par Lister en 1927.

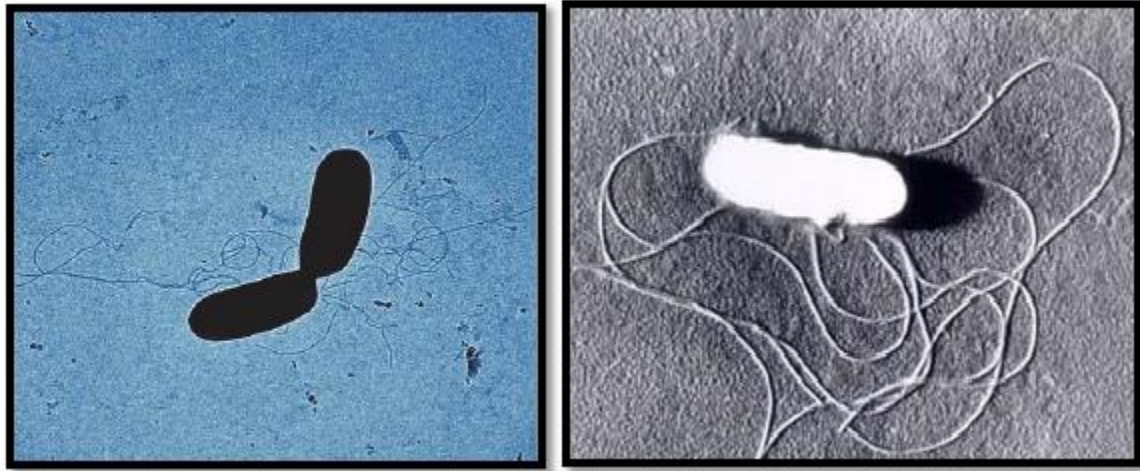
En 1940, Listera proposé la nomenclature de *L. monocytogenes* qui sera retenue par les *Approved Lists of Bacterial Names* (**Euzèby et Tindall., 2004**).

En raison de sa morphologie, Le genre *Listeria* avait d'abord été considéré proche des coryné bactéries. Les études taxonomiques et surtout le séquençage total de l'ARNr 16S ont prouvé que le genre *Listeria* appartenait au phylum des *Firmicutes*, à la classe des *Bacilli* et et à l'ordre des *Bacillales* qui inclut le genre *Bacillus* (**Matle et al., 2020**).

### I.1. Caractères bactériologiques:

#### I.1. Caractères Morphologiques

*L. monocytogenes* est un bacille à Gram positif, se présentant sous forme de bâtonnets réguliers de 0,5-2,0µ m de longueur sur 0,4-0,5 µm de diamètre, aux extrémités arrondies **Figure 1-** (**Lebres E.A, 2006**), regroupés en palissades ou en courtes chainettes, mobile à des températures avoisinant 20-25°C, grâce à une ciliature péritriche mais immobiles ou faiblement mobiles à 37°C. La sporulation et la présence de capsule ne sont jamais observées. Elle est aéro-anaérobie facultative (**Vivant, 2014**).



**Figure1:** Micrographie de *L. monocytogenes* (National Institutes of Health, United States Département of Health and Human Services, February 2004) ( **Herro.,2006**).

## I.2.Caractères Biochimiques

**Tableau 1:** Les Caractères biochimiques communs au genre *Listeria* sp. (Larpen, 2004 ; Boubendir , 2012).

Réactions positives	Réactions négatives
Glucose, fructose, mannose, amygdaline, salicine, cellobiose, maltose, tréhalose, arabitol	ONPG
Rouge de Méthyle	Oxydase
Voges-Proskauer	Gaz en glucose
Réduction du lait tournesol	Uréase
Esculine	Indole
Catalase	Gélatinasse
Mobilité à 22 °C	H <sub>2</sub> S
Type respiratoire : aéro-anaérobie	Xylose, Ribose, Mannitol
Réduction du lait tournesol	

**Tableau 2 : Caractères bactériologiques différenciant les espèces *Listeria* (Rocourt et Jacquet, 2000).**

Species	Beta Hemolytic	Nitrate Reduction	Mannitol	Utilisation Rhamnose	Xylos	Sheepbloodstab	Virulence (Mouse test)
<i>L. monocytogenes</i>	+	-	-	+	-	+	+
<i>L. ivanovii</i>	+	-	-	-	+	+	+
<i>L. innocua</i>	-	-	-	Va*		-	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-	-	Va*	+	-	-
<i>L. seeligeri</i>	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. gravi</i>	-	-	+	-	-	-	-
<i>L. murrayi</i>	-	+	+	Va*	-	-	-

a

### Cractères Cultureux

*Listeria monocytogenes* bactérie aérobie -anaérobie facultative et n'est pas exigent, les milieux de cultures ont habituellement incubé en aérobie, se cultivent facilement sur milieux ordinaire set produisent la phosphatidylcholine phospholipase C (lécithinase), ce dernier est optimal à 1,75 à 2,0% de Na Cl, pH 7,0 à 7,3 et 37 à 40 °C, et la présence d'oxygène n'a eu aucun effet (Coffey, *et al.*, 1996).

*L. m* fermentant le glucose et l'esculine sans produire du gaz ( Herro, 2006). Sur gélose nutritive, elle forme en 24-48 h à 37°C colonies de 0,5 à 1,5 mm de diamètre, translucides, à reflets bleutés en lumière oblique (Anonyme, 2000).

Quelques espèces sont  $\beta$ -hémolytiques sur gélose au sang (5%) ( Herro,2006).

### I.4. Caractères Antigéniques

L'espèce *monocytogenes* est divisée en 13 sérovars (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e, 7) basés sur les antigènes somatiques et flagellaires. Ces sérotypes sont en outre regroupés en quatre lignées de diversité génétique (I – IV).

Lignée I porte sérotypes 1/2b, 3b, 4b, 4d, 4e et 7. Les sérotypes 1/2b et 4b dans lignée I codent pour le facteur de virulence de la listériolysine S qui n'est pas présent dans d'autres lignées. Lignée II contient sérotypes 1/2a, 1/2c, 3a et 3c et héberge souvent plusieurs plasmides résistants aux métaux lourds. Les sérotypes 4b, 1/2a, 4a et 4c appartiennent aux lignées III et 4a, Les sérotypes 4c et atypiques 4b ont été caractérisés comme isolats de la lignée IV). Lignée III et IV les sérotypes sont rarement isolés et ont une génétique distinctive et les caractéristiques phénotypiques, mais se produisent principalement dans ruminants (Matle et *al.*, 2020).

Tableau 3 : Caractères antigéniques des sérovars de *Listeria* (Larpen, 2000 ; Lawrence et al., 2000; L'arpen, 2004)

Espèces	Sérovars	Antigènes Somatiques	Antigènes Flagellaires
<i>Listeria monocytogenes</i>	1/2a	I II (III)	AB
	1/2b	I II (III)	ABC
	1/2c	I II (III)	B D
	3a	II (III) IV	AB
	3b	II (III) IV (XII XIII)	ABC
	3c	II (III) IV (XII XIII)	B D
	4a	(III) (V) VIII IX	ABC
	4ab	(III) V VI VIII IX X	ABC
	4b	(III) V VI	ABC
	4c	(III) V VII	ABC
	4d	(III) (V) VI VIII	ABC
	4e	(III) V VI (VIII) IX	ABC
7	(III) XII XIII	ABC	
<i>Listeria ivanovii</i>	5	(III) (V) VI (VIII) X	ABC
<i>Listeria innocua</i>	6a	(III) V (VI) (VII) (IX)	ABC
	6b	XV	ABC
	4ab	(III) (V) (VI) (VII) IX X XI (III) V VI VII IX X	ABC
<i>Listeria welshimeri</i>	1/2b	I II (III)	ABC
	4c	(III) V VII	
	6a	(III) V (VI) (VII) (IX)	
	6b	XV (III) (VII) IX X	
		XI	
<i>Listeria Seeligeri</i>	1/2a	I II (III)	AB
	1/2b	I II (III)	ABC
	1/2c	I II (III)	B D
	4b	(III) V VI	ABC
	4c	(III) V VII	ABC
	4d	(III) (V) VI VIII	ABC
	6b	(III) (V) (VI) (VII) IX X	ABC
	XI		
<i>Listeria grayi</i> subsp. <i>grayi</i>		(III) XII	E
<i>Listeria grayi</i> subsp. <i>murrayi</i>		(III) XII	E
		XIV	

## I .5. Physiologie de *Listeria monocytogenes*:

### I .5.1. Température et croissance

La température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C (ce point est par ailleurs discuté dans la section consacrée à la Microbiologie prévisionnelle).

La croissance est démontrée expérimentalement entre -2°C et +45°C (Augustin J.C, 1999), capable de peut se multiplier à la température du réfrigérateur (4-6°C) (Groupe de Travail de l'OMS. 1998).

### I .5.2. pH et croissance

Le pH optimal est un pH neutre ou légèrement alcalin, mais le germe peut croître entre pH 4,4 et 9,6. La survie est possible pour des pH inférieurs à 4,3. Cependant, la capacité de croissance de ce germe à pH acide dépend des souches, de la température, de la composition chimique du milieu ou de l'aliment et de l'acide utilisé pour ajuster le pH (Boubendir , 2012).

*L. monocytogenes* se multiplie entre pH 4,6 et pH 9,6 avec un optimum à pH 7,1 à l'optimum thermique (Pearson et Marth, 1990).

*L. monocytogenes* est rapidement détruite au-dessus de pH 10 ou aux pH inférieurs au pH minimum. Elle peut toutefois survivre pendant de très longues périodes à des pH proches de pH 4 comme c'est le cas dans les ensilages de maïs. (Boubendir Abdelhafid, 2012).

### I .5.3. Pression osmotique (Na Cl)

*L. 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).

### I .5.4. L'activité d'eau (aw)

La valeur optimale d'activité d'eau (aw) pour la croissance de *L. monocytogenes* est d'environ 0,97. Néanmoins, *L. monocytogenes* peut se multiplier à des valeurs d'aw de 0,92-0,93 (ce qui équivaut à une solution de 10% de Na Cl). L'activité de l'eau minimale pour la croissance pour *L. monocytogenes* est de 0,90 quand le glycérol est utilisé pour ajuster ce facteur dans le milieu, de 0,92 ou 0,93 avec du Na Cl et du saccharose ou si le milieu employé est à base d'extrait de viande.

