



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH  
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES

## Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques  
«Bio Procédés, Hygiène & sécurité alimentaires»

# *Listeria monocytogenes dans les aliments servis en milieu hospitalier*

Présenté par : DRIDOU NIDAL

Encadré par : Dr. ZBADI LATIFA (LRDEHM, Fès)

Pr .AMAL AZZOUZI (FST, Fès)

Soutenu le 6 juin 2017 Devant le jury composé de :

- Dr. ZBADI LATIFA
- Pr. AZZOUZI AMAL
- Pr. BAHAFID WIFAQ

Année universitaire  
2016/2017

# *Remerciements*



**Le temps** Tous d'abord je tiens à remercier Dieu le tout puissant de m'avoir donné courage, santé, souffle et patience pour accomplir ce travail.

**Je tiens à remercier en tout premier lieu Docteur Zbadi Latifa, responsable de l'Unité Hygiène au Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu à la Direction Régionale de la Santé Fès Boulemane d'avoir accepté de diriger ce travail de licence. En vous côtoyant, j'ai trouvé en vous une personne sympathique, simple, dynamique, toujours prête à donner des conseils qu'il faut aux moments qu'il faut. Votre esprit rationnel et scientifique force l'admiration et impose le respect. Veuillez recevoir Docteur ma profonde gratitude.**

**Je remercie également Professeur Azzouzi Amal, de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, de m'avoir encadré et orienté durant toute la période de ce stage. Je vous remercie pour tout ce que vous m'avez apporté, pour votre patience, votre écoute, votre aide et vos précieux conseils professionnels ainsi que pour votre disponibilité et pour que vous m'avez consacré.**

**Mes remerciements vont également à mes parents pour leur soutien aussi moral que financier et pour leurs Sacrifices.**

**Mes vifs remerciements s'adressent aussi à tout le personnel du Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu de Fès pour leurs soutiens, aides, enthousiasmes et leurs conseils qui m'ont beaucoup aidé pour réaliser ce travail.**

**Je saisis l'occasion pour exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude à la direction et à l'ensemble du personnel administratif et professoral de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès (FSTF).**

**Avec l'expression de mon profond respect, mon admiration et ma reconnaissance à toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.**

# Sommaire

Liste des abréviations.....	4
Liste des figures et des tableaux.....	5
Présentation du lieu de stage .....	5
Introduction générale .....	7
<b>Partie I :Revue Bibliographique.....</b>	<b>8</b>
I- Caractéristiques bactériologiques de <i>listeria monocytogenes</i> .....	9
1- Définition .....	9
1.1 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	9
• Classification.....	9
• Pathogénicité.....	9
1.2 Caractères d'identification bactériologique de <i>Listeria monocytogenes</i> ...	9
1.3 Caractères biochimiques d'identification.....	10
1.4 La listériose.....	10
2- Virulence .....	11
II- Infection nosocomiale due au <i>Listeria monocytogenes</i> .....	12
1- Infection nosocomiale .....	12
2- Infection nosocomiale due au <i>Listeria</i> .....	13
3- Incidence de listériose en milieu hospitalier .....	13
III- Prévention de Listériose en milieu hospitalier .....	14
1- Recommandations relatives à la problématique de la listériose au sein des hôpitaux .....	15
• Aliments à éviter .....	15
• Règles d'hygiène à respecter .....	16
<b>Partie II : Matériel et méthodes .....</b>	<b>17</b>
1- Type et période d'étude .....	18
2- Lieu d'étude .....	18
3- Prélèvements, acheminement, transport et réception des échantillons au laboratoire .....	18
4- Analyse de la qualité bactériologique .....	19
4.1 Préparation des échantillons d'aliments pour analyse microbiologique...	19
4.2 Recherche de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	19
A- Pré enrichissement .....	20
B- Enrichissement .....	20
C- Isolement Sélectif .....	20
D- Tests de confirmation identification biochimique .....	21
<b>Partie III : Résultats et discussion .....</b>	<b>23</b>
1- Répartition des analyses des échantillons réalisés au LRDHEM par catégories d'aliments .....	24
2- Evaluation de la non-conformité globale des aliments .....	24
3- Pourcentage de la non-conformité par catégorie d'aliments .....	24
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>26</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>27</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>29</b>

# Liste des abréviations

**LRDEHM** : Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et Hygiène  
du Milieu.

**NC** : Non-conformité

**TSYE** : Tryptone Soja Extrait de Levure

**PALCAM** : Polymyxin –acriflavine-LiCl-ceftazidime – aesculin-mannitol agar

# Liste des figures

- Figure1** : *Listeria monocytogenes* en microscope électronique
- Figure 2** : Diffusion de *L.monocytogenes* après pénétration par voie digestive, vers le fœtus ou le système Nerveux central
- Figure 3** : *Listeria monocytogenes* sur et PALCAM
- Figure4** : Identification de *Listeria monocytogenes* par la Galerie API System 18 R

# Liste des tableaux

- Tableau 1** : Caractères biochimiques d'identification de *L. monocytogenes*
- Tableau 2** : Comparaison du nombre de cas et de leur gravité en Europe associés à 3 maladies d'origine Alimentaire
- Tableau3** : Répartition de *Listeria* en fonction de type de l'aliment
- Tableau 4** : Pourcentage de la non-conformité globale
- Tableau 5** : Pourcentage de non-conformité par classe d'aliment

# Présentation du lieu de stage

Le laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu crée en 1977 est rattaché au SIAAP et à la Direction Régionale de la Santé et implanté à l'hôpital Al Ghassani.

