

## *Listeria* versus *Enterococcus* : La sécurité alimentaire

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

A. BOUBENDIR<sup>1</sup>, M. A. HAMIDECHI<sup>2</sup>, M. MOSTAKIM<sup>3</sup>, S. ELABED<sup>3</sup>, S. IBNSOUDA-KORAICHI<sup>3</sup>

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

*Enterococcus*    *Listeria*    :

*Listeria*    *Enterococcus*    :

60    2010    2008    104    :

( 19.23)    20    *Enterococcus*    ( 5.77)    *Listeria*    :

*Listeria*    :

*Listeria*, *Enterococcus*    :

La sécurité sanitaire des aliments est au centre de nos intérêts à causes des risques aux quels 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).

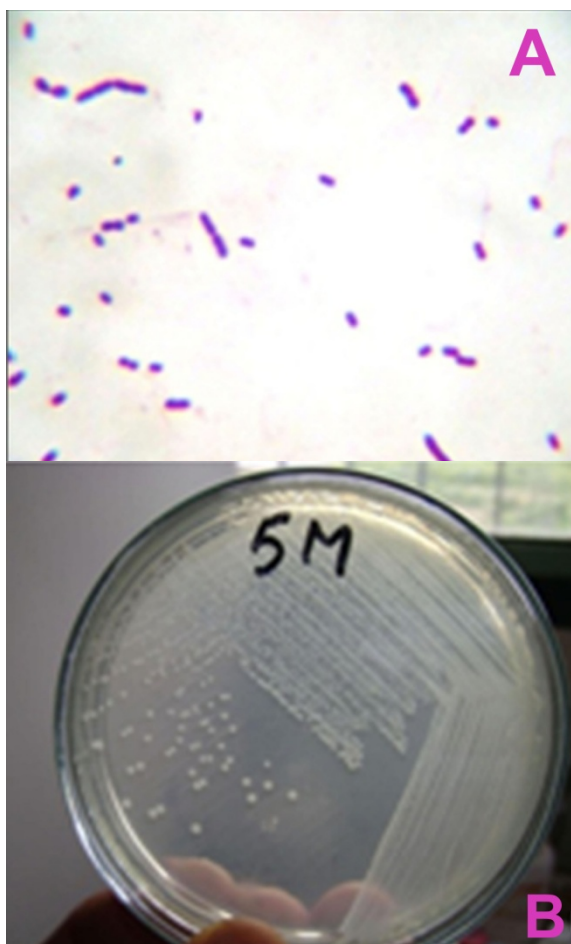
Les étapes expérimentales réalisées pour identifier phénotiquement et moléculairement les souches isolées de laits crus sont :

