

*Listeria monocytogenes*  
et découpes de porc

# Influence majeure de l'environnement de l'entreprise

**Le typage génotypique des bactéries a permis de mieux connaître l'épidémiologie de *Listeria monocytogenes* en abattage et découpe de porc. La présence de cette bactérie sur les pièces de découpe de porc provient plus de la contamination environnementale des entreprises que de l'introduction d'animaux contaminés. Certains clones de *Listeria monocytogenes* s'installent de façon endémique dans des "niches" environnementales. Un clone semble particulièrement répandu en abattage-découpe de porc.**

Depuis une dizaine d'années, *Listeria monocytogenes* est devenue l'objet de grandes préoccupations pour les fabricants de denrées alimentaires. En effet, la présence de cette bactérie dans les produits peut entraîner de graves conséquences, aussi bien pour la santé publique que du point de vue économique. Pour répondre aux impératifs de la sécurité alimentaire, les professionnels de la transformation de la viande de porc ont réagi, à titres individuel et collectif, épaulés par leurs organisations professionnelles et leur centre technique, par l'élaboration et la mise en œuvre d'outils d'aide à la maîtrise de la qualité, dont font notamment partie les guides de bonnes pratiques hygiéniques et la démarche HACCP (Jacquet et Peyraud, 1995). Pour les fabricants de produits transformés à base de viande, la qualité des matières premières carnées représente un des moyens de la maîtrise des contaminations par *Listeria monocytogenes*. Ainsi, le Centre Technique de la Salaison, de la Charcuterie et des Conserves de Viandes (CTSCCV) a conduit un programme de recherche en collaboration avec l'Unité Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Porcins (HQPAP) de l'AFSSA Ploufragan. Cette étude visait à déterminer l'origine des *Listeria monocytogenes* présentes sur les produits de découpe de porc.

*Listeria monocytogenes* est présente aux différents maillons de la filière porcine : en élevage, en abattage-découpe, au niveau des ateliers de transformation et au stade de la distribution (Salvat et al., 1997). Toutefois, peu de travaux ont cherché à déterminer les voies de dissémination de cette bactérie au sein de la filière.

L'objectif de l'étude présentée dans cet article était d'identifier les sources de contamination des produits de découpe de porc par cette bactérie. Les techniques de typage génotypique des bactéries issues de la biologie moléculaire sont devenues incontournables pour l'étude des sources et des voies de transmission des bactéries pathogènes dans les systèmes de production. Ainsi, nous avons appliqué ces techniques à une collection de *Listeria monocytogenes*, collection préalablement constituée à partir d'enquêtes réalisées dans plusieurs entreprises d'abattage et découpe de porc.

GIOVANNACCI I. <sup>(1)</sup>, SALVAT G. <sup>(2)</sup>,  
VENDEUVRE JL <sup>(1)</sup>, CARLIER V. <sup>(3)</sup> ERMEL G. <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> CTSCCV, 7 avenue du général de Gaulle,  
94700 MAISONS-ALFORT,

<sup>(2)</sup> AFSSA Ploufragan, UR HQPAP, B.P. 53,  
22440 PLOUFRAGAN

<sup>(3)</sup> ENVA, 7 avenue du général de Gaulle,  
94700 MAISONS-ALFORT.

## UNE COLLECTION DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* DÈS 1995

La collection de *Listeria monocytogenes*, qui a servi de support à cette étude, a été constituée à l'origine par l'Institut Technique du Porc (ITP), dans le cadre d'enquêtes de terrain menées durant l'automne 1995, dans cinq entreprises d'abattage et découpe de porc. Ces entreprises, E1 à E5, étaient situées dans la même région de production, à l'exception de E4. Les enquêtes ont été réalisées dans trois entreprises exerçant les activités d'abattage et de découpe (E1, E2 et E5) alors que E3 était un abattoir et E4 un atelier de découpe.

