



Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Département fédéral de l'intérieur DFI  
**Office fédéral de la sécurité alimentaire et  
des affaires vétérinaires OSAV**  
Évaluation des risques

Berne, le 15 octobre 2021

---

# **Évaluation des risques de *Listeria monocytogenes* dans les échantillons prélevés dans l'environnement**

---

# Évaluation des risques de *Listeria monocytogenes* dans les échantillons prélevés dans l'environnement

## Sommaire

Récapitulation

<b>1. Mandat</b> .....	3
<b>1.1 Contexte</b> .....	3
<b>1.2 Objectifs</b> .....	4
<b>2. Caractérisation de <i>Listeria monocytogenes</i></b> .....	4
<b>3. <i>Listeria monocytogenes</i> dans les denrées alimentaires prêtes à consommer</b> .....	5
<b>3.1 Présence dans les denrées alimentaires prêtes à la consommation</b> .....	5
<b>3.2 Dose infectante pour l'être humain</b> .....	8
<b>4. Critère de sécurité alimentaire relatif à <i>Listeria monocytogenes</i> dans les denrées alimentaires prêtes à la consommation</b> .....	8
<b>4.1 Méthode de détection dans les échantillons environnementaux</b> .....	8
<b>4.2 La surveillance de l'environnement comme système d'alerte précoce</b> .....	9
<b>5. Typage moléculaire d'échantillons environnementaux de <i>Listeria monocytogenes</i></b> .....	11
<b>5.1 Traitement de résultats positifs d'échantillons environnementaux</b> .....	11
<b>5.2 Typage moléculaire de <i>Listeria monocytogenes</i> identifiées dans des denrées alimentaires et des échantillons environnementaux</b> .....	12
<b>6. Conclusions</b> .....	12
<b>7. Recommandations</b> .....	13
<b>8. Références</b> .....	13
<b>9. Annexe</b> .....	16

- Selon les dernières connaissances scientifiques disponibles, ce sont surtout les **souches persistantes de *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*)** dans **l'environnement de production** d'établissements de fabrication qui entraînent des **contaminations croisées** avec des denrées alimentaires prêtes à la consommation.
- Une **surveillance efficace et efficiente de l'environnement** à la recherche de *L. monocytogenes* vise à réduire le **risque de contamination de denrées alimentaires prêtes à la consommation**. Alliée au contrôle des produits finis, elle contribue à **accroître la sécurité alimentaire des produits**.
- Il convient d'appliquer, pour la **détection de *L. monocytogenes* dans les échantillons prélevés dans l'environnement** (ou échantillons environnementaux), la méthode de référence de la norme **EN ISO 11290-1** ou une procédure équivalente, et **de tenir compte du document de 2012 de l'European Union Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes* (EURL Lm) sur le prélèvement d'échantillons sur les lieux de transformation et les équipements**.
- La **surveillance de l'environnement**, en tant que **système d'alerte précoce**, doit se focaliser sur la détection de ***Listeria spp.***
- Tout résultat positif à ***L. monocytogenes* dans l'environnement** doit être systématiquement **vérifié (par WGS)** afin **d'établir** si les souches présentent des caractéristiques persistantes ou transitoires.
- **Les données WGS d'isolats environnementaux de *L. monocytogenes* sont courantes aujourd'hui**. Les données de séquençage sont indispensables pour **détecter rapidement des foyers de listériose et prévenir leur survenue**.
- Au vu de la fréquence des détections de *L. monocytogenes*, il semble judicieux que la **surveillance** soit assurée **en priorité** dans les établissements suivants (**classés par ordre décroissant**) : **établissements procédant à une transformation de poisson et de produits à base de poisson** (en particulier le saumon et la truite fumés à froid), puis à **celle de viande et de produits carnés, de lait et de produits laitiers** (en particulier le fromage au lait cru) et enfin à **celle de viande de volaille et de produits de volaille** ainsi que **de légumes et de fruits**.

## 1. Mandat

La division ERI est chargée d'évaluer les risques liés à la présence de *Listeria (L.) monocytogenes* dans des échantillons environnementaux et de rédiger un document, sur lequel la division DALN s'appuiera pour élaborer une nouvelle lettre d'information sur la procédure applicable en cas de détection de *L. monocytogenes* dans des échantillons environnementaux, c'est-à-dire de germes persistants dans des locaux de production.

### 1.1 Contexte

Élaboration d'instructions pour la mise en œuvre opérationnelle des exigences de l'OHyg en ce qui concerne la surveillance de l'environnement, qui doit servir de système d'alerte précoce pour la détection de *L. monocytogenes*, reposant sur une évaluation des risques de *L. monocytogenes* dans des échantillons environnementaux.

La division DALN doit pouvoir déduire de l'évaluation des risques les mesures de gestion requises pour détecter aussi rapidement que possible la présence de *L. monocytogenes* dans la chaîne agro-alimentaire et déceler ainsi à temps des cas de listériose pour éviter la survenue de foyers.

## 1.2 Objectifs

Les informations publiées ont pour objet de déterminer si, dans un établissement de fabrication de denrées alimentaires prêtes à la consommation, une surveillance efficace de l'environnement à la recherche de *Listeria*, incluant le prélèvement d'échantillons sur les lieux de transformation et les équipements, peut réduire le risque de contamination croisée par *L. monocytogenes* de denrées alimentaires prêtes à la consommation.

## 2. Caractérisation de *Listeria monocytogenes*

### ***L. monocytogenes* comme agent pathogène responsable de la listériose**

L'espèce *L. monocytogenes* est le principal agent pathogène provoquant la listériose chez l'homme. La listériose est une maladie d'origine alimentaire qui est plutôt rare mais qui présente un taux de mortalité élevé. L'infection est généralement asymptomatique chez les adultes en bonne santé et passe donc inaperçue. Le risque de contracter une listériose est plus élevé dans certains groupes de populations, en particulier chez les femmes enceintes, les personnes immunodéprimées et les personnes âgées.

La transmission de *L. monocytogenes* à l'homme a lieu par ingestion de denrées alimentaires crues contaminées, surtout d'origine animale (produits carnés et laitiers et à base de poisson), mais aussi végétale (par ex. salade prédécoupée ou fruits en morceaux). La période d'incubation de la listériose pouvant aller jusqu'à 70 jours, il est souvent difficile d'identifier la source de l'infection (la denrée alimentaire contaminée par des *Listeria*) lors de l'apparition de la maladie. Les denrées alimentaires prêtes à la consommation (ou RTE pour *ready to eat*) présentent un risque particulier, car elles ne sont généralement pas chauffées avant d'être consommées.

Selon l'Office fédéral de la santé publique (OFSP), jusqu'à 80 cas de listériose sont déclarés chaque année en Suisse et le taux de létalité peut aller jusqu'à 20 %<sup>1</sup>. En 2020, 58 cas de listériose ont été déclarés à l'OFSP et un grand nombre d'entre eux ont été d'issue fatale, en particulier chez les personnes âgées ([Rapport surveillance des zoonoses, 2020](#)).

