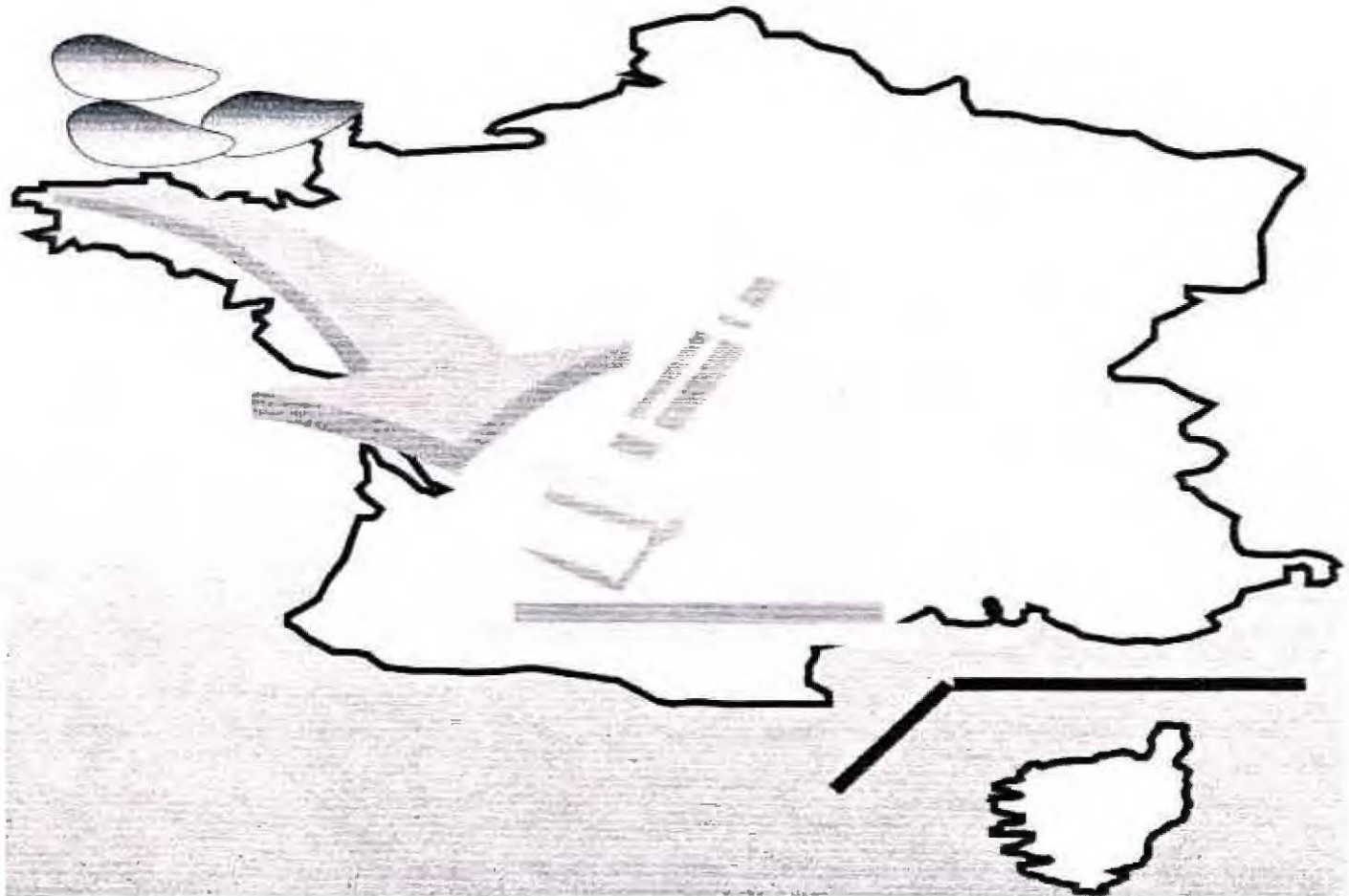


43466

NG00-PRC-P

DIRECTION DE L'ENVIRONNEMENT ET DE L'AMENAGEMENT LITTORAL

**PRESENCE DU GENRE *LISTERIA* DANS LES COQUILLAGES ISSUS DE
ZONES CONCHYLICOLES DU FINISTERE**



Patrick MONFORT , Guy PICLET , Gwenael LE NAOUR , Jean Claude LE SAUX , Pierre RAGUENES , Sylviane BOULBEN , Dominique LE GAL , Jacques Minet , Jacqueline VENIEN , Michel CORMIER et Alain PLUSQUELLEC .



R.INT. DEL/ 95.03 / CONCARNEAU

IFREMER

adresse 13, rue de Kérose 29900 CONCARNEAU	DIRECTION DE L'ENVIRONNEMENT ET DE L'AMENAGEMENT LITTORAL SERVICE STATION/LABORATOIRE : CONCARNEAU
---	--

AUTEUR (S) : P.Monfort,G.Piclet,G.Le Naour,JC.Le Saux,P.Raguénès,S.Boulben,D.Le Gal,J.Minet,J.Venien,M.Cormier et A.Plusquellec.	CODE N° DEL / 95.03
TITRE PRESENCE DU GENRE <i>LISTERIA</i> DANS LES COQUILLAGES ISSUS DE ZONES CONCHYLICOLES DU FINISTERE	date : Janvier 1995 tirage nb : 100 Nb pages : 24 Nb figures : 5 Nb photos :
	DIFFUSION libre X restreinte confidentielle

RESUME	<p style="text-align: center;"> Cette étude a porté sur la recherche des bactéries appartenant au genre <i>Listeria</i> (<i>Listeria spp.</i>) dans 61 échantillons de coquillages issus de quelques zones de production situées dans le département du Finistère. Ces investigations, effectuées au cours de deux périodes (janvier-février et juillet -août 1994), ont mis en évidence la présence régulière des <i>Listeria</i> dans les bivalves (<i>L. spp.</i>= 49.2%), la part non négligeable de <i>Listeria monocytogenes</i> (<i>L.m.</i> = 11.5%), la multiplicité d'espèces sur quelques échantillons testés (Baie de Morlaix) ainsi qu'une large distribution de ce genre bactérien. Par ailleurs, il est démontré une incidence saisonnière, la période hivernale se révélant la plus critique. Cette information, intéressante sur le plan sanitaire, pourrait s'expliquer par l'augmentation des flux de pollution bactérienne, d'origine terrestre, à certaines époques associée à une sensibilité aiguë des <i>Listeria</i> à la compétition de flore. Les données réparties selon deux classes de contamination fécale ne permettent pas d'établir de relation entre les indicateurs (<i>E.coli</i>) et le genre <i>Listeria</i>. Enfin, le nouveau protocole officiel de recherche des <i>Listeria</i>, sans doute perfectible, fait preuve d'une efficacité certaine pour l'isolement de ce microorganisme. </p>
mots-clés	: <i>Listeria</i> , bactéries pathogènes, coquillages, produits marins, estuaires
key words	: <i>Listeria</i> , pathogenic bacteria, shellfishes, seafood products, estuaries

© IFREMER – Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer 1991



SOMMAIRE

1. INTRODUCTION	1
2. MATERIEL ET METHODES	4
2.1. ECHANTILLONNAGE	
2.2. METHODOLOGIES ANALYTIQUES	
2.2.1. PREPARATION DES ECHANTILLONS	
2.2.2. DENOMBREMENT DES ESCHERICHIA COLI PRESUMES	
2.2.3. RECHERCHE ET IDENTIFICATION DE <i>Listeria spp.</i>	
2.2.4. RECHERCHE SPECIFIQUE DE <i>Listeria monocytogenes</i>	
2.3. ANALYSE STATISTIQUE	
3. RESULTATS	9
4. DISCUSSION – CONCLUSIONS	12
5. BIBLIOGRAPHIE	14
6. ANNEXE : DONNEES BRUTES	19

1. INTRODUCTION

Listeria monocytogenes, seule espèce du genre pathogène pour l'homme, décrite pour la première fois en 1926 par Murray, Webb et Swan, (Gray et Killiger 1966) n'a véritablement commencé à exercer une pression infectieuse importante que depuis une quinzaine d'années, entraînant corrélativement à son égard un regain d'intérêt de la part des hygiénistes.

