الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université de Jijel
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de La nature et de la vie
Département de Biologie moléculaire et Cellulaire

جامعة جيجل
كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة و الحياة
قسم البيولوجية الجزيئية و الخلوية

Mémoire

EN VUE DE L'OBTONTION DU DIPLOME D'ETUDES SUPERIEURES EN BILOGIE
(DES)
Option : Microbiologie

LISTERIOSE AU COURS DE LA GROSSESSE

Membre de Jury :

Encadreur : M^{eme} Benhamada W.
Examinateur :M^{er} Khennouf T.

Présenté par :

Macharih Moncif
Merabet Réda

Année Universitaire : 2011/2012

Remerciements

Nous tenons tous d'abord à exprimer nos remerciements à Dieu, le tous puissant et maitre de l'univers qui nous a donné la capacité nécessaire, la forte volonté et la patience afin d'accomplir ce travail, et qui nous a toujours guider vers le bon chemin.

Notre témoignage le plus ardent et nos sincères remerciements vont également aux membres de jury:

Monsieur KHENNOUF T. pour leur disponibilité.

Nous aimerons par ailleurs remercier tous ce qui nous ont aidé de prés ou de loin pour réaliser se travail, en particulier notre encadreur madame BENHAMADA Wahiba qui nous a proposé ce sujet de recherche et qui nous a encadré par ses conseils et ses efforts durant la préparation de notre mémoire.

Nous plus vifs remerciements et toutes nos reconnaissances vont à tous les enseignants de département d'écologie et environnement de l'Université de Jijel. Nous ne serions bien sur jamais arrivés la sans l'aide et le soutien de nos famille. Merci à nos parents pour avoir toujours cru à nous, merci de nous soutenue dans cette voie, merci de votre présence, de vos encouragements, de vos conseils, de vos attentions constantes. Merci pour tous, nous espérons de vous rendre le bonheur que vous nous apportez.

Merci à tous

Moncif &Réda

LISTES

DES

ABRÉVIATIONS

Liste des abréviations

CASFM: Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

ADN : Acide disoxyribo Nucleïque.

AFNOR: Association Française de Normalisation.

AFSSA : Agence Française de sécurité sanitaire des aliments.

ARN : Acide Ribo Nucleïque.

CNR : Centre National de Référence.

DGS : Direction générale de la santé.

DHPS: dihydroprotéase synthétase.

DO : Déclaration obligatoire.

FAO: Food and agriculture organization.

G : Guanine, **C :** Cytosine.

ISO: International for Standardisation Organisation.

LCR : liquide céphalorachidien.

LRR: leucine-rich repeats.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

PLP : protéines liant pénicilline.

SIDA : syndrome immunodéficitaire acquis.

UVM : milieu de l'Université de Vermont.

LISTES

DES TABLEAUX

ET

DES FIGURES

Liste des tableaux

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

Tableau II : Localisation du microbe da la listériose chez la femme enceinte.

Tableau III : Principaux caractères différentiels de *L. monocytogenes* (morphologie exclue).

Tableau IV : Sensibilité aux antibiotiques (S : sensible, R : résistante).

Liste des figures

Figure 1 : Aspect de *L. monocytogenes* au Gram.

Figure 2 : Microscopie électronique de *L. monocytogenes*.

Figure 3 : Etapes de processus infectieux.

Figure 4 : Placenta avec nombreux abcès résulte d'une contamination à *L. Monocytogenes*.

Figure 5 : Différentes étapes du cycle d'infection cellulaire (microscopie électronique).

Figure 6 : *L. monocytogenes* en position intracellulaire : visualisation de la queue filamenteuse d'actine.

Sommaire

CHAPITRE I : Etude bactériologique

Introduction.....1
I.1. Historique.....3
I.2. Définitions.....3
I.2. Origine de la contamination.....4
I.3. Taxonomie du genre *Listeria*.....5
I.3.1. Caractères bactériologiques, sérologiques et biochimiques de *L. monocytogenes*.....6
I.3.2. Conditions de développement de *L. monocytogenes*.....7
I.3.3. Ecologie de *L. monocytogenes*.....8

CHAPITRE II : Physiopathologie de *L. monocytogenes*

II.1. Réservoir de *L. monocytogenes*.....9
II.2. Epidémiologie de la listériose.....9
II.3. Transmission de *L. monocytogenes*.....11
II.3.1. Transmission directe.....11
II.3.2. Transmission indirecte.....11
II.3.3. Autres modes de transmission.....12
II.4. Dose infectante.....13
II.5. Personnes à risques.....13
II.6. Mécanisme de la maladie.....13
II.6.1. Parasitisme intracellulaire de *L. monocytogenes*.....13
II.6.2. Pathogénicité de *L. monocytogenes*.....13
II.6.3. Cycle d'infection cellulaire de *L. monocytogenes*.....14
II.6.3.1. Pénétration dans les cellules.....14
II.6.3.2. Multiplication intracellulaire.....15
II.6.3.3. Déplacement intra-cytoplasmique et invasion des cellules adjacentes.....15
II.7. Réponse immunitaire de l'hôte.....16
II.8. Stratégies de défense de *L. monocytogenes*.....16

CHAPITRE III : Diagnostic de listériose

III.1. Symptômes de listériose pendant la grossesse.....17
III.2. Diagnostic de *L. monocytogenes*.....17
III.2.1. Identification de l'agent pathogène.....17
III.3. Méthodes de cultures.....18
III.3.1. Isolement de *L. monocytogenes*.....18
III.3.1.1. Les prélèvements.....18

III.3.1.2. Les milieux de culture et caractères culturaux.....19
III.3.1.3. Identification de *L. monocytogenes*.....21
III.4. Autres méthode d'identification rapide.....22
III.4.1. Electrophorèse des enzymes Multilocus (MEE).....22
III.4.2. Analyse de la restriction des endonucléases de l'ADN chromosomal.....22
III.4.3. Typage basé sur la séquence des acides nucléiques.....22
III.4.4. Amplification au hasard de l'ADN polymorphiques.....22

CHAPITRE IV : Traitement de listériose

IV.1. Prophylaxie.....23
IV.1.1. Prévention.....23
IV.1.1.1. Information des femmes enceintes.....23
IV.1.1.2. Alimentation et pratiques culinaires.....23
IV.1.1.3. Règles d'hygiène à respecter.....24
IV.1.1.4. Prévention collective.....25
IV.2. Vaccination.....25
IV.3. Antibiothérapie de la maladie.....25
IV.3.1. Antibiotiques, quantité et durée de traitement.....25
IV.3.2. Mode d'action des antibiotiques.....26
IV.4. Sensibilité aux antibiotiques de *L. monocytogenes*.....27
IV.4.1. Résistance de *L. monocytogenes* aux antibiotiques.....28
IV.4.1.1. Résistance naturelle.....28
IV.4.1.2. Résistance acquise.....28
Conclusion.....29
Références bibliographiques

INTRODUCTION

Les infections bactériennes sont définies comme la colonisation de l'organisme par un microorganisme capable de lui causer une maladie, ce type de maladie est appelé maladie infectieuse.

La maladie infectieuse résulte toujours de la rupture de l'équilibre du contrôle établi par les moyens de défense de l'hôte sur l'agent pathogène responsable de l'infection (bousseboua, 2005).

La maladie infectieuse se manifeste par des changements plus ou moins importants dans le fonctionnement ou la structure de tissus ou d'organes spécifiques, provoqués par l'invasion et la prolifération de l'agent infectieux ou par la production de certains de ces métabolites, capable d'induire une action toxique chez l'homme (bousseboua, 2005).

Le conflit hôte-bactérie met en présence deux adversaires : la bactérie caractérisée par son pouvoir pathogène et l'hôte caractérisé par sa réceptivité ou son pouvoir de défense du sujet, soit d'un accroissement de virulence des germes (khiati, 2004 ; Ramdani Bouguessa et *al.*, 2010).

L'infection peut être localisée ou généralisée, elle peut être aigue, subaiguë ou chronique, patente, latente ou inapparente (Ramdani Bouguessa et *al.*, 2010).

Il existe différents voies de transmission dépend du germe. Les voies les plus fréquentes sont : les voies cutanéo-muqueuses, les voies fécale-orales, les voies respiratoires, les voies sexuelles, les voies parentérales, par l'intermédiaire de vecteurs vivants tel les animaux (Petignat, 2005).

Le *Listeria monocytogenes* est une bactérie qui prolifère à la fois dans le milieu agricole et dans le milieu de la production alimentaire.

Il est bien établi que l'ingestion de *L. monocytogenes* peut provoquer de graves maladies chez l'homme, telles que la listériose. Bien qu'étant une affection grave, la listériose représente une maladie d'origine alimentaire relativement rare. La plupart des cas de listériose sont observés chez les individus prédisposés par une maladie ou les individus immunodéprimés suite à une maladie ou qui sont soumis à un traitement immunodépresseur prescrit pour soigner une tumeur maligne ou qui ont subit une greffe d'organe.

La femme enceinte fait de la population à risque, peut être à cause de la diminution de son immunité cellulaire. Elle à 12 fois plus de malchances de développer une listériose après consommation de produits contaminés qu'un autre adulte jeune en bonne santé. Dans cette hypothèse, le fœtus peut être contaminé par voie hématogène à la faveur d'une bactérie maternelle. La possibilité d'une contamination ascendante du liquide amniotique est discutée (Deguelte, 2004).

La maladie est tout aussi chez la femme enceinte, mais l'infection pourrait avoir un effet sur le bébé à naitre et entrainer l'accouchement prématuré, la mortinaissance ou l'infection du nouveau né.

Notre recherche bibliographique a pour but de mettre en évidence l'effet de listériose au cours de la grossesse, cette recherche est comprend quatre chapitres :

Le premier c'est une étude bactériologique du germe responsable de la maladie.

Le deuxième précisé la physiopathologie de *L. monocytogenes.*

Le troisième montre les techniques de diagnostic de la maladie, alors que la dernière montre les méthodes de prévention de la listériose et le traitement de listériose.

CHAPITRE I

ETUDES BACTERIOLOGIQUES

I.1. Historique

La découverte de *Listéria monocytogenes* est liée à des cas de listérioses humaines et animales étudiés au début du XXe siècle (Federighi, 2005).

En 1918, Dumont et Cotoni isolèrent une bactérie du liquide céphalo-rachidien d'un soldat atteint de méningite. Cette bactérie fut conservée et identifiée en 1940 comme étant *L. monocytogenes* (Sutra et *al.*, 1998).

En 1926, Murry, Webb et Swann isolèrent un petit bacille à Gram positif du sang de lapins atteint d'une mononucléose sanguine et fournirent une description détaillée du germe qu'ils nommèrent *Bacterium monocytogenes*. En outre, le germe a été chez le porc en 1924, chez une espèce de gerbille africaine en 1927 sous le nom de *Listerella hepatolytica* et chez le mouton en 1929 (Federighi, 2005).

En 1929, Nyfeldt isola une bactérie qu'il la nomma *Bacterium monocytogenes hominis* du sang de trios malades présentant une mononucléose. *Bacterium monocytogenes* et *Listerella hypatolytica* semblant être le même organisme, le nom de *L. monocytogenes* fut proposé et conservé jusqu'en 1939. Pius le nom de *Listerella* se révélant déjà utilisé pour désigner un champignon, le nom de *L. monocytogenes* fut adopté en 1940, en hommage à Lord Lister, chirurgien anglais promoteur de l'asepsie, et en référence à la mononucléose observée chez les malades (Ryser et Marth, 1999).

Le rôle des aliments dans la transmission de *L. monocytogenes* à l'homme à été suspecté dès la fin des années quarante, mais sans pouvoir être clairement démontré.

En 1981 au Canada, une épidémie de listériose à provoqué 17 décès parmi 41 personnes malades. Ces personne avaient consommé une salade de chou cru contaminée par *L. monocytogenes.* Par sa fréquence et par les méthodes de typage des souches mis en œuvre, cet épisode à permis la première démonstration de la transmission du germe par les aliments (Federighi, 2005).

Depuis cette date, de nombreuses épidémies de listériose d'origine alimentaire ont été décrites dans différents payes du monde (Farber et Peterkin, 1991).

I.2. Définitions

La listériose est une maladie infectieuse due à *L. monocytogenes,* c'est une maladie à déclaration obligatoire (DO) (Kuntzer et *al.*, 2004).