Les données du rapport annuel de l'UE « Un monde, une santé » sur les zoonoses de l'EFSA et de l'ECDC pour l'année 2019 font elles aussi état d'une forte mortalité (de 17,6 %) parmi les cas de listériose confirmés, le nombre de décès ayant augmenté de 31 % par rapport à 2018. L'incidence la plus élevée concernait le groupe d'âge des plus de 64 ans, en particulier celui des plus de 84 ans. Parmi les infections bactériennes alimentaires, c'est la listériose qui présente le taux de létalité le plus élevé dans l'UE (EFSA and ECDC, 2021).

Un tiers des cas recensés dans l'UE sont dus, selon les estimations de l'EFSA, à la croissance de *L. monocytogenes* dans les denrées alimentaires prêtes à la consommation détenus par les consommateurs (EFSA BIOHAZ Panel, 2018).

Les cas de listériose chez l'homme sont le plus souvent associés aux sérotypes 4b, 1/2a et 1/2b, classés dans les sérogroupes IVb, IIa et IIb (Orsi *et al.*, 2011). En Suisse, ce sont les sérotypes 4b (64 %) et 1/2a (29 %) qui ont été le plus fréquemment détectés en 2020 ([Rapport surveillance des zoonoses, 2020](#)).

### **Caractéristiques de *L. monocytogenes***

*L. monocytogenes* est une bactérie à Gram positif, non sporulée, aéro-anaérobie facultative, mobile et qui est largement répandue dans l'environnement. Elle peut former des biofilms et se multiplier à basse température lors d'une réfrigération, à des concentrations élevées de sel mais aussi à des pH extrêmes. Elle peut également présenter des résistances aux produits de désinfection. Du fait de leurs

<sup>1</sup> Office fédéral de la santé publique OFSP, état le 23.08.2019 : [Listériose](#)

caractéristiques, les *Listeria* (*L. monocytogenes*) sont capables de persister pendant une longue période, aussi bien dans les lieux de transformation que sur les équipements des établissements du secteur alimentaire (COOPER *et al.*, 2020).

Les *Listeria spp.* non pathogènes comme *Listeria innocua* et *Listeria welshimeri* sont plus souvent détectées que *L. monocytogenes* dans les environnements de transformation des denrées alimentaires. En cas de détection de *L. innocua* ou de *L. welshimeri*, il faut tenir compte du fait que ces deux *Listeria* peuvent être porteuses de gènes codant pour des résistances à des désinfectants et métaux lourds. L'étude de Katharios-Lanwermeier *et al.* (2012) suggère que les *Listeria spp.* non pathogènes pourraient agir comme des réservoirs de gènes de résistance qui seraient transmis par conjugaison à d'autres *Listeria*, y compris *L. monocytogenes*.

Les *L. monocytogenes* peuvent, selon l'environnement, présenter des degrés de virulence très différents. Il a été montré que les clones hypervirulents sont plus adaptés à leur hôte et que leur prévalence est élevée dans les produits laitiers, tandis que les clones hypovirulents se sont mieux adaptés aux environnements de transformation des denrées alimentaires et se retrouvent plutôt dans les produits carnés (Maury *et al.*, 2019).

### 3. *Listeria monocytogenes* dans les denrées alimentaires prêtes à consommer

#### 3.1 Présence dans les denrées alimentaires prêtes à la consommation

##### Foyers de listériose et denrées alimentaires

Tableau 1, foyers de listériose en Suisse dus à des toxi-infections alimentaires

Année	Sérotype de <i>L. monocytogenes</i>	Nombre de malades	Denrée alimentaire contaminée	Cause présumée
1983 - 1987	4b	122 (dont 33 décès)	Vacherin Mont-d'Or (fromage)	Aucune donnée
2005	1/2a	Aucune donnée	Fromage	Aucune donnée
2011	1/2a	Aucune donnée	Jambon cuit importé	Aucune donnée
2013 - 2014	4b	31	Salade coupée prête à la consommation	Contamination croisée dans l'établissement de production
2016	Aucune donnée	6	Pâté en croûte	Hygiène et stockage défectueux
2017	Aucune donnée	2	Salade	Problèmes lors de la fabrication
2018	4b	12	Inconnue, même source alimentaire supposée sur la base des données WGS	Aucune donnée
2020	4b	34 (dont 10 décès)	Fromage à pâte molle	Contamination croisée dans l'établissement de production

Source : Rapports de l'OSAV concernant la surveillance des zoonoses, années 2015 à 2020<sup>2</sup>

Données de l'UE : selon le rapport de l'UE « Un monde, une santé » sur les zoonoses de l'EFSA et de l'ECDC, dans neuf cas, des preuves solides (« strong-evidence ») et dans 12 autres cas, des éléments de preuves ténus (« weak-evidence ») ont permis de relier des foyers de toxi-infections alimentaires à *L. monocytogenes* dans l'UE en 2019. Six des neuf cas où des preuves solides avaient été

<sup>2</sup> [Surveillance des zoonoses \(OSAV\)](#)

découvertes étaient dus à des denrées alimentaires prêtes à la consommation. Il s'agissait en l'occurrence de viande et de produits carnés (dans trois cas), de viande et produits à base de poulet de chair (dans deux cas) ainsi que de mélanges d'aliments (« mixed food »), « légumes, jus et autres produits » et de viande et produits à base de bœuf ou de porc. Entre 2010 et 2018, ce sont les matrices alimentaires « mixed food », poisson et produits à base de poisson ainsi que « légumes, jus et produits à base de légumes et de jus » qui ont été le plus souvent associées à des foyers de listériose (EFSA et ECDC, 2021).

À noter également l'apparition d'un foyer transnational de listériose dans l'UE entre 2015 et 2018, en lien avec des légumes blanchis surgelés. Un avis de l'EFSA de 2020 souligne d'ailleurs les risques sanitaires liés à la consommation de légumes crus et blanchis surgelés (produits industriels). De même, la surveillance de l'environnement a été identifiée comme étant un point critique dans le processus de fabrication de ces produits (cf. EFSA BIOHAZ Panel, 2020).

Les notifications RASFF de 2017 à 2020<sup>3</sup> relatives à *L. monocytogenes* concernaient principalement (par ordre décroissant) des denrées alimentaires prêtes à la consommation telles que le poisson et les produits à base de poisson (en particulier le saumon et la truite fumés à froid), suivies de la viande et des produits carnés (hors volaille), du lait et des produits laitiers (en particulier le fromage au lait cru) et enfin de la viande et des produits de volaille. On notera dans ce contexte qu'au cours de cette période, il y a eu régulièrement des déclarations de foyers transnationaux de listériose liés à des légumes surgelés.

Données des États-Unis : selon l'autorité fédérale américaine de protection de la santé (CDC, Centers for Disease Control and Prevention)<sup>4</sup>, les premiers foyers de listériose qui sont survenus aux États-Unis dans les années 1990 étaient dus à de la charcuterie (« deli meats ») et autres hotdogs. Depuis lors, ce sont des denrées alimentaires comme les produits laitiers, les fruits et des légumes qui sont incriminés dans l'apparition de foyers de listériose. Les sources de contamination identifiées lors des derniers foyers étaient cependant les suivantes : fromage à pâte molle, céleri, germes, melons et glace.

### **Monitoring des denrées alimentaires**

Les contaminations à *L. monocytogenes* peuvent survenir à différentes étapes de la chaîne alimentaire.

