

Prévalence de *Listeria monocytogenes* isolée à partir de la viande de poulet commercialisée à Rabat, Maroc

[Prevalence of *Listeria monocytogenes* isolated from chicken meat marketed in Rabat, Morocco]

M. Khallaf¹⁻³, N. Ameer¹, F. Boraam², S. Senouci¹, and M. M. Ennaji³

¹Department of Microbiology, National Institute of Hygiene, Rabat, Morocco

²Regional Laboratory of Epidemiological Diagnosis and Environmental Hygiene, Marrakech, Morocco

³Research unit of Microbiology and Virology, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, University Hassan II, Mohammedia, Morocco

Copyright © 2016 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The aim of this work was to evaluate the contamination of chicken meat sold in Rabat and Salé by *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*). This pathogen was isolated from 300 samples of chicken meat collected in supermarkets and in traditional slaughterhouses during the period from June 2011 to December 2012. The prevalence of *L. monocytogenes* found from the 300 samples analyzed was 3.66% (n=11). Statistical analysis showed that there was no significant difference between the different sampling locations ($p_1 = 0.4424$; $p_2 = p_3 = 0.5598$) in regards to contamination of the chicken meat by *L. monocytogenes* even if these sites have a big difference in respect of the good hygiene practices.

KEYWORDS: Prevalence of *L. monocytogenes*, chicken meat, Morocco.

RÉSUMÉ: L'objectif de ce travail était de contribuer à l'évaluation de la contamination de la viande de poulet commercialisée dans 10 grandes surfaces (GS), 10 tueries traditionnelles situées au niveau des différents quartiers (TTQ) de la ville de Rabat et 10 tueries traditionnelles situées au niveau d'un bidonville à la ville de Salé (TTB) par *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*). De même, montrer statistiquement s'il y a une différence significative entre ces sites de prélèvement de point de vue contamination par ledit pathogène. Ce germe pathogène a été isolé à partir de 300 échantillons de viande de poulet prélevés durant la période allant de juin 2011 à décembre 2012. La prévalence de *L. monocytogenes* trouvée dans les 300 échantillons analysés était 3,66 % (n = 11). Tandis que, la prévalence trouvée dans les 100 échantillons prélevés au niveau des sites de catégorie 1 (GS) était 5% (n = 5), celle trouvée au niveau des sites de catégorie 2 (TTQ) était 2% (n = 2) et celle trouvée au niveau des sites de catégorie 3 (TTB) était 4% (n = 4). L'analyse statistique a montré qu'il n'y a pas de différence significative entre les différents sites de prélèvement ($p_1=0,4424$; $p_2=1$ et $p_3=0,5598$) de point de vue contamination de la viande de poulet par *L. monocytogenes*, même si ces sites présentent une grande différence pour ce qui est respect des bonnes pratiques d'hygiène.

MOTS-CLEFS: Prévalence de *L. monocytogenes*, viande de poulet, Maroc.

1 INTRODUCTION

Listeria monocytogenes (*L. monocytogenes*) est une bactérie ubiquitaire qui peut être présente partout dans l'environnement [1]; on la retrouve dans les aliments, le sol, les plantes, les eaux usées, les engrais à base de fumier et même les animaux d'élevage qui paraissent en bonne santé. Les aliments le plus souvent contaminés par *L. monocytogenes* sont : le lait et produits laitiers non pasteurisés, les volailles, les viandes, la charcuterie, les poissons ou fruits de mer et les crudités [2],[3]. Consommer des aliments contaminés par *L. monocytogenes* peut causer une maladie grave appelée listériose. Les personnes âgées, les femmes enceintes, les nouveau-nés et les personnes immunodéprimées sont considérés comme ayant un risque élevé de contracter la maladie. Bien que la morbidité de la listériose soit relativement faible, la mortalité de la maladie encéphalitique systémique peut être très élevée avec des valeurs proches de 30 % [4]. La bactérie *Listeria* a une prédilection particulière pour le système nerveux et le placenta. Ainsi, dans les cas graves, la listériose peut entraîner une fausse couche, une infection du cerveau, un empoisonnement sanguin et même la mort [5]. *L. monocytogenes* a également été associée à des signes de gastro-entérite accompagnés de fièvre. Les symptômes d'une intoxication alimentaire à *L. monocytogenes* peuvent se manifester subitement sous forme notamment de : vomissements, nausées, crampes, diarrhée, violents maux de tête, constipation et fièvre persistante [4].

