
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie-Microbiologie

Rapport de fin d'études

En vue d'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures en Biologie
Option : Microbiologie

THEME

Prévalence de *Listeria monocytogenes* dans les produits alimentaires et son implication dans la listériose humaine.

Travail réalisé par :
Mr. KERDOUS Rachid
Mr. LAMROUS Yacine

Rapporteur : Dr. DJENANE Djamel

Année universitaire: 2005/2006

Session: Juillet 2006

Résumé pour la bibliothèque de l'institut de Biologie de l'UMMTO.

Pour toutes suggestions, s'adresser à : rachid.kerdous@hotmail.fr

Dédicaces et remerciements

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents ainsi qu'à mes frères Salim et Nazim et ma sœur Sarah « Qu'ALLAH les protège »

- A mon oncle Djamel qui m'a soutenu tout au long de mon projet.
- A ma précieuse Sarah M. et à toute sa famille.
- A mes amis : Nadir, Moumouh et Karim.

Yacine

Je le dédie de ma part à mes très chers parents ainsi qu'à mes frères et mes sœurs qui sont nombreux à citer ! « Qu'ALLAH les bénisse et les protège ».

- A mon oncle Idir et à toute sa famille.
- A mon ami Bachir Mokdad.

« Le meilleur ne gagne jamais ! »

Rachid

Nous tenons à remercier sincèrement Mr. Djenane Djamel qui nous a guidé tout au long de notre travail ainsi que Mr. Hadj Kaci et Mme Mouhand Oussaïd pour leurs conseils sans oublier Mme Chetouani Faïza responsable du laboratoire d'analyses microbiologiques et physico-chimiques de l'abattoir avicole de Taboukert pour son soutien.

Nous remercions vivement le Pr. Philippe Glaser de l'Institut Pasteur à Paris de nous avoir proposé ce sujet ainsi que le Pr P. Cossart pour son aide en bibliographie.

Nous saluons Mr. Medjkoun ainsi que Mr. Zazi pour leur soutien psychologique.

Nous saluons et remercions tous les membres du jury qui auront à juger ce travail.

Enfin, tous ceux qui, de près ou de loin, ont collaboré à la réalisation de ce travail, en guise de reconnaissance.

« Le hasard ne favorise que les esprits préparés »
Luis pasteur (1822-1895).

<u>Sommaire</u>	<u>Pages</u>
Résumé.....	4
Liste des abreviations.....	5
Liste des figures et des tableaux.....	6
Introduction générale.....	7
Historique - le genre <i>Listeria</i>	8
1. Taxonomie et physiologie	8
1.1-Taxonomie	8
1.1.1- Caractéristiques morphologiques.....	8
1.1.2- Caractères biochimiques	8
1.1.3- Caractères cultureux.....	9
1.2- Physiologie de <i>Listeria monocytogenes</i>	10
1.3- Caractéristiques antigéniques.....	10
1.3.1-Sérotypie	10
1.3.2-Lysotypie.....	11
2- <i>Listeria monocytogenes</i> et les produits alimentaires	11
2.1- <i>Listeria monocytogenes</i> dans les produits alimentaires.....	12
2.1.1-Lait et produits laitiers	12
2.1.2- Viandes et produits carnés	13
2.1.3 - Poissons et produits de la pêche.....	14
2.1.4 - Œufs et ovoproduits	14
2.1.5- Produits d'origine végétale	14
2.2- Méthodes de préservation des produits agroalimentaires contre <i>Listeria monocytogenes</i>	15
2.3- Microbiologie prévisionnelle	18
2.4- Isolement et identification de <i>L. monocytogenes</i>	18
2.4.1- Identification bactériologique classique	19
2.4.2- Méthodes modernes	20
2.4.3- Tests d'identification rapide	23
2.5- <i>Listeria monocytogenes</i> et critères microbiologiques.....	23
3. Listériose humaine	24
3.1- Pouvoir pathogène naturel chez l'homme.....	24
3.1.1-Listériose fœto-maternelle et du nouveau né	25
3.1.2-Listériose de l'adulte.....	26
3.2- Épidémiologie	26
3.3- Physiopathologie.....	27
3.4- Facteurs environnementaux modulant la virulence de <i>L. monocytogenes</i>	31
3.5-Histoire naturelle de <i>L. monocytogenes</i> dans l'organisme et dans les cellules (voir figure 5).	32
3.6- Mécanismes naturels de défense de l'hôte contre <i>L. monocytogenes</i>	35
3.7- Le diagnostic bactériologique	35
3.8- Le traitement	36
4- Prophylaxie et recommandation	36
Conclusion générale	38
Bibliographie.....	39
Annexes.....	47

Résumé

L. monocytogenes est une bactérie à Gram positif, saprophyte, non sporulée. Il s'agit d'un germe extrêmement résistant aux conditions du milieu extérieur, notamment le froid car psychrotrophe, ce qui explique le fait qu'il soit largement répandu dans l'environnement. Il est couramment retrouvé dans le sol, la végétation et le fourrage. Il peut contaminer des légumes crus, des plats cuisinés prêts à la consommation ou des aliments devant être conservés au réfrigérateur tels que le fromage ou la charcuterie.

C'est la bactérie responsable de la listériose. Elle menace en premier lieu les enfants à naître, les nouveaux-nés, les femmes enceintes, les personnes âgées ainsi que les personnes dont le système immunitaire est affaibli. Elle est responsable de méningites et d'une mortalité qui peut atteindre le taux élevé de 30% des personnes infectées.

L'infection commence par l'ingestion d'aliments contaminés, *Listeria* doit ensuite passer par l'estomac puis traverser la barrière intestinale pour atteindre la circulation sanguine pour infecter le foie et la rate. Chez les immunocompétents, elle est éliminée à ce stade grâce à une réaction immunitaire cellulaire énergique. Chez des sujets fragiles, elle se dissémine dans le système nerveux central et le placenta.

C'est une bactérie invasive, facultativement intracellulaire, capable de survivre et de se multiplier dans les cellules phagocytaires et d'induire son internalisation dans les cellules non phagocytaires, notamment les cellules d'origine épithéliale. Il a été proposé que cette capacité d'infecter les cellules non phagocytaires confère à *L. monocytogenes* son triple tropisme pour le tissu intestinal, le système nerveux central et l'unité foeto-placentaire. Des facteurs de virulence tels que l'hémolysine et le facteur de polymérisation de l'actine (ActA) jouent un rôle important dans la pathogénie de la listériose.

Des études menées *in vitro* ont permis d'identifier les mécanismes moléculaires de l'internalisation de *L. monocytogenes* dans les cellules épithéliales. L'internaline (InlA), lorsqu'elle est ancrée à la surface des bactéries, reconnaît un récepteur exprimé à la surface de la cellule hôte qui est un facteur de différenciation épithéliale, la E-cadhérine humaine.

Mots clés : *Listeria monocytogenes*, aliments, listériose, internalisation, internaline, E-cadhérine, intracellulaire, invasive.

Liste des abreviations

a_w : Activité de l'eau
ActA : Actine A
ADN : Acide désoxyribonucléique
ADP : Adénosine diphosphates
AFNOR : Association Française de Normalisation
AM : Atmosphère Modifiée
Arp 2/3 : Actin-related proteins
ATP : Adénosine triphosphates
Cofiline/ADF : Actin depolymerizing factor.
CSHPF : Conseil Supérieur d'Hygiène Public Français
DIM : Différenciation *Listeria innocua* / *Listeria monocytogenes*
Ena/VASP : Vasodilatator-stimulated phosphoprotein
HACCP : Hazard Analysis Control Critical Point
ISO : International Standard Organisation
Inl A : Internaline A
Inl B : Internaline B
Irp : Internalin related protein
ISA : Immuno Suppressive Activity
kDa : Kilo Dalton
kGy : Kilo Gray
LCR : Liquide céphalorachidien
LiCl : Chlorure de Lithium
LLO : Listériolysine
LRR : Leucine-Rich Repeats
Mpa : Méga Pascal
MPA : Monocytosis producing activity
PALCAM : Polymyxin Acriflavine LiCl Ceftazidime Esculine Mannitol
Pc-PLC: Phosphatidylcholine Phospholipase C
PCR : Polymerase Chain Reaction
pH : Potentiel hydrogène
Pi-PLC : Phosphatidylinositol Phospholipase C
PLC : Phospholipase C
RM : Rouge de Méthyle
SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise
TNF- α : Tumor Necrosis Factor α
UHT : Ultra Haute Température
VP : Voges Proskauer

Liste des figures et des tableaux

Figure 1. Principe de la méthode de LISTERSCREEN

Figure 2. La polymérisation de l'actine par ActA.

Figure 3. Représentation schématique du processus d'infection intracellulaire par *L. monocytogenes*

Figure 4. Emplacement des principaux gènes intervenant dans la virulence de *L. monocytogenes*

Figure 5. Représentation schématique des organes touchés au cours de l'infection à *L. monocytogenes*

Tableau I: Caractères bactériologiques différenciant les espèces de *Listeria* (+: positif ; -: négatif)

Tableau II: Sérovars de *L. monocytogenes*

Tableau III: Exemples d'anadémies et aliments associés.

Introduction générale

La sécurité sanitaire des aliments a été au centre des préoccupations de l'humanité, dès les premières civilisations. La fermentation, le séchage, le sucrage et le salage ont été pratiqués par les romains, les grecques et les arabes. Ce sont des méthodes encore employées de nos jours. L'incidence croissante des maladies d'origine alimentaire au cours des dernières décennies, dans le monde et en particulier en Algérie, semble liée à la présence de microorganismes dans les aliments. Ces maladies constituent pourtant le problème de santé publique le plus répandu ; elles génèrent un fardeau social et économique et sont une source de souffrances humaines.

La *Listeria spp.* est, désormais, bien connue, notamment sa forme pathogène, *L. monocytogenes*. Elle est considérée comme émergente (PAGAN *et al.*, 1997) car le rôle des aliments dans sa transmission n'a été reconnu que récemment. Cette bactérie est particulièrement résistante. Elle vit et se multiplie dans des milieux salés, sucrés, acides, à faible teneur en eau ou en O₂ et à faible température. Il est bien connu que dans des conditions hostiles ce sont les microorganismes les plus résistants qui survivent (HUGAS *et al.*, 1998). Lors des dernières décennies, la découverte des microorganismes, les progrès réalisés dans l'industrie alimentaire et l'expansion rapide du commerce mondial des produits alimentaires, ont rendu nécessaire l'adoption de diverses mesures de sécurité sanitaire des aliments.

Les épidémies de listériose dont les médias se font de plus en plus l'écho sont dues à *L. monocytogenes*. Cette bactérie compte actuellement plusieurs espèces dont deux, *Listeria ivanovii* et, surtout, *L. monocytogenes* sont responsables d'infections chez l'homme et/ou l'animal. A ce stade, il est important de rappeler que la listériose est une zoonose essentiellement animale et accidentellement humaine. Dans les années 1979/1980, *L. monocytogenes* a été identifiée comme une des bactéries responsables d'infections d'origine alimentaire et, depuis cette époque, les *Listeria spp.* ont suscité de nombreuses inquiétudes chez les consommateurs. Pourtant, l'incidence des infections alimentaires collectives dues à *L. monocytogenes* est faible, comparée à l'incidence des infections dues aux salmonelles, aux campylobactéries ou aux *Escherichia coli*.

De multiples recherches sont actuellement développées dans des domaines très divers: étude des facteurs de pathogénicité, mise au point de nouvelles techniques de diagnostic (EUZEBY, 2000). L'émergence de cette nouvelle espèce bactérienne pathogène, psychrotrophe, dans les produits agroalimentaires a incité les industriels à développer des systèmes barrières de conservation. L'usage simultané de deux ou plusieurs facteurs de conservation constitue une alternative prometteuse et efficace (DJENANE *et al.*, 2006). La notion de synergie entre les différents systèmes de conservation est aussi une alternative intéressante qui mérite d'être envisagée pour l'assurance de la qualité du produit.

Actuellement, la plupart des individus en sont relativement à l'abri. En cas d'infection et si le diagnostic est porté rapidement, l'antibiothérapie est efficace. Mais si la bactérie devient résistante aux antibiotiques, comme le cas avec bon nombre d'autres bactéries, alors il serait important de connaître avec précision les bases moléculaires et cellulaires du mécanisme de l'infection pour mettre au point de nouvelles stratégies thérapeutiques (COSSART *et al.*, 2003).

L'importance de la salubrité des aliments n'est pas appréciée à sa juste valeur en Algérie malgré une augmentation constante de la prévalence des maladies transmises par les aliments. De plus, de nombreuses flambées dévastatrices de certaines bactéries pathogènes se sont produites tant dans les pays industrialisés que dans ceux en développement. On peut s'attendre à un accroissement du nombre de pathogènes réémergents ou récemment identifiés à cause des pratiques industrielles et commerciales mises en oeuvre dans notre pays.

Historique - le genre *Listeria*

L. monocytogenes, espèce type du genre *Listeria*, doit son nom à la mémoire du Docteur JOHN LISTER. Elle est caractérisée par une élévation anormale du taux de monocytes d'où son nom de *monocytogenes*. Décrite en 1926 par Murray et ses collaborateurs lors d'une épizootie chez des lapins et des cobayes qui présentaient une mononucléose sanguine et des lésions de nécrose au niveau du foie. Ils lui donnèrent alors le nom de "*Bacterium monocytogenes*" puis renommée "*Listerella hepatolytica*" par PIRIE en 1927. En 1940, PIRIE a proposé la nomenclature de *L. monocytogenes* qui sera retenue par les *Approved Lists of Bacterial Names*.

1. Taxonomie et physiologie

1.1-Taxonomie

Listeria a été longtemps classée dans la famille des Corynébactéries. Différents travaux de taxonomie numérique ont montré qu'en fait *Listeria* était plus proche des Lactobacilles ou des Streptocoques que les bactéries Corynéformes. Le GC% = 36 à 42 %, et le séquençage de l'ARN ribosomique 16S ont confirmé ces résultats. Le genre le plus proche de *Listeria* est le genre *Brochothrix*.

Selon le Bergey's Manuel (2001):

Domain XIII	Bacteria
Phylum III	Firmicutes
Classe III	Bacilli
Ordre I	Bacillales
Famille IV	Listeriaceae
Genre	<i>Listeria</i>

1.1.1- Caractéristiques morphologiques

Les cellules de *Listeria* sont des bâtonnets Gram+, courts et réguliers (0,4-0,5 µm de diamètre et 0,5-2 µm de longueur) avec des extrémités arrondies. La longueur de la cellule n'est pas corrélée avec la cinétique de croissance (ZAIKA et FANELLI, 2003). Quelques cellules peuvent être incurvées. Les cellules sont isolées ou regroupées en courtes chaînettes. Bien qu'une capsule ait été observée dans des conditions particulières de culture, certains microbiologistes pensent que *L. monocytogenes* devrait être considérée comme une espèce bactérienne non capsulée. La bactérie ne forme pas de spores. Elle est mobile par des flagelles péritriches quand elle est cultivée à 20-25°C, et immobile ou faiblement mobile à 37°C.

1.1.2- Caractères biochimiques

La caractérisation biochimique de *L. monocytogenes* fait appel aux méthodes classiques d'identification bactérienne: catalase+, oxydase-, β-hémolyse sur gélose au sang, D-xylose-, D-mannitol-, L-rhamnose+, Citrate-, α-méthyl-D-mannoside+. Cette bactérie est privée de nitrate réductase, elle fermente le glucose sans production de gaz, elle hydrolyse l'esculine, elle ne produit pas d'indole, ni de H₂S. Elle est uréase- et non protéolytique (gélatine-), phosphatase alcaline+. L'arabinose, le lactose, le mélézitose, le saccharose et la dextrine sont tardivement fermentés ou négatifs. Le xylose, raffinose, inositol, dulcitol, mannitol, adonitol ne sont pas fermentés. *Listeria* donne des résultats positifs en présence de rouge de méthyle et au test Voges Proskauer.

Le catabolisme du glucose emprunte la voie d'Embden-Meyrhopf. En anaérobiose, le produit terminal est l'acide lactique ; en aérobie, apparaissent le pyruvate, l'acétoïne, l'acide lactique.

Outre *L. monocytogenes*, le genre *Listeria* comprend d'autres espèces, non pathogènes pour l'homme: *L. innocua*, *L. ivanovii* (*subsp. ivanovii* et *subsp. londoniensis*), *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. grayi* (SEELIGER et JONES, 1986). *L. ivanovii* est responsable d'avortements chez les bovins et les caprins. Les caractères distinctifs des espèces sont donnés dans le tableau I (ROCCOURT et JACQUET, 2000). Aucune espèce de *Listeria* ne réduit les nitrates en nitrites.

Tableau I Caractères bactériologiques différenciant les espèces de *Listeria* (+ : positif ; - : négatif) (ROCCOURT et JACQUET, 2000).

	Hémolyse	CAMP test <i>S. aureus</i> *	CAMP test <i>R. equi</i> **	D-xylose	L-rhamnose	α méthyl D-mannoside	Ribose	Mannitol
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>L. ivanovii</i> (<i>subsp. ivanovii</i>)	+	-	-	+	-	-	+	-
<i>L. ivanovii</i> (<i>subsp. londoniensis</i>)	+	-	+	+	-	variable	-	-
<i>L. innocua</i>	-	-	-	-	variable	+	-	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-	-	+	variable	+	-	-
<i>L. seeligeri</i>	+	+	-	+	-	-	-	-
<i>L. grayi</i>	-	-	-	-	-	non défini	-	+

* *Staphylococcus aureus* ; ** *Rhodococcus equi*

1.1.3- Caractères culturels

Listeria est aérobie microaérophile et anaérobie facultative. Elle est mésophile mais avec un comportement souvent psychrotrophe (DJENANE *et al.*, 2006). Les colonies de *Listeria* (24-48 h) sur gélose nutritive ont un diamètre de 0,5-1,5 mm ; elles sont arrondies, translucides en goutte de rosée, faiblement convexes à marge entière. Les colonies paraissent gris bleuté par illumination normale et bleu vert par illumination oblique. Les colonies, parfois gluantes, s'émulsifient facilement et peuvent laisser une trace de gélose. Les cultures plus âgées (3-7 jours) sont plus larges (3-5 mm de diamètre) avec un centre plus opaque et des formes "rough" peuvent apparaître. Quelques espèces sont β-hémolytiques sur gélose au sang (LARPENT, 2004).

Les cultures sont plus abondantes sous une tension réduite en oxygène (O₂) (DOYLE, 1988). *Listeria*, en gélose molle dans un tube, inoculée par piqûre centrale et incubée à 20°C, a une croissance visible sur toute la hauteur du tube, avec un trouble plus intense à quelques millimètres au-dessous de la surface du milieu ; la mobilité se traduit par une image en parapluie caractéristique.

Les souches de *Listeria* se développent bien sur Blood Agar Base 2 (Difco) ou Tryptose Agar. La croissance est stimulée par l'addition de glucose (0,2-1 % p/v). Le milieu Al-Zoreky-Sandine *Listeria* (AS LM) contient de l'acriflavine, de la ceftazidime et du moxalactame

comme agents sélectifs. Il inhibe les microcoques, les entérocoques et les bactéries Gram- (AL-ZOREKY et SANDINE, 1990).

Certains composants sont stimulateurs mais ne sont pas indispensables: Cystéine, Guanine, Adénine, Thymine (chacun à 2,5 mg/l) et Hémine (50 mg/l). Le fer (Fe) stimule la croissance des *Listeria* ; cet effet stimulant est proportionnel à la concentration du fer ajoutée (SWORD, 1966).

