

## CONTAMINATION DU LAIT CRU DE VACHE PAR *Listeria monocytogenes* : CAS DE QUELQUES EXPLOITATIONS LAITIÈRES

Reçu le 23/04/2003 – Accepté le 31/12/2004

### Résumé

Notre enquête bactériologique a porté sur la recherche et l'identification biochimique des listeria à partir de 1287 échantillons de lait cru en provenance de 66 exploitations laitières de quatre régions différentes (Alger, Ain Defla, Boumerdes et Blida) et de 137 échantillons des services vétérinaires. Sur les 1424 prélèvements de lait cru analysés, 24 souches, soit un taux de 1,68% de *Listeria* ont été isolées et identifiées comme suit : 15 souches de *L. innocua* (62,5%), 8 souches de *L. monocytogenes* (33,3%) et 1 souche de *L. ivanovii* (4,2%). La sérotypie a mis en évidence le sérovar 4b, le plus incriminé dans les cas de Listériose humaine et animale, dans la totalité des huit souches de *L. monocytogenes*.

La présente étude montre que les listeria, particulièrement *Listeria monocytogenes*, sont présentes dans nos élevages et que le dépistage s'impose dans les cas d'avortements et de méningites ou méningo-encéphalites animales.

**Mots clés:** Lait cru, *Listeria monocytogenes*, bovin, dépistage, zoonose.

### Abstract

Our bacteriological and biochemical characterisation of *Listeria* done from 1287 raw milk samples obtained from 66 dairy farms of four different regions in Algeria (Algiers, Ain Defla, Boumerdes and Blida) and 137 samples from Algiers's veterinary services. From these samples, 24 strains (1,68%) of *Listeria* where isolated and identified as follow : 15 strains of *L. innocua* (62,5%), 8 strains of *L. monocytogenes* (33,3%) and 1 strain of *L. ivanovii* (4,2%). Serotyping has shown only the serovar 4b which is the most incriminated in human and animal listeriosis from the total eight strains of *Listeria. Monocytogenes*.

The present study shows that *Listeria*, particularly *L. monocytogenes*, is present in our dairy cattle. *Listeria* diagnosis is necessarily in abortion cases and meningitidies or animal encephalo-meningitidies.

**Keywords:** Raw milk, *Listeria monocytogenes*, zoonosis.

E.H.A. LEBRES<sup>1</sup>

A. BADIS<sup>2</sup>

F. MOUFFOK<sup>1</sup>

D. GUETARNI<sup>2</sup>

R. OUZROUT<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Service de Bactériologie Alimentaire  
Institut Pasteur d'Algérie

<sup>2</sup> Faculté des Sciences  
Agro-Vétérinaires et Biologiques  
Université Saad Dahlab

BP270, Blida (Algérie)

<sup>3</sup> Centre universitaire d'El Tarf

### ملخص

إن التحري البكتريولوجي الذي قمنا به بغية البحث والتعريف البيوكيميائي لـ *Listeria* انطلاقاً من 1287 عينة حليب طازج جلبت من 66 مركز إنتاج الحليب لأربع مناطق مختلفة من الوطن (الجزائر العاصمة، عين الدفلى، بومرداس والبلدية) ومن 137 عينة من المصالح البيطرية بينت النتائج المتحصل عليها من خلال هذه الدراسة تواجد ميكروب *Listeria* في 24 حالة من بين 1424 عينة وهي نسبة ضعيفة تعادل 1.68% موزعة بالترتيب حسب المناطق كما يلي: 8، 6، 6 و 4.

سمحت التحاليل الميكروبيولوجية بعزل وتحديد ثلاثة أنواع تابعة لجنس *Listeria* وهي: *L. innocua* (62.5%)، *L. monocytogenes* (33.0%)، و *L. ivanovii* (4.2%). كما مكنت طرق التخثر من كشف "Sérovar 4b" وهو الشكل الشائع عند إصابات الإنسان والحيوان عند ثمانية سلالات تابعة لـ: *L. monocytogenes*.

أظهرت هذه الدراسة تواجد ميكروب *Listeria* وخاصة *Listeria monocytogenes* في مراكز تربية الحيوان في بلادنا، ومن ثم يعتبر تعقب هذا الميكروب ضروري لكشف حالات الإجهاض وحالات التهاب السحايا عند الحيوان.