Il existe des formes non invasives de listériose telles que gastro-entérite, infection cutanées ou angines, dont le diagnostic reste exceptionnel. Les formes les plus graves sont les formes invasives qui touchent préférentiellement les sujets dont le système immunitaire est altéré : femmes enceintes, et nouveau-nés, personnes âgées, personnes atteints de cancer, la pathologie hépatique, d'insuffisance rénale, de diabète, du SIDA, ainsi que les personnes recevant des traitements immunosuppresseurs au long cours, comme les transplantés ou les patients atteins de certaines maladies auto-immunes (AFSSA, 2009).

En revanche, l'infection peut provoquer avortement spontané ou accouchement prématuré et peut être transmise à l'enfant.

En dehors des accouchements prématurés et des avortements pouvant intervenir lors de la grossesse, la listériose peut présenter d'autres formes invasives dont la plus fréquente est la forme bactériémique fébrile isolée, rencontrée principalement chez les immunodéprimés. Son diagnostic est réalisé par hémoculture. Les secondes formes invasives après les bactéréimies sont les infections du système nerveux central. Elles se traduisent le plus souvent par une méningite aiguë, mais parfois il s'agit d'une méningite subaiguë ressemblant à une méningite tuberculeuse (AFSSA, 2009).

Chez l'homme, la listériose est une maladie rare mais grave. Elle évolue essentiellement sous forme de cas sporadiques, parfois sous forme d'épidémies. La consommation d'aliments contaminés constitue le mode principal de transmission de la listériose (DGS, 1998).

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 néonatale. 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 %. (Catteau, 2006).

La gravité de la listériose est liée à la fréquence des atteintes neurologiques (méningites, méningo-encéphalites), aux formes septicémiques et aux formes materno-fœtales.

I.2. Origine de la contamination

L. monocytogenes est par sa nature ubiquitaire, elle peut être retrouvée soit dans l'environnement soit chez les animaux qui sont parfois porteurs de la bactérie sans être malades. Le lait par exemple, qui constitue un milieu favorable à la multiplication de *L. monocytogenes*, même aux températures de réfrigération, peut donc être contaminé soit par une vache présentant une mammite très souvent asymptomatique, soit, le plus fréquemment, par l'environnement de la ferme au moment de la traite. De la même manière, la viande cru est contaminée lors de l'abattage, qu'il s'agisse de bœuf, de porc ou de volailles. *L. monocytogenes* est détruite lors de la cuisson ou de la pasteurisation des aliments mais la recontamination de ceux-ci est possible s'ils sont à nouveau manipulés après traitement. Les fromages peuvent ainsi être contaminés soit parce que réalisés à partir d'un lait contaminé et non pasteurisé. Soit par l'environnement de la laiterie ou par une hygiène défectueuse lors de la fabrication ou de l'affinage (DGS, 1998).

La fréquence de la contamination alimentaire dépend des produits. Elle affecte 16% des produits carnés, 10% des produits de la mer, et moins de 5% des produits laitiers, pâtisseries et végétaux (Deguelte et *al.*, 2004). Il y a cependant une différence considérable entre les aliments transformés et les non-transformés. Dans la plupart des études, la contamination des animaux domestiques et la contamination du lait ont affectés moins de 5 à 10% des échantillons testés. A l'opposé, la contamination est particulièrement fréquente dans la charcuterie crue hachée (45%), la viande hachée (36%), les poissons fumés (16%) et les fromages au lait cru à croute fleurie (14%) ou à croute lavée (10%) (Deguelte S et *al.*, 2004).

I.3. Taxonomie du genre *Listeria*

Le genre *Listeria* ressemble aux entérocoques, ces deux genres possèdent les caractères communs d'hydrolyser l'esculine, de se développer avec 10% de NaCl et 0,025% de thalium. Un seul point les distingue, *Listeria* ne se développe pas sur 0,02% d'azide de sodium (Avril et *al.*, 1992).

Le genre *Listeria* comprend actuellement 6 espèces (Avril et *al.*, 1992). Les espèces sont regroupées par comparaison de l'ARN de la sous unité 16 S du ribosome. En plus de *L. monocytogenes* il s'agit de :

- *L. grayi* qui a été découverte en 1966 par Larsen et Seeliger à partir d'une coproculture chez un chinchilla, cette souche se caractérise par la fermentation du mannitol (Berche, 1999. Rocourt, 1999. Rocourt et *al.*, 2003).
- *L. ivanovii* qui a été découverte en 1984 par le microbiologiste bulgare Ivanov lors d'avortements chez des brebis dans une ferme, cette souche s'est caractérisée par une forte hémolyse, donc pathogène (Berche, 1999).
- *L. innocua* qui a été découverte en 1981 par Seeliger à partir de l'environnement et de l'intestin de l'homme et des animaux, cette souche est par contre non hémolytique donc non pathogène (Rocourt, 1999).
- *L. seeligeri* et *L. welshimeri* qui ont été mises en évidence en 1982, lors des hybridations ADN / ADN (Rocourt, 1999).

Les 6 espèces sont réparties en deux groupes de parenté génétique : le premier groupe comprend *L. monocytogenes, L. innocua, L. seeligeri, L. welshimeri, L.ivanovii* et le second groupe est représenté par *L. grayi.*

L. monocytogenes est pathogène pour l'Homme et l'animale, *L.ivanovii* uniquement pour l'animale. Les autres du genre *Listeria* sont considérées comme non pathogènes (afssa, 2000).

Le G + C % des *Listeria* varie de 36 à 41, celui de *L. monocytogenes* de 37 à 39 (Seeliger 1986). Le genre *Listeria* appartient à la branche phylogénétique des *Clostridium* qui regroupe des bactéries à faible pourcentage de guanine et cytosine G + C %< 50 (Federighi, 2005).

I.3.1. Caractères bactériologiques, sérologiques et biochimiques de *L. monocytogenes*

L. monocytogenes est une petit bacille de 0,5-2,0 µm de longueur sur 0,4-0,5 µm de diamètre, à l'extrémité arrondie, à Gram positif. En microscopie optique, cette bactérie apparaissent sous des formes diverses : bactérie isolée, bactérie associée en V ou en parallèle (**Figure : 1**).

Figure 1 : Aspect de *Listeria monocytogenes* au Gram (Audurier et *al.*, 1977).

Elle est non capsulée et ne formée pas des spores. Elle est mobile à 20-25°C au moyen de 5 à 6 flagelles péritriches (**Figure 2**), et peu mobile ou immobile à 37°C. Ces flagelles impriment à la bactérie des mouvements en «pirouette» reconnaissables à l'état frais.

C'est une bactérie aérobie, anaérobie facultative, microaérophile, catalase positive et oxydase négative, qui hydrolyse rapidement l'esculine (Seeliger et Jones, 1986).

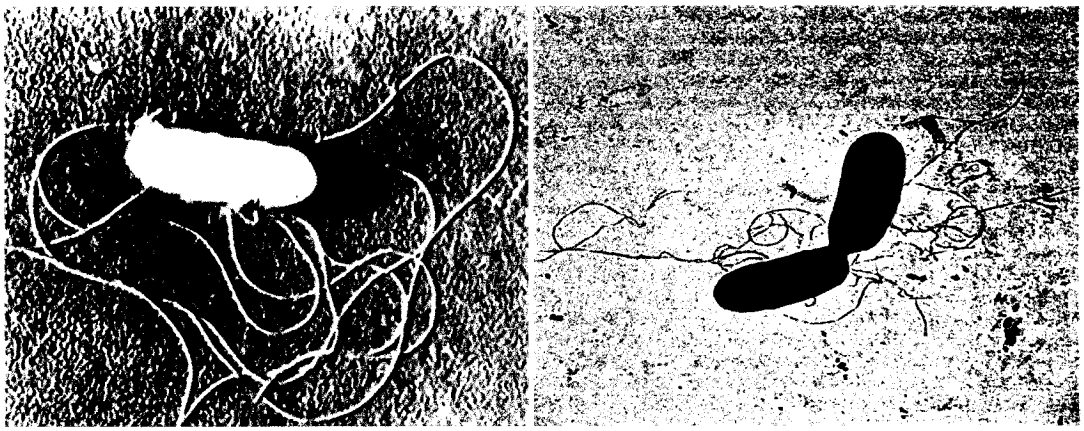

Figure 2: Microscopie électronique de *Listeria monocytogenes* (*National Institutes of Health, United States Department of Health and Human Services*, 2004).

Sur gélose nutritive après 24 à 48 h d'incubation, le *L. monocytogenes* forme des colonies de faible diamètre (< 1,5 nm), lisses, transparentes, légèrement convexes et à

bords réguliers. Ce sont des germes mésophiles (température optimale de croissance : 30 à 37°C), mais peut être développée à des températures proches de 0°C. Leur température maximale de croissance est d'environ 45°C. Le *L. monocytogenes* peut être cultivée sur milieux hypersalés (Audurier et Berche, 1989).

Toutes les espèces de *Listeria* produisent de l'acide lactique (elles sont rouge de méthyle positive ; RM +) et de l'acétoïne (elles sont positives au test de Voges Proskauer ; VP +) à partir du glucose.elles hydrolysent l'esculine et l'hippurate sauf *L. grayi* (Seeliger et Jones, 1986. Ryser et Marth, 1999).

Les caractères distinctifs des espèces sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau 1: Caractères bactériologiques différenciant les espèces de *Listeria* (+ : positif ; - : négatif) (Avril et *al.*, 1992).

	Hémolyse	CAMP test *S.aureus*	CAMP test *R. equi*	D-xylose	L-rhamnose	α méthyl D-mannoside	Ribose	Manitol
L. monocytogenes	+	+	-	-	+	+	-	-
L. ivanovii	+	-	+	+	-	Variable	-	-
L.innocua	-	-	-	-	Variable	+	-	-
L. welshimeri	-	-	-	+	Variable	+	-	-
L. seeligeri	+	+	-	+	-	-	-	-
L. grayi	-	-	-	-	-	Non define	-	+

L'identification des différentes espèces de *Listeria* est fondée sur les caractéristiques suivantes :

- L'hémolyse sur gélose au sang de mouton. trois espèces, *L. monocytogenes, L. ivannovi* et *L. seeligeri* sont hémolytiques. *L. monocytogenes* provoque une hémolyse de type β, étroite et diffuse autour des colonies, alors que *L. ivannovi* provoque une hémolyse β plus prononcée (large halo d'hémolyse autour des colonies). *L. seeligeri* est faiblement hémolytique (Federighi, 2005).
- La réaction au test de CAMP (selon les initiales de Christie, Atkins et Munch-Petersen) qui s'effectue sur gélose au sang. Une réaction positive au test de CAMP se traduit par une accentuation de l'hémolyse au contact de *Staphylococcus aureus* ou de *Rhodococcus equi. L. monocytogenes* et *L. seeligeri* sont CAMP test + avec *S.aureus,* CAMP test – avec *R. equi.* La réaction inverse est observée avec *L. ivannovi* (Federighi, 2005).
- La production d'acide à partir du mannitol, du rhamnose, de la xylose et de α méthyl D-mannoside (Federighi, 2005).

I.3.2. Conditions de développement de *L. monocytogenes*

L. monocytogenes se développe bien dans les milieux empiriques riches (cœur-cervelle). En milieux synthétiques, ses exigences de base concernent certains amino-

acides, des vitamines (Premaratne *et al.,* 1991 ; Phan-Thanh et Gormon, 1997). Leur température de croissance est comprise entre 30 et 37°C, et démontrée expérimentalement entre -2 et 45°C (Augustin, 1999). Elle se développe dans un pH entre 6,4 et 9,6 (Pearson L J et Marth E H, 1990), avec une activité d'eau (a_w) minimale de 0,90 (Farber et *al.,* 1992).

L. monocytogenes ne se développe en général dans les solutions contenant plus de 10% à 11% de NaCl (Nolan et *al.*, 1992 ; Vasseur et *al.*,1999).

I.3.3. Ecologie de *L. monocytogenes*

L. monocytogenes possède les caractères d'une bactérie tellurique. Cette bactérie non sporulée est capable de résister dans ou à la surface de nombreux supports : sol, plantes, eaux, denrées alimentaires, appareillages, locaux. Elle peut profiter des matières organiques en décomposition, se comportant alors en germe saprophyte. Elle est capable de survivre et de se multiplier dans des conditions propres aux animaux et à l'homme. En particulier, cette bactérie peut survivre dans le tube digestif des animaux et de l'homme, créant ainsi des porteurs asymptomatiques. Elle peut aussi envahir un hôte, se comportant alors en parasite intracellulaire facultatif (AFSSA, 2000).