1.2- Physiologie de *Listeria monocytogenes*

- **Température et croissance**

La température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C. La bactérie peut même se développer à des températures comprises entre -2°C et +45°C (AUGUSTIN, 1999). Ces données montrent clairement que si un taux de croissance positif est détecté à des températures inférieures à 0°C, celui-ci est extrêmement faible, et la croissance n'est observable que pour de longues périodes d'incubation. Par ailleurs, une forte hétérogénéité des taux de croissance a été décrite (AUGUSTIN, 1999). Plus généralement le comportement de *L. monocytogenes* semble souche-dépendant quelque soit les facteurs étudiés (température, pH, a_w), les aliments (laits, fromages, etc...).

- **pH (potentiel hydrogène) et croissance**

L. monocytogenes se multiplie selon PEARSON et MARTH (1990) entre pH 4,6 et pH 9,6 avec un optimum à pH 7,1 à l'optimum thermique. Elle peut toutefois survivre pendant de très longues périodes à des pH proches de 4 comme c'est le cas dans les ensilages de maïs sans que l'on connaisse l'origine génétique ou adaptative du phénomène (PHAN-THANH et MONTAGNE 1998). Cette résistance pourrait correspondre à une adaptation croisée induite par un stress homologue (O'DRISCOLL *et al.*, 1996) ou hétérologue (LOU et YOUSSEF, 1997).

- **Activité de l'eau (a_w) et croissance**

Listeria se développe à un optimum de a_w de 0,97, mais peut se développer à 0,943. Une a_w inférieure à 0,932 ne semble pas permettre la croissance de la dite bactérie (SKOVGAARD, 1988). La bactérie survit au moins 132 jours à 4°C en milieu "Trypticase Soy Agar" avec 25% de Chlorure de Sodium (NaCl), donc une a_w de 0.83. Il a été observé que *L. monocytogenes* peut survivre pendant au moins 84 jours à 4°C dans un salami fermenté dont l' a_w est de 0.79-0.86 (JOHNSON, 1988).

- **Pression osmotique (NaCl)**

L. monocytogenes ne se développe en général pas 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) mais pas dans un milieu de culture salé à 12% (NOLAN *et al.*, 1992).

1.3- Caractéristiques antigéniques

1.3.1-Sérotypie

On distingue 15 antigènes somatiques (I à XV) et 5 antigènes flagellaires (A à E). La combinaison de ces différents facteurs dans une même bactérie permet de reconnaître actuellement 17 sérovars (tableau II). Selon LUKINMAA *et al.* (2003), Plus de 90% des souches isolées des infections cliniques appartiennent au sérovar 1/2a, 1/2b ou 4b de *L.*

monocytogenes. Le sérovar 4b de *L. monocytogenes* est le plus impliqué dans les cas de listériose animale et humaine, alors qu'il est rarement isolé des aliments (LARPENT, 2004).

Tableau II : Sérovars de *Listeria monocytogenes* (D'après BIND, 1990)

Espèces	Sérovars	Antigènes somatiques (o)	Antigènes flagellaires
<i>Listeria monocytogenes</i>	1/2a	I II (III)	A B
	1/2b	I II (III)	A B C
	1/2c	I II (III)	B D
	3a	II (III) IV	A B
	3b	II (III) IV (XIIIXIII)	A B C
	3c	II (III) IV	B D
	4a	(XIIIXIII)	A B C
	4ab	(III) (V) VIII IX	A B C
	4b	(III) V VI VIII IX X	A B C
	4c	(III) V VI	A B C
	4d	(III) V VII	A B C
	4e	(III) (V) VI VII	A B C
	7	(III) V VI (VIII) IX XIIIXIII	A B C

1.3.2-Lysotypie

La lysotypie est développée pour pallier les insuffisances du sérotypage. Elle permet de répertorier des bactéries par leurs sensibilités à divers phages. Actuellement, 219 phages sont répertoriés mais seulement 55 sont spécifiques du genre *Listeria* et ils lysent toutes les espèces du genre, exception faite pour *L. grayi*.

2- *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*. Lors des principales épidémies survenues dans d'autres pays, rapportées dans la littérature, ont été mis en cause des produits laitiers, des produits de charcuterie ou carnés, des produits de la mer et des produits végétaux.

Les *Listeria*, comme l'immense majorité des bactéries dans la nature, ne sont pas en suspension dans des liquides, mais adhérentes à des supports où elles forment des biofilms (PERNI *et al.*, 2005 ; CHAE *et al.*, 2006). Ces structures où cohabitent généralement plusieurs genres bactériens, modifient la physiologie bactérienne, favorisent les échanges de matériel génétique, améliorent la survie des bactéries face aux stress (applications

technologiques diverses), et augmentent les possibilités de contamination des aliments. Une meilleure connaissance des *Listeria* en biofilm permettra de renforcer les possibilités de nettoyage/désinfection des surfaces et équipements, voire d'utiliser des flores compétitrices.

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). La pathogénie ou virulence sont définies comme un développement d'un nombre suffisant de *L. monocytogenes*, d'une manière que l'ingestion du dit produit peut engendrer des effets pathologiques. Il serait possible qu'un aliment présente des symptômes d'altération sans risque de *L. monocytogenes* et vice-versa.

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 micro-organismes dangereux sont les plus incriminés dans les différents cas de listériose (ROCOURT *et al.*, 2003 ; GIBBONS *et al.*, 2006).

2.1- *Listeria monocytogenes* dans les produits alimentaires

2.1.1-Lait et produits laitiers

La qualité du produit à la ferme est surtout liée à l'hygiène, que ce soit des locaux, du matériel, du personnel, de la traite, mais aussi à la surveillance sanitaire des animaux et à une alimentation de qualité. Les fréquences de contamination des laits crus, sont variables selon les études effectuées dans différents pays. La fréquence de contamination des lait crus par *L. monocytogenes* est variable (PRASAD et GUPTA, 1990). Elle varie également en fonction de la saison (MARTH, 1986).

Le lait issu de certains animaux, où la concentration en *L. monocytogenes* est sans doute élevée, contamine les laits indemnes lors des mélanges au niveau des entreprises agroalimentaires. Le traitement thermique utilisé dans les industries laitières est en théorie suffisant pour assurer la destruction de *L. monocytogenes*. Les contaminations éventuellement mises en évidence, résultent généralement soit d'un problème technologique (pasteurisation insuffisante), soit d'une contamination secondaire (cas de laits pasteurisés recontaminés) si les bonnes pratiques de fabrication ne sont pas respectées. Il existe un certain nombre de publications décrivant les contaminations et les pratiques à risque concernant l'industrie laitière. Ces publications ont décrit avec précision l'ensemble des points critiques décelés en industrie laitière (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.

D'une manière générale, les laits concentrés ne sont pas contaminés par *L. monocytogenes*, mais cette bactérie survit mieux dans les laits concentrés non sucrés que dans les laits concentrés sucrés où l' a_w de 0,83 est trop faible pour permettre la croissance de *Listeria*. *Listeria* est très rarement isolée de lait en poudre, milieu dans lequel elle peut survivre mais pas se multiplier. Depuis les épidémies de Californie et de Suisse, de nombreuses publications font état de la fréquence de contamination des fromages par *L. monocytogenes*. Elle peut être isolée de fromages à pâte molle ou semi molle, à pâte persillée, à pâte pressée ou à pâte fraîche (COPEES *et al.*, 2000 ; MILLET *et al.*, 2006). La fréquence de contamination varie de 1 à 12 % (PRASAD et GUPTA, 1990). Cette statistique diffère de celle obtenue par SKOVGAARD *et al.* (1989) et TERPLAN *et al.* (1990) qui enregistrent 25% et 30% de contamination de fromages à pâte molle ou semi-molle. Le comportement des *L. monocytogenes* est très variable selon les fromages (LARPENT, 1997). C'est

essentiellement la technologie de fabrication fromagère qui conditionne ce comportement, compte tenu du chauffage du lait ou du caillé d'une part, et des conditions d'affinage d'autre part (durée, évolution du pH et de la température, teneur en sel et activité de l'eau pour ne citer que les principaux paramètres influençant le développement bactérien). Dans une publication récente, AYGUN et PEHLIVANLAR (2006) ont signalé que *Listeria* spp. est présente dans le lait cru et fromage blanc "turc" approximativement 2,12% et 8,23%, respectivement. Le pH acide atteint en fin de fabrication du yaourt grâce à la fermentation lactique maîtrisée permet d'inhiber la croissance voire détruire *L. monocytogenes*. En contradiction à cette logique scientifique, SCHAAK et MARTH (1988) ont signalé que *L. monocytogenes* pourrait être isolée du yaourt. Par ailleurs, *L. monocytogenes* se développe très bien dans les mélanges pour glaces, mais sa croissance est inhibée à -18°C (PALUMBO, 1991).

2.1.2- Viandes et produits carnés

Depuis une dizaine d'années, les enquêtes épidémiologiques ont également permis de constater une augmentation constante de contaminations par *Listeria* chez les animaux de boucherie ainsi que chez les volailles. 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 *Listeria* soient souvent retrouvées dans les viandes issues des différentes espèces (NICOLAS *et al.*, 1992).

Dans une étude concernant l'incidence de *Listeria* dans les viandes, YÜCEL *et al.* (2005) ont indiqué que 79 échantillons sur 146 étaient contaminés par *Listeria*. Cependant, les différentes espèces de *Listeria* isolées de la viande et produits carnés ont exhibé une certaine résistance à certains antibiotiques.

Il est 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 *L. monocytogenes*. Les travaux conduits par certains auteurs ont montré que si seulement quelques carcasses étaient positives en *L. monocytogenes* à l'issue de l'abattage plusieurs parties des carcasses pouvaient être contaminées après la découpe. L'examen bactériologique de la contamination des surfaces démontre clairement l'origine environnementale de ces *L. monocytogenes*.

L. monocytogenes peut être utilisée comme germe indicateur des conditions d'hygiène dans l'abattage dans le cadre d'un programme HACCP (*Systèmes d'analyse des risques – points critiques pour leur maîtrise*) (GOBAT et JEMMI, 1990).

L'existence de certaines souches de *L. monocytogenes* dites "résidentes" a été confirmée par certaines études au laboratoire. L'utilisation de différentes techniques de typage moléculaire a permis de préciser l'identité de certaines souches de *L. monocytogenes* recueillies 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 *L. 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 épidémies de listérioses impliquant des produits de charcuterie-salaison, ont montré que là encore, la forte contamination des surfaces de travail pouvait être à l'origine de l'apparition de faibles quantités de *L. monocytogenes* sur les produits.

Dans les salamis durs, le nombre de *Listeria* diminue pendant la fermentation et la période de séchage. Cette bactérie peut être détectée après 12 semaines.

Aux États-unis, *L. monocytogenes* a été détectée dans 20% des échantillons de saucisses fermentées analysés (FARBER *et al.*, 1989).

2.1.3 - Poissons et produits de la pêche

Diverses études ont montré que certains poissons et coquillages pouvaient être contaminés par *L. monocytogenes*. Dans certains cas, les traitements thermiques ainsi que les techniques de fermentations de certains produits de la mer expliquent l'importance de traitements sur un éventuel déclenchement de la maladie (NOTERMANS et HOORNSTRA, 2000). La fréquence de contamination des poissons est considérable pour le poisson frais (JEMMI, 2002). Ce niveau de contamination varie en fonction de l'origine (sauvage ou élevage), de la saison, de la technique de pêche, de la manipulation des poissons et du mode de conservation (réfrigération, congélation). *L. monocytogenes* est capable de se développer à 4°C dans du saumon fumé, des crevettes, de la chair cuite de crabe et des homards artificiellement inoculés. Cette bactérie se développe davantage dans le homard et la chair de crabe (FARBER, 1991).

Il semble aussi que le matériel et le personnel peuvent jouer un rôle secondaire dans la contamination des produits. Cependant, il semble que là encore l'environnement des ateliers, y compris dans les salles de préparation et de fumaison, ait un rôle important dans la contamination finale des produits par des agents pathogènes et en particulier par *L. monocytogenes* (MIETTINEN *et al.*, 2001). Il serait cependant intéressant de signaler que certaines pratiques de fabrication favorisent davantage la contamination de certains produits élaborés à froid.

2.1.4 - Œufs et ovoproduits

De nombreuses études, réalisées ont montré que certains œufs et ovoproduits pouvaient être contaminés par *L. monocytogenes*. Certains auteurs ont manifesté leur inquiétude concernant la présence de *Listeria* dans le blanc d'œuf liquide pasteurisé durant la conservation en réfrigération (MURIANA, 1999). BRACKETT et BEUCHAT (1991) ont signalé que *L. monocytogenes* peut facilement survivre dans les ovoproduits déshydratés maintenus à des températures comprises entre 5°C et 20°C. En revanche, les mêmes auteurs ont observé aussi que dans l'œuf liquide la bactérie pourrait résister à des températures allant jusqu'à -18°C.

La survie de *Listeria* à 4°C, dans l'albumine, le jaune d'œuf et l'œuf entier contenant du saccharose à 25%, est significative dans tous les produits.

2.1.5- Produits d'origine végétale

Plusieurs études ont porté sur l'incidence de *Listeria* dans les produits d'origine végétale (4^{ème} gamme et certains fruits). A ce titre les légumes peuvent être un vecteur de transmission de la listériose. En effet, des légumes pollués ont été suspectés dans plusieurs épidémies de listériose humaine. La préparation, puis la transformation des matières premières en légumes prêts à l'emploi, sont des facteurs favorisant la contamination initiale ou croisée. Le lavage et la désinfection à l'eau chlorée agissent sur les cellules de *L. monocytogenes* comme sur les autres bactéries présentes sur la surface des végétaux. L'efficacité de la chloration serait diminuée par la formation de biofilms par la flore bactérienne sur la surface des feuilles qui protégeraient les cellules de *L. monocytogenes*.

La température est un facteur important de l'attachement de la bactérie sur les tissus végétaux (GORSKI *et al.*, 2003). L'aptitude de *L. monocytogenes* à se développer aux températures de conservation de plusieurs légumes (asperges, brocoli et chou-fleur à 4°C,

laitue à 5°C, endive et chicorée à 6,5°C) est un facteur constituant un risque de multiplication de la bactérie dans ces produits. En ce qui concerne le comportement de *L. monocytogenes* dans les produits, varie en fonction de ceux-ci. Les carottes crues, découpées, ont un effet létal sur les *Listeria*, cet effet disparaît après broyage ou cuisson. En revanche les choux, brocoli, choux fleures, asperges, salades peuvent constituer des substrats favorables à la croissance de *L. monocytogenes*. Dans une étude publiée récemment, FLESSA *et al.* (2005) ont signalé que *L. monocytogenes* pourrait même survivre durant quatre semaines dans les fraises congelées à $-20 \pm 2^\circ\text{C}$.

La pratique de plus en plus courante de stockage et de conservation des végétaux fermentés destinés à l'alimentation animale a ainsi vu augmenter les cas de listérioses chez ces animaux (lait ou viande). La qualité des ensilages est d'une importance primordiale et la non maîtrise des techniques de fabrication (aérobiose, présence de terre ou stockage en semi-enterré dans les sols, pH trop élevé, broyage trop grossier des végétaux, lessivage par des pluies, mauvaise protection par des bâches abîmées, etc.) sont à l'origine de la prolifération de la bactérie.

2.2- Méthodes de préservation des produits agroalimentaires contre *Listeria monocytogenes*

• Thermo-résistance

L. monocytogenes n'est pas considérée comme un germe thermorésistant et est rapidement détruit à des températures de pasteurisation (BRÉAND *et al.*, 1998). Toutefois, l'effet de divers prétraitements thermiques peut beaucoup influencer sa thermo tolérance. Pour des bactéries cultivées initialement à 4°C, un préchauffage à 47,5°C pendant 3 heures (PAGAN *et al.*, 1997) pourrait lui acquérir une résistance ultérieure à une température de 65°C. Ces résultats qui confirment ceux de LINTON *et al.* (1990) montrent que la faculté de préadaptation des *L. monocytogenes* aux traitements thermiques est réelle. Il serait donc probable que cette faculté contribue à la survie de *L. monocytogenes* dans certains aliments subissant, au cours du processus de fabrication, un préchauffage avant pasteurisation.

Acides minéraux, organiques et désinfectants

Les environnements de production des aliments sont toujours contaminés par de nombreux microorganismes dont la présence peut affecter directement ou indirectement la qualité des produits finis. Parmi les différentes flores présentes, certaines sont directement impliquées dans l'altération des produits et d'autres peuvent être pathogènes. Pour limiter la présence de la flore indésirable, les industriels utilisent le plus souvent des procédés de décontamination drastique qui détruisent sans distinction tous les germes présents. De telles approches ont prouvé leur efficacité, notamment dans le cas des produits frais. Le concept de décontamination sélective a été développé par les chercheurs, dans le but d'éliminer des surfaces des bactéries pathogènes et d'altération.

Plusieurs travaux ont été conduits dans le but d'évaluer le comportement de *L. monocytogenes* en présence de certains acides organiques (acétique, citrique, lactique, propionique) et minéraux (HCl, H₂SO₄), utilisés seuls ou en combinaisons. Ces produits peuvent éventuellement être utilisés comme agents de conservation dans l'industrie agro-alimentaire (GILL et LANDERS, 2004). Il a été observé par certains auteurs qu'en dessous du pH minimum la mort cellulaire s'observe après une phase de latence qui peut durer longtemps. L'abaissement du pH par de l'acide acétique est plus stressant sur des bactéries en phase de croissance active que sur des bactéries en phase de latence. L'activité bactéricide ou bactériostatique des acides organiques varie avec l'acide.

Le lavage et la désinfection à l'eau chlorée agissent sur les cellules de *L. monocytogenes* comme sur les autres bactéries présentes sur la surface des végétaux.

Hautes pressions et irradiations

Face à l'effet des hautes pressions, il apparaît que *L. monocytogenes* n'est pas un germe très résistant comparativement à d'autres germes pathogènes. Il faut néanmoins appliquer 375 MPa (Méga Pascal) pendant 15 minutes (CHEFTEL et CULIOLI, 1997) pour réduire la population de 5 unités Log à 10-20°C. Des observations similaires ont été faites par différents auteurs, dont SIMPSON et GILMOUR, (1997) qui ont observé que *L. monocytogenes* peut survivre dans du lait traité à Ultra Haute Température (UHT) et dérivés de viande à un traitement de 375 MPa/30 minutes à une température ambiante par rapport à ce qui a été observé dans une solution phosphatée. Les mêmes auteurs ont signalé une réduction de 4,5 log CFU/ml de *L. monocytogenes* au même traitement mais cette fois-ci pendant 5 minutes à 45 °C.

Généralement, la résistance à l'irradiation de *L. monocytogenes* est faible et une dose de 2 kGy (Kilo Gray) est suffisante pour détruire les cellules de *L. monocytogenes* aux inoculum habituellement rencontrés dans les aliments (OSTERHOLM et POTTER, 1997). La dose de réduction décimale (D10) se situe, suivant la température et la nature de l'aliment irradié entre 0,25 et 0,77 kGy, avec une moyenne aux environs de 0,56 kGy (MONK *et al.*, 1994). KIM *et al.* (2006) ont étudié l'effet de l'irradiation (1 kGy) sur l'incidence de *Listeria* dans la laitue. Ils ont constaté qu'après traitement la charge de *Listeria* était réduite à un seuil non détectable.

Atmosphère modifiée

Le conditionnement des aliments sous atmosphères modifiées (AM) a connu des progrès extraordinaires. La raison réside dans la capacité des AM d'assurer le maintien des caractéristiques qualitatives durant une large période de conservation (DJENANE *et al.*, 2003a,b ; DJENANE *et al.*, 2005). Il n'est pas donc surprenant que durant ces dernières années, cette technique de conservation fasse l'objet d'un développement spectaculaire.