**الكلمات المفتاحية:** زونوز، حليب طازج، *Listeria monocytogenes*، البقر، تعقب.

En Algérie, la production laitière ne couvre actuellement que le tiers des besoins et son développement par le PNDA est perçu comme une nécessité en raison du poids insupportable des importations. Le lait cru de vache constitue le principal vecteur de transmission de la maladie qui touche à la fois, la santé animale, la santé humaine et l'industrie laitière.

*Listeria monocytogenes* est un contaminant du lait cru dont la maîtrise dans les produits alimentaires reste délicate. L'ensilage constitue le principal vecteur de la contamination des troupeaux laitiers.

La listériose est une affection commune à l'homme et à de très nombreuses espèces animales. Elle est de plus en plus fréquemment découverte chez les animaux de rente, mais aussi chez diverses espèces d'animaux sauvages [21]. La listériose est une zoonose essentiellement animale et accidentellement humaine [17].

Chez l'animal, la listériose est sporadique et les cas peuvent être isolés ou rares, mais le portage sain peut être important. Les formes abortives, à *Listeria monocytogenes* sont plus fréquentes chez les bovins ; mais les formes méningoencéphaliques, à *Listeria ivanovii*, sont observées chez les ovins et les caprins [20].

Chez l'homme, les accidents épidémiques dus à *Listeria monocytogenes* sont parfois graves et concernent des catégories bien précises de la population, à savoir la femme enceinte, les immunodéprimés et les personnes âgées. Cliniquement, elle se manifeste principalement sous formes de méningites, de méningo-encéphalites, de septicémies et d'avortements prématurés [17-19].

Dans le monde, les listeria ont été à l'origine de plusieurs épidémies qui ont touché les Etats unis, le Canada, l'Angleterre, la Suisse et la France [1,20,21].

En Algérie, le premier cas clinique de listériose humaine a été décrit par Benallegue et al en 1967 [3]. Onze souches de *Listeria* (2 *L. monocytogenes*, 1 *L. welshimeri*, 2 *L. seeligeri*, 6 *L. innocua*) ont été

isolées et identifiées à partir de placenta de bovins ainsi qu'une souche de *L. innocua* à partir de fromages par Bellouni en 1990 [3]. Cinq cas de listériose humaine ont été rapportés par Ramdani et al en 1999 [16] et dix souches de listeria (7 *L. monocytogenes* et 3 *L. innocua*) ont été isolées à partir de denrées alimentaires autres que le lait par Lebres et al. en 2000 [13].

Devant l'intérêt porté à la production laitière par le soutien à l'élevage et à la collecte (PNDA) [15], ainsi que l'évolution de la consommation des laits et produits laitiers, nous avons entamé une étude préliminaire sur le dépistage des listeria à partir de lait cru de vache provenant d'élevages conventionnés avec les quatre laiteries de Arib (Ain Defla), de Beni Tamou (Blida), de Birkhadem (Alger) et de Boudouaou (Boumerdes).

## MATERIEL ET METHODES

### Echantillonnage

Le présent travail a été réalisé durant la période de janvier 2000 à août 2001.

Les prélèvements de lait ont été effectués de façon aseptique, après un lavage soigneux du pis et des mains des préleveurs et élimination des premiers jets dans un seau à part, par remplissage d'environ 500 ml de lait dans des flacons en verre stériles. Ils sont ensuite transportés à +4°C dans un délai n'excédant pas les 4 heures au laboratoire.

Les échantillons de lait, pris de façon aléatoire systématique, ont été subdivisés en deux lots (Tab.1) selon leur origine :

\* **Lot 1** : constitué de 1287 échantillons à partir de 66 exploitations laitières des quatre régions (Ain Defla, Blida, Alger et Boumerdes).

\* **Lot 2** : constitué de 137 échantillons en provenance des services vétérinaires de la wilaya d'Alger.