Actuellement, il existe 42 LDEHM, le laboratoire de Fès fait partie des 11 laboratoires régionaux qui ont vu le jour à partir des années 90.

Le laboratoire prend en charge des problèmes d'hygiène et d'épidémiologie au Maroc et permet la prévention et la lutte contre les maladies transmissibles et infectieuses. Ainsi, il constitue un support technique aux différents programmes sanitaires du Ministère de la Santé tels que le paludisme, la bilharziose, les leishmanioses...

Le laboratoire est composé de quatre unités qui sont :

- Unité d'hygiène : d'analyse microbiologique des eaux et des aliments, ainsi l'analyse microbiologique de l'environnement hospitalier.
- Unité des maladies parasitaires: de microscopie du paludisme, de leishmaniose cutanée et de bilharziose, ainsi du diagnostic immunologique du paludisme.
- Unité d'entomologie : de l'identification de moustique et le suivi de la sensibilité OMS des insectes aux pesticides.
- Unité de toxicologie: des analyses physico-chimiques des eaux et toxicologie des aliments (recherches aflatoxines par CCM).

# Introduction générale

L'alimentation est l'un des droits fondamentaux de la personne, c'est un élément clé de la santé, considérée comme un facteur de risque ou comme un protecteur face aux maladies ((FAO/OMS, 2005).

En milieu hospitalier, le secteur alimentaire est d'une importance capitale, d'une part des micro-organismes peuvent

Proliférer dans les cuisines et atteindre un seuil dangereux ou règnent des conditions de croissance optimale.

D'autre part, par le fait de sa maladie, le patient est le plus sensible aux toxi- infections alimentaires provenant de la nourriture d'origine externe ramenée aux patients hospitalisés ou des aliments préparés dans les établissements de soin selon des règles d'hygiène moins strictes (Abouda, 2011)

En effet, les éclosions des maladies d'origine alimentaire dans les établissements de soins présentent des problèmes de santé publique courants et évitables. Parmi ces maladies transmises par des aliments ,la Listériose est une infection grave due à la bactérie *Listeria monocytogenes*. Cette bactérie à la capacité de coloniser les sites de fabrication des aliments (Yousif, 2013).

Par ailleurs *Listeria monocytogenes* peut entraîner une septicémie ou une infection du système nerveux central. Chez les femmes enceintes, elle peut provoquer un avortement, un accouchement prématuré ou une infection néonatale grave.

Dans ce contexte l'objectif de notre étude est d'évaluer le risque de contamination des aliments par *Listeria* en milieu Hospitalier afin de prévenir les toxi-infections alimentaires provenant de ce germe.

# **Partie I :**

# **Revue Bibliographique**

# 1. Caractéristiques bactériologiques de *Listeria*

## 1-Définition

### 1-1 *Listeria monocytogenes*

- **Classification**

Règne	: Bacteria
Embranchement	: Firmicutes
Classe	: Bacilli
Ordre	: Bacillales
Famille	: Listeriaceae
Genre	: <i>Listeria</i>
Espèce	: <i>Listeria monocytogenes</i>

Le genre *Listeria* comprend actuellement sept espèces: *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii subsp ivanovii*, *Listeria ivanovii Subsp londoniensis*, *Listeria innocua*, *Listeria welshimeri*, *Listeria seeligeri*, *Listeria grayi*.

- **Pathogénicité**

Seules deux espèces sont pathogènes pour l'homme, *L.monocytogenes* et très rarement *L.ivanovii*

### 1-2 Caractères d'identification bactériologique de *Listeria monocytogenes*

*L.monocytogenes* est un petit bacille à gram positif, aux extrémités arrondies, mesurant 0,4 à 0,5 µm de large sur 0,5 à µm de long .Il est non sporulé, mobile grâce à 3 ou 4 flagelles mais cette mobilité disparaît à 37°C .Il ne possède pas de propriétés d'acide-alcool-résistance .*L .monocytogenes* est une bactérie aéro-anaérobie qui se développe à un pH entre 6 et 9. Cette bactérie est largement répandue dans l'environnement en raison de sa résistance à une vaste amplitude de température (Low et Donachie, 1997).

En effet, elle peut résister à des températures relativement basses de l'ordre de 3 à 4°C, ce qui explique sa multiplication dans les réfrigérateurs. Elle peut également se multiplier à des températures allant jusqu'à 45°C. Elle est détruite par un traitement à 60°C. (Baron et al, 1998).