Si les conditions sont favorables, la présence de *L. monocytogenes* dans un aliment peut constituer un danger pour le consommateur. De nombreux auteurs ont exprimé leur préoccupation concernant la sécurité des aliments emballés sous AM (HUGAS *et al.*, 1998). Les conditions d'antagonismes générées lors d'un conditionnement sous AM, éliminent la plupart des microorganismes d'altération mais laissent sans doute un terrain plus favorable aux microorganismes plus résistants comme *L. monocytogenes*, qui se retrouvent sans compétiteurs.

La résistance de *L. monocytogenes* aux AM a fait l'objet de plusieurs études aux laboratoires, cependant l'effet de CO₂ sur cette bactérie n'est pas vraiment encore élucidé. Certains auteurs ont suggéré que l'inhibition de *L. monocytogenes* dans le conditionnement des viandes sous AM ne peut s'obtenir que par des systèmes synergiques ou combinés et non par le conditionnement seul sous AM.

Substances antimicrobiennes naturelles

Actuellement, en raison d'une expansion intensive de la distribution des aliments frais, la qualité microbiologique a varié et d'autres problèmes sont apparus (listérioses, par exemple). Devant cette situation urgente, une nouvelle approche dans la sécurité des aliments a vu le jour (BENKERROUM *et al.*, 2003).

Des études récentes ont révélé que les consommateurs considèrent plus sûres et sains les produits élaborés à partir des ingrédients naturels, en rejetant ceux qui enregistrent dans leurs étiquettes des additifs synthétiques. Cette situation justifie l'intérêt pour l'identification des

nouvelles substances naturelles capables d'être utilisées comme des ingrédients alimentaires. La majorité des techniques actuelles de conservation des aliments sont basées sur des processus technologiques complexes, et dans plusieurs cas les industriels préfèrent opter pour l'utilisation des conservateurs chimiques.

De nombreux auteurs ont rapporté que les extraits d'herbes ont des composés chimiques capables d'avoir une activité antimicrobienne (KUDA *et al.*, 2004). Les constituants des huiles essentielles sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons. La structure phénolique des huiles essentielles suggère que leur action sur la prolifération microbienne se fait à travers l'altération de la perméabilité membranaire des bactéries et interfèrent avec les systèmes de transport ionique, le transport des électrons et la production d'énergie. En générale, les bactéries Gram+ sont plus sensibles aux huiles essentielles des plantes que les bactéries Gram- (MANGENA et MUYIMA, 1999).

L'extrait de certaines plantes médicinales peuvent avoir un effet antagoniste sur la prolifération de *L. monocytogenes* dans certaines denrées alimentaires (PANDIT et SHELEF, 1994 ; SINGH *et al.*, 2003). ROXANNE et ENZO (2006) ont testé deux extraits de plantes sur le contrôle de *L. monocytogenes* dans différents aliments. Les auteurs ont constaté que ces extraits (terpènes et stérols) étaient capables d'inhiber *L. monocytogenes* dans les produits à différentes températures (4°C et 37°C). Les mêmes auteurs ont indiqué que les composés de la matrice alimentaire peuvent exercer une influence sur l'effet antimicrobien des extraits d'herbe, par conséquent il serait nécessaire d'utiliser des doses supérieures pour avoir des résultats escomptés. RHODES *et al.* (2006) ont rapporté que l'extrait du raisin exerce un effet inhibiteur supérieur sur *L. monocytogenes* grâce à ces composés phénoliques.

Les bactéries lactiques ont été utilisées depuis plusieurs siècles pour la conservation des denrées alimentaires. Les risques de Listérioses seront minimes, si la multiplication n'aurait pas lieu durant la préparation, l'entreposage et éventuellement au cours de la distribution des aliments. Les bactéries lactiques constituent la meilleure alternative de préservation naturelle grâce à leur capacité de synthétiser des métabolites antimicrobiens (NIETO-LOZANO *et al.*, 2006).

La description et la caractérisation d'un grand nombre de métabolites antimicrobiens (bactériocines) durant ces dernières années et leur spectre d'activité étendu contre la flore d'altération et pathogène fait de ses substances d'excellents candidats pour répondre à l'attente légitime des consommateurs qui exigent des produits plus naturels, plus sûrs et moins altérables. L'intérêt croissant concernant les bactériocines est dû à une série de faits: l'approbation que certaines bactériocines sont considérées des substances saines et la reconnaissance que la majorité des maladies fréquentes sont associées aux toxi-infections microbiennes provoquées lors de l'ingestion des aliments infectés.

DJENANE *et al.* (2005) ont inoculé des steaks avec deux souches de bactéries lactiques ; *Lactobacillus sakei* CTC 372 (bactériocinogénique: *Sakacine* T) et *Lactobacillus* CTC 711 (non caractérisée). Les steaks ont été ensuite conditionnés sous AM. Les deux souches lactiques ont provoqué une inhibition de 67,3% sur *L. monocytogenes* cultivée dans un milieu de culture à 25°C. Probablement, les souches lactiques ont atteint une phase logarithmique maximum à cette température et, par conséquent, une production suffisante de bactériocine qui pourrait être la cause principale de l'inhibition de *Listeria*. Néanmoins, même à 3 et 8°C, l'inhibition de *L. monocytogenes* a été significative. Ce qui explique l'avantages que peuvent avoir ces deux souches dans la préservation des viandes réfrigérées, notamment en conditions d'entreposage à des températures abusives. BREDHOLT *et al.* (2001) ont rapporté que *L. monocytogenes* a été inhibé par *L. sakei* TH1 sur des jambons conservés à 4 ou 8°C.

Le saumon fumé à froid est un produit microbiologiquement fragile dont les caractéristiques physico-chimiques permettent le développement de *L. monocytogenes* qui

constitue le principal risque microbiologique lié à la consommation de ce produit. Le concept innovant de biopréservation du saumon fumé a été développé (RICHARD *et al.*, 2004).

De nos jours, la technologie génie génétique offre un potentiel énorme dans l'usage des bactéries lactiques à des fins antimicrobiens, particulièrement les bactéries bactériocinogéniques qui sont utilisées dans la biopréservation des aliments grâce à leur bonne activité antimicrobienne contre divers microorganismes et aussi pour leur neutralité envers les caractéristiques sensorielles des aliments (AMMOR *et al.*, 2006). Le clonage génétique permettrait le transfert des propriétés d'une espèce ou souche bactérienne à une autre et la construction de super producteurs qui peuvent produire de grandes quantités d'agents antimicrobiens très efficaces à la fois contre diverses gammes de microorganismes.

L'emballage "actif" a connu un véritable progrès dans le domaine d'incorporation des agents antimicrobiens aux matériaux d'emballage pour améliorer la sécurité des aliments (YOUNG-MIN *et al.*, 2002 ; CHI-ZHANG *et al.*, 2004).

Systemes combinés

La notion de systèmes combinés a été principalement développée pour contrer la présence et/ou la prolifération de pathogènes dans les aliments. Malgré son efficacité démontrée, l'irradiation des aliments se heurte à la réticence du consommateur qui ne voit qu'une technique compliquée et abstraite faisant intervenir l'énergie nucléaire. Face à cette barrière psychologique, les fabricants d'aliments ont préféré opter pour d'autres techniques ce qui limite aujourd'hui l'utilisation de l'irradiation dans la décontamination de certains produits alimentaires. Si l'irradiation a démontré d'être une méthode efficace pour améliorer la qualité sanitaire et augmenter la durée de conservation des viandes (CHAWLA et CHANDER, 2004) ; pourquoi son introduction à l'échelle commerciale est lente ? Sans nul doute, ils interviennent plusieurs facteurs : économiques, psychologiques et politiques.

L'atome Fe constitue un élément essentiel dans le développement de plusieurs groupes de microorganismes, exception faite pour les bactéries lactiques (BRUYNEEL *et al.*, 1990). Ainsi, l'application de piègeurs de fer (sidérophore : substance produite par certains microorganismes) inhibe le développement de la flore compétitive. L'association de cette substance à des souches lactiques bactériocinogéniques pourrait intensifier l'effet inhibiteur des bactériocines. De plus, grâce à la structure moléculaire non tertiaire composée par des petites chaînes peptidiques, les bactériocines sont dotées d'une thermorésistance considérable (PIARD et DESMAZEAUD, 1992).

2.3- Microbiologie prévisionnelle

L'estimation du devenir de *L. monocytogenes*, dans un produit alimentaire, repose sur une connaissance précise des flores et des effets des conditions environnementales (produits, température, etc.). Cette connaissance s'appuie aujourd'hui sur des procédures expérimentales qui, étant donné les délais et les coûts, ne peuvent pas prendre en compte toutes les situations (modifications du procédé de fabrication, incidence de différentes ruptures de chaîne du froid, par exemple). Pour cette raison, en complément de l'expérience, sont de plus en plus utilisées des approches par simulation décrivant le comportement des flores microbiennes dans les produits dans ces diverses conditions (CHHABRA *et al.*, 2002).

2.4- Isolement et identification de *L. monocytogenes*

Un lot de produits de la même fabrication n'est pas homogène (dans un même lot, certains produits peuvent être contaminés, d'autres non) et un produit peut ne pas être contaminé de façon homogène (le niveau de contamination peut varier selon la face du

produit, la profondeur, par exemple). Ceci implique que, dans un lot considéré comme homogène, un échantillon pourra contenir ou ne pas contenir *L. monocytogenes*.

Dans un échantillon, un prélèvement d'un volume donné pourra contenir ou ne pas contenir la bactérie. Cette double incertitude complique l'interprétation finale. Cela justifie le choix d'un plan d'échantillonnage adapté, dont la sévérité doit découler de l'homogénéité de la contamination, du nombre d'unités défectueuses que l'on considère comme acceptable dans le lot, en fonction de la signification en terme de santé publique de la présence de *L. monocytogenes* dans l'aliment considéré. L'isolement et le diagnostic de *L. monocytogenes* sont aujourd'hui rapidement effectués: quelques jours suffisent alors qu'il y a une dizaine d'années, plusieurs semaines étaient nécessaires.

L'ensemencement d'une gélose d'usage courant telle qu'une gélose trypticase soja au sang (5 % de sang de mouton, de cheval ou de lapin) permet alors l'isolement.

Dans la majorité des cas, notamment dans les denrées alimentaires, les *Listeria* sont en faible nombre et la flore associée est abondante. Il faudra alors avoir recours à des techniques d'enrichissement sélectif suivies d'un isolement sur des milieux sélectifs. De nombreuses substances sélectives ont été utilisées, seules ou en association: acriflavine, chlorure de lithium, phényléthanol, tripaflavine, acétate de thallium, colistine, acide nalidixique, polymyxine B, moxalactam, ceftazidime, cycloheximide, latamoxef, céfotétan, fosfomycine... Il subsiste encore quelques difficultés dans la mise en évidence des *Listeria* spp. dans les denrées alimentaires. Selon CATTEAU (1999), elles sont le plus souvent liées à l'hétérogénéité des produits analysés (lorsque la contamination est faible, pour un même lot de fabrication, certains produits peuvent être contaminés et d'autres non) et à l'existence de souches stressées par les traitements qu'elles ont subis (chauffage, congélation, salage...). Les souches stressées peuvent être sensibles aux inhibiteurs présents dans les milieux sélectifs et ne pas être détectées lors des analyses utilisant des milieux fortement sélectifs comme la gélose PALCAM. Inversement, l'utilisation de milieux moins sélectifs comme la gélose OXFORD pourra permettre la croissance d'une souche stressée mais cette croissance risque d'être masquée par la présence de micro-organismes contaminants.

Une fois isolée, les bactéries devront être identifiées soit en ayant recours à des techniques bactériologiques classiques soit en utilisant des méthodes plus modernes. Pour des études épidémiologiques, il est nécessaire d'effectuer une identification infraspécifique de la souche isolée (détermination du sérovar, identification du lysovar, étude du profil de macrorestriction...). (EUZEBY, 2000).

Actuellement, plusieurs méthodes, différentes selon le type de prélèvement et/ou les pays, sont utilisées.

2.4.1- Identification bactériologique classique

De faibles quantités de *L. innocua* peuvent masquer la présence de *L. monocytogenes* à l'issue de la procédure d'enrichissement (McDONALD et SUTHERLAND, 1994). *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. monocytogenes* (KALMOKOFF *et al.*, 1999), 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.

L'identification du genre *Listeria* repose sur les caractères morphologiques, sur la recherche de la catalase, sur la mobilité à 25 °C (étudiée en ensemencant deux bouillons nutritifs incubés pendant environ 4 heures, l'un à 25 °C et l'autre à 37 °C ou étudiée en gélose mobilité ce qui permet d'observer l'image caractéristique en sapin renversé), sur l'hydrolyse de l'esculine (hydrolyse rapide observée en 2 à 3 heures), sur l'acidification du D-glucose, sur une réponse positive aux tests RM et VP et sur l'absence de production d'H₂S.

Le diagnostic de l'espèce est basé sur les caractères présentés dans le tableau I mais, il peut également être réalisé en utilisant des galeries miniaturisées comme la galerie API *Listeria* qui permet la recherche de 10 caractères: hydrolyse de l'esculine, alpha-mannosidase, acidification du D-arabitol, du D-xylose, du rhamnose, de l'alpha-méthyl-D-glucoside, du ribose, du glucose-1-phosphate, du D-tagatose et d'une arylamidase. Ce dernier test, désigné sous le sigle DIM (pour Différenciation *Listeria innocua* / *L. monocytogenes*), est négatif pour *L. monocytogenes* mais positif pour 99% des souches de *Listeria innocua*, pour 99% des souches de *Listeria grayi*, pour 97 p. cent des souches de *Listeria seeligeri*, pour 90% des souches de *Listeria welshimeri* et pour 88% des souches de *Listeria ivanovii*. L'utilisation de la galerie API *Listeria* évite de recourir aux tests de CAMP (JOFFIN et LEYRAL, 1998).

2.4.2- Méthodes modernes

2.4.2.1- La méthode de routine AFNOR NF V 08 055

L'échantillon est placé dans un bouillon d'enrichissement de Fraser "demi" de façon à obtenir un rapport prise d'essai/milieu d'enrichissement de 1/10. Le bouillon est ensuite incubé à 30 °C durant 18 à 24 heures.

Après incubation, le bouillon d'enrichissement de Fraser "demi" est repiqué sur gélose PALCAM ou OXFORD et 0,1 mL de ce bouillon est mis en culture dans 10 mL de bouillon d'enrichissement de Fraser qui sera incubé 36 à 48 heures à 37 °C.

Le bouillon d'enrichissement de Fraser est repiqué après 18 ou 24 heures d'incubation et après 36 ou 48 heures d'incubation sur gélose PALCAM ou OXFORD.

Les milieux gélosés sont incubés à 37 °C et observés tous les jours durant 2 jours. Les colonies suspectes 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. Sur gélose OXFORD, les colonies de *Listeria* apparaissent noires et entourées d'un halo noir.

2.4.2.2- La méthode normalisée NF EN ISO 11290-1

La méthode internationale normalisée NF EN ISO 11290-1 est voisine de la précédente. La principale différence est qu'elle préconise un isolement sur géloses PALCAM et OXFORD au lieu d'un repiquage sur géloses PALCAM ou OXFORD. Vingt cinq grammes d'échantillon sont placés dans 225 mL de bouillon d'enrichissement de Fraser "demi" et broyés 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 10 mL de bouillon d'enrichissement Fraser incubé 48 heures à 37 °C. Après ce temps d'incubation le 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. Les colonies 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. Certaines souches de *L. monocytogenes* peuvent être altérées par des traitements technologiques appliqués en agroalimentaires et qui deviennent sensibles à certains inhibiteurs utilisés dans les milieux de cultures sélectifs. Ces souches peuvent, dans ces conditions, parfois ne plus cultiver sur gélose

PALCAM mais continuer à le faire sur gélose OXFORD moins inhibitrice mais moins sélective et laissant cultiver des micro-organismes susceptibles de masquer la présence de *Listeria*. C'est pourquoi la méthode normalisée NF EN ISO 11290-1 demande d'effectuer l'isolement sur les deux milieux gélosés OXFORD et PALCAM. L'état physiologique des bactéries recherchées conditionne largement le succès ou l'échec de la détection ou l'exactitude du dénombrement.

2.4.2.3- La méthode "Rapid'L.Mono"

Validée par l'Association Française de Normalisation (AFNOR). Cette technique utilise un milieu gélosé sélectif permettant une identification en 24-48 heures après l'étape de pré-enrichissement. Le milieu Rapid'L.Mono permet la détection chromogénique d'une phospholipase C produite par *L. monocytogenes* et *Listeria ivanovii* et une différenciation de ces deux espèces basées sur la capacité d'acidification du xylose. 25 grammes d'échantillon sont placés dans 225 mL de bouillon d'enrichissement de Fraser "demi" et broyés au Stomacher. Le bouillon est incubé 24 heures à 30°C puis isolé sur gélose Rapid'L.Mono. Un aliquote (0,1 mL) du bouillon Fraser "demi" est ensemencé dans 10 mL de bouillon d'enrichissement Fraser incubé 48 heures à 37 °C. Après ce temps d'incubation le bouillon d'enrichissement Fraser est isolé sur gélose Rapid'L.Mono. Les milieux gélosés sont incubés à 37 °C et observés tous les jours durant 2 jours. Les colonies de *L. monocytogenes* apparaissent bleues (synthèse de phospholipase C) sans halo jaune (absence d'acidification du xylose). Les colonies de *Listeria ivanovii* apparaissent bleues (synthèse de phospholipase C) entourées d'un halo jaune (acidification du xylose). Les colonies des autres espèces sont blanches (absence de synthèse de phospholipase C), entourées d'un halo jaune (*Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri*) ou dépourvues d'un halo jaune (*Listeria grayi*, *Listeria innocua*).

2.4.2.4- La méthode LISTERSCREEN

Validée par AFNOR en 1995, le Listerscreen est une méthode de détection des *Listeria* dont le principe est basé premièrement sur une période d'enrichissement en bouillon Fraser "demi" suivie d'une deuxième étape qui repose sur l'immuncapture des *Listeria* réalisés par l'intermédiaire d'anticorps polyclonaux fixés sur billes magnétiques microscopiques. Cette étape permet de sélectionner et de concentrer les *Listeria* qui sont ensuite étalées sur une gélose sélective PALCAM (figure 1).

2.4.2.5- La méthode Polymérase Chain Réaction (PCR)

La Polymérase Chain Réaction (PCR) est une technique de biologie moléculaire mise au point en 1985 par KARYY MULLIS. C'est une technique d'amplification génique qui met en évidence un gène (ou portion de gènes) spécifique d'un genre, d'une espèce ou d'une souche d'un organisme ; des oligonucléotides amorces judicieusement choisis vont permettre l'amplification du fragment délimité par les amorces à l'aide d'une polymérase thermorésistante ; après de multiples cycles, le fragment amplifié est mis en évidence par électrophorèse sur gel d'agarose (KACLJKOVÁ *et al.*, 2003).

L'introduction des kits commercialisés utilisant la PCR a facilité l'utilisation en routine de cette méthode. Le principe est identique quelle que soit la méthode. Il repose sur l'amplification par PCR d'une séquence nucléique spécifique de *L. monocytogenes*. Les séquences amplifiées sont variables, elles sont souvent dérivées des gènes de virulence spécifiques à *L. monocytogenes* telle celle de la listériolysine, de la protéine d'invasion, de la phospholipase C. D'autres séquences spécifiques de *L. monocytogenes* peuvent servir de cible pour la PCR.