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

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 <sub>2</sub> 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>TTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGGGC  GGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGC  GGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGGC  TTCATGCAGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGAAC  TGAGAGAAGCTTTAAGAGATTTGCATGACCTCGC  GGTCTAGCGACTCGTTGTACTTCCCATTGTAGCAC  GTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATT  TGACGTCATCCCACTTCTCCGGTTTGTCACCG  GCAGTCTGCTAGAGTGCCCACTAAATGATGGC  AACTAACAATAAGGGTTGCGCTGTTGCGGGACT  TAACCAACATCTCAGACACGAGCTGACGACAA  CCATGCACCACCTGTCACTTTGTCCCGAAGGGA  AAGCTCTATCTTAGAGTGGTCAAAGGATGTCAA  GACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCAATTA  AACCACATGCTCACCGCTTGTGCGGGCCCCGT  CAATTCTTTGAGTTTCAACCTTGGGTGCTACTC  CCCAGGCGGAGTCTTAGTGCCTTTGCTGCAGCA  CTGAAGGCGGAACCTTCAAACACTTAGCACTCA  TCGTTTACGGCTGGACTACCAGGGTATCTAATC  CTGTTTGCTCCCACTTTCGAGCCTCAGCGTC</p>	<p>AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAAC  GCTTCTTCTCCCGAGTGTCTGCACTCAATTGGAAAGAGGAGTGGCGGACGGGTGAGTA  ACACGTGGGTAACCTACCCATCAGAGGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGC  ATAACAGTTTTATGCCGCATGGCATAAGAGTGAAGGCGCTTTCCGGGTGTCGCTGATGGAT  GGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAAGTAAAGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAG  CCGACCTGAGAGGGTGTATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTACGGGAG  GCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCAGCAACGCCCGGTGAGTG  AAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGACGTTAGTAACTG  AACGTCCCCTGACGGTATCTAACCGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG  TAATACGTAGGTGGCAAGCTTGTCCGGATTTATTGGCGTAAAGCGAGCGCAGGGCGTTT  CTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGTCATTGGAAACTGGGAGAC  TTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGG  AGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAAGCG  TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGT  GTTGGAGGTTTTCCGCCCTCAGTGTGACGAAACGATTAAGCACTCCGCTGGGGAG  TACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAGCGGTGGAGCATG  TGTTTAATTCGAAGCAACGCAAGAACCTTACCAGGTTGACATCTTTGACCACTTA  GAGATAGAGCTTTCCTTCGGGGACAAAGTACAGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGT  GTCGTCGATGTTGGTTAAGTCCGCAACGAGCGCAACCTTATTGTTAGTTGCCATCAT  TTAGTTGGGCACTTAGCAGACTGCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTC  AAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGAAGTACAACGAG  TCGCTAGACCGCGAGGTCATGCAATCTCTAAAGCTTCTCAGTTCCGATTGCAGGCT  GCAACTCGCTGCATGAAGCCGGAATCGTAGTAATCGCGATCAGCAGCCGCGGTGAA  TACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCGTCACACCAGAGATTTGTAACCCGAAG  TCGGTGAGGTAACCTTTTGGAGCCAGCCGCTAAGGTGGGATAGATGATTTGGGTGAAG  TCGTAACAAGGTAACC</p>
<p>ACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGG  GCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACC  GCGGGCTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCG  GCTTCATGCAGCGAGTTGCAGCCTGCAATCCGA  ACTGAGAGAAGCTTTAAGAGATTTGCATGACCTC  GCGGTCTAGCGACTCGTTGTACTTCCCATTGTAGC  ACGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCATGATG  ATTTGACGTCATCCCACTTCTCCGGTTTGTCA  CCGGCAGTCTCGTAGAGTGCCCACTAAATGAT  GGCAACTACAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGG  GACTTAACCAACATCTCAGACACGAGCTGACG  ACAACCATGCACCACCTGTCACTTTGTCCCGAAG  GGAAAGTCTATCTTAGAGTGGTCAAAGGATGT  CAAGACCTGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAA  TTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCC  CGTCAATTCTTTGAGTTTCAACCTTGGGTGCTGTA  CTCCCGAGGCGGAGTGCTAATGCGTTTGTGCA  GCACTGAAGGGCGGAAACCTTCAAACACTTAGCA  CTCATCGTTTACGGCTGGACTACCAGGGTATCT  AATCTGTTTGCTCCCC</p>	<p>AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAAC  GCTTCTTCTCCCGAGTGTCTGCACTCAATTGGAAAGAGGAGTGGCGGACGGGTGAGTA  ACACGTGGGTAACCTACCCATCAGAGGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGC  ATAACAGTTTTATGCCGCATGGCATAAGAGTGAAGGCGCTTTCCGGGTGTCGCTGATGGAT  GGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAAGTAAAGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAG  CCGACCTGAGAGGGTGTATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTACGGGAG  GCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCAGCAACGCCCGGTGAGTG  AAGAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGACGTTAGTAACTGAA  CGTCCCCTGACGGTATCTAACCGAAAGCCACGGTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA  ACGTAGGTGGCAAGCTTGTCCGGATTTATTGGCGTAAAGCGAGCGCAGGGCGTTTCTTAAG  TCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAAGTGC  AGAAGAGGAGAGTGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAGGAACACCA  GTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCCTGGGGAGCAA  CAGGATTAGATACCTGGTGTAGTCCACCGGTAACAGTGAAGTGAAGTGTGGAGGTTTCC  GCCCTTCAAGTGTGACGAAACCGATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTG  AAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAGCGGTGGAGCATGTTTAATTCGAAGCAACG  CGAAGAACCTTACCAGGTCTTACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTTCCTTCGGGGAC  AAAGTACAGTGGTGCATGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGTTAAGTCCGCAAC  GAGCGCAACCCTTATTGTTAGTTGCCATCATTAGTTGGCACTCTAGCAGACTGCCGGTGACA  AACCGGAGGAAGGTGGGGATGAGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTG  CTACAATGGGAAGTACAACGAGTCTAGACCGCGAGGTCATGCAATCTCTAAAGCTTCTCT  AGTTCCGATTGCAGGCTGCAACTCGCTGCATGAAGCCGGAATCGTAGTAATCGCGGATCAGC  ACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACACCAGAGATTTGTAAC  ACCGAAGTGGTGAAGTAACTTTTGGAGCCAGCCGCTAAGGTGGGATAGATGATTTGGGT  GAAGTCGTAACAAGGTAACC</p>