L. monocytogenes est un coccobacille Gram positif, facultativement anaérobique en forme de bâtonnet, qui mesure habituellement de 0,5 à 2 µm de longueur et 0,5 µm de diamètre. *L. monocytogenes* est capable de croître à faible température et à un pH entre 4,3 et 9,6 et peut se reproduire à des températures situées entre 1 et 45 °C [6]. *L. monocytogenes* se divise en 11 sérovars ; la plupart des cas de listériose chez les humains et les animaux sont toutefois causés par les sérovars 4b, 1/2b et 1/2a [7].

L'objectif de ce travail était de contribuer à l'évaluation de la contamination de la viande de poulet commercialisée dans les GS, les TTQ et TTB par *L. monocytogenes* et de montrer statistiquement s'il y a une différence significative entre ces sites de prélèvement de point de vue contamination par ledit pathogène.

2 MATERIAL ET METHODES

2.1 ECHANTIonnAGE ET PRELEVEMENT

Notre étude a porté sur 30 sites de prélèvement différents choisis au hasard et groupés en 3 catégories :

- La catégorie 1 était composée de 10 grandes surfaces (GS) situées à Rabat;
- La catégorie 2 était composée de 10 tueries traditionnelles situées au niveau des différents quartiers de la ville de Rabat (TTQ) ;
- La catégorie 3 était composée de 10 tueries traditionnelles situées au niveau d'un bidonville à Salé (TTB).

Au total 300 échantillons ont été prélevés à raison de 10 échantillons par site au cours de 10 campagnes de prélèvements organisées durant la période allant de juin 2011 à décembre 2012. Les prélèvements ont été effectués de façon aseptique dans des sachets stériles préalablement numérotés et identifiés. Les échantillons étaient constitués d'approximativement 50g de découpes de viande de poulet de chair crue (muscle et peau). Lesdits échantillons ont été transportés à 4°C dans les plus brefs délais, dans une caisse isotherme bien étanche contenant 3 à 4 accumulateurs de froid, accompagnés d'une fiche de prélèvement comportant les rubriques suivantes : le code du site de prélèvement, le numéro de l'échantillon, la date et l'heure de prélèvement et la date et l'heure de l'abatage du poulet sujet du prélèvement.

2.2 ANALYSE BACTERIOLOGIQUE

Les échantillons ont été analysés immédiatement après leur arrivée au laboratoire de microbiologie alimentaire de l'Institut National d'Hygiène de Rabat. La détection et l'identification du *L. monocytogenes* a été effectuée selon la norme marocaine en vigueur [8].

Ainsi, la recherche du *L. monocytogenes* comporte cinq étapes principales :

Pré-enrichissement ou revivification :

La solution mère étant réalisée en ajoutant 25 g de chair avec peau à 225 ml du milieu non sélectif liquide ; le bouillon Frazer demi (Bio-Rad Marne-la-Coquette- France). On réalise ainsi une dilution au 1/10 du produit. Après homogénéisation au Stomacher (Seward Laboratory Systems Inc. (USA)), ce pré-enrichissement est incubé à 35 +/-1°C pendant 16 à 20 heures.

Enrichissement sélectif :

A partir de la culture ainsi obtenue par le pré-enrichissement, 0,1 ml est transféré dans un tube contenant 10 ml du milieu sélectif liquide ; le bouillon Frazer (Bio-Rad Marne-la-Coquette- France). L'incubation de ces tubes est réalisée pendant 18 à 24h à 35 +/-1°C.

Isolement :

A partir des enrichissements précédents, des ensemencements en surface ont été effectués sur deux différents milieux d'isolement sélectifs. Nous avons utilisé les milieux Oxford et Palcam (Oxoid Ltd., Hampshire RG24 8 PW England). Après 20 à 24h d'incubation à 35 +/-1°C, les boîtes de Pétri sont examinées afin de rechercher la présence de colonies suspectes. A partir de ces dernières 5 colonies sont ensemencées sur une gélose nutritive. L'incubation des boîtes ainsi ensemencées se fait à 35 +/-1°C pendant 18 à 24h. Ces cultures ont été utilisées pour les confirmations biochimiques et sérologiques.

