

Les informations, opinions et recommandations contenues dans la présente fiche proviennent de sources dites fiables de la littérature et ne doivent être utilisées que comme des guides pour obtenir des données relatives au danger considéré, à la maladie provoquée, aux aliments impliqués et aux mesures d'hygiène et de maîtrise recommandées aux professionnels et aux particuliers. Ces fiches ne sauraient valoir comme procédés spécifiques de production.

Juin 2006

# Listeria monocytogenes

#### A) Nature et habitat

### a. Principales caractéristiques microbiologiques.

Petit bacille à Gram positif, mobile, non sporulé. Aérobie-anaérobie facultatif, fermente de nombreux glucides sans gaz. Ne produit pas d'urée et d'indole.

Le comportement de L. monocytogenes est assez variable selon les souches, quelque soit le facteur étudié ( $T^{\circ}C$ , pH,  $a_{w}$ ) et le type de matrice alimentaire.

- température de croissance : entre 2° et + 45° C, température optimale entre + 30° et + 39° C
- pH de croissance : entre 4,6 et 9,6 , pH optimal 7,1
- atmosphère : cultive bien en conditions microaérophiles mais également en aérobiose et en anaérobiose. Peut cultiver en présence de 30% de CO2
- activité de l'eau : aw minimale 0,90 si le glycérol est utilisé pour ajuster à l'aw, 0,92 à 0,93 si le NaCl (=11,5% NaCl), le saccharose ou l'extrait de viande sont utilisés

NB: Classe de confinement de L. monocytogenes: classe 2. Les autres espèces du genre Listeria (L. innocua, L. ivanovii, L. seeligeri, L. welshimeri, et L. grayi) ne sont pas pathogènes pour l'homme.

### b. Caractère zoonotique<sup>1</sup>

L. monocytogenes a été isolée dans de très nombreuses espèces animales, généralement de porteurs intestinaux asymptomatiques. Les bovins, ovins et caprins peuvent développer des formes cliniques nerveuses et abortives, similaires à celles observées chez l'homme. En outre, l'encéphalite à Listeria a été décrite chez le porc et des septicémies dues à Listeria ont été observées chez des monograstriques (porc, carnivores, lapin, mais aussi veau ou agneau). Néanmoins, il est important de souligner que la transmission à l'homme se fait dans la plupart des cas par voie alimentaire et que la transmission directe de l'animal à l'homme n'est pas documentée.

#### c. Réservoir (tellurique, environnemental, animal, humain)

Listeria est une bactérie ubiquiste, tellurique, très largement répandue dans l'environnement, et qui possède de grandes capacités de résistance dans le milieu extérieur (1 à 2 ans dans le sol et plusieurs années si le prélèvement est conservé en réfrigération). Listeria a été isolée, dans de nombreux pays de l'hémisphère Nord, de prélèvements de terre, d'eaux de diverses origines (lacs, rivières, eaux d'égouts ou de baies) ainsi que de la végétation. Environ 10% des ensilages contiennent L. monocytogenes parfois en nombre important dans les ensilages de mauvaise qualité qui sont à l'origine de contaminations fréquentes des ruminants. L'environnement est principalement contaminé par les excrétas d'animaux sains et malades : 10 à 30% des bovins, ovins, porcins et poulets hébergent naturellement cette bactérie dans leur tube digestif.

### B) Maladie humaine : la listériose.

Les infections à *L. monocytogenes* sont sérieuses mais heureusement « rares ». La bactérie pouvant contaminer un certain nombre d'aliments, de nombreuses personnes ingèrent assez fréquemment de petites quantités de *L. monocytogenes* sans qu'aucun symptôme n'apparaisse.