### 1-3 Caractères biochimiques d'identification

Les colonies de *L. monocytogenes* possèdent une catalase +, oxydase - et produisent une lécithinase. La bactérie fermente le glucose et l'esculine (et beaucoup d'autres glucides) sans production de gaz. Les caractères fermentaires des sucres permettent de distinguer les espèces du genre *Listeria*. le caractère hémolytique est étudié par le test de Camp, il est généralement beta-hémolytique. (Institut Pasteur, 2006)

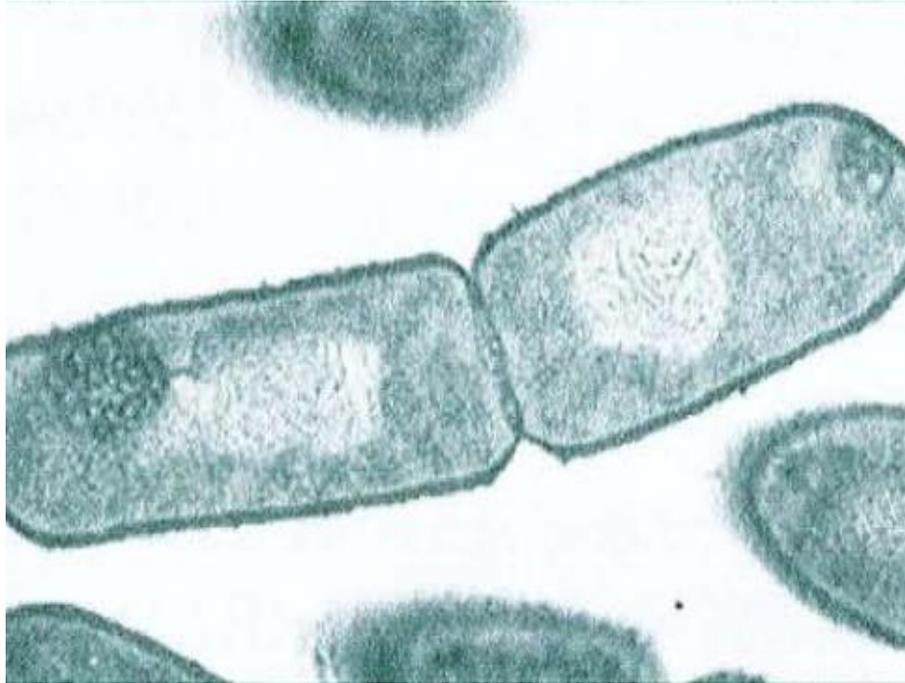
Test	Résultats	Test	Résultats
hémolyse $\beta$	+ <sup>a</sup>	<u>Production d'acide à partir de</u>	
<u>CAMP test</u>		mannitol	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	D-ribose	-
<i>Rhodococcus equi</i>	V	glucose 1 phosphate	-
esculine	+	D-tagatose	-
H <sub>2</sub> S	-	D- xylose	-
indole	-	L- rhamnose	+
nitrate réductase	-	$\alpha$ -methyl-D-mannoside	+
uréase	-		
gélatinase	-		

**Tableau 1 : Caractères biochimiques d'identification de *L. monocytogenes* d'après Don Warbuton et al. (2012).**

Cette bactérie saprophyte et ubiquitaire est largement répandue dans la nature .Elle a été isolée dans de nombreux pays, dans le sol, l'eau, les végétaux (ensilage) mais aussi dans le lait, la viande, les légumes et dans les matières fécales de sujets sains et surtout de nombreuses espèces animales. L'environnement est principalement contaminé par les excréta d'animaux malades ou sains en particulier les bovins, les ovins, les porcins et les poulets qui hébergent naturellement cette bactérie dans leur tube digestif. Elle peut survivre un à deux ans dans le sol, mais avec une multiplication très réduite.

### 1-4 Listériose

La listériose est une infection due à une bactérie : *Listeria monocytogenes* qui est la seule espèce du genre de *Listeria* à la fois pathogène pour l'homme et pour l'animal , ce pouvoir pathogène est principalement lié à la capacité d'hémolyser le sang grâce à une listériolysine. la listériose est une infection qui présente une problématique au sein des hôpitaux ou se situe généralement une population spécifique et fragile.



**Figure1 : *Listeria monocytogenes* en microscope électronique**

## **2-Virulence**

La virulence de Lm est liée à sa capacité de pénétrer dans les cellules, de s'y multiplier et de se propager dans les tissus voisins en passant directement d'une cellule à l'autre.

