

Listeria versus *Enterococcus* : La sécurité alimentaire

Reçu le 17/02/2010 – Accepté le 04/06/2012

A. BOUBENDIR¹, M. A. HAMIDECHI², M. MOSTAKIM³, S. ELABED³, S. IBNSOUDA-KORAICHI³

1 : Département de Biologie. Centre Universitaire de Mila. Algérie. Mail : a-bio@gmail.com

2 : Département Biochimie Microbiologie. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Mentouri-Constantine. Algérie. Mail : hamidechi_hafid@yahoo.fr

3 : Laboratoire de Biotechnologie Microbienne. Université Sidi Mohamed Ben Abdallah. (USMBA). Fès. Maroc.

Résumé

La sécurité sanitaire des aliments est au centre de nos intérêts à causes des risques aux quels nous nous exposons par la simple consommation.

Objectif : Mettre en évidence des liens écologiques éventuels entre *Listeria* et *Enterococcus* dans des laits crus de vaches pour vérifier le rôle antagoniste exercé par *Enterococcus* sur *Listeria*.

Echantillons et Méthodes : L'investigation a concerné 104 échantillons prélevés durant la période Avril 2008 à Mars 2010 sur 60 vaches laitières hybrides. L'isolement bactérien a été réalisé sur gélose au sang de cheval additionnée de Céfazoline pour favoriser l'élection des *Listeria* spp.

Résultats : *Listeria* a été retrouvée dans 6 échantillons (5,77%) et *Enterococcus* dans 20 échantillons (19,23%) ; soit le triple. Cette proportion serait positive pour minimiser le risque *Listeria*.

Mot clés : *Listeria*, *Enterococcus*, lait cru.

Abstract

The food safety is the focus of our interest in the causes of hazards to which we expose ourselves by mere consumption.

Objective: To highlight possible ecological linkages between *Enterococcus* and *Listeria* in raw milk of cows to check the antagonistic role exercised by *Enterococcus* against *Listeria*.

Samples and Methods: The investigation involved 104 samples taken during the period April 2008 to March 2010 on 60 hybrids dairy cows. The bacterial isolation was performed on agar supplemented with blood horse and Cefazolin for promoting the election of *Listeria* spp.

Results: *Listeria* was found in six samples (5.77%) and *Enterococcus* in 20 samples (19.23%) ; a triple proportion. This result would be positive to minimize the risk of *Listeria*.

Keywords: *Listeria*, *Enterococcus*, raw milk

ملخص

سلامة الغذاء هو محور اهتمامنا في أسباب المخاطر التي نعرض أنفسنا لها مجرد استهلاكها. الهدف: تسليط الضوء على الروابط البيئية المحتملة بين *Listeria* و *Enterococcus* في الحليب الخام للأبقار للتحقق من دور العدائية التي تمارسها بكتيريا *Enterococcus* ضد *Listeria*. العينات والطرق: شمل التحقيق 104 عينات اخذت خلال الفترة من أبريل 2008 الى مارس 2010 على 60 بقرة ألبان مهجنة. تم تنفيذ العزلة البكتيرية على أجار مضاف إلى دم حصان مستكمل مع سيفازولين للترويج لانتخاب نمو بكتيريا *Listeria*.

النتائج: تم العثور على *Listeria* في ست عينات (5.77%) و *Enterococcus* في 20 عينة (19.23%) ما يوازي ثلاثة أضعاف. يحتمل أن تكون هذه النسبة ايجابية للحد من مخاطر *Listeria*.

الكلمات المفتاحية : *Listeria*, *Enterococcus* حليب البقر

La sécurité sanitaire des aliments est au centre de nos intérêts à cause des risques auxquels nous nous exposons par leur simple consommation. La listériose, bien qu'elle soit une zoonose, est une pathologie invasive qui peut affecter les nouveau-nés, les femmes enceintes voire les adultes immunodéprimés. Il devient nécessaire d'analyser l'incidence de *Listeria* dans les aliments à large consommation tels que le lait. Beaucoup de statistiques révèlent le danger *Listeria* lors de la consommation des produits alimentaires tels que le lait cru, et les fruits de mer (Jemmi et Stéphane, 2006, Hamdi et al. 2007).

Les mesures d'hygiène restent un élément de choix pour minimiser le risque *Listeria* lors de la consommation des produits alimentaires. Cependant, il faut noter que la qualité bactériologique du lait cru peut être un élément déterminant dans l'élimination de ce risque. En effet, plusieurs auteurs notent l'effet des bactériocines anti-*Listeria* produites par des souches lactiques connues par leur activité antagoniste (Achemchem, 2004 ; Yaakoubi, 2006 ; Arihara, 2008 ; Karam, 2008). Ces bactériocines sont des protéines extracellulaires dirigées contre des espèces génétiquement voisines des bactéries lactiques (Jack et al. 1995). La seule présence de ces bactéries serait une garantie et une bio-protection même partielles pour minimiser le risque *Listeria*.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés au rapport de présence *Enterococcus/Listeria* pour évaluer la proportion nécessaire qui évite au consommateur des intoxications à *Listeria*.