# a. Formes symptomatiques et formes infectieuses asymptomatiques

La durée d'incubation est comprise entre 48 heures et 3 mois (moyenne 1 mois). Atteintes du système nerveux central (méningites, méningo-encéphalites, plus rarement encéphalites, abcès du cerveau), septicémie. Les infections se manifestent chez la femme enceinte sous forme de syndrome pseudo-grippal mais peuvent être à l'origine d'avortement, mort *in utero*, prématurité, infection néo-natale. Séquelles neurologiques observables chez les sujets atteints d'une infection du système nerveux central. La létalité est importante, de 20 à 30 % selon les études. *L. monocytogenes* génère une immunité à médiation cellulaire. Des récidives impliquant la même souche ont été décrites, principalement chez les sujets immunodéprimés. Le portage asymptomatique au sein de la population générale est estimé à 1 à 20%.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Zoonose : maladie ou infection qui peut être transmise dans des conditions naturelles, des animaux vertébrés à l'homme.

### Modalités de contamination humaine autres que par les aliments et risque de transmission interhumaine secondaire

Transmission cutanée, nosocomiale ou verticale (de la mère au fœtus) possibles mais la transmission alimentaire est de loin la transmission la plus importante de l'ordre de 99% des cas aux USA. La transmission cutanée est rarissime. Elle a été observée chez des vétérinaires et des fermiers après la mise bas d'un animal infecté sans protection des avant-bras. La transmission nosocomiale, dans des services de gynécologie-obstétrique ou des nurseries, est également rare. Pas de cas de transmission inter-humaine.

### c. Populations à risque

La listériose survient préférentiellement chez les sujets dont le système immunitaire est perturbé, soit naturellement (nouveau-né, femmes enceintes, personnes âgées), soit en raison d'une maladie (SIDA et séropositivité au VIH, cancers), soit en raison de traitements (corticothérapie, chimiothérapie).

### d. Relations dose-effet et dose-réponse

La probabilité d'infection sévère ou de listériose invasive dépend de l'état immunitaire de l'hôte et de la dose ingérée (N). Un effet «souche» n'est pas formellement démontré compte-tenu de l'incertitude concernant l'hétérogénéité de la virulence des souches de L. monocytogenes. Le modèle exponentiel (P=1-e-r.N) est le plus utilisé (un paramètre à estimer, pas de seuil minimum et relation dose-probabilité de maladie proportionnelle pour les faibles doses). « r » est la probabilité qu'une L. monocytogenes provoque une infection sévère ou une listériose invasive, pour une population donnée.  $rmédiane = 1,06 \ 10-12 \ [0,24 \ 10-12 \ - 9,32 \ 10-12]$  et  $rmédiane = 2,37 \ 10-14 \ [0,35 \ 10-14 \ - 2,70 \ 10-14]$ , respectivement, au sein d'une population dite sensible et générale.

### e. Diagnostic

Le diagnostic est effectué sur la base de l'isolement de *L. monocytogenes* à partir d'un prélèvement clinique. Bien que de nombreux sérodiagnostics aient été utilisés depuis plusieurs décennies, ceux-ci ne sont pas recommandés actuellement.

### f. Traitement et prévention médicale

Le traitement consiste en une antibiothérapie. Celle-ci doit être administrée le plus tôt possible. Un grand nombre d'antibiotiques sont actifs sur *Listeria* mais pénicilline et ampicilline, éventuellement avec un aminoglycoside (gentamicine) sont considérés comme la combinaison de choix. De rares souches résistantes à un ou plusieurs antibiotiques ont été décrites, notamment au triméthoprime, au chloramphenicol, à l'érythromycine, à la streptomycine, à la kanamycine, à la rifampicine, la résistance la plus fréquente étant la résistance à la tétracycline. Aucun vaccin, aucune prophylaxie.