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

Souche isolée du lait	Séquence proposée par GenBank
<p>CTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGG                      GCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTACC                      GCGGCGTGTGATCCGCGATTACTAGCGATTCC                      GGCTTCATGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAATCC                      GAACTGAGAGAAGCTTTAAGAGATTTGCATGAC                      CTCGCGTCTAGCGACTCGTTGACTTCCCATTG                      TAGCACGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCAT                      GATGATTTGACGTCATCCACCTTCTCCGGTTT                      GTCACCGGCAGTCTCGCTAGAGTGCCCAACTAA                      ATGATGGCAACTAACATAAGGGTTGCGCTCGT                      TCGGGGACTTAACCAACATCTCACGACACGAG                      CTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTTTGTC                      CCCGAAGGGAAAGCTCTATCTAGAGTGGTCA                      AAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGT                      TGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGT                      GCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACT                      TCGGGTCTACTCCCAGGCGGAGTGCTTAATG                      CGTTTGCTGAGCACTGAAGGGCGGAAACCTC                      CAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACT                      ACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCACGCT                      TTCGAGCCT</p>	<p>AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCTGCCTAATACATGCAAGTCGAAC                      GCTTCTTCTCCCGAGTGCTTGCCTCAATTGGAAAGAGGAGTGGCGGACGGGTGAGTA                      ACACGTGGGTAACCTACCCATCAGAGGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGC                      ATAACAGTTTATGCCGATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGAT                      GGACCCGCGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAG                      CCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTACGGGAG                      GCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTG                      AAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGACGTTAGTAACTG                      AACGTCCCTGACGGTATCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG                      TAATACGTAGGTGGCAAGCTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTT                      CTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGAAACTGGGAGAC                      TTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGG                      AGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGGCTCGAAAGCG                      TGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGT                      GTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCACTGCTGACGCAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAG                      TACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAGCGGTGGAGCATG                      TGTTTAATTCGAAGCAACGGAAGAACCCTTACCAGTCTTGACATCCTTTGACCACTCA                      GAGATAGAGCTTCCCTTCGGGGACAAAGTGACAGTGGTGATGTTGTCGTCAGCTCGT                      GTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTGTTAGTTGCCATCAT                      TTAGTTGGGCACTCTAGCGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTC                      AAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGAAGTACAACGAG                      TCGCTAGACCGCGAGGTCATGCAAATCTCTAAAGCTTCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCT                      GCAACTGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAA                      TACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACACCAGAGAGTTTGAACACCCGAAG                      TCGGTGAGGTAACCTTTTTGGAGCCAGCCGCTAAGGTGGGATAGATGATTTGGGTGAAG                      TCGTAACAAGGTAACC</p>
<p>CTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGG                      GCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTACC                      GCGGCGTGTGATCCGCGATTACTAGCGATTCC                      GGCTTCATGCAGGCGAGTTGC                      AGCCTGCAATCCGAAGTGAAGAGAAGCTTTAAGA                      GATTTGCATGACCTCGCGTCTAGCGACTCGTTG                      TACTTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTC                      ATAAGGGGCATGATGATTT                      GACGTCATCCACCTTCTCCGGTTTGTACCGG                      GCAGTCTCGCTAGAGTGCCCAACTAAATGATGG                      CAACTAACATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGA                      CTTAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGAC                      AACCATGCACCACCTGTCACTTTGTCGCCGAAGG                      GAAAGCTCTATCTAGAGTGGTCAAAGGATGT                      CAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAA                      TTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCC                      CGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCAGTCTG                      ACTCCCAGGCGGAGTGCTTAATCGGTTTGTGTC                      AGCACTGAAGGGCGGAAACCTCCAACACTTAG                      CACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTAT                      CTAATCCTGTTGCTCCCC</p>	<p>AGAGTTTGATCCTGGCTCAGGACGAACGCTGGCGGCTGCCTAATACATGCAAGTCGAAC                      GCTTCTTCTCCCGAGTGCTTGCCTCAATTGGAAAGAGGAGTGGCGGACGGGTGAGTA                      ACACGTGGGTAACCTACCCATCAGAGGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGC                      ATAACAGTTTATGCCGATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGAT                      GGACCCGCGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAG                      CCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCTACGGGAG                      GCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTG                      AAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGACGTTAGTAACTG                      AACGTCCCTGACGGTATCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG                      TAATACGTAGGTGGCAAGCTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTT                      CTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGAAACTGGGAGAC                      TTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGG                      AGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGGCTCGAAAGCG                      TGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGT                      GTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCACTGCTGACGCAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAG                      TACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCGACAAGCGGTGGAGCATG                      TGTTTAATTCGAAGCAACGGAAGAACCCTTACCAGTCTTGACATCCTTTGACCACTCA                      GAGATAGAGCTTCCCTTCGGGGACAAAGTGACAGTGGTGATGTTGTCGTCAGCTCGT                      GTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTGTTAGTTGCCATCAT                      TTAGTTGGGCACTCTAGCGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTC                      AAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGAAGTACAACGAG                      TCGCTAGACCGCGAGGTCATGCAAATCTCTAAAGCTTCTCTCAGTTCGGATTGCAGGCT                      GCAACTGCCTGCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAA                      TACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACACCAGAGAGTTTGAACACCCGAAG                      TCGGTGAGGTAACCTTTTTGGAGCCAGCCGCTAAGGTGGGATAGATGATTTGGGTGAAG                      TCGTAACAAGGTAACC</p>

