

**VIRULENCE DE SOUCHES  
DE LISTERIA  
D'ORIGINE ALIMENTAIRE :  
Infection expérimentale sur la souris**

**THESE**

POUR LE

**DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

*présentée et soutenue publiquement le 29 Juin 1992*

par

**Isabelle PICAT**  
épouse COUTURIER  
née le 18 Mai 1965 à Limoges (Haute-Vienne)

**EXAMINATEURS de la THESE**

Monsieur le Professeur NICOLAS .....	PRESIDENT
Madame le Professeur BOSGIRAUD .....	JUGE
Monsieur LARTIGUE, <i>Pharmacien</i> .....	JUGE
Monsieur SOUBIELLE, <i>Docteur Vétérinaire</i> .....	JUGE

# UNIVERSITE DE LIMOGES

## FACULTE DE PHARMACIE

- DOYEN DE LA FACULTE : Monsieur le Professeur **RABY**
- ASSESSEURS :       Monsieur le Professeur **GHESTEM** (1er Assesseur)  
                           Monsieur **DREYFUSS**, Maître de Conférences (2ème Assesseur)

### PERSONNEL ENSEIGNANT

#### \* PROFESSEUR DES UNIVERSITES

BENEYTOU Jean-Louis	Biochimie
BERNARD Michel	Physique-Biophysique
BOSGIRAUD Claudine	Microbiologie
BROSSARD Claude	Pharmacotechnie
BUXERAUD Jacques	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
CHULIA Albert	Pharmacognosie
CHULIA Dominique	Pharmacotechnie
DELAGE Christiane	Chimie Générale et Minérale
GALEN François Xavier	Physiologie
GHESTEM Axel	Botanique et Cryptogamie
GUICHARD Claude	Toxicologie
HABRIOUX Gérard	Biochimie
LEFORT DES YLOUSES Daniel	Pharmacie galénique
NICOLAS Jean Albert	Bactériologie et Virologie, Parasitologie
OUDART Nicole	Pharmacodynamie
PENICAUT Bernard	Chimie Analytique et Bromatologie
RABY Claude	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
TIXIER Marie	Biochimie

### SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse

A Monsieur le Professeur Jean Albert NICOLAS

Professeur des Universités de Bactériologie - Virologie - Parasitologie.

Nous vous remercions d'avoir bien voulu nous faire l'honneur de  
présider le jury de notre thèse.

Nous vous adressons nos remerciements pour nous avoir accueillie  
au Laboratoire Départemental de la Haute-Vienne et pour avoir mis à notre  
disposition les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail.

Veillez accepter l'expression de notre profond respect.

A Madame le Professeur Claudine BOSGIRAUD

Professeur de Microbiologie.

Nous vous remercions de la grande disponibilité que vous avez toujours manifestée à notre égard et pour vos précieux conseils.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A Monsieur Alain LARTIGUE

Pharmacien,

C'est pour nous un grand honneur que de vous voir participer à notre jury de thèse.

Nous vous exprimons ici toute notre gratitude;

A Monsieur Le Docteur Charles SOUBIELLE

Vétérinaire.

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Nous vous exprimons ici nos sincères remerciements.

A Alain MENUDIER

Je te remercie pour l'aide, les conseils, la patience dont tu as su faire  
preuve.

A toute ma famille

je dédie ce travail, pour le soutien qu'elle a su m'apporter tout au long  
de mes études.



# PLAN

## **INTRODUCTION**

## **PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **I-LISTERIOSE ANIMALE ET HUMAINE**

#### **I-1-FORMES NEURO-MENINGEES ET SEPTICEMIQUES**

#### **I-2-FORMES FCETO-MATERNELLES**

I-2-1-Chez l'animal

I-2-2-En pathologie humaine

a-chez la femme enceinte

b-chez le nouveau-né

#### **I-3-AUTRES FORMES**

### **II-EPIDEMIOLOGIE**

#### **II-1-CONTAMINATION PAR LE MILIEU EXTERIEUR**

#### **II-2-CONTAMINATION PAR LES ANIMAUX**

#### **II-3-CONTAMINATION INTER-ANIMALE**

#### **II-4-CONTAMINATION INTER-HUMAINE ET AUTO-CONTAMINATION**

### **III-ISOLEMENT DES *LISTERIA* DANS LES ALIMENTS**

#### **III-1-EPIDEMIES D'ORIGINE ALIMENTAIRE**

III-1-1-Aux Etats-Unis

III-1-2-En Suisse

III-1-3-Autres épidémies

#### **III-2-METHODE DE RECHERCHE DES *LISTERIA* DANS L'ALIMENTATION**

III-2-1-Enrichissement au froid

III-2-2-Protocole FDA

III-2-3-Protocole USDA. FSIS

III-2-4-Anticorps monoclonaux

III-2-5-La sonde

### **IV-BACTERIOLOGIE**

#### **IV-1-MORPHOLOGIE**

#### **IV-2-CULTURE**

IV-2-1-Condition de culture

a-Température

b-Le pH

c-Résistance aux conditions défavorables

IV-2-2-Aspect des cultures

**IV-3-CARACTERES BIOCHIMIQUES**

IV-3-1-Caractères généraux

IV-3-2-Caractères différentiels

**IV-4-RECHERCHE DE L'HEMOLYSINE**

IV-4-4-1-Nature de l'hémolyse

IV-4-4-2-Recherche de l'hémolysine

**IV-5-CARACTERES ANTIGENIQUES : SEROTYPES**

**IV-6-CARACTERES LYSOTYPIQUES**

**IV-7-ISOENZYME**

**IV-8-CATALASE ET SUPEROXYDASE-DISMUTASE**

**V-RÔLE ETIOLOGIQUE DES ALIMENTS**

**V-1-L'ENSILAGE**

**V-2-LE LAIT**

**V-3-PRODUITS LAITIERS**

**V-4-PRODUITS CARNES**

**V-5-PROPHYLAXIE**

**DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX PERSONNELS**

**INTRODUCTION**

**I-MATERIEL ET METHODE**

**I-1-ORIGINE DES SOUCHES SAUVAGES**

**I-2-RECHERCHE DE L'HEMOLYSINE**

**I-3-LES SOURIS**

**I-4-L'INOCULUM : PREPARATION DES GATEAUX**

**I-5-INFECTON DES ANIMAUX**

**I-6-CINETIQUE**

**I-7-SACRIFICE**

**I-8-PRELEVEMENT DES ORGANES**

**I-9-DENOMBREMENT DES BACTERIES SUR LE FOIE ET LA  
RATE**

**I-10-DENOMBREMENT DES BACTERIES SUR LES CERVEAUX**

**I-11-EVOLUTION STATISTIQUE**

## **II-RESULTAT**

### **II-1-L'HEMOLYSINE**

### **II-2-INOCULUM**

### **II-3-CINETIQUE**

II-3-1-poids des animaux

II-3-2-poids des rates

II-3-3-Dénombrement des germes dans le foie et la rate.

### **II-4-VIRULENCE DES 18 SOUCHES SAUVAGES DE *LISTERIA***

II-4-1-poids des animaux

II-4-2-poids des rates

II-4-3-Dénombrement des germes dans le foie et la rate.

II-4-4-Les cerveaux

## **III-DISCUSSION**

## **IV CONCLUSION**

INTRODUCTION

La listériose est une maladie commune à l'homme et à l'animal. Devant l'importance croissante de ce germe en pathologie humaine, ainsi qu'en pathologie animale, de nombreuses études ont été faites sur le pouvoir infectieux et sur la virulence des *Listeria*.

L'agent responsable de la maladie est *Listeria monocytogenes*. C'est une bactérie ubiquitaire et opportuniste, à parasitisme intra cellulaire facultatif.

Il existe une discordance entre les sérotypes isolés à partir de produits alimentaires et ceux isolés à partir de pathologie. En effet les sérotypes 1/2 a et 1/2 c sont fréquemment retrouvés dans les aliments alors qu'en pathologie humaine et animale le sérotype 4b reste dominant.

Cette constatation nous a conduit à étudier la virulence de plusieurs souches sauvages, isolées au Laboratoire Départemental d'Analyse et de Recherche de Haute-Vienne, administrées par voie orale à la souris Swiss et de le mettre en relation avec le sérotype.

Les différents paramètres étudiés ont été le taux de mortalité, le dénombrement des *Listeria* dans la rate, le foie et le cerveau des animaux infectés par voie orale.

Une étude statistique de ces paramètres a montré des différences de virulence entre les espèces, les sérotypes et les différentes souches de *Listeria*.



**PREMIERE PARTIE :**  
**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## I-LISTERIOSE ANIMALE ET HUMAINE

La Listériose est une maladie infectieuse, hydrotellurique, commune à l'homme et à de nombreuses espèces animales (57).

Chez les animaux, on la rencontre surtout chez les ovins, les bovins, plus rarement chez les caprins, les porcins et les volailles. On a aussi décrit des cas de listériose chez les chevaux, les chiens et les chats. Les espèces sauvages sont également sensibles (cerfs, rongeurs, renards) de même que les animaux à sang froid.

De toutes les espèces de *Listeria*, seule *Listeria monocytogenes* peut être régulièrement incriminée comme responsable d'infection chez l'homme et chez l'animal. C'est le sérotype 4 b qui est le plus souvent retrouvé (80 % des cas de listériose) (45-66).

Cependant *Listeria ivanovii* a été isolée lors de rares cas d'avortement chez des animaux en particulier ovins, bovins et caprins.

Les autres espèces : *Listeria innocua*, *Listeria seeligeri* et *Listeria welshimeri* ne sont pas pathogènes (62-70).

On ne connaît pratiquement rien de la dose infectieuse de *Listeria monocytogenes*. Elle dépendrait de la sensibilité de l'hôte. Peu pathogène chez l'individu normal, *Listeria* peut être à l'origine d'infections sévères lorsqu'il existe un déficit pathologique de l'immunité cellulaire (30).

Cependant toute contamination par *Listeria monocytogenes* ne provoque pas systématiquement la maladie. On rencontre des porteurs sains : de l'ordre de 1 à 5 % des individus chez l'homme et de 10 à 30 % chez l'animal. Ces individus de même que ceux ayant développé la maladie, restent excréteurs de bactéries par les fèces durant des mois voire des années (30).

La bactérie se comporte comme un parasite intracellulaire facultatif (6). Elle n'exalte sa virulence que lorsque les défenses immunitaires de l'organisme sont déficientes. Ainsi la maladie frappe surtout les personnes immuno-déprimées : femmes enceintes, nouveau-né, fœtus, personnes âgées, diabétiques, drogués, sidaïques (79). La mise en œuvre de thérapeutique immuno-dépressive favorise l'apparition de la listériose. On observe aussi des septicémies à *Listeria monocytogenes*, par exemple après une transplantation rénale. Ces notions de terrain et de caractère opportuniste sont très importantes (6-33-60).

La bactérie a un double tropisme : le système nerveux et l'unité utérofœtale.

La Listeriose se traduit donc chez l'homme comme chez l'animal par des infections :

- à localisation génitale responsables d'avortements,
- neuro-méningées qui se manifestent par une encéphalite et une méningo-encéphalite,
- ou septicémiques atteignant surtout les nouveaux-nés (57-55-23-61-60).

Des expressions pulmonaires chez les veaux et des mammites listériennes chez les femelles allaitantes ont été décrites.

## I-1-FORMES NEURO-MENINGEES ET SEPTICEMIQUES

L'agent étiologique est presque uniquement *Listeria monocytogenes*. C'est une pathologie habituelle chez les animaux. Elle se traduit par des encéphalites. Chez l'homme, la forme neuro-méningée est la plus fréquente. Elle se traduit par une méningite aiguë suppurée ou subaiguë (55-57).

### Aspect clinique chez l'homme et l'animal

Le début est brutal, avec une fièvre élevée (39-40°C) parfois accompagnée de troubles digestifs. Les céphalées sont intenses et constantes. On retrouve tous les signes caractéristiques des méningites : photophobie, raideur de la nuque, vomissement, obnubilation, coma (34-55).

On peut également trouver des atteintes méningo-encéphaliques et des encéphalites avec paralysies des nerfs crâniens, des troubles du tonus, un syndrome extra-pyramidal et cérébelleux. Des crises convulsives inaugurales généralisées peuvent apparaître, elles sont alors le fait des formes les plus sévères.

Des hémorragies digestives, des atteintes rénales et cardiaques peuvent s'ajouter à ce tableau (55).

L'examen du LCR est capital pour déterminer l'étiologie. Il est clair, louche ou franchement purulent. Il existe une réaction cellulaire panachée à prédominance lymphocytaire. Dans les formes typiques il existe, comme dans toute méningite purulente, une protéinorrhachie supérieure à 1g/l et une hypoglycorrachie inférieure à 0,30 g/l (34-55).

Les hémocultures sont indispensables. Pour le diagnostic, l'examen direct du LCR après coloration permet parfois de mettre en évidence des bacilles Gram positif. *Listeria monocytogenes* est isolée dans la plupart des cas.

Des séquelles neurologiques définitives sont à craindre (34-20).

Les septicémies listériennes sont moins fréquentes.

## I-2-FORMES FŒTO-MATERNELLES

Elles regroupent la listériose de la femme enceinte et celle du nouveau-né (58).

### I-2-1-Chez l'animal

Elle atteint la femelle gestante. Selon le stade de la gestation et l'état de résistance individuelle, la maladie se traduit par un avortement, par une mortinatalité ou par la naissance de nouveau-nés infectés. Dans les cas d'avortements outre *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii* peut-être incriminée chez les ovins, les caprins et les bovins (14-39-13).

### I-2-2-En pathologie humaine

On sépare classiquement la listériose de la femme enceinte et celle du nouveau-né.

#### a-chez la femme enceinte

L'infection survient à n'importe quelle période de la grossesse mais avec une prédominance pour les deux derniers trimestres. La symptomatologie est habituellement bénigne. Il s'agit d'un syndrome pseudo-grippal passant le plus souvent inaperçu. La fièvre est le signe majeur ; elle est en général isolée et transitoire. Ce caractère fait que la femme néglige

de le signaler. C'est l'interrogatoire qui permettra de déceler l'existence d'un état fébrile antérieur (57-38-67).

D'autres manifestations peuvent s'observer comme des infections urinaires, des douleurs abdominales ou des leucorrhées.

Donc tout l'épisode fébrile chez une femme enceinte est suspect et doit entraîner la prescription d'un examen cytot bactériologique des urines et d'hémocultures qu'il faut répéter (57-38).

La listériose est un facteur important d'interruption de grossesse. Elle peut entraîner la naissance prématurée d'un nouveau-né sain et contaminé.

#### b-chez le nouveau-né

Parmi les autres bactéries responsables d'infections néo-natales, *Listeria monocytogenes* arrive au troisième rang après *Escherichia Coli* et le Streptocoque du groupe B.

La listériose du nouveau-né apparaît le plus souvent sous une forme septicémique précoce. L'enfant naît en état de souffrance. Il présente une détresse respiratoire, des signes non spécifiques de souffrance neurologique ou un ictère précoce.

Il peut exister des formes plus tardives qui n'apparaissent que deux, parfois trois ou quatre semaines après la naissance. Il s'agit d'une méningite purulente, mais celle-ci est plus rare.

Le diagnostic repose sur l'interrogatoire de la mère ; l'examen du placenta et les prélèvements bactériologiques chez l'enfant doivent être faits avant tout traitement (38-58).

Schématiquement, quatre principaux mécanismes de contamination du fœtus ont été décrits : (cf tableau 1).

VOIE D'INFECTION	SYMPTOMATOLOGIE MATERNELLE	RESULTATS BACTERIOLOGIQUES chez la mère	SEROLOGIE MATERNELLE éventuellement	PLACENTA	LIQUIDE AMNIOTIQUE	TERME DU Nouveau-Né	ENFANT SYMPTOMATOLOGIQUE	FREQUENCE
HEMATOGENE TRANSPLACENTAIRE	Syndrome fébrile de 1 à 3 semaines précédant l'accouchement	Hémocultures (à répéter) +	+ les jours ou semaines suivantes	lésions granuleuses disséminées	pas de germes		de 0 à lésions granuleuses disséminées. Poumons indemnes ou secondairement atteints. Début le plus souvent immédiat	++
INFECTION AMNIOTIQUE TRANSMEMBRANAIRE (d'origine endométriale ou vaginale)	pas de fièvre ou fièvre contemporaine de l'accouchement	culture des lochies +		pas de lésions	germes +++	prématuré	lésions pulmonaires cutanées ou oculaires	+++
INFECTION PLACENTAIRE LOCALE D'ORIGINE ENDO-METRIALE	syndrome fébrile "en 2 temps" ou précédant de peu ou contemporain de l'accouchement	culture des lochies ±		abcès du placenta	+		de 0 à signes précoces graves	++
INFECTION AU COURS DE L'EXPULSION		culture des lochies +				le plus souvent à terme	méningite d'apparition tardive (2 <sup>e</sup> semaine)	+
CONTAMINATION POST-NATALE						le plus souvent à terme	méningite d'apparition tardive	+

Tableau 1 : Schéma des différents aspects de la listériose néo-natale en fonction du mode de contamination de l'enfant (38)

--> la voie hématogène transplacentaire à la suite de l'infection de la mère, *Listeria monocytogenes* gagne le placenta, puis le fœtus par voie sanguine, avec pour conséquence la naissance d'un enfant prématuré septicémique.

--> la voie ascendante transplacentaire : le point de départ est cervico-vaginal. Puis *Listeria monocytogenes* pénètre dans la cavité amniotique.

--> l'origine endométriale : c'est le mécanisme le plus fréquent.

--> la contamination durant l'accouchement : elle se produit lors de la traversée des voies génitales contaminées (61).

### I-3-AUTRES FORMES

Des listérioses localisées ont été décrites avec des atteintes oculaires, amygdaliennes ou cutanées. Les abcès du cerveau ne sont pas rares (58).

La listériose est une maladie grave aussi bien chez l'homme que chez l'animal. De graves séquelles et une mortalité importante chez les nouveau-nés sont à redouter.

Chez les animaux, il est difficile d'évaluer son incidence en France, car aucune enquête épidémiologique au plan national n'a été faite.



## II-EPIDEMIOLOGIE

L'épidémiologie est complexe et mal connue. *Listeria* est un germe ubiquitaire, c'est une bactérie tellurique. On peut la retrouver aussi bien dans l'air que dans les végétaux, les eaux d'égouts ou tout simplement dans celles d'une rivière, dans les boues, les effluents d'abattoirs, le lait, les excréments...

L'environnement constitue un immense réservoir.

Les animaux et l'homme sont des porteurs sains de *Listeria*. Ils hébergent les bactéries dans leurs intestins sans être affectés et assurent leur dissémination dans le milieu extérieur (30). (cf tableau n°2).

