

Les listeria monocytogènes dans les denrées alimentaires d'origine animale au Liban / C. Hilan, R. Kobeissy, R. Fidawi... [et al.]. — Extrait de : Annales de recherche scientifique. — n° 1 (1998), pp. 233-242.

Annexes. Bibliographie. Tableaux.

I. Echantillonnage — Liban. II. Aliments — Microbiologie. III. Aliments d'origine animale — Liban. IV. Listeria monocytogenes. V. Aliments — Contamination.

Kobeissy, R.. — Fidawi, R.

PER L1049 / FA56156P

LES LISTERIA MONOCYTOGÈNES DANS LES DENRÉES ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE AU LIBAN

C. HILAN
R. KOBEISSY
R. FIDAWI
M. HADDAD

SUMMARY

Following the assessment of general microbiological load of lebanese locally produced meat preparation and dairy products, Listeria monocytogenes was detected in 258 samples covering 24 dairy industries out of about 44; and several meat market points in all lebanese regions. It was observed that Baladi cheese which was made from fresh milk was most associated most with the growth of bacteria in general and listeria in particular. There was a poor correlation between the original number of listeria at the collection time and storage. Akawi has showed an insignificant growth of listeria, whereas Double Cream, Halloum, fresh milk and meat showed no growth at all. 3% of the locally produced dairy products were contaminated by Listeria monocytogenes i.e. 1.16 of food samples from animal origin. 22.1% of the meat and dairy products have showed some general microbiological growth such as Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Streptococcus, Salmonella, Yersinia enterocolitica, and Clostridia sp.

INTRODUCTION

Les aliments d'origine animale sont sujets à différentes sources de contamination bactérienne qui cause de nombreuses infections humaines, entre autres, une peu fréquente, la Listériose monocytogène (BARRUTI, S. *et al.* 1989).

Les listerias n'ont depuis longtemps concerné que le domaine médical ou

vétérinaire, et ce n'est qu'à la suite d'accidents récents (1985 aux USA, Californie, 1987 au Canada, 1992 en France) que le rôle des aliments a été suspecté (CATTEAU, 1994).

Au Liban, ce problème était jusqu'à présent inconnu, mais il a été soulevé à la suite d'accidents, comme les avortements fréquents chez les vaches, chèvres et brebis et dont les causes n'ont pas pu être identifiées; et des intoxications alimentaires collectives dont les bactéries en cause n'ont pas été mises en évidence mais qui évoquent les symptômes de listériose.

La listéria est une bactérie qui peut contaminer les aliments à n'importe quel stade de la préparation (KAYA et SCHMIDT, 1989). En Fromagerie par exemple, si la contamination intervient au début de la fabrication, le lot de fromage sera contaminé de façon homogène, et si la contamination intervient en fin de fabrication, le lot peut être contaminé de façon aléatoire, c'est-à-dire certains fromages sont contaminés, d'autres non. Dans le même fromage aussi la contamination peut être hétérogène (KAUFMANN, 1988).

De même, aucun contrôle sanitaire sur la viande de boucherie n'est appliqué dans le pays. Les carcasses dans le abattoirs ne sont pas contrôlées systématiquement; les locaux souffrent d'un manque d'hygiène et la manipulation de la viande au cours de sa transformation et sa distribution pourrait être souillée par les germes de *Listeria monocytogènes*.

Donc, la source de cette prolifération est surtout le manque d'hygiène, et, une viande contaminée peut à son tour contaminer les légumes consommés crus s'ils sont coupés au même endroit que la viande (FRAZIER et WESTHOFF, 1983). De même, «la psychrophilie de ce germe lui permet en outre de se multiplier dans des aliments peu contaminés au départ, malgré l'application correcte de la chaîne de froid» (WAUTERS, 1994).

Listeria monocytogène est susceptible de se multiplier dans de nombreux aliments, à différentes températures de croissance (+1°C - +45°C), à un Ph variable (ph5 - Ph 9,6) et même en présence de 10% de NaCl. C'est un germe psychrotrophe qui présente une capacité étonnante à survivre dans des conditions environnementales difficiles (KAUFMANN, 1988).