Le rôle de l'alimentation dans l'apparition des cas de listérioses humaines a été mis en évidence au cours des épidémies recensées à travers le monde ces dernières années (tableau 1).

Parallèlement, plusieurs études ont porté sur les produits marins et ont souligné l'incidence non négligeable des *Listeria* dans les poissons, les crustacés, les produits transformés ainsi que dans les mollusques bivalves, qu'ils proviennent des zones d'élevage ou qu'ils soient prélevés sur les marchés (tableau 2). La synthèse des données traduit une variabilité de la contamination qui peut s'expliquer non seulement par la diversité des origines des prélèvements mais aussi par l'hétérogénéité des méthodologies analytiques appliquées au cours de ces travaux.

Bien que la présence des *Listeria* dans ces aliments ne représente nullement un caractère anecdotique, les infections alimentaires liées à leur présence dans les produits marins n'ont été décrites que par trois auteurs (Vilde 1980 , Lennon et coll.1984, Farcinelli et coll.1989). Si les deux premiers cas cités n'apportent aucun élément formel permettant de lier l'apparition de la maladie à la consommation de produits d'origine marine, le dernier en revanche, étayé par des analyses complémentaires du poisson suspecté, souligne le risque potentiel de listérioses lors de l'ingestion de produits de la mer.

Les recherches, menées sur le portage des *Listeria* dans le règne animal, ont montré le rôle des porteurs sains qu'ils soient d'origine humaine (Farber et Losos 1988, Schuchat et coll. 1991) ou animale (Buncie 1991, Fenlon 1985, Rodriguez et coll.1984, Skovgaard et morgen 1988, Skovgaard et Norrung 1989, Weis et Seeliger 1975) dans leur dissémination. En effet, ces bactéries sont véhiculées vers le milieu aquatique soit directement par l'intermédiaire des effluents des stations d'épuration (Watkins et Sleath 1981), soit indirectement par le biais des épandages (boues et lisier) utilisées comme fertilisants (Weis et Seeliger 1975, Watkins et Sleath 1981). Ces derniers ont souligné l'importance des *Listeria* dans l'environnement agricole (prairie, sol) et leur persistance pendant des périodes relativement longues (plus de 8 semaines).

La prise en compte de ces considérations générales associée à la faculté de résistance du germe aux agents physico-chimiques (Mac Clure et coll. 1989, Mac Kay 1993, Junttila et coll.1988, Cole 1990, Shahamat et coll.1980) ainsi qu'aux conséquences pathologiques (20 à 30% de mortalité – ROCOURT J. et coll. 1994), nous ont conduit à porter une attention toute particulière à la présence du genre *Listeria* dans les coquillages, traditionnellement consommés crus, issus de zones conchylicoles du Finistère et cela dans un objectif général de santé publique.

TABLEAU 1 : Principales épidémies à *Listeria monocytogenes* recensées dans le monde

ANNEES	PAYS	NBRE DE CAS (% mort.)	SEROVAR	ALIMENTS INCRIMINES	AUTEURS
1975 - 1976	FRANCE	175			ROCOURT 1990
1979	U.S.A.	23		CRUDITES	FARBER et LOSOS 1988
1981	CANADA	41 (43.9%)	4b	SALADE AUX CHOUX	FARBER et LOSOS 1988
1983	U.S.A.	49 (29%)	4b	LAIT PASTEURISE	FARBER et LOSOS 1988
1983 - 1987	SUISSE	120 (27.5%)	4b	FROMAGE	BILLE et GLAUSER 1988
1985	U.S.A.	314 (33.4%)	4b	FROMAGE	LINNAN et coll. 1988
1987 - 1989	ROYAUME-UNI	>300	4b	PATE	Mc LAUHLIN et coll. 1991
1992	FRANCE	279 (22.6%)	4b	LANGUE DE PORC	GOULET et coll. 1993
1993	FRANCE	25 (28%)	4b	RILLETES	JACQUET et coll. 1994

TABLEAU 2 : Bibliographie relative à la présence de *Listeria* spp. dans les produits marins

Produits analysés	Nbre Ech.	<i>Listeria</i> spp. n (%)	<i>L.monocytogenes</i> n (%)	Pays	Auteurs
Poissons	61	9 (14.8 %)		Trinidad	Adesiyun A.A. 1993
Crevettes	41	2 (4.9 %)			
Poissons / Crevettes	18	5 (28 %)	2 (11 %)	U.S.A.	Buchanan et coll. 1992
Huîtres (élevage)	35	1 (2.8 %)	0	U.S.A.	Colburn et coll. 1990
Crevettes	178	89 (50 %)	32 (18 %)	Brésil	Destro et coll. 1994
Poissons fumés	71	8 (11.3 %)		Canada	Dillon et coll. 1992
Poissons marinés	32	24 (75 %)	3 (9 %)	Pérou	Fuchs et Sirvas 1991
Poissons frais	28	15 (53.6 %)	7 (25 %)	Islande	Hartemink et coll. 1991
Poissons fumés	36	10 (27.8 %)	3 (8.3 %)		
Salade de poissons	37	12 (32 %)	6 (16 %)		
Poissons fumés	16	7 (43.8 %)	1 (6.3 %)	Irlande du nord	Harvey et coll. 1993
Produits marins	30	26 (86.7 %)	12 (40 %)		
Poissons	25	6 (24 %)	8 (32 %)	Nouvelle	Hudson et coll. 1992
coquillages-marché	25	8 (32 %)	5 (20 %)	Zélande	
Poissons	51	2 (3.9 %)	0	Inde	Manoj et coll. 1991
Crevettes	19	2 (10.5 %)	0		
Crevettes	74	8 (10.8 %)		U.S.A.	Motes et coll. 1991
coquillages-élevage	75	0			
Crevettes cuites	21	5 (23.8 %)	3 (14.3 %)	France (importation)	Ravomanana et coll. 1993
Saumon fumé	33		3 (9 %)	Norvège	Rorvik et coll. 1991
Crevettes	16		5 (18 %)		
Poisson haché	8		1 (12 %)		
Crevettes crues congelées	74	19 (25.7 %)	4 (5.4 %)	données FDA (importation)	Ryser 1991
Poissons	114	24 (21 %)	7 (6.1 %)	Japon	Ryu et coll. 1992
coquillages-marché	40	9 (22.5 %)	3 (7.5 %)	Espagne	de Simon et coll. 1992
Produits congelés (crevettes,surimi, chair de crabe)	57	35 (65 %)	15 (26 %)	U.S.A.	Weagant et coll. 1988
Produits réfrigérés et congelés (poisson, crabe,calmar)	57		6 (10.5 %)	Taiwan	Wong et coll. 1990

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Echantillonnage

Neuf sites conchylicoles du département du Finistère implantés en zones estuariennes ont été échantillonnés (figure 1) à deux époques différentes, d'une part en janvier – février et d'autre part en juillet – août 1994, les températures de l'eau de mer oscillant respectivement entre 8 – 10°C et 17 – 19°C.