MATERIEL ET METHODES

Les prélèvements ont été réalisés durant la période Avril 2008 à Mars 2010. A chaque prélèvement, les premiers jets ont été éliminés et les échantillons de lait cru sont transférés dans des flacons stériles. Les milieux de culture employés sont :

1. Gélose nutritive additionnée de 5% de sang cuit de cheval
2. Gélose nutritive additionnée de 5% de sang cuit de cheval additionnée de céfazoline à 20 mg/l
3. Milieux et réactifs pour l'identification présomptive : milieu Tri Sugar Iron, Mannitol-mobilité, Citrate de Simmons, Bouillon nitraté, Milieu Clark et Lubs (RM et VP), Milieu urée-indole, Gélose à l'esculine, eau oxygénée 10v (catalase), ...

La culture a été réalisée en inoculant des volumes de 0,1mL d'échantillon de lait cru (solution mère et dilutions 1/2 et 1/4) en surface. L'incubation a duré 48h à 37°C.

Une identification plus poussée à l'échelle biomoléculaire a été réalisée pour certaines souches purifiées. Les étapes sont :

1. Extraction de l'ADN génomique
2. Amplification de l'ADNr 16S par PCR
3. Electrophorèse des fragments d'ADN sur gel d'agarose 1%
4. Séquençage
5. Purification des produits de séquençage
6. Analyse bioinformatique des séquences (Outil BlastN de GenBank).

Les étapes expérimentales réalisées pour identifier phénotiquement et moléculairement les souches isolées de laits crus sont :

A. Etapes phénotiques	<ol style="list-style-type: none"> 1. 25mL lait cru 2. Stockage 4°C pendant 21 jours 3. Culture sur gélose sang cuit 48h/37°C 4. repiquage sur gélose à la céfazoline 5. Identification présomptive (tests biochimiques, cultureaux, physiologiques)
B. Etapes biomoléculaires	<ol style="list-style-type: none"> 1. Extraction de l'ADN bactérien 2. Amplification par PCR 3. Electrophorèse sur agarose 4. purification des produits PCR 5. Séquençage 6. purification des produits de séquençage 7. Traitement Bioinformatique par BlastN

Une analyse statistique a été réalisée dans le but de d'évaluer la nature des liens écologiques entre les deux bactéries.

RESULTATS

Les 104 échantillons de lait ont révélé 70 cultures positives sur gélose additionnée de céfazoline ; soit 67,31%. Les souches *Listeria* sont des courts bacilles à Gram positif aux extrémités arrondies. Les colonies de *Enterococcus* sont petites (1mm), opaques et à contour régulier (figure1).

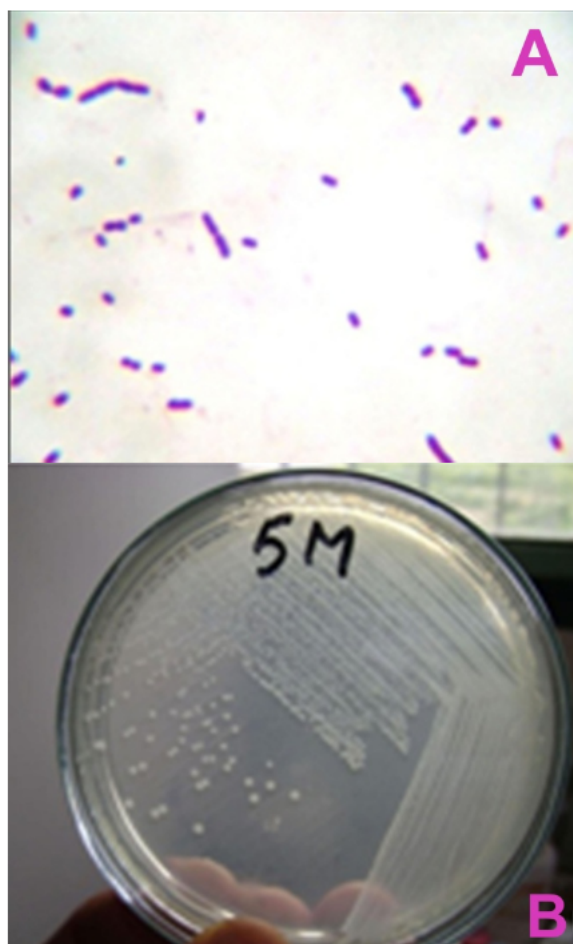


Figure 1 : A : Aspect des cellules *Listeria* à Gram positif. B : Aspect des colonies de *Enterococcus*

Les tests de l'identification présomptive des deux bactéries sont résumés sur le tableau suivant :

Tableau 1 : Tests d'identification présomptive de *Listeria* et *Enterococcus*

	<i>Listeria</i>	<i>Enterococcus</i>
Gram	+	+
Mobilité 37°C	-	-
Oxydase	-	-
Catalase	+	-
Lactose	-	+
Mannitol	-	+
H ₂ S	-	-
Hémolyse	+	+
VP	+	+
RM	+	+
Esculine	+	+

Les résultats du séquençage des 10 souches ont été traités au moyen de l'outil bioinformatiques BlastN pour tirer les informations nécessaires à l'établissement des parentés phylogénétiques de ces bactéries.