**Tableau 4 :** Caractéristiques de croissance des *Listeria monocytogenes* en conditions de laboratoire (variables selon les souches) (Anonyme, 2020).

	Min.	Opt.	Max.
Température (°C)	-2	30- 37	45
Ph	4,0- 4,3	7	9,6
Aw	0,92	0,99	/
%Na Cl inhibant la Croissance	/	/	12 %

### I.6. *Listeria monocytogenes* et les produits alimentaires :

Dans le domaine de l'agroalimentaire, il faut savoir que 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 de sa fabrication, de 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).

#### I.6.1. Lait et produits laitiers

Les contaminations par le germe *L. monocytogenes* et les pratiques à risque concernant l'industrie laitière ont été décrites (Perni et al., 2005 ; Aygun et Pehlivanlar, 2006). Selon le type de production, l'incidence de *L. monocytogenes* est plus ou moins importante et cette industrie serait particulièrement touchée du fait des procédés et des conditions de fabrication, en particulier de l'humidité ambiante, favorables à la survie et à la croissance des *L. monocytogenes*. Il serait néanmoins nécessaire de signaler que le lait cru possède son propre pouvoir de défense (Système Lactoperoxydase Antimicrobien) contre les envahisseurs microbiens. *L. monocytogenes* peut être isolée à partir des fromages à pâte molle ou semi molle, à pâte persillée, à pâte pressée ou à pâte fraîche (Millet et al., 2006). Le comportement des *L. monocytogenes* est très variable selon les fromages (Larpen, 1997).



### I.6.2. Viandes et produits carné

Tous les secteurs de transformation de la viande (abattage et découpe), peuvent être contaminés par cette bactérie. La contamination peut aussi bien survenir au niveau des matières premières que lors de la transformation et la distribution des produits finis. Ainsi, la présence du pathogène a été observée dans les réservoirs de stockage ou bien encore dans les ateliers de transformation (Vivant, 2014), les produits réfrigérés prêts à la consommation (par exemple : tartares de viande) sont devenus très populaires considérés comme les plus à risques (Overney, A. 2016).

Les contaminations résultant de la présence de *L. monocytogenes* ont un impact socio-économique pour les industries du fait des maladies qui en résultent par fois chez le consommateur (Vivant, 2014).

**Tableau 05:** Contamination des viands par *L.monocytogenes* (Anonyme, 2000).

Espèce	Prélèvements	Pourcentage d'échantillons positifs	Référence
<b>Volailles</b>	Peau de cou de poulet	47 %	Skovgaard et Morgen (1988)
	Peau de cou de poulet	60 %	Pini et Gilbert (1988)
	Ecouvillonnage de poulets	14,7 %	Gitter (1976)
	Rinçage de carcasses	23 %	Bailey <i>et al.</i> (1989)
	Peau, foie et ailes	13,1 %	Genigeorgiset <i>al.</i> (1989)
	Peau de dinde	15 %	Sk
	Peau de cou de poulet	14,3 %	Genigeorgiset <i>al.</i> (1990)
	Peau de poulet	50 %	Toquin et Lahellec (1990)
<b>Porcs</b>	Carcasses	3,2 %	Gérard (1992)
	Carcasses	2à7%	Van der Elzen et Snijders (1993)
	Jambons	27 %	Van der Elzen et Snijders (1993)
	Echines	11 %	Van der Elzen et Snijders (1993)
	Collier, épaules	36 %	Van der Elzen et Snijders (1993)
	Viandes fraîches	36 %	Van der Elzen et Snijders (1993)
	Découpe de porc	19 %	Snijders (1993)



## Chapitre I : Caractères bactériologiques

---

(Contamination des viands par *L.monocytogenes* ) (Anonyme,2000).

	Dos	5,2 %	Van der Elzen et
	Epaule découennée	8,3 %	Snijders (1993)
	Gorge	5,2 %	Beckerset al. (1989)
	Hampe	0%	Nicolas et Vidaud
	Jambon (viande)	8,3 %	(1987)
	Poitrine (viande)	4,2 %	Corrége (1997)
	Potrine (couenne)	6,3 %	Corrége (1997)
	Jambon (couenne)	10,4 %	Corrége (1997)
			Corrége(1997)
			Corrége (1997)
			Corrége (1997)
			Corrége (1997)
			Corrége(1997)
<b>Bovins</b>	Viande hachée	28 %	Skovgaard et Morgen
	Viande hachée	12 %	(1988)
	Viande hachée	7,5 %	Bind et Delaval (1994)
	Muscle	7%	Yu <i>et al.</i> (1995)
	Muscle	21 % à 26 %	Gohil <i>et al.</i> (1995)
			Leistner <i>et al.</i> (1989)

### I.6.3.Produits d'origine végétale

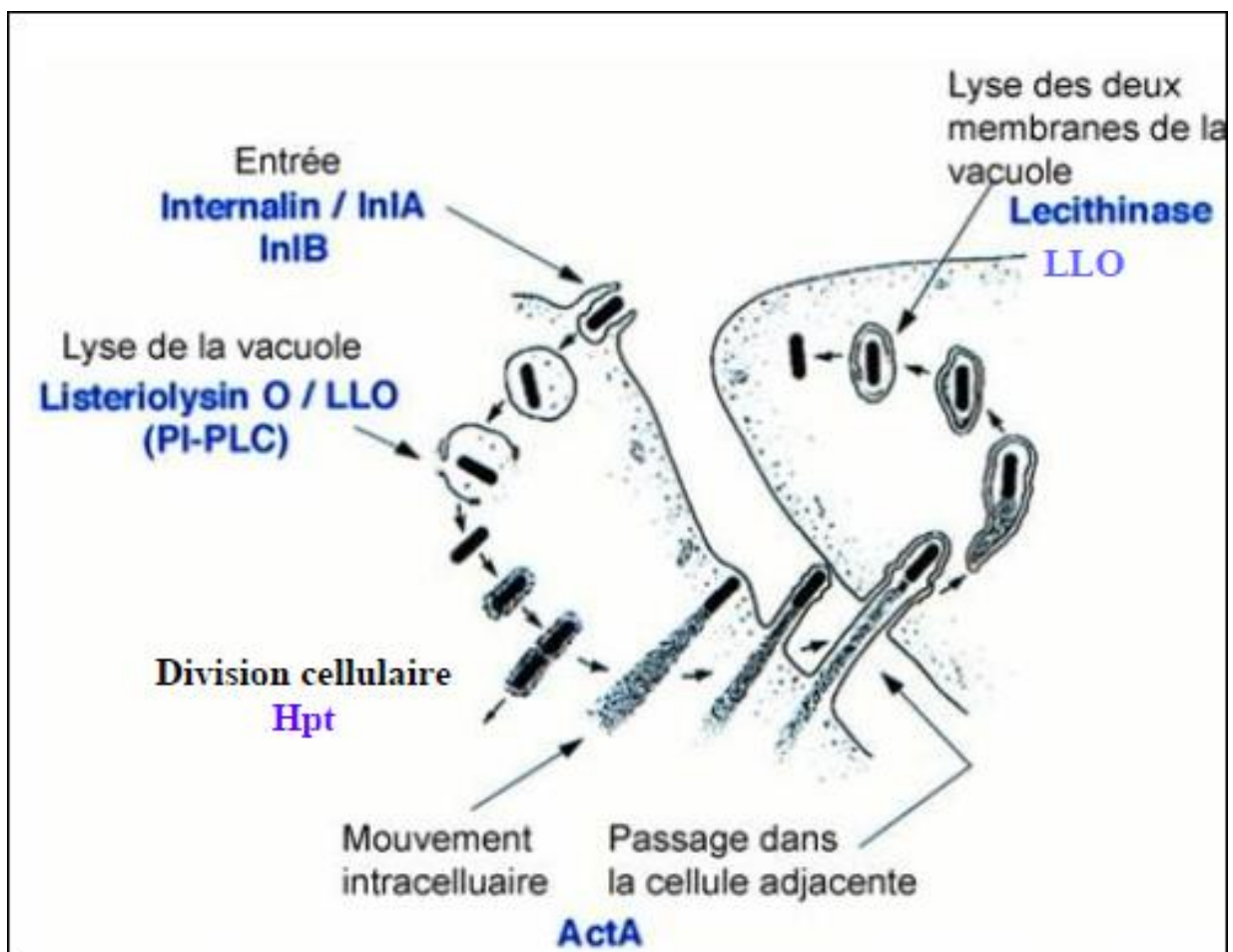
Les légumes peuvent être un vecteur de transmission de la listériose (Anonyme, 2000). La présence de *L. monocytogenes* dans le sol implique un risque de transfert de la bactérie à la végétation et aux productions agricoles végétales. La contamination des productions végétales peut avoir lieu lors de la germination des graines dans le sol.

Un autre mode de transmission aux productions végétales est par contact direct des légumes lors de leur développement dans le sol. (Vivant, 2014).

*L. monocytogenes* peut se multiplier à la surface des légumes si le pH est favorable, à des températures de 3°C ou plus principalement les carottes, les salades et tomate (Anonyme, 2000).

### I.7. Pouvoir Pathogène de *Listeria monocytogenes* :

Au sein du genre *Listeria*, l'espèce *Listeria monocytogenes* est la principale espèce pathogène chez l'homme. Leur pathogénicité est multifactorielle, résultant de l'activité d'au moins neuf produits géniques, la maladie de cette bactérie est Listériose se présente généralement comme une infection excrément sévère, bien qu'une Listériose se présente une infection subclinique puisse également se produire sous forme de maladie gastro-intestinale légère ou de type grippal Il est généralement admis que la consommation d'aliments contaminés (McLauchlin, 1997).



**Figure 2** : Représentation schématique des différentes étapes du cycle d'infection cellulaire de *L. monocytogenes* et des principaux facteurs bactériens associés ( Herro, 2006).