Surveillance des produits laitiers (2007 – 2020) : entre 710 et 5200 échantillons (de fromage, de lait et prélevés dans l'environnement) ont été analysés chaque année en Suisse entre 2007 et 2020 en vue de la surveillance des produits laitiers à la recherche de *Listeria* dans le cadre du programme de surveillance des listérias (PSL) d'Agroscope. La bactérie *L. monocytogenes* a toujours été mise en évidence dans moins de 1 % des échantillons, le plus souvent ceux prélevés dans l'environnement. Dans les échantillons de fromage positifs, elle a généralement été décelée uniquement à la surface du produit.

Les données de surveillance d'Agroscope de 2020 indiquent la présence de *Listeria* dans 2,4 % des 710 échantillons analysés de fromage, de lait et prélevés dans l'environnement. Sur les 17 échantillons contaminés, trois étaient positifs à *L. monocytogenes*. Les 14 autres ont révélé la présence d'autres espèces de *Listeria* ([Rapport surveillance des zoonoses, 2020](#)). Les trois échantillons positifs à *L. monocytogenes* prélevés en 2020 sont des échantillons environnementaux (communication personnelle, Agroscope). Précisons également qu'Agroscope effectue les analyses sur demande de l'établissement et que celles-ci ne sont donc pas nécessairement basées sur les risques.

Surveillance des produits prêts à l'emploi (2018) : lors d'une campagne commune réalisée en 2018, les chimistes cantonaux de Suisse ont prélevé sur le marché suisse 1000 échantillons de salades parées et lavées, fruits en morceaux, salades traiteur, hors-d'œuvre et autres produits prêts à l'emploi principalement d'origine végétale, et les ont analysés à la recherche de *Listeria monocytogenes*. Près de 3 % de ces échantillons se sont révélés positifs à *L. monocytogenes*, même si le nombre de

<sup>3</sup> [Reports and publications RASFF](#) (en anglais)

<sup>4</sup> [Prevention | Listeria | CDC](#) (page d'accueil du CDC, état le 01.09.2021, en anglais)

germes était toujours inférieur à la valeur limite fixée ([Rapport surveillance des zoonoses, 2018](#)). Conformément à l'annexe 1, Partie 1, ch. 1.2 et 1.3 de l'ordonnance sur l'hygiène (OHyg)<sup>5</sup>, les produits mis sur le marché des catégories de denrées alimentaires 1.2 et 1.3 ne doivent pas dépasser la limite de 100 UFC/g pendant toute la durée de leur conservation.

Surveillance des produits carnés (2019) : en 2019, Agroscope a testé sur mandat de l'OSAV des produits carnés suisses dans le cadre d'un projet. Au total, 201 échantillons ont été analysés à la recherche de *Listeria*. Trois échantillons ont révélé la présence de *L. monocytogenes* (soit 1,5 %), mais sans jamais dépasser la limite de 100 UFC/g. D'autres *Listeria* ont été détectées dans deux autres échantillons ([Rapport surveillance des zoonoses, 2019](#)).

Surveillance du poisson fumé (2020) : l'OSAV a réalisé en 2020, en collaboration avec l'Office de la consommation du canton de Vaud, une évaluation des risques liés à la sécurité alimentaire des poissons fumés<sup>6</sup>. Le principal agent pathogène susceptible de contaminer le poisson fumé est *L. monocytogenes*. Cette étude pilote a permis de montrer que le poisson fumé présentait des risques pour les consommateurs, notamment d'un point de vue microbiologique. Sur les 46 échantillons analysés, huit (soit 17 %) ne satisfaisaient pas aux exigences en matière de qualité microbiologique et deux (soit 4 %), qui provenaient d'établissements de production, étaient contaminés par *L. monocytogenes*.

Surveillance des établissements du secteur alimentaire (2021) : en 2021, une campagne d'inspections de l'ACCS a permis de vérifier les actions entreprises par les établissements du secteur alimentaire concernant *L. monocytogenes* lors de leurs autocontrôles de la sécurité alimentaire dans les denrées alimentaires prêtes à la consommation. Les résultats ne sont pas encore disponibles (état octobre 2021).

Surveillance des *Listeria* tout au long de la chaîne alimentaire (données de l'UE de 2019) : dans l'UE, les autorités compétentes contrôlent l'application correcte du critère de sécurité alimentaire relatif à *L. monocytogenes* dans les denrées alimentaires prêtes à la consommation en réalisant des prélèvements d'échantillons officiels dans les établissements de production (matières premières, produits et environnement) et dans le commerce de détail. Les données de surveillance des États membres de l'UE sont analysées par l'EFSA et publiées tous les ans dans le rapport « Un monde, une santé » sur les zoonoses. En 2019, le taux de résultats positifs à *L. monocytogenes* s'est à nouveau révélé faible dans le commerce de détail puisqu'il atteignait un maximum de 2,1 % (produits carnés fermentés). Dans la production, le taux de résultats positifs le plus élevé, de 5,8 %, était à nouveau imputable aux produits à base de poisson prêts à la consommation. Comme les années précédentes, la part d'échantillons positifs est systématiquement plus élevée dans le secteur de la transformation que dans le commerce de détail (EFSA and ECDC, 2021). Ces résultats ne sont toutefois pas représentatifs puisque toutes les matrices alimentaires n'ont pas été échantillonnées à la même fréquence et que le nombre d'échantillons prélevés était différent d'un État membre à un autre.

**Pour résumer**, on peut donc dire concernant les données de surveillance des *Listeria* que :

- Les données de surveillance des *Listeria* en Suisse et dans l'UE des denrées alimentaires prêtes à la consommation vendues dans le commerce de détail présentent un **faible pourcentage de résultats positifs à *L. monocytogenes***, qui est **inférieur à 5 %**.
- En **2020**, un échantillon de poisson fumé contaminé par *L. monocytogenes* (2/46) a été identifié dans deux établissements de production de Suisse dans le cadre d'une étude pilote (canton de Vaud). La même année, Agroscope a décelé **trois échantillons environnementaux positifs à *L. monocytogenes*** dans le cadre du programme PSL (3/17).
- Les données RASFF des dernières années concernant les contaminations à *L. monocytogenes* de denrées alimentaires prêtes à la consommation suggèrent que la fabrication de produits à base de poisson prêts à la consommation (**saumon et truite fumés à froid**) en particulier **pourrait être critique**.

<sup>5</sup> Ordonnance du DFI sur l'hygiène dans les activités liées aux denrées alimentaires OHyg ([RS 817.024.1](#))

<sup>6</sup> Voir le rapport « **Evaluation des risques liés aux poissons fumés – Inspections et analyses** » (site Internet de l'OSAV [Bactéries](#) sous « Informations complémentaires »)

### 3.2 Dose infectante pour l'être humain

On ne sait pas précisément quelle est la dose infectante. La quantité de germes requise pour déclencher une maladie semble toutefois dépendre de la virulence de la souche bactérienne et de la sensibilité du sujet considéré<sup>7</sup>.

Selon les estimations de l'EFSA, plus de 90 % des cas de listériose invasive seraient dus à l'ingestion de denrées alimentaires prêtes à la consommation contaminées par plus de 2000 UFC (unités formant colonie) par gramme d'aliment (EFSA BIOHAZ Panel, 2018).