Les prélèvements en abattoirs ont été réalisés sur des lots de porcs issus de différents élevages, aux trois stades suivants : animaux vivants, carcasses en fin de chaîne d'abattage et à la sortie du premier ressuyage. Conjointement, des prélèvements ont été réalisés dans l'environnement des abattoirs et des salles de ressuyage, sur les équipements (tapis de saignée, balancelles, gouttes d'évacuation de déchets, rails...) et dans les locaux (murs, portes, battants en matière plastique, plafonds, ventilateurs...) après le nettoyage et la désinfection,

ou plus exactement avant la reprise des activités le matin, ainsi que durant les activités. Dans les ateliers de découpe, les prélèvements ont été réalisés sur les carcasses avant découpe, au niveau des jambons, longes, poitrines et épaules, et sur les pièces de découpe primaire et secondaire issues des carcasses précédentes, à l'entrée en salle de stockage. Parallèlement aux carcasses et pièces de découpe, des prélèvements ont également été effectués dans l'environnement des ateliers de découpe (tapis d'affilage et de convoyage, outils, déflecteurs...), après nettoyage et désinfection et pendant les activités.

Afin d'étudier l'évolution de la contamination environnementale par *Listeria monocytogenes* au cours du temps, des prélèvements ont été renouvelés, en décembre 1996, dans l'environnement des entreprises E3 et E5, après les opérations de nettoyage et de désinfection.

Les taux de présence de *Listeria monocytogenes* relatifs à ces enquêtes ont été présentés en détail par l'Institut Technique du Porc (Corrége, 1997). Dans cet article, nous évoquerons uniquement les aspects qualitatifs de la contamination par *Listeria monocytogenes*.

Tous les isolats de *Listeria monocytogenes* recueillis n'ont pu être conservés. Au total, 287 isolats ont pu être caractérisés par des techniques de typage bactérien.

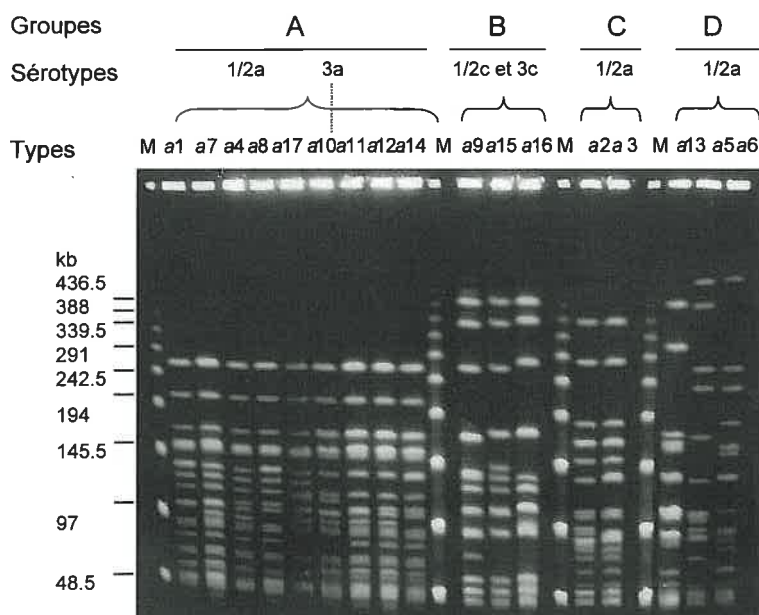
## 287 ISOLATS SE CLASSENT EN 17 TYPES, MAIS UN CLONE DOMINE

Le typage de 287 isolats de *Listeria monocytogenes* par la technique de macrorestriction de l'ADN avec *ApaI* a permis de distinguer 17 "codes-barres" différents soit 17 types, notés a1 à a17. La figure 1 présente les 17 profils (codes-barres) de macrorestriction obtenus ainsi que les sérotypes associés à chacun d'entre eux.