### Méthodes

#### Analyse bactériologique

La recherche et la caractérisation biochimique des listeria ont été réalisées par la méthode AFNOR (NF V08-055) [14] qui nécessite quatre étapes successives J1 à J4 :

\* **J1** : Enrichissement primaire sur bouillon Fraser ½ (225 ml) supplémenté d'acide nalidixique, d'acriflavine et de citrate de Fer (III) ammoniacal, additionné de 25 ml de lait.

\* **J2** : Enrichissement secondaire et isolement primaire :  
- 0,1 ml de l'enrichissement primaire est additionné à 10 ml de bouillon Fraser supplémenté.

- Premier isolement sur gélose Palcam (P1) à partir de l'enrichissement primaire.

\* **J3** : Isolement et lecture :

- Isolement à partir de l'enrichissement secondaire sur gélose Palcam (P2),

- Lecture de la boîte de gélose Palcam (P1) de J3 à J4.  
o Purification sur gélose TSAYE.

\* **J4** : Purification et confirmation biochimique à partir de la boîte de gélose Palcam (P2) de J4 à J6 : Purification sur gélose TSAYE puis confirmation biochimique.

### Sérotypage

Le sérotypage des souches de Listeria a été réalisé par la méthode d'agglutination sur lame à l'aide de sérums spécifiques [3].

## RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de l'analyse bactériologique et biochimique sont rapportés dans le tableau 2.

### Analyse bactériologique

Les résultats montrent que 24 prélèvements de laits sont positifs sur les 1424 analysés, soit un taux de 1,68%. Ce taux, proche de ceux rapportés par Larpent [12] et Soriano et al [20] qui sont de 1,90% et 2,90% en France et en Espagne, respectivement, est loin d'être négligeable car il signale la présence de listeria dans le lait cru provenant d'élevages (lot N°1). **Les listeria sont présentes dans nos élevages.**

La listériose touche à la fois la santé animale, la santé humaine et l'industrie laitière et le lait cru de vache demeure le principal vecteur de transmission. Elle demeure parmi les maladies infectieuses qui sont à l'origine de pertes considérables dans les élevages, par le biais des infécondités, des mortalités embryonnaires, fœtales, néonatales ainsi que les avortements qu'elles engendrent.

En Algérie, la situation de ces maladies est inconnue et nous enregistrons un manque important de données et d'informations relatives à la fréquence des avortements et à leurs origines probables du fait qu'ils ne soient pas soumis à une déclaration obligatoire.

Les résultats obtenus montrent, d'une part, que les listeria sont présentes dans nos élevages et que d'autre part, un dépistage précoce et systématique est plus que nécessaire, voire urgent devant les risques encourus. A ce titre, des études plus poussées sont souhaitables pour estimer sa prévalence à une plus grande échelle.

### Caractérisation biochimique

A partir des 24 souches de listeria isolées, nous avons identifié huit souches de *L. monocytogenes* (33,33%),

**Tableau 1** : Répartition des prélèvements en fonction de leur origine géographique.

Origine des prélèvements	Lot N° 1 (1287)				Lot N° 2 (137)
	Ain Defla	Birkhadem	Blida	Boudouaou	
Nombre d'exploitations	12	06	08	40	N D
Nombre de vaches	330	275	110	572	137

ND : non déterminé.

**Tableau 2:** Résultats de l'analyse bactériologique et caractérisation biochimique des souches de listeria isolées en fonction de leur origine géographique.

Origine des prélèvements		Lot 1 (n = 1287)				Lot 2 (n = 137)	Total (1424)
		Ain Defla (n = 330)	Birkhadem (n = 275)	Blida (n = 110)	Boudouaou (n = 572)		
Analyse bactériologique (cas positifs)		06 (1,81%)	08 (2,91%)	04 (3,64%)	06 (1,05%)	00	24 (1,68%)
Caractérisation biochimique	<i>Listeria monocytogenes</i>	02 (33,33%)	03 (37,50)	01 (25,0%)	02 (33,33%)	00	08 (33,33%)
	<i>Listeria innocua</i>	04 (66,66%)	04 (50,0%)	03 (75,0%)	04 (66,66%)	00	15 (62,5%)
	<i>Listeria ivanovii</i>	00	01 (12,50% <sup>o</sup> )	00	00	00	01 (4,16%)

n : nombre d'échantillons.

quinze souches de *L. innocua* (62,5%) et une souche de *L. ivanovii* (4,16%) qui se répartissent, selon leur origine, comme suit :

- Six souches (soit 1,81%) dont deux *L. monocytogenes* et 4 *L. innocua* à partir des 330 prélèvements des exploitations de la région de Ain Defla.