## 4. Critère de sécurité alimentaire relatif à *Listeria monocytogenes* dans les denrées alimentaires prêtes à la consommation

### 4.1 Méthode de détection dans les échantillons environnementaux

#### **Bases légales et commentaires**

Les établissements du secteur alimentaire qui fabriquent des denrées alimentaires prêtes à la consommation susceptibles de présenter un risque pour la santé humaine lié à *Listeria monocytogenes*, sont également tenus, en vertu de l'art. 69, al. 2, OHyg, de prélever des échantillons sur les lieux de transformation et sur les équipements utilisés, en vue de détecter la présence de *Listeria monocytogenes* dans le cadre de leur plan d'échantillonnage. En cas de résultat positif lors de la surveillance de l'environnement, la personne responsable de l'établissement est tenue de mettre en œuvre les mesures correctives définies dans le cadre de l'autocontrôle.

En vertu de l'article 70 OHyg, l'évolution des résultats des analyses microbiologiques doit être analysée en procédant à des analyses de tendances. Les évaluations des analyses de tendances peuvent fournir des indications sur les contaminations (où, quand et comment) et permettre de savoir si les mesures qui ont été prises sont efficaces. Lorsqu'une évolution approchant des résultats insatisfaisants est observée, il faut prendre sans retard des mesures appropriées en vue de prévenir l'apparition de risques microbiologiques.

Selon ce qui figure dans la [Lettre d'information 2020/7](#) de l'OSAV, lorsque des *Listeria* sont détectées dans un établissement, il faut toujours déterminer s'il s'agit d'une souche persistante ou si le germe a été régulièrement réintroduit dans l'établissement. Pour déterminer la souche exacte, il faut donc également soumettre les isolats de *L. monocytogenes* détectés à un typage moléculaire. Lorsque les détections de *L. monocytogenes* dans des échantillons environnementaux se répètent, il faut, selon la [Lettre d'information 2020/7](#) de l'OSAV, impliquer l'autorité d'exécution cantonale compétente pour définir d'autres mesures.

Pour les prélèvements d'échantillons dans les lieux de transformation et sur les équipements utilisés, il faut, conformément à l'article 69, alinéa 1, OHyg, appliquer les méthodes de référence de la norme SN EN ISO 18593:2018. Cette norme internationale spécifie une méthode horizontale pour les techniques de prélèvement d'échantillons sur des surfaces au moyen de boîtes de contact, d'écouvillons, d'éponges et de chiffonnettes sur les surfaces de l'environnement de la chaîne alimentaire, afin de rechercher et de dénombrer des micro-organismes cultivables. Les experts considèrent toutefois que la méthode de référence SN EN ISO 18593:2018 n'est pas assez spécifique pour la détection de *L. monocytogenes* (Carpentier and Barre, 2012).

C'est pourquoi l'EURL *Lm* a élaboré en 2012 des recommandations sur le prélèvement d'échantillons sur les lieux de transformation et les équipements. Le document de l'EURL *Lm* recommande, pour la surveillance de l'environnement à la recherche de *L. monocytogenes*, des prélèvements d'échantillons par frottis (« wipe sampling methods: swab and sponge/cloth method »), l'analyse des échantillons recueillis devant ensuite être réalisée selon la norme EN ISO 11290-1 ou une procédure équivalente. Cette méthode horizontale permet la détection et le dénombrement de dix *Listeria spp.* au total (y c. *L.*

<sup>7</sup> [Erkrankung durch Listerien in Lebensmitteln](#) (site internet du LGL, état le 01.09.2021, en allemand)



*monocytogenes*). Le document présente également de nombreux conseils sur la taille des surfaces d'échantillonnage, les endroits critiques sur les lieux de transformation et le meilleur moment pour procéder aux prélèvements. Par contre, le nombre d'échantillons et de prélèvements à réaliser pendant une période donnée n'est pas spécifié et doit être déterminé au cas par cas selon une approche basée sur les risques (Carpentier and Barre, 2012).

Les recommandations émises dans le document de l'EURL *Lm* concernant la détection des *Listeria* reposent sur les dispositions légales du règlement (CE) 2073/2005 et s'appliquent uniquement à *L. monocytogenes*. Les autrices et auteurs renvoient toutefois à une recommandation du Codex Alimentarius (2007), qui conseille, pour assurer l'efficacité du programme de surveillance des *Listeria*, de ne pas concentrer les analyses uniquement sur *L. monocytogenes*, mais d'intégrer également des *Listeria spp.* non pathogènes. La présence d'espèces non pathogènes de *Listeria* dans l'environnement de production pourrait en effet être un bon indicateur de la présence possible de *L. monocytogenes*.

La méthodologie de surveillance de l'environnement en vue de la détection de *L. monocytogenes* peut être résumée de la manière suivante :

- Tout établissement du secteur alimentaire qui fabrique des denrées alimentaires prêtes à la consommation susceptibles de présenter un risque pour la santé humaine du fait de la présence de *L. monocytogenes* doit appliquer, lors de la surveillance de l'environnement, la méthode de référence EN ISO 11290-1 ou une méthode équivalente pour la détection de *L. monocytogenes* dans les échantillons environnementaux, en tenant compte des recommandations émises dans le document de l'EURL *Lm* sur le prélèvement d'échantillons sur les lieux de transformation et les équipements (2012).

#### **4.2 La surveillance de l'environnement comme système d'alerte précoce**

Selon les dernières connaissances scientifiques disponibles, ce sont surtout les souches de *L. monocytogenes* persistantes dans l'environnement de production d'établissements de fabrication qui entraînent des contaminations croisées avec des denrées alimentaires prêtes à la consommation. Cette persistance est due à la capacité de *L. monocytogenes* à s'adapter à des conditions extrêmes, par ex. en formant des biofilms, et à une hygiène insuffisante dans l'environnement de production (EFSA BIOHAZ Panel, 2018). Il est donc dans l'intérêt des fabricants de denrées alimentaires prêtes à la consommation d'identifier et d'éliminer, grâce à un programme efficace et basé sur les risques de surveillance de l'environnement, les contaminations par *L. monocytogenes* (en particulier les germes persistants).

##### ***Guides et recommandations concernant la surveillance de l'environnement***

Toute surveillance efficace et efficiente de l'environnement visant à détecter des bactéries *L. monocytogenes* a pour but de réduire le risque de contamination de denrées alimentaires prêtes à la consommation. Alliée au contrôle des produits finis, la réalisation de cette surveillance contribue à accroître la sécurité alimentaire des denrées alimentaires prêtes à la consommation.

Lorsque la surveillance de l'environnement prévoit la détection non seulement de *Listeria spp.* non pathogènes mais aussi de *L. monocytogenes*, tout résultat positif concernant des espèces de *Listeria* non pathogènes doit être interprété comme un signal d'alerte de *L. monocytogenes*. L'établissement du secteur alimentaire pourra alors prendre les mesures adaptées avant que *L. monocytogenes* ne devienne problématique (Spanu and Jordan, 2020).