Notons que le sérotypage a apporté peu d'informations épidémiologiques puisque seulement quatre sérotypes, le 1/2a, 3a, 1/2c et 3c, ont été mis en évidence dont une majorité de 1/2a, sérotype très fréquemment isolé dans les filières liées à la viande (Jay, 1996).

Parmi les profils obtenus dans la collection, aucun ne présentait de similitude avec ceux des épidémies de 1992 et 1993, où des produits à base de viande de porc ont été impliqués.

Figure 1 : LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE A PERMIS DE RECONNAÎTRE 17 TYPES DE *L. MONOCYTOGENES*



Les lignes M correspondent à un marqueur de poids moléculaire (lambda ladder).

Ligne sérotypes : Parmi les groupes génomique A, tous les types ont exprimé le sérotype 1/2a, excepté le type a10 qui a montré le sérotype 3a.

Profils représentant les 17 types (codes-barres) obtenus par macrorestriction de l'ADN avec l'enzyme *ApaI* appliquée à 287 isolats de *Listeria monocytogenes* collectés en entreprises d'abattage et découpe de porc et sérotypes associés.



Une certaine diversité génétique a pu être observée parmi les isolats collectés dans les 5 entreprises d'abattage et de découpe de porc (existence 4 groupes génomiques bien distincts A, B, C et D). Cette diversité peut refléter la diversité de *Listeria monocytogenes* dans les environnements étudiés ou bien, plus généralement, dans celui de la filière porcine. Toutefois, malgré la variabilité des types identifiés, le groupe A, représenté par un grand nombre de types très proches, était largement prédominant et représentait à lui seul près de 90 % des isolats typés. Il se pourrait que ce groupe A soit caractéristique des souches de *Listeria monocytogenes* isolées de la viande. Des profils de macrorestriction avec ApaI, très voisins de ceux des types du groupe A, ont été mis en évidence par Kerouanton et al. (1998) à partir de *Listeria monocytogenes*

### LE TYPAGE BACTERIEN

Les techniques classiques d'identification des bactéries permettent de définir des genres (ex : le genre *Listeria*) et des espèces (ex : l'espèce *monocytogenes*).

Les techniques de typage bactérien permettent de subdiviser des populations bactériennes à un niveau inférieur à l'espèce.

Les techniques de typage les plus traditionnelles sont des techniques phénotypiques qui exploitent des propriétés exprimées par les bactéries. Parmi ces techniques, le sérotypage (détermination des antigènes de surface) est très utilisé. Toutefois, quelques sérotypes sont prédominants dans certains environnements. Par exemple, parmi les 13 sérotypes décrits chez *Listeria monocytogenes*, le sérotype 1/2a est très fréquent dans les filières liées à la viande (Jay, 1996). Par ailleurs, le sérotype 4b représente environ 50 % des isolats provenant de produits associés au lait cru (Kerouanton et al., 1999). Ainsi, la détermination du sérotype apporte souvent peu d'informations épidémiologiques véritablement pertinentes.

Les techniques de typage génotypique, issues de la biologie moléculaire, s'intéressent directement à l'information génétique des bactéries, c'est-à-dire à leur ADN. Elles permettent d'attribuer à chaque isolat bactérien un "code-barres" spécifique de l'isolat considéré. La comparaison des "codes-barres" obtenus pour un ensemble d'isolats bactériens collectés dans un environnement donné (ici des entreprises d'abattage et de découpe de porc) permet de tracer la dissémination de clones bactériens et de remonter à l'origine des contaminations.