2.4.2.6- La méthode VIDAS® LDUO

Le nouveau test VIDAS® LDUO de bioMérieux permet aujourd'hui la détection simultanée et différenciée dans un seul test de *L. monocytogenes* et *Listeria spp.* pour les produits alimentaires et les échantillons d'environnement. Développé à partir du savoir-faire de bioMérieux dans les immunoessais, le test utilise des anticorps spécifiques prétraités qui améliorent encore ses performances, en termes de sensibilité et de spécificité. Le test VIDAS® LDUO, combiné avec le bouillon d'enrichissement LX, permet une croissance plus rapide des bactéries et une meilleure détection, donnant ainsi des résultats supérieurs à la méthode ISO 11290-1.

VIDAS LDUO® : Validé ISO 16140 par l'AFNOR VIDAS®, le premier système mondial pour la recherche automatisée des pathogènes dans l'agroalimentaire, vient d'obtenir la validation par l'AFNOR selon la norme ISO 16140 (BIO-12/18-03/06) de son dernier test, particulièrement innovant pour la maîtrise du risque *Listeria*: VIDAS® *Listeria* DUO. Il s'agit de la trentième validation de VIDAS®.

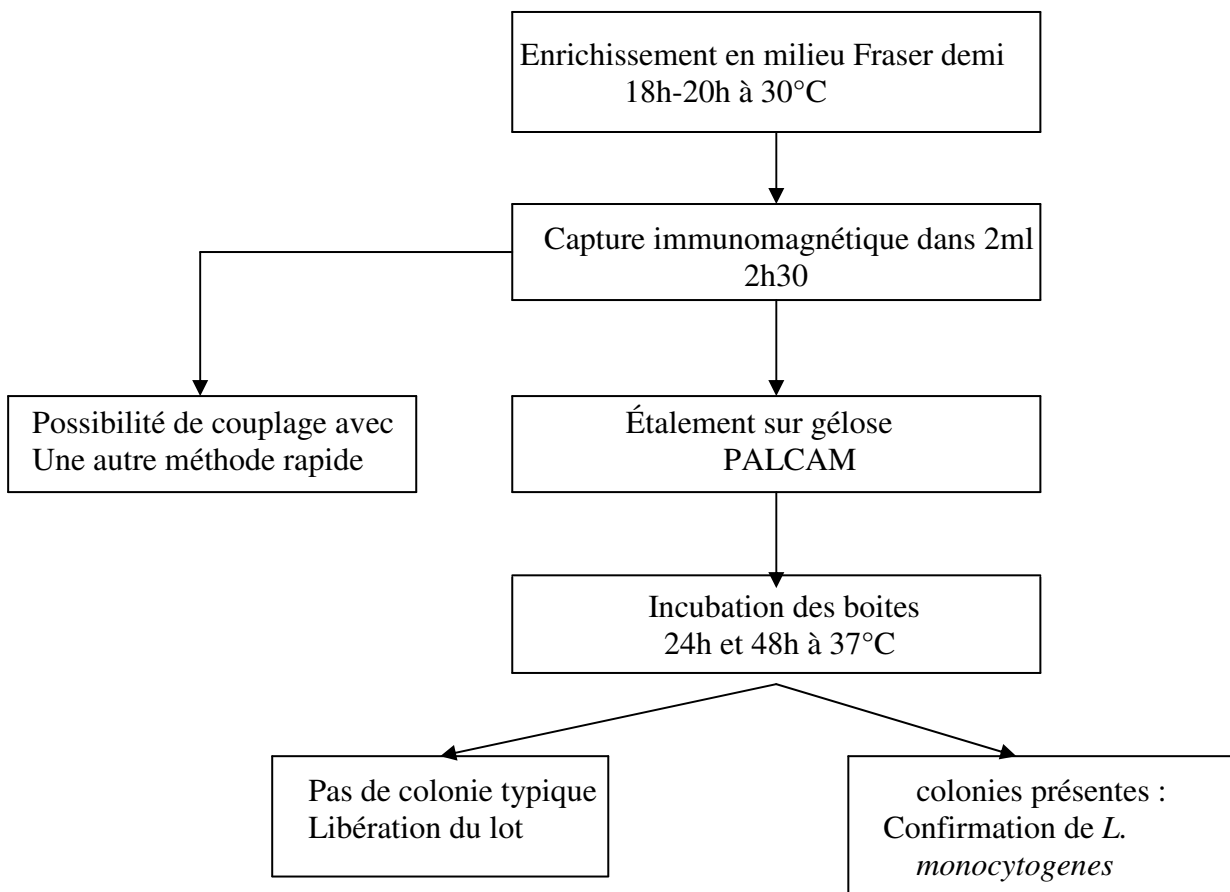


Figure 1 : Principe de la méthode LISTERSCREEN

2.4.3- Tests d'identification rapide

Des tests commerciaux permettent une détection rapide des *Listeria* présentes dans les denrées alimentaires après enrichissement sélectif. Certains de ces tests ont été validés par L'AFNOR. Ils reposent soit sur des techniques immuno-enzymatiques utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques du genre *Listeria* (kit Transia[®], Vidas *Listeria* sp. [®]...) ou spécifiques de *L. monocytogenes* (Vidas *L. monocytogenes*[®], Lister test[®]...) soit sur des techniques faisant appel à des sondes spécifiques de *L. monocytogenes* et à des tests PCR (Genetrak *L. monocytogenes*[®], Accuprobe *L. monocytogenes*[®], Probelia *L. monocytogenes*[®]...). Ces différents tests ne sont pas destinés à un diagnostic clinique effectué à partir de prélèvements d'origine humaine ou animale.

Une sonde chimioluminescente, commercialisée par Gen-Probe, permet de confirmer, en 30 minutes, qu'une colonie isolée sur un milieu gélosé est bien une colonie de *L. monocytogenes* (EUZÉBY, 2000).

2.5- *Listeria monocytogenes* et critères microbiologiques

Au plan national et quelles que soient les denrées alimentaires, et compte tenu de la gravité de la listériose humaine, le critère cible, tant à la production qu'à la distribution, reste bien l'absence de *L. monocytogenes* dans 1 ou 25 grammes de produits (Directive Européenne 92/46/CEE).

Outre le respect strict des protocoles analytiques défini par les normes, il est essentiel de respecter un protocole d'échantillonnage aléatoire et standardisé tant au stade du prélèvement de l'aliment que lors de la prise d'essai au laboratoire. Pour la prise d'essai, elle doit être représentative de l'échantillon et donc intégrer des prélèvements de surface et de profondeur.

Vu la gravité de la maladie provoquée par *L. monocytogenes*, tous les critères doivent être considérés comme des "standards", c'est-à-dire des critères auxquels il faut donner une force légale. Ces standards sont des standards "impératifs". C'est-à-dire qu'une action sur le lot non conforme doit être entreprise ainsi qu'une inspection attentive par les autorités de contrôle avec mesures préventives supplémentaires mises en place par l'entreprise et apport par celle-ci de la preuve de leur efficacité. Les autres cas de figure sont à considérer comme des standards "indicatifs", c'est-à-dire qu'aucune mesure n'est entreprise sur le lot détecté non-conforme mais que d'autres mesures doivent être prises par l'autorité de contrôle et l'entreprise.

Sur la base des caractéristiques de la bactérie, certains pays comme l'Italie et les USA ont opté pour la "tolérance zero" concernant la présence de *Listeria* dans les produits prêts à être consommé. Par contre certains experts pensent que l'ingestion de *L. monocytogenes* à des niveaux inférieurs, ne semble pas liée à une listériose, et donc ne pourrait pas constituer un risque pour la santé publique (FARBER *et al.*, 1996). Les experts considèrent que la "tolérance zéro" pour certains aliments envers la présence de *L. monocytogenes* est considérée une requise peu réaliste et difficilement réalisable dans la pratique. Selon les mêmes experts, cette requise ne fait que potentialiser des litiges dans le commerce international sans pour autant améliorer la santé publique. Certains auteurs ont même préconisé 10³ ufc/g de *L. monocytogenes* comme charge maximale admissible dans le poisson et autres produits alimentaires (STANNARD, 1997). Cependant, on ne peut exclure que, pour certaines populations à risque et dans certaines conditions, des contaminations plus faibles puissent déclencher une listériose. De nombreux pays développés ont considéré qu'un aliment devenait potentiellement dangereux quand la concentration en *L. monocytogenes* est > 100 ufc/g. Le long délai d'incubation de la maladie fait que les quantités retrouvées ne sont pas celles qui ont causé la maladie ; ceci tend à accroître la valeur seuil du fait de la conservation et de l'aptitude de croissance à basse température de *L. monocytogenes*.

Plusieurs pays développés (Allemagne, Pays-Bas, France) tolèrent la présence de 100 ou même 1 000 *L. monocytogenes* dans un gramme de certaines denrées au moment de leur consommation ; d'autres, enfin, comme le Canada et le Danemark, appliquent ce critère d'une contamination inférieure à 100 *L. monocytogenes* par gramme pour certains produits, et l'absence de ces microorganismes dans d'autres, et en particulier pour ceux qui présentent des facteurs écologiques favorisant la croissance bactérienne et dont la durée de conservation est relativement longue.

En Algérie, l'arrêté interministériel n°35 du 27 Mai 1998, fixant les critères microbiologiques de certaines denrées alimentaires et notamment des laits crus, n'en parle pas du tout. Cependant, compte tenu de la situation épidémiologique mondiale, il a été proposé et retenu pour le prochain arrêté, l'absence de *L. monocytogenes* dans 25 millilitre de lait cru. Cette norme a même été étendue à un nombre de produits alimentaires prêts à consommer (produits laitiers frais, produits carnés) ainsi qu'aux produits de la pêche (OUAHDI, 2004).

3. Listériose humaine

La listériose est transmise par l'intermédiaire des aliments, et sa pathogénie met en jeu le passage du micro-organisme de la lumière digestive aux cellules réticuloendothéliales du foie et de la rate. La réaction immunitaire contre *Listeria* se caractérise par une bactéricidie précoce médiée par les macrophages, suivi d'une énergique réponse cellulaire. L'immunité humorale ne semble jouer aucun rôle dans la réaction à l'infection.

L'origine alimentaire de la listériose humaine s'explique aisément par certaines caractéristiques générales de *Listeria*: il s'agit en effet de bactéries extrêmement résistantes (bien qu'elles ne soient pas sporulées) aux conditions du milieu extérieur, notamment de froid car psychrotrophe, ce qui explique qu'elles soient largement répandues dans la nature.

La notion de "Listériose, maladie alimentaire" est apparue en 1972 avec la relation entre les épidémies de listérioses ovines et une alimentation par ensilage de maïs (NICOLAS, 1993). En pathologie humaine, cette notion de maladie d'origine alimentaire est apparue pour la première fois en 1981 lors de l'épidémie des Provinces Maritimes, au Canada, où 34 cas de listérioses fœto-maternelles et 7 cas de listérioses chez l'adulte ont été recensés (SCHLECH *et al.*, 1983).

3.1- Pouvoir pathogène naturel chez l'homme

Les infections à *L. monocytogenes* s'observent, essentiellement 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* (France), 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.

En médecine humaine, il y a lieu de distinguer entre :

- **La listériose invasive** qui peut, elle-même, être schématiquement divisée en deux grands groupes d'infection ; celles du nouveau né et de la femme enceinte par opposition à

celles de l'adulte et qui se manifeste par l'atteinte du système nerveux central allant jusqu'à la septicémie. Ces deux cas représentent les principales formes cliniques (BERCHE, 1995a).

- **La listériose non invasive** encore appelée gastro-entérite fébrile à *Listeria* qui a été observée principalement durant un certain nombre de poussées où la majorité des cas ont affiché des symptômes de gastro-entérite, tels que diarrhée, fièvre, céphalées et myalgie, après une brève période d'incubation (AURELI, 2000). Ces poussées ont généralement comporté l'ingestion de fortes doses de *L. monocytogenes* par des individus par ailleurs en bonne santé.

3.1.1-Listériose fœto-maternelle et du nouveau né

Le premier cas de listériose fœto-maternelle humaine est apparu en 1935 et ce n'est qu'en 1955 que la relation entre la listériose de la mère et celle de l'enfant est mise en évidence et comprise du point de vue transmission hématogène transplacentaire.

***La listériose maternelle** se traduit par un syndrome pseudogrippal, voire une discrète pneumopathie associée à des douleurs lombaires, une infection urinaire ou encore des leucorrhées. Ces symptômes surviennent le plus souvent vers le cinquième ou le sixième mois, et très souvent l'évolution de l'infection à *Listeria* conduit la mère à une interruption de la grossesse. Il convient donc de rechercher ce germe devant toute symptomatologie infectieuse chez la femme enceinte (MONTEL *et al.*, 2003).

***La listériose du nouveau né**, se manifeste soit précocement (avant le quatrième jour après la naissance), soit tardivement, après une période muette de 7 à 21 jours et dans les deux cas, il souffre d'un syndrome méningé, de meilleur pronostic s'il est traité tôt (ROCOURT et BILLE, 1997).

L'analyse anatomopathologique a permis de décrire les quatre voies de contamination (ROCOURT et BILLE, 1997).

- La voie hématogène transplacentaire

Suite à une infection, voire à une septicémie dans le mois qui précède l'accouchement, les germes traversent le placenta, s'y multiplient en provoquant des lésions nodulaires disséminées (granulomes) dans toute la masse et atteignent le fœtus par voie sanguine. Celui-ci élimine ensuite les *Listeria* dans l'urine contaminant ainsi le liquide amniotique, puis se surinfecte en aspirant et en ingérant ce liquide amniotique riche en germes. A l'autopsie de l'avorton, les mêmes lésions nodulaires parsèment les différents viscères particulièrement le foie, la rate et les surrénales.

- La voie ascendante transmembranaire

La rupture prématurée des membranes est rare et *L. monocytogenes* est rarement isolée à partir de prélèvement cervico-vaginal, de ce fait, cette voie est relativement peu fréquente. Le point de départ de cette contamination est cervico-vaginal et les *Listeria* pénètrent dans la cavité amniotique quel que soit l'état des membranes, rompus ou non. Si cette contamination est précoce, les germes se multiplient dans le liquide amniotique, l'enfant s'infecte par ingestion et/ou par aspiration de ce liquide et souffrira d'une méningite à la naissance.

- La voie endométriale

Dans cette voie, il s'agit le plus souvent d'un foyer endométrial quiescent et réveillé lors de la grossesse. Les abcès volumineux, au centre nécrosé, caséomorphes, peuvent rester localisés, n'entraînant aucun symptôme chez la mère et l'enfant naît sain ; néanmoins, *L. monocytogenes* peut être retrouvée dans le méconium. Toutefois, ces abcès peuvent se compliquer secondairement d'une placentite miliaire, infecter ainsi l'amnios et le cordon, entraînant alors une infection endométriale grave du fœtus.

Cette voie de contamination du fœtus représente le mécanisme le plus fréquent (ROCOURT et COSSART, 1998).

- La contamination pendant l'accouchement

Ce mode de contamination se caractérise par l'absence de lésions du placenta et des annexes, associé au faible nombre de germes retrouvés chez l'enfant.

3.1.2-Listériose de l'adulte

Sur le plan clinique, aucune symptomatologie particulière ne permet de distinguer une méningite à *L. monocytogenes* d'une autre inflammation méningée d'origine bactérienne. Ces formes s'expriment généralement par des méningites ou des méningo-encéphalites qui se traduisent tout d'abord par un état grippal ou par une simple rhinite, mais le plus souvent des signes annonciateurs et évocateurs s'installent. Les malades souffrent de violentes céphalées accompagnées d'une somnolence, voire d'un syndrome confusionnel, dans un état fébrile (ROCOURT et COSSART, 1998).

Dans les cas de méningo-encéphalites, l'atteinte de l'encéphale se traduit par des paralysies diverses souvent accompagnées de manifestations bronchiques. La recherche du germe à l'examen direct du LCR (liquide céphalorachidien) peut être négative, mais la culture sera positive (ROCOURT et COSSART, 1998). Ces formes surviennent essentiellement chez des patients souffrant d'une affection sous-jacente immunodéprimante.

3.2- Épidémiologie

Chez l'homme, les premiers cas de listériose ont été décrits dans les années 1960 mais il a fallu attendre les années 1979-1980 pour observer les premières anadémies et mettre en évidence le rôle des aliments. Ces anadémies se traduisent par de petites bouffées de moins de 20 cas ou par d'importantes anadémies pouvant regrouper plusieurs centaines de cas, évoluant sur des périodes prolongées (4 ans par exemple, dans l'anadémie suisse) et responsables d'une importante mortalité. Outre les anadémies, la transmission alimentaire est bien documentée pour un certain nombre de cas sporadiques dont on estime qu'environ 33 p. cent ont une origine alimentaire. Les infections nosocomiales étant très rares, il est probable qu'il existe d'autres modes de contaminations non identifiés.

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

Depuis quelques années, dans tous les pays développés, l'incidence des listérioses humaines diminue. Cette baisse est due à un meilleur contrôle des denrées alimentaires et à l'information des populations à risque.

Quelques exemples d'anadémies sont donnés dans le Tableau III.

Tableau III : Exemples d'anadémies et aliments associés (ROCOURT *et al.*, 1994)

Pays, régions ou villes	Nombre de cas (cas mortels)	Aliments incriminés
USA (1979)	20 (5)	Céleris crus, tomates, salades vertes ?
Nouvelle Zélande (1980)	29 (9)	Fruits de mer
Canada (1981)	41 (17)	Salade de choux (les choux avaient été cultivés dans des champs fertilisés avec du fumier provenant d'élevages de moutons dans lesquels des cas de listériose avaient été observés).
USA (1983)	49 (14)	Lait pasteurisé ?
USA (1985)	142 (48)	Fromages de type mexicain
Canton de Vaud (1983-1987)	122 (31)	Lait cru, fromages (Vacherin du Mont d'Or)

USA (1986-1987)	36 (16)	Crèmes glacées ? Salamis ? L'origine alimentaire de ces cas est douteuse.
Royaume Uni (1987-1989)	> 300 (?)	Pâtés
USA (1989)	9 (1)	Crevettes
France (1992)	279 (85)	Langues de porcs en gelée
France (1993)	39 (?)	Rillettes
France (1995)	33 (4)	Bries de Meaux
Italie (1997)	1594 (0)	Farine de maïs
France (1997)	14 (2)	Fromages à pâte molle (Pont l'évêque, Livarot)
USA (1998)	100 (20)	Saucisses de type hot-dog
Finlande (1999)	25 (6)	Beurre pasteurisé
France (1999)	3 (?)	Fromages à pâte molle (Epoisses)
France (1999)	Au moins 6 (au moins 2)	Rillettes
France (2000)	Au moins 33 (au moins 10)	Langue de porc gelée

3.3- Physiopathologie

Lors de l'infection, les bactéries envahissent les cellules M des plaques de Peyer et/ou les entérocytes, elles traversent la barrière intestinale puis, elles sont phagocytées par les macrophages de la *lamina propria* dans lesquels elles survivent et se multiplient. Ultérieurement, elles gagnent la lymphe et le courant sanguin et infectent le foie et la rate. Dans ces organes, la plupart des bactéries sont rapidement tuées par les cellules de Küpffer (chez la souris, 90 p. cent des bactéries sont éliminées en moins de 6 heures). Les micro-organismes qui survivent infectent les cellules, notamment les hépatocytes et, si dans les quelques jours qui suivent, la réponse immunitaire à médiation cellulaire ne contrôle pas l'infection, ils sont disséminés par voie sanguine et gagnent le cerveau et chez les femelles gravides, le placenta (LECUIT *et al.*, 2002).