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

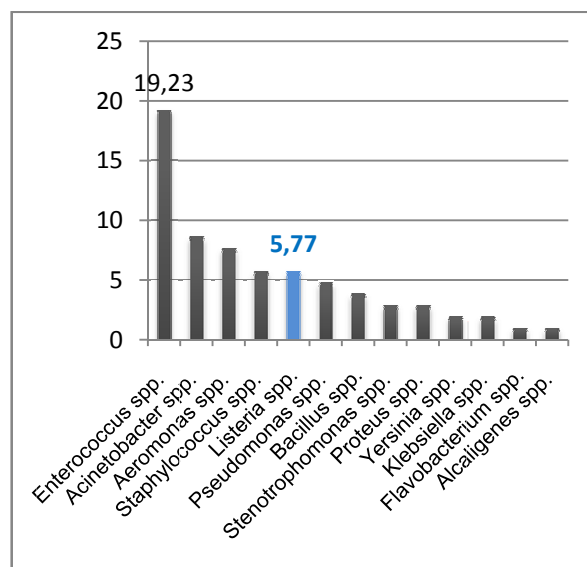
Souche isolée du lait	Séquence proposée par GenBank
ACTTCCCATTGTAGCACGTGTGTAGCC CAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTG ACGTCATCCCACCTTCTCCGGTTTGT CACCGGCAGTCTCGCTAGAGTGCCCA ACTAAATGATGGCAACTAACAAATAAG GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACC CAACATCTCACGACACGAGCTGACGA CAACCATGCACCACCTGCACTTTGTC CCCGAAGGAAAGCTCTATCTCTAGA GTGGTCAAAGGATGTCAAGACCTGGT AAGGTTCTTCGCGTTGCTTCAATTA ACCACATGCTCCACCCTTGTGCGGGC CCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCT TGCGGTGCTACTCCCAGGCGGAGTG CTTATGCGTTTGTGTCAGCACTGAGG GCGGAAACCCTCCACACTTA	TATACATGCAAGTTGAACGCTTCTTTCTTATCGAACTTCGGTTCACCAAGAAAGAGGAGT AGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCATCAGCGGGGGATAAACACTTGGAAA CAGGTGCTAATACCGCATAATGCTTTTTCTCACATGAGAGAGAGCTGAAAGCGCGCTTTTG CGTCACTGATGGATGGACCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAGGGTAAACGGCTACCAAG GCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCC AGACTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGC AACGCCGCTGAGTGAAGAAGTTTTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTGTTAGAGAAGAACA GGATGAGAAGAGAATGTTCCCTTACCGGTATCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTAC GTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTATTGGGCGTAAA GCGAGCGCAGGCGTTCTTAAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTAACCGGGGAGGGTC ATTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAAATTCATGTGTAGCGGTGA AATGCGTAGATATGAGGAAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTGTTGTTGTAAGTAC GCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTA AACGATGAGTGTAAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGTGACGCTAACGCATTA GCACTCCGCTGGGGAGTACAGCCGAAGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCG CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTG ACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCCCTTCGGGGACAAAGTGACAGGTGGTG CATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCACGAGCGCAACC CTTATTGTTAGTTGCCATATTTAGTTGGGCACTCTAGCGAGACTGCCGGTGACAAACCG GAGGAAGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGC TACAATGGGAAGTACAACGAGTTGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCGAATCTCTAAAACCTC TCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGC GGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACACCAC GAGAGTTTGAACACCCGAAGTCGGTGAGGTAACCTTTTGGAGCCAGCCGCTAAGGTGG 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).