### g. Prévalences et/ou incidences annuelles. Caractère épidémique.

La surveillance de la listériose est réalisée en France par l'intermédiaire de la Déclaration Obligatoire (DO) depuis 1999 et du Centre national de référence des Listeria (CNR) situé à l'Institut Pasteur depuis 1990, qui centralise et caractérise les souches de L. monocytogenes provenant des laboratoires de microbiologie et qui participe à la DO en déclarant à l'InVS toutes les souches reçues au CNR. La DO a comme objectif de disposer d'informations d'une part sur les patients (forme clinique, âge, lieu de résidence) afin de suivre les tendances évolutives de cette maladie en France et d'autre part sur la consommation alimentaire du patient afin de pouvoir, lors de cas groupés de listériose remonter à une éventuelle source commune de contamination. La surveillance microbiologique faite par le CNR a pour objectif principal la détection des cas groupés. En parallèle à la confirmation de leur appartenance au genre Listeria, les souches sont caractérisées par sérotypie et analyse des profils de macrorestriction d'ADN. Les souches ayant des profils de macrorestriction non différentiables sont considérées comme ayant un pulsovar identique. Lorsque le CNR détecte, sur une période de 14 semaines, 3 cas de listériose dus à des souches du même pulsovar, il signale ces cas groupés à l'InVS qui analyse ce signal. En cas de suspicion de source commune, une investigation multidisciplinaire est mise en oeuvre conduite par la «cellule Listeria» chargée de la coordination des investigations et des actions.

En 1999, le taux d'incidence annuel observé était de 4,4 cas de listériose / million d'habitants et une incidence de 0,09 cas/1000 grossesses. L'incidence a diminué pendant la période 2001-2003 où elle se situe autour de 3,5 cas par million. Grâce aux efforts conjugués des producteurs, des pouvoirs publics et des autorités sanitaires, l'incidence de la listériose qui était dans les années 80 supérieure à celle des autres pays industrialisés, est maintenant du même niveau que dans les pays qui appliquent la tolérance zéro *Listeria* dans les aliments comme les USA et elle est inférieure à l'incidence de plusieurs pays européens, notamment des pays scandinaves.

# C) Rôle des aliments

### a. Aliments impliqués (eaux, denrées animales et végétales)

Toutes les grandes catégories d'aliments, qu'il s'agisse du lait et des produits laitiers, de la viande crue et des produits carnés, des végétaux, ou encore des poissons ou crustacés et des plats préparés peuvent être contaminés par cette bactérie, avec des fréquences et des taux de contamination

variables. La fréquence de contamination par *L. monocytogenes*, ainsi que le niveau de contamination, varient selon les catégories d'aliments, qu'il s'agisse d'aliments crus ou transformés. Les aliments cuits peuvent également rester contaminés à la suite d'un traitement thermique insuffisant ou être contaminés par une contamination croisée post-traitement.

L'aptitude particulière à se multiplier aux températures de réfrigération explique pourquoi *L. monocytogenes* est le plus souvent associée aux aliments réfrigérés à durée de conservation longue : en matière de *L. monocytogenes*, un aliment à risque est un aliment consommé en l'état, permettant la croissance de *L. monocytogenes* et conservé un certain temps à température réfrigérée.

### b. Conditions conduisant à la contamination, au développement et à la survie du microorganisme dans l'aliment : principales épidémies

La contamination des aliments par *L. monocytogenes* peut survenir à tous les stades de la chaîne alimentaire, qu'il s'agisse des matières premières, de la transformation, de la logistique, de la distribution ou encore chez le consommateur.

### Lait et produits laitiers

Le lait cru peut être contaminé soit par un animal malade excréteur, soit au moment de la traite par contamination fécale ou contamination du lait par les aliments du bétail. Dans ces 2 derniers cas, le rôle des ensilages de mauvaise qualité est à mettre en relief. Ce lait cru contaminé utilisé en fabrication fromagère, particulièrement en pâte molle croûte fleurie ou croûte lavée permet aux *Listeria* de se multiplier au cours de l'affinage (en particulier près de la croûte) et explique les épidémies décrites. Des accidents ont pu être observés également dans des fabrications utilisant des laits « thermisés » ou insuffisamment chauffés ou des fabrications utilisant des laits convenablement pasteurisés mais recontaminés en cours de fabrication (saumurage, contamination par le matériel.....)