### I.8. Épidémiologie :

*L. monocytogenes* est un pathogène, responsable d'infections graves, parfois mortelles, évoluant sous forme épidémique (Listériose) **(Le Monnier A. & Leclercq, A. 2009)**.

Les aliments contaminés sont le principal facteur de transmission non seulement les produits animaux mais aussi les fruits et légumes secondairement contaminés **(Pasquier & Christian Chuard, 2017)**.

Le risque de cette infection est particulièrement grave pour les femmes enceintes, les nouveau-nés, les patients d'âges extrêmes et les patients immuno-supprimés et se manifestent généralement sous forme de gastroentérite, bactériémie, méningo-encéphalite ou infection materno-fœtale (Pasquier & Christian Chuard, 2017).



## Chapitre I : Caractères bactériologiques

**Tableau 6 : Les espèces animales affectées par Listériose (Lebres E.A, 2006)**

<b>Espèce</b>	<b>Expression maladie</b>	<b>Fréquence /Apparition</b>
<b>Bovins</b> <b>Ovins</b> <b>Caprins</b> <b>Ruminants sauvage : Chevreuils</b> <b>Lamas , Buffles</b>	Formes cliniques Formes cliniques Formes cliniques plus rares	Maladie sporadique ou endémique possible, rares Enzooties dans les troupeaux
<b>Equins</b> <b>Baudet</b>	Formes cliniques plus rares	Rares cas dans les élevages
<b>Porcins</b>	Formes cliniques plus rares Porteurs sains surtout	Rares cas dans les élevages
<b>Carnivores</b> : Chiens, Chats <b>Carnivores sauvage</b> : Renard Raton ,Laveur ,Furet, Vison Martre, Léopard	Formes cliniques très rares Porteurs sains	
<b>Lagomorphes</b> : Lièvre , Lapins Rongeurs, Rat, Souris, Cobaye , Chinchilla, Gerbille ,Lemming Ecureuil , Campagnol	Formes cliniques Formes cliniques et Porteurs sains	Cas sporadiques dans les élevages Formes endémiques ou enzootiques
Oiseaux	Formes cliniques	Cas sporadiques dans les élevages
<b>Volailles</b> : Poule ,Dindon ;Pintade, Canard , Oie <b>Pigeon</b> : Merle , Moineau ,Mouette, Freux ,Corbeau Gibier à Plumes, Faisan ,Perdrix, <b>Perroquet</b> , Canari ,Hibou des neiges	Formes cliniques très rares Porteurs sains	Cas individuels
<b>Poisson</b> :Carpe ,Tanche ,Truite ,Silure	Forme cliniques	Cas sporadiques dans les étangs
<b>Batraciens</b> :Grenouille, Crapaud ,Salamandre	/	Porteurs sains
<b>Reptiles ophidiens</b> : Serpents	/	Porteurs sains
<b>Reptiles chéloniens</b> : Tortues	/	Porteurs sains

## Chapitre I : Caractères bactériologiques

---

**Tableau 7:** Liste non exhaustive d'épidémies de Listériose liées à la consommation  
De denrées alimentaires contaminées (**Vivant, 2014**)

Foyer de l'épidémie	Année	Aliment contaminé	Nombre de patients contaminés	Taux de mortalité (%)	Référence
Canada	1981	Salade de choux	41	34	(Schlech <i>et al.</i> , 1983)
France	1992	Langue de porc en gelée	279	23	(Rocourt <i>et al.</i> , 1993, Goulet, 1995, Jacquet <i>et al.</i> , 1995)
France	1993	Rillette	38	ND*	(Goulet, 1995, Goulet <i>et al.</i> , 1998)
Suisse	1994	Fromage	57	32	(Büla <i>et al.</i> , 1995)
France	1995	Brie	36	20	(De Valk <i>et al.</i> , 2005)
France	1997	Fromage	14	13	(De Valk <i>et al.</i> , 2005)
Italie	1997	Salade de maïs	1566	ND	(De Valk <i>et al.</i> , 2005)
Etats-Unis	1998	Hot-dog	108	17	(Graves <i>et al.</i> , 2005)
Finlande	1999	Beurre	18	22	(Autio <i>et al.</i> , 1999, De Valk <i>et al.</i> , 2005)
France	2000	Langue de porc en gelée	32	ND	(De Valk <i>et al.</i> , 2005)
Suisse	2005	Fromage	12	42	(Bille <i>et al.</i> , 2006)
Allemagne	2006	Fromage		189	(Koch <i>et al.</i> , 2010)

qq					
Norvège	2007	Camembert	17	18	(Johnsen <i>et al.</i> , 2010)
Canada	2008	Charcuterie	57	39	(Taillefer <i>et al.</i> , 2009)
Danemark	2009	Plat préparé	14	14	(Smith <i>et al.</i> , 2011)
Autriche-Allemagne	2010	Fromage	14	29	(Fretz <i>et al.</i> , 2010)
Etats-Unis	2011	Pastèque	147	22	(Shaun <i>et al.</i> , 2011)

ND\*: Non Déterminé







**Chapitre II: Techniques de recherche et  
dénombrement de *Listeria* sp dans différents  
denrées alimentair**



## **Chapitre II: Techniques de recherche et dénombrement de *Listeria* sp. dans différents denrées alimentaires**

### **II. Méthodes de recherche et dénombrement des *Listeria* dans les denrées alimentaires**

#### II.1. Méthode d'isolement

#### II.2. Méthodes normalisées

##### II.2.a. Méthode de détection (ISO 11290-1)

##### II.2.b. Méthode de détection (ISO 11290-2)

##### II.2.c. Méthode AFNOR

#### II.3. Identification génotypique

##### II.3.a. PCR

#### II.4. Autres méthodes de recherche et dénombrement des *Listeria spp.*

##### II.4.1. Technique USDA

##### II.4.2. Réaction ELISA

##### II.4.3. L'immuno-capture

##### II.4.4. Techniques bactériologique et immunoenzymatique de recherche de *Listeria spp*

#### II.5. Futures Orientations pour la détection et l'identification des *L. monocytogenes*

##### II.5.1. Tests ciblant l'ARN

##### II.5.2. Transcription inverse (RT)- PCR

##### II.5.3. PCR en temps réel

##### II.5.4. Amplification basée sur la séquence d'acides nucléiques (NASBA)

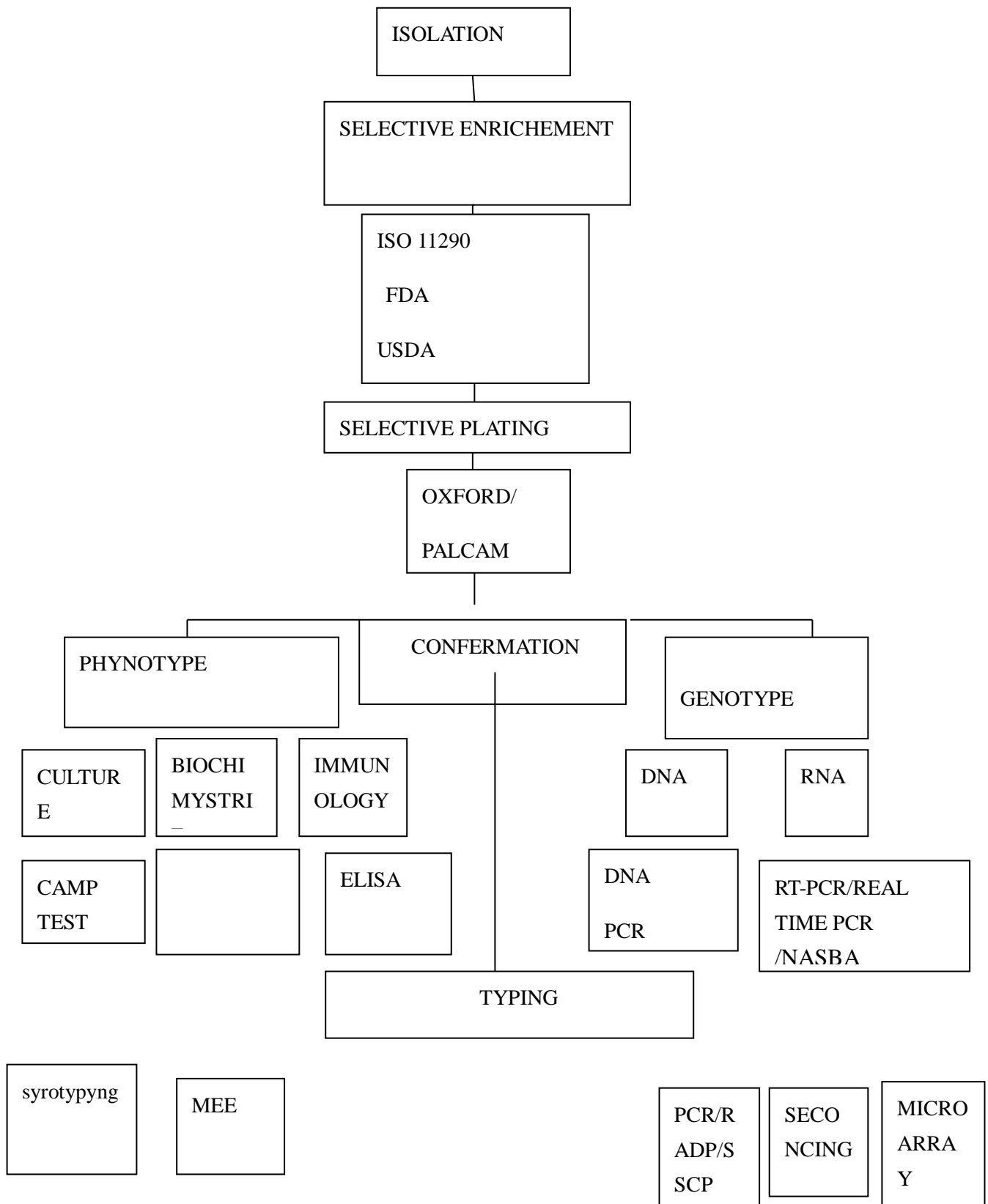
## II. Méthodes de recherche et dénombrement des *Listeria* sp dans les denrées alimentaires

---

### II. Méthodes de recherche et dénombrement de *Listeria* dans les denrées alimentaires:

Les méthodes développées, ces dernières années pour la détection et l'isolement de *Listeria* spp doivent, prendre en compte la complexité des différentes matrices alimentaires associés à la présence éventuelle d'un faible nombre de *Listeria* parmi une Flore microbienne associée, parfois très importante dans ces aliments (**Anonyme, 2000**). Les *Listerias* ne sont pas des germes exigeants, leur culture est obtenue sur les milieux classiques tels qu'une gélose nutritive ou une gélose au sang. Dans les essais de culture traditionnelle, il est très difficile de détecter et d'énumérer *L. monocytogenes* dans les aliments surtout quand celle-ci est largement surpassée en nombre par les autres *Listeria* spp. Spécialement *L. innocua*. Par conséquent, la détection de *Listeria* spp. est souvent utilisée comme indication de la présence de *L. monocytogenes* (**Cocolin et al., 2002**)

II. Méthodes de recherche et dénombrement des *Listeria* sp dans les denrées alimentaires



**Figure 3:** Overview of isolation, identification and typing methods for *Listeria* and *L. monocytogenes* in foods and environmental samples (Gasnov *et al.*, 2005).