BlastN a permis de comparer nos séquences à l'ensemble des séquences existantes sur GenBank. Les résultats du blasting sont les suivants :

Tableau 2 : Confrontation des séquences avec celles de GenBank via BlastN.

Séquence inconnue	Souche proposée par GenBank	Score	E-value	% identité
1	<i>Enterococcus faecalis</i> strain JCM 5803	1223	0	99
2	<i>Enterococcus faecalis</i> strain JCM 5803	1201	0	99
3	<i>Enterococcus faecalis</i> strain JCM 5803	1225	0	99
4	<i>Enterococcus faecalis</i> strain JCM 5803	1199	0	99
5	<i>Enterococcus camelliae</i> strain FP15-1	752	0	99

Les séquences blastées sur GenBank ainsi que celles proposées par BlastN sont représentées sur le tableau 3.

Sur le total des 104 échantillons, 20 d'entre eux étaient positifs pour *Enterococcus* (19,23%) et 6 pour *Listeria* (5,77%). Le rapport des deux proportions fait ressortir que le genre *Enterococcus* est trois fois plus présent que le genre *Listeria*.

Le taux de *Listeria* est plutôt comparable à ceux cités par certains auteurs. Sant'Ana (2011), retrouve 3,1% de contamination sur un total de 512 échantillons. Il précise que seuls les sérotypes 1/2b et 4b étaient les présents. Aurya *et al.* (2011) ont mesuré une prévalence de 30,9% en notant une augmentation du risque de contamination par l'espèce phare *L. monocytogenes* si les conditions d'hygiène ne sont pas respectées. Rahim *et al.* (2010) ont, à leur tour, noté une fréquence de 32,3% en analysant les 594 échantillons ayant fait l'objet de leurs analyses.