### Viandes et produits carnés

Les viandes crues sont assez souvent contaminées par un petit nombre de *L. monocytogenes* qui se multiplient en général assez mal sur ce support. Lorsque des souches lactiques sont ajoutées (fabrication de saucisson sec par ex.) les *L. monocytogenes* sont inhibées et leur nombre diminue au cours de l'élaboration du produit. Des épidémies ont été décrites mettant en cause des produits de charcuterie cuite : langue de porc en gelée, rillettes, mortadelle... La contamination a lieu assez souvent après la cuisson (contaminations environnementales)

#### Produits végétaux

De nombreux produits végétaux peuvent être contaminés par *L. monocytogenes* (contamination par le sol). La contamination est en général faible. Certains produits élaborés (salades ensaucées, coleslaw, etc.) constituent des milieux favorables à la croissance de *Listeria*. Quelques rares accidents ont été signalés

### Poissons et produits de la pèche

Ce sont surtout les produits fumés (saumon, truite....) qui sont le plus souvent contaminés. *L. mo-nocytogenes* peut se multiplier au cours de la conservation en réfrigération. Cependant seuls de rares accidents ont été signalés. Le taux de contamination a assez sensiblement diminué ces dernières années. Un certain nombre d'épidémies ont été observées en Europe et sur le continent Nord-Américain depuis 1981, qui, quel que soit le pays, ont été fréquemment associées à des produits laitiers et à des produits carnés.

### c. Mesures de maîtrise dans le secteur alimentaire

#### Bonnes pratiques d'hygiène (BPH)

Le respect de la chaîne du froid de « la fourche à la fourchette », la détermination de la date limite de consommation (DLC) du produit mis sur le marché par des tests de vieillissement, de croissance et/ou l'application de la microbiologie prévisionnelle, associés à l'historique des résultats de l'entreprise et au procédé de transformation (selon la norme NF V01 003 et l'avis AFSSA 2003-sa-0362 du 9 mars 2005) ainsi que le nettoyage-désinfection des surfaces et l'hygiène - formation du personnel, sont autant de BPH à appliquer, à surveiller et à tracer.

Le professionnel doit définir un plan de maîtrise (bonnes pratiques d'hygiène et application des principes HACCP) de la sécurité et de la salubrité de ces produits, basé sur une analyse préalable des dangers (ISO 22000:2005). Les étapes pour maîtriser la contamination des produits par *Listeria* sont spécifiques du procédé de transformation de chaque produit, cependant la température des produits, l'hygiène des locaux et des matériels sont autant de points communs déterminants à maîtriser pour l'ensemble des produits.

# • Caractéristiques des traitements physiques, chimiques et biologiques assainissants

L'application de 375 MPa pendant 15 min à 20  $^{\circ}$ C permet l'obtention de 5 réductions décimales du la population bactérienne, mais la résistance dépend des souches et du milieu. Une dose de 2kGy est suffisante pour détruire les cellules aux concentrations habituellement rencontrées dans les aliments. La dose de réduction décimale (D<sub>10</sub>) se situe en moyenne (fonction de la T  $^{\circ}$  et de l'aliment) à 0,56kGy (0,25 – 0,77 kGy).

Les désinfectants usuels sont efficaces sur cette bactérie. *L. monocytogenes* est un microorganisme thermosensible dès 55°C. Cependant, le développement de la thermotolérance des isolats est possible lors d'un préchauffage avant pasteurisation. *L. monocytogenes* est rapidement détruite au dessus de pH 10. Le pH minimum de survie dépend des acides minéraux et/ou organiques utilisés.