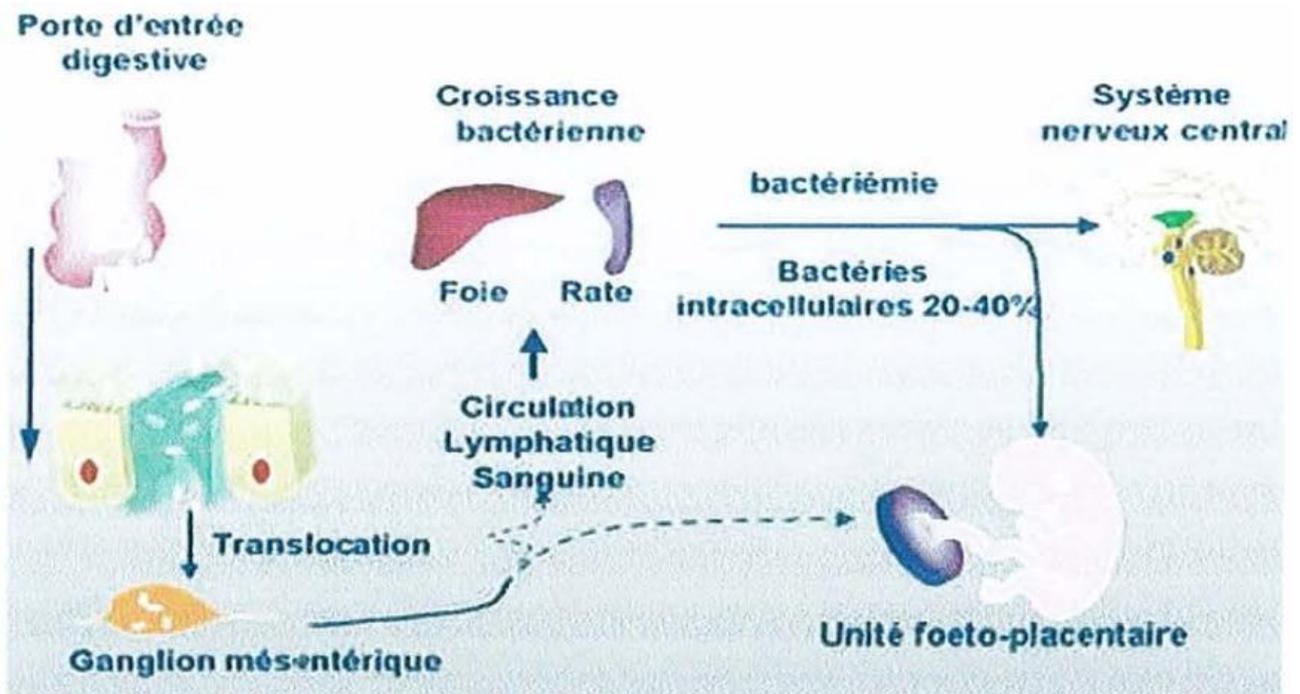
La contamination est quasiment indirecte. La porte d'entrée est digestive et l'infection débute par l'ingestion d'un aliment contaminé. A partir de l'intestin, les bactéries gagnent les ganglions lymphatiques régionaux, puis la circulation sanguine.

*L. monocytogenes* est une bactérie intracellulaire facultative, elle va donc pouvoir survivre dans les monocytes qui vont la véhiculer et la libérer dans la circulation. La bactérie peut alors se multiplier dans le foie et la rate. Si l'infection n'est pas contrôlée à ce stade, les bactéries sont alors libérées dans la circulation sanguine responsable d'une bactériémie puis vont diffuser vers les organes cibles en particulier le système nerveux central induisant une méningo-encéphalite et le placenta chez la femme enceinte.

La plupart du temps, chez les sujets immunocompétents, le système immunitaire contrôle l'infection qui est alors inapparente. La notion d'inoculum est cependant primordiale dans la physiopathologie de cette infection. En cas d'ingestion d'un aliment fortement contaminé, le système immunitaire est alors dépassé et on peut assister à une infection. Dans

cette situation, on observera généralement des petites épidémies, puisque le plus souvent plusieurs personnes ont consommé l'aliment contaminé.

Par contre, lorsque la bactérie est en contact avec un organisme fragilisé, elle devient pathogène opportuniste et le sujet infecté est malade même avec des aliments faiblement contaminés. Dans cette situation, on observera des cas isolés. (Bourre Lemetayer, 1990).



**Figure 2 : Diffusion de *L.monocytogenes* après pénétration par voie digestive, vers le fœtus ou le système nerveux central.**

## **II - Infection nosocomiale due au *Listeria monocytogenes***

### **1. Infection nosocomiale**

Une infection nosocomiale est une infection contractée dans un établissement de santé. Une infection identifiée est considérée comme nosocomiale si elle apparaît au moins 48 heures après l'hospitalisation dans l'établissement de soins.

Elle continue d'être un problème important chez les patients à travers le monde (Robert A. Weinstein et al, 2005).

## **2. L'infection nosocomiale due au *L. monocytogenes***

Le laboratoire de l'hôpital a une importance dans la surveillance, le contrôle et la prévention des infections nosocomiales.

La surveillance biologique d'alimentation hospitalière consiste principalement sur des analyses biologiques dans le but d'établir l'existence ou l'absence des germes responsables a des infections alimentaire au sein de l'établissement de santé. (Brocard –Lemort , 2000)

La listériose est l'une des infections nosocomiales d'origine alimentaires grave et fréquente dans le milieu hospitalier.

Les infections à *Listeria monocytogenes* sont habituellement observées chez la femme enceinte, elles peuvent provoquer un avortement, un accouchement prématuré ou une infection néonatale grave. Chez le nouveau-né, le sujet âgé et l'immunodéprimé, les infections se traduisent par des formes invasives : bactériémie, septicémie et infection du système nerveux central ou neuro -listériose. (Boulhane,2016).

Il existe plusieurs signes cliniques de l'infection:

- Chez l'adulte, la maladie se traduit par une infection du sang (septicémie), voire du système nerveux central, qui se manifeste principalement par une méningo-encéphalite (infection des méninges et du cerveau).
- Chez la femme enceinte, l'infection est en général sans conséquence pour la mère : elle peut passer inaperçue, prendre la forme de contractions, ou rarement se réduire à un pic fébrile mimant un épisode grippal.
- Chez le nouveau-né infecté présente une infection sévère, souvent aggravée par la prématurité, qui peut combiner septicémie, infection pulmonaire, neurologique et également parfois cutanée (Institut de veille sanitaire ,1997).