L'isolement des espèces de *Listeria* n'est pas trop difficile, excepté pour les aliments très lourdement pollués par les autres espèces microbiennes. Les expériences passées dans les laboratoires cliniques ont indiquées que les essais d'isolement de l'organisme à partir d'échantillons biologiques positifs par culture directe du matériel suspect dans un milieu conventionnel échouaient souvent, alors que la proportion de l'isolement est améliorée quand les échantillons subissaient une période d'enrichissement à froid (**Vardar-Ünlü et al. , 1998**). En général, la recherche des *Listeria monocytogenes*, nécessite au moins quatre étapes successives.

L'identification impliquait traditionnellement des méthodes de culture basées sur l'enrichissement sélectif et suivi de la caractérisation des *Listeria* s

Les souches isolées ont été caractérisées sur le plan morphologique et cultural par observation microscopique et observation de l'aspect des colonies, sur le plan biochimique par des tests d'identification classiques et la galerie Api *Listeria* et, enfin sur le plan moléculaire par l'amplification des gènes de virulences (*hly*, *plcA*, *plcB*, *iap* ) et par les puces à ADN (**Gasanov, 2005**)

### **. II.1. Méthode d'isolement :**

Historiquement, il a été difficile d'isoler la *Listeria* à partir d'échantillons d'aliments ou d'autres, ce qui explique pourquoi il est resté inaperçu en tant que pathogène alimentaire majeur jusqu'à récemment. (**Welshimer , 1981**).

Quelle que soit la méthode normalisée, l'isolement des colonies se fait sur des milieux sélectifs : gélose Oxford et/ou PALCAM., Ces géloses de type PALCAM ou Oxford ne permettent pas de différencier les différentes espèces de *Listeria*, la méthode normalisée demande le repiquage de cinq colonies par boîte d'isolement pour procéder à l'identification de l'espèce. Le risque de faux-négatifs augmente avec la proportion de *L. Innocua* présente dans le milieu (**Anonyme, 2000**).

De faibles quantités de *L. Innocua* peuvent masquer la présence de *L. monocytogenes* à l'issue de la procédure d'enrichissement (Petran et Swanson, 1993). *L. Innocua* aurait un « avantage sélectif » sur *L. monocytogenes* par une croissance plus rapide en bouillons sélectifs (de type Fraser) ce qui conduit à des rapports de concentration *L. monocytogenes* / *L. innocua* très faibles.

D'après (Beumer *et al.*, 1996), cette différence serait due à l'acriflavine, à laquelle *L. monocytogenes* serait plus sensible que *L. innocua*. D'autres auteurs suggèrent que l'avantage en faveur de *L. innocua* au cours de la procédure d'enrichissement pourrait être dû à une inhibition de *L. monocytogenes* par *L. innocua* (Yokoyama *et al.*, 1998). En effet, un effet inhibiteur de *L. innocua* a été bien démontré contre *L. monocytogene*. le mécanisme en serait une production de bactériocine, ou plus vraisemblablement des particules phagiques. On peut supposer que cette action s'exprime de façon plus forte dans un milieu liquide d'enrichissement (libre diffusion des particules) qu'in situ dans l'aliment solide. (Yokoyama *et al.*, 1998).

### II.2. Méthodes normalisées :

La méthode ISO 11290 a un enrichissement en deux étapes processus :

l'échantillon

alimentaire est d'abord enrichi en demi Fraser bouillon pendant 24 h, puis une aliquote est transférée à pleinfort bouillon Fraser pour un enrichissement supplémentaire. Fraser Le bouillon contient également les agents sélectifs acriflavine et acide naladixique ainsi que l'esculine, ce qui permet la détection d'activité b-D-glucosidase par *Listeria*, provoquant un noircissement du milieu. Le primaire et le secondaire enrichis le bouillon est étalé sur des géloses Oxford et PALCAM (**Gasanov et al.,2005**).

Dans la méthode internationale normalisée NF EN ISO 11290- 1. Vingt-cinq Grammes d'échantillon sont placés dans 225 ml de bouillon d'enrichissement de Fraser "demi" etbroyés au Stomacher. Le bouillon est incubé 24 heures à 30 °C puis isolé sur géloses PALCAM et Oxford. Un aliquote (0,1 ml) du bouillon Fraser "demi" est ensemencé dans 10ml de bouillon d'enrichissement Fraser incubé 48 heures à 37°C. Après ce temps d'incubationle bouillon d'enrichissement Fraser est isolé sur géloses PALCAM et Oxford.

Les milieux gélosés sont incubés à 37 °C et observés tous les jours durant 2 jours.

Lescolonies suspectes (5) sont repiquées sur des géloses non sélectives comme des géloses trypticase soja aux extraits de levure (incubées durant 18-24 heures à 37 °C) puis identifiées (**Euzeby, 2000**).

#### II.2.C. Méthode *AFNOR* :

La recherche de *L. monocytogenes* par la Méthode *AFNOR* V08 055 nécessite

Plusieurs étapes et est réglemantée dans le JORADP dans l'Arrêté du 21 Chaâbane

1426 correspondant au 25 septembre 2005 rendant obligatoire la méthode de recherche de

*Listeria monocytogenes* dans le lait et les produits laitiers (**Lebres . et Mouffok.,**

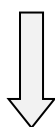
**1999**).

## Dénombrement de *Listeria monocytogenes*

### Pré- enrichissement

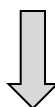
Introduire aseptiquement 25 g de produit a analysé  
dans 255ml de bouillon Fraser ou UVM I

Incuber a 30 °C pendant 24 h



### Enrichissement

Prendre 0.1 ml du bouillon de pré\_ enrichissement dans  
un tube contenant 10 ml de bouillon Fraser ½ ou UVM II  
Incuber a 30 C pendant 24 h



### Isolement

L'isolement se fait à partir du bouillon Fraser ½ ou UVM  
II sur une boite de gélose PALCAM agar

Incuber a 37 C pendant 24 h



### Identification biochimique

**Figure 5** : Méthode officielle pour dénombrement des *L. monocytogenes* (Lebres E. A. et Mouffok F., 1999; JORA N:03, 2006)



**Tableau 8:** Méthodes de mise en évidence des *L. monocytogenes* : méthodes normalisées et méthodes validées de détection et de dénombrement (**Anonyme, 2000**).

Méthodes normalisées	
De référence NF/EN ISO 11290-1 NF/EN ISO 11290-2	Détection Dénombrement
De routine NF V08 055	Détection
Méthodes validées AFNOR (producteur) (date(s) de validation)	
Culture RAPID L. MONO™ (BIORAD- PASTEUR) (15/09/98)	Détection
Test Immunoenzymatique LISTERIA RAPID TEST™ LISTERIA Sp. (OXOID) (11/04/95-11/04/99)	Détection
VIDAS™ <i>Listeria</i> (BIOMERIEUX) (17/06/94-09/06/98)	Détection
VIDAS™ <i>L. monocytogenes</i> (BIOMERIEUX) (26/03/96)	Détection
KIT TRANSIA (DIFFCHAMP) (21/11/95-11/02/00)	Détection
Hybridation des acides nucleique GENETRAK™ <i>L. monocytogenes</i> (DIFFCHAMP) (07/02/95- 18/01/99)	Détection
ACCUPROBE™ <i>L. monocytocenes</i> (BIOMERIEUX) (07/02/95-18/01/99)	Détection
Amplification génique PROBELIA™ <i>L. monocytogenes</i> (BIORAD- PASTEUR) (21/01/98)	Détection

### II.3. Identification géotypique :

#### II.3.1.PCR

La PCR est une technique par laquelle des segments d'ADN sont amplifiés à l'aide d'un ADN polymérase thermostable et deux amorces (courtes séquences d'ADN spécifiques à un gène particulier) et la des fragments amplifiés sont ensuite détectés, généralement en utilisant électrophorèse sur gel d'agarose. (**Mullis, , 1986**).

La détection par PCR est effectuée après enrichissement sélectif des échantillons pendant 24 à 48 h. Il a été montré que le test direct d'échantillons sans l'enrichissement donne des résultats peu fiables (**Allerberger, 2003**).

La PCR a l'habilité d'amplifier spécifiquement des cibles d'ADN présentent à faibles concentrations.

Elle offre une spécificité exquise, une sensibilité sans égal, une rapidité de conduite, et Une automatisation simple pour la détection de *L. monocytogenes*.

Les amplifias d'ADN produits peuvent être séparé par électrophorèse sur gel d'agarose, et détecté par les colorants d'ADN, par des sondes nucléiques, par séquençage, etc.

L'exploitation moléculaire des différences entre les gènes ARNr 16S et 23S, des régions intergéniques : *hly*, *inlA*, *inlB*, *iapet* autres gènes a permis de différencier rapidement et précisément les espèces de *Listeria* (Graham *et al.*, 1996).