D'après M. CATTEAU, les premières épidémies d'origine alimentaire étaient dues aux végétaux et surtout aux laits et aux produits laitiers. Plus récemment, les produits carnés ont provoqué de graves épidémies. Chez l'homme, le germe est responsable d'avortements, de méningites et de septicémies chez le nouveau-né, et l'adulte immunodéficient ou âgé. La listériose est une infection relativement rare mais grave.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les équipements et matériels habituels pour les cultures microbiologiques ont été utilisés. Les milieux sélectifs de culture et réactifs nécessaires sont ceux recommandés par ANDREWS, 1992, milieu d'enrichissement, bouillon Fraser additionné d'un supplément spécifique à base d'acide nalidixique, cyclohexamide et acriflavine hydrochloridrique, milieu d'isolement solutif oxford modifié au Moxalactam, additionné d'un supplément à base de cyclohexinide, sulfate de colistine, Acriflaxine, Cefatetan et fosfomycin (CURTIS *et al.*, 1989), gélose au sang avec du sang de mouton, réactif pour la galerie biochimique, matériels et réactifs pour la technique Elisa (TRANSIA, 1993).

Les échantillons des bovins, ovins, caprins, tirés des côtelettes, des tissus masseters, des muscles et de la viande hâchée, sont achetés directement des boucheries, c'est-à-dire que cette viande a subi la manipulation du boucher, où elle est passée dans ses machines.

Alors que les échantillons de porcins tirés à partir des amygdales proviennent des abattoires se trouvant au Mont-Liban, les autres régions ne consomment pas la viande de porc pour des raisons religieuses.

Ainsi cent cinquante sept échantillons: amygdales et viscères de porcs (99), viande bovine (31), viande ovine (21), viande caprine (6), ont été collectés des différentes régions du pays.

Les échantillons des produits laitiers (lait et fromages) de production locale ont été prélevés dans différentes usines réparties dans toutes les régions libanaises: 6 au Mont-Liban et Beyrouth, 13 dans la Békaa, 3 au Liban-Sud et 2 au Liban-Nord. Au total des produits laitiers de 24 usines ont été contrôlés et analysés. Le nombre des usines de produits laitiers recensées par le ministère de l'industrie est: 10 au Mont-Liban et Beyrouth, 23 dans la Békaa, 6 au Liban-Sud et 5 au Liban-Nord, soit un total de 44 usines recensées. Tous les échantillons collectés ont été envoyés directement au laboratoire de Fanar, dans des caisses réfrigérées selon les recommandations du Codex alimentarius (Sampling Methods 14/6 FAO, Codex Alimentarius).

Le tableau 1 montre la répartition géographique des usines de produits laitiers et des boucheries visitées ainsi que les produits laitiers et carnés soumis à l'analyse.

Tableau n°1. Répartition géographique des échantillons

Régions	Mont-Liban Beyrouth	Békaa	Liban-Nord	Liban-Sud	Total
Total Produits carnés	119	6	15	17	157
Bovin:					31
A	3	1	3	4	
B	8	2	2	7	
C	0	0	1	0	
Ovin:					21
A	0	1	1	0	
B	6	0	1	5	
C	3	2	2	0	
Caprin:					6
A	0	0	1		
B	0	0	1	1	
C	0	0	3		
Porcin	99	0	0	0	99
Lait	10	9	4	2	25
Fromage:					
Baladi	9	8	14	9	40
Double crème	6	10	4	3	23
Halloum	2	2	1	3	8
Akaoui	1	2	1	1	5
Total échantillon	147	37	39	35	258

A= viandes hachées, B = muscles, C = viandes consommées crues, D = viscères (amygdales)

L'identification des listérias se fait par la voie bactériologique (Codex Alimentarius, Food Microbiology 14/4FAO) (Sanofi diagnostic Pasteur *Listeria analysis*, fiche)(Difco manual, 1953), puis la confirmation se fait par la voie immunoenzymatique, méthode ELISA, qui est un test rapide, sûr, efficace et simple d'application. (Annex 1: Comparaison entre les deux méthodes d'identification de *Listéria monocytogenes*: la voie bactériologique et la voie immunoenzymatique).

La différenciation entre *Listéria monocytogenes* et autres Listérias (*L. Ivanovii*, *L. innocua*, *L. Welshimeri*, *L. seeligeri*), se base sur les éprouves biochimiques et enzymatiques (AGELLO et al., 1986), (DIFCO MANUEL, 1953), (Annexe 2).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Tableau n°2. La présence de *Listeria monocytogenes* dans les denrées alimentaires