La pathogénie de *L. monocytogenes* implique la pénétration dans des cellules phagocytaires et non phagocytaires, une multiplication intracellulaire, un déplacement de la bactérie dans le cytoplasme et une invasion des cellules adjacentes sans libération par les cellules infectées (COSSART *et al.*, 2003). Les protéines nécessaires à ces diverses fonctions sont sous la dépendance de gènes dont l'expression est régulée par le gène *prfA* codant pour une protéine de 27 kDa apte à se lier à des portions d'ADN (DRAMSI *et al.*, 1993). A basse température, l'expression de *prfA* est réprimée alors qu'elle est maximale à 37 °C. En conséquence, la production des facteurs de virulence est elle-même maximale à 37 °C et faible ou nulle à basse température.

- **Pénétration dans les cellules**

Après franchissement de la barrière intestinale, la pénétration dans les macrophages, les hépatocytes et d'autres cellules sont des stades cruciaux de l'infection (COSSART *et al.*, 2003).

L. monocytogenes est une bactérie capable d'induire sa propre phagocytose dans des cellules phagocytaires et non phagocytaires.

Le mécanisme d'entrée de *L. monocytogenes* dans les cellules phagocytaires professionnelles est un processus de phagocytose stricto sensu impliquant plusieurs récepteurs cellulaires. En effet, le récepteur de type 3 du complément (CR 3) est le récepteur majeur, qui reconnaît spécifiquement les molécules C3b du complément déposées à la surface des bactéries.

L'entrée de *L. monocytogenes* dans les cellules non phagocytaires fait intervenir plusieurs protéines de surface :

- La protéine InlA codée par le gène *inlA* (GAILLARD *et al.*, 1991) ou internaline est une protéine de 800 acides aminés, nécessaire à l'entrée dans des cellules Caco-2 (lignée de cellules intestinales d'origine humaine), qui se caractérise par une région constituée de 15 répétitions d'un motif de 22 acides aminés, riche en résidus leucine, d'où le nom de LRR (Leucine-Rich Repeats), dont on sait qu'ils sont impliqués dans de fortes interactions protéines-protéines.
- Le gène *inlB* code pour la protéine InlB (GAILLARD *et al.*, 1991) de 630 acides aminés qui comporte une région LRR analogue à celle de la protéine InlA. La protéine InlB est une protéine de surface qui joue un rôle mineur pour l'entrée dans les cellules épithéliales de l'intestin mais qui est essentielle pour l'invasion des hépatocytes (DRAMSI *et al.*, 1995). Toutefois, à elle seule, la protéine InlB ne permet pas la pénétration dans les hépatocytes et d'autres facteurs sont nécessaires. Cinq autres gènes *inl* ont été clonés et séquencés et les protéines codées par ces gènes sont en cours d'étude.

Selon MENGUAUD *et al.* (1996), la protéine InlA se fixe sur une molécule d'adhésion des cellules, la E-cadhérine dont le domaine intracellulaire relie, indirectement, l'ensemble InlA-E-cadhérine à l'actine. La pénétration se fait par un mécanisme de type "fermeture-éclair" dans lequel la membrane de la cellule hôte recouvre progressivement la bactérie jusqu'à son incorporation dans le cytoplasme à l'intérieur d'une vacuole de phagocytose.

D'autres composants de surface ont été décrits et participeraient à la pénétration dans des cellules eucaryotes :

- La protéine p60 est une muréine hydrolase, nécessaire pour l'invasion *in vitro* des cellules fibroblastiques de la lignée 3T6.
- La protéine ActA, essentielle à la mobilité intracellulaire, pourrait également participer au pouvoir invasif car des mutants *actA* sont incapables de pénétrer dans des cellules Caco-2.
- Une protéine sécrétée, de 30 kDa, dénommée Irp (Internalin related protein), présente des analogies avec les protéines InlA et InlB et elle pourrait être impliquée dans les mécanismes de pénétration.
- L'alpha-D-galactose, présent à la surface des bactéries, intervient dans la fixation sur des cellules de la lignée HepG2 (cellules d'hépatocarcinome humain) et facilite la pénétration dans les cellules dendritiques (EUZEBY, 2000).
- Une protéine de surface de 55,3 kDa est capable de se lier à la fibronectine et permettrait une adhésion aux cellules. La fibronectine est associée à de très nombreuses cellules et cette adhésion pourrait constituer un stade préliminaire à la pénétration proprement dite en facilitant l'interaction des protéines InlA, InlB, p60... avec leurs récepteurs spécifiques.

- **Multiplication intracellulaire**

Après pénétration, *L. monocytogenes* est emprisonnée dans une vacuole intracytoplasmique dont elle va s'échapper pour se multiplier dans le cytosol. La destruction de la vacuole est principalement due à la listériolysine O codée par le gène *hly* (également appelé *hlyA*) (BEAUREGARD *et al.*, 1997 ; DUSSURGET, 2004).

La listériolysine O est une hémolysine thiol dépendante, de 58 kDa. Comme toutes les hémolysines thiol dépendantes, elle n'est active que sur les membranes contenant du cholestérol. Contrairement aux autres hémolysines thiol dépendantes, la listériolysine O possède une activité maximale à pH 5 et elle est inactive à pH 7. Cette propriété expliquerait que cette toxine puisse lyser la vacuole intracytoplasmique (dont le pH est acide) sans altérer la membrane cytoplasmique des cellules.

- **Déplacement intracytoplasmique et invasion des cellules adjacentes**

L. monocytogenes colonise les tissus par diffusion de cellules à cellules (JACQUET *et al.*, 2002). Cette diffusion nécessite la formation d'une queue d'actine qui propulse la bactérie, de manière aléatoire, dans le cytoplasme. Lorsque la bactérie atteint la membrane cytoplasmique, elle induit la formation de protubérances cellulaires ou protrusions qui seront phagocytées par la cellule adjacente pour donner naissance à des vacuoles à deux membranes (MOUNIER *et al.*, 1990). Les mécanismes impliqués dans la formation des protrusions et leur phagocytose par cellules adjacentes sont inconnus. Après lyse de ses vacuoles, la bactérie peut initier un autre cycle infectieux. Cette stratégie permet aux bactéries de se disséminer au sein d'un tissu sans jamais quitter le cytoplasme, échappant ainsi aux anticorps.

Le mouvement intracellulaire de *L. monocytogenes* s'effectue grâce à la formation d'une queue d'actine filamenteuse associée à un pôle bactérien. L'incorporation et la polymérisation de nouveaux filaments d'actine engendrent la force motrice nécessaire au mouvement. La formation de la queue d'actine est sous la dépendance du gène *actA* (KOCKS *et al.*, 1992) qui code pour la protéine ActA de 639 acides aminés qui s'ancre dans la membrane bactérienne par son extrémité hydrophobe C-terminale.

Dans les cellules eucaryotes, l'actine a besoin d'un important complexe protéique pour réaliser la polymérisation (POLLARD et BORISY, 2003). Parmi ces facteurs, il y a la protéine Ena/VASP (vasodilatator-stimulated phosphoprotein), la profiline et le complexe Arp2/3 (actin-related proteins). Nous nous intéressons plus à ces éléments-là car ce sont eux qui sont directement liés à la protéine ActA lors de la fabrication de sa queue en forme de comète faite de filaments d'actine (Figure 2).

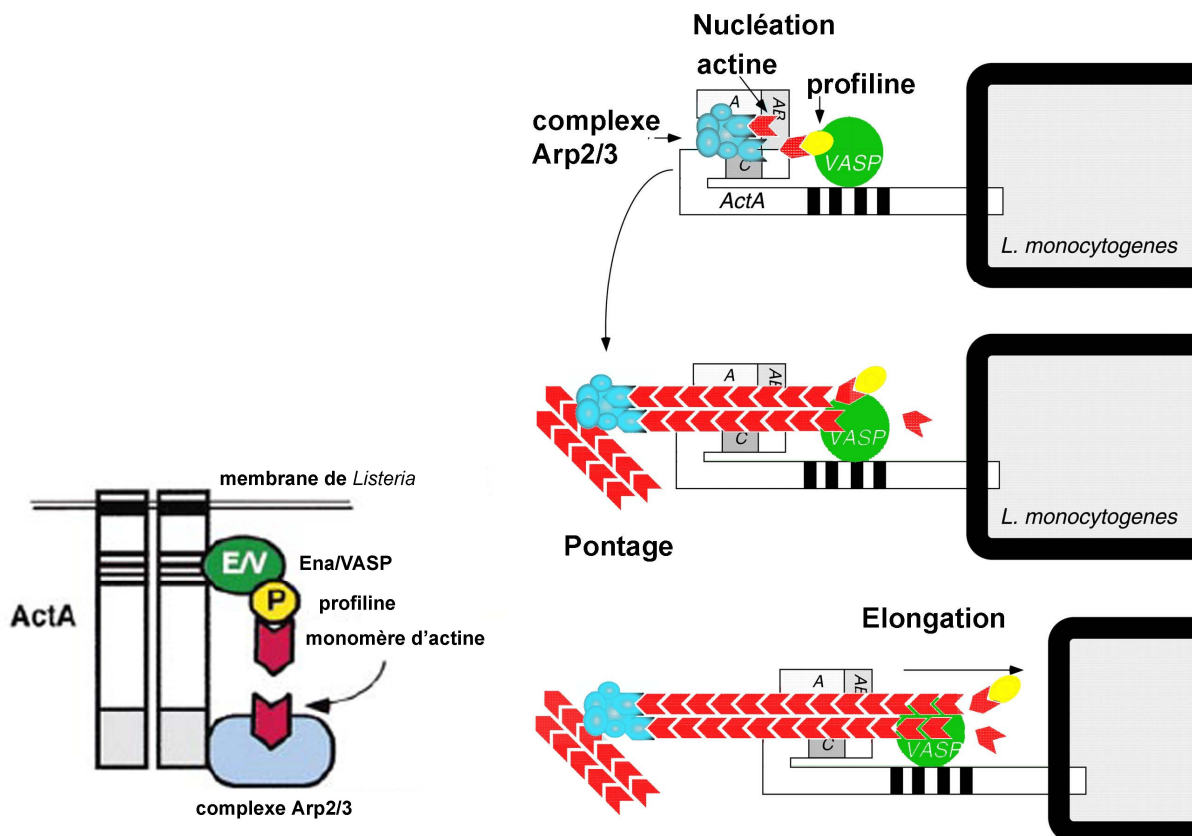


Figure 2. La polymérisation de l'actine par ActA (COSSART *et al.*, 2003).

Les autres facteurs importants sont les protéines de la famille des Ena/VASP qui permettent le recrutement de la profiline liée à l'actine G. La profiline se lie à l'actine monomérique et catalyse l'échange de l'ADP (Adénosine diphosphates) en ATP (Adénosine triphosphates) au niveau de l'actine. Seule l'actine liée à l'ATP peut polymériser. La profiline stimule donc la croissance des filaments en apportant de l'actine G-ATP. Au cours du vieillissement des filaments, l'ATP est hydrolysé en ADP. Les filaments deviennent instables car l'actine-ADP peut être dissocié des filaments par des protéines comme la cofiline/ADF pour Actin Depolymerizing Factor.

En effet, la protéine ActA remplace à elle seule toute la machinerie eucaryote impliquée dans la polymérisation : elle recrute les facteurs Ena/VASP ainsi que le complexe Arp2/3 (BECKERLE, 1998).

La lyse de la double membrane de la vacuole nécessite une phospholipase C codée par le gène *plcB* (GEOFFROY *et al.*, 1991 ; RAVENEAU *et al.*, 1992). Cette phospholipase a une activité optimale pour un pH compris entre 5,5 et 7, elle clive la phosphatidyl-choline, la phosphatidyl-sérine et la phosphatidyl-éthanolamine. La phospholipase C est synthétisée sous la forme d'un précurseur qui doit être clivé par une métalloprotéase de 57,4 kDa (codée par le gène *mpl*) pour engendrer la phospholipase C active.

Les différentes étapes de ce cycle sont schématisées sur le schéma ci-dessous (voir Figure 3).

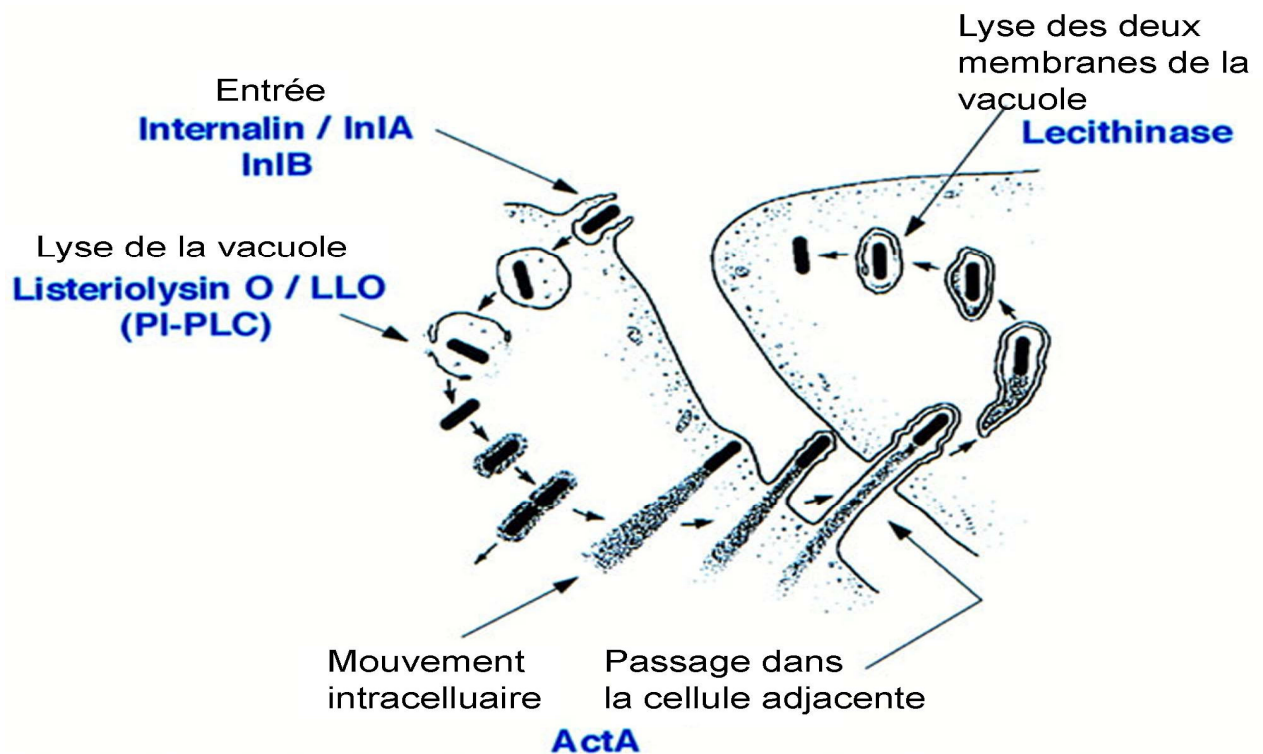


Figure 3. Représentation schématique du processus d'infection intracellulaire par *L. monocytogenes*. InIA, Internaline A ; InIB, Internaline B ; LLO, listériolysine; PI-PLC, Phosphatidyl-inositol Phospholipase C ; Lécithinase (COSSART P. *et al.*, 2003).

Autres molécules de surface intervenant dans la virulence :

Les composants MPA (monocytosis producing activity) et ISA (Immuno Suppressive Activity) ont été décrits (GALSWORTHY *et al.*, 1987). Le MPA est un composant anionique de faible poids moléculaire (1kDa) associé à la membrane cytoplasmique (OTOKUNEFOR *et*

al., 1979). Il ne contient pas d'acides aminés ni de glucides. Le composant ISA supprime la capacité des lymphocytes de la rate à former des anticorps contre les antigènes homologues. L'ISA, présent dans les extraits aqueux des cellules bactériennes tuées par la chaleur, a un poids moléculaire de 150 kDa et contient des acides aminés, des glucides, du phosphore et du glycérol. ISA induit la granulocytose et fixe le complément.

Les composants de la paroi (peptidoglycane, acide lipoteichoïque et acide teichoïque) paraissent également jouer un rôle dans la virulence de *L. monocytogenes* (FIEDLER, 1988).

Les gènes de virulence de *L. monocytogenes* sont répartis en un îlot chromosomique de pathogénicité de part et d'autre du gène *hly* qui code pour la listériolysine O (COSSART *et al.*, 1989) avec, en aval, l'opéron lécithinase rassemblant les gènes *mpl* (POYART *et al.*, 1993), qui code pour une métalloprotéase zinc-dépendante impliquée dans la maturation de la phosphatidyl-choline phospholipase C, et les gènes *actA* et *plcB* et, en amont, l'opéron *prfA*, comprenant le gène *prfA* et le gène *plcA* (DRAMSI *et al.*, 1993), et les gènes *inlA* et *inlB* qui se trouvent à une certaine distance sur le chromosome (Voir figure 4).

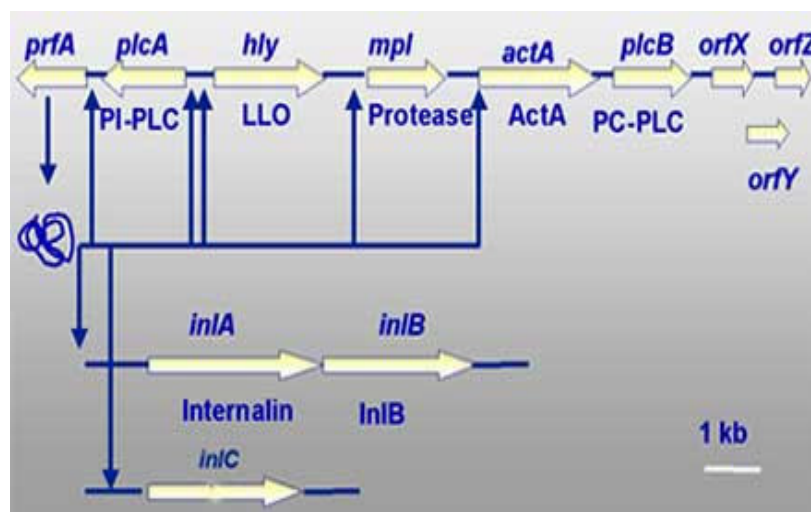


Figure 4. Emplacement des principaux gènes intervenant dans la virulence de *Listeria monocytogenes* (BERCHE, 2002).

3.4- Facteurs environnementaux modulant la virulence de *L. monocytogenes*

Comme cela a été montré chez d'autres pathogènes, la virulence de *L. monocytogenes* est régulée génétiquement en réponse à des signaux de son environnement. Parmi les signaux identifiés jusqu'ici, la température, le cellobiose (PARK et KROLL, 1993). D'autres facteurs moins bien identifiés, globalement inclus dans le vocable de "stress", incluant les radicaux oxygénés, l'acidification, les enzymes lysosomiaux, déterminent l'apparition de protéines de stress contribuant à la virulence du pathogène en position intracellulaire.

Il n'y a aucune corrélation entre l'exigence en fer et la virulence de *Listeria* (ANDRE, 2003)

Dans le milieu extérieur, la température est généralement inférieure à 30°C, et le cellobiose ubiquitaire en tant que produit de décomposition de la cellulose. La conjonction de ces paramètres entraîne vraisemblablement la répression des facteurs de virulence. Dans son environnement naturel, et ceci est une évidence, *L. monocytogenes* n'est pas virulente, bien qu'elle garde intact tout son potentiel de virulence.