De précieux guides de contrôle de *L. monocytogenes* dans les denrées alimentaires prêtes à la consommation destinés à l'industrie alimentaire ont notamment été rédigés par la FDA (cf. [FDA](#), 2017) et par l'autorité nationale australienne FSANZ (cf. [FSANZ](#), 2014 ainsi que [FSANZ, supporting document 1](#), 201x). L'autorité alimentaire australienne NSW Food Authority a également publié un guide détaillé sur la surveillance dans l'environnement de *L. monocytogenes* (cf. [NSW Food Authority](#), 2019). De son côté, l'EFSA a publié en 2018 des recommandations pour une surveillance de l'environnement spécifique dans les établissements de fabrication de légumes surgelés (EFSA, 2018).

Par ailleurs, certaines publications scientifiques précisent les critères pouvant être importants lors de l'élaboration d'un plan de surveillance de l'environnement à la recherche de *Listeria* (De Oliveira Mota *et al.*, 2021, MAGDOVITZ *et al.*, 2019, Spanu and Jordan, 2020). L'article de Spanu et Jordan (2020) présente par ex. divers composants d'une surveillance efficace des *Listeria* dans l'environnement, et l'article scientifique de Simmons et Wiedmann (2018) fournit un aperçu utile des points de prélèvement basés sur les risques.

La question de l'efficacité d'une surveillance des *L. monocytogenes* se pose alors au plus tard lorsque des résultats négatifs deviennent la norme. Selon le document de l'EURL *Lm* de 2012, des techniques de prélèvement incorrectes ou inefficaces peuvent être à l'origine de l'absence de détection de *Listeria*.

### **La surveillance de l'environnement dans les établissements de fabrication**

La revue de littérature de Zoellner *et al.* (2018) montre notamment que les publications scientifiques sur la surveillance des *Listeria* dans l'environnement concernent surtout les secteurs alimentaires de la viande, du lait et du poisson et que le secteur des produits frais est sous-représenté.

L'annexe (chiffre 9) présente et commente brièvement sept cas pratiques de surveillance des *Listeria* dans l'environnement dans divers établissements de fabrication. On peut en tirer les conclusions suivantes :

- Les *Listeria* sont présentes partout et tout établissement du secteur alimentaire doit s'attendre à ce qu'elles le contaminent quotidiennement. Le risque de formation de germes persistants sur les lieux de transformation peut être minimisé en respectant et en surveillant les règles d'hygiène dans l'environnement de production.
- Lors de la mise en œuvre d'actions de lutte contre des souches persistantes de *L. monocytogenes*, les mesures prévues doivent aussi être systématiquement adaptées aux caractéristiques moléculaires (par ex. résistances) du germe considéré.
- Les foyers de listériose en lien avec des denrées alimentaires contaminées sont, en règle générale, toujours dus à une contamination par *L. monocytogenes* de l'environnement de production de l'établissement de fabrication.
- Le typage moléculaire (par WGS) d'isolats de *L. monocytogenes* provenant d'échantillons environnementaux permet aux établissements et aux autorités d'identifier les liens de parenté entre les isolats lors des contrôles ordinaires et des enquêtes sur des foyers.
- Une base de données WGS a également pour objet de mettre à disposition des données de séquençage moléculaire afin de favoriser l'étude de cas (sporadiques) de listériose de manière à la fois rétrospective et prospective (« improve surveillance and early detection of outbreaks »).
- Le typage moléculaire (par WGS) d'isolats environnementaux de *L. monocytogenes* provenant de différents établissements de fabrication permet à l'autorité d'avoir une vue d'ensemble des caractéristiques moléculaires de ces souches problématiques.

### **Rôle des échantillons environnementaux dans les enquêtes sur les foyers**

Les autocontrôles menés par les établissements du secteur alimentaire sont contrôlés par les autorités cantonales d'exécution compétentes lors des inspections. Si l'on se réfère à la publication sur le foyer de listériose lié aux fromages à pâte molle qui s'est répandu dans toute la Suisse en 2020 (Nüesch-Inderbinnen *et al.*, 2021), on peut partir du principe que les contrôles de routine de la sécurité

alimentaire réalisés dans notre pays n'impliquent pas de séquençage du génome d'isolats de *L. monocytogenes* provenant d'échantillons environnementaux.

Des recherches documentaires ont révélé que certaines autorités étrangères intégraient par défaut des données WGS d'échantillons environnementaux de *L. monocytogenes* lors d'une enquête sur des foyers. Cette procédure est établie et a fait ses preuves dans plusieurs pays comme aux États-Unis depuis 2013 (Stevens *et al.*, 2017), en Autriche depuis 2016 (Cabal *et al.*, 2019) et en Allemagne depuis 2020 (Beneke *et al.*, 2021).

En cas de survenue d'un foyer, les données WGS d'isolats de *L. monocytogenes* provenant d'échantillons de patients, de denrées alimentaires et d'échantillons environnementaux peuvent être rattachées aux souches de *L. monocytogenes* considérées en s'appuyant sur un cluster de listériose, s'il existe une concordance. Cette procédure permet d'identifier rapidement les sources ayant causé la contamination (produit et établissement).

Autres constats dans différents pays :

- Aux États-Unis et en Allemagne, les échantillons environnementaux sont prélevés lors de contrôles officiels et de contrôles ordinaires (Beneke *et al.*, 2021 ; Stevens *et al.*, 2017).
- En Autriche, les laboratoires d'analyse microbiologique (publics et privés) ainsi que les établissements du secteur alimentaire sont tenus depuis 2014 de transmettre au LNR tous les isolats de *L. monocytogenes* provenant d'échantillons humains, alimentaires et environnementaux. Le laboratoire procède depuis 2016 au typage moléculaire (WGS) des isolats correspondants (Cabal *et al.*, 2019).
- Cette « surveillance en temps réel » des cas de listériose, basée sur les données WGS d'isolats de *L. monocytogenes* provenant de programmes de surveillance (échantillons alimentaires et environnementaux), a permis d'identifier un nombre beaucoup plus important de clusters de listériose aux États-Unis. Grâce à la nouvelle procédure, le nombre de cas médians a pu être réduit de six à trois par foyer (Jackson *et al.*, 2016).
- Une étude européenne, qui a analysé de manière rétrospective des foyers de listériose à l'aide des données WGS disponibles, a montré qu'un enregistrement centralisé des données WGS permettait de détecter plusieurs mois plus tôt en moyenne les clusters de listériose transnationaux (Van Walle *et al.*, 2018).
- Selon l'institut fédéral allemand d'évaluation des risques BfR<sup>8</sup>, 38 clusters identiques de listériose ont pu être identifiés à ce jour en Allemagne grâce à des isolats de *L. monocytogenes* provenant de denrées alimentaires et d'environnements de production.

## 5. Typage moléculaire d'échantillons environnementaux de *Listeria monocytogenes*

### 5.1 Traitement de résultats positifs d'échantillons environnementaux

Il est difficile pour l'instant de trouver des publications scientifiques sur des données WGS d'échantillons environnementaux positifs ayant pu être directement mises en relation avec des données d'isolats de patients. On peut cependant s'attendre à ce que la fréquence de ces données augmente, comme le montre le document d'Allard *et al.* (Allard *et al.*, 2019), dans lequel on peut lire : aux États-Unis, des données WGS ont permis de relier en 2018 des isolats de patients atteints de listériose à un isolat de *L. monocytogenes* provenant de l'environnement de production (échantillon officiel prélevé par la FDA) d'un établissement de fabrication de glaces. Pour plus de détail, se reporter au chiffre 9 en annexe, cas pratique 3.