Tableau 1 : UN TYPE DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* PRÉDOMINE PARTOUT

	E1 1995	E2 1995	E3 1995	E3 1996	E4 1995	E5 1995	E5 1996
<b>ABATTOIR</b>							
	J	J	J	J		J + 21	J
<b>ENVIRONNEMENT</b>					NR		
Avant activité	a1			a7	NR	a1	
En cours d'activité	a1	a1 a9 a16	a10		NR	a1 a5	
Porcs vivants	a1, a2	a1 a2	NC		NR	a6	
Carcasses fin de chaîne	a1	a1	a10 a12		NR		
<b>RESSUYAGE</b>							
	J	J	J + 60	J	NR	J + 21	J
<b>Environnement</b>							
Après nettoyage et désinfection		a4	a4	NR a10 a11	a1 a7 a10, a11 a12	a1	a8
En cours d'activité	a1		a4	a8 a10	NR	a1	
Carcasses fin de ressuyage	a1	a1 a13 a14	NC		NR	a1 a6	
<b>DÉCOUPE</b>							
	J + 50	J + 21			J	J	J
<b>ENVIRONNEMENT</b>			NR	NR			
Après nettoyage et désinfection	-	NC	NR	NR	NC	a1 a4 a7 a2	a4 a7
En cours d'activité	a1 a3	a4 a17 a9 a15 a16	NR	NR	NC	a1 a4 a7	
Carcasses avant découpe	-	NC	NR	NR	NC	a1 a3	
Pièces de découpe primaire	a1 a4	a9	NR	NR	a1	a1 a8	
Pièces de découpe secondaire	a1 a4	a8 a17 a9 a16	NR	NR	a1 a9	a1 a2	

*J et J + X indique pour une même année, pour chaque entreprise, que les prélèvements ont eu lieu le jour J puis X jours plus tard (lecture par colonne).*  
 NR : Non réalisé  
 NC : Présence de *Listeria monocytogenes* mais isolats non conservés.

**Répartition des types (a1 à a17) de *Listeria monocytogenes* en fonction des entreprises et des points de prélèvement.**

*monocytogenes* collectées dans une usine de fabrication de produits de charcuterie, au niveau de tables de désossage de pièces de porc ainsi que dans les salles frigorifiques de l'usine. De plus, la souche 1570 (CDC/G-4484) de la collection analysée par Brosch et al. (1994) montre un profil très similaire aux types rassemblés dans le groupe A défini dans cette étude. Cette souche 1570 provient du Center for Disease Control (CDC, USA) et a pour origine un aliment de nature inconnue.

Ces données renforcent l'idée qu'un clone de *Listeria monocytogenes*, présentant un génotype identique ou proche de ceux ras-

semblés dans le groupe A, est largement répandu dans les filières agroalimentaires et, plus particulièrement, dans la filière porcine.

### CERTAINES SOUCHES DEVIENNENT ENDÉMIQUES DANS LES ENTREPRISES

Rappelons que tous les isolats de la collection initiale constituée par l'ITP n'ont pu être typés, faute d'une bonne conservation.

La distribution des types de *Listeria monocytogenes* obtenus par macrorestriction de l'ADN (notés a1 à a17) en fonction des entreprises et des points de prélèvements est donnée dans le tableau 1.





## Entreprise 1

La contamination de l'entreprise E1 était caractérisée par l'omniprésence du type a1. Présent à l'abattoir avant reprise des activités le matin, ce type a pu être également isolé des porcs vivants. Il a été l'unique type mis en évidence à la fois dans les locaux et sur les carcasses jusqu'à la fin du ressuyage. Près de deux mois après l'enquête en abattoir, le type a1 a été isolé aussi bien des pièces de découpe que de l'environnement de l'atelier de E1. Ce type était associé à un autre type très proche (a4), retrouvé sur des poitrines manipulées sur les mêmes lignes, à deux stades d'élaboration distincts : brutes et découennées-désossées.