Échantillons	Conformes				Non conformes				% non mes	Listeria monocytogenes
	M	B	N	S	M	B	N	S		
Viande bovine: nombre pourcentage	10 90,9	3 100	5 83,3	9 81,8	1 9,09	- -	1 16,6	2 18,18	4 12,9	négatif
Viande ovine: nombre pourcentage	8 88,88	2 66,6	4 100	4 80	1 11,11	1 33,33	0 0	1 20	3 14,3	négatif
Viande caprine: nombre pourcentage	- -	- -	4 80	0 0	- -	- -	1 20	1 100	2 33,3	négatif
Viande porcine: nombre pourcentage	94 95	- -	- -	- -	5 5,05	- -	- -	- -	5 5,05	négatif
Lait: nombre pourcentage	2 20	3 33,3	3 75	1 50	8 80	6 66,6	1 25	1 50	16 64	négatif
Fromage: * <i>Baladi</i> nombre pourcentage	7 77,7	6 75	8 57,2	6 66,6	2 22,2	2 25	6 42,8	3 33,3	13 32,5	2 positifs
* <i>Double crème</i> nombre pourcentage	4 66,6	5 50	3 75	2 66,6	5 33,3	5 50	1 25	1 33,3	9 39	négatif
* <i>Halloum</i> nombre pourcentage	1 50	1 50	1 100	2 66,6	1 50	1 50	- 0	1 33,3	3 37,5	négatif
* <i>Akawi</i> nombre pourcentage	1 100	1 50	1 100	0 0	- 0	1 50	- 0	1 100	2 42	1 positif
Total nombre pourcentage	127 86,4	21 56,7	29 74,4	24 68,6	20 13,6	16 43,2	10 25,6	11 31,4	57 22,1	3 positifs 1,16

M: Beyrouth et Mont Liban; B: Békaa; N: Liban-Nord; S: Liban-Sud

25 échantillons de lait ont été analysés: 9 seulement (36%) se sont avérés indemnes d'une contamination bactérienne et 16 échantillons (64%) ont montré la pousse de coliformes, de microorganismes aérobiques et des *Staphylococcus aureus* en un nombre supérieur à celui admis selon les normes du Codex Alimentarius. La source de contamination pourrait être due aux problèmes de l'élevage et à l'hygiène des ustensiles.

40 échantillons de fromage Baladi ont été analysés. 13 (32,5%) se sont avérés contenir des coliformes fécaux et des staphylocoques aureus. Ils sont considérés par conséquent impropres à la consommation humaine. Des salmonelles ont été identifiées dans 7 échantillons contaminés. La cause principale de contamination pourrait être, due à un manque d'hygiène, au cours de la transformation.

23 échantillons de fromage double crème ont été analysés. 9 (39%) sont contaminés par des coliformes fécaux, donc impropres à la consommation humaine. L'eau s'est avérée être la source principale de cette contamination.

Enfin, 5 échantillons de fromage Accawi et Halloum se sont avérés souillés sur les 12 échantillons analysés. Ces genres de fromage sont préparés à l'inverse des autres, à partir de lait pasteurisé ou même stérilisé. La contamination provient dans ce cas d'un manque d'hygiène après la transformation. Le pourcentage de contamination est respectivement 37,5% et 40%.

12,9% des viandes bovines, 14,3% des viandes ovines, 33,3% des viandes caprines et 5,05% des viandes porcines se sont avérés souillées de coliformes fécaux, de bactéries anaérobiques sulfito-réductrices, de Salmonelles ou de *Yersinia enterocolitica*. Elles sont par conséquent impropres à la consommation.

La présence du germe *Listéria monocytogenes* a été négative dans tous les échantillons de lait et de viandes (bovine, ovine, caprine et porcine) mais positive dans 3 échantillons de fromage, qui sont contaminés à une concentration de plus de 1000 colonies/gram.

Deux fromages Baladi sont positifs à la concentration 6000 colonies/gram et de 5000 colonies/gram et un fromage Accawi positif à la concentration de 2000 colonies/gram.

Tous les échantillons de lait et fromages ont été analysés par la technique Elisa qui est sûre, simple et plus rapide. Cette dernière a confirmé les cas prouvés positifs à un pourcentage élevé par rapport à l'antigène de contrôle positif.

On peut conclure des résultats obtenus que 3% des produits laitiers ou 1,16% des produits alimentaires d'origine animale livrés sur le marché sont souillés de *Listéria monocytogenes*. Ce chiffre pourrait être bien élevé si les fromages provenaient de lait non pasteurisé, car l'action de la chaleur est néfaste à la pousse de ce germe. Par contre sa multiplication est favorisée par la température basse de stockage si la contamination se produit au cours de la fabrication ou à la suite d'une mauvaise hygiène personnelle. La présence de listéria monocytogenes dans la nature et l'environnement libanais ne doit pas être négligée.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Listeria monocytogènes, comme tout germe d'origine alimentaire, est largement distribué dans l'environnement, et sa transmission à l'homme est essentiellement d'origine animale. Le risque de contamination est lié uniquement à des fautes d'hygiène:

- Contamination des matières premières;
- Contamination au cours de la transformation;
- Mauvaises conditions de stockage permettant la multiplication des bactéries.