Tableau 3 : Séquences des *Enterococcus* comparées à celles de GenBank

Souche isolée du lait	Séquence proposée par GenBank
<p>TTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGGG GGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGC GGCGTGTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGGC TTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAAC TGAGAGAAGCTTTAAGAGATTGTCATGACCTCGC GGTCTAGCGACTCGTTGTACTTCCATTGTAGCAC GTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATT TGACGTCATCCCACTTCTCCGTTTGTACCCG GCAGTCTCGCTAGAGTGCCCACTAAATGATGGC AACTAACATAAGGGTTGCGCTGTTGCGGGACT TAACCAACATCTCAGACACGAGCTGACGACAA CCATGCACCACCTGCACTTTGCCCCGAAGGGA AAGCTCTATCTAGAGTGGTCAAAGGATGTCAA GACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCAATTA AACCACATGCTCCACCGTTGTGCGGGCCCCCGT CAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCAGTCTGACTC CCCAGGCGGAGTGCTTAGTGCGTTTGTCTGCAGCA CTGAAGGGCGGAACCTCCAACACTTAGCACTCA TCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATC CTGTTTGTCCCAACGCTTTCGAGCCTCAGCGTC</p>	<p>AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCAAC GCTTCTTCTCCCGAGTGTTCGACTCAATTGAAAGAGGAGTGGCGGACGGGTGAGTA ACACGTGGGTAACCTACCCATCAGAGGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGC ATAACAGTTTATGCCGATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCCGGGTGTCGCTGATGGAT GGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAAGTAAACGGCTACCAAGGCCACGATGCATAG CCGACCTGAGAGGGTGTATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTACGGGAG GCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAAGT AAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGACGTTAGTAACTG AACGTCCCCTGACGGTATCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG TAATACGTAGGTGGCAAGCTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTT CTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGCTCAACCGGGGAGGGTCAATGGAAACTGGGAGAC TTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGG AGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCG TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACAGATGAGTGTAAAGT GTTGGAGGGTTTTCCGCCCTCAGTGTGCAGCAAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAG TACGACCCGAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCGACAAGCGGTGGAGCATG TGTTTAATTCGAAGCAACGCAAGAACCTTACCAGGCTTGACATCCTTTGACCACTA GAGATAGAGCTTTCCTTCGGGGACAAAGTGACAGTGGTGCATGGTTGTGCTCAGCTCGT GTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGCAACCTTATTGTTAGTTGCCATCAT TTAGTTGGGACTCTAGCGAGACTGCCGGTACAAACGGAGGAAGGTGGGGATGACGTC AAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACAGTGTCTACAATGGGAAGTACAACGAG TCGCTAGACCCGAGGTCATGCAAACTCTTAAAGCTTCTCAGTTCGGATTGCAGGCT GCAACTCGCTGCATGAAGCCGGAATCGTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAA TAGTTCGGGGCTTGTACACACCGCCGTCACACCACGAGAGTTTGAACACCCGAAG TCGGTGAAGTAACCTTTTGGAGCCAGCCGCTAAGGTGGGATAGATGATTTGGGTGAAG TCGTAACAAGGTAACC</p>
<p>ACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGG GCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACC GCGGCGTGTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCG GCTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGA ACTGAGAGAAGCTTTAAGAGATTGTCATGACCTC GCGGTCTAGCGACTCGTTGTACTTCCATTGTAGC ACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATG ATTTGACGTCATCCCACTTCTCCGTTTGTCA CCGGCAGTCTCGTAGAGTGCCCACTAAATGAT GGCAACTACAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGG GACTTAACCAACATCTCAGACACGAGCTGACG ACAACCATGCACCACCTGCACTTTGCCCCGAAG GGAAAGCTCTATCTAGAGTGGTCAAAGGATGT CAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAA TTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCC CGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCAGTCTGTA CTCCCAAGGCGGAGTGCTAATGCGTTTGTGCA GCACTGAAGGGCGGAAACCTCCAACACTTAGCA CTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCT AATCTGTTTGTCCCC</p>	<p>AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCAAC GCTTCTTCTCCCGAGTGTTCGACTCAATTGAAAGAGGAGTGGCGGACGGGTGAGTA ACACGTGGGTAACCTACCCATCAGAGGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGC ATAACAGTTTATGCCGATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCCGGGTGTCGCTGATGGAT GGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAAGTAAACGGCTACCAAGGCCACGATGCATAG CCGACCTGAGAGGGTGTATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTACGGGAG GCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAAGT AAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGACGTTAGTAACTGAA CGTCCCCTGACGGTATCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA ACGTAGGTGGCAAGCTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAA TCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATGGAAACTGGGAGACTTGAAGTGC AGAAGAGGAGAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCA GTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAA CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACAGATGAGTGTAAAGTGTGGAGGGTTTTCC GCCCTTCAAGTGTGCAGCAAACGATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGACCCGAAGGTTG AAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAGCGGTGGAGCATGTTTAAATCGAAGCAACG CGAAGAACCTTACCAGGCTTGTACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTTCCTTCGGGGAC AAAGTACAGTGGTGCATGGTTGTGCTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCGCAAC GAGCGCAACCTTATTGTTAGTTGCCATATTTAGTTGGGCACTTAGCGAGACTGCCGGTGACA AACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACAGT CTACAATGGGAAGTACAACGAGTGCAGTACCGCGAGGTCATGCAAACTCTTAAAGCTTCTC AGTTCCGATTGCAGGCTGCAACTCGCTGCATGAAGCCGGAATCGTAGTAATCGCGGATCAGC ACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACACCACGAGAGTTTGAAC ACCCGAAGTCCGTTGAGGTAACCTTTTGGAGCCAGCCGCTAAGGTGGGATAGATGATTTGGGT GAAGTCGTAACAAGGTAACC</p>