Dans l'intestin, et plus particulièrement au niveau du grêle, la bactérie va soit être entraînée et éliminée si elle se trouve en petit nombre, soit pénétrer dans les entérocytes. La probabilité de cette éventualité est d'autant plus grande que la population est plus dense (importance de la dose infectante) et que les facteurs induisant l'endocytose (InlA, etc.) sont

exprimés de façon optimale. La régulation de l'expression des facteurs de virulence est donc particulièrement cruciale à ce niveau pour la suite du scénario. La température est optimale (37°C), et le cellobiose rare puisque la cellulose n'est pas digérée à ce stade. Il y a donc dépression de l'activateur de transcription *prfA* qui contrôle notamment l'expression de l'internaline, ce qui facilite la pénétration des germes et leur translocation à travers la barrière intestinale.

- Les protéines de stress

Comme beaucoup d'autres êtres vivants, *L. monocytogenes* développe durant sa vie saprophytique les réponses moléculaires rapides lui permettant de survivre à des conditions hostiles, telles que la tolérance à haute et basse température (de moins de 0°C à 42°C), les carences nutritionnelles, les variations de pH et osmolarité, des stress chimiques et la compétition avec d'autres micro-organismes (GRAY et KILLINGER, 1966).

Un réseau complexe est ainsi élaboré par *L. monocytogenes* pour maintenir la viabilité cellulaire qui lui permet de survivre aux différents stress environnementaux, y compris, occasionnellement, dans les tissus de l'hôte infecté, incluant le compartiment phagosomal des macrophages. Il a été montré que durant la croissance intracellulaire de *L. monocytogenes* dans des lignées cellulaires de type J774 (HANAWA *et al.*, 1995), de nombreuses protéines sont sélectivement induites à l'intérieur des macrophages. Les conditions de stress induisent la production de listériolysine O (SAMPATHKUMAR *et al.*, 1999).

Il est apparu qu'une protéine de stress de type HSP/100, appelée ClpC ATPase, est impliquée dans la survie à l'intérieur des macrophages et requise pour la virulence chez la souris de *L. monocytogenes* (ROUQUETTE *et al.*, 1998). Les protéines HSP100 font partie d'une famille largement conservée dans le monde procaryotique et eucaryotique. Ce sont des «protéines chaperonnes» qui permettent, en condition de stress, de dissoudre les agrégats protéiques et, éventuellement, de dégrader ces protéines à l'aide de protéases bactériennes. La ClpC ATPase de *L. monocytogenes* promeut l'échappement précoce des bactéries du compartiment phagosomal des macrophages. Récemment, au moins deux autres protéines de type Clp ont été impliquées dans la virulence de ce microorganisme ;

a- une HSP/100 de type ClpE, requise pour la survie prolongée à haute température et pour la virulence et qui agit de façon synergique avec la ClpC ATPase de *L. monocytogenes* (NAIR *et al.*, 2000)

b- une sérine-protéase ClpP agissant en synergie avec ClpC et requise pour la croissance intracellulaire de *L. monocytogenes* (GAILLOT *et al.*, 2000). Ces protéines de stress et cette protéase jouent donc un rôle majeur dans la survie intracellulaire de *L. monocytogenes*, et probablement dans la survie de ces microorganismes dans l'environnement. Il est probable que d'autres protéines de stress encore inconnues soient également impliquées dans la virulence de *L. monocytogenes* et concourent à la survie dans l'environnement et dans les aliments.

3.5-Histoire naturelle de L. monocytogenes dans l'organisme et dans les cellules (voir figure 5).

- **La porte d'entrée digestive**

La porte d'entrée de l'infection chez l'homme est le plus souvent le tube digestif à la suite de l'absorption d'aliments contaminés (FARBER et PETERKIN 1991). D'autres portes d'entrée ont été observées ou suspectées mais non démontrées (GRAY et KILLINGER, 1966) en particulier les voies respiratoires supérieures (angine, pharyngite, infection pseudogrippal). L'existence de Listérioses cutanées dans des métiers à risque (vétérinaires, éleveurs) laisse penser que la contamination est, dans ce cas, directe lors d'une manipulation d'animal infecté.

Habituellement, la pénétration intestinale n'entraîne pas de diarrhée, bien que cela ait été récemment décrit pour une épidémie associée à un inoculum important (DALTON *et al.*, 1997) et lors d'une Toxi-infection Alimentaire Collective (TIAC) en Italie.

Le lieu de pénétration dans la muqueuse digestive reste mal connu et se ferait de façon non spécifique (PRON *et al.*, 1998), il peut s'agir des entérocytes ou des cellules M des plaques de Payer ou bien les deux en même temps – n'est pas clairement connu. Les bactéries passent dans la *lamina propria* où elles sont phagocytées par les macrophages résidents.

La dissémination se fait alors par voie lymphatique vers les ganglions lymphatiques régionaux, puis vers la circulation sanguine.

Les monocytes infectés véhiculent les bactéries et les relarguent dans la circulation, où elles sont rapidement phagocytées par les macrophages résidents des tissus, et en particulier par les cellules de Küpffer du foie et les macrophages résidents de la rate (NORTH, 1970).

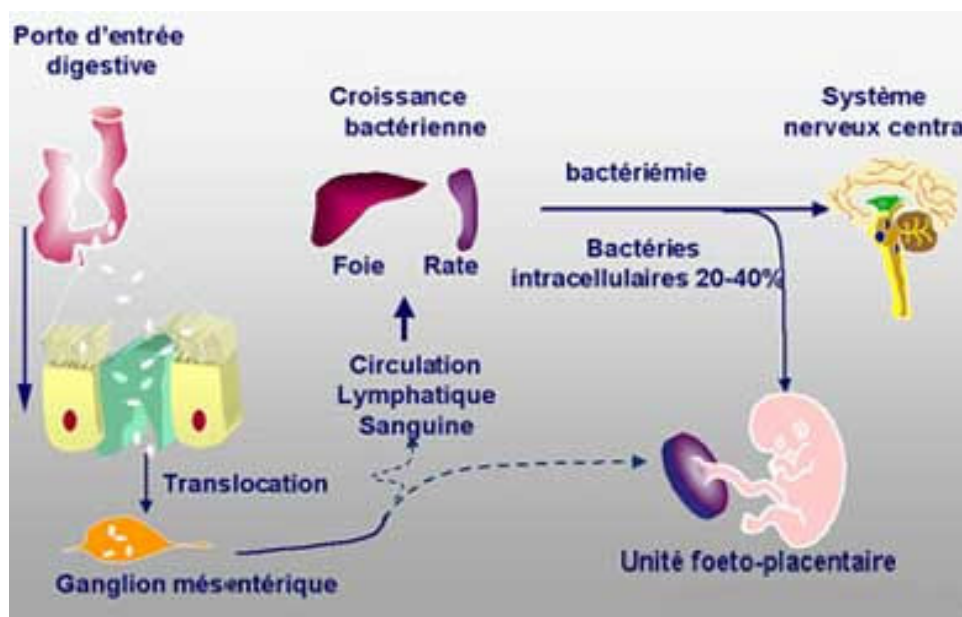


Figure 5. Représentation schématique des organes touchés au cours de l'infection à *L. monocytogenes* (BERCHE, 2002).

- **La multiplication hépatique**

Le foie apparaît comme un organe épurateur majeur, y compris pour les microorganismes présents dans le sang. Les hépatocytes sont le site de la multiplication de *L. monocytogenes* (GAILLARD *et al.*, 1996), mais aussi de certaines bactéries telles que *Salmonella typhimurium* ou *Francisella tularensis* et de nombreux virus. Les capillaires sinusoides du foie sont formés d'un endothélium discontinu de cellules endothéliales, de cellules de Küppfer et d'hépatocytes en contact direct avec la circulation sanguine. Les bactéries sont phagocytées par les cellules de Küppfer et envahissent les hépatocytes ou/et peuvent directement pénétrer dans les hépatocytes à partir de bactéries libres dans la circulation sanguine.

L'internaline à ce stade joue un rôle crucial dans la pénétration dans les hépatocytes (GAILLARD *et al.*, 1996).

La multiplication bactérienne dans les tissus entraîne une réponse inflammatoire intense avec la formation des granulomes.

- **La traversée de la barrière placentaire**

La contamination de la mère se fait par voie orale et suit un processus identique à celui précédemment décrit.

L. monocytogenes utilise une stratégie commune pour reconnaître et traverser les barrières intestinale et placentaire. La barrière foetoplacentaire comporte des cellules exprimant la E-cadhérine : les cellules cytotrophoblastiques et les cellules épithéliales amniotiques. Le franchissement de la barrière maternofoetale se fait au niveau placentaire plutôt qu'amniotique. La E-cadhérine est localisée non seulement au niveau du cytotrophoblaste mais aussi au niveau du syncytiotrophoblaste, notamment sur sa face apicale, en contact direct avec le sang maternel. En conséquence, *L. monocytogenes*, en position extracellulaire dans le sang maternel, peut rencontrer son récepteur au niveau du placenta. Les bactéries passent alors dans le placenta, à travers lequel elles infectent le fœtus (LECUIT et COSSART, 2005).

- **L'invasion du système nerveux central**

Le mécanisme par lequel les bactéries vont déclencher une encéphalite reste hypothétique. En se basant sur des données anatomopathologiques (DEGEN, 1972), il semble que les bactéries soient capables de traverser les endothéliums des capillaires. L'encéphalite est caractérisée par la présence de microabcès dans la substance grise avec destruction des neurones et présence de manchons cellulaires périvasculaires caractéristiques. Ces microabcès sont disséminés à l'ensemble de l'encéphale, mais sont très nombreux dans le tronc cérébral, réalisant une rhombencéphalite. Outre le passage possible par les plexus choroïdes, les bactéries pourraient gagner l'espace sous-arachnoïdien après franchissement des capillaires cérébraux et diffusion de proche en proche le long de l'espace de Virchow-Robin où baigne le liquide céphalorachidien.

La méningite à *L. monocytogenes* est provoquée par la multiplication bactérienne dans l'espace sous arachnoïdien. Les bactéries traverseraient l'épithélium des plexus choroïdes après être internalisées par l'intermédiaire de la E-cadhérine.

Les mécanismes moléculaires qui permettent à *L. monocytogenes* de traverser les endothéliums et d'envahir le système nerveux central restent mal connus. La bactériémie est essentielle au passage des bactéries à travers les capillaires cérébraux chez la souris (BERCHE, 1995b). Il est possible que les bactéries adhèrent directement et entrent dans les cellules endothéliales. En effet, LECUIT *et al.* (2005) démontrent que l'endothélium des microvaisseaux qui irriguent le tissu cérébral exprime la E-cadhérine ainsi que l'épithélium des plexus choroïdes. L'invasion du système nerveux central par *L. monocytogenes* peut aussi être expliquée par l'interaction entre la E-cadhérine et l'Internaline.

L. monocytogenes pourrait aussi traverser les endothéliums par diapédèse à partir de monocytes sanguins contenant des bactéries. Il a été montré que certains facteurs de virulence (listériolysine O, phospholipases), activent les polynucléaires neutrophiles (SIBELIUS *et al.*, 1999). Les endothéliums pourraient être perméabilisés par des médiateurs de l'inflammation tels que le TNF- α , ou l'interleukine-1, ce qui entraînerait la production de molécules d'adhésion à la surface des cellules endothéliales et l'adhérence des monocytes chargés de bactéries au contact de ces endothéliums (DREVETS, 1998). Les bactéries pourraient alors franchir l'endothélium avec les monocytes au cours de la diapédèse, ou par dissémination de cellule à cellule entre les monocytes et les cellules endothéliales (DREVETS, 2004).

Dans le tissu cérébral, les nombreux microabcès, d'abord très petits, sont constitués de monocytes et de polynucléaires, et évoluent rapidement vers la nécrose du tissu nerveux. Ces foyers sont entourés de nombreuses cellules de la microglie mobilisées au contact du foyer et douées de propriétés phagocytaires. Ces foyers peuvent atteindre plusieurs millimètres de diamètre.

Les bactéries dans le tissu cérébral apparaissent la plupart du temps associées aux cellules phagocytaires, mais peuvent parfois se trouver libres à la périphérie des foyers infectieux.

L'atteinte infectieuse bulboprotubérentielle sévère entraîne souvent une infection centrifuge le long des premiers millimètres des nerfs crâniens adjacents, expliquant par exemple les paralysies faciales observées au cours des listérioses neuroméningées.

La topologie de ces lésions dans le tronc cérébral n'est pas clairement élucidée. L'explication la plus simple serait que le tronc cérébral est une zone très richement vascularisée du système nerveux central. La fréquence des lésions serait donc liée à la richesse des capillaires dans le bulbe. Cette atteinte préférentielle du tronc cérébral a fait évoquer la possibilité d'une infection du système nerveux par voie nerveuse, par l'intermédiaire des nerfs crâniens innervant les voies aériennes supérieures. Bien que cette voie ait été suggérée expérimentalement chez l'animal (ASAHI *et al.*, 1957), elle est probablement tout à fait exceptionnelle au cours de l'infection naturelle.

3.6- Mécanismes naturels de défense de l'hôte contre *L. monocytogenes*

La résistance naturelle contre *L. monocytogenes* implique le recrutement et l'activation des cellules phagocytaires aux sites de l'infection. Un afflux massif de polynucléaires neutrophiles est précocement observé (MACKANESS, 1962). Les cellules détruisent les hépatocytes infectés, libérant les bactéries qui sont alors rapidement détruites par ces cellules phagocytaires (CONLAN et NORTH, 1991). Ce mécanisme de résistance semble parmi les plus efficaces mis en jeu lors de la primo-infection.

Conjointement, les macrophages infectés par les bactéries produisent du TNF- α , (*Tumor Necrosis Factor α*) et de l'IL-12 (TRIPP *et al.*, 1993). Ces cytokines, en association avec des facteurs bactériens, activent les cellules NK (*Natural Killer*), qui produisent l'interféron (DUNN et NORTH, 1991). Cette cytokine en synergie avec TNF- α , active à son tour les activités bactéricides des macrophages (WHERRY *et al.*, 1991).

La résistance acquise spécifique fait suite à cette première vague de défenses non spécifiques. Cette résistance est liée à l'expansion clonale de cellules T dirigées contre des déterminants antigéniques de *L. monocytogenes*, et requiert la multiplication active des bactéries dans les cellules présentatrices (BERCHE *et al.*, 1987). Les cellules CD4- $\alpha\beta$ et les cellules T-g δ sont surtout impliquées dans la formation des granulomes inflammatoires qui caractérisent les lésions tissulaires observées au cours de l'infection par *L. monocytogenes* (MIELKE *et al.*, 1988), mais ces cellules ne sont pas directement impliquées dans la protection. En revanche, les cellules T-CD8- $\alpha\beta$ jouent un rôle important dans la protection par leur effet cytotoxique, exposant ainsi les bactéries intracellulaires aux polynucléaires neutrophiles et aux macrophages (GOOSSENS *et al.*, 1992). Ces cellules cytotoxiques reconnaissent des peptides associés aux molécules de classe I du système majeur d'histocompatibilité, notamment ceux provenant de la listériolysine O (BOUWER *et al.*, 1992). Les cellules CD8 anti-listériolysine O, plus spécifiquement dirigées contre l'épitope 91-90, sont protectrices (HARTY et BEVAN, 1992). La listériolysine O est un antigène protecteur (CORNELL *et al.*, 1999). Les anticorps anti-listériolysine O sont retrouvés au cours de l'infection humaine et animale (L'HOPITAL *et al.*, 1993) et pourraient contribuer à l'immunité protectrice (EDELSON *et al.*, 1999).

3.7- Le diagnostic bactériologique

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). Du fait de l'ubiquité de *L. monocytogenes* et d'un portage de 5 % de la population, les prélèvements

périphériques, de muqueuse ou de selles ont très peu ou pas de valeur (en dehors de supurations manifestes qui s'accompagnent d'une visualisation à l'examen direct).

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.

L'isolement des *Listeria spp.* est relativement simple lorsqu'elles sont abondantes dans le prélèvement à analyser et que celui-ci n'est pas contaminé par une flore associée. L'ensemencement d'une gélose d'usage courant telle qu'une gélose trypticase soja au sang (5 p. cent de sang de mouton, de cheval ou de lapin) permet alors l'isolement. Dans le cas particulier d'une hémoculture, les milieux classiquement utilisés conviennent pour les *Listeria spp.*

La détection des anticorps anti-*Listeria* n'a que peu d'intérêt si le germe est isolé en culture : le diagnostic bactériologique doit être privilégié pour la surveillance et la détection des épidémies. Les tests sérologiques peuvent être un appoint au diagnostic en cas de suspicion de listériose sans germe isolé en culture.

Selon GAILLARD *et al.* (1995), la recherche d'anticorps contre un facteur de virulence a l'intérêt d'utiliser un antigène très spécifique du pathogène, la listériolysine O (LLO). Ce test utilise la méthode du Western Blot. Il est important de réaliser au moins deux tests à 15 jours d'intervalle. Chez les patients présentant une infection aiguë, les titres oscillent entre 1/100 à 1/400 dans le premier prélèvement, et peuvent atteindre chez certains patients 1/1600 voire plus (1/5000) dans le 2^{ème} prélèvement. Les titres élevés sont très en faveur d'une exposition importante à *L. monocytogenes* ayant donné lieu à un processus invasif. L'absence d'anticorps anti-LLO n'élimine pas formellement le diagnostic chez les sujets fortement immunodéprimés.

3.8- Le traitement

Le traitement de choix d'une listériose neuroméningée 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 300 000 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.

En cas d'allergie aux pénicillines, le triméthoprim-sulfaméthoxazole, associé à la gentamicine, donne de bons résultats (PINÈDE *et al.*, 1993). D'après BLANOT *et al.* (1999). Les modèles expérimentaux confirment que les antibiotiques les plus efficaces sont l'ampicilline et le triméthoprim-sulfaméthoxazole.

4- Prophylaxie et recommandation

Actuellement, on évolue progressivement vers la mise en place du système HACCP dans les entreprises agroalimentaires. Le système HACCP est devenu synonyme de sécurité sanitaire des aliments depuis la production primaire jusqu'aux étapes de commercialisation et consommation du produit. Il est reconnu à travers le monde en tant qu'approche systématique et préventive pour maîtriser des dangers biologiques, chimiques et physiques par l'anticipation et la prévention, plutôt que par l'inspection et les analyses sur le produit fini. Le système HACCP, en tant qu'outil de gestion de la sécurité sanitaire des aliments, utilise une approche de maîtrise de points critiques pendant la transformation des produits afin de prévenir les problèmes de sécurité sanitaire des aliments. Ce système, qui s'appuie sur des bases

scientifiques, identifie de façon systématique les dangers spécifiques et les mesures pour leur maîtrise afin d'assurer la sécurité sanitaire des aliments. Le HACCP est basé sur la prévention et réduit la dépendance des inspections et tests sur les produits finis. C'est donc, dans ce sens et sur la base de ce nouveau concept, que sera mise en place, la prophylaxie de la listériose.

- **Au cours d'élevages**

Compte tenu du fait que les ensilages constituent les principaux foyers d'entretien et de multiplication de *Listeria*, ils doivent être correctement préparés et conservés. Un soin particulier doit être apporté au tassement et à l'absence de mottes de terre. Certains auteurs préconisent l'ensemencement des ensilages avec des souches de *Lactococcus lactis* ou de *Lactobacillus plantarum* (EUZEBY, 2000).