Soixante et un échantillons de coquillages furent analysés au cours de cette étude, représentés essentiellement par des huîtres (39), des moules (15) et des coques (7). Les bivalves recueillis dans des sachets en plastique, étiquetés puis acheminés au laboratoire ont été stockés au réfrigérateur (4 à 6°C) avant analyse (15 à 24 H). Parallèlement à la recherche du genre *Listeria* (DGAL 1993), nous avons effectué un dénombrement systématique des *Escherichia coli* présumés. Par ailleurs, nous avons mené sur la rivière de Morlaix une étude particulière de quantification des *Listeria* par la méthode NPP en 3 fois 3 tubes (5 échantillons) ainsi qu'une recherche spécifique de *L.monocytogenes* dans les fécès d'huîtres par immunocapture et pouvoir pathogène associé (5 échantillons) (figure2 et tableaux 4 et 5). Cette dernière méthodologie, développée au laboratoire de la faculté de pharmacie de Rennes, fait l'objet d'une publication (Minet et coll. en cours).

2.2. Analyses bactériologiques

2.2.1. Préparation des échantillons

Les coquillages sont soigneusement brossés sous courant d'eau potable froide pour éliminer toutes traces de souillures externes. L'échantillon pour essai comprend un minimum de cinq individus, recueilli dans un bol broyeur stérile préalablement taré. Au poids de chair et de liquide intervalvaire obtenu (>50 g), Il est ajouté au moyen d'une éprouvette, un volume (ml) de diluant (BIOKAR bk014) égal à deux fois celui-ci. Ensuite, la prise d'essai est homogénéisée à l'aide d'un broyeur de type "waring blendor" pendant 40 à 60 secondes, à 15000 t/mn.

2.2.2. Dénombrement des *Escherichia coli* présumés

La technique de dénombrement en milieu liquide en 3 séries de 3 tubes (NPP) est utilisée par le laboratoire pour la détermination quantitative de ce germe fécal dans les coquillages.

A partir de la solution mère obtenue ci-dessus, on ensemence d'une part, 5 ml dans la première série de 3 tubes contenant chacun 10ml d'un milieu sélectif à la bile et au vert brillant (DIFCO – 0007–01–2)) de concentration 1.5 (60g/l) plus une cloche de Durham et d'autre part 2 ml dans 18 ml de diluant ; puis, à partir des dilutions successives on renouvelle cette opération avec les deux autres séries. Après étuvage 48 heures à 37°C, on conserve les

tubes qui présentent un dégagement gazeux franc dans la cloche. Ceux-ci sont alors repiqués en portant 10 µl de la culture dans un tube de bouillon lactosé bilié au vert brillant, simple concentration contenant une cloche de Durham, et dans un tube d'eau peptonée exempte d'indole (BIOKAR – bk084) que l'on place au bain marie à 44°C pendant 24 heures.

Après incubation à 44°C, on admet qu'il y a présomption de *E.coli* lorsque l'on observe simultanément une production de gaz et une formation d'indole à partir du tryptophane

2.2.3. Recherche et identification du genre *Listeria*

L'étape de pré-enrichissement est obtenue par ensemencement de 75 ml de solution mère (25 g de chair et de liquide intervalvaire) dans 175 ml de bouillon de Fraser avec supplément sélectif au 1/2 (MERCK – 10399 et 10398)) puis incubation à 30°C pendant 24 heures.

La seconde opération consiste à transférer 0.1 ml du pré-enrichissement dans un tube contenant 10 ml de Fraser (MERCK – 10399 et 10398) avec supplément sélectif 1/1 puis à l'étuver à 37°C pendant 24 heures.

L'isolement est pratiqué sur une gélose palcam (MERCK – 11755 et 12122)) incubée 24 à 48 heures à 37°C.

L'identification des colonies suspectes (1 à 2 colonies petites, grisâtres à verdâtres, éventuellement à centre concave noir) passe par une première phase présomptive qui étudie la morphologie bactérienne, la coloration de Gram, la présence ou le défaut de catalase, d'oxydase et l'absence d'action sur les nitrates. Si les résultats de ces tests correspondent au genre *Listeria*, l'identification de l'espèce sera réalisée au moyen des galeries API *Listeria* (BIOMERIEUX).

Les souches identifiées au laboratoire sont ensuite expédiées au centre national des *Listeria* (Dr. J. Rocourt Institut Pasteur – Paris) pour confirmation et lysotypie.

2.2.4. Recherche spécifique de *L. monocytogenes* par pouvoir pathogène associé

Cette méthodologie s'applique après la période d'incubation du bouillon de Fraser (1/1)

* Centrifuger les 10 ml du milieu d'enrichissement et homogénéiser le culot dans 2 ml de milieu tamponé salé (EUROBIO – 2-087-14) stérile.

* Rajouter à cette fraction de 2 ml, 100 µl de suspension de billes paramagnétiques sensibilisées par un anticorps polyclonal anti *Listeria* (Lister-Screen / AES Laboratoires).

* Incuber 2 heures à température ambiante.

* Séparer les billes du surnageant à l'aide d'un aimant, rejeter ce dernier puis effectuer trois lavages successifs des billes.

* Reprendre ces billes ainsi traitées au moyen de 1 ml de milieu tamponé salé stérile et l'inoculer à une souris (mâle SWISS de 20 à 30g) par voie intrapéritonéale.

* Surveiller les souris pendant 10 jours et prélever aseptiquement les rates sur les animaux décédés puis placer chacune dans un bouillon trypticase soja. Les tubes seront incubés à 37°C pendant 24 heures.

* Effectuer un isolement sur gélose au sang frais de cheval puis identifier les colonies présentes.

2.3. Analyse statistique

Le traitement des données fait appel au test du khi-deux utilisé pour comparer la répartition observée d'un caractère qualitatif à sa répartition théorique. Au cours de cette étude, nous nous intéresserons à l'homogénéité des résultats obtenus en fonction des deux saisons échantillonnées et selon le niveau réglementaire de contamination colimétrique des coquillages.

Les conditions d'emploi de ce test supposent que les effectifs calculés égalent ou dépassent 5.