Tableau 3 (suite) : Séquences des *Enterococcus* comparées à celles de GenBank

Souche isolée du lait	Séquence proposée par GenBank
<p>CTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGG GCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTACC GCGGCGTGTGATCCGCGATTACTAGCGATTCC GGCTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCC GAACTGAGAGAAGCTTTAAGAGATTTGCATGAC CTCGCGGTCTAGCGACTCGTTGACTTCCATTG TAGCACGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCAT GATGATTTGACGTCATCCACCTTCTCCGGTTT GTCACCGGCAGTCTCGCTAGAGTGCCCAACTAA ATGATGGCAACTAACATAAGGGTTGCGCTCGT TCGGGGACTTAACCAACATCTCACGACACGAG CTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTTTGTC CCCGAAGGGAAAGCTCTATCTAGAGTGGTCA AAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGT TGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGT GCGGGCCCCGTC AATTCCTTTGAGTTCAACCT TCGGTCGTA CTCCCAGGCGGAGTGCTTAATG CGTTTGCTG CAGCACTGAAGGGCGGAAACCTC CAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACT ACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCACGCT TTCGAGCCT</p>	<p>AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAAC GCTTCTTCTCCCGAGTGCTTGCCTCAATTGAAAGAGGAGTGCCGGACGGGTGAGTA ACACGTGGGTAACCTACCCATCAGAGGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGC ATAACAGTTTATGCCGCATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGAT GGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAG CCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTACGGGAG GCAGCAGTAGGGAATCTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTG AAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGACGTTAGTAACTG AACGTCCCTGACGGTATCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG TAATACGTAGGTGGCAAGCTTGCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTT CTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGAAACTGGGAGAC TTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGG AGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGGCTCGAAAGCG TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGT GTTGAGGGGTTTCCGCCCTTCACTGCTGCAGCAAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAG TACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAGCGGTGGAGCATG TGTTAATTCGAAGCAACGCAAGAACCTTACCAGGCTTGACATCCTTTGACCACTCTA GAGATAGAGCTTCCCTTCGGGACAAAGTGACAGTGGTGATGTTGTCGTCAGCTCGT GTCGTGAGATGTTGGTTAAGTCCGCAACGAGCGCAACCTTATTGTTAGTTGCCATCAT TTAGTTGGGCACTCTAGCGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTC AAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGAAGTACAACGAG TCGCTAGACCGCGAGGTCATGCAAATCTCTAAAGCTTCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCT GCAACTCGCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAA TACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACCCGAAG TCGGTGAGGTAACCTTTTGGAGCCAGCCGCTAAGGTGGGATAGATGATTTGGGTGAAG TCGTAACAAGGTAACC</p>
<p>CTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGG GCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTACC GCGGCGTGTGATCCGCGATTACTAGCGATTCC GGCTTCATGCAGGCGAGTTGC AGCCTGCAATCCGAACTGAGAGAAGCTTTAAGA GATTTGCATGACCTCGCGTCTAGCGACTCGTTG TACTTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTC ATAAGGGGCATGATGATTT GACGTCATCCACCTTCTCCGGTTTGTACCG GCAGTCTCGCTAGAGTGCCCAACTAAATGATGG CAACTAACATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGA CTTAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGAC AACCATGCACCACCTGTCACTTTGTCCCGAAGG GAAAGCTCTATCTAGAGTGGTCAAAGGATGT CAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAA TTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCC CGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCTG ACTCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTTGTGTC AGCACTGAAGGGCGGAAACCTCCAACACTTAG CACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTAT CTAATCCTGTTTGCTCC</p>	<p>AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAAC GCTTCTTCTCCCGAGTGCTTGCCTCAATTGAAAGAGGAGTGCCGGACGGGTGAGTA ACACGTGGGTAACCTACCCATCAGAGGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGC ATAACAGTTTATGCCGCATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGAT GGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAG CCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTACGGGAG GCAGCAGTAGGGAATCTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTG AAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGACGTTAGTAACTG AACGTCCCTGACGGTATCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG TAATACGTAGGTGGCAAGCTTGCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTT CTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGAAACTGGGAGAC TTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGG AGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGGCTCGAAAGCG TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGT GTTGAGGGGTTTCCGCCCTTCACTGCTGCAGCAAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAG TACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAGCGGTGGAGCATG TGTTAATTCGAAGCAACGCAAGAACCTTACCAGGCTTGACATCCTTTGACCACTCTA GAGATAGAGCTTCCCTTCGGGACAAAGTGACAGTGGTGATGTTGTCGTCAGCTCGT GTCGTGAGATGTTGGTTAAGTCCGCAACGAGCGCAACCTTATTGTTAGTTGCCATCAT TTAGTTGGGCACTCTAGCGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTC AAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGAAGTACAACGAG TCGCTAGACCGCGAGGTCATGCAAATCTCTAAAGCTTCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCT GCAACTCGCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAA TACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACCCGAAG TCGGTGAGGTAACCTTTTGGAGCCAGCCGCTAAGGTGGGATAGATGATTTGGGTGAAG TCGTAACAAGGTAACC</p>