- Huit souches (soit 2,91%), dont trois *L. monocytogene*, quatre *L. innocua*, et une *L. ivanovii*. à partir des 275 prélèvements des exploitations de la région de Birkhadem.

- Quatre souches (soit 3,64%), dont une *L. monocytogenes* et trois *L. innocua* à partir des 110 prélèvements des exploitations de la région de Blida.

- Six souches (soit 1,05%), dont deux *L. monocytogenes* et quatre *L. innocua* à partir des 572 prélèvements des exploitations de la région de Boudouaou.

La caractérisation biochimique de *Listeria monocytogenes*, principale souche pathogène pour l'homme et l'animal dans le lait cru d'élevages des quatre régions est pertinente. Chez les bovins, les formes abortives à *Listeria monocytogenes* sont fréquentes [20]. Chez l'homme, les accidents épidémiques dus à *Listeria monocytogenes* sont parfois graves et concernent des catégories bien précises de la population, à savoir la femme enceinte, les immunodéprimés et les personnes âgées [17-19]. Par conséquent, il signifie qu'on n'est pas à l'abri d'une éventuelle flambée épidémique avec toutes les conséquences qui s'en suivent, en particulier, celle relative à la mortalité chez l'homme estimée de 25 à 30% [17].

Le taux élevé de souches de *L. innocua* de 62,5% obtenu dans notre étude semble s'expliquer par le choix de la méthode utilisée (AFNOR) qui ne permet pas d'éviter la compétition existante entre la croissance de *L. monocytogenes* et *L. innocua*, souvent à l'avantage de *L. innocua*. La méthode bactériologique RapidL'mono [7], basée sur l'utilisation des géloses chromogènes aurait permis, de faire d'emblée, la distinction entre *L. monocytogenes* et les autres espèces. En effet, *L. monocytogenes* forme des colonies caractéristiques bleu franc sans halo jaune alors que les colonies formées par les autres espèces de listeria sont blanches avec ou sans halo jaune.

### Serotypage

Le sérotypage n'a été fait que sur les souches de *L. monocytogenes* du fait du caractère de pathogénicité et les résultats obtenus montrent que la totalité des souches de *L. monocytogenes* isolées possèdent le serovar 4b. Il s'agit du serovar le plus incriminé dans les cas de Listériose humaine et animale. En effet, De Valk et al [8] montrent que 95% des souches isolées des infections cliniques appartiennent au serovar 1/2a, 1/2b ou 4b.

### CONCLUSION

Nos travaux ont montré la présence de listeria, particulièrement *L. monocytogenes*, à des taux certes faibles, mais concordants avec ceux de la littérature.

Les accidents épidémiques dus à *L. monocytogenes* sont parfois graves, souvent spectaculaires et concernent surtout les femmes enceintes et les immunodéprimés. De nos jours, on est bien conscient que la listériose est une maladie rare, mais grave. La vigilance doit donc être de règle. Aussi, compte tenu des séquelles que peut engendrer une telle zoonose due à cette bactérie extrêmement résistante aux conditions du milieu extérieur, bien qu'elle ne soit ni sporulée, ni capsulée ; il devient urgent de mettre en place un réseau d'épidémiologie-surveillance dans le but de prendre les mesures qui s'imposent afin de parer à temps à une éventuelle épidémie.

À partir de ces résultats, une question très préoccupante reste posée. S'agit-il de sérovars locaux ou de sérovars importés ?

Beaucoup de précautions restent à prendre aussi bien en élevage qu'en industrie laitière. Le dépistage systématique de listériose chez tous les bovins doit être préconisé, dans le but de lutter contre ce fléau et de limiter le nombre de foyers infectieux et par conséquent la propagation de la maladie. L'éradication totale de la listériose reste illusoire et la prophylaxie basée sur l'éducation sanitaire et l'information demeure le moyen idéal de lutte et de protection.