## Entreprise 2

Dans l'entreprise E2, il est apparu une plus grande variabilité dans la nature de contamination par *Listeria monocytogenes*. La contamination retrouvée à l'abattoir était également marquée par le type a1, sur porcs vivants, dans l'environnement et sur carcasses. Ce type était toutefois associé à d'autres types plus divers. En effet, dans l'abattoir en cours d'activité, les types a9 et a16, associés au groupe B et au sérotype c, ont été retrouvés sur des tapis à déchets et balancelles à abats. Les carcasses en sortie de ressuyage étaient également contaminées, outre le type a1, par

## ÉPIDÉMIOLOGIE BACTÉRIENNE

On appelle isolat une population de cellules bactériennes en culture pure, provenant d'une colonie isolée sur gélose et qui a été caractérisée jusqu'au niveau de l'espèce (ex : un isolat de *Listeria monocytogenes*).

Un type correspond à un profil généré par l'application d'une technique (ex : dans cette étude, le type a1 correspond au profil de macrorestriction de l'ADN qui a été le fréquemment retrouvé).

On appelle génotype un ensemble de profils obtenus par différentes techniques de typage. Dans cet article, nous avons toutefois confondu les termes de types et de génotypes puisque nous n'avons fait référence qu'à une seule sorte de technique.

En épidémiologie bactérienne, un clone (ou une lignée clonale) correspond soit à un génotype donné soit, plus généralement, à un ensemble de génotypes très proches entre eux (ex : dans cette étude, les types aX rassemblés dans le groupe A).

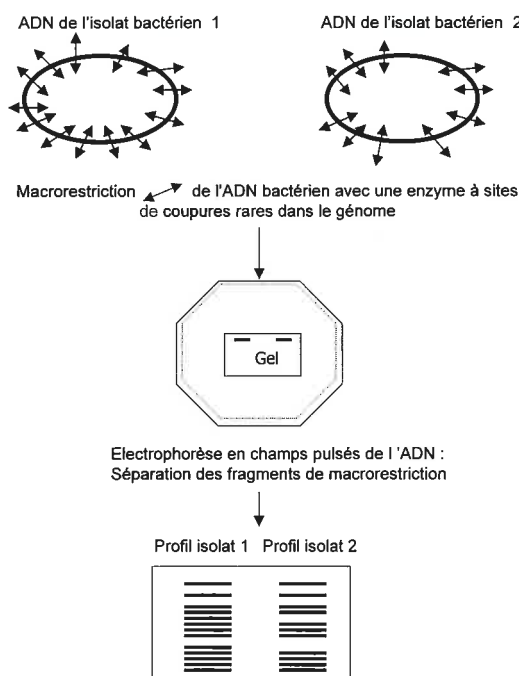
## MATÉRIELS ET METHODES

Parmi les différentes techniques appliquées aux 287 isolats de *Listeria monocytogenes*, nous ne mentionnerons ici que la plus performante.

Il s'agissait de la technique de macrorestriction de l'ADN avec l'enzyme Apa I (figure 2). Cette technique consiste à découper l'ADN bactérien à l'aide d'enzymes possédant des sites de coupures rares dans le génome de la bactérie (en général, une vingtaine). Les fragments d'ADN ainsi obtenus, de grande taille, sont alors séparés en fonction de leur taille par une technique électrophorétique particulière, dite en champs pulsés (ou PFGE pour l'abréviation anglaise de Pulsed-Field Gel Electrophoresis). Cette technique très discriminante est, entre autres, utilisée par l'Institut Pasteur de Paris lorsqu'il s'agit de mener des enquêtes épidémiologiques visant à incriminer un aliment suite à une épidémie de listériose.

De plus, certains isolats de *Listeria monocytogenes* représentatifs de chaque génotype identifié ont été sérotypés.