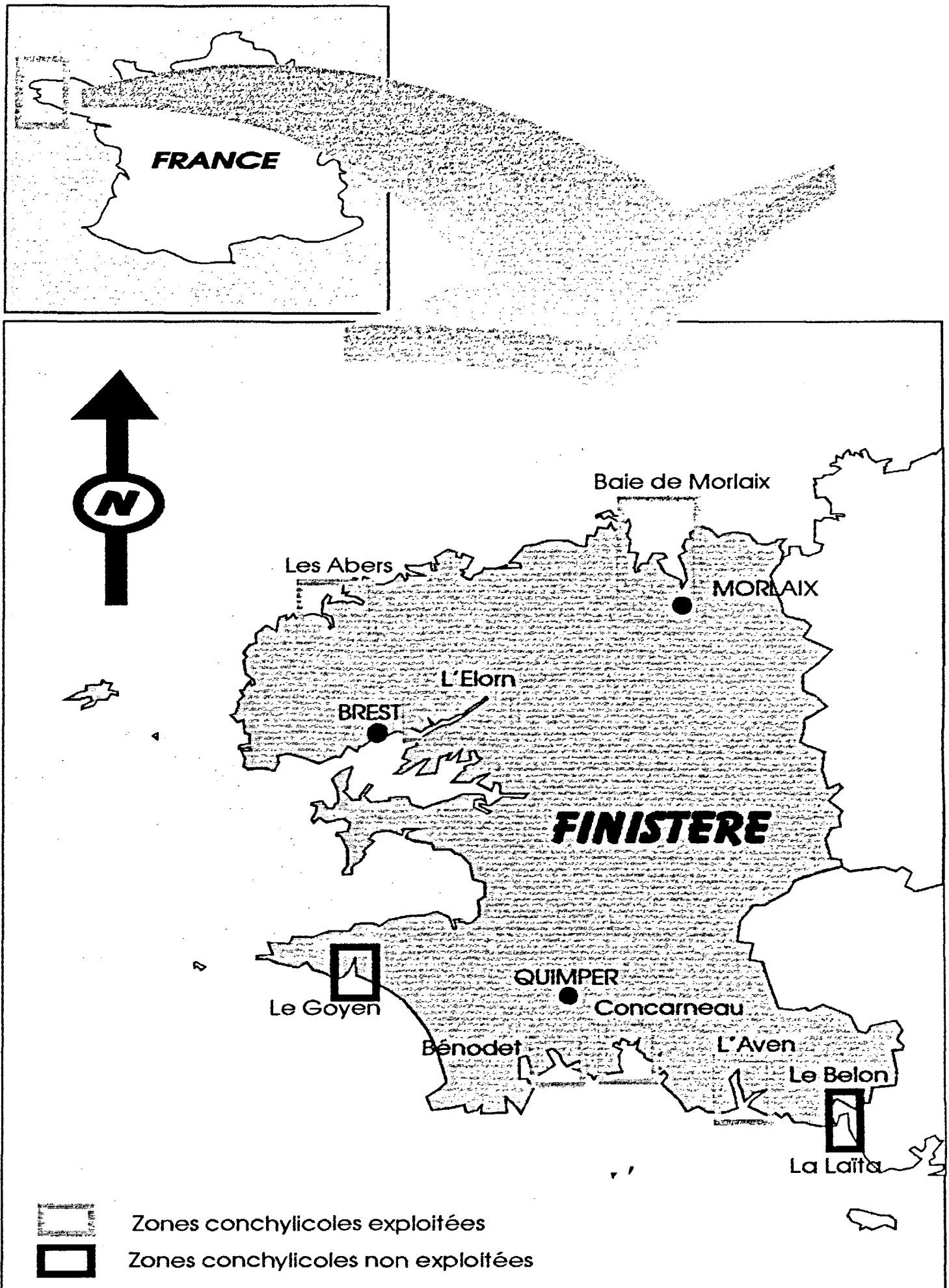


FIGURE 1 : Situation géographique des zones conchylicoles échantillonnées

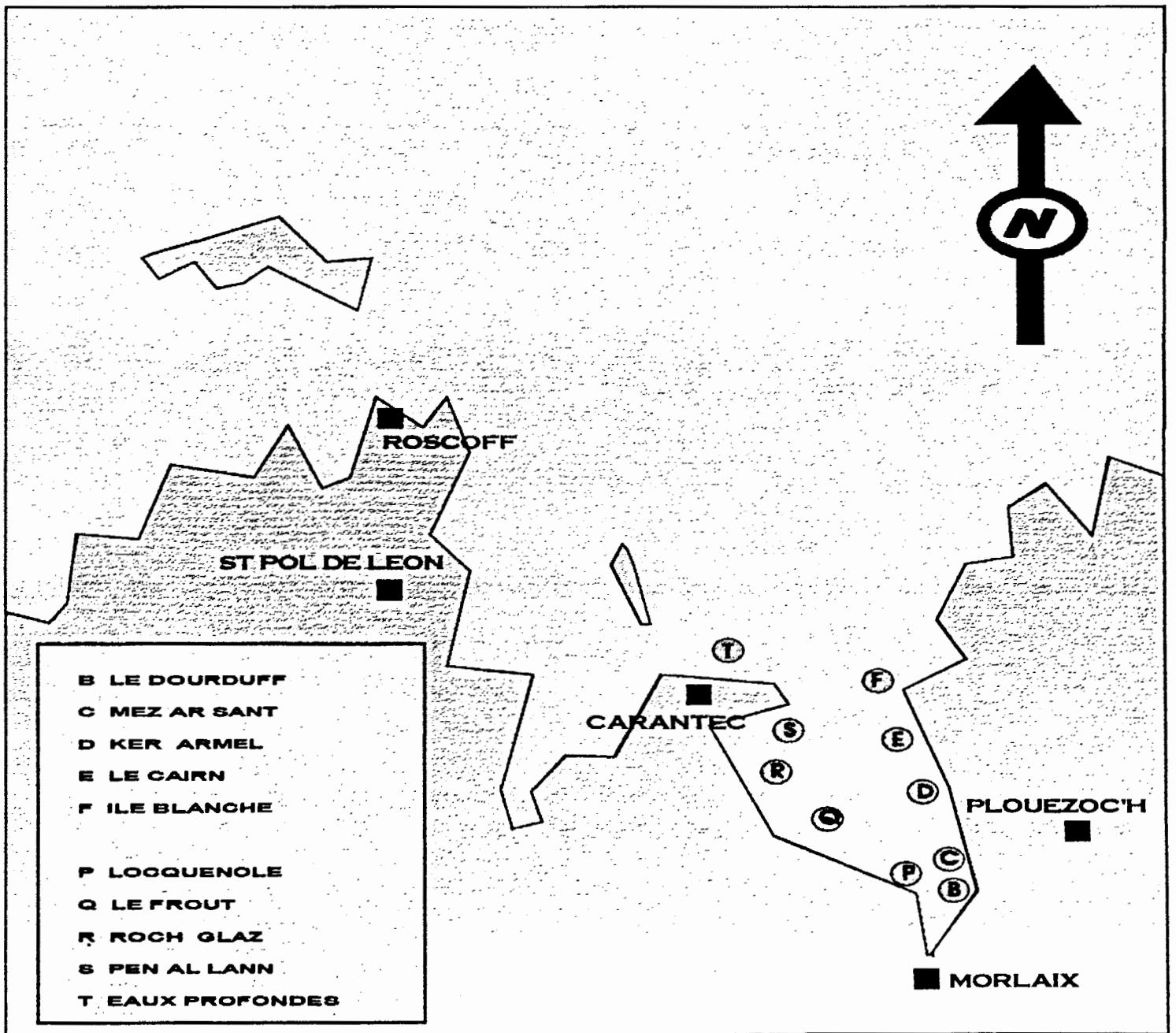
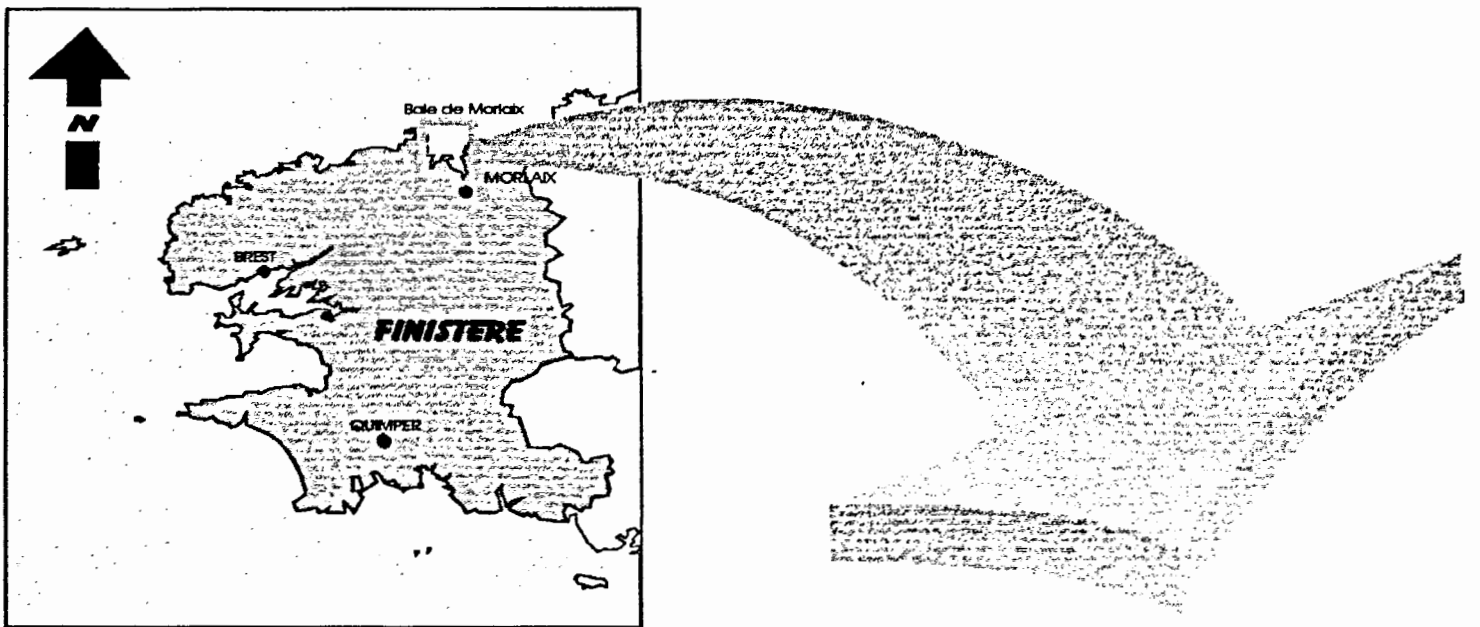