## **3. l'incidence de listériose en milieu hospitalier**

En comparaison avec d'autres pathogènes responsables d'infections d'origine alimentaire, la listériose a une incidence faible, mais conduit à une fréquence d'hospitalisation et un taux de mortalité élevés (tableau2)

maladie	nombre de cas	hospitalisation (%)	taux de mortalité (%)
campylobactériose	214 779	43,6	0,05
salmonellose	82 694	36	0,14
listériose	1 763	99,1	15,6

**Tableau 2: Comparaison du nombre de cas et de leur gravité en Europe associés à 3 maladies d'origine alimentaire (EFSA, 2015)**

Au Maroc, trois cas de listériose sont diagnostiqués à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat. Il s'agit de deux patients avec une listériose neuro-méningée et un enfant atteint d'une bronchite à *Listeria*. (Boulhane, 2016).

En France, la maladie reste rare (incidence de 5 à 6 cas par million d'habitants) mais mortelle dans 20 à 30% des cas survenant en dehors de la grossesse.

### **III. Prévention de listériose en milieu hospitalier**

Cette toxi-infection alimentaire est un réel problème de santé publique. En effet, elle atteint les personnes les plus fragiles, se manifestant sous forme des cas sporadiques et parfois épidémiques et est responsable de décès.

La porte d'entrée est alimentaire obligeant les services publics à mettre en place une réglementation stricte concernant les recommandations en termes d'hygiène, de fabrication et de distribution (Goulet et al, 2004).

En milieu hospitalier, les protocoles d'hygiène concernant la désinfection des locaux et du matériel doivent être rigoureux, de même que le respect de la chaîne du froid et la conservation alimentaire. Le personnel soignant doit respecter les protocoles d'hygiène lorsqu'il prodigue des soins aux nouveau-nés et femmes enceintes dans le but d'éviter un risque d'infections nosocomiales.

Les différentes études publiées dans la littérature nous informe de la gravité d'infection à *Listeria* mais aussi et surtout de l'importance de la prévention par les professionnels de santé afin d'éviter la contamination par ce germe qui peut atteindre les personnes fragiles (Institut nationale de veille sanitaire, 2003).

La prévention repose sur l'éviction des aliments à risque : produits à base de lait non pasteurisé, charcuteries artisanales et préparations « traiteur » non recuites principalement.

## 1- Recommandations relatives à la problématique de la listériose au sein des hôpitaux (Bulletin Epidémiologique hebdomadaire ,1995).

### • Aliments à éviter

- Eviter la consommation de fromages à pâte molle au lait cru .
- Enlever la croûte des fromages avant consommation.
- Eviter la consommation de fromages vendus râpés.
- Eviter la consommation de poissons fumés.
- Eviter la consommation de graines germées crues (soja, luzerne, (alfafa) ...etc).
- Eviter la consommation de produits de charcuterie cuite consommés en l'état.
  - ex : pâté, rillettes, produits en gelée, jambon cuit ; si achetés, préférer les produits préemballés et les consommer rapidement après leur achat.
- Eviter la consommation de produits de charcuterie crue consommés en l'état - Les faire cuire avant consommation.
  - ex : lardons, bacon, jambon cru.
- Eviter la consommation de produits achetés au rayon traiteur ;
- Eviter la consommation de coquillages crus, surimi, tarama. (Prévention de la listériose chez les femmes enceintes, les patients immunodéprimés et les personnes âgées.

**Tableau3 : Répartition de *Listeria* en fonction de type de l'aliment**

Aliments	Nombre d'échantillons		Répartition des espèces de <i>Listeria</i>		
	Analysés	Positifs	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. welshimeri</i>
Produits carnés	17	10	8	13	6
Produits de charcuterie	11	3	3	6	0
Produits de la mer	1	0	0	0	0
Crudités et légumes	21	3	1	4	2
Total	50	16	12	23	8

- **Règles d'hygiène à respecter**

Les règles d'hygiène à respecter au sein des établissements de santé sont :

- Cuire soigneusement les aliments crus d'origine animale (viandes, poissons) ; en particulier le steak haché.
- Laver soigneusement les légumes crus et les herbes aromatiques.
- Conserver les aliments crus (viande, légumes etc...) séparément des 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 fréquemment et désinfecter ensuite avec de l'eau javellisée le réfrigérateur.
- Les restes alimentaires et les plats cuisinés doivent être réchauffés soigneusement avant consommation immédiate. (Plan de surveillance de la contamination par *Listeria monocytogenes* des aliments distribués,1996).

# **Partie II :**

# **Matériel & Méthodes**

## **1- Type et période d'étude**

Il s'agit d'une étude prospective réalisée sur une durée de 2 mois allant du 04 avril au 04 juin 2017. Elle avait pour Objectif d'étudier la contamination par *Listeria monocytogenes* des aliments et plats servis aux patients du l'hôpital (Fès).

## **2- Lieu d'étude**

Les prélèvements ont été analysés au laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu de Fès (LRDEHM) au niveau de l'unité d'hygiène alimentaire

## **3- Prélèvements, acheminement, transport et réception des échantillons au laboratoire**

Les prélèvements ont été effectués aseptiquement dans des sachets stériles par les techniciens d'hygiène du milieu dépendant du Ministère de la santé, selon la norme (NM03.7.059).