Le sérotypage de *Listeria monocytogenes* est couramment utilisé comme premier niveau de caractérisation dans la surveillance épidémiologique des isolats alimentaires et cliniques et est donc largement accepté. L'étude a inclus 1204 souches de *Listeria* collectées dans des produits alimentaires en France, de mars 2005 à octobre 2006. Deux tests PCR multiplex ont été conçus pour regrouper les souches de *L. monocytogenes* en cinq sérogroupes moléculaires : IIa, IIb, IIc, IVa, IVb en accord avec les sérotypes les plus fréquemment rencontrés. L'amplification du gène *prfA* a été ajoutée à la PCR multiplex pour vérifier l'espèce *L. monocytogenes*; quarante-huit (4 %) des isolats testés appartenaient au genre *Listeria* mais n'étaient pas *L. monocytogenes*. En utilisant cette première PCR multiplex, la concordance entre les méthodes conventionnelles et moléculaires était de 90,6 %, 97,8 %, 100 % et 100 %, respectivement pour les sérotypes 1/2a, 1/2c, 1/2b et 4b. Des résultats erronés ont été observés pour certaines souches atypiques 1/2a, 3a et 1/2c. Par conséquent, ce manque de spécificité a été résolu en utilisant un test PCR supplémentaire basé sur l'amplification du gène *flaA*, une cible spécifique des souches 1/2a et 3a. Lors de l'application du deuxième test PCR aux souches de sérogroupes moléculaires IIa et IIc, un accord total a été obtenu entre les méthodes de sérotypage moléculaire et conventionnelle avec un niveau de discrimination inférieur pour la méthode moléculaire (Kérouanton *et al* 2010).

La méthode PCR, qui permet également la détection simultanée de *L. monocytogenes* et *L. innocua*, a été évaluée par rapport au biotypage conventionnel avec 200 souches de *Listeria* pertinentes pour l'hygiène alimentaire (Allerberger , *et al* 1997).

## **II. 4. Autres techniques et méthodes de recherche et dénombrement des *Listeria* spp:**

### **II.4.1. Technique USDA**

D'autres méthodes de référence sont largement utilisées pour des groupes d'aliments particuliers. Par exemple, le protocole USDA est souvent la méthode de choix pour la viande, les œufs, la volaille et échantillons environnementaux. Cet enrichissement en deux étapes méthode utilise une modification de l'Université du Vermont Milieu (UVM) contenant de l'acri flavine et de l'acide naladixique pour l'enrichissement primaire, suivi d'un enrichissement secondaire dans du bouillon Fraser et d'un placage sur Oxford modifié (MOX) gélose contenant les agents sélectifs moxalactame et le sulfate de colistine (Donnelly, 2002).

L'utilisation du bouillon Fraser permet la détection présomptive de *Listeria* spp. en moins de 48 h, permettant ainsi d'importantes économies de coûts et de temps par rapport aux méthodes existantes.

Le bouillon Fraser a été développé en modifiant le bouillon d'enrichissement secondaire de l'USDA par l'ajout de chlorure de lithium et de citrate d'ammonium ferrique. L'hydrolyse de l'esculine dans le bouillon Fraser entraîne la production d'un précipité noir. Étant donné que toutes les *Listeria* spp. hydrolysant l'esculine, les cultures qui ne noircissent pas peuvent être considérées comme exemptes de *Listeria*. L'efficacité du bouillon Fraser a été documentée en testant un large éventail d'échantillons alimentaires et environnementaux provenant d'installations de transformation des aliments en parallèle avec les méthodes utilisées par les organismes de réglementation gouvernementaux. Le bouillon Fraser inoculé à partir de l'enrichissement primaire de l'USDA s'est avéré plus sensible que le bouillon Fraser inoculé à partir de l'enrichissement FDA ou la méthode existante de la FDA dans l'analyse des produits de crème glacée (Gasnov *et al.*,2005).

**Tableau 9:** Principale méthodes bactériologiques (Lebres E A, 2006).

<b>Méthodes</b>	<b>NF V08-055 / ISO 11290-1</b>	<b>FIL</b>	<b>FDA</b>	<b>USDA</b>
Applications	Tous les aliments	Laits et Produits laitiers	Laits et produits laitiers	Viandes et produits carnés
Enrichissement primaire	Fraser 24h , 30°C	LEB 48 h , 30°C	LEB 24 à 48 h , 30°C	UVM 24 h , 30°C
Enrichissement secondaire	Fraser 1/2 24 à 48h , 37°C	-	-	Fraser 24 h , 30°C
Isolement	Palcam ou Oxford 24 à 48h , 37°C	Oxford 48 h , 37°C	MMA 48 h , 30°C	Oxford modifié 24 h , 30°C
Rapidité	2 à 5 jours	4 jours	2 à 4 jours	3 à 4 jours

**Tableau 10:** Critères de choix d'une technique (Lebres E. A, 2006).

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

Dix-neuf laboratoires à travers le Canada ont participé à une étude comparative de la « FDA » et « USDA » méthodes de détection de *Listeria monocytogenes* dans les aliments et les échantillons environnementaux. Les résultats montrent que la période d'enrichissement de la méthode FDA peut être raccourcie de 7 à 2 jours sans réduisant considérablement le nombre d'échantillons positifs. Avec un nombre limité d'échantillons, l'USDA La méthode s'est avérée légèrement plus efficace pour isoler *L. monocytogenes* que la méthode FDA. Fraser le bouillon, en principe, s'est avéré utile comme outil de dépistage mais n'est pas très sélectif. Gélose d'Oxford et le milieu chlorure de lithium-phényléthanol-moxalactame était meilleur que la gélose de McBride modifiée pour isoler ce micro-organisme (Warburton *et al.*, 1991).

### II.4.2. Réaction ELISA:

Test immuno-enzymatique (ELISA) Les méthodes ELISA qui utilisent un anticorps immobilisé sur un puits de microtitrage pour la capture d'antigène en combinaison avec un anticorps secondaire couplé à une enzyme (ou un autre marqueur) pour détecter l'antigène capturé, sont les plus méthodes largement appliquées car elles combinent la facilité d'utiliser avec la génération de résultats de tests rapides. De plus, la méthodologie ELISA peut être utilisée avec des matrices d'échantillons qui rendent ces tests particulièrement bien adaptés pour les tests alimentaires (Gasanov *et al.*, 2005).

Un développement récent est la disponibilité des tests *Listeria* le lendemain pour les aliments et échantillons environnementaux. (Gasanov *et al.*, 2005).

Un test ELISA et deux procédures de culture de routine ont été comparés dans leur capacité à détecter *Listeria* spp.

Dans les produits alimentaires et les écouvillons des amygdales de porc. Les procédures de culture utilisées étaient celles recommandées par la Food and Drug Administration (FDA) et le Département des États-Unis de l'agriculture (USDA) (Norrung *et al.*, 1991).

**Tableau 11:** Réaction ELISA (Hilan *et al.*, 1998).

<b>Reaction Elisa</b>	
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Reparation des échantillons</li> <li>2. Addition du conjugué</li>   <li>3. Incubation</li> <li>4. Cinq lavage successive</li> <li>5. Addition du mélange substrat /chromo gene</li> <li>6. Incubation</li> <li>7. Arête la reaction</li>   <li>8. Résultat</li> </ol>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Distribution 100µ/puits</li>   <li>• Prévoire :1témoins positif:100µl 2témoinsnégatifs:100µl</li> <li>• Ajouter 100µlde conjugué dans tous les puits</li> <li>• Ajiter légèrement puis couvrir la plaque</li> <li>• 1heur à 20°C-+25°C</li>   <li>• Laver à la pissette</li>   <li>• Distribution 100µl de mélange par puits</li>   <li>• 30min à +20°C-+25°C</li> <li>• Ajouter 50jul de solution d'arret dans chaque puits</li>   <li>Lecture à 450nm</li>   <li>• Blanc sur air</li> <li>• <b>DO</b> témoin+:TP &gt; 0,700</li> <li>• <b>DO</b> témoin-:TN1et TN2 &lt; 0,300</li> <li>• Seuil de positivité:TN+0.150</li> </ul>

#### II.4.3.L'immuno-capture :

L'immuno-capture est une technique élégante qui utilise billes magnétiques (Dynal, Melbourne, Australie) ou dip bâtons (*Listeria* Unique, TECRA International, Frenchs Forest, Australie) recouverts d'anticorps spécifiques pour séparer *Listeria* de la microflore concurrente et composants alimentaires inhibiteurs. Méthodes de capture spécifiques tels

que ceux-ci concentrent également l'organisme cible et augmenter la sensibilité du test (JungS. Frank, . BrackettE , 2003).

Les techniques de capture peuvent être associées à des méthodes moléculaires pour augmenter le pouvoir de discrimination à un niveau de sous-espèce (Dunbar *et al.*, 2003). Différenciation de *L. monocytogenes* d'autres espèces de *Listeria* basées sur des anticorps spécifiques aux facteurs de virulence qui sont exprimés par *L. monocytogenes* rencontré avec un succès variable (Dunbar *et al.*, 2003).

#### II.4.4. Techniques bactériologique et immuno-enzymatique de recherché de listeria

spp

Comparison entre le protocole de 2methodes :Voie Bactériologique et Voie –enzymatique (Hila et al .,1998)

Voie immunoenzymatique	Voie bactériologique
10g de l'échantillon +90 ml EPT	25g de l'échantillon + 225ml bouillon d'enrichissement
homogénéisation	homogénéisation
1 ml + 10 ml ½ fraser bouillon et enrichissement	Incubation 30 C pour 7 jours
48h à 26 + ou - 1°C	Subculture sur milieu sélectif
Choc thermique 20 mn à 100°C	culture directe KOH 0.50%
ELISA	(1 ml de milieu d'enrichissement sur 9ml KOH 0.5%)
	Identification
	Sérologie physique CAMP test (Henry illuminations)



## **II.5. Futures Orientations pour la détection et l'identification des**

### ***L. monocytogenes***

La section suivante passe en revue les nouvelles méthodes de détection de *Listeria* spp.dans l'alimentation, l'environnement et échantillons cliniques. Ces méthodes sont actuellement utilisées par des laboratoires de recherche spécialisés uniquement ; mais parce que ces méthodes offrent des avantages significatifs par rapport aux techniques conventionnelles, elles peuvent être utilisées en routine pour l'alimentation tests d'agents pathogènes à l'avenir.