FIGURE 2 : POSITIONNEMENT DES POINTS DE PRELEVEMENTS EN BAIE DE MORLAIX

3. RESULTATS

GRAPHE 1 : Répartition en pourcentage des résultats des recherches de *Listeria* dans les coquillages du Finistère

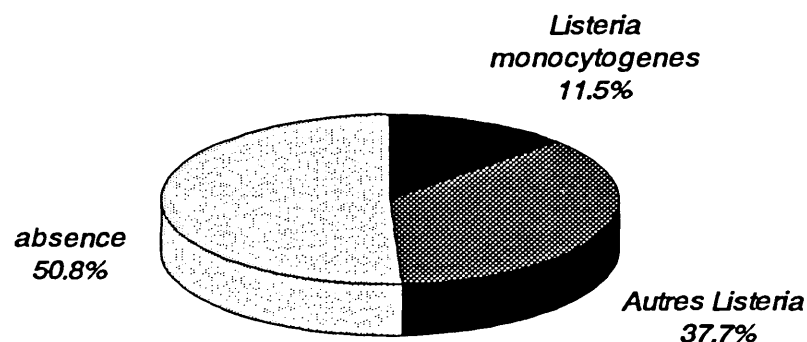
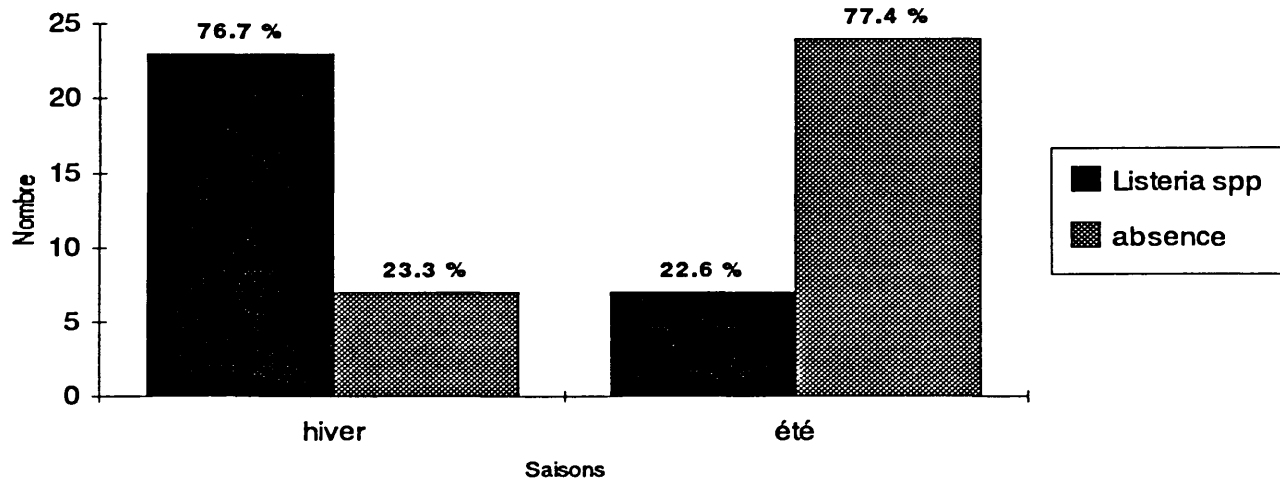


TABLEAU 3 : Répartition spatiale des recherches de *Listeria* dans les coquillages

SITES	NBRE ECH.	LISTERIA SPP. nombre (%)	L.MONOCYTOGENES nombre (%)
Baie de Morlaix	10	2 (20.0 %)	1 (10.0 %)
Les Abers	8	7 (87.5 %)	2 (25.0 %)
l'Elorn	6	3 (50.0 %)	0
Le Goyen	6	5 (83.3 %)	2 (33.3 %)
Bénodet	15	7 (46.7 %)	2 (13.3 %)
Concarneau	5	2 (40.0 %)	0
l'Aven	4	3 (75.0 %)	0
Le Belon	5	0	0
La Laïta	2	1 (50.0 %)	0

GRAPHE 2 : Répartition des résultats des recherches de *Listeria* selon deux saisons étudiées



GRAPHE 3 : Répartition des résultats des recherches de *Listeria* selon le seuil réglementaire de contamination bactériologique fixé pour la commercialisation des coquillages

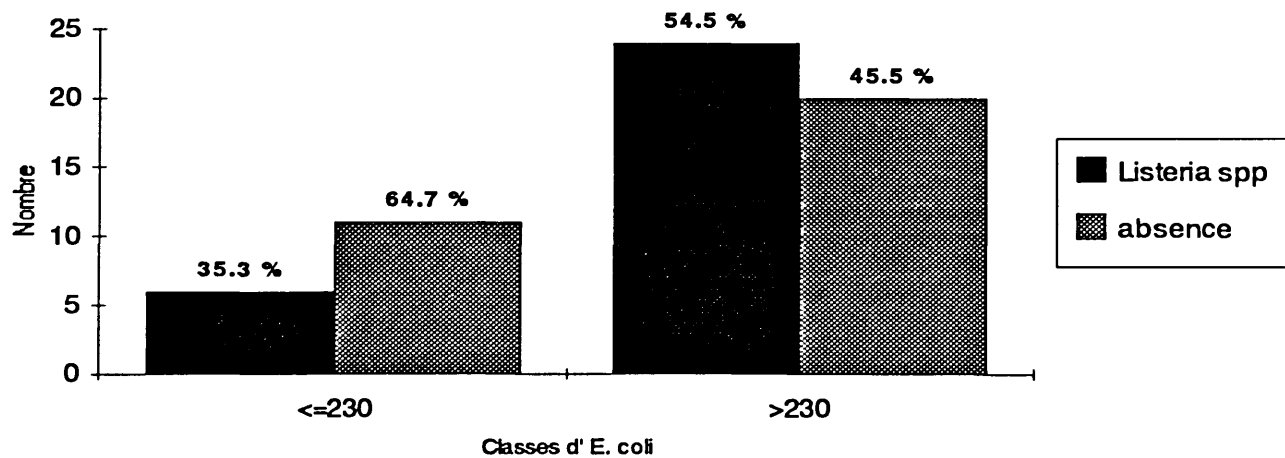


TABLEAU 4 : Résultats des numérations de Listeria spp. dans les moules en Baie de Morlaix