Tableau 3 (suite) : Séquences des *Enterococcus* comparées à celles de GenBank

Souche isolée du lait	Séquence proposée par GenBank
ACTTCCCATTGTAGCACGTGTGTAGCC CAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTG ACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGT CACCGGCAGTCTCGCTAGAGTGCCCA ACTAAATGATGGCAACTAACAATAAG GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACC CAACATCTCACGACACGAGCTGACGA CAACCATGCACCACCTGCACTTTGTC CCCGAAGGGAAAGCTCTATCTCTAGA GTGGTCAAAGGATGTCAAGACCTGGT AAGGTTCTTCGCGTTGCTTCAATTA ACCACATGCTCCACCCTTGTGCGGGC CCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCT TGCGGTCGTACTCCCCAGGCGGAGTG CTTATGCGTTTGTGCGACTGAGG GCGGAAACCCTCCACACTTA	TATACATGCAAGTTGAACGCTTCTTTCTTATCGAACTTCGGTTCACCAAGAAAGAGGAGT AGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTGCCCATCAGCGGGGGATAACACTTGGAAA CAGGTGTAATACCGCATAATGCTTTTTCTACATGAGAGAGAGCTGAAAGCGCTTTTTG CGTCACTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAACGGCCTACCAAG GCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGACTGAGACACGGCCC AGACTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGC AACGCCGCTGAGTGAAGAAGTTTTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAGAAGAACAA GGATGAGAAGAGAATGTTTCATCCCTGACGGTATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTAC GTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAA GCGAGCGCAGGCGTTCTTAAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTTAAACGGGGAGGGTC ATTGAAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAAATTCATGTGTAGCGGTGA AATGCGTAGATATAGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAACGAC GCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCGTA AACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTTCCGCCCTTCAGTGTGACGCTAACGCATTA GCACTCCGCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCG CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTG ACATCCTTTGACCCTCTAGAGATAGAGCTTTCCCTTCGGGGACAAAGTACAGGTGGTG CATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCACAACGAGCGCAACC CTTATTGTTAGTTGCCATATTTAGTTGGGCACTCTAGCGAGACTGCCGGTGACAAACCG GAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGC TACAATGGGAAGTACAACGAGTTGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCGAATCTCTAAAACCTC TCTAGTTCCGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGC GGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACACCAC GAGAGTTTGTAAACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCTTTTGGAGCCAGCCGCCTAAGGTGG GATAGATGATTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGC

En Algérie, les analyses réalisées par Hamdi *et al.* (2007) dans les deux régions d'Alger et de Blida, ont révélé un taux de 2,61% relevé sur un échantillon de 153 prélèvements. Cependant dans une récente étude, sur des aliments autres que le lait cru de vaches, menée par Bouayad et Hamdi (2012) sur des produits prêts à la consommation, dans la région d'Alger, les auteurs ont observé une présence de *Listeria spp.* dans 21 échantillons sur un total de 227. Parmi les 21 échantillons *Listeria*-positifs, ils notent 06 cas de *L. monocytogenes*, 11 de *L. innocua*, 03 de *L. ivanivii* et 01 de *L. welshimeri*.

Le comportement de *Listeria* et d'*Enterococcus* par rapport à l'ensemble du microbiote du lait cru est estimé par l'ensemble des fréquences calculées et représentées sur la figure suivante :

Nous remarquons que par rapport à la moyenne des laits contaminés ($m = 5,385$ et $\sigma = 5,0751$), *Listeria spp.* occupe une place centrale au sein de la population bactérienne psychrotrophe, avec un effectif égal à six. Cette valeur, proche de la moyenne, indique un comportement moyen des *Listeria* par rapport aux germes isolés : Elle n'est pas abondante comme

Enterococcus ($n = 20$) ni rare comme *Flavobacterium* ($n = 1$).

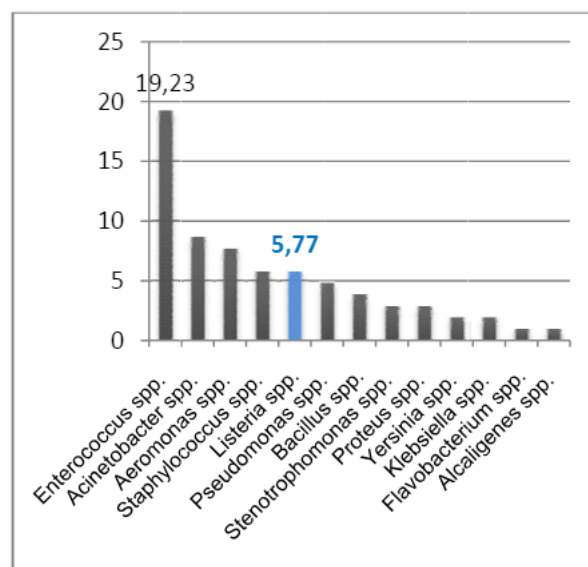


Figure 2 : Distribution bactérienne et place de *Listeria* et *Enterococcus*.

Ce taux est comparable à ceux cités par d'autres auteurs. Les études ont montré différents niveaux de contamination par *L. monocytogenes* dans le lait cru : 0% en Italie et en Suisse, 1% en Suède, 7% aux Etats Unis d'Amérique, 12% au Canada, 13% au Brésil et 2% en Corée (Ha *et al.*, 2002 ; Jemmi et Stephan 2006). L'incidence de *Listeria spp.* est de 2,2% en Iran (Moshtaghi et Mohamad, 2007).

La faible association *Listeria/Enterococcus* serait favorable au consommateur dans la mesure où le rapport mesuré est en faveur du genre *Enterococcus*. Celui-ci exercerait un effet inhibiteur sur *Listeria* par sécrétion des bactériocines connues leur activité antagoniste (Achemchem, 2004, Arihara, 2008 ; Karam, 2008).

L'analyse en composantes principales indique une faible corrélation entre les deux genres *Listeria* et *Enterococcus* (Tableau 4, figure3).