#### **II.5.1. Tests ciblant l'ARN**

Les tests d'échantillons alimentaires ou environnementaux à la recherche de *Listeria* pathogène ne devraient cibler que les organismes vivants, car seules les cellules vivantes de *Listeria* peuvent provoquer des maladies. La capacité à former des colonies sur gélose solide est l'étalon-or par lequel les méthodes de culture confirment la présence d'agents pathogènes vivants et c'est la norme par rapport à laquelle tous les autres *Listeria* les tests de détection sont comparés. (Birch, L.et al., 2001).

Le choix de l'ARN ou L'ARNm en tant que cible pour les tests d'agents pathogènes alimentaires est de plus en plus apprécié depuis que la présence d'ARNm est une indication de l'état de vie de la cellule (Keer, J.T., Birch, L. ,2003).

#### **II.5.2.PCR en temps réel**

Cette technique est une modification de la RT-PCR méthode. Le mélange réactionnel contient un marqueur fluorescent (SYBR Green) qui se lie spécifiquement au double ADN brin. (Rudi, K. et al., 2003).



L'augmentation de la fluorescence après chaque cycle successif permet la quantification directe de la cible ADN. Ce type d'analyse nécessite des équipements et des matériaux spécialisés qui augmentent considérablement le coût des tests. Cette méthode a été utilisée pour identifier et quantifier *L. monocytogenes* dans les aliments et échantillons dans plusieurs études (Hein, I., *et al.*, 2001) (Hough, A.J., *et al.*, 2002).

### II .5.4. Amplification basée sur la séquence d'acides nucléiques (NASBA)

NASBA est une alternative à la PCR conventionnelle et est basé sur l'action de trois enzymes. Dans la première étape un la transcriptase inverse est utilisée en combinaison avec une amorce oligonucléotidique pour produire un hybride ADNc-ARN molécule. Dans l'étape suivante, une enzyme RNase élimine l'ARN de la molécul Chapitre II : Techniques de recherche et dénombrement des listeria dans différents denrées alimentairese hybride permettant l'inverse transcriptase pour synthétiser un ADNc double brin molécule. Cet ADNc est ensuite utilisé comme modèle pour la génération de transcrits d'ARN par une polymérase T7. Contrairement à la PCR, la NASBA donne des rendements monocaténaire molécules d'ARN pouvant être détectées soit par électrophorèse sur agarose classique, soit en utilisant des sondes oligonucléotidiques marquées spécifiques pour les tests d'hybridation combinés avec des systèmes de détection colorimétrique. Bien que NASBA est une méthode qui montre un grand potentiel pour l'analyse de routine des tests alimentaires et environnementaux (Keer. J.T., Birch, L. ,2003) (Cook, N., 2003).





**conclusion**



### Conclusion

*Listeria monocytogenes* est une especebactérienne ubiquitaire, largement répandue dans l'environnement et peut être transmise à l'homme par contamination des aliments, aux divers stades, qui se succèdent de la préparation à la consommation. On la trouve dans le lait, les produits laitiers, la viande, la volaille, les légumes, les salades et les fruits de mer, elle peut se multiplier à la température du réfrigérateur (4-6°C).

L'infection , à *Listeria sp.*, a un taux de morbidité relativement faible, mais un taux de létalité élevé. Le risque est particulièrement grave pour les femmes enceintes, les fœtus, les alcooliques, les toxicomanes, les diabétiques, les malades soumis à un traitement immunodépresseur, ceux qui sont atteints du SIDA et les personnes âgées.

En travaux de routine, l'identification de *L. monocytogenes* repose sur des méthodes physiologiques et biochimiques: morphologie, coloration de Gram, catalase, mobilité, bêta-hémolyse sur gélose au sang et fermentation des sucre, il existe aussi *des* tests plus rapides, qui ont été développés a base des anticorps (*ELISA*) ou des techniques moléculaires (PCR ou hybridation d'ADN). Bien que ces tests possèdent une sensibilité égale, ils sont rapides et permettent d'effectuer le test dans les 48 h.

Plus récemment, des méthodes moléculaires ont été développées qui ciblent l'ARN plutôt que L'ADN, tel que la RT-PCR, la PCR en temps réel ou l'amplification de séquences à base d'acide nucléique (NASBA). Ces tests fournissent non seulement une mesure de la viabilité cellulaire, mais ils peuvent également être utilisés pour une analyse quantitative.



## **Références bibliographiques**



## Références bibliographiques

---

### -A-

- Abdeen, E. E., Mousa, W. S., Harb, O., Fath-Elbab, G. A., Nooruzzaman, M., Gaber, A., & Abdeen, A. (2021).** Prevalence, Antibigram and Genetic Characterization of *Listeria monocytogenes* from Food Products in Egypt. *Foods*10(6), 1381.
- Allerberger, F. (2003).** *Listeria*: growth, phenotypic differentiation and molecular microbiology. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **35**, 183- 189.
- Allerberger, F., Dierich, M., Petranyi, G., Lalic, M., &Bubert, A. (1997).** Nonhemolytic strains of *Listeria monocytogenes* detected in milk products using VIDAS immunoassay kit. *Zentralblatt fur Hygiene und Umweltmedizin= International journal of hygiene and environmental medicine*, **200**(2-3), 189- 195.
- Anonyme AFSSA. (2000).** Rapport de la Commission d'étude des risques liés à *Listeria monocytogenes*. AFSSA.Agence Française de sécurité des produits alimentaires. <https://www.fhf.fr/Actualite/Liens/Organismes-publics/AFSSA-Agence-Francaise-de-securite-des-produits-alimentaires>
- Anonyme. ANSES (2020).** *Listeria monocytogenes*. ANSES: L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses). <https://www.anses.fr/fr>
- Augustin, J. C. (1999).** Modélisation de la dynamique de croissance des populations de *Listeria monocytogenes* dans les aliments. *These de Doctorat, Lyon: Université Lyon I.* France.
- Autio, T., Lyytikäinen, O., Hatakka, M., Maijala, R., Ruutu, P., Mikkola, J., &Siitonen, A. (1999).** An outbreak of listeriosis due to *Listeria monocytogenes* serotype 3a from butter in Finland. *Weekly Releases (1997- 2007)*, **3**(11), 1437.
- Aygun O., Pehlivanlar S. (2006).** *Listeria spp.* in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey. *Food Control.* **17**, 676- 679.

### -B-

- Bailey, J.S., Fletcher, D.L. and Cox, N.A. (1989).** Recovery and Serotype Distribution of *Listeria monocytogenes* from Broiler Chickens in the Southeastern United States. *J. Food Protect.* **52** (3): 148- 150.
- Beckers, H.J., In't Veld, P.H., Soentoro, P.S.S. and Delfgou-van Asch, E.H.M. (1989).** The occurrence of *Listeria* in food. *In: Foodborne Listeriosis: Proceedings of a Symposium on September 7, 1988 in Wiesbaden, Germany.* B. Behr's Verlag GMBH& Co, Hamburg, Pp. 83- 97.
- Beumer, R. R., TeGiffel, M. C., Spoorenberg, E., &Rombouts, F. M. (1996).** *Listeria* species in domestic environments. *Epidemiology & Infection*, **117** (3), 437- 442.

## Références bibliographiques

---

- Bille, J., Blanc, D. S., Schmid, H., Boubaker, K., Baumgartner, A., Siegrist, H. H., & Waespi, U. (2006).** Outbreak of human listeriosis associated with tomme cheese in northwest Switzerland, 2005. *Euro Surveillace*, **11**(6), 11- 12.
- Bind, J.L. and Delaval, J (1994).** Les listérioses. *Bull .Soc.Vet.Prat* 78(6,7): 387- 407.
- Birch, L., Dawson, C.E., Cornett, J.H. and Keer, J.T. (2001)** comparison of nucleic acid amplification techniques for the assessment of bacterial viability. *Lett. Appl. Microbiol.* 33, 296- 301
- Boubendir Abdelhafid. (2012).** Analyse et prévalence du risque infectieux de *Listeria monocytogenes* dans les laits crus récoltés dans deux régions à climat différent (zone semi-aride et le Nord-Est algérien) : Modélisation spatiale de la diversité floristique. *Thèse Doctorat Es'Sciences*, Option: Microbiologie Appliquée- Université Mentouri-Constantine. P160.
- Brisabois A. ( 2008).** *Listeria monocytogenes*: une bactérie sous haute surveillance. Bulletin de l'association des anciens élèves de l'Institut Pasteur **195**, 71- 77.
- Büla, C. J., Bille, J., & Glauser, M. P. (1995).** An epidemic of food-borne listeriosis in western Switzerland: description of 57 cases involving adults. *Clinical Infectious Diseases*, **20**(1), 66- 72.

### -C-

- Cocolin, L., Rantsiou, K., Iacumin, L., Cantoni, C., & Comi, G. (2002).** Direct identification in food samples of *Listeria spp. and Listeria monocytogenes* by molecular methods. *Applied and Environmental Microbiology*, **68** (12), 6273- 6282.
- Coffey, A., Rombouts, F. M., & Abee, T. (1996).** Influence of environmental parameters on phosphatidylcholine phospholipase C production in *Listeria monocytogenes*: a convenient method to differentiate *L. monocytogenes* from other *Listeria* species. *Applied and Environmental Microbiology*, **62**(4), 1252- 1256.
- Cook, N. (2003).** The use of NASBA for the detection of microbial pathogens in food and environmental samples. *Jo. Microbiol. Methods* 53, 165- 174.
- Correge I. (1997).** Incidence des opérations d'abattage et de découpe des porcs sur la contamination par *Listeria monocytogenes*. *Viandes et Produits Carnés*. **18**: 275- 282.

### -D-

- De Valk, H., Jacquet, C., Goulet, V., Vaillant, V., Perra, A., Simon, F., & Martin, P. (2005).** Surveillance of *Listeria* infections in Europe. *Eurosurveillance*, **10**(10), 10.
- Donnelly, C.W. (2002)** Detection and isolation of *Listeria monocytogenes* from food samples: implications of sublethal injury. *Jo. AOAC Int.* **85**, 495- 500.