Point de Prélèvement	Espèces isolées	NPP/g	Intervalle de confiance 95 %
Pt B	L. monocytogenes	0.3	<0.05 – 1.3
	L. innocua	0.7	0.1 – 2
	L. seeligeri	0.7	0.1 – 2
Pt C	L. monocytogenes	0.003	<0.0005 – 0.013
	L. innocua	0.023	0.004 – 0.12
Pt D	L. innocua	0.023	0.004 – 0.12
Pt E	L.monocytogenes	0.004	<0.0005 – 0.02
	L. innocua	1.1	0.15 – 4.8
Pt F	L.monocytogenes	0.023	0.004 – 0.12
	L. innocua	0.004	<0.0005 – 0.02

TABLEAU 5 : Résultats des recherches de Listeria sur les fèces d'huîtres par les techniques NPP et immunocapture (Baie de Morlaix)

Point de prélèvement	Espèces isolées	NPP/g	Recherche de L.m. par immunocapture
Pt P	L.monocytogenes L.innocua	absence dans 1 g 0.9 – (0.1 – 3.6)	absence
Pt Q	L.monocytogenes L.innocua L.welshimeri	absence dans 1 g 46 – (7.1 – 240) 0.4 (<0.05 – 2)	présence dans 0.1g
Pt R	L. monocytogenes L.innocua L.welshimeri	absence dans 1 g 9.3 (1.5 – 38) 0.4 (<0.05 – 2)	présence dans 0.01g
Pt S	L.monocytogenes L.innocua	0.4 (<0.05 – 2) 9.3 (1.5 – 38)	présence dans 0.1g
Pt T	L.monocytogenes L.innocua L.welshimeri	absence dans 1g 24 (3.6 – 130) 0.4 (<0.05 – 2)	présence dans 0.1g

4. DISCUSSION – CONCLUSIONS

Les recherches de *Listeria* dans les coquillages menées au laboratoire de Concarneau (graphe 1) soulignent l'omniprésence de ce genre bactérien ($L.spp = 49.2\%$) dans les mollusques bivalves et l'incidence non négligeable de *L.monocytogenes* (*L.m.*), seule espèce pathogène pour l'homme (11.5 %).Ces valeurs se révèlent pour l'essentiel supérieures à celles obtenues par d'autres auteurs (tableau 2), excepté pour Hudson qui fournit des chiffres sensiblement plus forts en *Listeria monocytogenes* (20%) avec des coquillages prélevés sur les marchés.Il faut sans doute incriminer ici les méthodologies analytiques utilisées au cours de ces divers travaux, et qui, jusqu'à un passé récent, ne bénéficiaient pas de toute l'efficacité souhaitée. L'emploi du milieu de Fraser a permis d'éliminer efficacement la flore entérocoque qui gênait considérablement le développement des germes appartenant au genre *Listeria*.

La contamination fréquente des sites échantillonnés (tableau 3) traduit une large distribution spatiale de ce microorganisme dans l'environnement aquatique en général, et estuarien en particulier.De plus, s'agissant dans cette étude d'un dépistage à large échelle, toutes les colonies suspectes sur les géloses d'isolement n'ont pas fait l'objet d'une identification, ce qui laisse penser que la proportion de *L.monocytogenes* est en réalité sous évaluée par rapport aux chiffres recensés.Les informations complémentaires obtenues sur le site de Morlaix, tant au cours des dénombrements (tableaux 4 et 5) que des recherches spécifiques par immunocapture (tableau 5), nous permettent de conforter cette précédente argumentation, et d'observer, généralement, une pluralité d'espèces sur les échantillons examinés. Elles font ressortir enfin, les limites des techniques bactériologiques classiques qui se révèlent inopérantes pour l'isolement de *L.monocytogenes*, lorsqu'une flore associée riche en *Listeria spp.* est présente et notamment *L.innocua*.

Les données obtenues, réparties en fonction de nos périodes d'investigation (graphe 2), traduisent clairement le caractère saisonnier de la présence des *Listeria* dans les coquillages. En effet, la période hivernale se révèle favorable à leur expression (76.7 %) alors que la période estivale induit une chute conséquente des isollements (22.6%).Un test du khi-deux appliqué à cette répartition saisonnière montre une différence significative des résultats ($\chi^2 = 17.85$ avec une probabilité $p < 0.001$), confirmant ainsi l'hétérogénéité perçue sur le graphique.Ces observations, qui corroborent les résultats de Motes (1990) obtenus sous d'autres climats, peuvent s'expliquer par des flux de pollution variables selon les saisons, par le rôle de la température sur la survie de ce germe encore capable de croître au froid (4°C), voire par la sensibilité de ce microorganisme à la concurrence d'autres flores bactériennes.En effet, le genre *Listeria* pourrait être favorisé aux basses températures, comparativement à d'autres espèces bactériennes, dans la concurrence vis à vis des nutriments.

L'analyse statistique des données colimétriques (annexe) distribuées selon deux classes de salubrité (norme de mise en marché des bivalves vivants – graphe 3), ne nous permet pas de mettre en évidence de différences significatives entre les isollements de

Listeria spp et la quantification des germes tests de contamination fécale ($\chi^2 = 1.82$), attestant ainsi le caractère ubiquitaire de ces espèces bactériennes. Bien que des conclusions identiques semblent probables à l'encontre de *Listeria monocytogenes* pris séparément, des résultats complémentaires demeurent indispensables pour étayer cette première impression et répondre de manière objective à la question de la relation entre la présence des bio-indicateurs de contamination fécale (*E.coli*) et ce microorganisme pathogène.

Les connaissances acquises sur le comportement de *L.monocytogenes*, dans les produits alimentaires et sur l'épidémiologie de la listériose, ont contribué à préciser la notion de denrées à risque. Il semble admis aujourd'hui que cette définition recouvre des aliments, capables d'assurer la croissance de ce germe, conservés à température de réfrigération et fortement contaminés (100 *L.m./g* et plus) par une souche de séro groupe 4 (Rocourt J. 1994). Les résultats acquis, en matière de quantification dans les coquillages, rapprochés de ceux obtenus sur l'évolution de *L. innocua*, espèce très proche de *L.monocytogenes*, dans les bivalves exondés stockés au froid (données IFREMER/Concarneau en cours de publication), tendent à accréditer l'idée selon laquelle les coquillages ne représenteraient pas un risque majeur dans l'apparition des cas de listériose.

Cependant, dans un souci constant de prévention du risque, l'amélioration de nos connaissances sur *L. monocytogenes* nécessiterait des recherches complémentaires axées sur le dénombrement bactérien d'autres sites infestés, sur la relation possible de *Listeria monocytogenes* avec les indicateurs de contamination fécale, sur l'origine de la pollution des estuaires et sur les cinétiques de décontamination des coquillages dans les bassins de purification des établissements conchylicoles.