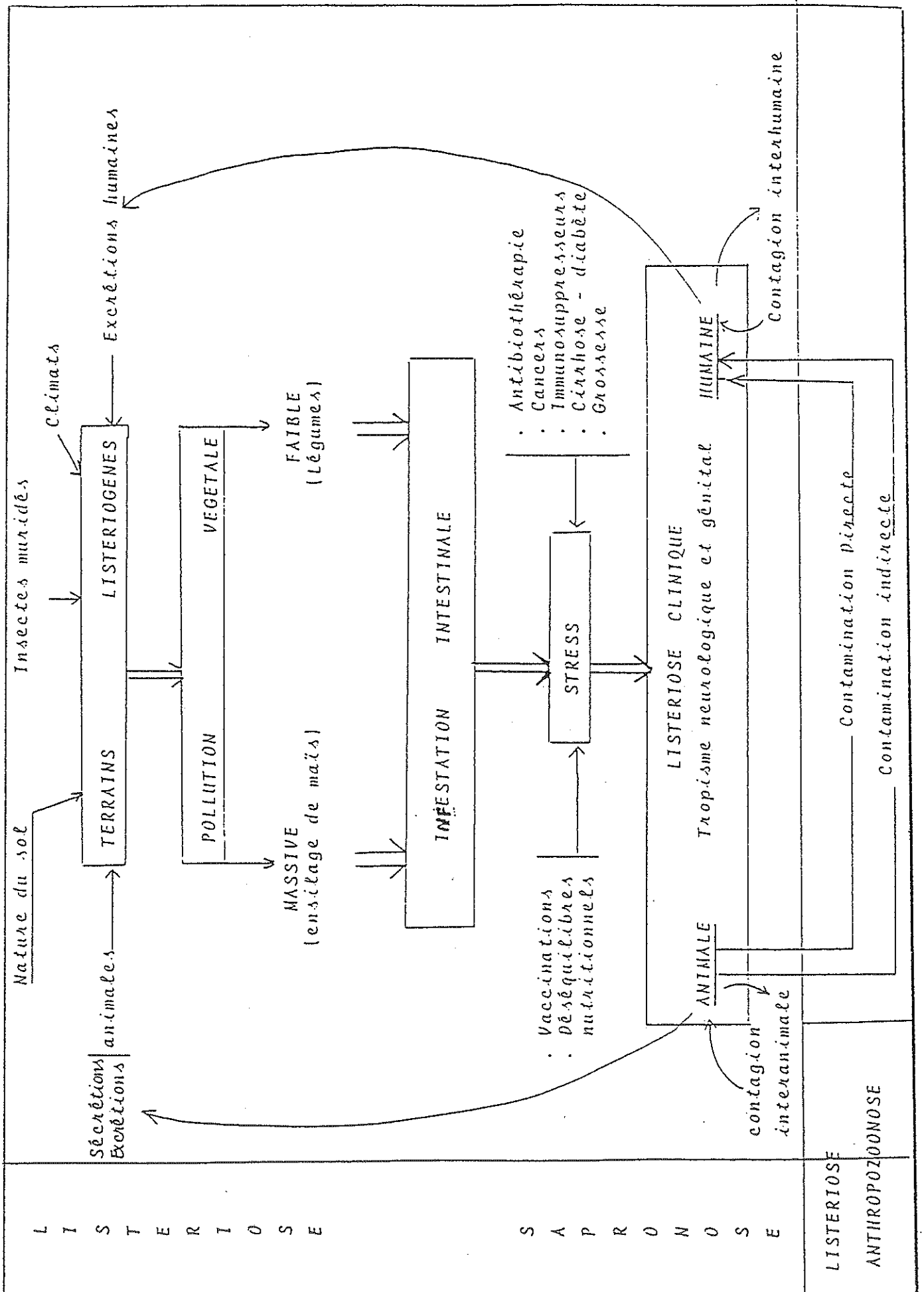


Tableau 2 : épidémiologie des infections à *Listeria monocytogenes*

## II-1-CONTAMINATION PAR LE MILIEU EXTERIEUR

		SURVIE EN JOURS
sol.	Hiver russe	235-260
	Eté	12-13
Eau		140-360
Paille		140-180
Excrément de mouton		260

Tableau 3 : Survie de *Listeria monocytogenes* dans le milieu extérieur (13)

On retrouve *Listeria monocytogenes* dans le sol (41). Il existe des terrains listériogènes. Ces terrains sont situés en général dans des régions à pluviométrie importante et possédant certains caractères physico-chimiques mal connus qui semblent assurer la survie des germes. La résistance de la bactérie y est importante elle est fonction du climat et de la saison. *Listeria* est un germe psychrotrophe (11-47). (cf tableau n° 3).

Ces terrains sont constamment infectés par les excréments animales et humaines. Cette pollution des sols entraîne la diffusion des germes vers d'autres éléments du milieu extérieur dont les végétaux qui constituent le réservoir essentiel. On retrouve ainsi *Listeria monocytogenes* dans l'eau, le fumier, la paille et surtout dans l'ensilage d'herbe et de maïs, mais également sur les légumes (37).

La contamination par ingestion d'aliments pollués est le principal mode de transmission : l'ensilage pour les animaux, les légumes ou produits carnés souillés pour l'homme. Cependant cette voie d'infection est difficile à démontrer. En effet il est nécessaire de retrouver chez le malade et dans le contaminant le même lysotype et le même sérotype de *Listeria* (55).

La pénétration du germe dans l'organisme humain peut également se faire par voie aérienne. Mais ce mode de diffusion est très difficile à mettre en évidence (55).

## II-2-CONTAMINATION PAR LES ANIMAUX

La transmission à l'homme par un animal peut se produire soit de manière directe par contact cutanéomuqueux, soit de façon indirecte par ingestion de produits alimentaires d'origine animale (viande, lait, œufs).

La contamination directe reste une exception : on retrouve la notion de contact animal dans 7 % des cas.

Les animaux responsables sont nombreux : animaux domestiques (ovins, bovins, chats, chiens, oiseaux...) et animaux sauvages. Le germe est retrouvé dans les matières fécales, les plumes de volailles ou les excréments génitaux. Cependant, on n'a pas pu établir de liens directs entre les foyers animaux et humains (55).

Les hommes exposés professionnellement ne semblent pas être plus contaminés que les autres. L'apparition d'une épidémie ne semble pas liée géographiquement à un foyer listérien animal.

### II-3-CONTAMINATION INTER-ANIMALE

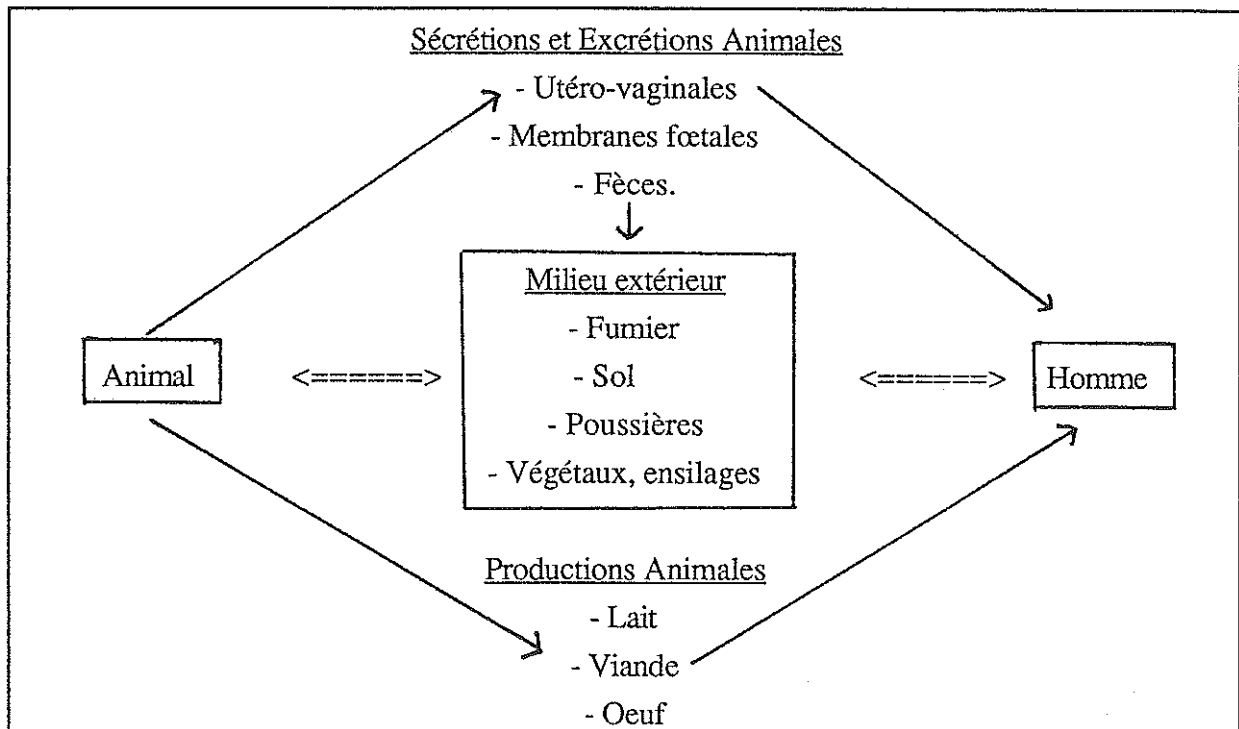
L'épidémiologie de la maladie chez l'animal n'est pas mieux connue que chez l'homme. On n'a pas mis en évidence de relation entre les cas d'avortements et les cas d'encéphalites. Ces deux formes cliniques n'apparaissent pas dans un même troupeau au même moment. On ignore ce qui détermine l'apparition de telle ou telle forme clinique.

Cependant il faut noter une certaine saisonnalité : la listériose des bovins et des ovins se déclare principalement en hiver avec une fréquence maximale à la fin de celui-ci entre février et avril (32).

Un stress tel qu'une vaccination ou un déséquilibre nutritionnel chez les animaux, une antibiothérapie, un cancer ou un traitement immunosuppresseur peuvent déclencher la maladie.

### II-4-CONTAMINATION INTER-HUMAINE ET AUTO-CONTAMINATION

La contamination de l'homme peut être indirecte ou directe dans le cas du nouveau-né.

\* Mode indirect (55)Tableau 4 : contamination indirecte

Il a été démontré que *Listeria monocytogenes* était présente dans 20 % des échantillons de selles humaines. Cette forte proportion justifie le rôle des porteurs sains dans l'épidémiologie. Celui-ci pollue le milieu extérieur. La diffusion pourrait alors se faire de façon endogène à l'occasion d'une baisse de l'immunité. En dehors du cas particulier de la transmission congénitale mère-enfant, la contamination inter-humaine n'a pas pu être démontrée sauf dans quelques cas très isolés.

Dans la forme méningée de l'adulte, la diffusion de la bactérie se ferait soit par voie hématogène qui permettrait à la bactérie d'atteindre l'encéphale et les méninges, soit par la voie lymphatique soit par une diffusion de la bactérie le long des gaines nerveuses.

Chez l'homme la listériose touche surtout les sujets de plus de 50 ans avec une prédominance pour les hommes et les sujets immuno-déprimés (55).

\* Mode direct

Il s'agit de la contamination du nouveau-né. Comme nous l'avons vu dans le I-2-2-a, l'enfant est contaminé le plus souvent *in utero*, plus rarement au moment de l'accouchement.

La listériose est une affection commune à l'homme et à l'animal. Cette maladie représente un problème économique certain pour les éleveurs.

Elle est responsable également de pathologies graves chez l'homme.

### III-ISOLEMENT DES *LISTERIA* DANS LES ALIMENTS

Plusieurs épidémies dans le monde ont modifié les idées sur l'épidémiologie.

#### III-1-EPIDEMIES D'ORIGINE ALIMENTAIRE

Au niveau international, il existe peu d'exemple où la relation aliments-listériose a été prouvée.

##### III-1-1-Aux Etats-Unis (6-43)

Linnan et ses collaborateurs ont rapporté une épidémie à *Listeria* en Californie pendant le premier semestre de 1985. Il y a eu 142 cas de listériose dont 60 morts en comptant la mortalité *in utero*. L'enquête épidémiologique a démontré que 86 % des malades avaient consommé un fromage mexicain, d'où a été isolée une souche de *Listeria*. Pour augmenter le goût du fromage, du lait cru non pasteurisé avait été ajouté.

On a retrouvé dans ces fromages des bactéries ayant le même sérotype que celui isolé de l'épidémie. Il s'agissait du sérotype 4b de *Listeria monocytogenes* dont les 3/4 des 87 souches avaient été sérotypés par le Dr Audurier.

##### III-1-2-En Suisse (6)

Ce sont les épidémies qui ont eu le plus de retentissement.

Entre 1983 et 1987, 113 personnes ont été atteintes de listérioses (dont 31 cas mortels). 80 % de bactéries isolées avaient le même lysotype et appartenaient au sérotype 4 b de *Listeria monocytogenes*.



Les enquêtes épidémiologiques ont déterminé une origine commune : le vacherin Mont d'or Suisse, produit dans le Canton de Vaud.

A la suite de ces épidémies, de nombreux contrôles ont prouvé que certaines catégories de fromages contenaient plus de *Listeria* que d'autres, en particulier les fromages à pâtes molles comme le Brie en France.

### III- 1-3-Autres épidémies

A Angers, entre 1975 et 1976 une augmentation des cas de listériose dans les services de pédiatrie a attiré l'attention des épidémiologistes (38).

Au Canada, en 1981, une salade de choux conservée à + 4°C a été à l'origine d'une épidémie à *Listeria*. Sur 31 souches, 28 avaient le même lysotype (6-78-68).

Ainsi ces 15 dernières années l'épidémiologie des listérioses a pris une allure nouvelle. La démonstration de l'origine alimentaire des infections à *Listeria* ne fait plus aucun doute. C'est pourquoi les différents organismes sanitaires internationaux préconisent la nécessité de rechercher ces bactéries dans les aliments.

Les *Listeria monocytogenes* de sérotype 4b représentent les 2/3 des souches isolées en clinique humaine. Or le C.N.R.L. (Centre National de Référence des *Listeria*) a montré qu'il existait une répartition différente des sérovars entre les souches d'origine humaine et celles d'origine alimentaire. C'est pourquoi dans notre étude expérimentale nous tenterons d'expliquer scientifiquement la virulence des différentes souches d'origine alimentaire.

## III-2-METHODE DE RECHERCHE DES *LISTERIA* DANS L'ALIMENTATION

### III-2-1-Enrichissement au froid (53)

Cette méthode est encore utilisée pour une recherche et un isolement à partir des viandes et des produits de charcuterie.

Elle se déroule en 4 étapes :

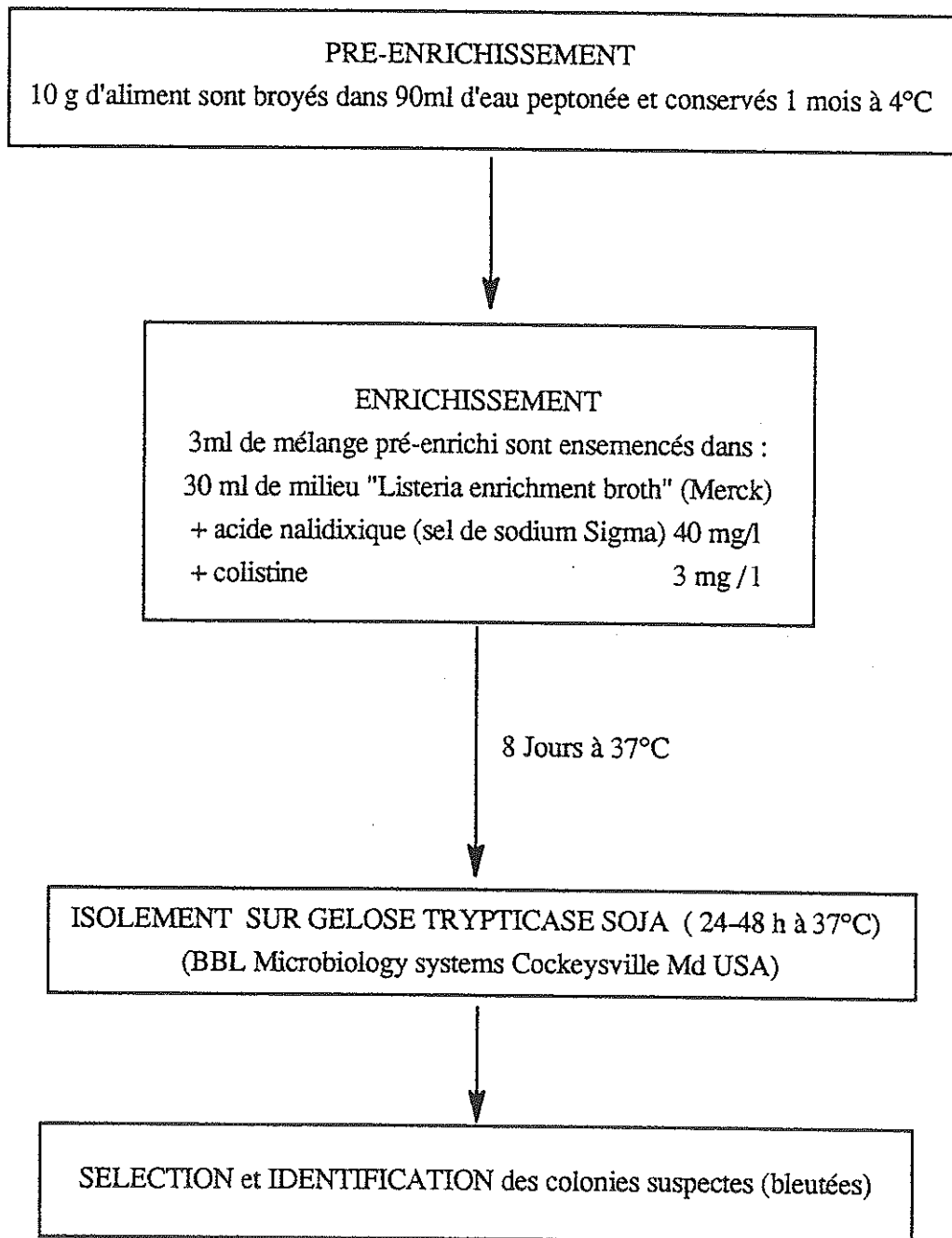
- pré-enrichissement
- enrichissement
- isolement
- sélection et identification des colonies.

Lorsqu'il s'agit de carcasses, on frotte la surface à examiner à l'aide d'un écouvillon stérile que l'on introduit ensuite dans l'eau peptonée tamponnée.

Cette technique possède des inconvénients. Elle est longue : le résultat n'est connu qu'un mois après le prélèvement. Elle ne permet pas une quantification de bactéries.