L. monocytogenes est communément trouvée dans les sols, l'eau et sur les végétaux, particulièrement ceux en décomposition. Cet environnement est considéré comme l'habitat naturel du germe (Rocourt et Seeliger, 1985). La végétation en décomposition est le support du développement d'un nombre important de *L. monocytogenes*.

L. monocytogenes peut survivre longtemps dans des conditions d'environnement défavorables (Fenlon, 1999).

Le sol est souvent considéré comme la source de contamination, particulièrement les sols agricoles fertiles qui reçoivent du matériel végétal en décomposition (AFSSA, 2000).

L. monocytogenes est retrouvée dans les excréments d'un grand nombre d'espèces d'animaux en bonne santé citent 37 espèces de mammifères pour lesquelles le germe a été isolé à partir de leurs excréments (AFSSA, 2000)

CHAPITR II

PHYSIOPATHOLOGIE DE *LISTERIA MONOCYTOGENES*

II.1. Réservoir de *L. monocytogenes*

L. monocytogenes est une bactérie ubiquitaire, tellurique, très largement répondue dans l'environnement, et qui possède de grande capacité de résistance dans le milieu extérieur (1a 2 ans dans le sol et plusieurs années si le prélèvement est conservé en réfrigérateur) (AFSSA, 2006).

L. monocytogenes est retrouvée sur tout le globe. C'est une bactérie qui vit normalement dans la terre. Elle se retrouve donc sur des éléments qui étaient en contact avec la terre, comme les plantes, les eaux usées, les produits agricoles, les aliments pour animaux, jus de pomme frais fabriqué artisanalement et peut être retrouvée dans les extrémaux d'animaux et aussi dans les selles humaines (Weicherding, 2011).

Le *L. monocytogenes* à été isolé dans des aliments tels que le lait cru liquide et le lait pasteurisé liquide, les fromages (en particulier les variétés de fromage à patte molle), la crème glacée, les légumes crus, les saucisses de viande crue fermentée, la volaille crue et cuite, la viande crue (tout type) et le poisson cru et fumé (FAO/OMS, 1998).

L. monocytogenes est capable de se multiplier entre 1°C et 45°C, en présence ou en absence d'Oxygène (kuntzer et *al.*, 2004).

II.2. Epidémiologie de la listériose

Les flambées d'infections d'origine alimentaire sont un problème mondial. Depuis les années 1980, des bactérioses et parasitoses émergente sont décrites comme la listériose (Hélène, 2011).

Listériose est une maladie assez rare mais à mortalité élevée avec une incidence de 2 à 3 cas par million d'habitats. C'est maladie restreinte aux pays industrialisés. La transmission peut être verticale pour la forme materno-fœtale qui est une voie hématogène transplacentaire. La transmission est sinon horizontale pour la forme de l'adulte c'est-à-dire la voie alimentaire (Boudard et Sanfourche, 2012).

L. monocytogenes est donc un germe saprophyte est résistant à de nombreux facteurs physico-chimiques. La listériose est une maladie essentiellement observée dans les pays développés (Mahaza, 1998). Elle évolue schématiquement selon trois façons :

- Les cas sporadiques.
- Les infections nosocomiales (rares).
- Les épidémies.

Les cas sporadiques, elle est souvent considérée comme un problème spécifique des pays industrialisés de par la grande variété de denrées alimentaires mises à la disposition des consommateurs, mais elle n'épargne en aucun cas les en développement (Hubert et *al.*, 1991).

Les infections nosocomiales, c'est-à-dire les infections transmissibles lors d'actes thérapeutiques en milieu hospitalier, particulièrement dans les services de maternités ou

thermomètres, sondes d'aspiration, incubateurs sont très souvent incriminés (Hubert et *al.*, 1991).

Alors que, pour les années 1996, 1997 et 1998, le nombre de cas de listériose est compris entre 220 et 230. En 1998, seul les cas sporadiques (20% de formes périnatales et 80% de formes non périnatales) ont été notés. Il semble très difficile de maitriser le contrôle des formes sporadiques. Quant aux épidémies, généralement elles regroupent un nombre important de cas et sont souvent entachées d'une mortalité élevée. Pour la plupart des épidémies documentées depuis 1981, le véhicule fut un aliment (Mahaza,1998).

La listériose est une maladie à déclaration obligatoire. La déclaration se fait par le clinicien et le laboratoire à la suite d'une enquête pour savoir ce que la personne a mangé pour remonter et retirer les aliments suspectés (Boudard et Sanfourche, 2012). Depuis quelques années, dans tout les pays développés, l'incidence de listérioses humaines diminue. Cette baisse est due à un meilleur contrôle des denrées alimentaires et à l'information des populations à risque (AFSSA, 2009).

Quelques chiffres :

En France, selon les chiffres du CNR des *Listeria* l'incidence a été divisée par 2 à 3 en 10 ans. Cette diminution porte surtout sur les formes périnatales qui représentaient 51% des cas en 1987 et seulement 22% en 2000 (Goulet et *al*, 2001). Au total, l'incidence actuelle de la listériose en France est d'environ quatre cas par million d'habitants, dont une cinquantaine de cas chez des femmes enceintes.

Lors de l'épidémie de 1992 par de la langue de porc en gelée, sur les 279 cas déclarés on a détecté qu'un cas sur trois correspondait à de formes fœto-maternelles et 2/3 des cas revenaient aux formes adulte. Cette épidémie a entrainé 22 avortements et 63 décès (Mahaza, 1998).

La listériose de l'homme est présente dan les pays industrialisés mais il semble qu'elle est quasiment absente dans les pays en développement. Outre les différences existant dans les moyens de diagnostic et de surveillance sanitaire, cette répartition géographique s'expliquerait par une meilleure hygiène et par la généralisation de la chaine du froid dans les pays développés. En effet, de manière paradoxale, il semble que ce soit la bonne hygiène des procédés de fabrication et le développement de la chaîne du froid qui soient à l'origine d'une augmentation des cas de listériose observée depuis une quarantaine d'années (FAO/OMS, 2002).

L'amélioration des conditions sanitaires sur les milieux de transformation de denrées alimentaires a pour conséquence une réduction de la contamination par des flores d'altération et/ou de la putréfaction. De ce fait, associée à une réfrigération systématique, la date limite de consommation des aliments augmente. Si l'aliment contenait au départ quelques *L. monocytogenes*, celles-ci ont le temps de se multiplier d'autant plus que leur multiplication n'est entravée par d'autres proliférations microbiennes.

II.3. Transmission de *L. monocytogenes*

Selon Franck Marchand et Céline Mériadec (2008), la listériose peut être transmette soit par voie directe ou par une voie indirecte.

II.3.1. Transmission directe

La transmission directe **(Figure 4)**, est principalement hématogène (listériose congénitale). Chez l'homme, la transmission de la mère au fœtus peut se faire par voie digestive ou respiratoire, par infection amniotique, par une ascension des bactéries situées dans le col, le vagin, ou lors de l'accouchement par les voies génitales de la mère infectée. Une transmission par contacte est possible (ex : contamination directe par contacte d'un animal infecté lors d'un vêlage.) cependant la listériose cutanée est rare (Marchand et Mériadec, 2008).

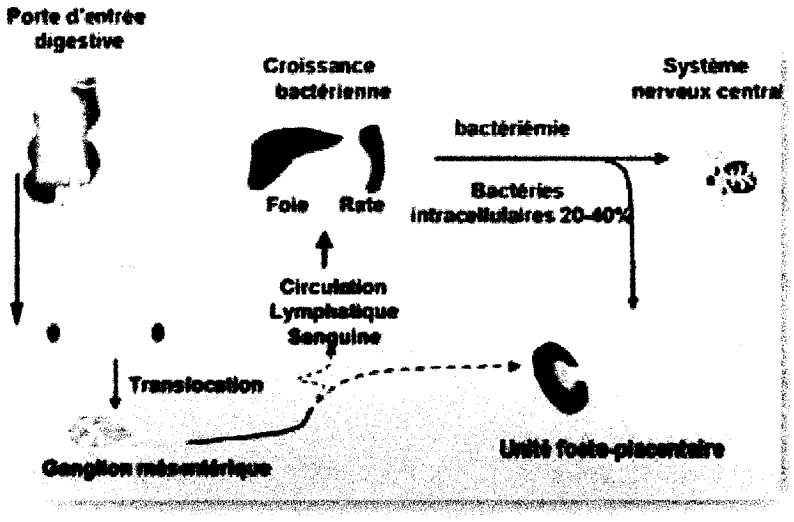

Figure 3 : étapes de processus infectieux (Boudard et Sanfourche, 2012).

Ce schéma montre comment *L. monocytogenes* peut conduire à une forme invasive. Il illustre que la porte d'entrée est l'ingestion d'un aliment contaminé. Ensuite, il peut y avoir passage (translocation) à travers la paroi de l'intestin aux ganglions qui s'y trouvent (ganglion mésentérique) pour ensuite se rendre par la circulation (sanguine et lymphatique) au foie et à la rate ou au placenta. La bactérie croît et peut ensuite causer les manifestations graves en passant dans le sang, le cerveau (système nerveux central) et le placenta pour atteindre le fœtus (Boudard et Sanfourche, 2012).

II.3.2. Transmission indirecte

La transmission indirecte se fait par l'intermédiaire d'un vecteur inanimé, comme les produits d'origine animale. Il s'agit alors d'une contamination par voie digestive à l'origine de cas sporadiques ou épidémiques chez l'homme. Les aliments incriminés sont le plus souvent des aliments nécessitant une transformation, et consommés crus ou peu cuits (Marchand et Mériadec, 2008).

II.3.3. Autres modes de transmission

D'autres modes de transmission ont été évoqués mais ils restent exceptionnels. Ainsi une transmission par voie respiratoire est envisageable : des paysans travaillant dans les bergeries, où l'atmosphère est confinée et où un nettoyage régulier n'est pas effectué, peuvent contracter la listériose. La contamination par des tiques porteuse de *L. monocytogenes* est possible mais rare (Marchand et Mériadec, 2008).

Le mode de transmission du *L. monocytogenes* au fœtus est soit transplacentaire par voie hématogène, soit par voie ascendante provenant d'une colonisation vaginale. Dans presque 47% des mères ayant eu un nouveau né souffrant de listériose, leur prélèvement vaginal était positif à *L. monocytogenes* (Teguelte et *al.*, 2004). Ceci suggère une transmission verticale au nouveau né, lors de l'accouchement par un vagin colonisé, ou une colonisation du vagin secondaire à la naissance d'un fœtus infecté (Marchand et Mériadec, 2008).

Figure 4 : placenta avec nombreux abcès résulte d'une contamination à *L. monocytogenes* (Marchand et Mériadec, 2008).

Ce mode de transmission pourrait être comparable à d'autres infections périnatales, comme le streptocoque B. De plus, la transmission du *L. monocytogenes* à seulement un seul fœtus chez des jumeaux a été rapportée, suggérant une voie de contamination ascendante plutôt qu'une transmission hématogène On peut alors spéculer que le portage vaginal est secondaire à un portage intestinal (Teguelte et *al.*, 2004).

Dans d'autres cas, la transmission hématogène peut être la voie la plus probable, avec une bactériémie maternelle documentée, et par conséquence, peut développer une infection fœtale in utero, avant la mise en route du travail. Il est alors évoqué une contamination ascendante du liquide amniotique (Marchand et Mériadec, 2008).

II.4. Dose infectante

Pour l'homme, la dose infectante n'est pas connue avec certitude car elle varie en fonction du statut immunitaire des individus et de la virulence de la souche, mais les aliments incriminés contiennent généralement plus de 10^3 *L. monocytogenes* par gramme et dans la majorité des cas ils en renferment plus de 10^6 par gramme. Expérimentalement, la dose infectante par voie orale est de l'ordre de 10^8 cellules pour la souris normale et de 10^9 cellules pour des singes. Une certaine alcalinisation de l'estomac, par la prise de bloqueurs H_2, d'antiacides, ou des séquelles de gastrotomie peuvent favoriser l'infection (Kuntzer et *al.*, 2004).

II.5. Personnes à risques

L'infection à *L. monocytogenes* est observée à tous les âges, mais avec une fréquence plus élevée chez les femmes enceintes, le fœtus et le nouveau-né, ainsi que chez l'adulte de plus de 60 ans. En dehors de la période néonatale, environ deux tiers des infections sont rapportées chez des patients immunodéprimés, dans le cadre d'hémopathies malignes, de syndrome immunodéficitaire acquis (sida), de transplantation d'organes ou de traitements avec des immunomodulateurs, comme la prednisone (Kuntzer et *al.*, 2004).