Les échantillons prélevés ont été acheminés immédiatement au LRDEHM, dans une glacière maintenue à une température de  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$ .

Un contrôle qualité des échantillons reçus est fait systématiquement au laboratoire avant d'être analysés, il englobait :

- La mesure de la T° de la glacière,
- L'identification des échantillons,
- L'heure de prélèvement,
- Le délai de transport,
- La conformité du prélèvement, etc.,...

Les échantillons ne répondant pas aux conditions et consignes de prélèvement et d'acheminement ne sont pas analysés.

Toute non-conformité détectée est enregistrée puis mentionnée au responsable du prélèvement afin que des actions d'amélioration puissent avoir lieu.

## **4- Analyse de la qualité bactériologique**

### **A- Matériel, équipements et consommables utilisés**

Le matériel nécessaire comprend :

- Matériel de stérilisation: autoclave ( $121\pm 3^{\circ}\text{C}$ ) et four pasteur ( $175\pm 5^{\circ}\text{C}$ ) ;
- Matériel de prélèvement: ciseaux, pinces et spatule ;
- Matériel d'homogénéisation: broyeur
- Matériel d'incubation: étuves ( $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $44\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) ;
- Matériel pour préparation et conservation de milieux de culture : balance, bain-marie, réfrigérateur réglé à  $5\pm 3^{\circ}\text{C}$
- Matériel de mesure: pipettes stériles, pro pipette et balance analytique;
- Milieux de culture : Gélose PALCAM, fraser demi, fraser, Gélose TSAYE
- Réactifs et API : réactifs pour test catalase, disques oxydase, API E ;
- Divers : Éthanol 70 % pour flamage, becs bunsen, boîtes de pétries, compteur des colonies, tubes et flacons stériles, anses,...

### **B- Méthode d'interprétation**

Le microorganisme dénombré ou recherché était essentiellement :

- *Listeria monocytogenes*

#### **4-1- Préparation des échantillons d'aliments pour analyse microbiologique**

Les prélèvements des échantillons alimentaires, sont analysés, le plutôt possible, après leur réception au laboratoire.

La recherche microbiologique de *Listeria monocytogenes* dans les aliments nécessite plusieurs étapes qui sont : Pré-enrichissement, enrichissement, l'isolement sélectif, puis, l'identification biochimique et sérologique.

#### **4-2 : Recherche de *Listeria monocytogenes***

La recherche de *Listeria monocytogenes* nécessite quatre étapes obligatoires qui sont le pré enrichissement, l'enrichissement, l'isolement et l'identification biochimique et sérologique

## **A. Pré enrichissement**

1. Prélever, aseptiquement 25g de l'échantillon à analyser.
2. Ajouter, aseptiquement, dans un sac en plastique stérile, 225 mL du milieu liquide sélectif dit Fraser Demi, à l'unité d'analyse préalablement pesée.
3. Mélanger à l'agitateur, pendant 4 minutes à 5 minutes, jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène.
4. Incuber, l'ensemble ainsi préparé, à  $+30,0^{\circ}\text{C}\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ , pendant 24 Heures.

## **B. Enrichissement**

1. Transférer, à l'aide d'une pipette stérile, 0,1 ml du milieu liquide pré enrichissement dans 10 ml de milieu liquide sélectif Fraser.
2. Incuber, l'ensemble ainsi préparé, à  $+36,0^{\circ}\text{C}\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ , pendant 48 Heures.

## **C. . Isolement Sélectif**

1. Ensemencer, une oese à partir du milieu liquide enrichissement, par striation, sur un milieu gélosé sélectif PALCAM ou un milieu gélosé sélectif Oxford.
2. Incuber, les deux boîtes ainsi préparées, à  $+36,0^{\circ}\text{C}\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ , pendant 24 Heures à 48 Heures. Les colonies caractéristiques de *Listeria monocytogenes* sur le milieu gélosé sélectif Palcam sont de couleur gris-vert et auréolées de noir et les colonies caractéristiques de *Listeria monocytogenes* sur le milieu gélosé sélectif Oxford sont rondes, grandes, régulières et transparentes.



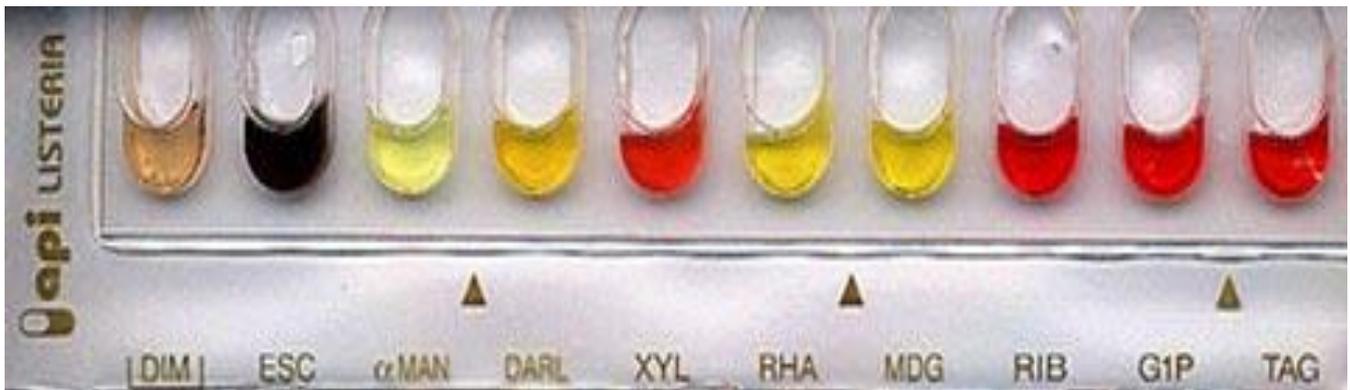
**Figure 3: *Listeria monocytogenes* sur PALCAM (INH 2010)**