Un autre cas aux États-Unis montre que des résultats positifs à des recherches de *Listeria spp.* non pathogènes provenant d'échantillons environnementaux officiels (prélevés par la FDA) n'ont pas été perçus comme un signal d'alerte précoce par le fabricant de fromages, ce qui a conduit huit mois plus

<sup>8</sup> [WGS -basierte Typisierung von Listerien am BfR; Präsentation vom 16.11.2020 Stefanie Lüth](#) (en allemand)

tard au rappel de toute la gamme de produits de cet établissement de fabrication ([Food Safety News, 2021](#)). Pour plus de détail, se reporter au chiffre 9 en annexe, cas pratique 2.

## 5.2 Typage moléculaire de *Listeria monocytogenes* identifiées dans des denrées alimentaires et des échantillons environnementaux

Le projet « Closing gaps for performing a risk assessment on *L. monocytogenes* in RTE foods : activity 3 » mandaté par l'EFSA avait pour objet d'une part, de réaliser une caractérisation moléculaire par WGS d'isolats de *L. monocytogenes* provenant de différentes sources et d'autre part, d'étudier plus précisément la diversité génétique des isolats au sein de la chaîne alimentaire ainsi qu'entre la chaîne alimentaire et des échantillons humains. Pour ce faire, un total de 1143 isolats de *L. monocytogenes* (dont 333 isolats humains cliniques et 810 isolats provenant de la chaîne alimentaire) ont été sélectionnés (Nielsen *et al.*, 2017).

Le rapport contient notamment des données WGS sur des isolats de *L. monocytogenes* provenant de denrées alimentaires (« food products ») ou de l'environnement de transformation des denrées alimentaires (« food processing environment »). L'origine exacte de l'isolat (produits laitiers, carnés ou à base de poisson) est indiquée dans chaque cas, y compris des précisions sur le complexe clonal (CC) par MLST et le type de séquence ST par MLST identifiés. L'étude montre que les bactéries *L. monocytogenes* provenant d'échantillons environnementaux et leur typage biologique moléculaire jouent un rôle important dans la détermination des causes des foyers, ainsi que dans l'identification de *L. monocytogenes* persistantes

## 6. Conclusions

### Surveillance de l'environnement, méthodologie :

- Une surveillance efficace de l'environnement basée sur les risques à la recherche de *Listeria* réduit le risque de contamination par *L. monocytogenes* de denrées alimentaires prêtes à la consommation. Alliée aux contrôles des produits finis, elle accroît également leur sécurité alimentaire. La révision régulière du plan de surveillance de l'environnement permet d'identifier de nouvelles sources d'infection possibles.
- On privilégiera une surveillance de l'environnement à la recherche de *Listeria spp.*, car les espèces de *Listeria* non pathogènes peuvent être un indicateur de la présence de *L. monocytogenes*.
- Selon l'EURL *Lm*, la détection de *L. monocytogenes* par la méthode de référence SN EN ISO 18593, 2018 n'est pas assez spécifique, raison pour laquelle il vaut mieux privilégier la méthode de référence EN ISO 11290-1 ou une méthode équivalente pour l'analyse. On appliquera en complément le document de l'EURL *Lm* de 2012 pour le prélèvement d'échantillons sur les lieux de transformation et les équipements. Il existe également d'autres documents de référence, comme le guide de l'autorité alimentaire australienne NSW Food Authority de 2019.
- En cas de résultats positifs, il faut toujours déterminer si la souche présente des caractéristiques transitoires ou persistantes et donc réaliser un typage moléculaire (par WGS). Il convient aussi de vérifier si les mesures prévues pour lutter contre les contaminations sont judicieuses, car la souche pourrait présenter des résistances. Les germes persistants doivent être éliminés, car leur présence augmente le risque de contaminations croisées.
- Si les résultats sont négatifs, il faut toujours examiner s'il est possible que le prélèvement ait été mal réalisé ou inefficace.

### Priorisation des établissements vulnérables :

- Il semble judicieux de classer la surveillance des établissements dans l'ordre suivant (décroissant) : entreprises procédant à la transformation de poisson et de produits à base de poisson (en particulier de saumon et de truite fumés à froid), puis entreprises de transformation de viande et de produits carnés, de lait et de produits laitiers (en particulier de fromage au lait cru) et enfin entreprises de transformation de viande de volaille et de produits de volaille ainsi que de légumes et de fruits.

#### Données WGS d'échantillons environnementaux positifs :

- Le WGS est un outil très efficace pour détecter de façon précoce des foyers de toxi-infection alimentaire comme la listériose et prendre les mesures qui s'imposent.
- Certaines autorités étrangères réexaminent régulièrement l'environnement des établissements du secteur alimentaire en prélevant des échantillons officiels lors des inspections. Les résultats positifs sont ensuite soumis à une analyse WGS et les données sont sauvegardées dans une base de données et comparées régulièrement avec les données WGS d'échantillons alimentaires et humains.
- Si la Suisse ne dispose pas des bases légales lui permettant de saisir des échantillons privés, les autorités compétentes peuvent, lors d'une inspection, non seulement vérifier la documentation de surveillance de l'environnement lorsqu'elles évaluent les autocontrôles, mais aussi procéder dans le même temps à un prélèvement officiel d'échantillons dans l'environnement.

## 7. Recommandations

1. Les données WGS d'échantillons positifs provenant de la surveillance de l'environnement sont aujourd'hui la norme et il serait difficile de s'en passer pour déterminer les causes de cas (sporadiques) de listériose. En Suisse, les autorités compétentes pourraient également procéder systématiquement à une surveillance de ce type lors de leurs inspections.
2. Les résultats positifs à *L. monocytogenes* doivent être analysés par WGS et enregistrés dans une base de données centralisée. L'Allemagne a opté pour un système d'échanges réguliers entre le BfR et le RKI. En Autriche, la comparaison des isolats est effectuée par une seule et même autorité. Une comparaison d'isolats de *L. monocytogenes* provenant d'échantillons environnementaux, de patients et de denrées alimentaires semble indispensable pour identifier les denrées alimentaires et les établissements impliqués et les rendre disponibles pour des analyses plus approfondies.

## 8. Références

Allard, MW, Strain, E, Rand, H, Melka, D, Correll, WA, Hintz, L, Stevens, E, Timme, R, Lomonaco, S, Chen, Y, Musser, SM and Brown, EW (2019). « Whole genome sequencing uses for foodborne contamination and compliance: Discovery of an emerging contamination event in an ice cream facility using whole genome sequencing », *Infection, Genetics and Evolution* **73**: 214-220.

Alvarez-Molina, A, Cobo-Díaz, JF, López, M, Prieto, M, de Toro, M and Alvarez-Ordóñez, A (2021). « Unraveling the emergence and population diversity of *Listeria monocytogenes* in a newly built meat facility through whole genome sequencing », *Int. J. Food Microbiol.* **340**: 109043.

Beneke, B., Näther, G., Reuber, S., und Petersen, H. (2021). « Next Generation Sequencing (NGS) von *Listerien*-Isolaten aus fleischverarbeitenden Betrieben », *Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle*, 28. Jahrgang – 2/2021, 84-89

Blatter, S, Giezendanner, N, Stephan, R and Zweifel, C (2010). « Phenotypic and molecular typing of *Listeria monocytogenes* isolated from the processing environment and products of a sandwich-producing plant », *Food Control* **21**(11): 1519-1523.