Identification biochimique :

Nous avons utilisé pour l'identification biochimique des colonies suspectes de *L. monocytogenes* des galeries biochimiques standardisées API-Listeria du BioMérieux. Ces systèmes de tests combinés permettent un gain de temps considérable pour les phases de préparation et d'ensemencement. Par contre, les temps d'incubation restent de l'ordre de 24 heures. L'incubation de ces galeries est effectuée à une température de 35 +/-1°C pendant 18 à 24 heures.

Identification sérologique :

Cette étape est indispensable dans l'identification des bactéries appartenant au genre *Listeria*. Elle s'effectue par des réactions d'agglutinations en utilisant des sérums polyvalents et monovalents spécifiques pour *L. monocytogenes*.

2.3 ANALYSE STATISTIQUE

La statistique du Khi-deux χ^2 consiste à mesurer l'écart qui existe entre la distribution des effectifs théoriques t_i et la distribution des effectifs observés n_i et à tester si cet écart est suffisamment faible pour être imputable aux fluctuations d'échantillonnage [9]. Dans cette étude le test utilisé est le test de Chi2 de correction de Yates, puisque tous les effectifs théoriques sont supérieurs à 2,5 et au moins un d'entre eux est < 5. Dans ce cas le test de Chi2 global n'est pas applicable, donc on réalise une analyse stratifié sous forme de tableaux 2x2.

3 RÉSULTATS

3.1 CONTAMINATION DES VIANDES DE POULETS

Les résultats de dénombrement du *L. monocytogenes* ont été exprimés en UFC/g (unités formants colonies par gramme). Les résultats d'analyse des échantillons prélevés au niveau des 3 catégories de sites, sont représentés dans le Tableau 1.

Tableau 1. Prévalences du *L. monocytogenes* détectée dans les échantillons prélevés au niveau des différents sites

	Nb d'échantillons analysés	Prévalences <i>L. monocytogenes</i>
GS	100	5% (n=5)
TTQ	100	2% (n=2)
TTB	100	4% (n=4)
Total	300	3,66 % (n=11)

La prévalence de *L. monocytogenes* trouvée dans les 300 échantillons analysés était 3,66 % (n = 11). Tandis que, la prévalence trouvée dans les 100 échantillons prélevés au niveau des sites de catégorie 1 (GS) était 5% (n = 5), celle trouvée au niveau des sites de catégorie 2 (TTQ) était 2% (n = 2) et celle trouvée au niveau des sites de catégorie 3 (TTB) était 4% (n= 4).

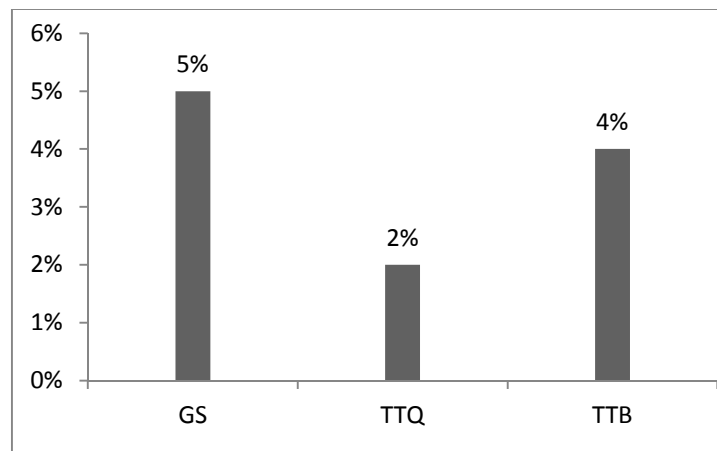


Fig. 1. Représentation graphique des prévalences du *L. monocytogenes* détectée dans les échantillons prélevés au niveau des différents sites

3.2 ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse stratifiée montre qu'il n'y avait pas de différence significative entre les différents sites de prélèvement ($p_1=0,4424$; $p_2=1$ et $p_3=0,5598$) de point de vue contamination de la viande de poulet par *L. monocytogenes*.