II.6. Mécanisme de la maladie

II.6.1. Parasitisme intracellulaire de *L. monocytogenes*

Le parasitisme intracellulaire est le mécanisme crucial du pouvoir pathogène de *L. monocytogenes* à l'échelon cellulaire. La compréhension des mécanismes moléculaires de ce parasitisme est non seulement importante pour comprendre la physiopathologie de la listériose, mais aussi constitue un modèle précieux pour appréhender certains mécanismes fondamentaux de la pathogénicité bactérienne. De nombreux travaux ont, à partir de 1985, élucidés une partie des mécanismes moléculaires permettant à *L. monocytogenes* de pénétrer et de survivre dans les cellules eucaryotes (Berche, 1995).

II.6.2. Pathogénicité de *L. monocytogenes*

L. monocytogenes rassemble des souches très virulentes et d'autres peu virulentes. Toutefois, il n'y a pas de rapport direct entre la virulence et le typage d'une souche. La pathogénie de *L. monocytogenes* implique la pénétration dans des cellules phagocytaires et non phagocytaires, une multiplication intracellulaire, un déplacement de la bactérie dans le cytoplasme et une invasion des cellules adjacentes sans libération par les cellules infectées. Les protéines nécessaires à ces diverses fonctions sont sous la dépendance de nombreux gènes de virulence bactériens (Southwick et Purich, 1996 ; Lorbe, 2000).

Lors de l'infection, les bactéries envahissent les cellules des plaques de Peyer ou les entérocytes, elles traversent la barrière intestinale, puis elles sont phagocytées par les macrophages de la lamina propria dans lesquels elles survivent et se multiplient. Ultérieurement, elles gagnent la lymphe et le courant sanguin, et infectent le foie et la rate.

Dans ces organes, la plupart des bactéries sont rapidement tuées, mais si la réponse immunitaire à médiation cellulaire ne contrôle pas l'infection, elles sont disséminées par voie sanguine. Lors de la dissémination hématogène, un tropisme pour le cerveau et le placenta est observé (Southwick et Purich, 1996 ; Lorbe, 2000).

II.6.3. Cycle d'infection cellulaire de *L. monocytogenes*

Les différentes étapes de l'infection de *L .monocytogenes* sont résumées dans la figure suivante :

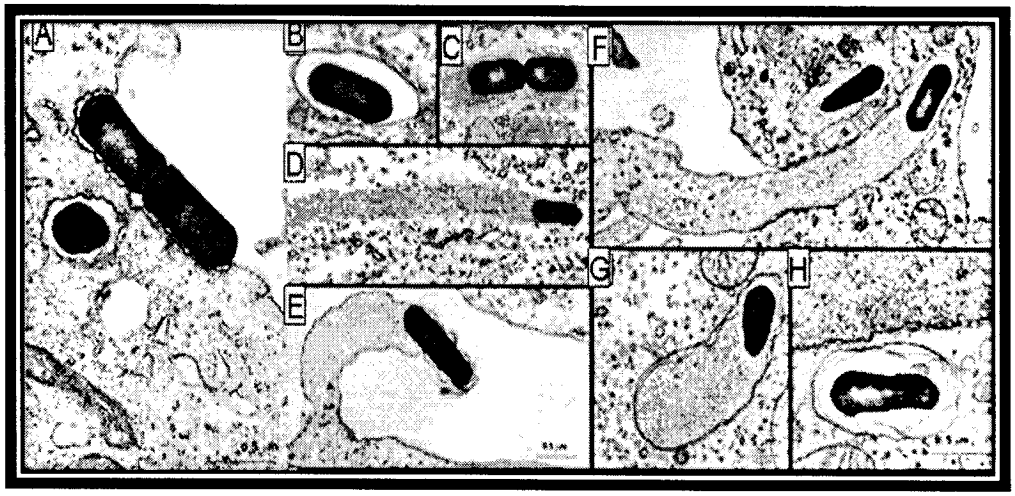

Figure 5 : Différentes étapes du cycle d'infection cellulaire (microscopie électronique) (Kocks et *al.*, 1992 ; Cossart et Kocks, 1994). *A : Adhésion et entré ; B : Bactérie à l'intérieur de la première vacuole ; C : Multiplication intracellulaire ; D : Polymérisation d'actine et mouvement intracellulaire ; E : Formation de la protrusio. ; F : Passage de cellule en cellule ; G : Bactérie à l'intérieur de la seconde vacuole à deux membrane ; H : Lyse de la seconde vacuole.*

II.6.3.1. Pénétration dans les cellules

L. monocytogenes est une bactérie capable d'induire sa propre phagocytose dans des cellules phagocytaires et non phagocytaires. Plusieurs protéines de surface sont impliquées dans ce phénomène, comme la protéine InlA (codée par le gène inlA) ou internaline. La structure de cette protéine est connue et on peut noter que son extrémité C-terminale contient une région qui constitue une séquence signature retrouvée dans de nombreuses protéines capables de s'ancrer dans la paroi des bactéries à Gram positif et qu'elle possède aussi une région riche en résidus leucine (d'où son nom de LRR), impliquée dans de fortes interactions protéines-protéines. La protéine InlA se fixe sur une molécule d'adhésion des cellules, la E-cadhérine, dont le domaine intracellulaire relie, indirectement, l'ensemble InlA-Ecadhérine à l'actine. La pénétration se fait par un mécanisme de type « fermeture Éclair » dans lequel la membrane de la cellule hôte recouvre progressivement la bactérie jusqu'à permettre l'incorporation dans le cytoplasme (Lecuit et *al.*, 1997 ; Kuntzer et *al.*, 2004).

II.6.3.2. Multiplication intracellulaire

Après pénétration, *L. monocytogenes* est emprisonnée dans une vacuole intracytoplasmique dont elle va s'échapper pour se multiplier dans le cytosol. La destruction de la vacuole est principalement due à la listériolysine O codée par le gène hly (également appelé hlyA). Les rares souches sauvages de *L. monocytogenes* non hémolytiques et les mutants incapables de synthétiser la listériolysine O sont aptes à pénétrer dans des cellules mais incapables de quitter la vacuole intracytoplasmique et, de ce fait, incapables de se multiplier dans le cytosol. De telles souches s'avèrent non virulentes (Kuntzer et *al.*, 2004).

II.6.3.3. Déplacement intra-cytoplasmique et invasion des cellules adjacentes

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

Le déplacement intracellulaire de *L. monocytogenes* s'effectue grâce à la formation d'une queue d'actine filamenteuse associée à un pôle bactérien. La formation de la queue d'actine est sous la dépendance du gène actA qui code pour la protéine ActA qui s'ancre dans la membrane bactérienne. Environ la moitié de la molécule fait saillie à la surface de la bactérie et peut interagir avec des protéines de la cellule infectée. Les mutants incapables de synthétiser ActA sont invasifs, aptes à lyser les vacuoles, mais ils ne se déplacent pas, n'envahissent pas les cellules adjacentes et leur multiplication dans le cytosol conduit à la formation de microcolonies. La lyse de la double membrane de la vacuole nécessite une phospholipase C codée par le gène plcB. La phospolipase C est synthétisée sous la forme d'un précurseur qui doit être clivé par une métalloprotéase (codée par le gène mpl) pour engendrer la phospholipase C active. Les mutants incapables de synthétiser la phospholipase C s'accumulent dans les vacuoles et ne peuvent gagner le cytosol. La métalloprotéase pourrait intervenir dans la virulence selon d'autres modalités. En effet, cette enzyme est capable de dégrader l'actine et les produits de clivage de l'actine sont aptes à favoriser la croissance de *L. monocytogenes* in vitro. Cette notion expérimentale de l'utilité de composés ferreux se retrouve cliniquement, par l'association de cas de listériose dans le cadre d'hémochromatose et chez les dialysés chroniques (Nguyen et *al.*, 1994).

Figure 6 : *L. monocytogenes* en position intracellulaire : visualisation de la queue filamenteuse d'actine (Heinz, 2001).

II.7. Réponse immunitaire de l'hôte

La résistance à l'infection par *L. monocytogenes* est médiée principalement par une immunité cellulaire, comme l'a démontré Mackaness expérimentalement par le seul transfert de lymphocytes sensibilisés. L'immunité cellulaire T des cellules CD8+ activées joue un rôle prédominant dans les défenses de l'hôte (Lorber, 2000).

Le rôle de l'immunité humorale est imparfaitement compris, bien que les immunoglobulines de classe M (absentes chez le nouveau-né) et le complément (dont l'activité est faible chez le nouveau-né) y jouent un rôle. Ces données valident les observations cliniques du rôle favorisant de la dépression immunitaire cellulaire observée lors de lymphomes, de la grossesse, du sida et de transplantation d'organes (Skogberg et *al.*, 1992 ; Lorber, 2000 ; Wing et Gregory, 2002).

La listériose est 100 à 1000 fois plus fréquente chez les patients positifs pour le virus de l'immunodéficience humaine que dans la population contrôle : il peut apparaître surprenant que les cas de listériose ne soient pas encore plus fréquents eu égard à la pandémie de SIDA. Une explication tient au fait que la résistance à *L. monocytogenes* est expérimentalement induite par des lymphocytes non CD4 ni CD8. De plus, il est possible que la listériose soit prévenue par le traitement prophylactique d'infection à Pneumocystis par triméthoprime-sulfaméthoxazole, qui est efficace in vitro et in vivo contre *L. monocytogenes* (Skogberg et *al.*, 1992 ; Ewert et *al.*, 1995 ; Lorber, 2000).

II.8. Stratégies de défense de *L. monocytogenes*

L. monocytogenes a adoptée plusieurs stratégies pour déjouer le système immunitaire de l'hôte qu'elle infecte. En effet, la bactérie est capable d'altérer la production de TNF-a par les cellules de l'hôte. Or cette cytokine, principalement sécrétée par les macrophages, stimule l'activité antimicrobienne de ces cellules et des polynucléaires neutrophiles, favorise la production d'interféron gamma (INF-a) par les lymphocytes T et attire les monocytes sur le lieu de l'infection. Elle est donc responsable d'une cascade de réactions à l'origine de la mise en place de la réponse immunitaire et inflammatoire. En altérant la production de TNF-a, *L. monocytogenes* se met ainsi hors de portée du système immunitaire de son hôte (Demuth et *al.*, 1996).

Selon Zychlinsky et Sansonetti (1997), *L. monocytogenes* peut également, pour se protéger de l'action bactéricide des cellules, induire l'apoptose des macrophages et des cellules épithéliales. Les mécanismes utilisés par la bactérie restent cependant pour l'instant inconnus.

Enfin, *L. monocytogenes* s'échappe de la vacuole de phagocytose pour se multiplier dans un environnement riche en nutriments, le cytoplasme. Son passage dans le compartiment cytoplasmique dépend de la synthèse de la listériolysine O, capable de lyser sélectivement la membrane de la vacuole. En s'échappant ainsi dans le cytoplasme de la cellule, la bactérie augmente ses chances de survie.

CHAPITRE III

DIAGNOSTIC DE LISTERIOSE

III.1. Symptômes de listériose pendant la grossesse

Les symptômes comprennent : les symptômes de la grippe, la nausée, les vomissements, les crampes, la diarrhée, les céphalées, la constipation et la fièvre persistante. Ils se manifestent habituellement deux à 30 jours, et jusqu'à 70 jours, après la consommation des aliments contaminés.

Une femme qui développe la listériose au cours des trois premiers mois de la grossesse peut faire une fausse couche. Si elle développe la listériose plus tard au cours de la grossesse, entre le 6 ème et le 8 ème mois de grossesse, le nouveau-né peut naître prématurément ou très gravement malade et parfois est mort-né (CNR, 2005), les symptômes de la listériose chez la femme enceinte montrent :

- Une fièvre, comprise entre 38°C et 41°C, est présente dans environ 70% des cas (Mylonakis et *al.*, 2002).
- Un syndrome pseudogrippal, avec frissons, céphalées et myaligies. Il peut être spontanément résolutif, ou n'être qu'une forme de début (Degeulte, 2004).
- Travail prématuré, diminution des mouvements actifs, altération du rythme cardiaque fœtal et liquide amniotique méconial. C'est la forme réputée la plus fréquente (Nolla-Salas et *al.*, 1998).
- Simulant une appendicite (douleurs de la fosse iliaque droite), une gastroentérite (diarrhées, douleurs abdominales diffuses), une pyélonéphrite (douleurs lombaires, signes fonctionnels urinaires), une pneumopathie (Degeulte, 2004).