Cabal, A, Pietzka, A, Huhulescu, S, Allerberger, F, Ruppitsch, W and Schmid, D (2019). « Isolate-Based Surveillance of *Listeria monocytogenes* by Whole Genome Sequencing in Austria », *Frontiers in Microbiology* **10**(2282).

Carpentier, B. and Barre, L. (2012). « Guidelines on sampling the food process area and equipment for the detection of *Listeria monocytogenes* », Laboratoire de référence de l'UE pour *Listeria monocytogenes*, laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort de l'Anses, France. Consulté sur : <https://eurl-listeria.anses.fr> (en anglais)

Centorotola, G, Guidi, F, D'Aurizio, G, Salini, R, Di Domenico, M, Ottaviani, D, Petruzzelli, A, Fisci-chella, S, Duranti, A, Tonucci, F, Acciari, VA, Torresi, M, Pomilio, F and Blasi, G (2021). « Intensive Environmental Surveillance Plan for *Listeria monocytogenes* in Food Producing Plants and Retail Stores of Central Italy: Prevalence and Genetic Diversity », *Foods* **10**(8): 1944.

Codex Alimentarius (CAC/GL), (2007). « Directives pour l'application des principes généraux d'hygiène des denrées alimentaires à la maîtrise de *Listeria Monocytogenes* dans les aliments prêts à consommer » (n° 61). Rome (Italie) : Commission du Codex Alimentarius. Consulté sur : [CAC/GL 61 - 2007](#)

COOPER, AL, CARRILLO, CD, DESCHÊNES, MN and BLAIS, BW (2020). « Genomic Markers for Quaternary Ammonium Compound Resistance as a Persistence Indicator for *Listeria monocytogenes* Contamination in Food Manufacturing Environments », *Journal of Food Protection* **84**(3): 389-398.

De Oliveira Mota, J, Boué, G, Prévost, H, Maillet, A, Jaffres, E, Maignien, T, Arnich, N, Sanaa, M and Federighi, M (2021). « Environmental monitoring program to support food microbiological safety and quality in food industries: A scoping review of the research and guidelines », *Food Control* **130**: 108283.

EFSA (European Food Safety Authority), Allende, A, Barre, L, Jacxsens, L, Liebana, E, Messens, W, Sarno, E and da Silva Felicio, MT, 2018. « Urgent scientific and technical assistance to provide recommendations for sampling and testing in the processing plants of frozen vegetables aiming at detecting *Listeria monocytogenes* », *EFSA supporting publication* 2018: 15( 7):EN-1445. 41 pp. doi: [10.2903/sp.efsa.2018.EN-1445](#).

EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), Ricci, A, Allende, A, Bolton, D, Chemaly, M, Davies, R, Fernández Escámez, PS, Girones, R, Herman, L, Koutsoumanis, K, Nørrung, B, Robertson, L, Ru, G, Sanaa, M, Simmons, M, Skandamis, P, Snary, E, Speybroeck, N, Ter Kuile, B, Threlfall, J, Wahlström, H, Takkinen, J, Wagner, M, Arcella, D, Da Silva Felicio, MT, Georgiadis, M, Messens, W and Lindqvist, R, 2018. « Scientific Opinion on the *Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU », *EFSA Journal* 2018;16(1):5134, 173 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5134>

EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), Koutsoumanis, K, Alvarez-Ordóñez, A, Bolton, D, Bover-Cid, S, Chemaly, M, Davies, R, De Cesare, A, Herman, L, Hilbert, F, Lindqvist, R, Nauta, M, Peixe, L, Ru, G, Simmons, M, Skandamis, P, Suffredini, E, Jordan, K, Sampers, I, Wagner, M, Da Silva Felicio, MT, Georgiadis, M, Messens, W, Mosbach-Schulz, O and Allende, A, 2020. « Scientific Opinion on the public health risk posed by *Listeria monocytogenes* in frozen fruit and vegetables including herbs, blanched during processing », *EFSA Journal* 2020;18(4):6092, 102 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6092>

EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2021. « The European Union One Health 2019 Zoonoses Report », *EFSA Journal* 2021;19(2):6406, 286 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6406>

FDA-CFSAN, (2017). « Control of *Listeria monocytogenes* in Ready-To-Eat-Foods: Guidance for Industry. Draft Guidance ». Consulté sur : [Guidance for Industry \(fda.gov\)](#)

Food Standards Australia New Zealand (FSANZ). « Guidance on the application of microbiological criteria for *Listeria monocytogenes* in RTE food ». [(Accès le 10 mai 2019)] ; 2014, disponible en ligne sous : <http://www.foodstandards.gov.au/code/microbiolimits/Pages/Criteria-for-Listeria-monocytogenes-in-ready-to-eat-foods.aspx>.

Jackson, BR, Tarr, C, Strain, E, Jackson, KA, Conrad, A, Carleton, H, Katz, LS, Stroika, S, Gould, LH, Mody, RK, Silk, BJ, Beal, J, Chen, Y, Timme, R, Doyle, M, Fields, A, Wise, M, Tillman, G, Defibaugh-Chavez, S, Kucerova, Z, Sabol, A, Roache, K, Trees, E, Simmons, M, Wasilenko, J, Kubota, K, Pouseele, H, Klimke, W, Besser, J, Brown, E, Allard, M and Gerner-Smidt, P (2016). « Implementation of

Nationwide Real-time Whole-genome Sequencing to Enhance Listeriosis Outbreak Detection and Investigation », *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **63**(3): 380-386.

Katharios-Lanwermeier, S, Rakic-Martinez, M, Elhanafi, D, Ratani, S, Tiedje, JM and Kathariou, S (2012). « Coselection of Cadmium and Benzalkonium Chloride Resistance in Conjugative Transfers from Nonpathogenic *Listeria* spp. to Other *Listeriae* », *Appl. Environ. Microbiol.* **78**(21): 7549-7556.

MAGDOVITZ, BF, GUMMALLA, S, THIPPAREDDI, H and HARRISON, MA (2019). « Evaluating Environmental Monitoring Protocols for *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in Frozen Food Manufacturing Facilities », *Journal of Food Protection* **83**(1): 172-187.

Maury, MM, Bracq-Dieye, H, Huang, L, Vales, G, Lavina, M, Thouvenot, P, Disson, O, Leclercq, A, Brisse, S and Lecuit, M (2019). « Hypervirulent *Listeria monocytogenes* clones' adaption to mammalian gut accounts for their association with dairy products », *Nature Communications* **10**(1): 2488.

Muhterem-Uyar, M, Dalmaso, M, Bolocan, AS, Hernandez, M, Kapetanakou, AE, Kuchta, T, Manios, SG, Melero, B, Minarovičová, J, Nicolau, AI, Rovira, J, Skandamis, PN, Jordan, K, Rodríguez-Lázaro, D, Stessl, B and Wagner, M (2015). « Environmental sampling for *Listeria monocytogenes* control in food processing facilities reveals three contamination scenarios », *Food Control* **51**: 94-107.