Tableau 2. Etude d'association entre *L. monocytogenes* et les différents sites de prélèvement

	GS	TC	TCB	Valeur Test	P value	Signification
Présence	5	2	4	NA		
Absence	95	98	96			
Présence	5	2		0,59	0,4424	NS
Absence	95	98				
Présence	5		4	0,00	1	NS
Absence	95		96			
Présence		2	4	0,34	0,5598	NS
Absence		98	96			

NA : Non Applicable ; NS : Non Significative

4 DISCUSSION

Les résultats de cette étude ont montrés que La prévalence de *L. monocytogenes* trouvée dans les 300 échantillons analysés était 3,66 % (n = 11). Cette prévalence est moins élevée que celles trouvées par Ogbonna et al. [10] et Chen et al. [11] qui sont 7,5% et 6,33% respectivement. Osaili et al. [12], Jalali et Abedi [13] et Busani et al. [14] ont trouvé des prévalences de contamination de l'ordre de 2%, 1,2% et 1,9% respectivement et qui sont moins élevées que celle trouvée par notre étude.

La viande est une denrée alimentaire hautement périssable et dont la qualité hygiénique dépend, d'une part de la contamination pendant les opérations d'abattage et de découpe et d'autre part, du développement et de la croissance des flores contaminantes pendant le refroidissement, le stockage et la distribution [15], [16]. Cependant, L'analyse statistique a montré qu'il n'y avait pas de différence significative entre les différents sites de prélèvement ($p_1=0,4424$; $p_2=1$ et $p_3=0,5598$) de point de vue contamination de la viande de poulet par *L. monocytogenes*, même si ces sites présentent une grande différence pour ce qui est respect des bonnes pratiques d'hygiène. Ceci peut être dû à trois points essentiels : (i) Les viandes crues sont assez souvent contaminées par un petit nombre de *L. monocytogenes* qui se multiplient en général assez

mal sur ce support [17], (ii) en présence des souches lactiques *L. monocytogenes* est inhibée et son nombre diminue [17] et (iii) l'aptitude particulière à se multiplier aux températures de réfrigération [18].

La contamination des aliments par *L. monocytogenes* peut survenir à partir de matières premières ou à partir de l'environnement [19] et constitue de ce fait un problème récurrent tout au long de la chaîne alimentaire [20]. En plus, la réglementation nationale [21] n'a pas imposé *L. monocytogenes* comme critère microbiologique pour évaluer et assurer la maîtrise du risque lié à ce pathogène notamment dans le cadre du contrôle de la qualité microbiologique de la viande de poulet. Cette situation justifie la nécessité de mettre en place un dispositif de surveillance continu des cas de listériose et de surveillance de *L. monocytogenes* dans les aliments à travers des contrôles plus fréquents et plus rigoureux.