Dans l'industrie

Les *Listeria* sont introduites dans les locaux de transformation par les matières premières contaminées, par les chaussures et les vêtements du personnel, par les individus porteurs sains. Leur croissance et leur survie sont favorisées par l'humidité et par la présence de nutriments. En effet, *L. monocytogenes* est capable de s'adhérer à de nombreuses surfaces pour former des biofilms (y compris le verre ou l'acier inoxydable), elle survit dans l'environnement des entreprises de transformation, elle peut être retrouvée sur les mains du personnel même après lavage et elle survit dans les aérosols. L'utilisation de conditionnement sous vide ou sous atmosphère modifiée n'a aucun effet significatif sur la croissance de *L. monocytogenes* (EUZEBY, 2000). Par conséquent, 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.
- Respect de la chaîne de froid et réduction de la date limite de consommation.

L'hygiène de l'abattage est aussi importante car les carcasses des animaux de boucherie sont essentiellement contaminées en surface.

Chez l'homme

La prophylaxie de la listériose humaine est avant tout, une prophylaxie sanitaire fondée sur une éducation sanitaire exemplaire et irréprochable.

L'hygiène corporelle et vestimentaire, individuelle et collective, des manipulateurs doit être rigoureuse. La formation et la sensibilisation du personnel sont particulièrement importantes. Par ailleurs, la vaccination et/ou antibioprophyllaxie n'est pas utilisée et, selon un avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (approuvé le 29 Juin 1999), il n'y a pas lieu de recommander une antibioprophyllaxie systématique en cas de consommation d'aliment contaminé par *L. monocytogenes* (EUZEBY, 2000).

La prophylaxie de la listériose humaine est basée essentiellement sur l'éducation sanitaire. Les meilleurs conseils que l'on puisse donner aux consommateurs, sont les suivants:

- Éviter la consommation de lait cru et de produits à base de lait cru ;
- Cuire soigneusement les aliments crus d'origine animale ;
- Laver soigneusement les légumes crus et les herbes aromatiques ;
- Dans le cas de repas qui ne sont pas pris en collectivité, les restes alimentaires et les plats cuisinés doivent être réchauffés soigneusement avant consommation immédiate ;
- Conserver les aliments crus, séparément des aliments cuits ou prêts à être consommés ;
- Se laver les mains, nettoyer les ustensiles de cuisine après la manipulation d'aliments non cuits ;
- Nettoyer fréquemment et désinfecter ensuite avec de l'eau de Javel le réfrigérateur domestique ;

- S'assurer que la température du réfrigérateur est suffisamment basse: 4°C ;
- Respecter les dates limites de consommation ;
- Éviter les croûtes des fromages.

Conclusion générale

La listériose n'est pas un problème majeur de santé publique. Toutefois, elle se caractérise par un taux de mortalité important et, à ce titre, elle nécessite une grande vigilance de la part de tous les acteurs impliqués dans la protection du consommateur. Comme la majorité des cas résulte de l'ingestion d'aliments, des mesures doivent être mises en œuvre pour limiter leur contamination, pour détruire les *Listeria* déjà présentes dans une denrée et pour informer les consommateurs et notamment les populations à risque.

L'absence catégorique de *Listeria* dans toutes les denrées alimentaires est illusoire et une réglementation dans ce sens reste très sévère et ne pourrait jamais être observée par les industriels (comment un industriel pourra-t-il assurer que tous les produits de tous les lots sont indemnes de *Listeria* ?). Le consommateur dans ces conditions devrait avoir dans son esprit que les aliments qu'ils mangent peuvent être contaminés avec quelques cellules de *L. monocytogenes*. C'est dans ce sens qu certains experts pensent que l'ingestion de *L. monocytogenes* à des niveaux inférieurs, ne semble pas liée à une listériose, et donc ne pourrait pas constituer un risque pour la santé publique. Dans certaines circonstances, le consommateur devrait porter son choix sur des produits stérilisés ou cuits à haute température et il bannit de son alimentation les crudités, le lait cru, les produits au lait cru, les salaisons, les poissons fumés... Cette dernière attitude doit être respectée par les personnes à risques mais elle apparaît excessivement contraignante pour les gens en bonne santé qui, à condition de veiller aux bonnes règles d'hygiène lors du stockage des aliments et lors de la préparation de leur nourriture, courent un risque minime. Il s'avère néanmoins que, la connaissance des mécanismes moléculaires de virulence de *L. monocytogenes* reste toujours indispensable, surtout en cas d'épidémie.

Bibliographie

- AL-ZOREKY N., SANDINE W.E. (1990). Highly selective medium for isolation of *Listeria monocytogenes* from food. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 3154-3157.
- AMMOR S., TAVERON G., DUFOUR E., CHEVALLIER I. (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat-scale facility; Behaviour of pathogenic and spoilage bacteria in dual species biofilms including a bacteriocin-like-producing lactic acid bacteria. *Food control*. **17**, 454-461.
- ANDRE P., BILGER S., REMY P., BETTINGER S., VIDON D.J. (2003). Effects of iron and oxygen species scavengers on *Listeria spp.* Chemiluminescence. *Biochem. Bio-phys. Res. Commun.*, **16**, 807-811.
- ASAHI O., HOSADA T., AKIYAMA Y. (1957). Studies on the mechanism of infection of the brain with *Listeria monocytogenes*. *Am. J. Vet. Res.*, **18**, 147-157.
- AUGUSTIN J.-C. (1999). Modélisation de la dynamique de croissance des populations de *Listeria monocytogenes* dans les aliments. Thèse de Doctorat, Université Lyon 1.
- AURELI P., GIOVANNI C.F., CAROLI D., MARCHIARO G., NOVARA O., LEONE L., SALMASO S. (2000). An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. *N. Engl. J. Med.*, **342**, 1236-1241.
- AYGUN O., PEHLIVANLAR S. (2006). *Listeria spp.* in the raw milk and dairy products in Antakya, Turkey. *Food Control*. **17**, 676-679.
- BEAUREGARD K.E., LEE K.D., COLLIER R.J., SWANSON J. A. (1997). pH-dependent perforation of macrophage phagosomes by listeriolysin O from *Listeria monocytogenes*. *J. Exp. Med.*, **186**, 159-63.
- BECKERLE M.C. (1998). Spatial control of actin filament assembly: lessons from *Listeria*. *Cell*. **95**, 741-748.
- BENKERROUM N., DAOUDI A., KAMAL M. (2003). Behaviour of *Listeria monocytogenes* in raw sausage (merguez) in presence of a bacteriocin-producing lactococcal strain as a protective culture. *Meat Sci.*, **63**, 479-484.
- BERCHE P., GAILLARD J.L., GEOFFROY C., ALOUF J.E. (1987). T cell recognition of listeriolysin O is induced during infection by *Listeria monocytogenes*. *J. Immunol.*, **139**, 3813-3832.
- BERCHE P. (1995a). Physiopathologie des infections à *Listeria monocytogenes*. *Médecine et Maladies infectieuses*. n°25 spécial, 197-209.
- BERCHE P. (1995b). Bacteremia is required for invasion of the murine central nervous system by *Listeria monocytogenes*. *Microb. Pathog.*, **18**, 323-336.
- BEUMER R.R., Te GIFFEL M.C., SPOORENBERG E., ROMBOUTS F.M. (1996). *Listeria* species in domestic environments. *Epidemiol. Infect.*, **117**, 437-442.
- BIND J.L. (1990). Analyse critique des méthodes de recherche de dénombrement et d'identification des *Listeria* en industrie agro-alimentaires. In «Analyse critique des méthodes de recherche de dénombrement et d'identification des micro-organismes dans les I.A.A.». Compte-rendu des conférences prononcées à l'occasion du séminaire CPCIA d'octobre 1990. Paris. APRIA, 55-76.
- BLANOT S., BOUMAILA C., BERCHE P. (1999). Intracerebral activity of antibiotics against *Listeria monocytogenes* during experimental rhombencephalitis. *J. Antimicrob. Chemother.*, **44**, 565-568.

- BOUWER H.G.A., NELSON C.S., GIBBINS B.L., PORTNOY D.A., HINRICHS D.J. (1992). Listeriolysin O is target of the immune response to *Listeria monocytogenes*. *J. Exp. Med.*, **175**, 1467-1471.
- BRACKETT R.E., BEUCHAT L.R. (1991). Survival of *Listeria monocytogenes* in whole egg yolk powders and in liquid whole eggs. *Food Microbiol.*, **8**, 331-337.
- BRÉAND S., FARDEL G., FLANDROIS J.P., ROSSO L., TOMASSONE R. (1998). Model of the influence of time and mild temperature on *Listeria monocytogenes* nonlinear survival curves. *Int. J. Food Microbiol.*, **40**, 185-195.
- BREDHOLT S., NESBAKKEN T., HOLCK, A. 2001. Industrial application of an antilisterial of *Lactobacillus sakei* as a protective culture and its effect on the sensory acceptability of cooked, sliced, vacuum- packaged meats. *Int. J. Food Microbiol.*, **66**, 191-196.
- BRUYNEEL B., WOESTYNE, M.V., VERSTRAETE W. (1990). Iron complexation as a tool to direct mixed *Clostridia- Lactobacilli* fermentations. *J. Appl. Bacteriol.*, **69**, 80-88.
- CATTEAU N. (1999). *Listeria monocytogenes* : un problème de méthode d'analyse ? *Bull. Soc. Fr. Microbiol.*, **14**, 99-101.
- CHAE M.S., SCHRAFT H., HANSEN L.T., MACKERETH R. (2006). Effects of physicochemical surface characteristics of *Listeria monocytogenes* strains on attachment to glass. *Food Microbiol.*, **23**, 250-259.
- CHAWLA S.P., CHANDER R. (2004). Microbiological safety of shelf-stable meat products prepared by employing hurdle technology. *Food Control*. **15**, 559-563.
- CHEFTEL J.C., CULIOLI J. (1997). Effects of High pressure on meat: A review. *Meat Sci.*, **46**, 211-236.
- CHHABRA A.T., CARTER W.H., LINTON R.H., COUSIN M.A. (2002). A predictive model that evaluates the effect of growth conditions on the thermal resistance of *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.*, **78**, 235-243.
- CHI-ZHANG Y., YAM K.L., CHIKINDAS M.L. (2004). Effective control of *Listeria monocytogenes* by combination of nisin formulated and slowly released into a broth system. *Int. J. Food Microbiol.*, **90**, 15-22.
- CONLAN J.C., NORTH R.J. (1991). Neutrophil-mediated dissolution of infected host cells as a defense strategy against a facultative intracellular bacterium. *J. Exp. Med.*, **174**, 741-744.
- COPEES J., PELLICER K., ECHEVERRIA H.G., STANCHI NN.O., MARTINEZ C., LEARDI. (2000). Investigation of *Listeria monocytogenes* in soft cheeses, *Rev. Argent. Microbiol.*, **32**, 175-178.
- CORNELL K.A., BOUWER H.G., HINRICHS D.J., BARRY R.A. (1999). Genetic immunization of mice against *Listeria monocytogenes* using plasmid DNA encoding listeriolysin O. *J. Immunol.*, **163**, 322-329.
- COSSART P., VICENTE F., MENGAUD J., BAQUERO, F., PEREZ-DIAZ J.C., BERCHE P. (1989). Listeriolysin O is essential for virulence of *Listeria monocytogenes*: direct evidence obtained by gene complementation. *Infect. Immun.*, **57**, 3629-3636.
- COSSART P., PIZARRO-CERDA J., LECUIT M. (2003). Invasion of mammalian cells by *Listeria monocytogenes*: functional mimicry to subvert cellular functions. *Trends Cell Biol.*, **13**, 23-31.
- DALTON C.B., AUSTIN C.C., SOBEL J., HAYES P.S., BIBB W.F., GRAVES L.M., SWAMINATHAN B., PROCTOR M.E., GRIFFIN P.M. (1997). An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. *N. Engl. J. Med.*, **336**, 100-105.
- DAVIES A., BOARD R. (1998). The microbiology of meat and poultry, Blackie academic and professional, London.
- DEGEN R. (1972). Involvement of the central nervous system in neonatal listeriosis. *Acad. Sci. Hung.*, **19**, 411-417.
- DJENANE D., SÁNCHEZ-ESCALANTE A., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P. (2003a). Extension of the shelf life of beef steaks packaged in modified atmosphere by treatment with rosemary and display under UV- free lighting. *Meat Sci.*, **64**, 417-426.
- DJENANE D., SÁNCHEZ-ESCALANTE A., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P. (2003b). The shelf-life of beef steaks treated with DL-lactic acid and antioxidants and stored under modified atmospheres. *Food Microbiol.*, **20**, 1-7.

- DJENANE D., MARTÍNEZ L., BLANCO D., YANGÜELA J., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P. (2005). Effect of lactic bacteria on extension of shelf life and growth of *Listeria monocytogenes* in beef steak stored in CO₂ rich atmosphere. *Braz. J. Microbiol.*, **36**, 405-412.
- DJENANE D., MEDDAHI A., RONCALES P. (2006). Les systèmes antioxydants et antimicrobiens pour la conservation de la viande. *Sci. Alim.*, **26**, 37-73.
- DJENANE D., MARTÍNEZ L., SÁNCHEZ A., MONTAÑÉS L., BLANCO D., YANGÜELA J., BELTRÁN J.A., RONCALÉS P. (2006). Effect of lactic acid bacteria on beef steak microbial flora stored under modified atmosphere and on *Listeria monocytogenes* in broth cultures. *Food Sci. Technol. Int.*, (in press).
- DOYLE M.P. (1988). Effect of environmental and processing conditions on *Listeria monocytogenes*. *Food Technol.*, **42**, 169-171.
- DRAMSI S., KOCKS C., FORESTIER C., COSSART P. (1993). Internalin-mediated invasion of epithelial cells by *Listeria monocytogenes* is regulated by bacterial growth state, temperature and the pleiotropic activator *prfA*. *Mol. Microbiol.*, **9**, 931-941.
- DRAMSI S., BISWAS I., MAGUIN E., BRAUN L., MASTROENI P., COSSART P. (1995). Entry of *Listeria monocytogenes* into hepatocytes requires expression of InIB, a surface protein of the internalin multigene family. *Mol. Microbiol.*, **16**, 251-261.
- DREVETS D.A. (1998). *Listeria monocytogenes* virulence factors that stimulate endothelial cells. *Infect. Immun.*, **66**, 232-238.
- DREVETS D.A., LEENEN P.J., GREENFIELD R.A. (2004). Invasion of the central nervous system by intracellular bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.*, **17**, 323-47.
- DUFFY E.A., BELK K.E., SOFS J.N., BELLINGER G.R., PAPE A., SMITH G.C. (2001). Extent of microbial contamination in United States pork retail products. *J. Food Prot.*, **64**, 172-178.
- DUNN P.L., NORTH R.J. (1991). Early gamma interferon production by natural killer cells is important in defense against murine listeriosis. *Infect. Immun.*, **59**, 2892-2900.
- DUSSURGET O., PIZARRO-CERDA J., COSSART P. (2004). Molecular determinants of *Listeria monocytogenes* virulence. *Annu. Rev. Microbiol.*, **58**, 587-610.
- DYKES G.A. (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.
- EDELSON B.T., COSSART P., UNANUE E.R. (1999). Cutting Edge: Paradigm Revisited: Antibody Provides Resistance to *Listeria* Infection. *J. Immunol.*, **163**, 408-409.
- EUZEBY J.P. (2000). Bactériologie vétérinaire: Les *Listeria*. www.bacterio.cict.fr/bacdico/nomstaxons.html, pp. 1-35.
- FARBER J.M., SANDERS G.W., DUNFIELD S., PRESCOTT R. (1989). The effect of various acidulants on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Lett. Appl. Microbiol.*, **9**, 181-183.
- FARBER J.M., PETERKIN P.I. (1991). *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev.*, **55**, 476-511.
- FARBER J.M., COATES F., DALEY E. (1992). Minimum water activity requirements for the growth of *Listeria monocytogenes*. *Lett. Appl. Microbiol.*, **15**, 103-105.
- FARBER J.M., ROSS W.H., HARTWIG J. (1996). Health risk assessment of *Listeria monocytogenes* in foods. *Can. Int. J. Food Microbiol.*, **30**, 145-156.
- FIEDLER F. (1988). Biochemistry of the cell surface of *Listeria* strains: a locating general view. *Infection*. **16**, 92-97.
- FLESSA S., LUSK D.M., HARRIS L.J. (2005). Survival of *Listeria monocytogenes* on fresh and frozen strawberries. *Int. J. Food Microbiol.*, **101**, 255-262.
- GAILLARD J.L., BERCHE P., FRÉHEL C., GOUIN, E., COSSART P. (1991). Entry of *L. monocytogenes* into cells is mediated by internalin, a repeat protein reminiscent of surface antigen from Gram-positive cocci. *Cell*. **65**, 1127-1141.
- GAILLARD J.L., GHOLIZADEH Y., PRON B. (1995). Diagnosis of human listeriosis: new approaches. *Med. Mal. Infect.*, **25**, 251-256.
- GAILLARD J.L., JAUBERT F., BERCHE P. (1996). The *inlAB* locus mediates the entry of *Listeria monocytogenes* into hepatocytes *in vivo*. *J. Exp. Med.*, **183**, 359-369.
- GAILLOT O., PELLEGRINI E., BREGENHOLT S., NAIR S., BERCHE P. (2000). The serine-protease ClpP is essential for the intracellular parasitism of the pathogen *Listeria monocytogenes*. *Mol. Microbiol.*

- GALSWORTHY S.B. (1987). Role of the cell surface in virulence of *L. monocytogenes*. *Ann.Inst. Pasteur. Microbiol.* **138**, 273-276.
- GEOFFROY C., RAVENEAU J., BERETTI J. L., LECROISEY A., ALOUF J. E., BERCHE P. (1991). Purification and characterization of an extracellular 29-kDa phosphatidylcholine-phospholipase C from *Listeria monocytogenes*. *Infect. Immun.*, **59**, 2382-2388.
- GIBBONS I., ADESIYUN A., SEEPERSADSINGH N., RAHAMAN S. (2006). Investigation for possible source(s) of contamination of ready-to-eat meat products with *Listeria spp.* and other pathogens in meat processing plant in Trinidad. *Food Microbiol.*, **23**, 359-366.
- GILL C.O., LANDERS C. (2004). Microbiological conditions of detained beef carcasses before and after removal of visible contamination. *Meat Sci.*, **66**, 335-342.
- GOBAT P.F., JEMMI T. (1990). Epidemiological studies on *Listeria spp.* in slaughter-house. *Fleischwirtsch.*, **70**, 1448-1450.
- GORSKI L., PALUMBO J.D., MANDRELL R.E. (2003). Attachment of *Listeria monocytogenes* to radish tissue is dependent upon temperature and flagellar motility. *Appl. Environ.*, **69**, 258-266.
- GOOSSENS P. L., MARCHAL G., MILON G. (1992). Transfer of both protection and delayed-type hypersensitivity against live *Listeria* is mediated by the CD8+ T cell subset: a study with *Listeria*-specific T lymphocytes recovered from murine infected liver. *Int. Immunol.*, **4**, 596-??
- GRAY M.L., KILLINGER A.H. (1966). *Listeria monocytogenes* and listeria infections. *Bacteriol. Rev.*, **30** (2), 309-371.
- HANAWAT., YAMAMOTO T., KAMIYA S. (1995). *Listeria monocytogenes* can grow in macrophages without the aid of proteins induced by environmental stresses. *Infect. Immun.*, **63**, 4595-4599.
- HARTY J.T., BEVAN J. (1992). CD8+ T cells specific for a single nonamer epitope of *Listeria monocytogenes* are protective *in vivo*. *J. Exp. Med.*, **175**, 1531-1538.
- HUGAS M., PAGÉS F., GARRIGA M., MONFORT J.M. (1998). Application of the bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* CTC 494 to prevent growth of *L. monocytogenes* in fresh and cooked meat products packed with different atmospheres. *Food Microbiol.* **15**, 639-650.
- JACQUET C, GOUIN E, JEANNEL D, COSSART P, ROCOURT J. (2002). Expression of ActA, Ami, InlB, and listeriolysin O in *Listeria monocytogenes* of human and food origin. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**, 616-622.
- JEMMI T., PAK S.I., SALMAN M.D. (2002). Prevalence of and risk factors for contamination with *Listeria monocytogenes* of imported and exported meat and fish products in Switzerland, 1992-2000. *Prev. Vet. Med.*, **54**, 25-36.
- JOFFIN J.N., LEYRAL G (1998). Microbiologie technique. Collection biologie technique. 2^{ème} éd., CNDP d'Aquitaine. Bordeaux.
- JOHNSON J.L., DOYLE M.P., CASSENS R.G., SCHOENI J.L. (1988). Fate of *Listeria monocytogenes* in tissues of experimentally infected cattle and in hard salami. *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 497-501.
- KACLFKOVÁ E., PANGALLO D., DRAHOVSKÁ H., ORAVCOVÁ K.T. (2003). Detection of *Listeria monocytogenes* in food, equivalent to EN ISO 11290-1 or ISO 10560, by a three-days polymerase chain reaction-based method. *Food Control.* **14**, 125-129.
- KALMOKOFF M.L., DALEY E., AUSTIN J.W., FARBER J.M. (1999). Bacteriocin-like inhibitory activities among various species of *Listeria*. *Int. J. Food Microbiol.*, **50**, 191-201.
- KIM J.H., LEE J.W., KIM J.H., SEO J.H., HAN S.B., CHUNG H.J., BYUN M.W. (2006). Effect of gamma irradiation on *Listeria ivanovii* inoculated to iceberg lettuce stored at cold temperature. *Food Control.* **17**, 397-401.
- KOCKS C., GOUIN E., TABOURET M., BERCHE P., OHAYON H., COSSART P. (1992). *Listeria monocytogenes* induced actin assembly requires the *actA* gene product, a surface protein. *Cell.* **68**, 521-531.
- KUDA T., IWAI A., YANO T. (2004). Effect of red pepper *Capsicum annum* var. *conides* and garlic *Allium sativum* on plasma lipid levels and cecal microflora in mice fed beef tallow. *Food Chem. Toxic.*, **42**, 1695-1700.
- LARPENT J.P. (1997). Mémento technique de microbiologie. Tec et Doc, Lavoisier. Paris.
- LARPENT J.P. (2004). *Listeria*. Tec et Doc, 3^{ème} éd., Lavoisier. Paris.
- LECUIT M, COSSART P. (2002). Genetically-modified-animal models for human infections: the *Listeria* paradigm. *Trends Mol. Med.*, **8**: 537-42.