Tableau 4 : Corrélations interbactériennes

	<i>Entr</i>	<i>List</i>	<i>Stph</i>	<i>Acin</i>	<i>Prot</i>	<i>Aero</i>	<i>Psdo</i>	<i>Klbs</i>	<i>Yers</i>	<i>Baci</i>	<i>Flav</i>	<i>Alca</i>	<i>Sten</i>
<i>Entr</i>	1												
<i>List</i>	-0,468	1											
<i>Stph</i>	0,068	0,218	1										
<i>Acin</i>	-0,272	0,491	0,444	1									
<i>Prot</i>	0,000	-0,189	-0,289	-0,289	1								
<i>Aero</i>	0,612	0,055	0,389	0,111	-0,289	1							
<i>Psdo</i>	0,000	0,378	0,289	0,866	-0,500	0,289	1						
<i>Klbs</i>	-0,167	-0,200	-0,068	-0,068	0,354	-0,612	-0,354	1					
<i>Yers</i>	0,196	0,367	0,080	0,480	-0,277	0,320	0,555	-0,196	1				
<i>Baci</i>	0,302	0,564	0,431	0,431	-0,426	0,492	0,533	-0,302	0,650	1			
<i>Flav</i>	0,196	0,367	0,080	0,480	-0,277	0,320	0,555	-0,196	1,000	0,650	1		
<i>Alca</i>	0,196	-0,419	-0,320	-0,320	0,139	-0,480	-0,277	0,784	-0,154	-0,237	-0,154	1	
<i>Sten</i>	-0,075	0,564	0,123	-0,185	-0,107	0,185	-0,107	-0,302	-0,237	0,318	-0,237	-0,237	1

Entr : *Enterococcus*, *List* : *Listeria*, *Stph* : *Staphylococcus*, *Acin* : *Acinetobacter*, *Prot* : *Proteus*, *Aero* : *Aeromonas*, *Psdo* : *Pseudomonas*, *Klbs* : *Klebsiella*, *Yers* : *Yersinia*, *Baci* : *Bacillus*, *Flav* : *Flavobacterium*, *Alca* : *Alcaligenes*, *Sten* : *Stenotrophomonas*.

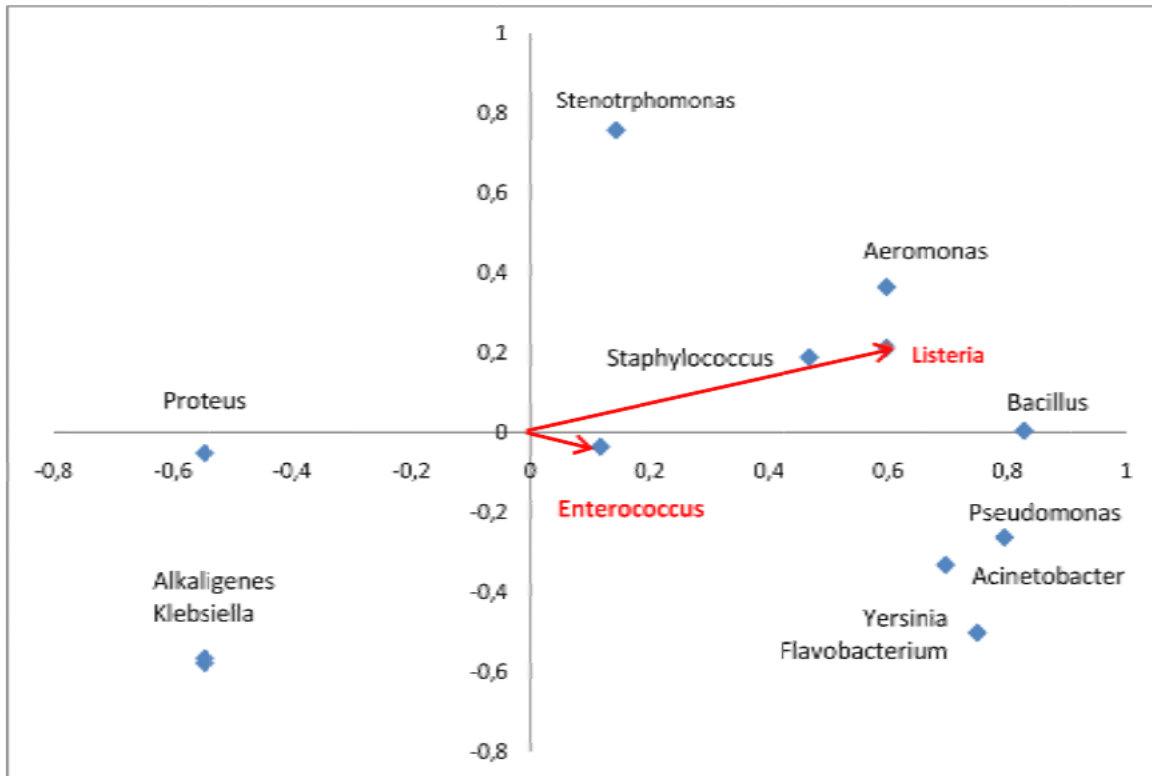


Figure 3 : Analyse en composantes principales. Faible corrélation *Listeria/Enterococcus*