## Références bibliographiques

---

**Donovan, S. (2015).** Listeriosis: a rare but deadly disease. *Clinical Microbiology Newsletter*, **37** (17), 135- 140.

**Dunbar, S.A., Vander Zee, C.A., Oliver, K.G., Karem, K.L. and Jacobson, J.W. (2003)** Quantitative, multiplexed detection of bacterial pathogens: DNA and protein applications of the Luminex LabMAP system. *Jo. Microbiol. Methods* **53**, 245- 252.

### -E-

**Euzeby J.P. (2000).** Dictionnaire de Bactériologie vétérinaire. Disponible à l'URL <http://www.bacdico.net>

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

### -F-

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

**Fretz, R., Sagel, U., Ruppitsch, W., Pietzka, A. T., Stöger, A., Huhulescu, S., & Allerberger, F. (2010).** Listeriosis outbreak caused by acid curd cheese 'Quargel', Austria and Germany 2009. *Eurosurveillance*, **15**(5), 19477

### -G-

**Gasnov, U; Hughes, D. and Hansbro, P.M (2005).** Methods for the isolation and identification of *Listeria spp.* and *Listeria monocytogenes*: A review. *FEMS Microbiol. Rev*, **29**: 851- 875.

**Genigeorgis, C.A., Dutulesco, D. and Fernandez Garayzabal, J. (1989).** Prévalence of *Listeria spp.* in Poultry Meat at the Supermarket and Slaughterhouse Level. *J. Food Protect.* **52** (9): 618- 624.

**Genigeorgis, C.A., Oanca, P. and Dutulesco, D. (1990).** Prevalence of *Listeria spp* in Turkey Meat at the Supermarket and Slaughterhouse Level. *J. Food Protect.* **53** (4): 282- 288.

**Gérard, E. (1992).** Contribution à l'étude de la contamination des porcs par certains.

**Gitter, M. (1976).** *Listeria monocytogenes* in "oven-ready" poultry. *Vet. Rec.* **99** : 336- 337.

**Gohil, V.S., Ahmed, M.A., Davies, R., and Robinson, R.K. (1995).** Incidence of *Listeria spp.* In: retail foods in the United Arab Emirates. *J. Food Prot.* **58** : 102- 104.

**Goulet, V. (1995).** Investigation en cas d'épidémie de listériose. *Médecine et Maladies Infectieuses*, **25**, 184- 190.

**Goulet, V., Hebert, M., Hedberg, C., Laurent, E., Vaillant, V., De Valk, H., & Desenclos, J. C. (2012).** Incidence of listeriosis and related mortality among groups at risk of acquiring listeriosis. *Clinical Infectious Diseases*, **54** (5), 652- 660.



## Références bibliographiques

---

- Goulet, V., Rocourt, J., Rebiere, I., Jacquet, C., Moyse, C., Dehaumont, P., & Veit, P. (1998).** *Listeriosis* outbreak associated with the consumption of rillettes in France in 1993. *Journal of Infectious Diseases*, **177**(1), 155- 160.
- Graham, T., Golsteyn-Thomas, E. J., Gannon, V. P., & Thomas, J. E. (1996).** Genus-and species-specific detection of *Listeria monocytogenes* using polymerase chain reaction assays targeting the 16S/23S intergenic spacer region of the rRNA operon. *Canadian journal of microbiology*, **42**(11), 1155- 1162.
- Graves, L. M., Hunter, S. B., Ong, A. R., Schoonmaker-Bopp, D., Hise, K., Kornstein, L., & Swaminathan, B. (2005).** Microbiological aspects of the investigation that traced the 1998 outbreak of listeriosis in the United States to contaminated hot dogs and establishment of molecular subtyping-based surveillance for *Listeria monocytogenes* in the PulseNet network. *Journal of Clinical Microbiology*, **43**(5), 2350- 2355.
- Groupe de Travail de l'OMS. (1998).** Les listérioses d'origine alimentaire. *Bulletin de l'organisation mondiale de la Sante*, **67** (1) : 19-26 (1989).

### -H-

- Hein, I., Klein, D., Lehner, A., Bubert, A., Brandl, E. And Wagner, M. (2001).** Detection and quantification of the iap gene of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* by a new real-time quantitative PCR assay. *Res. Microbiol.* **152**, 37- 46.
- Hilan C, R. Kobeissy, R. Fidawi, M. Hadad. (1998).** Les *Listeria monocytogenes* dans les denrées Alimentaires d'origine Animale au Liban. *Annale de recherche Scientifique* (1998), 233- 242.
- Hough, A.J., Harbison, S.A., Savill, M.G., Melton, L.D. and Fletcher, G. (2002).** Rapid enumeration of *Listeria monocytogenes* in artificially contaminated cabbage using real-time polymerase chain reaction. *J. Food Protect.* **65**, 1329- 1332.

### -I-

- ISO 11290-2:2017(fr),** Microbiologie de la chaîne alimentaire -Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* et de *Listeria spp.* - Partie 2: Méthode de dénombrement.
- ISO/DIS 11290-1(fr),** Microbiologie de la chaîne alimentaire Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* et *Listeria spp.* — Partie 1: Méthode de recherche.

### -J-

- Jacquet, C., Catimel, B., Brosch, R., Buchrieser, C., Dehaumont, P., Goulet, V., & Rocourt, J. (1995).** Investigations related to the epidemic strain involved in the French listeriosis outbreak in 1992. *Applied and Environmental Microbiology*, **61**(6), 2242- 2246.

## Références bibliographiques

---

- Johnsen, B. O., Lingaas, E., Torfoss, D., Strøm, E. H., & Nordøy, I. (2010).** A large outbreak of *Listeria monocytogenes* infection with short incubation period in a tertiary care hospital. *Journal of Infection*, **61**(6), 465- 470.
- Jouan P.-N., Pouliot Y., Gauthier S. F., & Laforest J.-P. (2006).** Hormones in bovine milk and milk products: A survey. *International Dairy Journal*, **16**(11), 1408- 1414. doi: 10.1016/j.idairyj.2006.06.007.
- Journal Officiel de La Republique Algerienne., (2006),** Bulletin officiel N° 03 du 18 Dhou El Hidja 1426 (18 janvier 2006) Arrêté du 21 Chaabane 1426 correspondant au 25 septembre 2005 rendant obligatoire la méthode de recherche de *Listeria monocytogenes* dans le lait et les produits laitiers. (**JORA 3/ 2006**)-<https://www.joradp.dz/HFR/Index.htm>
- Jung, Y.S., Frank, J.F. and Brackett, R.E. (2003).** Evaluation of antibodies for immunomagnetic separation combined with flow cytometry detection of *Listeria monocytogenes*. *Jo. Food Protect.*

### -K-

- Kathariou, S. (2002).** *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. *Journal of food protection*, **65**(11), 1811- 1829.
- Keer, J.T. and Birch, L. (2003).** Molecular methods for the assessment of bacterial viability. *J. Microbiol. Methods* **53**, 175- 183.
- Kérouanton, A., Marault, M., Petit, L., Grout, J., Dao, T. T., & Brisabois, A. (2010).** Evaluation of a multiplex PCR assay as an alternative method for *Listeria monocytogenes* serotyping. *Journal of Microbiological Methods*, **80**(2), 134-137.
- Klein, P.G. and Juneja, V.K. (1997).** Sensitive detection of viable *Listeria monocytogenes* by reverse transcription-PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 4441- 4448.
- Koch, J., Dworak, R., Prager, R., Becker, B., Brockmann, S., Wicke, A., & Stark, K. (2010).** Large listeriosis outbreak linked to cheese made from pasteurized milk, Germany, 2006–2007. *Food borne Pathogens and Disease*, **7**(12), 1581- 1584.

### -L-

- Larpent J.P. (1997).** Mémento technique de microbiologie. Tec et Doc, Lavoisier. Paris.
- Larpent J.P. (2000).** Les *Listeria*. Deuxième édition. Lavoisier. ISBN. 1- 189.
- Larpent J.P. (2004).** *Listeria*. Tec et Doc, 3ème éd., Lavoisier. Paris. France.
- Lawrence C., Fitzmorris A., Andrew O., Hirschberg, Joel M. (2000).** Is *Listeria monocytogenes* an Important Pathogen for Prosthetic Joints? *J.C.R: Journal of Clinical Rheumatology. USA., 1*, 34-37.
- Le Monnier, A., & Leclercq, A. (2009).** *Listeria* et listériose: des animaux d'élevage à nos assiettes. *Pathologie biologie*, **57**(1), 17-22.

## Références bibliographiques

---

**Lebres El Hadj Ahmed (2006).** Etude de prévalence et analyse du risque de *Listeria monocytogenes* dans les laits crus dans la région centre. Thèse de Doctorat en science vétérinaire option Micro biologie. Université d'El- Tarf- Alger. P168.

**Lebres, E., & Mouffok, F. (1999).** Guide pratique d'analyses microbiologiques des denrées alimentaires. Service de bactériologie alimentaire, Institut Pasteur, Alger.

**Leistner, L., Schmidt, U. and Kaya, M. (1989).** Listerien bei Fleisch und fleischerzeugnissen. Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung Kulmbach 28 Jahrgang, 192-199.

### -M-

**Maciel de Souza V., Franceschini S.A., Martinez C.R., Ratti R. P., 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.

**Matle, I., Mbatha, K. R., & Madoroba, E. (2020).** A review of *Listeria monocytogenes* from meat and meat products: Epidemiology, virulence factors, antimicrobial resistance and diagnosis. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 87(1), 1- 20.

**Mc Lauchlin, J. (1997).** The pathogenicity of *Listeria monocytogenes*: a public health perspective. *Reviews in Medical Microbiology*, 8(1), 1-14. microorganismes Pathogènes : du début de l'engraissement à la fin de l'éviscération. Thèse pour le diplôme d'Etat de Docteur Vétérinaire, Faculté de médecine de Nantes.

**Millet L., Saubusse M., Didienne R., Tessier L., Montel M.C. (2006).** Control of *Listeria monocytogenes* in raw-milk cheeses. *Int. Jo. Food Microbiol.*, 108, 105- 114.