#### **D. Tests de Confirmation Identification Biochimique**

1. Repiquer cinq colonies suspectes (5 colonies) caractéristiques de *Listeria*, dans un tube contenant 5 ml de milieu liquide Tryptone Soja Extrait de Levure (TSYE).
2. Incuber, l'ensemble ainsiensemencé, à  $+36,0^{\circ}\text{C}\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ , pendant 24 Heures.
3. Ensemencer, une boîte de milieu gélosé Tryptone Soja Extrait de Levure (TSAYE), à partir d'une cèse du milieu Liquide Tryptone Soja Extrait de Levure (TSYE).
4. Incuber, la boîte ainsiensemencée, à  $36,0^{\circ}\text{C}\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ , pendant 18 Heures à 24 Heures.
5. Effectuer une coloration de Gram, à partir d'une colonie caractéristique sélectionnée sur le milieu gélosé Tryptone Soja Extrait de Levure (TSAYE). *Listeria* apparaît sous forme de bacilles fins et courts, à Gram positif.
6. Effectuer une réaction à la catalase, à partir d'une colonie caractéristique sélectionnée sur le milieu gélosé Tryptone Soja Extrait de Levure (TSAYE), par la mise en suspension sur une lame dans une goutte de peroxyde d'oxygène. La formation de bulles indique une réaction positive.

7. Effectuer l'examen de la mobilité, à l'état frais, entre lame et lamelle, à partir d'une colonie caractéristique sélectionnée sur le milieu gélosé Tryptone Soja Extrait de Levure (TSAYE). *Listeria* apparaît sous forme de bacilles fins et courts, animés d'une mobilité en pirouette.

8. Effectuer la confirmation de l'espèce, à partir d'une colonie caractéristique sélectionnée sur le milieu gélosé Tryptone Soja Extrait de Levure (TSAYE), par l'identification des caractères biochimiques, à l'aide de galeries *Listeria* System 18 R.



**Figure 4 : Identification de *Listeria monocytogenes* par la Galerie API System 18 R**

# Partie III :

# Résultats et discussion

## 1- Répartition des analyses des échantillons réalisés au LRDHEM par catégories d'aliments

La répartition des échantillons analysés au laboratoire par catégorie d'aliments a montré que sur 10 échantillons reçus, quatre (40%) sont des viandes et produits carnés, cinq (50%) des végétaux et crudités et un échantillon (10%) seulement appartenant aux poissons et produits de pêche.

## 2- Evaluation de la non-conformité globale des aliments

Sur les 10 échantillons analysés, aucune non-conformité n'a été détectée. Ce qui montre que les échantillons ont été de bonne qualité hygiénique (Tableau 1).

- Notre résultat ne concorde pas avec celui obtenu par (Cohen 2008) qui a montré qu'à partir des échantillons de viande analysés *Listeria monocytogenes* ont été isolés dans 1,6 et 1,5% des viandes analysés.
- Ainsi une étude des techniques d'isolement des *Listeria* et leur fréquence dans les aliments au CHI Montfermeil (France) a mené à des résultats suivants : à partir de 50 aliments prélevés aux cuisines de l'hôpital, après la réalisation des méthodes d'isolement de *Listeria* ils ont trouvé au total 16 aliment se sont révélés contaminés par *Listeria* (February 1992)

**Tableau 4 : Pourcentage de la non-conformité globale**

	Nombre total	Conformité	NC	%conformité	%NC
aliments	10	100	0	100%	0%

## 3- Pourcentage de la non-conformité par catégorie d'aliments

Sur les 3 catégories d'aliments analysées au cours de la période de stage, aucun échantillon n'a été non conforme (NC) (Tableau 5).

**Tableau 5 : Pourcentage de non-conformité par classe d'aliment**

<b>Catégories d'aliments</b>	<b>Nombre total</b>	<b>Pourcentage de NC</b>
<b>viande et produits carné</b>	4	0%
<b>Végétaux et crudités</b>	5	0%
<b>Poissons et produit de pêche</b>	1	0%

- Le plan de surveillance national de la contamination des aliments à la distribution par *Listeria monocytogenes* a révélé 1622 produits de charcuterie cuite dont Taux global de conformité : 98,33 %.
- Le résultat ne concorde ni avec celui de Lejeune et al. (1988) qui ont démontré que sur 853 plats préparés au Sein de trois cuisines hospitalières en France, 117 ne répondent pas aux critères de conformité bactériologique soit (%NC = 18,8%) ; ni avec celui de Abouda et al. (2011) qui ont rapporté une proportion moyenne de contamination bactériologique de 31% dans 201 plats servis au CHU Farhat-Hachid de Sousse (Tunisie).