L. monocytogenes survit pendant au moins 100 jours à 15-20 °C dans une viande de bœuf saumurée (22% NaCl) et pendant au moins 60 jours à 4 °C dans une viande en saumure à 30% NaCl + nitrates. La mort cellulaire s'observe avec une phase de latence variable qui est fonction de l'état physiologique des bactéries.

#### d. Surveillance dans les aliments

### Réglementation en vigueur

L. monocytogenes est pris en compte dans les critères de sécurité du règlement (CE) N° 2073/2005 du 15 novembre 2005. Les denrées alimentaires prêtes à être consommées, destinées aux nourrissons et celles destinées à des fins médicales spéciales ne doivent pas contenir de L. monocytogenes dans 25 g. Pour les denrées alimentaires prêtes à être consommées, autres que celles destinées aux nourrissons et à des fins médicales spéciales permettant le développement de L. monocytogenes, le critère est également « absence dans 25 g. » sauf si le fabricant peut apporter la preuve, à la satisfaction de l'autorité compétente, que le produit respectera la limite de 100 L. m par g. pendant toute la durée de conservation. Cette preuve peut être apportée par différents moyens (tests de vieillissement (NF V01003), tests de croissance (pr NF V01009), microbiologie prévisionnelle, etc.). Enfin pour les aliments prêts à être consommés, ne permettant le développement de L. monocytogenes: la limite à respecter est de 100 L. m par g. pendant la durée de conservation

# • Principes des méthodes de détection, de dénombrement et de typage

Le microbiologiste dispose aujourd'hui d'un grand nombre de méthodes.

Méthodes normalisées : 2 méthodes de référence :

- NF EN ISO 11290-1 : méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de L. monocytogenes. Partie 1 : méthode de recherche (+amendement du 1<sup>er</sup> février 2005 : modification du milieu d'isolement)
- NF EN ISO 11290-2 : Partie 2 : méthode de dénombrement (+amendement du 1<sup>er</sup> février 2005 : modification du milieu d'isolement, de la recherche de l'hémolyse, et introduction des données de fidélité)

Méthodes validées (AFNOR) : elles appartiennent à 4 catégories :

- o Celles utilisant des milieux de culture spéciaux,
- Celles mettant en œuvre la PCR.
- o Celles mettant en œuvre des méthodes immunoenzymatiques,
- o Celles utilisant les principes de l'hybridation moléculaire.

Le typage des souches peut se faire par sérotypage ou typage moléculaire (profil de macrorestriction d'ADN (pulsotypage) par exemple).

### D) Hygiène domestique

L. monocytogenes se multiplie aux températures de réfrigération, surtout si celles-ci ne sont pas assez basses. Or la température des réfrigérateurs ménagers est trop souvent mal maîtrisée : trop élevée et très hétérogène. Parmi les conseils importants à respecter :

- Disposer d'un réfrigérateur équipé d'un thermomètre, délivrant un froid proche de 4° C (fiche « hygiène domestique »)
- Pour les femmes enceintes ou les consommateurs à risque, éviter les aliments les plus fréquemment contaminés en L.monocytogenes tels que les fromages à pâte molle au lait cru et les produits de charcuterie consommés en l'état, tels que les rillettes, les pâtés et les produits en gelée (guide PNNS).

#### Références utiles

Listeria, listeriosis and food safety. Second edition (T. Ryser, E.H. Marth, eds.), Marcel Dekker, USA, 1999.

Morbidité et Mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France. Mars 2004. Institut de Veille Sanitaire, France.

Rapport de la commission d'étude des risques liés à Listeria monocytogenes. Juillet 2000. AFSSA.

Risk Assessment of Listeria monocytogenes in Ready-to-eat Foods: Interpretative Summary. WHO 2004.

Avis AFSSA du 9 mars 2005.

Liens utiles: http://www.afssa.fr, http://www.who.int/fsf/mbriskassesss, InVS.sante.fr

Cette fiche a été élaborée par M. CATTEAU en Juin 2006. Coordination scientifique : R. Lailler