5. BIBLIOGRAPHIE

1. Adesiyun A.A. 1993
Prevalence of *Listeria spp.*, *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.* and toxigenic *Escherichia coli* on meat and seafoods in Trinidad.
Food Microbiol. 10: 395 – 403
2. Bille J. et Glauser M.P. 1988
Listérioses en Suisse
Bull. de l'office fédéral de santé publique. n°3 : 28 – 29
3. Blendon D.C. and Szatalowicz F.T. 1967
Ecological aspects of listeriosis.
J.A.V.M.A. 151 : 1761 – 1766
4. Brackett R.A. 1988
Presence and persistence of *Listeria monocytogenes* in food and water.
Food Technol. 42 : 162 – 164
5. Buchanan R.L., Stahl H.G. and Whiting R.C. 1989
Effects and interactions of temperature, pH, atmosphere, NaCl and NaNO₂ on the growth of *Listeria monocytogenes*.
J. Food Protect. 52: 844 – 851
6. Buchanan R.L., Stahl H.G., Bencivengo M.N., and Del Corral F. 1989
Comparison of lithium chloride–phenylethanol moxalactam and modified vogel–johnson agars for detection of *Listeria spp.* in retail level meats, poultry and seafoods.
Appl. Environ. Microbiol. 55 : 599 – 603
7. Bunciè S. 1991
The incidence of *Listeria monocytogenes* in slaughtered animals, in meat and in meat products in Yugoslavia.
Int. J. Food Microbiol. 12 : 173 – 180
8. Calvès N., Minet J., Vénien J., Meynadié M., Le Saux J.C., Dupray E., Pommepuy M. et Cormier M. 1994
Ecologie de *Listeria* en milieu marin littoral : influence de l'halotolérance.
Rapport IFREMER – contrat DEL 922436402
9. Colburn K.G., Kaysner C.A., Abeyta C., and Wekell M.M. 1990
Listeria species in a California coast estuarine environment.
Appl. Environ. Microbiol. 56 : 2007 – 2011
10. Cole M.B., Jones M.V. and Holyoak C. 1990
The effect of pH, salt concentration and temperature on the survival and growth of *Listeria monocytogenes*.
J. Appl. Bacteriol. 69 : 63 – 72

- 11 Destro M.T., Piva F.C., Leitao M.F.F. and Landgraf M. 1994
Occurrence of *Listeria spp.* in shrimp from a brazilian processing plant.
III intern. confer. on food safety – ASEPT 1 & 2/6/94 – Laval (France) : 330
- 12 Dillon R., Pael K., and Ratnam S. 1992
Prevalence of *Listeria* in smoked fish.
J. Food Protect. 55 : 866 – 870
- 13 Direction Générale de l'Alimentation
Méthode de détection de *Listeria monocytogenes* dans les produits destinés à la
consommation humaine ou à l'alimentation animale
Note de service n° 8105 du 24/06/1993 : 1 – 7
- 14 Farber J.M. and Losos J.Z. 1988
Listeria monocytogenes : a foodborne pathogen
C.M.A.J. . 138 : 413 – 418
- 15 Farber J.M., Sanders G.W. and Johnston M.A. 1989
A survey of various foods for the presence of *Listeria* species.
J. Food Protect. 57 : 456 – 458
- 16 Fenlon D.R. 1985
Wild birds and silage as reservoirs of *Listeria* in the agricultural environment.
J. Appl. Bacteriol. 59 : 537 – 543
- 17 Fuchs R.S. and Surendran P.K. 1989
Incidence of *Listeria* in tropical fish and fishery products.
Lett. in Appl. Microbiol. 9 : 49 – 51
- 18 Fuchs R.S. and Sirvas S. 1991
Incidence of *Listeria monocytogenes* in an acidified fish product.
Lett. Appl. Microbiol. 12 : 88 – 90
- 19 George S.M., Lund B.M. and Brocklehurst T.F. 1988
The effect of pH, temperature on initiation of growth of *Listeria monocytogenes*.
Lett. Appl. Microbiol. 6 : 153 – 156
- 20 Goulet V., Lepoutre A., Rocourt J., Courtieu A. L., Dehaumont P. et Veit P. 1993
Epidémie de listérioses en France : Bilan final et résultats de l'enquête épidémiologique.
Bull. Epidémiol. Hebdom. n°4/1993 : 13 – 14 .
- 21 Gray M.L., and Killiger A.H. 1966
Listeria monocytogenes and listeric infections
Bacteriol. Rev. 30 : 309 – 371
- 22 Hartemink R., and Georgsson F. 1991
Incidence of *Listeria* species in seafood and seafoods salads.
Int. J. Food Microbiol. 12 : 189 – 196

- 23 Harvey J. and Gilmour A. 1993
Occurrence and characteristics of *Listeria* in foods produced in Northern Ireland.
Int. J. Food Microbiol. 19: 193 – 205
- 24 Hudson J.A., Mott S.J., Delacy K.M. and Edridge A.C. 1992
Incidence and coincidence of *Listeria spp.*, motile *Aeromonas* and *Yersinia enterocolitica* on ready to eat fleshfoods.
Int. J. Food Microbiol. 16 : 99 – 108
- 25 Jacquet CH., Miegerville A.F., Catimel B., Huynh G., Courtieu A.L., et Rocourt J.1994
La listérioses humaine en France en 1991, 1992 et 1993 : Bilan à partir des souches adressées aux centres nationaux de référence.
Bull. Epidémiol. Hebdom. n° 28/1994 : 123 – 125
- 26 Johnson J.C., Doyle M.P., and Cassens R.G. 1990
Listeria monocytogenes and other *Listeria spp.* in meat and meat products : a review.
J. Food Protect. 53 : 81 – 91
- 27 Lamont R.J., Postlethwaite R. and Mac Gowan A.P. 1988
Listeria monocytogenes and its role in human infection.
J. Infect. 47 : 7 – 28
- 28 Lennon D., Lewis B., Mantell C., Becroft D., Dove B., Farmer K., Tonkin S., Yeasts N., Stama R. and Mickelson K. 1984
Epidemic perinatal listeriosis.
Pediat. Infect. Dis. 3 : 30 – 34
- 29 Linnan M.J., Mascola L., Lou X.D., Goulet V., May S., Salminen C., Hird D.W., Yonekura M. L., Hayes P., Weaver R., Audurier A., Plikaytis B.D., Fannin S.L., Kleks A. and Broome C.V. 1988
Epidemic listeriosis associated with mexican –style cheese.
New Engl. J. Med., 319 : 823 – 828
- 30 Lovett J. 1988
Isolation and enumeration of *Listeria monocytogenes*.
Food Technol. 42 : 172 – 175
- 31 Mac Clure P.J., Otto Oguru R. and P. 1989
Comparison of the effects of sodium chloride, pH and temperature on the growth of *Listeria monocytogenes* on gradient plates and in liquid medium.
Lett. Appl. Microbiol. 9 : 95 – 99
- 32 Mac Lauchlin J., Hall S.M., Velani S.K. and Gilbert R.J. 1991
Human listeriosis and paté : a possible association
Brit .Med. J 303 : 773 – 775
- 33 Manoj Y.B., Rosalind G.M., and Karunasagar I. 1991
Listeria spp. in fish and fish handling areas, Mangalore, India.
asian fiher. sci. 4: 119 – 122

- 34 Motes M.L. 1991
Incidence of *Listeria spp.* in shrimps, oysters and estuarine waters.
J. Food Protect. 54 : 170 – 173
- 35 Rocourt J. 1990
Listeria et listérioses humaines : la décennie 1979 – 1989
Annales de l'Institut Pasteur / actualités 25 – 30
- 36 Rocourt J., Goulet V., Lepoutre A., Dehaumont P. et Veit P. 1994
Epidémiologie de la listériose
Cah. Nutr. Diét. 2 : 98 – 101
- 37 Rodriguez L.D. and Fernandez G.S. 1991
New methodology for the isolation of *Listeria monocytogenes* microorganisms from heavily contaminated environments.
Appl. Environ. Microbiol. 57 : 1188 – 1190
- 38 Rorvik L.M. and Yndestad M. 1991
Listeria monocytogenes in foods in Norway.
Int. J. Food Microbiol. 13 : 97 – 104
- 39 Rovamanana D., Richard N. et Rosec J.P. 1993
Etude comparative de 3 protocoles de recherche des *Listeria spp.* et *Listeria monocytogenes* dans les produits alimentaires.
Rev. Indust. Agro-alimentaires oct.1993
- 40 Ryser E.T. and Marth E.H. 1991
Incidence and behavior of *Listeria monocytogenes* in fish and seafood.
in : *Listeria, listeriosis and food safety* – Marcel DEKKER INC. 496 – 512
- 41 Ryu C.H. 1992
The incidence of *Listeria spp.* in retail foods in Japan.
Int. J. Food Microbiol. 16 : 157 – 160
- 42 Schuchat A., Swaminathan B. and Broome C.V. 1991
Epidemiology of human listeriosis.
Clin. Microbiol. rev. 4 : 169 – 183
- 43 Schuchat A., Deaver K.A., Wenger J.D., Plikaytes B.D., Mascola L. Pinner R.W., Reingold A.L., Broome C.V. and the *Listeria* study group 1992
Role of foods in sporadic listeriosis.
J. Am. Med. Assoc. 267 : 2041 – 2045
- 44 Shahamat M., Seaman A., and Woodbine M. 1980
Survival of *Listeria monocytogenes* in high salt concentrations.
Microbiol. und Hyg. Abt. I orig. A 246 : 506 – 511
- 45 de Simon M., Tarrago C; and Ferrer M.D. 1992
Incidence of *Listeria monocytogenes* in fresh foods in Barcelona (Spain).
Int. J. Food Microbiol. 16 : 153 – 156