Dans certains cas, ces symptômes peuvent être suivis d'une méningo-encéphalite (infection du cerveau ou des tissus envoisinant) ou d'une septicémie (empoisonnement sanguin), lesquelles peut entrainer la mort.

Enfin, dans près de 30% des cas, il n'existe aucun symptôme maternel significatif et la listériose est révélée a posteriori par ces conséquences fœtales et néonatales.

III.2. Diagnostic de *L. monocytogenes*

III.2.1. Identification de l'agent pathogène

Il existe une grande variété de méthodes conventionnelles et rapides actuellement disponibles pour la détection et l'identification de *L. monocytogenes* à partir des prélèvements humains malades. Les méthodes bactériologiques conventionnelles sont importantes pour différentes raisons : elles permettent l'isolement de l'organisme en culture pure (Andrews, 2002).

L'isolement et l'identification de *L. monocytogenes* dans les prélèvements biologiques nécessite l'utilisation d'agents sélectif et de procédures d'enrichissement de façon à limiter les microorganismes contaminants à un niveau raisonnable et à permettre ainsi la multiplication de *L. monocytogenes* à un niveau suffisant pour assurer la détection de l'organisme (AFNOR, 1997).

Le diagnostic de la listériose humain comprend traditionnellement l'isolement direct à partir d'un prélèvement sur une gélose au sang ou un autre milieu enrichi et en parallèle la technique de l'enrichissement à froid, avec des sous cultures hebdomadaires pendant 12 semaines (Grave et *al.*, 1999).

III.3. Méthodes de cultures

Des méthodes conventionnelles d'isolement *L. monocytogenes* ont été reconnues dans le cadre de la règlementation internationale incluant la méthode américaine de la FDA (Food and Drug Administration), la méthode AOAC (Association of Official Analytical Cemists), la norme ISO 11290, la méthode USDA (Département de l'agriculture des Etats-Unis d'Amérique) et la méthode de référence françaises. En fonction de la nature de l'échantillon, une méthode particulière peut être plus appropriée qu'une autre. Le «International Organisation for Standardization Technical Commitee ISO/TC 34 », a annoncé que la méthode ISO standard 11290 partie 1et 2, peut etre utilisée pour la détection de *L. monocytogenes* dans une large variété (OIE, 2005).

III.3.1. Isolement de *L. monocytogenes*

III.3.1.1. Les prélèvements

Le diagnostic est bactériologique par isolement de *L. monocytogenes* d'un site normalement stérile : sang, col utérin et vagin, plus rarement liquide amniotique, liquide céphalorachidien ou urines. Les hémocultures sont l'examen de base et doivent être demandées chez toute femme enceintes ou parturiente présentant une fièvre inexpliquée. Mais aucun site n'est constamment positif. Dans une revue de la littérature incluant 160 cas, le germe a été isolé dans le sang chez 69 femmes (43%), dans le vagin chez 54 femmes (34%), le liquide amniotique chez 13 femmes (8%), les urines chez trois femmes (2%) et le liquide céphalorachidien chez deux femmes (1%). L'amniocentèse est parfois le seul prélèvement positif, mais elle a un deuxième intérêt potentiel. Pour certains, elle permet de guider le traitement obstétrical car on peut douter de l'intérêt de prolonger la grossesse en cas de chorioamniotite documentée au troisième. Après l'accouchement, le germe sera recherché dans le placenta et chez le nouveau né (sang, peau, gorge, estomac, LCR, urines). L'examen anatomique du placenta peut montrer des abcès multiples, très évocateurs. Les températures de réfrigération (4°C) doivent être maintenues pour la conservation et l'acheminement des prélèvements. Si l'échantillon est déjà congelé, il doit être gardé congelé jusqu'à l'analyse (Deguelte et *al.*, 2004).

Le tableau suivant exprime la localisation de *L. monocytogenes* chez la femme enceinte :

Tableau 2 : Localisation du microbe da la listériose chez la femme enceinte (Lippincott, 2002).

	Littérature scientifique		**Cas étudiés**		**Total**	
Localisation du germe	N° : 149 cas		N° : 11cas		N° : 160 cas	
	N°	%	N°	%	N°	%
Sang	65	44	04	37	69	43
Col / vagin	53	63	01	09	54	34
Placenta	17	11	02	18	19	12
Liquide amniotique	11	07	02	18	13	08
Lochies	11	07	01	09	12	08
Urine	02	01	01	09	03	02
Liquide céphalorachidien	02	01			02	01

III.3.1.2. Les milieux de culture et caractères culturaux

L. monocytogenes pousse sur les milieux usuels ; la croissance est favorisée par la présence de glucose (0,1 %), de sérum (1 %) ou de sang (5 %). Le pH optimum est de 7 - 7,4. La croissance est obtenue en aérobiose ou en microaérophilie. La température optimale de culture est comprise entre 30 et 37°C, les températures limites de croissance sont de 1°C et 45°C. A + 4°C, *L. monocytogenes* a la propriété de se multiplier plus rapidement que de nombreuses espèces et cette propriété est utilisée comme méthode d'enrichissement pour des produits contaminés ou pluri-microbiens. La culture est possible sur milieux hostiles (hypersalé, bilié, au tellurite de potassium), sur gélose Mac Conkey, mais pas en présence d'azide de sodium. Sur gélose nutritive (gélose tryptose), après 18 heures à 37°C, les colonies sont petites, arrondies, translucides, gris bleuté. Elles présentent une iridescence bleu- vert caractéristique lors d'un examen en lumière oblique (permettant de repérer les colonies lors de culture de produits polymicrobiens). Sur gélose au sang (mouton, cheval, lapin), les colonies ont le même aspect et sont entourées d'une étroite zone d'hémolyse parfois ne dépassant qu'à peine le bord de la colonie et rendue visible en déplaçant la colonie. Des milieux sélectifs ont été proposés pour la culture à partir de l'environnement ou de produits pluri-microbiens ; ils contiennent des antibiotiques comme la colistine ou l'acide nalidixique (40 mg/1). *L. monocytogenes* est une bactérie mobile, La mobilité est bien exprimée à 22°C, mais très faible ou nulle à 37°C. Elle est recherchée en milieu liquide (culbutes et rotations à l'examen microscopique) ou en milieu gélose (ombrelle à distance de la surface) après culture à 22°C (Avril et *al.*,1992).

Tous les milieux de culture préparés seront soumis à un contrôle-qualité et doivent permettre la croissance de l'organisme recherché à partir d'un inoculum faible. La souche

de référence doit être cultivée en parallèle des échantillons suspectés de façon à s'assurer que les tests fonctionnent correctement.

Les méthodes conventionnelles de culture comprennent une procédure d'enrichissement basée sur l'utilisation de milieu de culture liquide contenant des agents sélectifs. Ces composants sélectifs permettant la croissance de *L. monocytogenes* à des températures normales d'incubation ont été ajoutés aux milieux de culture, permettant de raccourcir ainsi le délai nécessaire à la croissance sélective de l'organisme. Ces composants sélectifs sont par exemple : cycloheximide, colistine, cefotetan, fosfomycin, lithium chloride, acide nalidixique, acriflavine, phényléthanol, céftazidime, polymixine B et moxalactam (AFNOR, 1997).

La nature des milieux et des agents sélectifs varie selon la méthode :

a. La méthode Food and Drug Administration

Utilise une étape de pré-enrichissement qui permet la revivification des cellules de *L. monocytogenes*, le pré-enrichissement s'effectue à 30°C pendant 4 h en bouillon trypticase-soja contenant de l'extrait de levure sans agent sélectifs. La méthode FDA utilise un milieu d'enrichissement contenant de l'acriflavine, de l'acide nalidixique et du cycloheximide (Hitchins, 1998).

b. Le protocole International Organization for Standardization

Le protocole ISO utilise un enrichissement primaire pendant 24 h à 30°C en présence d'agent sélectif, mais en demi-concentration (bouillon Fraser demi) et l'enrichissement secondaire en bouillon Fraser contenant les agents sélectifs en concentration entière (ISO, 1996).

c. La méthode Services d'inspection et de sécurité alimentaire

Dans cette méthode les échantillons sont directement traités dans le bouillon d'enrichissement, elle est utilise deux étapes d'enrichissement : l'enrichissement primaire est fait dans le UVM, contenant de l'acide nalidixique et de l'acriflavine et l'enrichissement secondaire est effectué en bouillon Fraser, contenant de l'acide nalidixique, du chlorure de lithium et de l'acriflavine (USDA, 2002).

d. La méthode officielle de l'Association of Official Analytical Chemists

Comme la méthode USDA, les échantillons sont directement traités dans le bouillon d'enrichissement, cette méthode est demande un enrichissement sélectif en bouillon trypticase-soja contenant de l'acriflavine, de l'acide nalidixique et du cicliheximide (AOAC, 2000).

Après un enrichissement sélectif, les cultures sont ensuite isolées sur différentes géloses sélectives/différentielles pour l'isolement de colonies présumées de *L. monocytogenes*. Toutes les méthodes utilisent la gélose Oxford, sauf la méthode USDA, qui utilise une gélose Oxford de formulation modifiée (MOX). La gélose Oxford renferme

du chlorure de lithium, du cycloheximide, de colistine, de l'acriflavine, du cefotan et de phosphomycine comme agent sélectif. En plus de la gélose Oxford, la FDA utilise du chlorure/phényléthanol/moxalactam de lithium (LPM) ou gélose PALCAM et la méthode standard ISO utilise cette dernière qui renferme du chlorure de lithium, de la polymixine B de l'acriflavine et de ceflazidime. La gélose MOX utilisée dans la méthode USDA contient du chlorure de lithium, de la colistrine et du moxalactam (OIE, 2005).

III.3.1.3. Identification de *L. monocytogenes*

a. Identification visuelle

Les colonies typiques de *L. monocytogenes*, se sont des colonies transparentes de 1 à 2 mm, lisses, à bords réguliers, irisées, β-hémolitiques sur gélose de sang (cheval5%). L'observation microscopique des colonies montre que se sont des bacilles à Gram positifs, non capsulées et non sporulées, isolées ou regroupées en lettre V, péritriches et mobiles sur gélose mobilité à 25°C (Coste et *al.*, 2011).

b. Identification biochimique

L'identification biochimique de *L. monocytogenes*, montre que c'est une bactérie aérobies anaérobies facultative, catalase positive, ne produit pas de sulfure d'hydrogène, capable de fermenter le glucose et l'esculine sans production du gaz, capable de produire la lécithinase et elle est capable de produire de l'acide à partir du mannitol et de rhamnose (Coste et *al.*, 2011).

Les caractères bactériologiques de *L. monocytogenes* sont exprimes dans le tableau sauvant :

Tableau 3 : principaux caractères différentiels de *L monocytogenes* (morphologie exclue) (Avril et *al.*,1992).

Mobilité	Métachro - Madque	Spores	Cata-lase	Hém-olyse	NR	Manitol	esculine	Urease	H_2S	t.A-nton
+(22°C)	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+

c. CAMP test

Le test de Christie-Atkins-Munch-Peterson (CAMP test) est un outil très utile pour aider à identifier l'espèce de *L. monocytogenes* à laquelle appartient l'isolat. Le test est simple à réaliser et facile à lire. Il consiste à réaliser un ensemencement de souches de *Staphylococcus aureus* β-hémolytique et *Rhodococcus equi* en un seul trait en traçant des lignes parallèles, sur une gélose au sang de mouton ou une gélose double couche avec une très fine couche de gélose au sang. Les ensemencements doivent être suffisamment séparés pour permette la lecture des souches à taster et des souches témoins qui seront ensemencées perpendiculairement entre les 2 organismes indicateurs, sans qu'elles se touchent (séparées de 1à 2 mm). Après une incubation de 24 h 48 h à 35°C à 37°C (12 à 18

h si la couche mince de gélose au sang est testée), une réaction positive est visible par une zone de β-hémolysine à l'intersection entre les souches testées et la souche indicatrice (Avril et *al.*,1992).

III.4. Autres méthode d'identification rapide

III.4.1. Electrophorèse des enzymes Multilocus (MEE)

Cette technique s'appuie sur les différences des séquences d'acide nucléiques qui entrainent des mobilités électrophorétiques différentes d'enzymes métaboliques choisies dans un gel d'amidon, et peut etre appliqué au typage de souches apparentées (Graves et *al.*, 1999).