Des mesures devraient être prises au niveau de la réhabilitation des abattoirs et des usines, l'hygiène du personnel et des locaux et l'éducation du consommateur pour qu'il puisse éviter les sources d'infection et d'intoxication alimentaire.

BIBLIOGRAPHIE

- ACELLO, G., HAYES, P. & FECLEY, J., 1986, Abstract of the annual meeting ASM, Washington DC, PS, 156 pages.
- ANDREWS, W., 1992, *Manual of food*, FAO of the U.N., Rome, 385 pages.
- AVIL, J.C., DABERNAT, H., DENIS, F. et MONTEIL, H., 1992, *Bactériologie clinique*, édition Marketing, Paris, 283 pages.
- BARRUTI, S., GHISI, M. & COMPANINI, M., 1989, Listeria in meat products Isolation, incidence and growth characteristics, in *Industrial Censerve 64*, pp. 221-224.
- CATEAU, M., 1994, Listéria Fréquence et croissance dans les aliments, in *Journée Listéria, Le Point*, Paris, pp. 9-32.
- CURTIS, C.D.W, MITCHELL, R.G., KING, A.F. & GRIFFIN, E.G., 1989, Letters in applied microbiology 8, pp. 95-98.
- DIFCO, Manual, 1953, *Microbiological and clinical laboratory procedure*, 9th edition, Michigan, USA, 120 pages.
- FRAZIER, W.C. & WESTHOFF, D.C., 1983, *Food microbiology*, 3rd edition, 520 pages.
- KAUFMAN, H.E., 1988, Listeriosis, new findings-current concern, in *Microbiol. pathogen* 5, pp. 225-231.
- KAYA, M. & SCHMIDT, U., 1989, Behaviour of Listeria monocytogenes in minced meat during cold or frozen storage, *Fleischforschung kulmbach* 103, pp. 25-23.
- Transia, Détection-Immunoenzymatique de Listéria*, Janvier 1993.
- WAUTERS, G., 1994, *Cours International de microbiologie des aliments*, Institut Pasteur de Lille, 13 pages.

ANNEXE 1

La comparaison entre les deux méthodes de détection de listéria Monocytogenes: la voie bactériologique et la voie immunoenzymatique.

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

Réaction Elisa	
<p>1- Répartition des échantillons</p> <p>2- Addition du conjugué</p> <p>3- Incubation</p> <p>4- Cinq lavages successifs</p> <p>5- Addition du mélange substrat/ chromogène</p> <p>6- Incubation</p> <p>7- Arrêt de la réaction</p> <p>8- Résultat</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Distribuer 100µ/puits - Prévoir: *1 témoin positif: 100µl *2 témoins négatifs: 100µl - Ajouter 100µl de conjugué dans tous les puits - Agiter légèrement puis couvrir la plaque - 1 heure A +20°C - +25°C - Laver à la pissette - Distribuer 100µl de mélange par puits - 30 minutes A +20°C - +25°C - Ajouter 50µl de solution d'arrêt dans chaque puits → Lecture à 450nm - Blanc sur air - DO témoin +: TP>0.700 - DO témoin -: TN1 et TN2 < 0.300 - Seuil de positivité: TN+0.150

ANNEXE 2

Differentiation of *Listeria* species

Species	Beta Hemolytic	Nitrate Reduction	Utilisation			Sheep blood stab	Virulence (mouse test)
			Mannitol	Rhamnose	Xylo		
<i>L. monocytogenes</i>	+	-	-	+	-	+	+
<i>L. ivanovii</i>	+	-	-	-	+	+	+
<i>L. innocua</i>	-	-	-	va	-	-	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-	-	va	+	-	-
<i>L. seeligeri</i>	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. gravi</i>	-	-	+	-	-	-	-
<i>L. murrayi</i>	-	+	+	va	-	-	-

Camp test reactions of *Listeria* species (Higgins & Robison, 1993)

Species	Hemolytic reaction	
	Staphylococcus Aureus	Rhodococcus equi
<i>L. monocytogenes</i>	+	-
<i>L. ivanovii</i>	-	+
<i>L. innocua</i>	-	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-
<i>L. Seeligeri</i>	+	-