- LECUIT M. (2005). Understanding how *Listeria monocytogenes* targets and crosses host barriers. *Clin Microbiol Infect.*, **11**, 430-436.
- LECUIT M., COSSART P. (2005). Bases moléculaires du tropisme foetoplacentaire de *Listeria monocytogenes*. *Med. Sci.*, **1**, 17-19.
- LHOPITAL L. S., MARLY J., PARDON P., BERCHE P. (1993). Kinetics of antibody production against Listeriolysin O in sheep during listeriosis. *J. Clin. Microbiol.*, **31**, 1537-1540
- LINTON R.H., PIERSON M.D., BISHOP J.R. (1990). Increase in heat resistance of *Listeria monocytogenes* Scott A by sublethal heatshock. *J. Food Prot.*, **53**, 924-927.
- LOU Y., YOUSEF A.E. (1999). Characteristics of *Listeria monocytogenes*. In: *Listeria, listeriosis and food safety*. Ryser E.T., Marth E.H. (eds). Second edition, Marcel Dekker Inc., N.Y., USA. 131-224.
- LUKINMAA S, MIETTINEN M, NAKARI UM, KORKEALA H, SIITONEN A. (2003). *Listeria monocytogenes* isolates from invasive infections: variation of sero- and genotypes during an 11-year period in Finland. *J. Clin. Microbiol.*, **41**, 1694-700.
- MACKANESS G. B. (1962). Cellular resistance to infection. *J. Exp. Med.*, **116**, 381-406.
- MANGENA T., MUYIMA N.Y.O. (1999). Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *artemisia afra*, *pteronia incana* and *rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Lett. Appl. Microbiol.*, **28**, 291-296.
- MARTH E.H. (1986). Disease characteristics of *Listeria monocytogenes*. *Food Technol.*, **42**, 165-168.
- McDONALD F., SUTHERLAND A.D. (1994). Important differences between generation times of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* in two enrichment broths. *J. Dairy Res.*, **61**, 433-436.
- MENGAUD J, OHAYON H, GOUNON P, MEGE RM, COSSART P. (1996). E-cadherin is the receptor for internalin, a surface protein required for entry of *L. monocytogenes* into epithelial cells. *Cell*. **84**, 923-932.
- MIELKE M.E.A., EHLERS S., HAHN H. (1988). T-cell subsets in delayed-type hypersensitivity, protection, and granuloma formation in primary and secondary *Listeria* infection in mice: superior role of Lyt-2+ cells in acquired immunity. *Infect. Immun.*, **56**, 1920.
- MIETTINEN H., AARNISALO K., SALO S., SJOBERG A.M. (2001). Evaluation of surface contamination and the presence of *Listeria monocytogenes* in fish processing factories. *J. Food Prot.* **64**, 635-639.
- MILLET L., SAUBUSSE M., DIDIENNE R., TESSIER L., MONTEL M.C. (2006). Control of *Listeria monocytogenes* in raw-milk cheeses. *Int. J. Food Microbiol.*, **108**, 105-114.
- MONK J.D., CLAVERO M.R.S., BEUCHAT L.R., DOYLE M.P., BRACKETT R.E. (1994). Irradiation inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in low- and high-fat, frozen and refrigerated ground beef. *J. Food Prot.*, **57**, 969-974.
- MONTEL M., BEUVIER S., HAUWUY J.N. (2003). Pratiques d'élevages, microflore de lait et qualités des produits laitiers. *Revue INRA Production animale*. **16**, 279-282.
- MOUNIER J., RYTER A., COQUIS-RONDON M., SANSONETTI P.J. (1990). Intracellular and cell-to-cell spread of *Listeria monocytogenes* involves interaction with F-actin in the enterocytelike cell line Caco-2. *Infect. Immun.*, **58**, 1048-1058.
- MURIANA P.M. (1997). Effect of pH and hydrogen peroxide on heat inactivation of Salmonella and *Listeria* in egg white. *Food Microbiol.*, **14**, 11-19.
- NAIR S., DERRÉ I., MSADEK T., GAILLOT O., BERCHE P. (2000). CtsR is a repressor of the class III heat shock genes in the human pathogen *Listeria monocytogenes*. *Mol. Microbiol.*
- NICOLAS J.A., VIDAUD N. (1985). Contamination des viandes et des produits de charcuterie par *Listeria monocytogenes* en Haute-Vienne. *Sci. Aliment.*, **5**, 175-179.
- NICOLAS J.A. (1993). Rôle de la consommation d'ensilage dans la listériose ovine. *Microbiol. Alim. Nutr.*, **1**, 71-76.
- NIETO-LOZANO J.C., REGUERA-USEROS J.I., PELÁEZ-MARTÍNEZ M.C., TORRE A.H. (2006). Effect of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* against *Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* on Spanish raw meat. *Meat Sci.*, **72**, 57-61.
- NOLAN D.A., CHAMBLIN, D.C., TROLLER J.A. (1992). Minimal water activity levels for growth and survival of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua*. *Int. J. Food Microbiol.*, **16**, 323-335.

- NORTH R. J. (1970). The relative importance of blood monocytes and fixed macrophages to the expression of cell-mediated immunity to infections. *J. Exp. Med.*, 132, 521-534.
- NOTERMANS S., SOENTORO P.S.S., BOLDER N.M., MULDER R.W.A.W. (1991). Adaptation of *Listeria* in liquid egg containing sucrose resulting in survival and outgrowth. *Int. J. Food Microbiol.*, 13, 55-62.
- NOTERMANS S., HOORNSTRA E. (2000). Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in fish products: general principles, mechanism of infection and the use of performance standard to control human exposure. *Int. J. Food Microbiol.*, 65, 223-229.
- O'DRISCOLL B., GAHANC.G., HILL C. (1996). Adaptive acid tolerance response in *Listeria monocytogenes*: isolation of an acid-tolerant mutant which demonstrates increased virulence. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 1693-1698.
- OSTERHOLM M.T., POTTER M.E. (1997). Irradiation pasteurisation of solid foods: taking food safety to the next level. *Emerg. Infect. Dis.*, 3, 575-577.
- OTOKUNEFOR T.V., SHUM B.T., GLASWORTHY S.B. (1979). Immunological properties of a partially monocytoxis producing activity from *L. monocytogenes*. *Can. J. Microbiol.* 25, 706-712.
- OUAHDI M. (2004). Situation épidémiologique nationale. Journée de prévention. Tipaza. 16 juin 2004. direction de la prévention. Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière.
- PAGAN R., CONDON S., SALA F.J. (1997). Effects of several factors on the heat-shock-induced thermotolerance of *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, 3225-3232.
- PALUMBO S.A. (1991). A review of methods for detection of the psychrotrophic foodborne pathogens *L. monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila*. *J. Food Saf.* 11, 105-122.
- PANDIT V.A., SHELEF L.A. (1994). Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosemarinus officinalis* L.). *Food Microbiol.*, 11, 57-63.
- PARK S.F., KROLL R.G. (1993). Expression of listeriolysin and phosphatidylinositol-specific phospholipase C is repressed by the plant-derived molecule cellobiose in *Listeria monocytogenes*. *Mol. Microbiol.*, 8, 653-661.
- 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 (in press).
- PHAN-THANH L., MONTAGNE A. (1998). Physiological and biochemical aspects of the acid survival of *Listeria monocytogenes*. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 44, 183-191.
- PIARD J.C., DESMAZEAUD M. (1992). Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. Bacteriocins and other antibacterial substances. *Le Lait*. 72, 113-142.
- PINÈDE L., MANQUAT G., BARNOUD D., CROIZÉ J., GUIGNIER M., STAHL J.P., MICOUDM. (1993). Listériose neuroméningée de l'adulte. Aspects cliniques et apport du cotrimoxazole en monothérapie. *Presse Med.*, 22,1385-1390.
- POLLARD T.D., BORISY G.G. (2003). Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell*. 112, 453-65.
- POYART C., ABACHIN E., RAZAFIMANANTSOA I., BERCHE P. (1993). The zinc metalloprotease of *Listeria monocytogenes* is required for the maturation of the phosphatidyl choline-phospholipase C: direct evidence by gene complementation. *Infect. Immun.*, 61, 1576-1580.
- PRASAD D.N., GUPTA R.K. (1990). *Listeria monocytogenes* in dairy products. An overview. *Microbiol. Aliment. Nutr.*, 8, 383-405.
- PRON B., BOUMAILA C., JAUBERT F., SARNACKI S., MONNET J. P., BERCHE P., GAILLARD J.L. (1998). Comprehensive study of the intestinal stage of listeriosis in a rat ligated ileal loop system. *Infect. Immun.*, 66, 747-755.
- RAVENEAU J., GEOFFROY C., BERETTI J.L., GAILLARD J.L., ALOUF J.E., BERCHE P. (1992). Reduced virulence of *Listeria monocytogenes* in phospholipase-deficient mutant obtained by transposon insertion into the zinc métalloprotéase gene. *Infect. Immun.*, 60,916-921.
- RHODES P.L., MITCHELL J.W., WILSON M.W., MELTON L.D. (2006). Antilisterial activity of grape juice and grape extracts derived from *Vitis vinifera* variety Ribier. *I. J. Food Microbiol.*, 107, 281-286.

- RICHARD C., LEROI F., BRILLET A., RACHMAN C., CONNIL N., DRIDER D., PILET M.F., ONNO B., DOUSSET X., PREVOST H. (2004). Maîtrise du développement de *Listeria monocytogenes* dans le saumon fumé: intérêt de la biopréservation par des bactéries lactiques. *Lait* . **84**, 135-144
- ROCOURT J., RENAUD F., FRENEY J. (1994). *Listeria*. In : J. Freney, F. Renaud, W. Hansen, C. Bollet : Manuel de Bactériologie Clinique, 2ème édition, Elsevier, collection Option Bio, 833-849.
- ROCOURT J., BILLE C. (1997). Foodborne Listeriosis. Rapport trimestriel des statistiques sanitaires mondiales. **50**, 67-73.
- ROCOURT J., COSSART P. (1998). *Listeria monocytogenes*. Foodborne pathogenic bacteria. Editions Michael P.Doyle. 5, 337-352.
- 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, 943-956.
- ROCOURT J., BENEMBAREK P P., TOYOFUKU H., SCHLUNDT J. (2003). Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods : the FAO/WHO approach. *FEMS Immunol Med. Microbiol.*, **35**, 263-267.
- ROUQUETTE C., De CHASTELLIER C., NAIR S., BERCHE P. (1998). The ClpC ATPase is a general stress protein required for virulence and promoting early bacterial escape from the phagosome of macrophages. *Mol. Microbiol.*, **27**, 1235-1245.
- ROXANNE J.O., ENZO A.P. (2006). Anti-listerial activity of ethanolic extracts of medicinal plants, *Eremophila alternifolia* and *Eremophila duttonii*, in food homogenates and milk. *Food Control* (in press).
- SAMPATHKUMAR B., XAVIER J., YU L.S., KHACHATOURIANS G.G. (1999). Production of listeriolysin O by *Listeria monocytogenes* (Scott A) under heat-shock. *Int. J. Food Microbiol.*, **48**, 131-137.
- SCHAAK M.M., MARTH E.H. (1988). Behaviour of *Listeria monocytogenes* in skim milk and yogurt mix during fermentation by thermophilic lactic acid bacteria. *J. Food Protect.*, **51**, 607-614.
- SCHLECH W.F., LAVIGNE P.M., BORTOLUSSI R.A., ALLEN A.C., HALDANE E.V., WORT A.J., HIGHTOWER A.W., JOHNSON S.E., KING S.H., NICHOLLS E.S. (1983). Epidemic listeriosis-evidence for transmission by food. *N. Engl. J. Med.*, **308**, 203-206.
- SEELIGER H.P.R., JONES D. (1986). *Genus Listeria Pirie* 1940, 383AL. In : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe and J.H. Holt (eds), Williams & Wilkins, Baltimore, **2**, 1235-1245.
- SIBELIUS U., SCHULZ E.C., ROSE F., HATTAR K., JACOBS T., WEISS S., CHAKRABORTY T., SEEGER W., GRIMMINGER F. (1999). Role of *Listeria monocytogenes* exotoxins listeriolysin and phosphatidylinositol-specific phospholipase C in activation of human neutrophils. *Infect. Immun.*, **67**, 25-30.
- SIMPSON R.K., GILMOUR A. (1997). The resistance of *Listeria monocytogenes* to high hydrostatic pressure in foods. *Food Microbiol.*, **14**, 567-573.
- SINGH A., SINGH R.K., BHUNIA A.K., SINGH N. (2003). Efficacy of plant essential oils s ntimicrobil gents gainst *Listeria monocytogenes* in hotdogs. *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, **36**, 787-794.
- SKOVGAARD N., MORGEN C.A. (1988). Detection of *Listeria spp.* in feaces from animals, in feeds, and in raw foods of animal origin. *Int. J. Food Microbiol.*, **6**, 229-242.
- SKOVGAARD N., NORRUNG B. (1989). The incidence of *Listeria spp.* in feces of Danish pigs and in minced pork meat. *Int. J. Food Microbiol.*, **8**, 59-63.
- STANNARD C. (1997). Developpment and use of microbiological criteria for foods. *Food Sci. Technol. Today*. **11**, 137-177
- SWORD C.P. (1966). Mechanisms of pathogenesis in *Listeria monocytogenes* infection. Influence of iron. *J. Bacteriol.*, **92**, 536-542.
- TERPLAN G. (1990). Bedeutung der Listerien für die milchwirtschaft. *Dtsch. Milchwirtsch.*, **41**, 168-169.
- TRIPP C.S., WOLF S.F., UNANUE E.R. (1993). Interleukin 12 and tumor necrosis factor alpha are costimulators of interferon gamma production by natural killer cells in severe combined immunodeficiency mice with listeriosis and interleukin 10 is a physiologic antagonist. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. **90**, 3725-3729.

- VASSEUR C., BAVEREL L., HÉBRAUD M., LABADIE J. (1999). Effect of osmotic, alkaline, acid or thermal stresses on the growth and inhibition of *Listeria monocytogenes*. *J. Appl. Microbiol.*, **86**, 469-476.
- WHERRY J.C., SCHREIBER R.D., UNANUE E.R. (1991). Regulation of gamma interferon production by natural killer cells in scid mice: roles of tumor necrosis factor and bacterial stimuli. *Infect. Immun.*, **59**, 1709-1715.
- YOKOYAMA E., MARYAMA S., KATSUBE Y. (1998). Production of bacteriocin-like-substance by *Listeria innocua* against *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.*, **40**, 133-137.
- YOUNG-MIN K., HYUN-DONG P., DONG-SUN L. (2002). Shelf-life characteristics of fresh oysters and ground beef as affected by bacteriocin-coated plastic packaging film. *J. Sci. Food Agri.*, **82**, 998-1002.
- YÜCEL N., ÇITAK S., ÖNDER M. (2005). Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria* species in meat products in Ankara, Turkey. *Food Microbiol.*, **22**-241-245.
- ZAIKA L.L., FANELLI J.S. (2003). Growth kinetics and cell morphology of *Listeria monocytogenes* Scott A as affected by temperature, NaCl, and EDTA. *J. Food.Prot.*, **66**, 1208-1215.

Annexes

Gélose nutritive - Composition pour 1 litre d'eau distillée :

Peptone : 5,0 g
Extrait de viande : 1,0 g
Extrait de levure : 2,0 g
Chlorure de sodium (NaCl) : 5,0 g
Agar : 5,0 g
pH : 7,4

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

Bouillon d'enrichissement de Fraser - Composition pour 1 litre :

NaCl : 20,0 g
Na₂HPO₄ : 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
KH₂PO₄ : 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) : 10 mL
pH : 7,2 ± 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 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 p. cent) : 10,0 mL
pH : $7,0 \pm 0,2$ à 25 °C

Gélose OXFORD agar modifié – Composition pour 1 litre :

Composition identique à la gélose Oxford mais la quantité d'agar est de 12 g et la solution d'antibiotiques est constituée de 0,015 g de moxalactam et de 0,010 g de sulfate de colistine placés dans 10 mL d'eau distillée.

**Gélose PALCAM (Polymyxin Acriflavine LiCl Ceftazidime Esculine Mannitol) -
Composition pour 1 litre :**

Peptone : 23,0 g
LiCl : 15,0 g
Agar : 10,0 g
Mannitol : 10,0 g
NaCl : 5,0 g
Extraits de levure : 3,0 g
Amidon : 1,0 g
Esculine : 0,8 g
Citrate de fer ammoniacal : 0,5 g
Glucose : 0,5 g
Rouge de phénol : 0,08 g
Supplément PALCAM : 10,0 mL
pH : $7,2 \pm 0,2$ à 25 °C

Sur gélose PALCAM, les colonies de *Listeria* sont de couleur vert marron foncé, leurs centres apparaissent enfoncés dans la gélose et elles sont entourées d'un halo noir (hydrolyse de l'esculine).

Supplément PALCAM :
Ceftazidime : 20,0 mg
Polymyxine B : 10,0 mg
Acriflavine (chlorhydrate) : 5,0 mg
Eau distillée : 10,0mL