III.4.2. Analyse de la restriction des endonucléases de l'ADN chromosomal

L'analyse de la restriction des endonucléases de l'ADN chromosomique (REA) est une méthode utile pour le typage de *L. monocytogenes.* Du fait que ces enzymes sont très spécifiques dans la reconnaissance des séquences nucléotidiques, les fragments résultant de la digestion de l'ADN, de différentes tailles et mobilités électrophoritiques, reflètent les différences génomiques à l'origine de profils spécifiques parmi les autres souches autrement apparentées. Compte tenu de la spécificité des endonucléases de restriction, la méthode est hautement reproductible. Parmi les endonucléases de restriction testées dans l'étude multicentrique de l'OMS (Organisation mondiale de la santé), *Hae*III, *Hha*I et *Cfo*I sont les plus intéressantes (Graves et *al.*, 1999).

III.4.3. Typage basé sur la séquence des acides nucléiques

Bien que des donnés sur l'analyse des séquences de gènes pour le typage des souches de *L. monocytogenes* existent, la détermination des variations alléliques de multiples gènes a récemment été introduite comme une méthodologie de typage de ce microorganismes très prometteuse. Cette approche a été identifiée pour une poignée d'autres microorganismes et est connue sous le nom de MLST (Multi Locus Sequence Ttyping) (Spartt, 1999).

III.4.4. Amplification au hasard de l'ADN polymorphiques

Si des amorces sélectionnées arbitrairement sont utilisées pour la PCR en conditions de faible stringence, avec comme cible l'ADN chromosomique des souches. La RAPD est une méthode alternative à lysotipie hautement des discriminante. Cependant en dépit de ça relative simplicité et de son pouvoir discriminant, son principale obstacle est la faible reproductibilité de profils (Graves et *al.*, 1999).

Les conditions de faible stringence pour l'appariement des amorces entrainent une polymérisation avec une efficacité variable, et par conséquent les quantités de l'ADN produit peuvent être variables parmi les différents amplimères pour un isolat donné, ce qui fait que l'interprétation des profils RAPD est difficile (Graves et *al.*, 1999).

CHAPITRE IV

TRAITEMENT DE LA LISTERIOSE

IV.1. Prophylaxie

La prophylaxie est l'ensemble des mesures prises pour prévenir l'apparition d'une maladie (Petignat, 2005).

La prophylaxie de la listériose humaine est avant tout, une prophylaxie sanitaire fondée sur une éducation sanitaire exemplaire et irréprochable L'hygiène corporelle et vestimentaire, individuelle et collective, des manipulateurs doit être rigoureuse. La formation et la sensibilisation du personnel sont particulièrement importantes. La médecine du travail préconise dans ce sens, en plus de la visite médicale d'embauche, deux contrôles annuels avec dépistage systématique des porteurs sains et insiste beaucoup sur la formation et l'éducation sanitaire (Oteng-Gyang, 1984).

En conclusion, la prophylaxie de la listériose humaine est basée essentiellement sur l'information des populations à risque et sur l'éducation sanitaire.

IV.1.1. Prévention

La meilleure prévention pour les femmes enceintes consiste à informer ces femmes, à éviter la consommation des aliments les plus fréquemment contaminés et à respecter certaines règles lors de la manipulation et la préparation des aliments.ces recommandation sont liées à la nature même de *L. monocytogenes,* son habitat et sa résistance.

IV.1.1.1. Information des femmes enceintes

Etant donné la gravité que peut revêtir une infection par *L. monocytogenes* durant la grossesse, l'information des futures mamans est primordiale. Il semble cependant, même si le niveau d'information des femmes à propos des risques de listériose a été peu étudie, que celle-ci n'ait pas un impact suffisant sur leur comportement. Les médecines doivent informer leurs patientes dés le début de la grossesse. De plus, chaque épidémie de listériose donne l'occasion aux médias de rappeler les principales mesures de prévention (Valk de et *al.*, 2000).

IV.1.1.2. Alimentation et pratiques culinaires

Selon De Valk et al (2000), il faut éviter les aliments vendus crus et consommés sans cuisson :

- Fromages au lait cru (ainsi que les fromages vendus râpés), fromages à pâtes molles comme le brie, le camembert, le fêta...
- poissons fumés, coquillages crus, surimi, tarama, sushi…
- graines germées crues (soja, luzerne,...).

Etre prudente avec les aliments ayant subi une cuisson au cours de leur préparation mais ensuite consommés en l'état (possibilité de recontamination après cuisson) :

- produits de charcuterie cuite tels que les rillettes, pâtés, foie gras, produit en gelée…
- les restes alimentaires et les plats cuisinés doivent être réchauffés soigneusement avant consommation immédiate.
- Pour les produits de charcuterie type jambon cuit, préférer les produits préemballés qui présentent moins de risques d'être contaminés lors du tranchage.

Prendre des précautions vis-à-vis des aliments susceptibles d'être contaminés par contact avec l'environnement :

- Enlever la croûte des fromages.
- Laver soigneusement les légumes crus et les herbes aromatiques.
- Cuire les aliments crus d'origine animale (viande, poissons, charcuterie crue tell que les lardons).

IV.1.1.3. Règles d'hygiène à respecter

La chaîne du froid, c'est assurer le maintien constant des aliments réfrigérés ou surgelés à une température basse positive ou négative selon le cas. Ce processus permet de conserver aux produits leurs qualités (hygiéniques, nutritionnelles et organoleptiques) et de les garder sains, du lieu de production jusqu'à la cuisine (Valk de et *al.*, 2000).

Eviter les contaminations croisées :

- Conserver séparément les aliments crus (viande, légumes, herbes aromatiques...) et les aliments cuits ou prêts à être consommés.
- Après la manipulation d'aliments non cuits, se laver les mains et nettoyer les ustensiles de cuisine qui ont été en contact avec ces aliments.
- Nettoyer les zones de travail et les planches à découper avant et juste après toute préparation.
- Disposer les aliments dans des emballages séparés et permettre à l'air de circuler facilement dans le réfrigérateur.

Enrayer la prolifération de *L. monocytogenes* :

- Nettoyer et désinfecter ensuite avec de l'eau javellisée son réfrigérateur une fois tout les 15 jours.
- Remplacer régulièrement les torchons et les éponges.
- Respecter les dates limites de consommation.
- Ne jamais recongeler un produit décongelé.
- Décongeler les aliments au réfrigérateur ou à la micro-onde, avant la cuisson, ou directement lors de la cuisson.

Limiter les risques de contamination non-alimentaires :

- Eviter, dans la mesure du possible, la manipulation d'animaux à risque (rongeurs, ruminants, oiseaux…). Après manipulation d'animaux, une hygiène rigoureuse doit être respectée.

IV.1.1.4. Prévention collective

La listériose est une maladie à déclaration obligatoire depuis 1998 (la déclaration obligatoire permet de suivre l évolution de l incidence de la listériose et de connaître les caractéristiques épidémiologiques). Les médecins et les biologistes qui suspectent ou diagnostiquent une des maladies à déclaration obligatoire doivent les signaler sans délai et par tout moyen approprié (téléphone, télécopie) au médecin inspecteur de santé publique. Le signalement permet au médecin inspecteur de santé publique de mettre en place les mesures de prévention individuelle et collective autour des cas, et le cas échéant, de déclencher des investigations pour identifier l'origine de la contamination et agir pour la réduire. La notification intervient après le signalement et le plus souvent après confirmation du diagnostic. Les médecins ou les biologistes déclarants notifient le cas au médecin inspecteur de santé publique, du lieu d'exercice au moyen d'une fiche spécifique à chaque maladie. La notification permet d'analyser et de suivre l'évolution de ces maladies au sein de la population afin de mieux cibler les actions de prévention locales et nationales (Pilly 2008).

IV.2. Vaccination

La vaccination contre la listériose a fait l'objet de nombreuses études aux résultats contradictoires. D'une façon générale, elle s'est montrée décevante. Des vaccins inactivés sont tout de même disponibles dans plusieurs pays. Ils semblent peu efficaces, même si la fréquence des formes cliniques paraît diminuer dans les troupeaux vaccinés. (Cooper et Walker, 1998).

D'autres vaccins, (vivants atténués) ont été expérimentés dans différents pays avec des résultats contrastés. Ces vaccins vivants, seuls vraiment capables de stimuler l'immunité cellulaire, sont certes potentiellement plus efficaces que les vaccins tués. Mais le risque de diffusion d'une souche atténuée et donc vivante conduit à limiter leur utilisation puisque l'homme y est sensible (Millemann et *al.*, 2000).

IV.3. Antibiothérapie de la maladie

IV.3.1. Antibiotiques, quantité et durée de traitement

Concernant le traitement de la listériose, l'emploi d'antibiotiques bactéricides capables de traverser la barrière hématoméningée est nécessaire (Deguelte, 2004).

Le traitement de choix d'une listériose reste toujours l'ampicilline, mais son activité est essentiellement bactériostatique dans les 24 premières heures d'administration, avec une pénétration intracellulaire limitée, aussi le triméthoprime-sulfaméthoxazole a une

bonne activité, mais est contre indiqué au premier trimestre, en raison d'un effet tératogène, et à l'approche du terme, du fait d'un risque d'ictère néonatal par libération de la bilirubine fixée à l'albumine et n'oublie pas les macrolides qui ont une action antagoniste s'ils sont utilisés avec les pénicillines ou les aminosides, la vancomycine n'est pas adaptée aux localisations neurologiques car elle ne traverse pas la barrière placentaire. Toute fièvre inexpliquée chez la femme enceinte justifie un traitement antibiotique, débuté sans attendre les résultats des examens bactériologiques. Le traitement recommandé est dans ce cas l'amoxicilline 3g/jour pendant 10 jours, dès que le bilan infectieux est pratiqué. En cas de listériose prouvée, c'est l'association amoxicilline/aminoside qui offre la plus grande sécurité et rapidité d'action. Le traitement de référence est l'amoxicilline à dose élevée 6g/jour pendant 3 semaines avec de l'aminoside pendant 10 à 15 jours. Certains prescrivent un traitement d'entretien par l'amoxicilline seule jusqu'au terme, ou même de traiter systématiquement lors d'une grossesse ultérieure. Mais l'intérêt de ces mesures n'est pas démontré (Deguelte, 2004).

En cas d'allergie aux pénicillines, on peut utiliser un macrolide, la vancomycine, un aminoside ou le triméthoprime-sulfaméthoxazole, surtout au deuxième trimestre, mais le triméthoprime-sulfaméthoxazole associe à la gentamicine donne de bons résultats (Spitzer *et al.*, 1986 ; Pinéde *et al.*, 1993)

Le traitement de listériose en cours de la grossesse peut amener à un accouchement à terme d'un enfant vivant non infecté. Plusieurs cas ont été rapportés dans la littérature considérant qu'un traitement in utéro peut être effectué, avec surveillance de négativation de la culture du liquide amniotique (Benhaim, 2003). Ceci est en opposition avec les autres causes de chorioamniotite, où le déclenchement du travail est indiqué, afin de faciliter un traitement fœtal.

IV.3.2. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent principalement sur deux niveaux par apport à *L. monocytogenes* :

Paroi. on trouve que les pénames comme l'amoxicilline, pénicilline G, ampicilline…etc agissent sur la paroi bactérienne par toxicité sélective au niveau de la synthèse du peptidoglycane en inhibant les PLP, on trouve aussi la vancomycine agissent sur la paroi bactérienne en bloqueant la polymérisation du peptidoglycane par un mécanisme complexé (Leminor et Veron, 1989 ; Yala *et al.*, 2001 ; Francois *et al.*, 2003 ; Cattoir, 2006 ; Rabaud et May, 2007)

Synthèse protéique. D'autre antibiotiques de la famille des macrolides (oléandomycine, clarithromycine…) sont des inhibiteurs de la synthèse des protéines , ils agissent au niveau de la sous unité 50 S du ribosome qui inhibe la croissance de la chaîne polypeptidique en formation (Leminor et Veron, 1989 ; Francois *et al.*, 2003 ; Leclercq, 2006), les aminosides tells que gentamicine, amikacine, netilmicine…etc, agissent sur la sous unité 30S du ribosome qui cause une erreur de lecteur du code génétique lors de la traduction des protéine bactéricides (Leminor et Veron, 1989 ; Yala *et al.*, 2001 ; Francois

et al., 2003), et le triméthoprime-sulfaméthoxazole qui inhibe la synthèse des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la DHPS ou en se fixant sur la dihydrofolade réductase (Adam et Drouillard, 2003 ; Goldstein, 2006).