REFERENCES

- [1] "Lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire," Comité sur l'élaboration des critères microbiologiques dans les aliments (CECMA), 2009.
- [2] T. Kramarenko, M. Roasto, K. Meremäe, M. Kuningas, P. Pölsama and T. Elias, "*Listeria monocytogenes* prevalence and serotype diversity in various foods," *Food Control*, vol. 30, no. 1, pp. 24-29, 2013.
- [3] V. Micková, "*Listeria monocytogenes* in food," *Veterinarni medicina*, vol. 36, no. 12, pp. 745-750, 1992.
- [4] "Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres (mammifères, oiseaux et abeilles)," Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE), Sixième Édition, vol. 1, pp. 1-654, 2008.
- [5] R. Bédry, B. Llanas, V. Danel, M. Fayon, "Guide pratique de toxicologie pédiatrique," Deuxième Édition, pp. 1-154, 2007.
- [6] C.F.A. Salifou, K.C. Boko, G.S. Ahounou, P.U. Tougan, S.K. Kassa, I. Houaga and A.K.I. Youssao, "Diversité de la microflore initiale de la viande et sécurité sanitaire des consommateurs," *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol. 7, no. 3, pp. 1351-1369, 2013.
- [7] L.R.L.D. Monteiro, A.J.D. Mesquita, M.C.P.B. André, and J.L. Cardoso, "Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from animal products in a city of Northern Brazil," *Ciência Rural*, vol. 43, no. 8, pp. 1443-1448, 2013.
- [8] NM EN ISO, 11290-1, "Moroccan Norm Food Microbiology-Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: Method of research (IC 08.0.172)", Pages: 35, 2008.
- [9] Thierry Ancelle, "Évaluation des méthodes d'analyse appliquées aux sciences de la vie et de la santé, Statistique," *Carnets de révision PAES UE4, Edition Maloine*, 2010.
- [10] C. I. C. Ogbonna, M. J. Muhammad, O. Nwobu, I. N. Ogo, A. A. Makinde, H. E. Elem and P. A. Okewole, "*Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in poultry faeces applied as manure on farm lands: Environmental health and food safety," *Nigerian Journal of Biotechnology*, vol. 15, no. 1, pp. 52-59, 2015.
- [11] M. Chen, Q. Wu, J. Zhang, Z. Yan and J. Wang, "Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from retail-level ready-to-eat foods in South China," *Food Control*, vol. 38, pp. 1-7, 2014.
- [12] T.M. Osaili, A.A. Al-Nabulsi, R.R. Shaker, Z.W. Jaradat, M. Taha, M. Al-Kherasha, M. Meherat and R. Holley, "Prevalence of *Salmonella* serovars, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* O157:H7 in Mediterranean ready-to-eat meat products in Jordan," *Journal of Food Protection*, vol. 77, no. 1, pp. 106-111, 2014.
- [13] M. Jalali and D. Abedi, "Prevalence of *Listeria* species in food products in Isfahan, Iran," *International journal of food microbiology*, vol. 122, no. 3, pp. 336-340, 2008.
- [14] L. Busani, A. Cigliano, E. Taioli, V. Caligiuri, L. Chiavacci, C. Di Bella and A. Caprioli, "Prevalence of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* contamination in foods of animal origin in Italy," *Journal of Food Protection*, vol. 68, no. 8, pp. 1729-1733, 2005.
- [15] C.F.A. Salifou, K.C. Boko, Y.E. Attakpa, R. Agossa, I. Ogbankotan, S. Farougou, G.A. Mensah, S. Salifou, A. Clinquart and A.K.I. Youssao, "Évaluation de la qualité bactériologique de viande fraîche de bovins abattus aux abattoirs de Cotonou-Porto-Novo au cours de la chaîne de distribution," *Journal of Animal & Plant Sciences*, vol. 17, no. 2, pp. 2567-2579, 2013.
- [16] E.I. ElHadeif, S. Okki, R. ElGroud, H. Kenana and S. Quessy, "Évaluation de la contamination superficielle des carcasses bovines et ovines provenant de l'abattoir municipal de Constantine en Algérie," *Canadian veterinary Journal*, vol. 46, no. 7, pp. 638-640, 2005.
- [17] Y. Hécharde, D. Renault, Y. Cenatiempo, F. Letellier, A. Maftah, C. Jayat, P. Bressolier, M.H. Ratinaud, R. Julien, Y. Fleury and A. Delfour, "Les bactériocines contre *Listeria*: une nouvelle famille de protéines?," *Lait*, vol. 73, no. 2, pp. 207-213, 1993.
- [18] Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), "Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments / *Listeria monocytogenes*," <http://www.afssa.fr/Documents/MIC-Fi-Listeria.pdf>, 2011.

- [19] S. Roussel, A. Leclercq, J. Santolini, A. Agbessi, V. Chenal-Francisque, R. Lailier, and A. Brisabois, "Surveillance des *Listeria monocytogenes* dans les aliments," *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation (Spécial Risques alimentaires microbiologiques)*, no. 50, pp.51-56, 2012.
- [20] A. Brisabois, "*Listeria monocytogenes*: une bactérie sous haute surveillance," *Bulletin de l'AAEIP (Association des anciens élèves de l'Institut Pasteur)*, vol. 50, no. 195, pp. 71-79, 2008.
- [21] Arrêté conjoint du ministre de l'agriculture et du développement rural, du ministre de la santé et du ministre de l'industrie, du commerce et des télécommunications n°624-04 du 17 safar 1425 (8 avril 2004) "relatif aux normes microbiologiques auxquelles doivent répondre les denrées animales ou d'origine animale," BO. n°5214, 2004.