- 46 Skovgaard N., and Morgen B. 1988
Detection of *Listeria spp.* in feces from animals, in feeds and in raw foods of animal origin.
Int. J. Food Microbiol. 6 : 229 – 242
- 47 Skovgaard N. and Norrung B. 1989
the incidence of *Listeria spp.* in faeces of danish pigs and in minced pork meat.
Int. J. Food Microbiol. 8 : 59 – 63
- 48 Tiwari N.P. and Aldenrath S.G. 1990
Occurrence of *Listeria spp.* in food and environmental samples in Alberta.
Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 23 : 109 – 113
- 49 Truscott R.B. and Mac Nab W.B. 1988
Comparison of media and procedures for the isolation of *Listeria monocytogenes* from ground beef.
J. Food Protect. 51 : 626 – 628
- 50 Van reuterghem B., Huysman F., Rygde R; and Verstraete W. 1991
Detection and prevalence of *L. monocytogenes* in the agricultural ecosystem.
J. Appl. Bacteriol. 71 : 211 – 217
- 51 Walker S.J., Archer P. and Banks S.G. 1990
Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures.
J. Appl. Bacteriol. 68 : 157 – 162
- 52 Watkins J. and Sleath K.P. 1981
Isolation and enumeration of *Listeria monocytogenes* from sewage sludge and river water.
J. Appl. Bacteriol. 50 : 1 – 9
- 53 Weagant S.D., Sado P.N., Colburn K.G., Turkelson J.D., Standley F.A., Krane M.H., Shields S.C. and Thayer C.F. 1988
The incidence of *Listeria* species in frozen seafoods products.
J. Food Protect. 51 : 655 – 657
- 54 Weis J. and Seeliger H.P.R. 1975
Incidence of *Listeria monocytogenes* in nature.
Appl. Microbiol. 30 : 29 – 32
- 55 W. H. O. 1988
Foodborne listeriosis.
Bull. World Health Organ. 66 : 421 – 428

ANNEXE : RESULTATS BACTERIOLOGIQUES DES COQUILLAGES

DATES	SITES	SAISONS	ESPECES	CT	EC	LISTERIA
03/01/1994	Bénodet	hiver	moule	5580	1260	L.monocytogenes
03/01/1994	Bénodet	hiver	coque	2580	2580	absence
03/01/1994	Bénodet	hiver	coque	14400	2580	absence
10/01/1994	Le Goyen	hiver	moule	2760	2760	L.innocua
10/01/1994	Le Goyen	hiver	moule	14400	14400	L.innocua
10/01/1994	L'Aven	hiver	moule	2760	1440	L.innocua
17/01/1994	Bénodet	hiver	coque	258	90	L.innocua
17/01/1994	Bénodet	hiver	moule	138	138	L.innocua
17/01/1994	Bénodet	hiver	coque	558	558	L.innocua
17/01/1994	Bénodet	hiver	moule	1440	558	L.innocua
17/01/1994	Concarneau	hiver	huitre	138	138	L.innocua
17/01/1994	Concarneau	hiver	moule	258	138	L.innocua
27/01/1994	Baie de Morlaix	hiver	huitre	2760	558	L.monocytogenes
27/01/1994	Baie de Morlaix	hiver	huitre	900	558	L.innocua
27/01/1994	Baie de Morlaix	hiver	huitre	2760	2760	absence
27/01/1994	Baie de Morlaix	hiver	huitre	2760	900	absence
31/01/1994	La Laïta	hiver	huitre	6600	2760	L.innocua
31/01/1994	L'Aven	hiver	huitre	558	258	L.innocua
31/01/1994	Le Belon	hiver	huitre	10	10	absence
31/01/1994	Le Belon	hiver	huitre	258	138	absence
01/02/1994	Bénodet	hiver	moule	558	558	L.monocytogenes
01/02/1994	Bénodet	hiver	huitre	144000	27600	absence
08/02/1994	Le Goyen	hiver	moule	9000	2580	L.innocua
08/02/1994	Le Goyen	hiver	moule	9000	2580	L.monocytogenes
28/02/1994	Les Abers	hiver	huitre	900	900	L.innocua
28/02/1994	Les Abers	hiver	huitre	1440	258	L.innocua
28/01/1994	Les Abers	hiver	huitre	126	55	L.monocytogenes
28/02/1994	Les Abers	hiver	huitre	1440	558	L.innocua
28/02/1994	L'Elorn	hiver	huitre	2760	900	L.innocua
28/02/1994	L'Elorn	hiver	huitre	2760	1440	L.innocua
26/07/1994	L'Elorn	été	huitre	14400	1440	absence
26/07/1994	L'Elorn	été	huitre	1440	1440	absence
09/08/1994	Les Abers	été	huitre	900	900	L.innocua
09/08/1994	Les Abers	été	huitre	2760	2760	absence
09/08/1994	Les Abers	été	huitre	14400	14400	L.monocytogenes
09/08/1994	Les Abers	été	huitre	1440	1440	L.seeligeri
16/08/1994	Le Goyen	été	moule	6600	900	L.monocytogenes

16/08/1994	Le Goyen	été	moule	1260	900	absence
16/08/1994	Concarneau	été	moule	14400	14400	absence
16/08/1994	Concarneau	été	coque	66	66	absence
16/08/1994	Concarneau	été	huitre	258	258	absence
24/08/1994	Baie de Morlaix	été	huitre	2760	558	absence
24/08/1994	Baie de Morlaix	été	huitre	138	55	absence
24/08/1994	Baie de Morlaix	été	huitre	558	138	absence
24/08/1994	Baie de Morlaix	été	huitre	258	258	absence
24/08/1994	Baie de Morlaix	été	huitre	14400	258	absence
24/08/1994	Baie de Morlaix	été	huitre	558	55	absence
23/08/1994	L'Aven	été	huitre	168	55	<i>L. seeligeri</i>
23/08/1994	L'Aven	été	huitre	258	258	absence
23/08/1994	Le Belon	été	huitre	1440	90	absence
23/08/1994	Le Belon	été	huitre	10	10	absence
23/08/1994	Le Belon	été	huitre	2760	44	absence
23/08/1994	La Laïta	été	huitre	2760	900	absence
24/08/1994	Bénodet	été	coque	2760	900	absence
24/08/1994	Bénodet	été	moule	558	258	absence
24/08/1994	Bénodet	été	coque	2760	2760	absence
24/08/1994	Bénodet	été	huitre	258	90	absence
24/08/1994	Bénodet	été	huitre	558	258	<i>L. seeligeri</i>
24/08/1994	Bénodet	été	moule	720	138	absence
30/08/1994	L'Elorn	été	huitre	558	258	absence
30/08/1994	L'Elorn	été	huitre	6600	1440	<i>L. innocua</i>

CT : Coliformes Totaux
EC : *Escherichia coli*