IV.4. Sensibilité aux antibiotiques de *L. monocytogenes*

La sensibilité aux antibiotiques de *L. monocytogenes* est remarquable depuis de nombreuses années tells que la pénicilline G, ampicilline, amoxicilline...etc, mais une résistance naturelle est notée vis-à-vis des céphalosporines de 3^{éme} génération, de l'aztreonan, de l'acide nalidixique...etc et quelques rares souches sont capables d'acquérir une résistance à la streptomycine, à la kanamycine, à la gentamicine...etc, l'émergence des souches résistantes résulte généralement de l'acquisition de plasmides ou de transposons conjugatifs.la résistance à la tétracycline est la résistance acquise la plus fréquemment observée chez *L. monocytogenes* aussi bien chez les souches isolées de prélèvement cliniques que chez des souches isolées des aliments et de l'environnement (Charpentier et Courvalin, 1999).

Le tableau suivant présente la sensibilité (en terme sensible/résistante) de *L. monocytogenes* aux antibiotiques

Tableau 4 : sensibilité aux antibiotiques (S : sensible, R : résistante) (CASFM, 1999).

Antibiotiques	R /S		Antibiotiques	R /S
Amikacine	S		Ciprofloxacine	R
Amoxilline	S		Clindamycine	R
Amoxilline + Acide clavulanique	S		Fosfomycine	S
Ampicilline	S		Gentamicine, Sisomicine	S
Céfalexine, Céfradine, Céfadroxil	R		Imipénéme,Méropénéme	S
Céfatrizine, Céfaclor, Loracarbef	R		Isépamicine	S
Céfalotine, Céfazoline	R		Latamoxef	R
Céfapirine, Céfaloridine	R		Lincomycine	R
Céfamndole	R		Nétilmicine	S
Céfépime	R		Ofloxacine	R
Cefixime	R		Péfloxacine	R
Céfopérazone	R		Pénicilline G	S
Céfotaxime	R		Pipéracilline + Tazobactam	S
Cefotétan	R		Pipéracilline, Mezlocilline	S
Céfotiam	R		Polymyxines	R
Céfotiam, Hexétil	R		Rifampicine	S
Céfoxitime	R		Synergistines	S
Cefpirome	R		Teicoplanine	S
Cefpodoxime Proxétil	R		Thiophénicol	m.S
Ceftazidime	R		Ticarcilline	S
Ceftizoxime	R		Ticarcilline + acide clavulanique	S

IV.4.1. Résistance de *L. monocytogenes* aux antibiotiques

IV.4.1.1. Résistance naturelle

L'activité des bêta-lactamines sur *L. monocytogenes* résulte de leur affinité pour les différentes PLP de cette espèce. Comme chez les entérocoques, 5 PLP ont été mises en évidence chez *L. monocytogenes*. La PLP 3 joue un rôle essentiel et permet une liaison forte avec les différentes pénicillines (naturelle, amino-, carboxy-, uréido-pénicilline) et les carbapénèmes. Par contre, il y a une très faible interaction entre la PLP 3 et le mécillinam, les céphalosporines et l'aztréonam expliquant ainsi la faible activité de ces molécules sur *L. monocytogenes* (Pierre et *al.*, 1990 , Vicente et *al.*, 1990).

La résistance naturelle de *L. monocytogenes* aux céphaiosporines et aux fluoroquinolones ne doit jamais être oubliée, en particulier lors du choix d'une de ces molécules pour un traitement de première intention avant confirmation bactériologique. De plus, certaines souches ont pu présenter un phénomène de tolérance l'ampicilline (Jones et MacGowan 1995).

IV.4.1.2. Résistance acquise

L'acquisition de la résistance observée chez *L. monocytogenes* a fait l'objet de mises au point récentes (Charpentier et Courvalin, 1995 ; Charpentier et *al.*, 1995). Cette résistance acquise n'a, à l'heure actuelle, qu'une conséquence clinique limitée. I1 existe une incidence faible de la résistance à différents antibiotiques : parmi les souches de *L. monocytogenes* isolées, 2,1% sont résistantes à la tétracycline et 0,16 % à l'érythromycine (Macgowan, 1990).

La résistance à la tétracycline est actuellement la plus fréquente. La résistance repose sur deux types d'éléments génétiques mobiles, transposons et plasmides provenant d'espèces voisines, entdrocoques et streptocoques. Parmi les souches de *L. monocytogenes* isolées, une souche résistante au triméthoprime et de rares souches multirésistantes ont été décrites. Les antibiotiques concernés sont tétracycline, minocycline, streptomycine, kanamycine, sulfamide, rifampicine, érythromycine, chloramphénicol. La résistance à la tétracycline est aussi la plus fréquente (Abuin et *al.*, 1994).

CONCLUSION

La maladie de listériose est une maladie rare mais grave chez certains sujets humains, c'est une maladie d'origine alimentaire, facile de diagnostiquer et de traiter grâce à des techniques de bactériologie.

Un test de laboratoire permet de diagnostiquer et de définir le traitement de la listériose, l'efficacité du traitement dépend essentiellement de sa précocité. La sensibilité est presque constante aux certaines antibiotiques

Il semble difficile de concevoir l'éradication de *L. monocytogenes*, bactérie parfaitement adaptée à notre environnement. Ces récentes données montrent au contraire que le risque dû à *L. monocytogenes* est toujours d'actualité et rappellent que la pression exercée sur les industriels doit être maintenue, que les efforts de sensibilisation doivent être régulièrement poursuivis et que la surveillance doit être renforcée au moment où le nombre de personnes à risque augmente.

En revanche, le nombre de cas de listériose a diminue de moitie, tandis que l'on observait une augmentation des alertes médiatisées. Le nombre de cas de listériose diminue parce qu'après l'épidémie de 1992, les autorités sanitaires ont élaboré des procédures de contrôle, qui commencent à porter leurs fruits. 11 faut continuer d'appliquer scrupuleusement les procédures existantes. En dehors des autorités de tutelle, les industriels, le corps médical et les consommateurs doivent participer et participent à la politique de santé. Chacun à son niveau doit appréhender différemment mais conjointement la listériose.

Les consommateurs ne doivent pas tomber dans une listeriophobie. La maitrise de la fabrication et de la distribution peut nous permettre de garder nos traditions culinaires. La connaissance des contrôles et leur inéluctable médiatisation constituent en effet des points fortement positifs. Il faut donc se garder de jeter l'anathème sur l'entreprise agroalimentaire qui met tout en œuvre pour prévenir et contrôler efficacement l'apparition de produits contamines.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

Abuin CMF., Fernandez EJQ., Sampayo CF., Otero JLR., Rodriguez LD. et Saez AC. (1994). Susceptibilities of Listeria species isolated from food to nine antimicrobial agents. Antimicrob Agents Chemother., **38**, 7-1655.

Adam F. et drouillard I. (2003).Sulfamides et associations. Encycl. Méd. Chir., 9.

AFSSA. (2000). Rapport de la Commission d'étude des risques liés à Listeria monocytogenes. Agence Français de sécurité sanitaire des aliments, France, 24-33.

AFSSA. (2009). Avis sur l'augmentation des cas de listériose et le lien éventuel avec l'évolution des modes de production, de préparation et de consommation des aliments. Agence Français de sécurité sanitaire des aliments, **0174**, 11-1 2.

AFNOR. (1997). Norme Française NF **V 08-055**. Microbiologie des aliments. Recherche de *Listeria monocytogenes*. Méthode de Routine.

Andrews W. (2002). Current State of Conventional Microbiological Methodology for the Examination of Food. In : Workshop, 15-102.

AOAC. (2000). *Listeria monocytogenes* and Related Listeria spp. in Selected Foods. Visual Immunoprecipitate Assay (VIPTM). Official Methods of Analysis of AOAC international. In: Official Methods of Analysis of AOAC international, **1**, 158-160.

Audurier A., Rocourt J. et Courtieu AL. (1977). Isolement et caractérisation de *Listeria monocytogenes*. Annales de microbiologie de l'Institut Pasteur de Paris. **128A**, 185-198.

Audurier A. et Berche P. (1989). In : bactériologie médical, le Minor L et Véron M édition. Flammarion médecine science Paris, 844-858.

Augustin JC. (1999). Modélisation de la dynamique de croissance des populations de *Listeria monocytogenes* dans les aliments. Thèse de Doctorat, Université Lyon 1.

Avril JL., Dabernat H., Denis F., Monteil H. (1992). Bactériologie clinique. 2eme édition. Ellipse. 32, ru. Bargu 75015 Paris, 123-130.

B, C

Berche P. (1999). Physiopathologie et diagnostic bactériologique des infections matérno-infantiles à *Listeria monocytogenes*. **1**, 33-39.

Berche P. (1995). Physiopathologie des infections à *Listeria monocytogenes.* Méd Mal Infect., **25**, 197-209.

Boudard M. Sanfourche H. (2012). UE : De l'agent infectieux à l'hôte– Bactériologie, *Listeria*. 1-5. http://sites.google.com/site/vibroneo/

Boussboua H. (2004). Eléments de microbiologie générale. Edition : Université de Mentouri Constantine, pp 24-210.

Catteau MM. (2006). AFSSA-Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments : *Listeria monocytogenes*. France, 1-5.

Cattoir V. (2006). Chloramphénicol, fosfomycine, acide fusidique et polymixines. In : courvalain, P., Leclercq, R. et bingen, E. Antibiogramme.2éme edition, pp 299-324.

Charpentier E. et Courvalin P. (1995). Résistance aux antibiotiques chez Listeria spp. Mdd Mal Infect., **25**, 32-225.

Charpentier E. et Courvalin P. (1999). Antibiotic résistance in *Listeria spp*. Agents Chemother, **43**, 2103-2108.

Charpentier E., Gerbaud G., Jacquet C., Rocourt J. et Courvalin P. (1995). Incidence of antibiotic resistance in Listeria species. J Infect Dis., **172**, 81-277.

CNR. (2005). La listériose ; Cas notifiés dans les Bouches-du-Rhôn during pregnancy: a case series and review of 222 cases. Medicine, **81**, 9-260.

Cossert P. et korcks C. (1994). The actin-based motility of the facultative intracellular pathogen *Listeria monocytogenes.* Mol. Microbial, **13**, 395-402.

Coste FJ., Duval V., Nguyen Y., Guillard T., Brasme L., David C., Strady C., Lecuit M. et de Champs C. (2011). Abcès cérébral à *Listeria monocytogenes* de localisation inhabituelle. Pathologie Biologie, 2972, 1-4.

Cooper J., Walker RD. (1998). Listeriosis. Veterinary Clinics of North America, **14**, 113-125.

D, E, F

Deguelte S., Metge MP., Quereux C., Gabriel R. (2004). Listériose au cours de la grossesse, EMC-gynécologie Obstétrique, **1**, 180-186.

DGS/VS. (1998). Relative à la déclaration obligatoire de la listériose. Bulletin officiel, **98(18)**, 1-4.

Demuth A., Goebel W., Beuscher HU. et Kuhn M. (1996). Differential regulation of cytokine and cytokine receptor mRNA expression upon infection of bone marrowderived macrophages with Listeria monocytogenes. Infect. Immun., **64**, 3475-3483.

Ewert DP., Lieb L., Hayes PS., Reeves MW. et Mascola L. (1995). *Listeria monocytogenes* infection and serotype distribution among HIV- infected persons in Los Angeles County, 1985-1992. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol, **8**, 461-465.

FAO / OMS. (2002). Forum Mondial des responsables de la sécurité sanitaire des aliments. 1-223.

FAO/OMS. (1998). Document de travail sur l'avant-projet de recommandations pour la lutte contre le *listeria monocytogenes* dans les aliments. Comité du codex sur l'hygiène alimentaire, **10**, 1-16.

Farber JM., Coates F. et Daley E. (1992). Minimum water activity requirements for the growth of *Listeria monocytogenes*. Lett. Appl. Microbiol., **15**, 103-105.

Farber JM. et Peterkin PL. (1991). *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. Microbiological Rev.**55**, 476-511.

Federighi M. (2005). Bactériologie alimentaire compendium d'hygiène des aliments. 2eme édition. Economica. 49, rue Héricart 75015 Paris, pp 97-123.

Fenlon DR. (1999). Listeria monocytogenes in the Natural Environment in Listeria, listeriosis and food safety. **2**, 21-37.