Figure 2 : UNE TECHNIQUE TRÈS PERFORMANTE



Obtention de profils (codes-barres) pour chaque isolat

Principe d'une technique de typage génotypique des bactéries : obtention de profils d'ADN par macrorestriction de l'ADN et électrophorèse en champs pulsés.

un génotype très proche, le a14 et par le a13, type d'exception dans notre collection, puisque mis en évidence nulle part ailleurs. Dans l'atelier de découpe, enquêté trois semaines après l'abattoir, les isolats collectés sur carcasses entrantes et dans les locaux après nettoyage et désinfection n'ont pu être conservés. Toutefois, les types a9 et a16, d'une part, retrouvés au préalable dans l'abattoir et a17, d'autre part, proche du type a1, ont été mis évidence aussi bien sur pièces de découpe que dans l'environnement. Cette identité de types a mis ainsi en relief des phénomènes de contamination croisée entre les surfaces et les produits. Ceci impliquait donc que l'origine des contaminations se trouvait au niveau de

l'entrée en découpe des carcasses contaminées et/ou au niveau de l'environnement de l'atelier de découpe.

## Entreprise 3

La contamination de l'abattoir E3 était caractérisée exclusivement par des types de *Listeria monocytogenes* très proches du type a1. Une identité de types de *Listeria monocytogenes* a pu être constatée entre 1995 et 1996, au sein des locaux de ressuyage, après les opérations de nettoyage et de désinfection. En particulier, l'isolement les types a4, a7 et a11, provenant de ventilateurs, très rarement nettoyés, pouvait impliquer une persistance durable de ces génotypes dans l'environnement de l'entreprise.

### Entreprise 5

La contamination de l'entreprise E5 est apparue, elle aussi, très abondamment marquée par le type a1, isolé des locaux de l'abattoir après nettoyage et désinfection lors des deux séries de prélèvement conduites en 1995 et en 1996. Les pièces de découpe étaient contaminées par des souches appartenant aux types a1 et a2, mis en évidence dans l'environnement de l'atelier avant démarrage des activités le matin. Ceci montre encore les phénomènes de contamination croisée entre l'environnement et les produits. Une année plus tard, les locaux de découpe après nettoyage et désinfection montraient une contamination par *Listeria monocytogenes* appartenant aux types a4 et a7, proches du type a1, et déjà isolés une année auparavant. Là encore, la localisation de ces génotypes, entre autres au niveau de zones peu accessibles aux opérations de nettoyage et désinfection courantes, c'est-à-dire les plafonds et les murs, impliquaient une possible persistance de ces souches dans des niches adaptées à leur maintien.

Si de nombreuses d'études ont identifié la présence de *Listeria monocytogenes* en abattage et découpe de porc, aucune n'avait jusqu'alors mis en évidence l'existence de contamination endémique. En effet, les types du groupe A ont pu être mis en évidence, y compris après les opérations de nettoyage et désinfection, à une année d'intervalle dans les locaux des entreprises E3 et E5. Ceci peut être lié à :

- la capacité de certaines souches de *Listeria monocytogenes*, notamment celles appartenant au

groupe A, à s'implanter et à persister dans les entreprises ;  
- à l'entrée de porcs contaminés, constituant une source régulière d'apport de souches de *Listeria monocytogenes*.

Parmi les deux hypothèses, la première est plus vraisemblable. En effet, ce travail a pu montrer que les porcs vivants peuvent véhiculer des souches de *Listeria monocytogenes*, notamment celles du groupe A (typa a1). Toutefois, les types du groupe A ont pu être isolés dans des zones en contact direct avec les produits mais aussi dans des zones très éloignées des produits et rarement soumises à des procédures hygiéniques efficaces (rails, ventilateurs, murs au-dessus de 2 mètres de hauteur, plafonds, évaporateurs), ce qui tendrait à prouver une implantation durable dans l'environnement des entreprises.

### Entreprise 4

Dans le cas de l'entreprise E4, un très faible nombre d'isolats, provenant uniquement des pièces de découpe, a pu être conservé. Toutefois, le cas de cette entreprise était intéressant. En effet, cette entreprise était géographiquement très éloignée des autres et le type a1, très répandu par ailleurs, ainsi que le type a9, mis en évidence dans l'entreprise E2, ont pu y être isolés. Ce constat montre l'improbabilité de l'existence de réservoirs de *Listeria monocytogenes* spécifiques d'une région géographique donnée et tendrait à montrer l'existence d'une adaptation, voire d'une spécificité, de souches de *Listeria monocytogenes* liées à une activité, en l'occurrence, ici, l'abattage et la découpe de porc.