Listeria monocytogenes est une bactérie pathogène qui peut facilement être isolée à partir du lait cru. Elle est à l'origine de nombreuses contaminations observées régulièrement dans les produits à base de lait cru. Les *Listeria spp.*, par leur présence dans le lait cru et leur caractère ubiquitaire, surtout leur capacité à se développer aux basses températures, vont représenter un danger réel pour le consommateur. Il devient donc nécessaire d'élaborer des orientations pour la gestion de risques associés à sa présence dans le lait de vaches.

Enterococcus spp. est de loin la bactérie la plus répandue dans les 104 échantillons analysés, avec une incidence de 19,23 % (soit 20 échantillons sur 104 analysés).

La faible corrélation ($r = -0,468$) entre les deux genres *Listeria* et *Enterococcus* laisse supposer un comportement inhibiteur en vis-à-vis de *Listeria*. Cet antagonisme exprimé par les souches *Enterococcus* joue plutôt un rôle sécuritaire en faveur du consommateur. Cependant, il ne faut pas prendre à la légère le faible taux de *Listeria* car, c'est une bactérie qui peut proliférer et prendre le dessus si les conditions psychrophiles sont réunies surtout lors du stockage à froid.

Il faut envisager d'analyser l'effet direct des bactériocines des *Enterococcus* sur les souches *Listeria* afin de mesurer arithmétiquement l'effet inhibiteur anti-*Listeria*.

REFERENCES

- [1]- Achemchem F., Abrini J., Martinez-Bueno M., Valdivia E., Maqueda M. (2004). Purification et caractérisation d'une bactériocine anti-*Listeria* produite par *Enterococcus* faecium F-420 isolé à partir de lait cru de chèvre. Congrès International de Marrakech, Maroc, 3-6 Mai 2004
- [2]- Arihara K., Ogihara S., Sakata J., Itoh M., Kondo Y. (2008). Antimicrobial activity of *Enterococcus faecalis* against *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology*. **13**: 190-192.
- [3]- Aurya K., Le Bouquin S., Toquina M. T., Huneau-Salatinb A., Le Nôtre Y., Allain V., et al. (2011). Risk factors for *Listeria monocytogenes* contamination in French laying hens and broiler flocks. *Preventive Veterinary Medicine*. **98** : 271-278.
- [4]- Bouayad L., Hamdi T.M. (2012). Prevalence of *Listeria* spp. In ready to eat foods (RTE) from Algiers (Algeria). *Food Control*. **23**: 399-399.
- [5]- Ha K.S., Park S.J., Seo S.J., Park J.H., Chung D.H. (2002). Incidence and polymerase chain reaction assay of *Listeria monocytogenes* from raw milk in Gyeongnam Province of Korea. *J. Food Protect.* **65**, 1, 111-115.
- [6]- Hamdi T.M., Naïm M., Martin P., Jacquet C. (2007). Identification and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated in raw milk in the region of Algiers (Algeria). *Int. J. Food Microbiol.* **116** : 190-193.
- [7]- Jack R. W., Tagg J. R., Ray B. (1995). Bacteriocins of Gram positive bacteria. *Microbiol. Rev.* **59** : 171-200.
- [8]- Jemmi T., Stephan R. (2006). *Listeria monocytogenes*: food-borne pathogen and hygiene indicator, *Revue Scientifique et technique- Office international des epizooties*. **25**: 571-580.
- [9]- Karam N-E., Zadi-Karam H., Lazreg I., Dalache F. (2008). Bactériocines de bactéries lactiques : caractérisation d'une bactériocine d'*Enterococcus* BO2. *Renc. Rech. Ruminants*. p15.
- [10]- Moshtaghi H., Mohamadpour A.A. (2007). Incidence of *Listeria* spp. in Raw Milk in Shahrekord, Iran. *Foodborne Pathog. Dis.* **4** (1): 107-110.
- [11]- Rahimi E., Ameri M., Momtaz H. (2010). Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* species isolated from milk and dairy products in Iran. *Food Control*. **21** : 1448-1452.
- [12]- Sant'Ana A. S., Igarashi M. C., Landgraf M., Destro M. T. Franco B. D. G. M. (2012). Prevalence, populations and pheno- and genotypic characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat vegetables marketed in São Paulo, Brazil. *Int. J. Food Microbiol.*, doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.036.
- [13]- Yaakoubi K., Ammor S., Haydersah J., Chgevallier I. (2006). Activités anti-bactériennes des bactéries lactiques isolées d'ateliers fermiers de salaison. 11èmes JSMTV. Clermont Fr. p175-176.