Framcois J., Chomarat M., Weber M. et Gerard, A. (2003).De l'antibiogramme à la prescription. *Biomerieux*, 2eme edition, pp 8-22.

G, H, I

Goldstein F. (2006). Sulfamides et triméthoprime. In : courvalain, P., Leclercq, R. et bingen, E. Antibiogianne.2éme edition, 341-348.

Goulet V., Jacquet C., Laurent E., Rocourt J., Vaillant V. et Valk de J. (2001). La surveillance de la listériose humaine en France en 1999. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire, **34**, 1-9.

Graves LM., Swaminathan B. et Hunter S. (1999). Subtyping *Listeria monocytogenes*. In: Listeria, Listeriosis, and Food Safety. 279.

Heinz D. (2001). Röntgenstruktur analyse bakterieller virulenzfaktoren. En-ligne http://struktur.gbf.de/dih.

Hélène FP. (2011). Maladies émergentes et réémergentes chez l'homme. CNRS,1-94.

Hitchins AD. (1998). *Listeria monocytogenes*. In: Bacteriological Analytical Manual, US Food and Drug Administration, AOAC international. 1-11.

Hubert B., Laporte A., Lepoutre A. et Roure C. (1991). La surveillance des maladies transmissibles en France. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire. **36**, 155-157.

ISO. (1996). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: Detection method.

J, K, L

Jacquet C., Gouin E., Jeannel D., Cossart P. et Rocourt J. (2002). Expression of ActA, Ami, InlB, and listeriolysin O in *Listeria monocytogenes* of human and food origin. Appl Environ Microbiol, **68**, 616-622.

Jones EM. et MacGowan AP. (1995). Antimicrobial chemotherapy of human infection due to *Listeria monocytogenes*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infec. Dis., **14**; 75-165.

Kock C., Vazquez-Boland J.A., Dramsi S., Ohayon H., Geaffroy C., Mengaud J. et Cossart P. (1992). Nucleotide sequence of the lecithinase operon of Listeria monocytogenes and possible role of lecithinase in cell-to-call spread. Infect Immun, **60**, 219-230.

Kiati M. (2004). Guide des maladies infectieuses et parasitaires. Edition : office des publication universitaires, pp 50-51.

Kuntzer T., Radziwill AJ., Bogousslavsky J, Bille J. (2004). Listériose et neurolistériose. Service de neurologie, EMC-Gynécologie Obstétrique, **1**, 65-74.

Leclercq R. (2006).Sulfamides et triméthoprime. In: courvalain, P., Leclercq, R. et bingen, E. Antibiogramme.2éme edition, pp 299-324.

Lecuit M. et Cossart P. (2002). Genetically-modified-animal models for human infections: the *Listeria* paradigm. Trends Mol Med, **8**, 537-542.

Leminor L. et Veron M. (1989). Bactériologie médicale. *Flammarion*, 1107.

Lorber B. (2000). *Listeria monocytogenes*. In: Mandell GL., Bennett JE. et Dolin R., editors. Principles and practice of infectious diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2208-2213.

M, N, O

Mahaza C. (1998). U.F.R. des Sciences Pharmaceutiques et d'Ingénierie de la Santé. Journal officiel de la république, ANGERS, **98-169**, 1-9.

Mériadec C. et Marchand F. (2008). Les sérologies au cours de la grossesse ; les morts fœtales *in utéro* en Nouvelle-Calédonie ; Listériose et grossesse en Nouvelle-Calédonie. Bulletin médical, **52**, 1-32.

Millemann Y., Remy D. et Brugere-Picoux J. (2000). La listériose des ruminants. Diagnostic, traitement et prévention. Point Vét., **31**, 317-322.

Mylonakis E., Paliou M., Hohmann EL., Calderwood SB. et Wing EJ. (2002). Listeriosis. INF, **13**, 1-3.

Nguyen VJ., Nguyen L., Guillemain R., Amrein C., Buu-Hoi A. et Gutmann L. (1994). Relapse of infection or reinfection by *Listeria monocytogenes* in a patient with a heart transplant: usefulness of pulsed-field gel electrophoresis for diagnosis. Clin Infect Dis, **19**, 208-209.

Nolan DA., Chamblin DC. et Troller JA. (1992). Minimal water activity levels for growth and survival of *Listeria monocytogenes* and Listeria innocua. Int. J. Food Microbiol., **16**, 323-335.

Nolla-Salas J., Bosch J., Gasser I., Vinas L., de Simon M., Almela M. et *al.* (1998). Perinatal listeriosis: a population-based multicenter study in Barcelona, Spain (1990-1996). Am J Perinatol, **15**, 7-461.

OIE. (2005). Manuel terrestre de l'OIE: *listeria monocytogenes*. Chapitre 2.10.14, 1249-1265.

P, R

Pearson LJ. et Marth EH. (1990). *Listeria monocytogenes*-threat to a safe supply: a review. J. Dairy Sci., **73**, 912-928.

Petignat C. (2005). Infections, Infections nosocomiales, Bases épidémiologiques. Pathol_infectieuse_complet_TRX, **03-05**, 1-31.

Phan-Thanh L. et Gormon TA. (1997). chemically defined minimal medium for the optimal culture of Listeria. Int. J. Food Microbiol., **35**, 91-95.

Pierre J., Boisivon A. et Gutmann L. (1990).Alteration of PBP 3 entails resistance to imipenem in *Listeria monocytogenes*. Antimicrob Agents Chemother, **34**, 8-1695.

Piméd L., Monquat G., Barnoud D., Croizé J., Guignier M., Stahl J.P. et Micoud M. (1993). Listériose neuroméningée de l'adulte. Aspects cliniques et apport du cotrimoxazole en monothérapie. Presse Med., **22**, 1385-1390.

Premaratne R J., Wei-Jen L. et Johnson EA. (1991). Development of an improved chemically defined minimal medium for Listeria monocytogenes. Appl. Environ. Microbiol., **57**, 3046-3048.

Ramdani bougeussa N., Seghir M., Belouni R. et Ben Slimani A. (2010). Manuel de microbiologie. Edition : office des publications universitaires, pp 53-83.

Robond D. et May Y. (2007).Glycopeptides. Encycl Méd.Chir., 7.

Rocourt J., BenEmbarek P., Toyofuku H. et Schlundt J. (2003). Quantitative risk assessment of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods: the FAO/WHO approach. **35(3)**, 237-263.

Rocourt J. (1999). Rapport d'activités du centre national de référence des Listeria, Institut Pasteur de Paris.

Rocourt J. et Seeliger HPR. (1985). Distribution des espèces du genre Listeria. Zentral Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. A., **259**, 317-330.

Ryser ET. et Marth EH. (1999). Listeria, listeriosis, and food safety. Marcel Dekker, 737.

S, U

Seelger HPR. et Jones D. (1986). In : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe and J.H. Holt (eds), Williams & Wilkins, Baltimore, **2**, 1235-1245.

Skogberg K., Syrjanen J., Jahkola M., Renkonen OV., Paavonen J., Ahonen J. et *al.* (1992). Clinical presentation and outcome of listeriosis in patients with and without immunosuppressive therapy. Clin Infect Dis, **14**, 815-821.

Southwick FS. et Purich DL. (1996). Intracellular pathogenesis of listeriosis. N Engl J Med, **334**, 770–776.

Spratt BG. (1999). Multilocus sequence typing: molecular typing of bacterial pathogens in an era of rapid DNA sequencing and the internet. Curr. Opin. Microbiol.. **3**, 312-316.

Spitzer P.G., Hammer S. et karchmer W. (1986). Treatment of *L. monorytogenes* infection with trimethoprim- sulfamethoxozole: case report and review of the literature .Rev. Infect Dis., **8**,427-430.

Sutra L., Federigh M, Jouve JL. (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. Polythchnnica. Lacépède, 133.

USDA. (2002). Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry, Egg and Environmental Samples. In: Microbiology Laboratory Guidebook On Line, **8.03**, 1-20.

V, W, Y, Z

Vasseur C., Baverel L., Hébraud M. et Labadie J. (1999). Effect of osmotic, alkaline, acid or thermal stresses on the growth and inhibition of *Listeria monocytogenes*. J. Appl. Microbiol., **86**, 469-476.

Vicente MF., Perez-diaz JC., Baquero F., de Pedro MA. et Berenguer J. (1990). Penicillin-binding protein 3 of *Listeria monocytogenes* as the primary lethal target for β-1actams. Antimicrob Agents Chemother, **34**, 42-539.

Weicherding P. (2011). La listériose. Conseil supérieur des maladies infectieuses.1-5.

Wing EJ. et Gregory SH. (2002). *Listeria monocytogenes*: clinical and experimental update. J Infect Dis, **185 (1)**, 18-24.

Yala D., Morad A.S., Mohamedi D. et Ouar-Korichi M.N. (2011). Medecine du Maghreb, **91**, 5-12.

Zychlinsky A. et Sansonetti PJ. (1997). Apoptosis as a proinflammatory event: what can we learn from bacteria-induced cell death. Trends Microbiol., **5**, 201-204.

Thème : Listériose au cours de la grossesse

Réalisé par :

-Macharih Moncif

-Mérabet Réda

Membres de jury :

- Khennouf T.

Résumé :

La listériose est une maladie rare, d'origine alimentaire, qui affecte principalement les femmes enceintes et les sujets fragiles ou immunodéprimés. *L. monocytogenes* est retrouvée dans environ 10 % des aliments. L'incidence de la listériose a été fortement réduite au cours de la dernière décennie, grâce aux mesures préventives prises dans l'industrie agroalimentaire. Son incidence actuelle est d'environ quatre cas par an et par million d'habitants, dont 20 à 25 % de formes périnatales. Les deux tiers des formes périnatales sont diagnostiquées au troisième trimestre. Les symptômes les plus fréquents sont une fièvre, un syndrome pseudogrippal et un travail prématuré. La méningoencéphalite est rare chez la femme enceinte. En revanche, la mortalité fœtale et néonatale reste très lourde, en moyenne 26 %. Ces caractéristiques imposent d'évoquer de principe la listériose devant toute fièvre mal expliquée chez une femme enceinte, de demander des hémocultures avec recherche de *Listeria*, et de prescrire une antibiothérapie, sans attendre les résultats.

Mots clés: Listériose, Grossesse, Maladies transmissibles par l'alimentation.

Abstract

Listeriosis is a rare food-born disease which affects primarily pregnant women and subjects with major medical conditions. *L. monocytogenes* is found in about 10% of food samples. The incidence of listeriosis have been dramatically reduced over the past decade, following prevention measures in food industry. Currently, the annual incidence is about 4 cases per million, including 20 to 25% of cases associated with pregnancy. About two thirds of perinatal cases are diagnosed in the third trimester. The most frequent maternal symptoms are fever, flu-like syndrome and preterm labor. Meningoencephalitis is rare during pregnancy. In contrast, the overall fetal and neonatal mortality rate is of 26% in recent studies. Therefore, listeriosis should be evoked in any case of unexplained fever during pregnancy. This requires blood cultures and immediate antibiotic therapy.

Keywords: Listeriosis, Pregnancy, Food-born diseases.

الملخص

داء الليستريات نادر دو أصل غذائي، الذي يصيب النساء الحوامل في المقام الأول والأشخاص ضعاف المناعة أو ذات اضطرابات مناعية. تم العثور على الليسترية المستوحدة في حوالي 10٪ من عينات المواد الغذائية. حدوث داء الليستريات خفضت بشكل كبير خلال العقد الماضي، بعد اتخاذ تدابير وقائية في صناعة المواد الغذائية. حاليا، فإن المعدل السنوي نحو 4 حالات لكل مليون نسمة، بينهم 20 إلى 25٪ من الحالات المرتبطة بالحمل. و يتم تشخيص ما يقرب من ثلثي الحالات ما حول الولادة في الربع الثالث. أكثر الأعراض المتكررة لدى الأمهات هي حمى تشبه الأنفلونزا، متلازمة مع المخاض قبل الأوان. التهاب السحايا والدماغ أمر نادر الحدوث أثناء الحمل. في المقابل فإن إجمالي معدل وفيات الأجنة والأطفال حديثي الولادة هي 26٪ في الدراسات الحديثة. ولذلك، ينبغي استحضار داء الليستريات في أي حالة من حمى غير المبررة خلال فترة الحمل. وهذا يتطلب زرع الدم والعلاج بالمضادات الحيوية على الفور.

الكلمات المفتاحية: داء الليستريات، الحمل، مرض ينتقل عن طريق الأغذية.