Tableau. 5 : Recherche des *Listeria* après enrichissement au froid

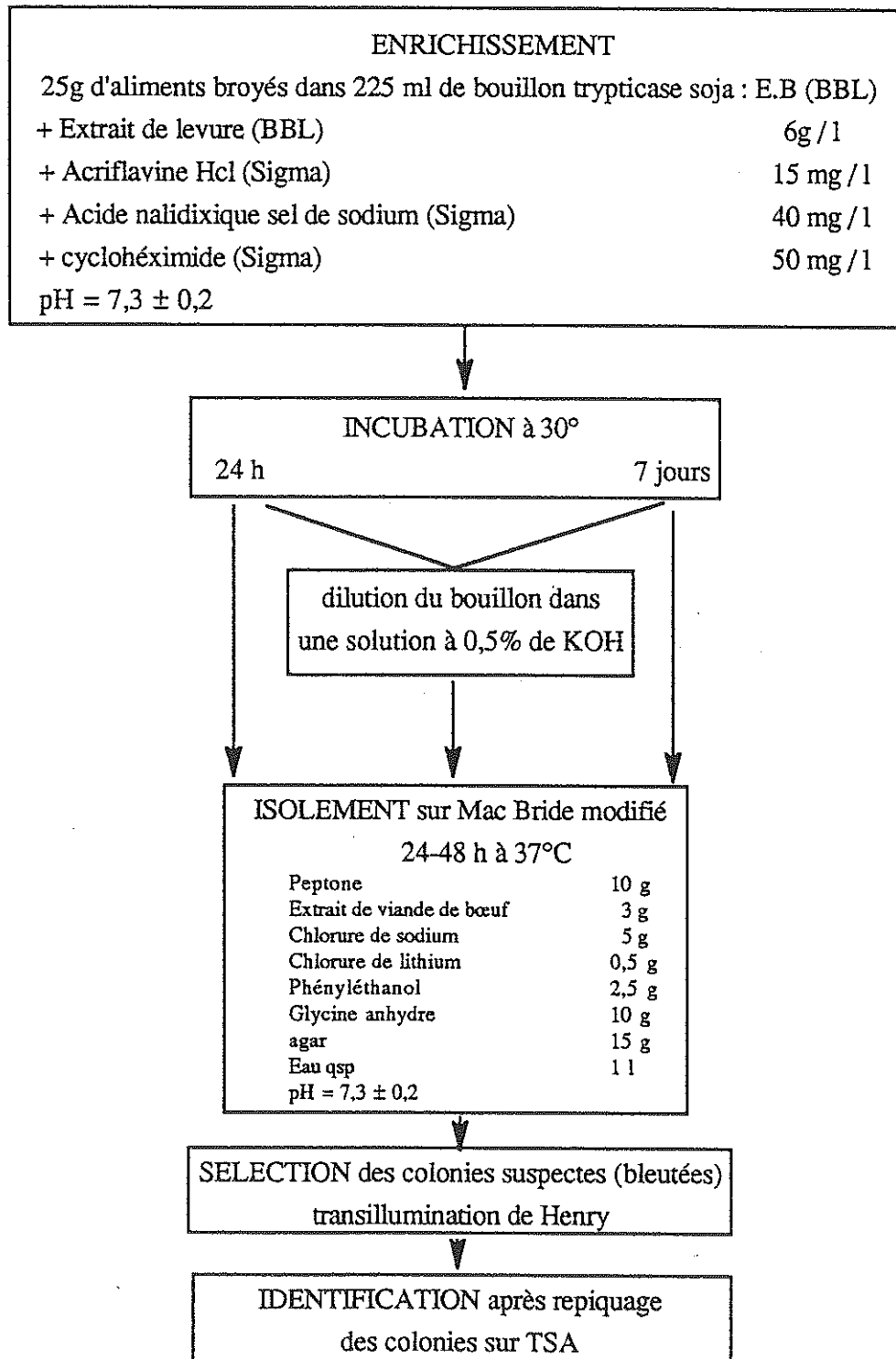
La *Listeria* est une bactérie psychrophile. L'enrichissement à 4°C durant un mois permet la croissance de ce germe et d'inhiber celle des autres germes présents dans l'échantillon à analyser.



## III-2-2-Protocole FDA (6-50)

Tableau. 6 : Recherche de *Listeria* selon le protocole FDA

L'utilisation d'antibiotiques élimine un grand nombre de bactéries et permet un isolement optimisé des *Listeria*.



La France ainsi que la C.E.E. a retenu le protocole d'analyse de la Food and Drug Administration (FDA). Il permet de détecter en quelques jours la présence ou l'absence de *Listeria monocytogenes*, mais elle n'autorise aucune quantification.

L'échantillon est placé dans un milieu d'enrichissement contenant des substances comme l'acide nalidixique et les cycloheximides qui inhibent la flore autre que *Listeria*.

La norme FDA prend en considération l'absence de bactérie dans 25 g de produit. Cette méthode possède toutefois des limites. Si le nombre de germe de départ est important, l'isolement des *Listeria* en 10 jours est facile. Par contre, s'il est faible, cette recherche peut être longue.

C'est pourquoi les professionnels de l'agro-alimentaire procèdent à des contrôles régulier des échantillons après conditionnement et après quelques semaines de stockages à + 4 °C.

On constate donc qu'en France, l'analyse affirme ou nie la présence du germe, mais il n'y a pas de dénombrement.

III-2-3-Protocole USDA. FSIS

**Isolement et Identification de *Listeria monocytogenes* dans les viandes transformées et produits à base de volaille**

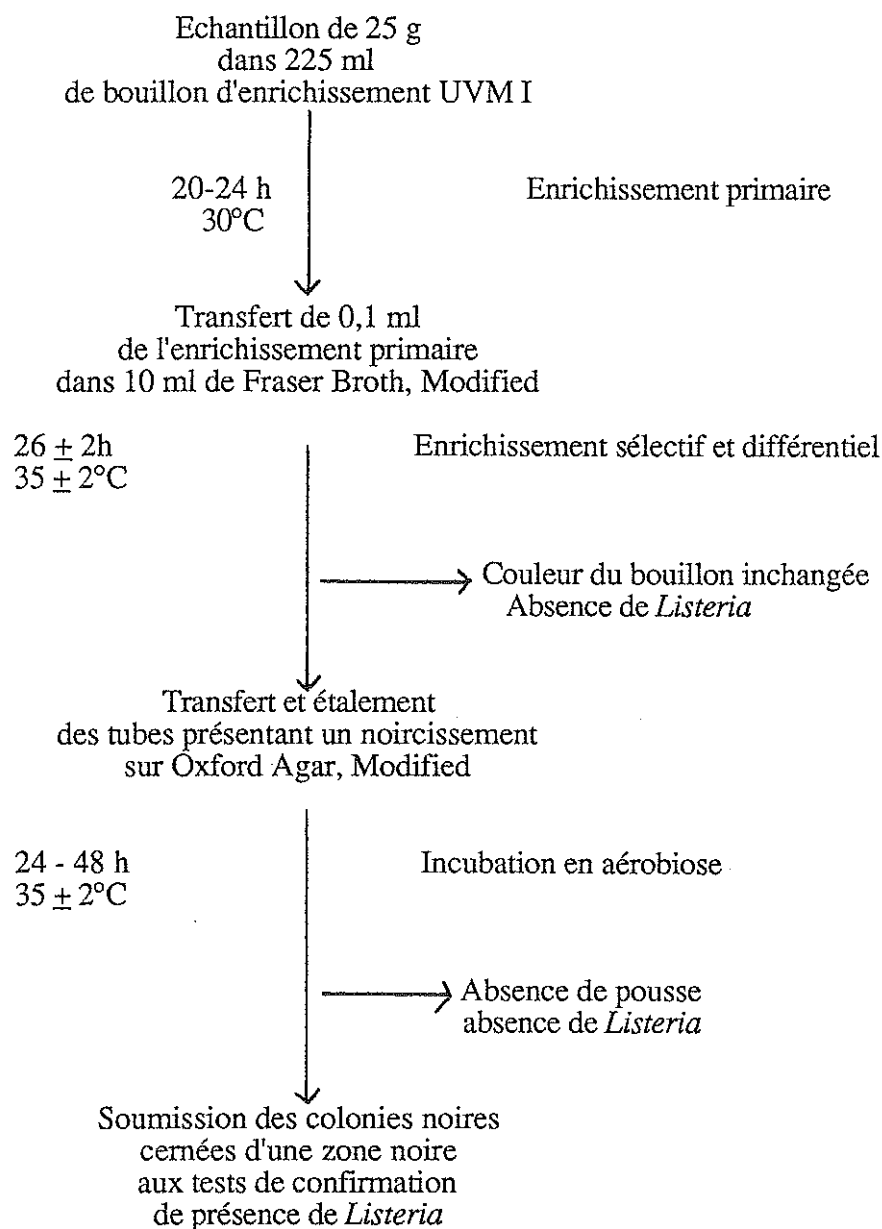


Tableau 7 : Protocole U.S.D.A. F.S.I.S.

(United States Departement of Agriculture-Food Safety and Inspection Service)

### III-2-4-Anticorps monoclonaux

Tableaux n° 8, 9 et 10

Farber et ses collaborateurs ont utilisé cette méthode avec des résultats satisfaisants à partir de fromages et de lait naturellement contaminés.

Cette méthode se fait grâce à des kits comme Transia utilisant la technique ELISA.

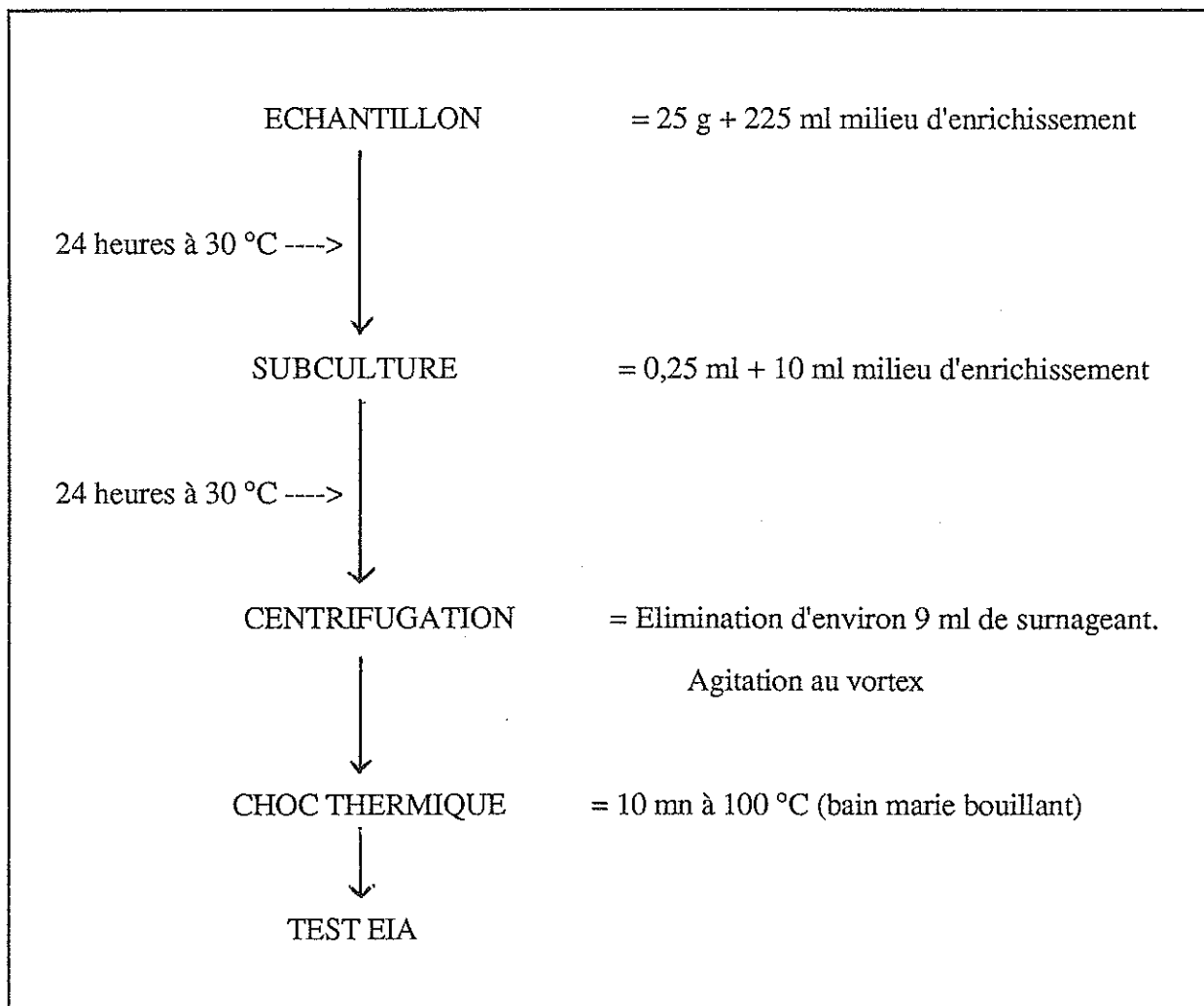


Tableau 8 : Nouveau Protocole d'utilisation du test de de détection des *Listeria*  
dans le cas des fromages

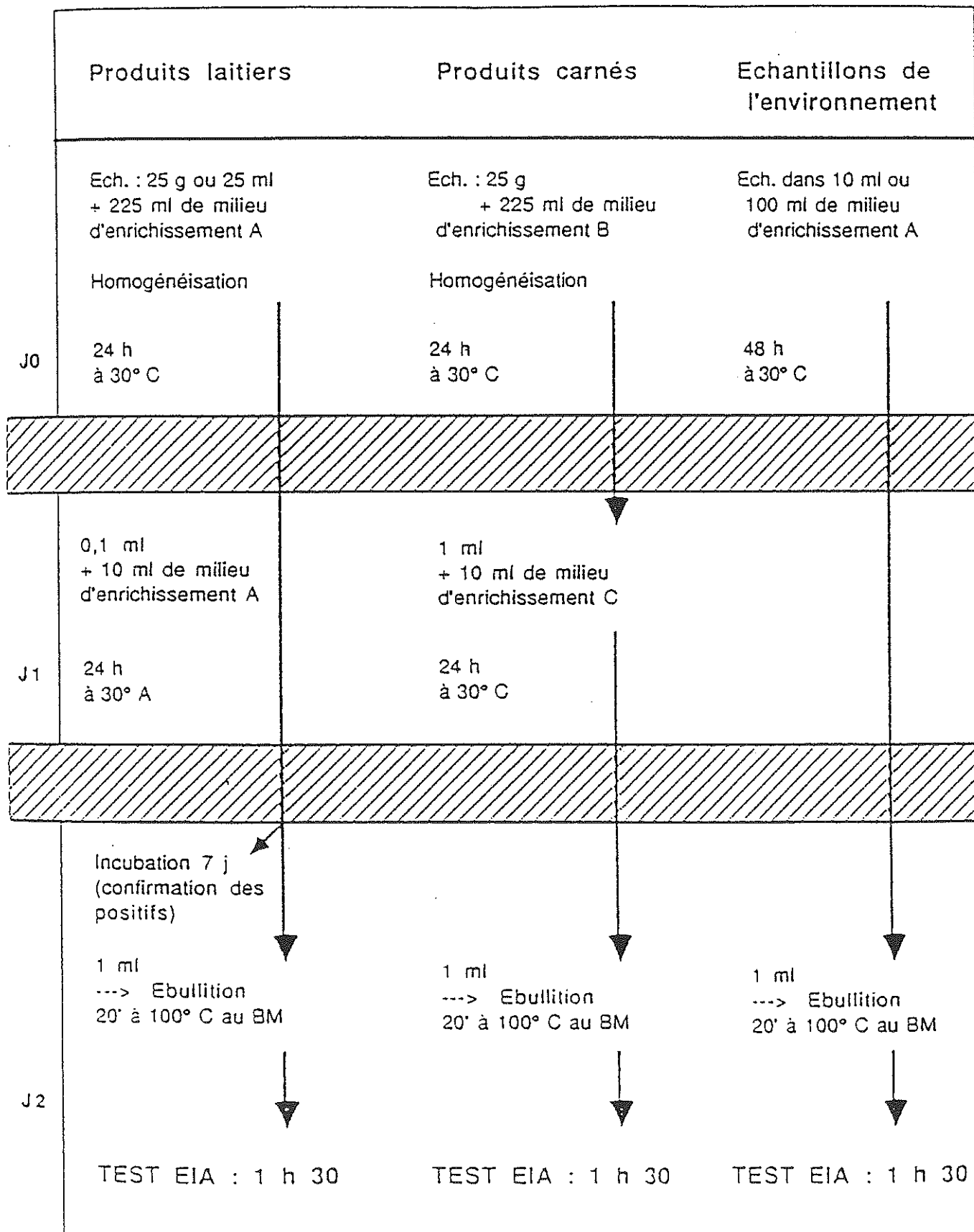
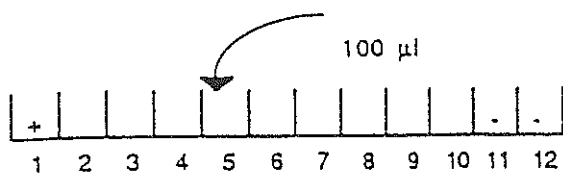


Tableau 9 : Préparation de l'échantillon à tester

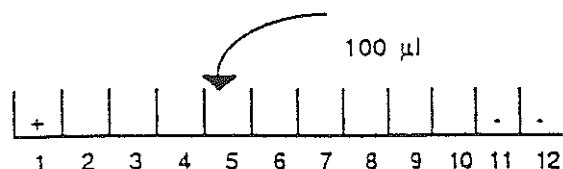


## 1 - REPARTITION DES ECHANTILLONS



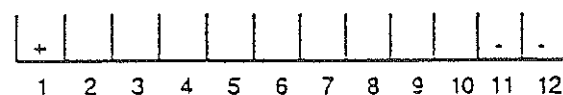
- Distribuer 100 µl/échantillon
- Prévoir : \* un témoin positif : 100 µl
- \* deux témoins négatifs : 100 µl

## 2 - ADDITION DU CONJUGUE



- Ajouter 100 µl de conjugué dans chacun des puits

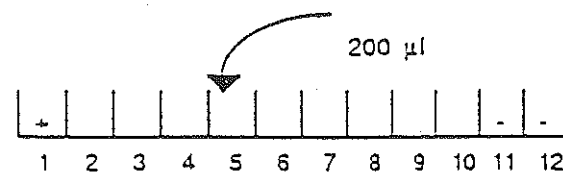
## 3 - INCUBATION : REACTION Ac1 - Ag - Ac2



- Recouvrir chaque barrette d'un film autocollant
- Mélanger en tapotant doucement

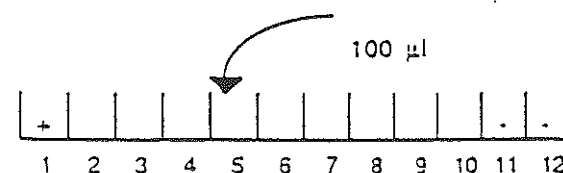
----> INCUBATION 1 H A 37° C

## 4 - SIX LAVAGES SUCCESSIFS



- 200 µl / puits / lavage

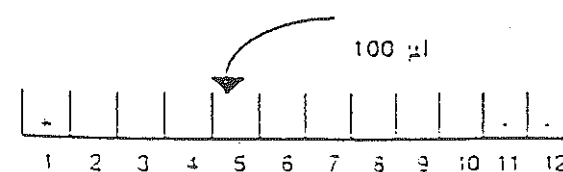
## 5 - ADDITION DU SUBSTRAT



- Distribuer 100 µl de substrat par puits

-----> INCUBATION 30' A TEMPERATURE AMBIANTE

## 6 - ARRET DE LA REACTION



- Ajouter 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puits

-----> LECTURE A 450 nm

- Blanc sur l'air
- DO Témoin + : TP > 0,70
- DO Témoin - : TN1 et TN2 < 0,30
- Seuil de positivité :  $\frac{TN1 \text{ et } TN2}{2} = 0,150$

2

### III-2-5-La sonde (6-61)

L'institut Pasteur a séquencé le gène de la toxine de *Listeria monocytogenes*.

Cette exotoxine joue un rôle très important dans la virulence de la bactérie, il s'agit de l'hémolysine. La mise au point d'une sonde moléculaire à ADN permet une analyse rapide et spécifique des aliments.

Cependant, il faut vérifier que ce gène n'existe pas chez les autres espèces de *Listeria*. En effet, le progrès réside dans le fait de diagnostiquer *Listeria monocytogenes* (seule espèce vraiment pathogène) à l'exception de toute autre.

Il existe déjà sur le marché une sonde à ADN fabriquée par Gen-Track Systems, qui détecte la présence des *Listeria* mais qui n'est pas très spécifique.

L'institut Pasteur a commercialisé également une sonde.

## IV-BACTERIOLOGIE

### IV-1-MORPHOLOGIE

Les *Listeria* sont de petits bacilles courts de 0,5 µm de large par 2 µm de long, Gram +, asporulés, aux extrémités arrondies (30-42). Ils sont ciliés et possèdent 1 à 4 flagelles d'implantation périclicale. Leur mobilité s'exprime surtout à une température de 20-25 °C. Elle est le plus souvent négative à 37 °C. La détermination de la mobilité est caractéristique.

Ils se disposent de façon caractéristique en palissade. Dans certains cas exceptionnels, ils peuvent devenir plus trapus et prendre mal la coloration de Gram.