# Conclusion

La listériose représente encore aujourd'hui un problème de santé publique. C'est pourquoi des mesures phares au niveau sanitaire et alimentaire ont été mises en place par le gouvernement.

Dans ce contexte notre étude s'est fixé comme principal objectif, le contrôle de la qualité des aliments servis à l'hôpital de la ville de Fès, ainsi que l'étude de la non-conformité des échantillons analysés.

Durant cette étude prospective, 10 échantillons d'aliments ont subi des analyses microbiologiques au laboratoire LRDEHM pour détecter la présence ou l'absence de *Listeria monocytogenes*.

Les résultats obtenus n'ont révélé aucune non-conformité parmi les catégories d'aliments analysées au cours de la période d'étude. Ainsi, aucun échantillon n'a été révélé contaminé par *Listeria monocytogenes*.

Ces résultats témoignent de la bonne qualité hygiénique des aliments servis dans les hôpitaux de Fès. Ceci est dû aux efforts déployés par les équipes d'hygiène et de la direction des hôpitaux pour servir des repas sains et lutter ainsi contre les infections nosocomiales.

## Références Bibliographiques

- Abouda, Y., 2011. La qualité bactériologique en restauration hospitalière : un paramètre de gestion de risque infectieux. Science Lib Editions, Mersenne: ISSN 2111-4706, Volume3, N°110301.
- Abouda Y., Bouafia N., Mahjoub M., Bannour B., Mzoughi R., Njah M., 2014. Évaluation de la qualité bactériologique des aliments servis à l'hôpital de Sousse (Tunisie) entre 2005 et 2010, Nutrition clinique et métabolisme.
- Bourre P., et Lemetayer MF., 1990. Listériose et grossesse. In : Maladies tropicales et grossesse.
- Brocard-Lemort, 2000. Laboratoire de microbiologie et d'hygiène hospitalière, Groupe hospitalier du Havre, BP 24, 76083 Le Havre cedex, 431-7.
- Goulet V., Jacquet T C., MARTIN P., 2001. Surveillance de la listériose humaine en France. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire 33-36.
- Institut international de veille sanitaire, 2003. Listériose, légionellose et infection invasive à méningocoque: déclaration obligatoire et épidémiologie d'intervention.
- International Journal of Surgery, Vol. 41, 2007
- Low JC1, and Donachie , 1997, A review of Listeria monocytogenes and listeriosis. Veterinary Journal, 153:9-29.
- Plan de surveillance de la contamination par Listeria monocytogenes des aliments distribués, 1996. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire n°45
- Prévention de la listériose chez les femmes enceintes, les patients immunodéprimés et les personnes âgées, 1995 Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire .
- Yousif E.I., Ashoush I.S., Donia A.A., HalaGoma K.A., 2013. Critical control points for preparing chicken meals in a hospital kitchen. Annals of Agricultural Science 58(2), 203–211.

## Web graphie

- Boulhane, Malika URI: <http://hdl.handle.net/123456789/15299>Date : 2016.
- Institut pasteur,2006 Listériose [en ligne].Disponible sur :  
<<http://www.pasteur.fr/actu/presse/documentation/Listeriose.html>>.

## Annexes: Composition des milieux de culture

Pour 1 litre d'eau distillée :

- **Milieu PALCAM :**

- Peptones : 23,0g
- Extrait autolytique de levure : 3,00g
- Glucose : 0,50g
- Amidon : 1,00g.
- Sodium chlorure : 5,00 g
- Esculine : 0,80 g
- Citrate ferrique ammoniacal : 0,50g .
- Lithium chlorure : 15,00g.
- D-Mannitol : 10,00g .
- Rouge de Phénol : 0,08g.
- Polymyxine B (sulfate) : 10 mg.
- Ceftazidime : 20 mg.
- Acriflavine : 5 mg.
- Agar agar : 10,00g.
- pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C :  $7,2 \pm 0,2$

- **Bouillon de fraser :**

- Poly peptone : 10,0 g
- Extrait de levure :5,0 g
- Extrait de viande :5,0 g
- Esculine : 1,0 g
- Citrate de fer iii ammoniaca : 0,5 g (ajoutéaprès stérilisation)
- Chlorure de lithium : 3,0 g
- Acide nalidixique : 0,02 g
- Acriflavine (chlorhydrate) : 0,025 g
- chlorure de sodium : 20,0 g
- Hydrogénophosphate de sodium :9,6 g
- dihydrogénophosphate de potassium :1,3 g
- ph =7,1

- **fraser-demi :**

- Tryptose :10,00 g
- Extrait de viande :5,00 g
- Extrait de levure : 5,00 g
- Chlorure de lithium : 3,00 g
- Phosphate de sodium dibasique : 9,60 g
- Phosphate de potassium monobasique :1,35g
- Esculine : 1,00g
- Acide nalidixique :0,01g
- Chlorure de sodium :20,00g
- AcriflavineHCl :0,0125g
- Chlorure de lithium : 3,00g
- Citrate ferrique ammoniacal :0,50g

- **Milieu TSAYE :**

- trypticase :17,0g
- Soytone :3,0 g
- extrait delevure :6,0 g
- chlorure de sodium :5,0 g
- sagar :15 g
- pH = 7,3