### CONTAMINATIONS CROISÉES ENTRE ENVIRONNEMENT ET PRODUITS

Le typage génotypique, appliqué à une collection de *Listeria monocytogenes* provenant d'abattoirs et d'ateliers de découpe de porc, a permis de constater des identités de génotypes entre les souches isolées de produits de porc (carcasses et produits de découpe) et de l'environnement de plusieurs entreprises. Ainsi, le génotypage a permis de renforcer l'hypothèse de l'existence de contaminations croisées entre les surfaces environnementales et les produits de porc.

Le typage génotypique a, en outre, permis de constater que des *Listeria monocytogenes*, correspondant aux types très proches regroupés dans le groupe A, étaient largement disséminées en abattage et découpe de porc. Cette lignée clonale de *Listeria monocytogenes* semble ainsi présenter une grande capacité d'adaptation aux conditions de la filière porcine.

L'identification de certains types de *Listeria monocytogenes* persistant au niveau de zones peu accessibles aux procédures hygiéniques montre que, plus que l'abattage d'animaux contaminés, c'est l'absence ou l'inefficacité des opérations de nettoyage et de désinfection dans certaines zones qui favorise l'implantation des *Listeria monocytogenes* à l'origine de la contamination des produits de découpe de porc. □

Les auteurs remercient l'ITP pour la mise à disposition de la collection de *Listeria monocytogenes*. Ce travail a bénéficié d'un financement Ofival.

## B I B L I O G R A P H I E

BROSCH, R., CHEN, J. ET LUCHANSKY, J. 1994. Pulsed-Field Gel Electrophoresis of *Listeria* : Identification of genomic divisions for *Listeria monocytogenes* and correlation with serovar. *Applied and Environmental Microbiology* 60 : 2584-2592.

CORRÉGÉ, I. 1997. Incidence des opérations d'abattage et de découpe des porcs sur la contamination par *Listeria monocytogenes*. *Viandes et Produits Carnés* 18 (6) : 275-282.

GOULET, V., ROCOURT, J., REBIERE, I., JACQUET, C., MOYSE, C., DEHAUMONT, P., SALVAT, G. ET VEIT, P. 1998. Listeriosis outbreak associated with the consumption of rillettes in France in 1993. *Journal of Infectious Disease*. 177 : 155-160.

JACQUET, B. ET PEYRAUD, D. 1995. La maîtrise de la qualité microbiologique des produits transformés à base de viandes. *Viandes et Produits Carnés* 16 (6) : 203-206.

JACQUET, C., BROUILLE, F., SAINT-CLOMENT, C., CATIMEL, B. ET ROCOURT, J. LA LISTÉRIOSE HUMAINE EN FRANCE EN 1998. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire* n°37/1999 : 153-154.

JAY, J.M. 1996. Prévalence of *Listeria* spp. in meat, poultry products. *Food Control* 7 (4,5) : 209-214.

KEROUANTON, A., BRISABOIS, A., DENOYER, E., DILASSER, F., GROUT, J., SALVAT, G. ET PICARD, B. 1998. Comparison of five typing methods for the epidemiological study of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology* 43, 61-71.

KEROUANTON, A., BRISABOIS, A., DENOYER, E. ET PICARD, B. 1999. Analyse épidémiologique des souches de *Listeria monocytogenes* isolées dans les ateliers de différentes filières agroalimentaires. In Actes du colloque de la Société Française de Microbiologie "Les micro-organismes dans les aliments : d'où viennent-ils ?"

SALVAT, G., TOQUIN, M.T. ET ERMEL, G. 1997. Epidémiologie de *Listeria monocytogenes* dans la filière porcine. *Viandes et Produits Carnés* 18 (6) : 264-268.