Morphologie	Genre	Catalase	Type respiratoire	Mobilité*	Habitat
Bacilles droits	Lactobacillus	-	AAF**	-	Produits fermentés : non pathogène
Bacilles fins souvent en filaments	Erysipelothrix	-	AAF	-	Rouget du porc : pathogène
Bacilles fins souvent en filaments	Brochothrix	+	AAF	-	Produits carnés : non pathogène
Bacilles courts souvent en courte chaînettes et filaments	Listeria	+	AAF	+(20-25°)	Saprophyte : pathogène chez l'homme et l'animal
Bacilles en chaînettes, coccoïdes dans les cultures âgées	Kurthia	+	AS***	+	Intestin des animaux de la ferme Produits carnés : non pathogène
Bacilles courts en chaînette	Caryophanon	+	AS	+	Intestin de vache : non pathogène
Bacilles courts souvent par paires	Renibacterium	+	AS	-	Pathogène du poisson

\* : ciliature péritriche

AAF\*\* : aéro-anaérobie facultatif

AS\*\*\* : aérobie strict

Tableau 11 : Les sept genres composant le groupe des bacilles réguliers à Gram positif (58)

## IV-2-CULTURE

### IV-2-1-Condition de culture

*Listeria* est un germe aérobie-anaérobie facultatif, c'est à dire micro-aérophile. Il se développe mieux quand la tension en oxygène est réduite. C'est pourquoi les *Listeria* persistent dans les fumaisons (30).

#### a-Température (23-42-30-6)

Ce germe se multiplie à une température de 1 à 45°C mais de façon optimale entre 30 - 37°C, et surtout en milieu humide. Ils se développe encore à 3°C, température de conservation des aliments, et survit à la congélation.

La croissance à + 4°C est particulièrement utilisée comme méthode d'enrichissement. C'est un germe psychrophile. Il est inactivé à une température de 62°C mais résiste à un chauffage de 55°C pendant 30 minutes. Donc la pasteurisation classique (72°C pendant 15 s.) est suffisante pour tuer  $10^{15}$  *Listeria monocytogenes* par ml de lait.

#### b-Le pH

Le pH maximal de croissance est proche de la neutralité : 7,2 -7,6. Mais les pH entre 5,6 et 9,6 sont bien tolérés. Les *Listeria* se multiplient dans les milieux acides jusqu'à pH 5,6 et survivent à des pH encore plus bas mais aussi en milieux basiques.

#### c-Résistance aux conditions défavorables (71)

Cette bactérie présente une grande résistance aux agents physico-chimiques. Elle supporte des salinités très élevées (jusqu'à 10 %). Elle résiste également à certaines conditions hostiles :

- bile à 40 %
- tellurite de K (0,5 %)
- ac. nalidixique, colimycine, actidione

- certains colorants à des concentrations déterminées (bleu de méthylène, trypaflavine, acridine).

Ces résistances sont mises à profit pour isoler le germe à partir des milieux sélectifs.

#### IV-2-2-Aspect des cultures (23-42)

- en milieu liquide :

un trouble uniforme se développe en 1 à 2 jours.

- en milieu solide :

L'aspect des colonies est variable :

- . sur gélose nutritive : on obtient des colonies fines translucides. Ces bacilles donnent sur gélose trypticase soja des colonies de 1 à 2 mm de diamètre, bleutées en translumination oblique. Elles sont jaunes sur *Listeria* sélective agar (LSA), ou noires sur gélose contenant du tellurite.

- . sur gélose au sang : les colonies sont opalescentes et entourées d'une zone étroite d'hémolysine (variable selon les souches).

### IV-3-CARACTERES BIOCHIMIQUES

#### IV-3-1-Caractères généraux (23-60-72)

Caractères communs à toutes les *Listeria* :

- . Bacille Gram +
- . Catalase +
- . Mobile -

- . Esculine +
- . Urée -
- . Rouge de Méthyl+
- . Voges Proskauer +
- . Oxydase -
  
- . Glucose +
- . Maltose +
- . indole -
  
- . Gaz -
  
- . Glucose )
- . Saccharose ) +
- . Lactose )
  
- . H<sub>2</sub>S -
- . Gélatine -

#### IV-3-2-Caractères différentiels (73-66-23-65)

On obtient des réactions variables avec certains substrats glucidiques.

Ces différences sont utilisées dans les galeries de différenciation biochimique des souches de *Listeria*. Ceci permet un diagnostic différentiel entre les *Listeria*.

Il existe un kit Api *Listeria* pour différencier les espèces.

	Groupe génomique	Sérovars	Hémolyse	Camp test <i>S. auresu</i>	Camp test <i>R. equi</i>	D* Xylose	L** rhamose	æ méthyl** D-mannoside	Réduction nitrate en nitrite	Mannitol	Pouvoir pathogène	Habitat
L. monocytogenes	1	1/2 a, b, c, 3a, b, c, 4a, ab, b, c, d, e 7	+	+	-	-	+	+	-	-	+	eaux végétaux selles de l'homme et des animaux
L. Ivanovii	2	5	+	-	+	+	-	-	-	-	+ avortement chez le mouton	portage chez l'homme et les animaux
L. Innocua	3	6a, b 4ab S.nd	-	-	-	-	d	+	-	-	-	eaux végétaux selles de l'homme et des animaux
L. Welshimeri	4	6a, b	-	-	-	+	d	+	-	-	-	végétaux en décomposition
L. Seeligeri	5	1/2b 4c, c, 6b S.nd	+	+	-	+	-	-	-	-	-	environnement -aliments- intestin des animaux
L. Grayi	HG	composition antigénique identique et différentes des autres Listeria	-	-	-	-	-	n.d	-	+	-	féces des chinchillas habitat naturel inconnu
L. Murrayl	HG		-	-	-	-	-	n.d	+	+	-	sol et végétaux

\* en 1 à 4 jours

\*\* en 1 à 2 jours

HG hors groupe

S.nd Sérotype non déterminé

Tableau 12 : diagnostic différentiel des espèces du genre *Listeria* (58)

#### IV-4-RECHERCHE DE L'HEMOLYSINE

Sur gelose au sang certaines souches apparaissent hémolytiques. Ce phénomène est selon certain auteurs associé à la virulence. Toutes les souches de *Listeria* non pathogènes sont expérimentalement non hémolytiques (excepté *Listeria seeligeri*).

Les souches pathogènes sont douées d'une activité hémolytique à des taux variables (12).

##### IV-4-1-Nature de l'hémolyse

L'hémolyse est la substance excrétée la mieux connue. Elle est soluble, filtrable, active sur les globules rouges de différentes espèces (hommes, moutons, chevaux, lapins). Elle entraîne une hémolyse totale ou partielle, selon les souches (46-31).

Il s'agit d'une hémolysine thioldépendante, active à pH acide, capable de se fixer au cholestérol des membranes cellulaires. Elle est d'autant plus sécrétée par la bactérie que la teneur en fer du milieu est faible. Ces propriétés expliquent en très grande partie le rôle prépondérant joué par l'hémolysine dans la cascade d'évènements conduisant à la lyse du macrophage suite à la multiplication intra-cellulaire de la bactérie (61-4).

L'hémolysine est appelée listériolysine O codé par le gène hlyA.



#### IV-4-2-Recherche de l'hémolysine (72)

La recherche de l'hémolysine se fait par le CAMP-test. Ce test est une méthode facile et fiable d'identification.

Il est réalisé sur gelose au sang additionnée de 5 % d'hématies de mouton lavées, et remises en suspension dans un volume d'eau physiologique à 8,5 % égal au volume de sang initial.

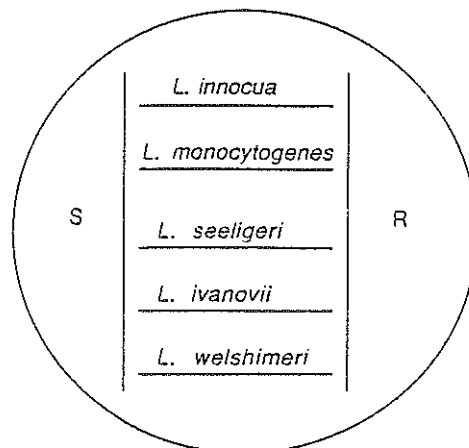
On obtient des zones d'éclaircissement (12). Le CAMP-test avec *Staphylococcus aureus* est préconisé par Brzin et Seeliger pour une distinction entre souches hémolytiques : *L.monocytogenes*, *L. ivanovii* et *L.seeligeri* et non hémolytiques (7-51-54-65).

*Listeria monocytogenes* donne une hémolyse discrète avec *Staphylococcus aureus* (65).

Le CAMP-test avec *Rhodococcus* a été utilisé par Hunter et Ivanov pour l'identification de *Listeria ivanovii* serovar 5 (65-43).

Lors de cette épreuve les autres espèces demeurent non hémolytiques.

L'épreuve du CAMP-test permet la différenciation entre *Listeria ivanovii* d'une part et *Listeria monocytogenes* d'autre part, de même on peut distinguer les souches de *Listeria seeligeri* faiblement hémolytiques et *Listeria welshimeri* non hémolytiques.



#### IV-5-CARACTERES ANTIGENIQUES : SEROTYPES

L'étude des antigènes somatiques (antigène O) et des antigènes flagellaires (antigène H) a permis de diviser le genre *Listeria* en 5 groupes génomiques (57, 58, 63). Ces groupes correspondent aux différentes espèces : *L.monocytogenes*, *L.ivanovii*, *L.innocua*, *L.welshimeri* et *L.seeligeri*.

*Listeria grayi* et *Listeria murrayi* n'appartiennent à aucun de ces groupes (62-63).

Les acides téichoïques de paroi représentent les antigènes somatiques. Ils sont actuellement au nombre de 15, numérotés de I à XV. Les flagelles donnent à la bactérie une propriété antigénique H pour lesquels 5 types : A, B, C, D, E ont été individualisés. La combinaison de deux types antigéniques O et H définissent le sérovar complet de la souche (73-58).

On distingue 16 types sérologiques : 1/2 a, 1/2 b, 1/2 c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4 b, 4 c, 4 d, 4 e, 5, 6 a, 6 b, 7

Certains sont spécifiques d'une espèce donnée : le sérovar 5 est spécifique de *Listeria ivanovii*.(58).

La plupart des souches isolées en pathologie se répartissent entre les sérotypes 4b et 1/2. Il n'existe pas de rapport entre un sérotype particulier et une origine géographique ou animale (74-76-69-18).

#### IV-6-CARACTERES LYSOTYPIQUES (61)

La lysotypie est une méthode mise au point par Audurier et coll. en 1977 qui permet une classification plus précise des *Listeria*.

Elle consiste à soumettre les bactéries à l'action d'une série de virus bactériophages. Selon sa configuration génétique, la souche de *Listeria* est sensible ou non à certains bactériophages.

Ces différences de sensibilité permettent de répartir les souches en plusieurs classes appelées lysotypes. 20 bactériophages différents sont actuellement utilisés pour le lysotypage chez *Listeria monocytogenes* (3-59).

#### IV-7-ISOENZYME

Récemment, l'étude de la mobilité électrophorétique des isoenzymes de *Listeria monocytogenes* a également permis la discrimination de groupes de souches au sein d'un même sérovar. Parmi les souches analysées, il est intéressant de remarquer que celles responsables d'épidémie appartiennent au même électrophorétype (61).

#### IV-8-CATALASE ET SUPEROXYDASE-DISMUTASE

La catalase et la superoxydase-dismutase interviennent en assurant la destruction des peroxydes et superoxydes élaborés par le macrophage. Elles pourraient donc protéger la bactérie contre l'action de mécanismes oxydatifs des macrophages et des polynucléaires qui succèdent à l'entrée des bactéries dans les cellules (61-24-28).

## V-RÔLE ÉTIOLOGIQUE DES ALIMENTS

Nous avons vu que dans les souches originelles de pathologie humaine, le sérovar 4 b prédomine largement sur le sérovar 1/2 (1/2 a, 1/2 b et 1/2 c). La situation est différente en agroalimentaire (54).

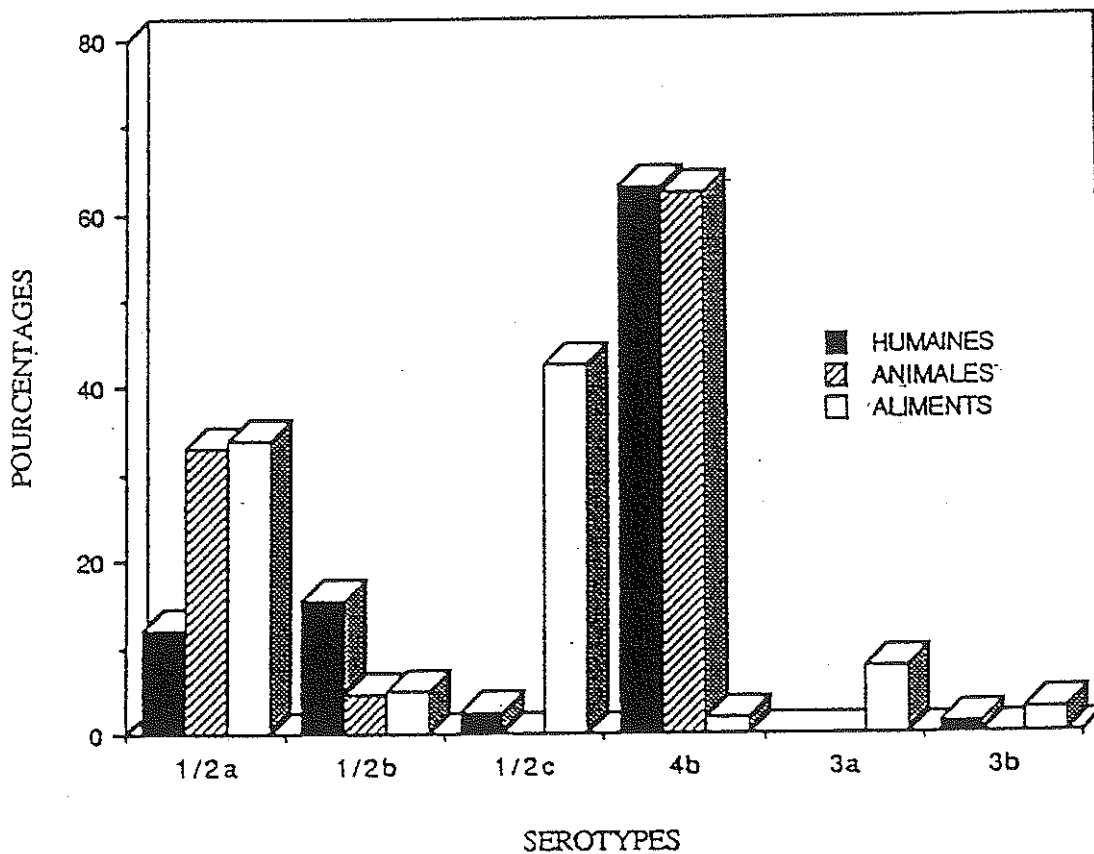


Figure 13 : Fréquence des différents sérotypes de *Listeria monocytogenes* en pathologie humaine, animale et dans les aliments (8)

### V-1-L'ENSILAGE

L'augmentation des listérioses dans les élevages intensifs a poussé le monde scientifique à rechercher le rôle joué par l'alimentation des animaux par l'ensilage.

L'arrêt de l'utilisation de ce type de régime alimentaire a correspondu, le plus souvent, avec l'arrêt de l'épidémie.

Une étude faite au Laboratoire Départemental de la Haute-Vienne a montré que l'ensilage contient non seulement des *Listeria monocytogenes* mais également des *Listeria innocua* et *Listeria seeligeri*. Mais seule *Listeria monocytogenes* a été responsable de pathologie (52).

Le germe est présent surtout dans les ensilage de mauvaise qualité c'est à dire ceux ayant un pH supérieur à 5 ; ceci correspond à un milieu de croissance favorable au développement de ces bactéries.

pH de prélèvements d'ensilage	%
3,6 à 4	35,5
4,5 à 5	56,3
5,1 à 8,6	86,7

Tableau 14 : Fréquence d'isolement des *Listeria* dans les ensilages selon le pH.

*Listeria* se développe préférentiellement à la périphérie de l'ensilage, où le pH est propice. Les ensilages sous forme de grosses balles entourées d'une bâche en polythène perméable à l'O<sub>2</sub> représentent un danger particulièrement important car la surface y est beaucoup plus grande que celle des ensilages classiques de même volume.

De plus, l'ensilage joue un second rôle dans l'apparition de la maladie : il facilite l'implantation d'une immuno-dépression chez l'animal (23-25-49).

Le milieu extérieur représente un réservoir important de *Listeria*, en particulier sur les végétaux : ainsi l'herbe peut contaminer l'ensilage.

## V-2-LE LAIT

Le lait peut contenir diverses espèces de bactéries pathogènes comme *Listeria* (21-29-44).

D'après de récentes estimations effectuées au U.S.A. (44), au Canada (20), en Hollande (5), en Espagne (17), il apparaît que 1 à 45 % des échantillons de lait cru sont contaminés par *Listeria monocytogenes*.

L'origine de la contamination peut être double :

- excrétion du germe par la vache, suite à un mammite patente ;
- contamination par l'environnement (laiterie, ou lors du conditionnement).

Le ministère de l'Agriculture a mis en place des plans de surveillance du lait cru utilisé comme matière première. Il a été prouvé qu'une pasteurisation correcte (quelques secondes à 72°C) détruit la bactérie (79).

## V-3-PRODUITS LAITIERS

La dissémination des *Listeria* dans les produits dérivés du lait existe en particulier dans les fromages.

Ainsi en 1986, le laboratoire de Nantes a sérotypé 752 souches de *Listeria* provenant d'aliments destinés à la consommation humaine. Il y avait 491 souches de *Listeria monocytogenes*, dont 370 provenaient de produits laitiers. Parmi ces 491 souches 13 % correspondaient au serovar 4 b alors que celui-ci représente 69 % des sérovares en pathologie humaine (62-64-70).

De ces résultats publiés, il ressort que 0,5 % à 10 % des fromages sont porteurs de *Listeria monocytogenes* (5-9-19-56-77). Ce sont les fromages à pâte molle qui sont les plus contaminés.

La compétition bactérienne serait une solution possible pour réduire ou éliminer la présence des *Listeria*. Cette voie de recherche consiste à introduire dans les fromages une flore antagoniste des *Listeria*. Après la pasteurisation, on réensemence le produit laitier pour occuper le milieu au dépend de celles-ci.

#### V-4-PRODUITS CARNES

L'alimentation des animaux par l'ensilage n'est pas la seule source de la contamination des viandes par les *Listeria*.

On s'est rendu compte que l'environnement était une autre voie de propagation des germes.

De nombreuses études ont été réalisées sur les carcasses juste après l'abattage. Le travail de Cottin a montré que sur 514 carcasses étudiées aucun échantillon de viande n'était contaminé mais que la rate et les poumons pouvaient l'être (14).

Une souche de *Listeria monocytogenes* a été isolée par le Laboratoire Départemental d'Analyse et de Recherche de Limoges à la surface d'une carcasse de porc par écouvillonnage (30).

Une étude réalisée aux Etats-Unis dans 41 usines de produits carnés a mis en évidence les résultats suivants :



<u>Lieu de prélèvements</u>	<u>% de positif</u>
sols	37
écoulements	37
matériel de nettoyage	24
zone de lavage	24
éplucheur de saucisses	22
surfaces au contact des aliments	20
condensation	7
murs et plafonds	5
air comprimé	4

Au regard de ce tableau, il apparaît que *Listeria* est présente dans plus d'un tiers des échantillons prélevés sur les sols et les écoulements d'eau et qu'elle est retrouvée sur plus de 20 % des surfaces de travail. Ceci confirme les risques de contamination des produits finis (30).

Il existe donc une contamination à l'abattoir mais peu massive. Elle se fait au moment du contact entre la viande et les organes sur les surfaces souillées.