**Mullis, K.B. (1986).** Specific Enzymatic Amplification of DNA In Vitro: The Polymerase Chain Reaction. *Cold Spring Harbour Symp. Quant. Biol.* 51, 263- 273.

### -N-

**Nicolas, J.A. and Vidaud, N. (1987).** Contribution à l'étude des *Listeria* présentes dans les denrées d'origine animale destinées à la consommation humaine. *Rec. Méd. Vét.* 163 (3): 283-285.

**Norrung, B., Solve, M., Ovesen, M., & Skovgaard, N. (1991).** Evaluation of an ELISA test for detection of *Listeria* spp. *Journal of food protection*, 54(10), 752-755.

### -O-

**Osman, K. M., Kappell, A. D., Fox, E. M., Orabi, A., & Samir, A. (2020).** Prevalence, Pathogenicity, Virulence, Antibiotic Resistance, and Phylogenetic Analysis of Biofilm-Producing *Listeria monocytogenes* Isolated from Different Ecological Niches in Egypt: Food, Humans, Animals, and Environment. *Pathogens*, 9(1), 5.

**Overney, A. (2016).** Persistance de *Listeria monocytogenes* dans les ateliers agro-alimentaire: influence de facteurs environnementaux et étude des mécanismes d'adaptation aux stress (Doctoral dissertation, Paris Est).

## Références bibliographiques

---

### -P-

- Pasquier L, Chuard C.** Infections à *Listeria monocytogenes* [*Listeria monocytogenes* infections]. *Rev Med Suisse.* 2017 Oct11;**13**(578):1737-1740.
- Pearson L.J., Marth E.H. (1990).** *Listeria monocytogenes*- threat to a safe supply: a review. *J. Dairy Sci.*, 73, 912- 928.
- Perni S., Jordan S.J., Andrew P.W., Shama G. (2005).** Biofilm development by *Listeria innocua* in turbulent flow regimes. *Food Control.*
- Petran, R. L., & Swanson, K. M. (1993).** Simultaneous growth of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua*. *Journal of Food Protection*, **56**(7), 616-618.
- Pini, P.N. and Gilbert, R.J. (1988).** The occurrence in the U.K. of *Listeria* species in raw chickens and soft cheeses. *Int. Jo. Food Microbiol.* **6**: 317- 326.

### -R-

- Rana Herro, (2006).** Implication du PTS dans la régulation de PrfA, activateur transcriptionnel des gènes de virulence de *Listeria monocytogenes*. Thèse de doctorat, spécialité: microbiologie et génétique moléculaire. l'université Paris-Sud XI école doctorale génomes cellules. France. p139.
- Rocourt J., Jacquet C. (2000).** *Listeria* et listériose. In: Précis de bactériologie clinique, Freney J., Renaud F., Hansen W., Bollet C. (Eds). Editions Eska 2000, 94 temperature, Na Cl, and EDTA. *Jo. Food.Prot.*, **66**, 1208- 1215.
- Rocourt J., Renaud F., Freney J. (1993).** *Listeria*. In: J. Freney, F. Renaud, W. Hansen, C. Bollet : Manuel de Bactériologie Clinique, 2ème Edition, Elsevier, collection Option Bio, 833- 849.
- Rocourt, J., Goulet, V., Lepoutre-Toulemon, A., Jacquet, C., Catimel, B., Rebiere, I., & Veit, P. (1993).** Epidémie de listériose en France en 1992. *Médecine et maladies infectieuses*, **23**, 481- 484.
- Rudi, K., Katla, T. and Naterstad, K. (2003).** Multi locus fingerprinting of *Listeria monocytogenes* by sequence-specific labeling of DNA probes combined with array hybridization. *FEMS Microbiol. Lett.* **220**, 9- 14.

### -S-

- Schlech III, W. F., Lavigne, P. M., Bortolussi, R. A., Allen, A. C., Haldane, E. V., Wort, A. J., & Broome, C. V. (1983).** Epidemic listeriosis- evidence for transmission by food. *New England Journal of Medicine*, **308**(4), 203- 206.
- Shaun, C., Alicia, C., Gail, W., Tista, G., Richard, V., Paul, T., et al. (2011).** Multistate outbreak of listeriosis associated with Jensen farms cantaloupe. United States, august-september 2011. Morbidity and Mortality. *Weekly Report* **60**: 1357- 1358.

## Références bibliographiques

---

**Skovgaard, N. and Norrung, B. (1989).** The incidence of *Listeria spp.* in faeces of Danish pigs and in minced prok meat. *Int. Jo. Food Microbiol.* **8** : 59- 63.

**Skowron, K., Walecka-Zacharksa, E., Grudlewska, K., Wiktorczyk, N., Kaczmarek, A., Gryń, G., & Gospodarek-Komkowska, E. (2019).** Characteristics of *Listeria monocytogenes* strains isolated from milk and humans and the possibility of milk-borne strains transmission. *Polish Journal of Microbiology*, **68**(3), 353.

**Smith, B., Larsson, J. T., Lisby, M., Müller, L., Madsen, S. B., Engberg, J., & Kemp, M. (2011).** Outbreak of listeriosis caused by infected beef meat from a meals-on-wheels delivery in Denmark 2009. *Clinical Microbiology and Infection*, **17**(1), 50-52.

**Sutherland, P.S. and Porritt, R.J. (1997).** *Listeria monocytogenes*. In: Foodborne microorganisms of public health significance, 5th Ed, Pp. 333- 378. AIFST (NSW Branch) *Food Microbiology Group*.

### -T-

**Taillefer, C., Boucher, M., Laferrière, C., Lucie Morin, M. (2009).** Perinatal listeriosis: Canada's 2008 outbreaks. *J. Obstet. Gynaecol. Can.* **32**: 45- 48.

**Toquin, M.T. and Lahellec, C. (1990).** Fréquence des *Listeria* sur les carcasses de différentes espèces aviaires. Colloque SFM, Section Microbiologie Alimentaire, Pp. 303- 308.

### -V-

**Van Der Elzen, A.M. and Snijders, J.M. (1993).** Critical points in meat production lines regarding the introduction of *Listeria monocytogenes*. *Vet. Quaterly* **15**: 143- 145.

**Vardar-Ünlü, G., & Bakici, M. Z. (1998).** Incidence of *Listeria spp.* from raw milk in Sivas. *Turkish Journal of Medical Sciences*, **28**(4), 389- 392.

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

**Vivant, A. L. (2014).** Persistance et adaptation de *Listeria monocytogenes* dans le sol: Rôle du système de communication Agr -Doctoral dissertation, Université de Bourgogne.

### -W-

**Warburton, D. W., Farber, J. M., Armstrong, A., Caldeira, R., Hunt, T., Messier, S., & Vinet, J. (1991).** A comparative study of the 'FDA' and 'USDA' methods for the detection of *Listeria monocytogenes* in foods. *International Journal of Food Microbiology*, **13**(2), 105-117.

**Welshimer, H. J. (1981).** The genus *Listeria* and related organisms. In: *The Prokaryotes: A Handbook on Habitats, Isolation, and Identification of Bacteria* (Starr, M.P., Stolp, H., Truper, A., Balows, A. and Schlegel, H.G., Eds.), pp. 1680– 1687.

-Y-

**Yokoyama, E., Maruyama, S., &Katsube, Y. (1998).** Production of bacteriocin-like-substance by *Listeria innocua* against *Listeria monocytogenes*. *International Journal of food Microbiology*, *40*(1-2), 133- 137.

**Yu, L.S.L., Prasai, R.K., and Fung, D.Y.C.(1995).** Most probable numbers of *Listeria* species in raw meats detected by selective motility Enrichment. *Jo. Food Protect.***58**: 943- 943.



# ANNEXES



## **Annexes**

### **Milieux**

#### **Gélose au sang – Composition pour 1 litre :**

Protéose peptone : 15,0 g

Digestion de foie : 2,5 g

Extrait de levure : 5,0 g

Chlorure de sodium : 5,0 g

Agar : 12,0 g

pH : 7,4

#### **Gélose OXFORD - Composition pour 1 litre :**

Peptone : 23,0 g

LiCl : 15,0 g

Agar : 10,0 g

Amidon de maïs : 1,0 g

Esculine : 1,0 g

Citrate de fer ammoniacal : 0,5 g

Solution d'antibiotiques : 10,0 ml

Sur gélose OXFORD, les colonies de *Listeria* apparaissent noires et entourées d'un halo noir.



## **Solution d'antibiotiques pour la gélose Oxford :**

Cycloheximide : 0,4 g

Sulfate de colistine : 0,02 g

Fosfomycine : 0,01 g

Acriflavine : 5,0 mg

Céfotétan : 2,0 mg

Éthanol (solution à 50%) : 10,0 ml

pH :  $7,0 \pm 0,2$  à 25 °C

## **Bouillon d'enrichissement de Fraser -**

### **Composition pour 1 litre :**

NaCl : 20,0 g

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 12,0 g

Extraits de viande de bœuf : 5,0 g

Protéose peptone : 5,0 g

Digestion pancréatique de caséine : 5,0 g

Extraits de levure : 5,0 g

Chlorure de lithium (LiCl) : 3,0 g

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 1,35 g

Esculine : 1,0 g

Acriflavine (25 mg de chlorhydrate d'acriflavine dans 10 mL d'eau distillée) : 10 ml

Acide nalidixique (20 mg d'acide nalidixique dans 10 ml d'eau distillée) : 10 ml

Citrate de fer ammoniacal (500 mg de citrate de fer ammoniacal dans 10 ml d'eau distillée) 10ml

pH :  $7,2 \pm 0,2$  à 25 °C

## **Bouillon d'enrichissement de Fraser "demi" -**

### **Composition pour 1 litre :**

Composition identique au bouillon d'enrichissement de Fraser mais la solution d'acriflavine est composée de 12,5 mg de chlorhydrate d'acriflavine dans 10 ml d'eau distillée

## **Gélose TSA-YE (Trypton Soja Agar Yeast Extract) -**

### **Composition pour 1 litre :**

Tryptocase soja agar (TSA): 40 g

Yeast extract : 6 g