D'autres investigations restent, à notre avis, à prévoir pour établir réellement la situation épidémiologique dans notre pays.

## REFERENCES

- [1]- Audurier A., Rocourt J., Courtieu A.L., "Isolement et caractérisation de *Listeria monocytogenes*", *Annales de microbiologie de l'Institut Pasteur de Paris*, 128A, (1977), pp. 185-198.
- [2]- Barnier E., Vincent J.P. and Catteau M., "Listeria et environnement industriel", *Sciences Alimentaires*, 8, (1988), pp. 239-242.
- [3]- Bellouni R., "*Listeria monocytogenes*", Thèse de Doctorat en médecine (DESM), INESSM – Alger, (1990), pp. 1-165.
- [4]- Berche P., Gaillard J.L. and Simonet M., "*Listeria monocytogenes*", *Précis de bactériologie, Les bactéries des infections cliniques*, 3, (1988), pp. 312-320.
- [5]- Bind J.L., "Mise en évidence et dénombrement des listeria à partir de produits laitiers", *Le Lait*, 71, (1991), pp. 99-105.
- [6]- Bind J.L., Avoine C. and Delaval P., "Analyse critique des méthodes d'isolement, de dénombrement et d'identification des listeria en agro-alimentaire", *Pathologie Biologie*, Vol 44, N°9, (1996), pp. 757-768.
- [7]- Carles B., Jacquet C., Duthoit L., Facon J.L. and Rocourt J., "Evaluation d'un nouveau milieu de culture pour la détection rapide de *Listeria monocytogenes* dans les produits alimentaires", *Recueil SANOFI-Diagnostic*, (1998), pp. 1-22.
- [8]- De Valk H. Vaillant V. and Goulet V., "Epidémiologie des listérioses humaines en France", *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 184, N°2, (2000), pp. 267-274.
- [9]- Euzéby J.P., (2000), "Bactériologie Vétérinaire : Listeria", [www.bacterio.cict.fr/bacdico/nomstaxons.html](http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/nomstaxons.html), pp. 1-35.
- [10]- Hirsh M., "Rapport d'activités de l'AFSSA", (1999-2000), pp. 1-223.
- [11]- Lahellec C., Salvat G. et Brisabois A., "Incidence des listeria dans les denrées alimentaires", *Pathologie Biologie*, Vol 44, N°9, (1996), pp. 808-815.
- [12]- Larpent J.P., "Les Listeria", *Technique et documentation*, Edition : Lavoisier, (1995), pp. 1-140.
- [13]- Lebres EHA., Mouffok F., "Enquête de listériose en Algérie", *Recueil de la journée : Institut Pasteur d'Algérie face aux problèmes sanitaires de l'été*, (2000), pp. 11-22.
- [14]- Norme AFNOR, NF.V 08-055, "Recherche de *Listeria monocytogenes*", (1997), pp. 1-25.
- [15]- PNDA 1999-2000 : Plan National de Développement de l'Agriculture.
- [16]- Ramdani R., Bouguessa N. and Rahal K., "Neonatal listeriosis in Algeria : the first two cases", *Clinical Microbiology and Infection*, Vol. 6, N°3, (2000), pp. 108-111.
- [17]- Rocourt J. & Jacquet C., "Epidémiologie des infections humaines à *Listeria monocytogenes* en 1994 : certitudes et interrogations", *Annales de microbiologie de l'Institut Pasteur de Paris*, Vol. 5, N°3, (1994b), pp. 168-174.
- [18]- Rocourt J., Renaud F. et Freney J., "Les Listeria", *Manuel de bactériologie clinique*, Vol III, (1994a), pp. 833-847.
- [19]- Rocourt J. & Bille J., "Foodborne listeriosis", *Rapport trimestriel des statistiques sanitaires mondiales*, Vol. 50, (1997), pp. 67-73.
- [20]- Soriano J.M., Rico H., Molto J.C. and Manes J., "Listeria species in raw and ready to eat foods from restaurants", *Journal of foods protection*, Vol. 64, N°4, (2001), pp. 551-553.
- [21]- Vaissaire J., "Epidémiologie des Listérioses animales en France", *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, Vol. 184, N°2, (2000), pp. 275-286. □