Les méthodes de recherche ont un seuil de sensibilité qui peut se révéler insuffisant. De plus, il faut réaliser un prélèvement non seulement en surface mais aussi en profondeur (30-54).

Une étude sur la recherche systématique de *Listeria* dans différents types d'aliments destinés à la consommation humaine a été effectuée au Laboratoire Départemental de Haute-Vienne.

(cf tableau 15)

Origine des souches	Nombre de souches	<i>L. monocytogenes</i>								<i>L. innocua</i>			<i>L. welshimeri</i>		
		4b	1/2a	1/2b	1/2c	3a	3b	SND	6a	6b	SND	6a	6b	SND	
Steacks hachés	70		12		31				18	2	2		1	4	
Charcuterie à consommer en l'état	12		4	1	1			2	1		3				
Charcuterie à consommer après cuisson	25	1	6		4		1		5	2	4	1		1	
vlande ovine	49		4	1		2	3		7	25			5	2	
vlande porcine	90		7		6	6			3	55		1	5	7	
Polason	6	1	1					1	1	1				1	
Fromage (lait cru)	14			1				2	2	7	2				
Fromage (lait pasteurisé)	10		1	2	2					3	2				
Total	276	2	35	5	44	8	3	6	37	95	13	2	11	15	
Pourcentage par sérotype	100	0,7	12,7	1,8	16	2,9	1,1	2,2	13,4	34,4	4,7	0,7	4	5,4	
Pourcentage par espèce	100	37,3								52,6			10,1		

Tableau 15 : Répartition des souches sauvages de *Listeria* isolées d'aliments

(SND : sérotype non déterminé) (8)

Dans les produits de charcuterie et les steacks hachés, *Listeria monocytogenes* représente la majorité des souches contaminantes et en particulier les sérovars 1/2 a et 1/2 c.

La dissémination de ces bactéries serait assurée par le broyage et le malaxage des viandes. Les *Listeria* peuvent se multiplier dans les viandes hachées ayant une microflore banale (54).

Les viandes ovines et porcines sont contaminées principalement par *Listeria innocua*. Dans certains échantillons, il a été isolé deux espèces de *Listeria* :

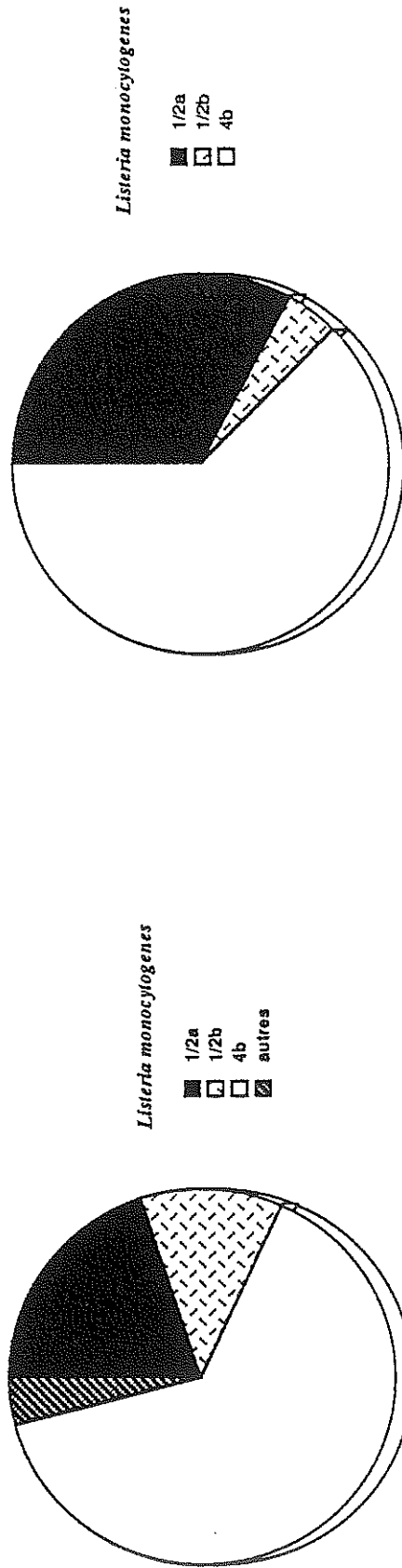
- *Listeria monocytogenes* + *Listeria innocua*
- *Listeria innocua* + *Listeria welshimeri*

La conservation des viandes à +4 °C est un facteur d'enrichissement. La chaleur, et donc la cuisson, élimine un grand nombre de *Listeria*. Les viandes de porc ou les charcuteries, consommées très cuites pour l'une ou chauffées à plus de 80 °C pour l'autre, sont moins dangereuses que des viandes bovines ou ovines consommées souvent peu cuites .

Les poissons n'échappent pas à cette contamination.

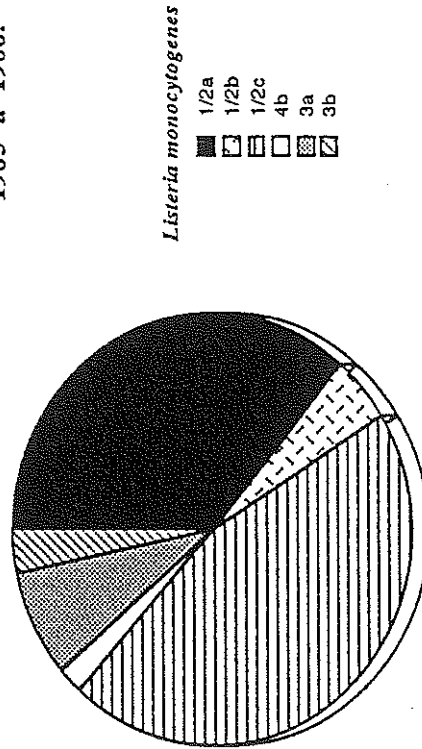
On constate donc que *Listeria innocua* représente 52,6 % des *Listeria* retrouvées en alimentation or cette espèce n'est pas pathogène. De plus *Listeria monocytogenes* serovar 1/2 a et 1/2 c sont les plus fréquemment rencontrées mais elles sont peu retrouvées en pathologie humaine ou animale.

(cf figure 16) (8).



Répartition des sérovars de 95 cas de listérioses animales répertoriées au laboratoire départementale de la Haute-Vienne de 1985 à 1988.

Répartition des sérovars des 416 cas de Listérioses humaines répertoriées en France en 1989 (Espaze et al B.E.H.,1991, 3,9-10).



Répartition des sérovars de 103 souches de *Listeria monocytogenes* isolées d'aliments au laboratoire départementale de la Haute-Vienne de 1984 à 1989.

Figure 16 : Répartition des sérotypes de *Listeria monocytogenes* en pathologie humaine, animale et dans les aliments.

Cette discordance dans la répartition des sérotypes en pathologie humaine et animale d'une part et en alimentaire d'autre part est intéressante du point de vue épidémiologique.

Parallèlement, la recherche de porteurs sains parmi le personnel de ces usines a montré à partir des coprocultures que 13,2 % étaient porteurs de *Listeria* et que 7,5 % hébergeaient dans leurs intestins *Listeria monocytogenes* dont une majorité du sérovar 1/2c.

Ce sérotypage étant très fréquemment rencontré dans les beefsteacks hachés, l'homme pourrait donc constituer un multiplicateur dangereux de ce germe.

Les souches de *Listeria monocytogenes* isolées en pathologie humaine appartiennent le plus souvent au sérotype 4 b. Ce sérotype n'a que rarement été retrouvé dans les viandes, fromages ou poissons. Dans les produits carnés les sérotypes 1/2 c et 1/2 a dominant. Cette discordance nous a invité à étudier la virulence de différentes espèces de *Listeria* et les différents sérovars de *Listeria monocytogenes*.

## V-5-PROPHYLAXIE

Ces différentes études montrent une évolution de l'épidémiologie listérienne durant les deux dernières décénies.

L'American Meat Institute a publié des recommandations concernant les mesures à mettre en œuvre pour limiter l'incidence de *Listeria monocytogenes* dans le produits carnés.

Les Bonnes Pratiques de fabrication améliorent la qualité bactériologique des données, en augmentant l'hygiène de production. Ces améliorations passent par la conception des locaux pour permettre un nettoyage des surfaces. Des procédures spéciales sont à envisager pour le personnel, telles que les vêtements de travail changés quotidiennement. La séparation du secteur sain et du secteur contaminé est un principe de base. Le respect de la chaîne du froid est aussi fondamental. Il faut une atmosphère la plus froide et la plus sèche possible. Les possibilités de multiplication aux températures de réfrigération font de *Listeria* un problème particulier de la chaîne alimentaire.

**DEUXIEME PARTIE :**  
**EXPERIMENTATION PERSONNELLE**

## INTRODUCTION

La littérature montre clairement que la listériose est d'origine alimentaire. A la suite de l'étude épidémiologique réalisée au Laboratoire Départemental de la Haute-Vienne de nombreuses souches sauvages ont été isolées de différents types d'aliment.

Nous avons sélectionné 18 souches appartenant à différentes espèces de *Listeria* et à différents sérovars de *Listeria monocytogenes*. Dans le but de reproduire une infection par la voie orale, nous avons choisi un modèle expérimental animal avec la souris Swiss alimentée et infectée *per os*.

De cette étude expérimentale, nous avons déterminé la virulence des souches *in vitro* avec la recherche de l'hémolysine et *in vivo* en mesurant leur pouvoir de colonisation sur les différents organes de la souris.

Nous développerons successivement :

- les matériels et méthodes utilisés
- nos résultats
- et nous discuterons dans une dernière partie l'intérêt de ces résultats.



## I-MATERIEL ET METHODE

### I-1-ORIGINE DES SOUCHES SAUVAGES

Nous avons choisi 5 espèces de *Listeria* réparties de la façon suivante :

- 4 sérotypes appartenant à *Listeria monocytogenes* :

4b, 1/2 b, 1/2 a, 1/2 c.

- 1 sérotype appartenant à *Listeria seeligeri*, un à *Listeria ivanovii*, un à *Listeria innocua* et un à *Listeria welshimeri*.

Sur les 18 souches sauvages que nous avons testées, certaines ont été isolées de pathologie animale, d'autres de produits alimentaires dont certains destinés à la consommation humaine.

Souches	Espèces	Sérovars a	Origines
31386	<i>Listeria monocytogenes</i>	4b	Chair de truite
362	<i>L. monocytogenes</i>	4b	Avorton ovin
24631	<i>L. monocytogenes</i>	1/2b	Côte d'agneau
23185	<i>L. monocytogenes</i>	1/2b	Fromage
3670	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	Steak haché surgelé
28607	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	Lait de vache
2143	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	Steak haché surgelé
27795	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	Steak haché surgelé
P1	<i>L. monocytogenes</i>	1/2c	Carcasse de porc
28423	<i>L. monocytogenes</i>	1/2c	Steak haché surgelé
94415	<i>L. ivanovii</i>	5	Cerveau d'agneau
94669	<i>L. ivanovii</i>	5	Avorton ovin
55009	<i>L. seeligeri</i>	3b	Eau
26033	<i>L. seeligeri</i>	1/2b	Laiterie
20878	<i>L. welshimeri</i>	6a	Echine de porc
21070	<i>L. welshimeri</i>	6b	Côte de porc
2138	<i>L. innocua</i>	6a	Steak haché surgelé
28866	<i>L. innocua</i>	6a	Steak haché surgelé

a ) Les sérovars des souches sauvages ont été déterminés au Centre National de Référence des *Listeria* (C.H.R Nantes)

La souche 28607 du sérotype 1/2 a a retenu tout particulièrement notre attention. Elle a été isolée d'un lait de vache qui éliminait des *Listeria* par un trayon sans présenter de signes cliniques de listériose.

## I-2-RECHERCHE DE L'HEMOLYSINE

Le CAMP-test a été réalisé sur base de gélose au sang avec 5 % d'érythrocytes de mouton selon la méthode de Brzin et Seeliger avec *staphylococcus* et *Rhodococcus equi*.

## I-3-LES SOURIS

Nous avons utilisé des souris Swiss, femelles, provenant d'un même lot de l'élevage DEPRE (Saint Doulchard, France) pesant 18 à 20 grammes au début de l'expérimentation.

Elles sont maintenues dans des cages plastiques, sur des copeaux de bois préalablement stérilisés, avec un libre accès à l'eau et à la nourriture.

Les souris ont été réparties par lot de 6, plus un lot témoin. Pendant la durée de l'expérimentation les cages sont entreposées dans l'animalerie à la température du laboratoire.

#### I-4-L'INOCULUM : PREPARATION DES GATEAUX

Les souches de *Listeria* sont repiquées sur gélose trypticase soja-agar de façon à obtenir une quantité suffisante de bactéries pour préparer l'inoculum.

A partir des colonies, une suspension concentrée en *Listeria* dans l'eau physiologique est préparée.

Les gâteaux sont imbibés par cette suspension puis sont mis à l'étuve à 37°C afin de dessécher l'aliment.

#### I-5-INFECTIION DES ANIMAUX

Nous donnons à chaque lot de souris des biscuits contaminés respectivement par 1 souche de *Listeria* différentes. Les six souris témoins sont alimentées par des gâteaux sains.

Pendant toute la durée de l'expérimentation les souris sont nourries *ad libitum*.

#### I-6-CINETIQUE

Sept lots de six souris sont nourris pendant 15 jours avec des gâteaux contenant la souche de *Listeria monocytogenes* 362 de serovar 4 b très virulente.

Un lot est sacrifié respectivement le 1er, le 2ème, le 3ème, le 4ème, le 7ème, le 10ème et le 15ème jour.

#### I-7-SACRIFICE

Les souris sont tuées par dislocation cervicale au jour J choisi.

## I-8-PRELEVEMENT DES ORGANES

Les animaux sont pesés. Le foie, la rate et le cerveau sont recueillis stérilement puis congelés. Des études préliminaires ont montré que la congélation ne modifiait pas le nombre de germes dans les organes.

La présence éventuelle de foyers de nécroses sur la rate et le foie est observée.

## I-9-DENOMBREMENT DES BACTERIES SUR LE FOIE ET LA RATE

Chaque organe est pesé. Une dilution initiale dans 8 ml d'eau physiologique à 8,5 ‰ stérile pour le foie et dans 2 ml pour la rate, est effectuée dans un broyeur de Potter stérile (OSI\*). Après homogénéisation, le broyat est mis en culture à partir de dilutions successives convenables à raison de 10.

0,05 ml de chaque dilution est étalée à la surface d'une gélose Trypticase soja-agar (TSA). Les colonies sont dénombrées après 24 heures à 48 heures d'incubation à 37 °C.

Le seuil minimum de détection des germes par cette méthode de dénombrement est d'environ 100 CFU/gramme d'organe.

Afin de connaître le pourcentage d'organes réellement contaminés, nous avons procédé à un enrichissement dans 9 ml de bouillon nutritif TSB (BBL Microbiology Systems, Coc Kcysville, MD) avec 1 ml de broyat. Les enrichissements sont incubés à l'étuve à 37 °C pendant 48 heures et jusqu'à 7 jours. Puis les enrichissements sont repiqués sur gélose TSA. Les colonies suspectes sont identifiées par transillumination oblique, recherche de la catalase et coloration de Gram.

### **I-10-DENOMBREMENT DES BACTERIES SUR LES CERVEAUX**

A partir du cerveau, on réalise un homogénat dans un broyeur Potter avec 2 ml de TSB. On procède au dénombrement après mise en culture de 0,1 ml d'homogénat sur TSA, après 48 heures.

Comme pour les foies et les rates, on pratique un enrichissement de 1 ml d'homogénat dans 9 ml de TSB durant 48 heures et 7 jours à 37 °C.

### **I-11-EVOLUTION STATISTIQUE**

Les différences des moyennes ont été considérées comme significative par le test t de Student après analyse de la variance. Les différences avec  $p < 0,05$  ont été considérées comme significatives.

## II-RESULTAT

### II-1-L'HEMOLYSINE

Sur le tableau n° 18 nous montrons que seules les souches appartenant aux espèces *Listeria monocytogenes*, *Listeria seeligeri* et *Listeria ivanovii* sont hémolytiques sur gélose au sang de mouton. Le CAMP-test avec *Rhodococcus equi* et *Staphylococcus aureus* permet de différencier *Listeria ivanovii* de *Listeria monocytogenes* et *Listeria seeligeri*.

Nous remarquons que les quatre souches de *Listeria monocytogenes* serovar 1/2 a n'ont pas donné les mêmes résultats. En effet les deux souches 27795 et 2143 sont faiblement hémolytiques (fh) alors que les souches 28607 et 3670 sont fortement hémolytiques (Fh).

### II-2-INOCULUM

Après la préparation des gâteaux nous avons vérifié la concentration en *Listeria* par gramme. Celle-ci est d'environ  $10^9$  germes / g pour toutes les souches.

### II-3-CINETIQUE

La cinétique de l'infection expérimentale des souris par voie orale a été déterminée en utilisant une souche de *Listeria monocytogenes* 4 b (souche 362).

(cf tableau n° 18).

Jours	Poids des animaux (g)	Rate			Foie			Cerveau		
		Poids (g)	Positif (%)	Nombre de germes	Positif (%)	Nombre de germes	Positif (%)	Nombre de germes	Positif (%)	Nombre de germes
1	24.33 ± 0.50	0.122 ± 0.006	0	0	33	< SD	17	< SD	< SD	
2	25.20 ± 0.61	0.117 ± 0.017	100	3.45 ± 0.28 c	100	4.84 ± 0.29 b	17	3	3	
3	23.90 ± 0.53	0.196 ± 0.012 b	100	4.62 ± 0.17 a	100	4.07 ± 0.28	33	< SD	< SD	
4	23.27 ± 1.52	0.169 ± 0.026	100	4.89 ± 0.14	100	4.21 ± 0.40	50	2.15 ; < SD ; < SD	< SD	
7	22.13 ± 0.74	0.155 ± 0.014	50	1.59 ± 0.72 b	67	3.76 ± 0.80 a	33	3.90 ; 2.34	3.90 ; 2.34	
10	22.43 ± 0.77	0.128 ± 0.009	17	< SD a	17	< SD a	17	2.41	2.41	
15	24.36 ± 1.63	0.117 ± 0.014	50	< SD	50	1.52 ± 0.98	17	3.18	3.18	

Le nombre de germes est exprimé en moyenne calculée sur 6 animaux en  $\text{Log } 10 \pm \text{Ecart Standard à la Moyenne (ESM)}$

< SD : inférieur au Seuil de Détection

a)  $P < 0.05$  par rapport au résultat observé le jour précédent.

b)  $P < 0.01$  par rapport au résultat observé le jour précédent.

c)  $P < 0.001$  par rapport au résultat observé le jour précédent.

Tableau n° 18 : Résultats de l'alimentation contaminée par *Listeria monocytogenes* sur la souris

Swiss en fonction du temps.

### II-3-1-Poids des animaux

Le poids des animaux a diminué sensiblement à partir du troisième jour pour réaugmenter au 10<sup>ème</sup> jour. Ces variations ne sont pas significatives.