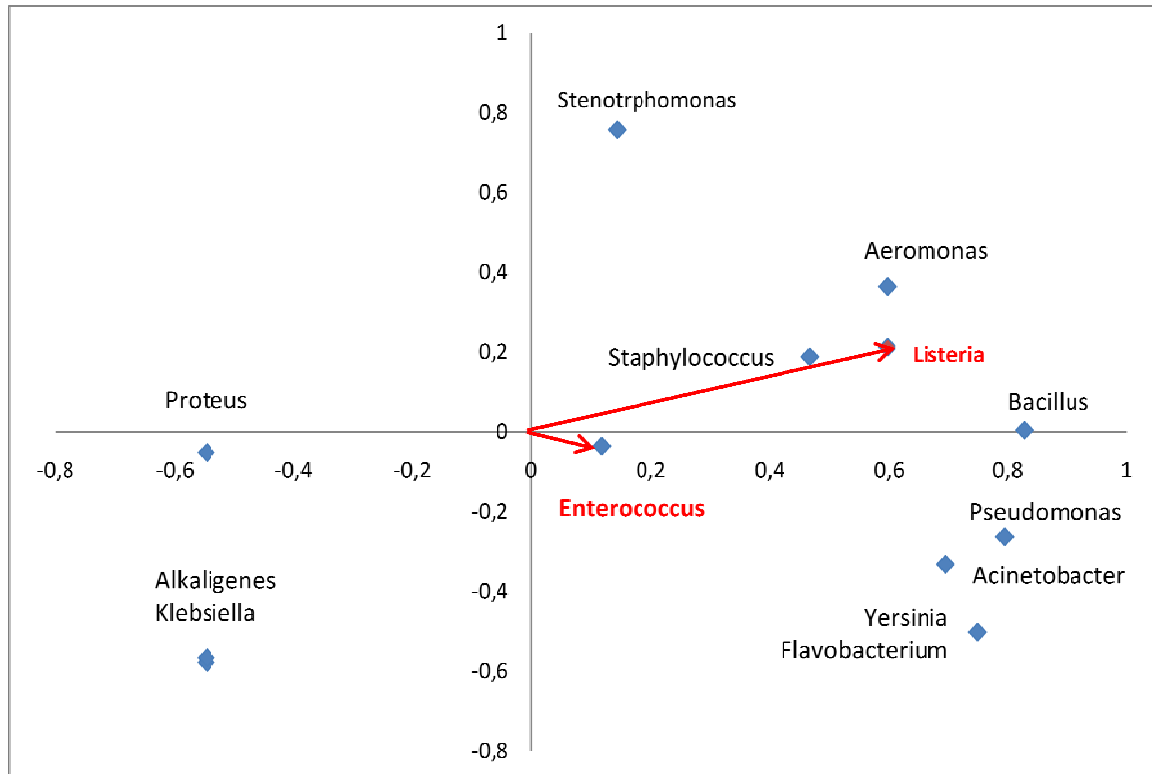
La faible association *Listeria/Enterococcus* serait favorable au consommateur dans la mesure où le rapport mesuré est en faveur du genre *Enterococcus*. Celui-ci exercerait un effet inhibiteur sur *Listeria* par sécrétion des bactériocines connues leur activité antagoniste (Achemchem, 2004, Arihara, 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>	<b>1</b>												
<i>List</i>	<b>-0,468</b>	<b>1</b>											
<i>Stph</i>	0,068	0,218	<b>1</b>										
<i>Acin</i>	-0,272	0,491	0,444	<b>1</b>									
<i>Prot</i>	0,000	-0,189	-0,289	-0,289	<b>1</b>								
<i>Aero</i>	0,612	0,055	0,389	0,111	-0,289	<b>1</b>							
<i>Psdo</i>	0,000	0,378	0,289	0,866	-0,500	0,289	<b>1</b>						
<i>Klbs</i>	-0,167	-0,200	-0,068	-0,068	0,354	<b>-0,612</b>	-0,354	<b>1</b>					
<i>Yers</i>	0,196	0,367	0,080	0,480	-0,277	0,320	0,555	-0,196	<b>1</b>				
<i>Baci</i>	0,302	<b>0,564</b>	0,431	0,431	-0,426	0,492	0,533	-0,302	0,650	<b>1</b>			
<i>Flav</i>	0,196	0,367	0,080	0,480	-0,277	0,320	0,555	-0,196	1,000	0,650	<b>1</b>		
<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	<b>1</b>	
<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	<b>1</b>

*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 Bouquinb S., Toquina M. T., Huneau-Salaünb 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.