### II-3-2-Poids des rates

(cf figure n° 19)

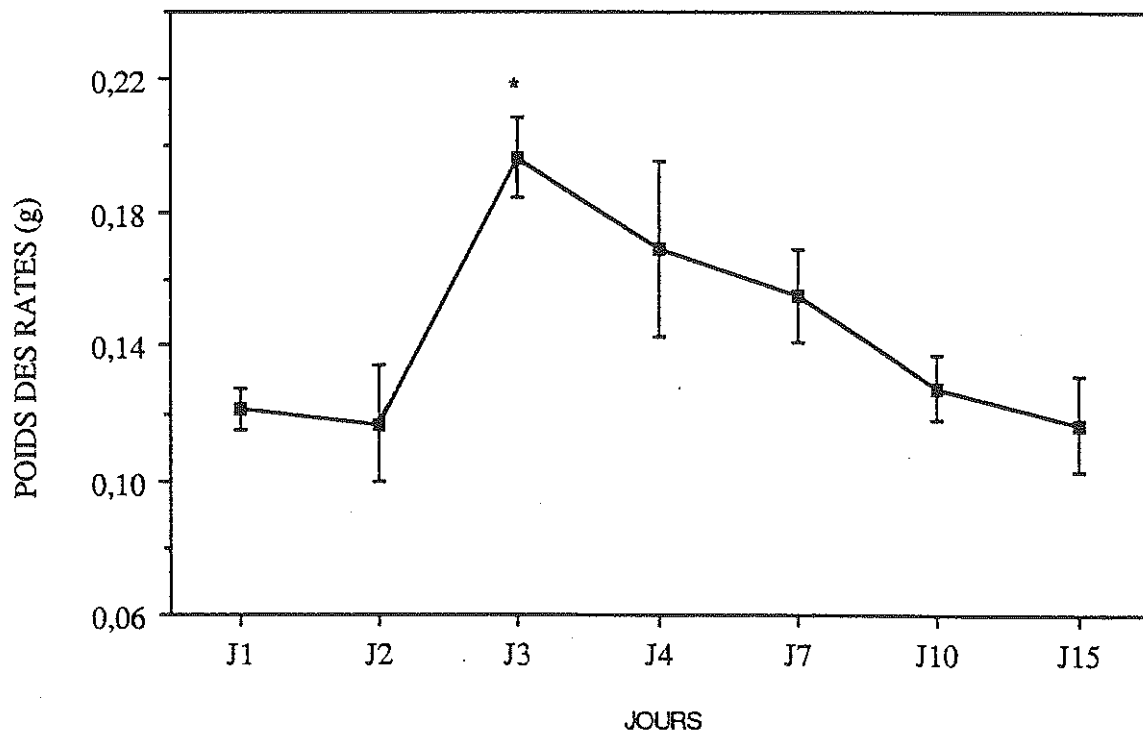


Figure. 19 : Effets de l'alimentation contaminée par *L. monocytogenes* sur le poids des rates des souris en fonction du temps. Le poids moyen des 6 souris contaminées aux différents temps d'infection est exprimé en gramme  $\pm$  l'Ecart Standart à la Moyenne (ESM).

\* indique des différences significatives avec  $p < 0,05$  par rapport au résultat du jour précédent.

Il y a une augmentation significative du poids de la rate au troisième jour. Puis, cette splénomégalie se résorbe progressivement pour revenir à la valeur initiale au quinzième jour.



### II-3-3-Dénombrement des germes dans le foie et la rate.

(cf figure 20)

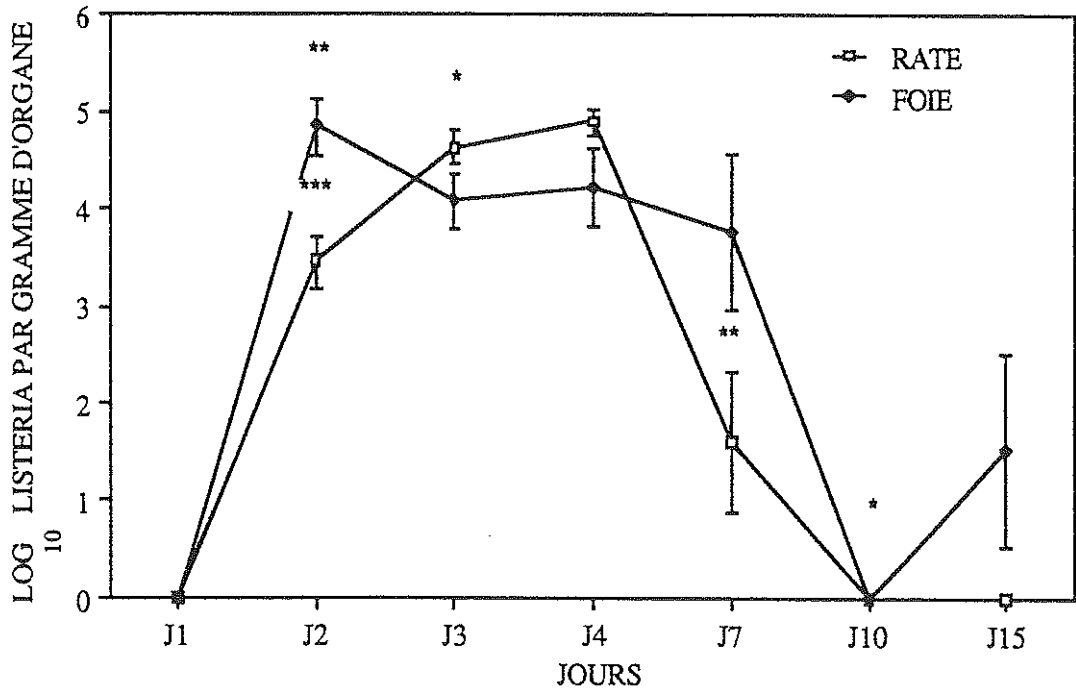


Figure 20 : Effet de l'alimentation contaminée par *L. monocytogenes* sur le nombre de germes par gramme de rate et de foie des souris en fonction du temps. La moyenne du nombre de germes est exprimée en log<sub>10</sub> ufc par gramme d'organe  $\pm$  ESM.

\*, \*\*, \*\*\* indiquent des différences significatives avec  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$  par rapport au résultat du jour précédent.

La recherche des *Listeria* dans les organes montre que le premier jour, *Listeria monocytogenes* n'est pas décelée dans la rate. Elle n'est isolée que dans 1/3 des foies mais à des taux inférieurs au seuil de détection.

Dès le deuxième jour, les deux organes sont fortement contaminés et cela chez tous les animaux. Cette colonisation se stabilise pour le foie alors qu'elle continue à augmenter pour la rate jusqu'au quatrième jour. A J4, 100 % des organes contiennent des bactéries.

Au septième jour, bien que les souris continuent à ingérer en permanence des aliments contaminés, le taux d'organes infectés diminue de même que le nombre de germes. En effet, seulement 50 % des rates et 67 % des foies contiennent des *Listeria*.

Le dixième jour, une seule souris a des *Listeria* dans le foie et la rate mais à des taux inférieurs au seuil de détection.

Au quinzième jour, la contamination est plus importante, bien que plus faible que les premiers jours.

C'est au quatrième jour que l'on a observé le plus fort pourcentage de contamination, nous avons donc choisi le jour J4 comme le plus représentatif de l'infection de la souris par la voie orale.

A partir de cette cinétique, nous avons adopté le même protocole pour apprécier la virulence des différentes espèces et des différents sérotypes de *Listeria*.

#### **II-4-VIRULENCE DES 18 SOUCHES SAUVAGES DE *LISTERIA***

(cf Tableau 21)

Nous avons comparé les résultats entre les différents espèces et sérotypes, puis les différentes souches par rapport au lot témoin à J4.

Tableau. 21 : Résultats obtenus sur la souris Swiss alimentée par voie orale par des gâteaux contenant  $10^9$  ufc *Listeria* / g de gâteau.

Souches	Espèces	Sérovir	Hémolytisme	Foie			Rate			Encéphale	
				Poids des animaux	Positif %	Nombre de germes	Poids	Positif %	Nombre de germes	Positif %	Positif %
31386	<i>Listeria monocytogenes</i>	4b	+	20.2 ± 0.5 a	100	3.81 ± 0.19	0.188 ± 0.021	100	5.02 ± 0.15	83	
362	<i>L. monocytogenes</i>	4b	+	18.7 ± 0.5 b	100	3.88 ± 0.33	0.176 ± 0.001 a	100	5.00 ± 0.32	50	
24631	<i>L. monocytogenes</i>	1/2b	+	20.7 ± 0.5	83	2.30 ± 0.53	0.131 ± 0.014	67	2.39 ± 1.01	17	
23185	<i>L. monocytogenes</i>	1/2b	+	21.3 ± 1.2	100	2.74 ± 0.27	0.177 ± 0.009 a	83	3.48 ± 0.98	17	
3670	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	+(Fh)	21.5 ± 1.1	100	3.36 ± 0.35	0.161 ± 0.001	100	4.92 ± 0.35	0	
28607	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	+(Fh)	20.9 ± 0.9	100	3.71 ± 0.32	0.154 ± 0.007	100	4.33 ± 0.34	33	
2143	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	+(fh)	20.1 ± 0.4 a	33	0	0.116 ± 0.009	0	0	33	
27795	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	+(fh)	22.0 ± 0.4	50	1.59 ± 0.68 d	0.158 ± 0.022	33	0.60 ± 0.69 e	0	
P1	<i>L. monocytogenes</i>	1/2c	+	22.1 ± 0.4	67	1.29 ± 0.77 c	0.150 ± 0.005	33	1.25 ± 0.82 c	0	
28423	<i>L. monocytogenes</i>	1/2c	+	19.5 ± 0.9 a	100	3.31 ± 0.26	0.158 ± 0.019	100	4.61 ± 0.12	0	
94415	<i>L. ivanovii</i>	5	+	19.1 ± 1.5	0	0	0.108 ± 0.020	0	0	0	
94669	<i>L. ivanovii</i>	5	+	21.5 ± 1.0	0	0	0.163 ± 0.017	17	0	0	
55009	<i>L. seeligeri</i>	3b	+	20.5 ± 0.5 a	17	0.52 ± 0.52	0.102 ± 0.007	17	1.59 ± 0.60	0	
26033	<i>L. seeligeri</i>	1/2b	+	22.2 ± 0.6	17	0	0.113 ± 0.013	0	0	17	
20878	<i>L. welshimeri</i>	6a	-	21.3 ± 0.4	33	0	0.263 ± 0.034 b	17	0.79 ± 0.05	17	
21070	<i>L. welshimeri</i>	6b	-	20.6 ± 0.6 a	0	0	0.125 ± 0.019	0	0	17	
2138	<i>L. innocua</i>	6a	-	21.3 ± 0.7	17	0	0.140 ± 0.016	0	0	0	
28866	<i>L. innocua</i>	6a	-	19.3 ± 1.0	33	0.50 ± 0.50	0.130 ± 0.011	0	0	33	
control				22.2 ± 0.7	0	0	0.132 ± 0.017	0	0	0	

Fh : fortement hémolytique ; fh : faiblement hémolytique.

a) Poids statistiquement différent par rapport au control avec  $P < 0,05$ b) Poids statistiquement différent par rapport au control avec  $P < 0,01$ c) moyenne CFU en  $\log_{10}/g$  d'organe statistiquement différente par rapport à celle enregistrée avec la souche appartenant au même sérovir avec  $P < 0,05$ d) moyenne CFU en  $\log_{10}/g$  d'organe statistiquement différente par rapport à celle enregistrée avec la souche appartenant au même sérovir avec  $P < 0,01$ e) moyenne CFU en  $\log_{10}/g$  d'organe statistiquement différente par rapport à celle enregistrée avec la souche appartenant au même sérovir avec  $P < 0,001$

#### II-4-1-Poids des animaux

Tous les lots de souris infectées présentent une diminution pondérale par rapport au lot témoin. Mais seules *Listeria innocua*, *Listeria welshimeri* et *Listeria monocytogenes* présentent une différence significative par rapport au témoin.

(cf figure 22)

Si on compare les espèces et les sérotypes entre eux, on constate que seule la souche 362 de *Listeria monocytogenes* de serovar 4 b entraîne une diminution du poids des animaux plus importante, avec des différences significatives par rapport à *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri* et *Listeria monocytogenes* serovar 1/2 b , 1/2 a et 1/2 c.

La comparaison entre les différentes souches et le lot de souris témoins, montre une légère diminution pondérale des animaux.

Cette diminution n'est significative que pour *Listeria monocytogenes* serovar 4b (souche 31386 et souche 362), serovar 1/2a (souche 2143) et serovar 1/2 c (souche 28423) ; pour la souche 55009 de *Listeria seeligeri* et la souche 21070 de *Listeria welshimeri*.

On remarque qu'il existe une grande variabilité entre les souches d'un même sérovar de *Listeria monocytogenes* ou d'une même espèce de *Listeria*.

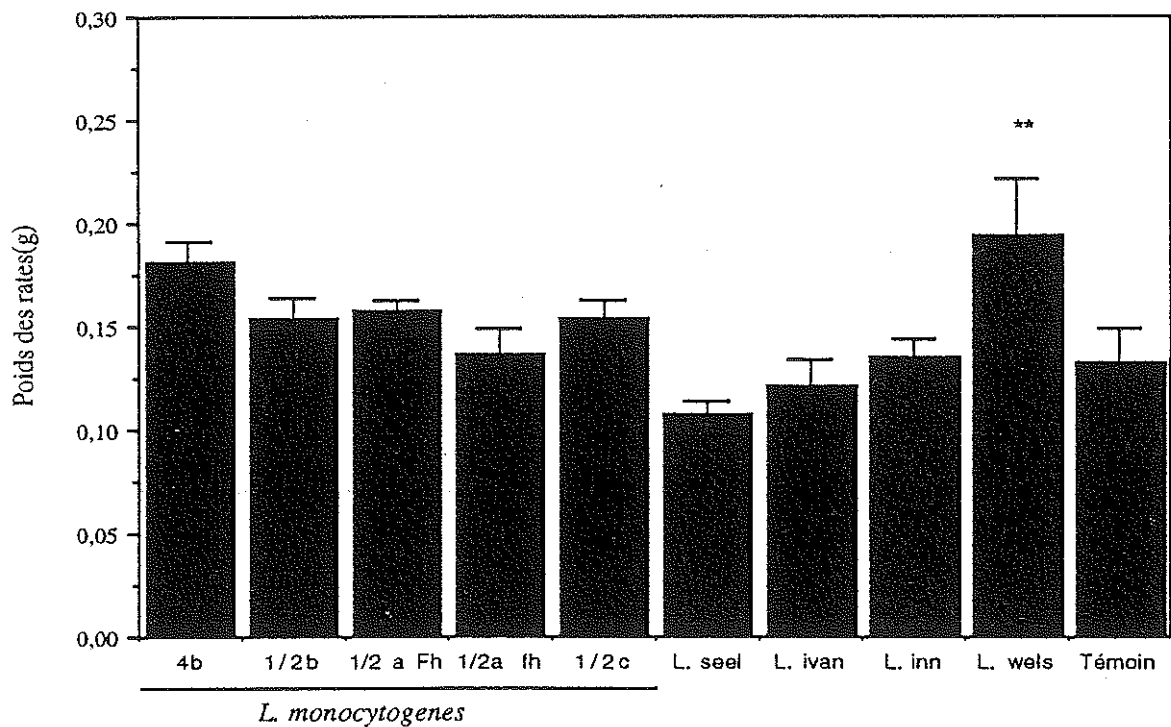
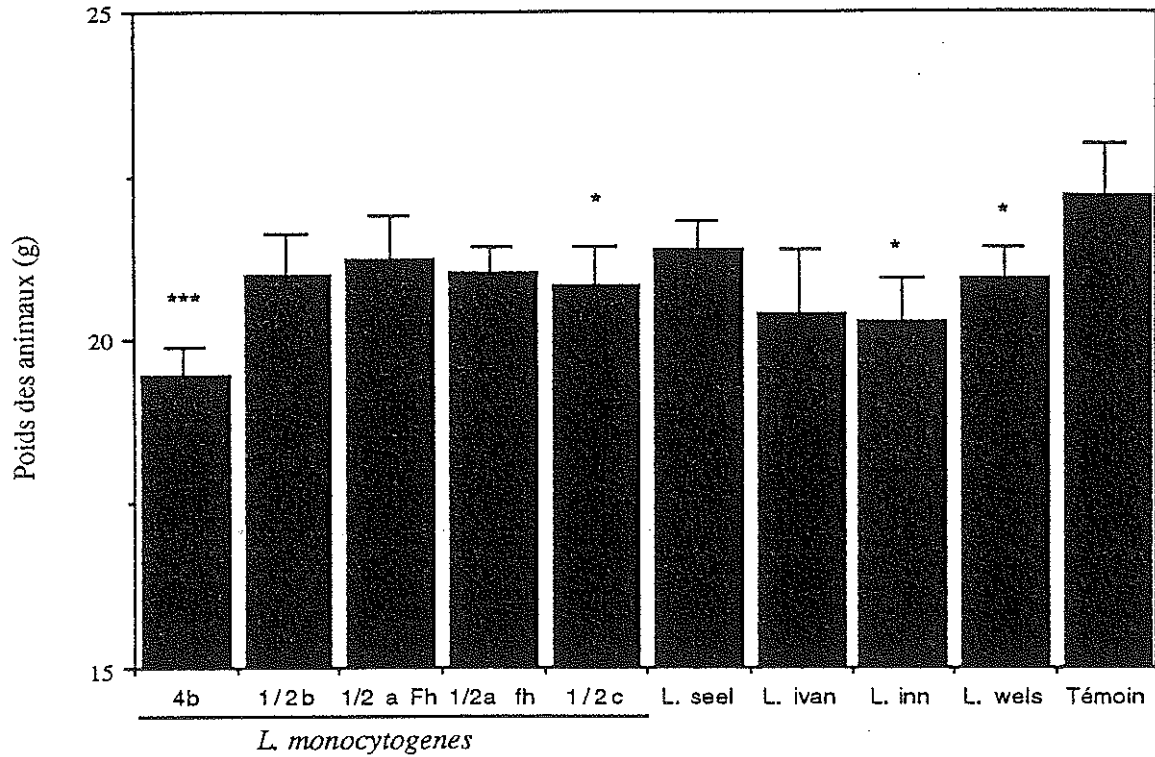
#### II-4-2-Poids des rates

Certaines souches entraînent une splénomégalie par rapport au lot témoin.

Trois souches provoquent une augmentation significative :

- La souche 362 de *Listeria monocytogenes* de serovar 4b, ce qui confirme les résultats enregistrés lors de la cinétique,
- la souche 23185 de *Listeria monocytogenes* de serovar 1/2b
- la souche 20878 de *Listeria welshimeri*.

D'autres souches provoquent une diminution du poids de la rate. Il s'agit des deux souches de *Listeria seeligeri* (55009 et 26033), de *Listeria ivanovii* (94415), *Listeria welshimeri* (21070) et de *Listeria monocytogenes* serovar 1/2a (2143).



Figures 22 et 23 : Effet de l'alimentation contaminée par *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. innocua* et de différents sérovars de *L. monocytogenes* sur le poids des animaux et de la rate.

\*, \*\*, \*\*\* indiquent des différences significatives avec respectivement  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$  par rapport au témoin.

### II-4-3-Dénombrement des germes dans le foie et la rate.

(cf figures 24 et 25)

*Listeria ivanovii*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri* et *Listeria innocua* colonisent peu ou pas les foies et les rates.

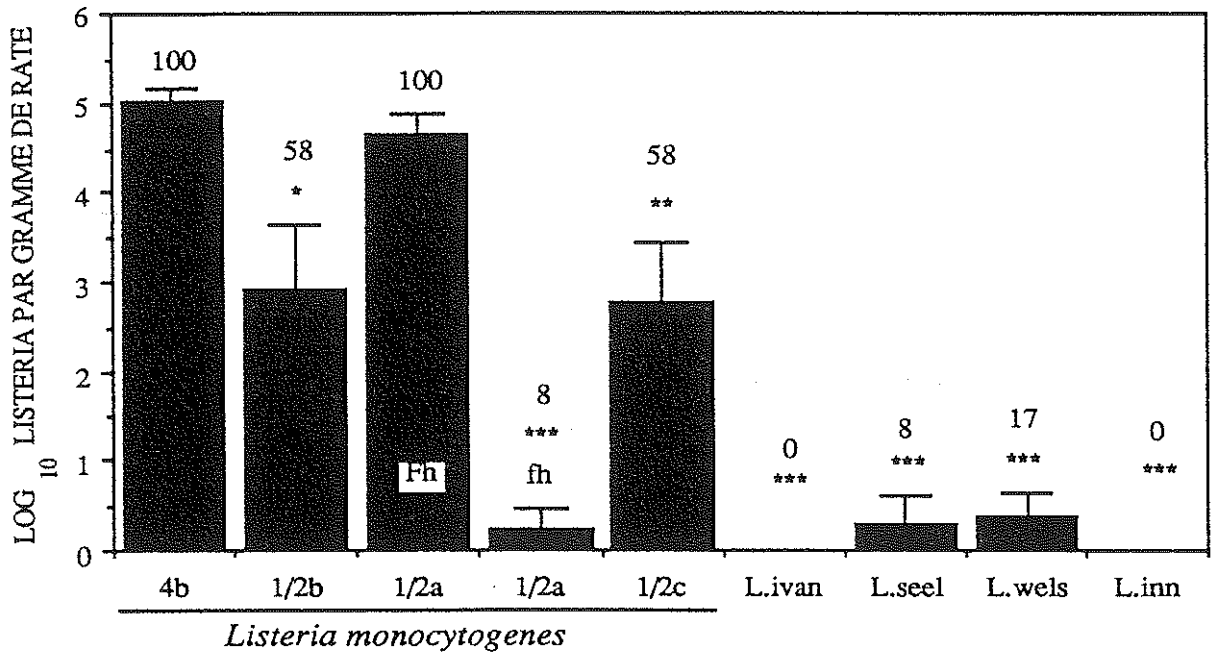
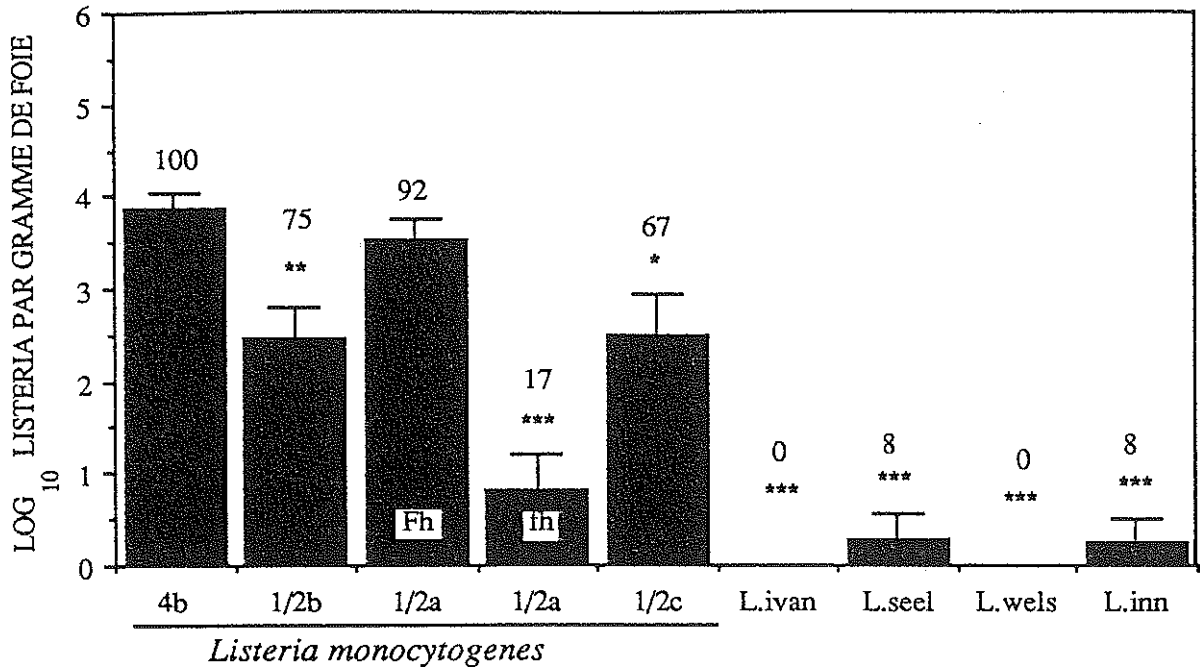
La virulence de *Listeria monocytogenes* s'exprime de façon différente selon les sérovars :

- Toutes les souris infectées par *Listeria monocytogenes* 4b ont leur rate et leur foie contaminés à des taux élevés (12 foies et 12 rates sur 12).
- La contamination obtenue par *Listeria monocytogenes* serovar 1/2b et serovar 1/2c est la même.

Avec *Listeria monocytogenes* 4b nous n'observons aucune différence entre les résultats obtenus avec la souche 51386 isolée d'un aliment et la souche 362 isolée d'une pathologie animale.

Avec le sérovar 1/2b, le pourcentage d'organe colonisé par la souche 23185 est supérieur à celui observé pour la souche 24631. Il existe donc une différence entre les deux.

Les quatre souches appartenant au serovar 1/2a se répartissent en deux groupes. Le premier groupe, représenté par les souches 3670 et 28607 très hémolytiques, colonisent fortement les foies et les rates. Cette colonisation se fait à des taux identiques à ceux trouvés chez *Listeria monocytogenes* serovar 4b. Le deuxième groupe, constitué des souches 27795 et 2143, faiblement hémolytique colonisent peu ou pas les organes. En effet, la souche 2143 n'a été détectée que dans 33 % des foies à des taux inférieurs au seuil de détection, c'est à dire après enrichissement et n'a jamais été décelée dans la rate. La souche 27795 n'est retrouvée que dans la moitié des foies et dans 33 % des rates à des taux très faibles. Ces deux dernières souches faiblement hémolytiques donnent des résultats comparables à ceux obtenus avec *Listeria. seeligeri*, *Listeria ivanovii* et *Listeria welshimeri*. Il n'y a pas de différence significative entre elles.



Figures 24 et 25 : Croissance de *L. ivanovii* (L.ivan), *L. seeligeri* (L. seel), *L. welshimeri* (L. wels), *L. innocua* (L.inn) et différents sérovars de *L. monocytogenes* par gramme de foie et de rate sur la souris Swiss 4 jours après l'ingestion de  $10^9$  ufc *Listeria* par gramme de gâteau. *L. monocytogenes* sérovar 1/2a est divisé en deux groupes : un fortement hémolytique (Fh), l'autre faiblement hémolytique (fh). Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  l'Ecart Standard à la Moyenne (E.S.M) d'ufc de *Listeria* en log<sub>10</sub> par gramme d'organe (12 souris par groupe). \*, \*\*, \*\*\* indiquent des différences significatives par rapport à la moyenne observée avec le lot infectée par *L. monocytogenes* sérovar 4b avec  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$  respectivement, le pourcentage d'organe où *Listeria* est dénombrable est déterminé pour chaque espèce et chaque sérovar étudiés.



Les deux souches du serovar 1/2c diffèrent par leur virulence. La souche P<sub>1</sub> présente un pourcentage d'organes infectés beaucoup plus faible que la souche 28423. D'ailleurs, si on compare cette souche avec *Listeria monocytogenes* serovar 4b on constate qu'il n'y a pas de différence significative entre elles.

Les deux diagrammes exprimant le dénombrement du foie et de la rate pour chaque espèce et serovar de *Listeria monocytogenes* ont des profils superposables.

#### II-4-4-Les cerveaux

Le nombre de *Listeria* présentes dans les cerveaux est inférieur au seuil de détection pour toutes les souches.

Les sérotypes 31386 et 362 de *Listeria monocytogenes* serovar 4b sont retrouvés dans 83 % et 50 % des enrichissements des cerveaux analysés. Les autres souches ne sont retrouvées que dans 33 % des cas au maximum.

Les souches 3670 et 2143 du serovar 1/2a entre autres, montrent qu'il n'existe aucune relation entre l'infection des organes du système réticulo-endothélial et la présence des *Listeria* dans le cerveaux.

### III-DISCUSSION

Afin de modéliser la contamination des mammifères par la voie orale, nous avons mis au point un protocole d'infection expérimentale de manière à reproduire ce qui se passe *in vivo* lors d'une contamination d'origine alimentaire.

De nombreux travaux ont déjà montré l'efficacité de la voie orale pour contaminer la souris. Audurier et coll. (2-1) avaient expérimenté une infection des souris durant douze heures avec *Listeria innocua* et *Listeria monocytogenes* dans l'eau de boisson. Ils ont montré une forte contamination des organes (foie, rate ...) avec cette dernière et avec un inoculum élevé ( $10^9$  germes par ml).

Des études ont déjà été faites sur la virulence des mêmes souches sauvages choisies pour notre expérimentation mais à partir d'infection intra-péritonéale (48).

Nous avons élaboré un nouveau mode de contamination. Il a donc été nécessaire de réaliser la cinétique car nous n'avions pas de travaux antérieurs sur lesquels se baser.

Grâce à elle on a pu déterminer le jour le plus représentatif de l'infection orale soit J4. Pour la contamination intra-péritonéale, les travaux antérieurs avaient montré que c'était le troisième jour.

Les deux diagrammes exprimant le dénombrement du foie et de la rate pour chaque espèce et pour chaque sérovar de *Listeria monocytogenes* ont des profils superposables (cf figure 24 et figure 25). Trois types de colonisation des organes du système réticulo-endothélial se distinguent :

- le premier constitué des sérovars 4 b et 1/2 a Fh de *Listeria monocytogenes*.  
Nous observons un fort pourcentage d'organes colonisés par une forte concentration en bactéries.

- le deuxième composé des sérovars 1/2 b et 1/2 c de *Listeria monocytogenes* colonise modérément les organes.

- le troisième composé du sérovar 1/2 a fh de *Listeria monocytogenes* et de *Listeria ivanovii*, de *Listeria seeligeri*, *Listeria innocua* et de *Listeria welshimeri* colonise peu ou pas les organes des souris.

Ce profil était identique à celui de l'infection en intra-péritonéale sauf pour *Listeria ivanovii*.

Parmi les critères de virulence retenus, les poids de la rate, du foie, des animaux et le dénombrement de germes dans le cerveau sont peu représentatifs. Les différences d'hémolysine et le dénombrement des germes dans le foie et la rate sont significatifs de celle-ci.

Il faut remarquer que la rate est toujours plus colonisée que le foie à J4 pour toutes les espèces et tous les sérovars.

Nous avons comparé la virulence des différents sérovars de *Listeria monocytogenes*, en commençant par 4b.

En accord avec les travaux de Winsington Koning (80) le sérovar 4 b de *Listeria monocytogenes* est le plus virulent de tous les sérovars avec 100 % des organes contaminés chez la souris. Ceci confirme les travaux antérieurs réalisés par l'injection en intra-péritonéale de ces mêmes souches à une dose constante sur ce même animal. Pour ce sérovar 4 b, la souche 31386 isolée d'un aliment est aussi virulente que la souche 362 isolée d'une pathologie animale.

Le sérovar 1/2 a est très fréquemment isolé dans l'alimentation mais est beaucoup moins impliqué dans les listérioses humaines que le sérovar 4 b.

Un fait original est observé : les quatre souches testées ont donné deux types de résultats : les deux souches Fh (367 et 28607) sont aussi virulentes que les souches de sérovar 4 b. La souche 28607 a été isolée du lait d'une vache qui ne présentait aucun signe clinique de listériose. Cet exemple est très représentatif d'une contamination par porteur sain dans l'industrie laitière. Les deux autres souches de sérovar 1/2 a fh n'ont pratiquement pas été isolées dans le foie et la rate de la souris. Hof avait déjà décrit l'existence d'une souche de sérovar 1/2 a non hémolytique et avirulente.

Les souches sauvages de *Listeria monocytogenes* serovar 1/2 b et 1/2 c étudiées sont moins présentes et à des taux plus faibles dans le foie et la rate que les souches de sérovar 4 b. Or le sérovar 1/2 c est souvent présent dans les aliments et moins en pathologie humaine ou animale.

Nous observons aussi une très grande variabilité dans l'expression de la virulence des souches pour chacun de ces deux sérovars ce qui pourrait expliquer la résurgence de ceux-ci dans les cas de listériose humaine.

Ces différences de virulence entre ces souches ont déjà été observées après leur injection par voie intra-péritonéale (48).

En accord avec la bibliographie et les études réalisées en intra-péritonéale, la contamination par la voie orale montre que *Listeria innocua*, *Listeria welshimeri* et *Listeria seeligeri*, malgré une hémolysine positive pour cette dernière, sont peu virulentes. En effet *Listeria innocua* n'a colonisé que très faiblement le foie et n'a pas été détecté dans la rate. Les souches de *Listeria seeligeri* et *Listeria welshimeri* sont de la même façon avirulentes car elles

ne sont retrouvées que dans très peu d'organes et à un faible taux. Ceci confirme la bibliographie et les études faites en intra-péritonéale.

Mais lors de nos travaux, nous avons mis en évidence un fait nouveau avec *Listeria ivanovii*. Une seule des deux souches testées a été détectée dans la rate d'une souris à un taux inférieur au seuil de détection. Pourtant, l'injection en intra-péritonéale de ces deux souches a permis de coloniser fortement le foie et la rate des souris. De nombreux auteurs ont montré la pathogénicité de cette espèce. Des filtrats de culture de *Listeria ivanovii* sont cytotoxiques (22). Cette espèce est capable de pénétrer des cellules non phagocytaires comme les cellules CaCo<sub>2</sub> et de se diviser dans les macrophages comme *Listeria monocytogenes*, contrairement à *Listeria innocua*, *Listeria seeligeri* et *Listeria welshimeri* (27).

Toutefois, *Listeria ivanovii* provoque des méningo encéphalites et surtout des avortements chez le mouton. Mais elle n'est pratiquement jamais impliquée en pathologie humaine et n'est pas retrouvée dans l'alimentation.

Il existe donc des différences de comportement de *Listeria ivanovii* entre le monogastrique qui est la souris et le ruminant qu'est le mouton.

#### IV CONCLUSION

La *Listeria* est un germe présent dans les denrées alimentaires comme les produits carnés, le lait et les produits laitiers.

*Listeria monocytogenes* est l'espèce la plus pathogène chez les mammifères. Le sérovar 4 b, peu retrouvé dans les aliments, est surtout rencontré en pathologie humaine et animale. Le sérotype 1/2 est le plus fréquemment isolé dans les aliments avec le plus fort taux pour le sérovar 1/2 a et 1/2 c. Notre étude sur la virulence de 18 souches sauvages de *Listeria*, en utilisant le modèle expérimental de la souris Swiss infectée par voie orale, peut expliquer cette discordance dans la distribution des *Listeria* dans les produits alimentaires.

Le fort pourcentage de *Listeria monocytogenes* 1/2 a présentes dans les aliments comparé avec le faible nombre de cas de listérioses causées par ce même sérovar, peut être expliqué par l'existence de souches 1/2 a avirulentes et faiblement hémolytiques.

En effet, nous avons mis en évidence deux groupes de souches 1/2 a, les faiblement hémolytiques et les autres fortement hémolytiques aussi virulentes que le sérovar 4b.

Le sérovar 1/2 c lui aussi fortement retrouvé en alimentaire est moins virulent que 4 b. Et nous avons mis en évidence des différences de virulence entre les deux souches utilisées l'une étant plus virulente que l'autre.

En accord avec la bibliographie, *Listeria innocua*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri* sont avirulentes.

Notre travail a mis en évidence un fait nouveau avec le comportement de *Listeria ivanovii*. Chez la souris infectée par alimentation fortement contaminée par ce germe elle est incapable de coloniser le système réticulo-endothéliale. Cela pourrait expliquer que cette espèce pathogène pour le mouton ne soit presque jamais retrouvée chez le monogastrique.

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**



- 1-AUDURIER A., PARDON P., MARLY J., LANTIER F.  
Experimental infection of mice with *Listeria monocytogenes* and *L. innocua*  
Ann. Microbiol. Inst. Pasteur, 1980, 131 B, 47-57
- 2-AUDURIER A., PARDON P., MARLY J., LANTIER F., LOULERGUE J.  
Mesure de la virulence chez la souris de différentes bactéries appartenant au genre *Listeria*  
Ann. Immunol. Inst. Pasteur., 1981, 132 D, 191-200
- 3-AUDURIER A., ROCOURT J., COURTIEU A.  
Isolement et caractérisation de bactériophages de *Listeria monocytogenes*  
Ann. Microbiol. Inst. Pasteur, 1977, 128A, 185-198
- 4-BERCHE P., GAILLARD J. L.  
Physiopathologie de la listériose humaine  
Rev. Prat., 1989, 39, 17, 1507-1509
- 5-BECKERS H.J., SOENTORO P.S.S., DELFOU-VAN-ASCH E.H.M  
The occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft cheeses and raw milk and its resistance to heat  
Int.J. Food Microbiol., 1987, 4, 249-256
- 6-BERTHIER A. M., SOUSTRE Y.  
*Listeria*, Listeriose  
Technique et biologie, 1988, 3, 112-117
- 7-BOSGIRAUD C., MENUDIER A., CORNUEJOLS M. J., HANGARD-VIDAUD N., NICOLAS J. A.  
Etude de la virulence de *Listeria monocytogenes* isolées des aliments de l'homme  
Sc. Aliments-9, 1989, n° Hors serie, X, 31-37
- 8-BOSGIRAUD C., MENUDIER A., CHAMPAGNOL M.P., HANGARD-VIDAUD N., LAMACHERE M., NICOLAS J.A.  
Etude épidémiologique de la distribution des espèces de *Listeria* et des sérotypes de *Listeria monocytogenes* en pathologie humaine, animale et dans les aliments  
Rev. Med. Vet., 1991, 142, 6, 463-468
- 9-BREER C.  
*Listeria* in cheese  
Vet. Med. Hefte., 1987, 5, 106-109
- 10-BROADENT D.W.  
*Listeria* as a cause of abortion and neonatal mortality in sheep  
Aust. Vet. J., 1972, 48, 391-394
- 11-CARBONELLE N., COTTIN J., PARVERY F., CHAMBREUIL G.  
Epidémie de listériose dans l'ouest de la France  
Rev. Epidem. et santé publ., 1978, 26, 451-467
- 12-CHAKRABORTY T., GOEBEL W.  
Recent Developments in the Study of Virulence in *Listeria monocytogenes*  
Current Topics in Microbiology and Immunologie, Vol 138, 1988, 41-58
- 13-COTTEREAU Ph., LAVAL A.  
Les aspects cliniques de la listériose chez les animaux domestiques et de laboratoire  
Bull. Soc. Sci. Vet. comparée, Lyon, 1972, 74, n°6

## 14-COTTIN J., ET COLL.

Recherche de *Listeria monocytogenes* dans les viandes prélevées sur 514 bovins  
 Sci. Aliments, 1985, 5, IV Hors serie, 145-149

## 15-COTTIN J., AUBRY C., RIVE M., CARBONELLE B.

Recherche de *Listeria monocytogenes* dans des placentas de bovins prélevés lors d'avortements  
 Listériose-Listéria-Listérios. 1985-86. Ed. Courtieu-Université de Nantes-p 294-299

## 16-COURTIEU A. L., REYNAUD A. E.

*Listeria monocytogenes* et listérioses humaines  
 La lettre de l'infectiologue, Tome II, n° 6, avril 1987, 210-214

## 17-DOMINGUEZ RODRIGUEZ L., GARAYZABAL J. F. F., VASQUEZ BOLAND J. A., FERRI E.R., SUAREZ FERNANDEZ G.

Isolation de microorganismes du genre *Listeria* à partir de lait cru destiné à la consommation humaine  
 Can. J. Microbiol., 1985, 31, 938-941

## 18-DONKER-VOET J.

*Listeria monocytogenes*, some biochemical and serological aspects  
 Acta. Microbiol. Acad. Sci. Hung., 1972, 19, 287-291

## 19-FARBER J. M., JOHNSTON M. A., PURVIS V., LOIT A.

Surveillance of soft and semi-soft cheeses for the presence of *Listeria* spp.  
 Int. J. Food. Microbiol., 1987, 5, 157-163

## 20-FARBER J. M., SANDRES G. W., MALCOM S. A.

The presence of *Listeria* spp. in raw milk in Ontario  
 Can. J. Microbiol., 1988, 34, 95-100

## 21-FARBER J. M., SANDERS G. W., MALCOM S. A.

The presence of *Listeria* spp. in raw milk in Ontario  
 Can. J. Microbiol., 1988, 34, 95-100

## 22-FARBER M., SPEIRS J. I.

Potential use of continuous cell lines to distinguish between pathogenic and non pathogenic *Listeria* spp.  
 J. Clin. Microbiol., 1987, 25, 8, 1463-1466

## 23-FASSI-FEHRI M.

Les maladie infectieuses du mouton. Tome I  
 Editions Actes. 1988

## 24-FAUVE R. M., HELVIN B.

Immunostimulation with bacterial phospholipids extracts  
 Proct. Natl. Acad. Sci. USA, 1974, 71, 573-577

## 25-FENLON D. R.

The influence of gaseous environment and water availability on the growth of *Listeria*  
 Microbiologie Aliment. Nutrition, 1989, Vol. 7, 165-169

## 26-FENSTERBANK R., AUDURIER A., GODU J., GUERRAULT P., MAB N.

Etude des souches de *Listeria* isolées d'animaux malades et de l'ensilage consommé  
 Ann. Rech. Vet., 1984, 15, 113-118

- 27-GAILLARD J. L., BERCHE P., MOUNIER P., RICHARD S., SANSONETTI P.  
In vitro model of penetration and intracellular growth of *Listeria monocytogenes* in the human enterocyte like CaCO<sub>2</sub>  
Infect. Immun., 1986, 52, 50-55
- 28-GALSWORTHY S. B.  
Role of the cell surface in virulence of *Listeria monocytogenes*  
Ann. Inst. Pasteur Microbiol., 1987, 138, 273-276
- 29-GARAYZABAL J. F. F., DOMINGUEZ RODRIGUEZ L., VASQUEZ BOLAND J. A.,  
BLANCOCANCELO J. L., SUAREZ FERNANDEZ G.  
*Listeria monocytogenes* dans le lait pasteurisé  
Can. J. Microbiol., 1986, 32, 149-152
- 30-GAUTHIER M., DUFOUR Ch.  
*Listeria*: qu'en est-il?  
RIA 421, 1989, 35-40
- 31-GIRARD K. F., SBARRA A. J., BARDAWIL W. A.  
Serology of *Listeria monocytogenes*. Characteristics of the soluble hemolysin.  
J. BACT., 1963, 85, 349-355
- 32-GOULET V., BROHIER S.  
La Listeriose en France en 1986: Recensement auprès de laboratoires hospitaliers  
Pathologie Biologique, mars 1989, Vol 37, n° 3, 206-211
- 33-GOYON M.  
La listeriose  
G. T. V., 80-2B, 176
- 34-GUERIN J. M., DECORNIQUET T.  
Listerioses neuro-méningées de l'adulte  
La Vie Med., mars 1986, n° 7, 325-327
- 35-HOF H.  
Virulence of different strains of *Listeria monocytogenes* serovar 1/2a  
Med. Microbiol. Immunol., 1984, 173, 207-218
- 36-IVANOVI  
Untersuchungen über die Listeriose der schafe in Bulgarien  
Mh. Vet. Med., 1962, 17, 729-736
- 37-KRUGER W.  
Das Vorkommen von *Listeria monocytogenes* in den verschiedenen silagen und dessen ätiolo bedeutung  
Arch. exp. Vet. Med., 1963, 17, 181-20
- 38-LAUGIERJ., BORDERON J.C., GOLD F.  
La Listeriose néonatale  
R P., 1979, 29, 25, 2049-2059
- 39-LE GUILLOUX M.  
*Listeria monocytogenes*. Avortements et encéphalites des bovidés  
Bull. Soc. Vet. Prat. de France-Juillet 1979, T. 63, n°7, 481-192

- 40-LE GUILLOUX M., DOLLINGRER Cl.,FREYBURGER G.  
*Listeria monocytogenes* . Sa fréquence dans les produits de charcuterie  
 Bull. Soc. Vet. Prat. France, 1980,64, 45-53
- 41-LEHNERT C.  
 Die Tenazität von *Listeria monocytogenes* in der Aussenwelt  
 Zbl. Bakt. 1. Abt. Orig., 1960, 350-356
- 42-LE QUERREC  
*Listeria* et Listeriose  
 Technique Laitière n° 1025
- 43-LINNAN M. J., MASCOLA L., LOU X. D., GOULET V., MAY S., SALMINEN C., HIRD D.  
 W.,YONEKURA M.L., HAYES P., WEAVER R., AUDURIER A., PLIKAYTIS B. D., FANNIN S. L.,  
 KLEKS A., BROOME C. V.  
 Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese  
 New. Engl. J. Med., 1988, 319, 823-828
- 44-LOVETT J., FRANCIS D. W., HUNT J.M.  
*Listeria monocytogenes* in raw milk: detection, incidence and pathogenicity  
 J. Food. Protect., 1987, 50, 188-192
- 45-MAC LAUHLIN J.  
 Distribution of serovars of *Listeria monocytogenes* isolated from different categories of patients with listeriosis  
 Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 1990, 9, 210-213
- 46-MARA M., PATOCKA F., JULA K. et Coll  
 Contribution of knowledge of factors participating in virulence of *Listeria monocytogenes*. Study of the  
 chemical natyre of complexe Ei  
 J. Hyg. Epidem., 1974, 18, 29-41
- 47-MAUPAS Ph., PHILIPPON A., AUDURIER A., BORDERON E., BOULARD P.  
 Epidémiologie et pathogénie des listérioses  
 Economie et Médecine animales- 1972, 13, n°3
- 48-MENUDIER A., BOSGIRAUD C., NICOLAS J. A.  
 Virulence of *Listeria monocytogenes* serovars and *Listeria* spp. in experimental infection of mice  
 J. Food Protect, 1991, Vol. 34, n° 12, 917-921
- 49-NICOLAS J. A.  
 La Listeriose animale  
 Rev. Med. Vet., 1986, 137, (10), 645-650
- 50-NICOLAS J. A., CORNUEJOLS M. J., HANGARD-VIDAUD N., BOSGIRAUD C.  
 Etude de la contamination par *Listeria* des aliments destinés à la consommation humaine: viandes- fromages-  
 poissons  
 Le Biologiste, Janv- Fev 1989, 179,41-45
- 51-NICOLAS J. A., CORNUEJOLS M. J., HANGARD-VIDAUD N., BOSGIRAUD C., MENUDIER A.  
 Etude de la virulence de *Listeria monocytogenes* isolées des aliments  
 Sci. Aliments,1989, n° Hors serie X, 31-37

52-NICOLAS J. A., ESPAZE E. P., ROCOURT J., CORNUEJOLS M.J., LAMACHERE M., VIDAUD N., CATIMEL B., COURTIEU A.L.

Listeriose animale et ensilage: Intérêt de la sérotypie et de la lysotypie dans l'approche épidémiologique  
Rec. Med. Vet., 1988, 164 (3), 203-206

53-NICOLAS J. A., VIDAUD N.

Contamination des viandes et des produits de charcuterie par *Listeria monocytogenes* en Haute-Vienne  
Rev. Sciences des aliments, 1985, 5, n° Hors serie, 175-180

54-NICOLAS J. A., VIDAUD N.

Contribution à l'étude des *Listeria* présentes dans les denrées d'origine animale destinées à la consommation humaine  
Rev. Méd. Vét., 1987, 163, 283-285

55-PRAZUCK T., FISCH A., LAFaix Ch.

Meningite et meningo-encephalite à *Listeria monocytogenes*  
Le concours medical, 1987, 596-599

56-PINI P. N., GILBERT R. J.

The occurrence in UK of *Listeria* species in raw chickens and soft cheeses  
Int. J. Food Microbiol., 1988, 6, 317-326

57-RAGNAUD J. M., AUBERTIN J.

Les listerioses  
Le concours medical, 1987, 1636-1640

58-RENAUD F., FRENEY J.

*Listeria*  
Lyon Pharmaceutique, 1988, 39, 3, 175-181

59-ROCOURT J.

Bacteriophages et bacteriocines du genre *Listeria*  
Zentralbl. Bakteriologie. Mikrobiologie. Hyg. Ser. A., 1986, 261, 12-28

60-ROCOURT J.

Listeriose humaine : aspects cliniques et épidémiologiques ; rôle de l'alimentation  
Le Biologiste, Janvier-Février, 1989, 29-40

61-ROCOURT J.

*Listeria* et Listeriose humaine ; la décennie 1979-1989  
Ann. Inst. Pasteur/Actualités p. 25-30

62-ROCOURT J., GRIMONT P. A. D.

Description of *Listeria welshimeri* sp. nov. and *Listeria seeligeri* sp. nov.  
Int. J. System. Bact. 33, 1983, 866-869

63-ROCOURT J., GRIMONT P. A. D., SEELIGER H. P. R.

DNA relatedness among serovars of *Listeria monocytogenes* sensu lato  
Curr. Microbiol., 1982, 7, 383-388

64-ROCOURT J., HOF H., SCHRETTENBRUNNER A., MALINVERNI R., BILLE J.

Méningite purulente aiguë à *Listeria seeligeri* chez un adulte immunocompétent  
Schweiz. Med. Wochenschr., 1986, 116, 248-251

- 65-ROCOURT J., SCHRETTENBRUNNER A., SEELIGER H. P. R.  
Différenciation biochimique des groupes génomiques de *Listeria monocytogenes* sensu lato  
Ann. Microbiol. Inst. Pasteur, 1983, 134A, 65-71
- 66-ROCOURT J., SEELIGER H. P. R.  
Distribution des espèces du genre *Listeria*  
Zbl. Bakt. I. Abt. Orig., 1985, 259, 317-330
- 67-SARRUT S.  
La listériose maternofoetale. 1) Les lésions placentaires à propos de 75 observations  
Rev. Fr. Gynocol. Obst., 1975, 70, 711-720
- 68-SCHLECH III W. F., LAVIGNE P. M., BORTOLUSSI R. A., ALLAN A. C., HALDANE E. V., WORT  
A. J., HIGHTOWER A. W., JOHNSON S. E., KING S. H., NICHOLLS E. S., BROOME C. V.  
Epidemic listeriosis. Evidence for transmission by food  
New Engl. J. Med., 1983, 308, 203-206
- 69-SEELIGER H. P. R.  
Notion actuelle sur l'épidémiologie de la listériose  
Med. Mal. Infect., 1976, 6, spécial, 9-14
- 70-SEELIGER H. P. R.  
Apathogène listérien: *Listeria innocua* sp. n. (SEELIGER et SCHOOFS, 1977)  
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig., 1981, 249A, 487-493
- 71-SEELIGER H. P. R.  
Listeriosis- History and Actual Developments  
Infection 16, 1988, Suppl. 2, S 80-S 84
- 72-SEELIGER H. P. R., HÖHNE K.  
Serotyping of *Listeria monocytogenes* and Related Species  
Academie Press London, New-York, 1979, 13, 31-49
- 73-SEELIGER H. P. R., JONES D.  
Genus *Listeria*  
In P. H. A. Sneath A., Mair N. S., Sharpe M. E. and Holt J. G. (ed), Bergey's manual of systematic  
bacteriology, vol. 2. The Williams and Wilkins Co, Baltimore, 1986, p. 1235-1245
- 74-SEELIGER H. P. R., LINZENMEYER G.  
Etude sérologique des souches de *Listeria monocytogenes* isolées en France  
Ann. Inst. Pasteur, 1955, 88, 127-128
- 75-SEELIGER H. P. R., ROCOURT J., SCHRETTENBRUNNER A., GRIMONT P. A. D., JONES D.  
*Listeria ivanovii* sp. nov.  
Int. J. Bact., 1984, 34, 336-337
- 76-SEELIGER H. P. R., SCHOOFS M.  
Serological analysis of non hemolysing strains of *Listeria monocytogenes* sp.  
7th International Symposium on the problems of Listeriosis, Varna, Bulgarie, 1977
- 77-TERPLAN G., SCHOEN R., SPRINGMEYER W., DEGLE I., BECKER H.  
Vorkommen, Verhalten und Bedeutung von Listerien in milch und milchprodukten  
Anch. Lebensmit., 1986, 37, 129-156

78-WALTER F., SCHLECH III

New perspectives on the gastrointestinal mode of transmission in invasive *Listeria monocytogenes* infection  
Clinical & Investive Medicine, 1984, Vol. 7, n° 7, 321-324

79-WHO/OMS

La Listeriose d'origine alimentaire  
La Revue Prescrire, Juin-Juil 1988, Tome 8, n° 76,305

80-WIRSING VON KÖNIG C. H., HEYMER B., HOF H., FINGER H.

Course of infection and development of immunity in experimental infection of mice with *Listeria* serotypes  
Infect. Immun., 1983, 40, 1170-1177

**TABLE DES MATIERES**



PLAN .....	8
INTRODUCTION.....	14
<b>PREMIERE PARTIE :</b>	
<b>REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>16</b>
<b>I-LISTERIOSE ANIMALE ET HUMAINE.....</b>	<b>17</b>
I-1-FORMES NEURO-MENINGEES ET SEPTICEMIQUES.....	19
I-2-FORMES FCETO-MATERNELLES.....	20
I-2-1-Chez l'animal.....	20
I-2-2-En pathologie humaine.....	20
a-chez la femme enceinte.....	20
b-chez le nouveau-né.....	21
I-3-AUTRES FORMES.....	23
<b>II-EPIDEMIOLOGIE.....</b>	<b>24</b>
II-1-CONTAMINATION PAR LE MILIEU EXTERIEUR.....	26
II-2-CONTAMINATION PAR LES ANIMAUX.....	27
II-3-CONTAMINATION INTER-ANIMALE.....	28
II-4-CONTAMINATION INTER-HUMAINE ET AUTO-CONTAMINATION.....	28

<b>III-ISOLEMENT DES <i>LISTERIA</i> DANS LES ALIMENTS .....</b>	<b>31</b>
<b>III-1-EPIDEMIES D'ORIGINE ALIMENTAIRE.....</b>	<b>31</b>
III-1-1-Aux Etats-Unis .....	31
III-1-2-En Suisse .....	31
III-1-3-Autres épidémies .....	32
<b>III-2-METHODE DE RECHERCHE DES <i>LISTERIA</i> DANS L'ALIMENTATION .....</b>	<b>33</b>
III-2-1-Enrichissement au froids.....	33
III-2-2-Protocole FDA .....	35
III-2-3-Protocole USDA. FSIS .....	37
III-2-4-Anticorps monoclonaux.....	38
III-2-5-La sonde .....	41
<b>IV-BACTERIOLOGIE.....</b>	<b>42</b>
IV-1-MORPHOLOGIE .....	42
IV-2-CULTURE.....	43
IV-2-1-Condition de culture .....	43
a-Température .....	43
b-Le pH .....	43
c-Résistance aux conditions défavorables .....	43
IV-2-2-Aspect des cultures .....	44
IV-3-Caractères biochimiques.....	44
IV-3-1-Caractères généraux .....	44
IV-3-2-Caractères différentiels .....	45
IV-4-RECHERCHE DE L'HEMOLYSINE.....	47
IV-4-1-Nature de l'hémolyse.....	47
IV-4-2-Recherche de l'hémolysine .....	48
IV-5-CARACTERES ANTIGENIQUES : SEROTYPES .....	49

IV-6-CARACTERES LYSOTYPIQUES .....	50
IV-7-ISOENZYME.....	50
IV-8-CATALASE ET SUPEROXYDASE-DISMUTASE.....	50
<b>V-RÔLE ETIOLOGIQUE DES ALIMENTS.....</b>	<b>51</b>
V-1-L'ENSILAGE .....	52
V-2-LE LAIT.....	54
V-3-PRODUITS LAITIERS .....	54
V-4-PRODUITS CARNES.....	55
V-5-PROPHYLAXIE.....	60
<b>DEUXIEME PARTIE :</b>	
<b>EXPERIMENTATION PERSONNELLE .....</b>	<b>62</b>
INTRODUCTION.....	63
<b>I-MATERIEL ET METHODE .....</b>	<b>64</b>
I-1-ORIGINE DES SOUCHES SAUVAGES .....	64
I-2-RECHERCHE DE L'HEMOLYSINE.....	65
I-3-LES SOURIS.....	65
I-4-L'INOCULUM : PREPARATION DES GATEAUX.....	66
I-5-INFECTIION DES ANIMAUX.....	66
I-6-CINETIQUE.....	66

I-7-SACRIFICE .....	66
I-8-PRELEVEMENT DES ORGANES.....	67
I-9-DENOMBREMENT DES BACTERIES SUR LE FOIE ET LA RATE.....	67
I-10-DENOMBREMENT DES BACTERIES SUR LES CERVEAUX.....	68
I-11-EVOLUTION STATISTIQUE.....	68
<b>II-RESULTAT .....</b>	<b>69</b>
II-1-L'HEMOLYSINE.....	69
II-2-INOCULUM.....	69
II-3-CINETIQUE.....	69
II-3-1-Poids des animaux.....	71
II-3-2-Poids des rates .....	71
II-3-3-Dénombrement des germes dans le foie et la rate. ....	72
II-4-VIRULENCE DES 18 SOUCHES SAUVAGES DE <i>LISTERIA</i> .....	73
II-4-1-Poids des animaux.....	75
II-4-2-Poids des rates .....	76
II-4-3-Dénombrement des germes dans le foie et la rate. ....	78
II-4-4-Les cerveaux.....	80
<b>III-DISCUSSION.....</b>	<b>81</b>
<b>IV CONCLUSION.....</b>	<b>85</b>
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	87
TABLE DES MATIERES .....	95

PICAT (Isabelle, épouse COUTURIER). — Virulence de souches de *Listeria* d'origine alimentaire : infection expérimentale sur la souris. — 99 f. ; ill. ; tabl. ; 30 cm (Thèse : Pharm. ; Limoges ; 1992).

**RESUME :**

La Listériose est une infection d'origine alimentaire. Or, il existe une discordance entre les sérotypes de *Listeria* isolés à partir de produits alimentaires et ceux isolés à partir de pathologie humaine ou animale.

Cette constatation nous a conduit à rechercher la virulence de plusieurs souches sauvages du genre *Listeria* isolées d'aliments et de listérioses animales.

Nous avons mis au point un modèle expérimental : la souris Swiss infectée par voie orale par une dose appropriée de *Listeria*.

Les différents paramètres étudiés ont été le taux de mortalité, le dénombrement des *Listeria* dans la rate, le foie et le cerveau trois jours après le début de l'alimentation.

Cette étude expérimentale nous a permis de mettre en évidence l'existence de souches de *Listeria* monocytogènes serovar 1/2 a faiblement hémolytiques, avirulentes sur les souris. *Listeria* monocytogènes serovar 1/2 c, fréquemment retrouvé dans les aliments, est moins virulente que le serovar 4 b ; une des deux souches serovar 1/2 c a moins colonisé les organes que l'autre.

**MOTS CLES :**

- Infection per os.
- *Listeria*.
- Sérotype : virulence.
- Souris.

**JURY :** Président : Monsieur le Professeur NICOLAS.  
Juges : Madame le Professeur BOSGIRAUD.  
Monsieur LARTIGUE, Pharmacien.  
Monsieur SOUBIELLE, Docteur Vétérinaire.