Nielsen, EM, Björkman, JT, Kiil, K, Grant, K, Dallman, T, Painset, A, Amar, C, Roussel, S, Guillier, L, Félix, B, Rotariu, O, Perez-Reche, F, Forbes, K and Strachan, N (2017). « Closing gaps for performing a risk assessment on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat (RTE) foods: activity 3, the comparison of isolates from different compartments along the food chain, and from humans using whole genome sequencing (WGS) analysis », *EFSA Supporting Publications* **14**(2): 1151E.

Nüesch-Inderbinnen, M., Bloemberg, G. V., Müller, A., Stevens, M., Cernela, N., Kollöffel, B., Stephan, R. (2021). « Listeriosis Caused by Persistence of *Listeria monocytogenes* Serotype 4b Sequence Type 6 in Cheese Production Environment », *Emerging Infectious Diseases*, **27**(1), 284-288.  
<https://doi.org/10.3201/eid2701.203266>

Orsi, RH, Bakker, HCd and Wiedmann, M (2011). « *Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics », *International Journal of Medical Microbiology* **301**(2): 79-96.

Simmons, CK and Wiedmann, M (2018). « Identification and classification of sampling sites for pathogen environmental monitoring programs for *Listeria monocytogenes*: Results from an expert elicitation », *Food Microbiology* **75**: 2-17.

Spanu, C and Jordan, K (2020). « *Listeria monocytogenes* environmental sampling program in ready-to-eat processing facilities: A practical approach », *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **19**(6): 2843-2861.

Stevens, EL, Timme, R, Brown, EW, Allard, MW, Strain, E, Bunning, K and Musser, S (2017). « The Public Health Impact of a Publicly Available, Environmental Database of Microbial Genomes », *Frontiers in Microbiology* **8**(808).

Van Walle, I, Björkman, JT, Cormican, M, Dallman, T, Mossong, J, Moura, A, Pietzka, A, Ruppitsch, W, Takkinen, J and European Listeria, WGStg (2018). « Retrospective validation of whole genome sequencing-enhanced surveillance of listeriosis in Europe, 2010 to 2015 », *Euro surveillance : bulletin européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* **23**(33): 1700798.

Zoellner, C, Ceres, K, Ghezzi-Kopel, K, Wiedmann, M and Ivanek, R (2018). « Design Elements of *Listeria* Environmental Monitoring Programs in Food Processing Facilities: A Scoping Review of Research and Guidance Materials », *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **17**(5): 1156 -1171.

## 9. Annexe

Cas pratique 1 : « Unraveling the emergence and population diversity of *Listeria monocytogenes* in a newly built meat facility through whole genome sequencing » (Alvarez-Molina *et al.*, 2021)

<b>Objet d'étude</b>	Établissement de transformation de la viande
<b>Motif et résultat</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Surveillance de l'environnement en vue de la détection de <i>L. monocytogenes</i> dans une nouvelle entreprise de transformation de viande de porc en Espagne. Tous les échantillons environnementaux étaient négatifs avant l'ouverture de l'établissement.</li> <li>- Durée : 1,5 an</li> <li>- 229 échantillons environnementaux, détection de 18 isolats de <i>L. monocytogenes</i></li> <li>- Caractérisation par WGS, comparaison avec d'autres bases de données WGS</li> <li>- Une augmentation de la persistance a été constatée.</li> </ul>
<b>Conclusion</b>	<p>Au début de la surveillance, aucune <i>L. monocytogenes</i> n'a été détectée dans l'environnement du tout nouvel établissement mais au fil du temps, de plus en plus d'échantillons environnementaux positifs et de types de séquences (ST) différents ont été détectés.</p> <p>Sur les six types de séquence décelés, huit des 18 souches de <i>L. monocytogenes</i> isolées ont pu être rattachées au sérotype 1/2c, type de séquence 9 (ST9).</p> <p>On peut supposer, sur la base des données WGS, que la souche ST9 s'est multipliée et qu'elle possède des caractéristiques persistantes. Les mesures de lutte contre la contamination par <i>L. monocytogenes</i> doivent impérativement être adaptées.</p>

Cas pratique 2 : « El Abuelito Cheese Inc. warned about *Listeria* 8 months before outbreak » ([Food Safety News 2021](#))

<b>Objet d'étude</b>	Fromagerie
<b>Motif et résultat</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- En février 2020, la FDA a réalisé une inspection dans une fromagerie du New Jersey et y a aussi prélevé divers échantillons dans l'environnement. Deux de ces échantillons se sont révélés positifs à des <i>Listeria spp.</i> non pathogènes (<i>L. grayi</i> et <i>L. innocua</i>). Deux fromages frais ont été rappelés et l'autorité a également recommandé de renoncer à d'autres produits de cette fromagerie. En juin 2020, la FDA a publié une « warning letter », alors que l'établissement était en train de supprimer les irrégularités constatées par la FDA.</li> <li>- En février 2021, un foyer de listériose a été associée à un fromage à pâte molle provenant de cette fromagerie, qui a alors dû rappeler tous ses produits. La production a été stoppée, mais dans l'intervalle, dix personnes sont tombées malades et neuf d'entre elles ont dû être hospitalisées.</li> </ul>



<b>Conclusion</b>	<p>En présence de résultats positifs à des <i>Listeria spp.</i> non pathogènes dans l'environnement, la FDA part du principe que les conditions sont idéales pour que l'établissement soit également contaminé par des <i>L. monocytogenes</i>.</p> <p>Une contamination par <i>L. monocytogenes</i> ne pouvant être exclue, deux fromages frais ont été rappelés.</p> <p>Huit mois plus tard, tous les produits étaient rappelés et la fabrication a été arrêtée car il y avait une corrélation possible entre un fromage à pâte molle provenant de cet établissement et un foyer de listériose.</p>
-------------------	---

Cas pratique 3 : « Whole genome sequencing uses for foodborne contamination and compliance: Discovery of an emerging contamination event in an ice cream facility using whole genome sequencing. » (Allard *et al.*, 2019)

<b>Objet d'étude</b>	Fabricant de glaces
<b>Motif et résultat</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- En août 2017, la FDA a réalisé un prélèvement officiel d'échantillons dans l'environnement de production d'un établissement du secteur alimentaire fabricant des glaces. Les isolats environnementaux de <i>L. monocytogenes</i> détectés ont fait l'objet d'une caractérisation par WGS et ont été enregistrés dans la base de données GenomeTrakr.</li> <li>- En septembre 2018, le CDC (Centers for Disease Control and Prevention) a contacté le département de la santé de Floride (Florida Department of Health) car trois isolats de patients atteints de listériose (deux datant de 2013 et un de 2018) correspondaient aux isolats environnementaux du fabricant de glaces.</li> <li>- La FDA a donc procédé à une surveillance de l'environnement dans l'établissement en octobre 2018 et a découvert, cette fois encore, des échantillons environnementaux positifs à <i>L. monocytogenes</i>. Les données WGS des isolats des échantillons environnementaux concordaient avec ceux des isolats des patients.</li> <li>- Tous les produits ayant été fabriqués entre août 2017 et octobre 2018 ont été rappelés et l'établissement a dû fermer.</li> </ul>
<b>Conclusions</b>	<p>Les auteurs de cette étude recommandent de comparer les nouvelles données WGS saisies d'isolats environnementaux positifs à <i>L. monocytogenes</i> avec (au moins) des données récentes d'isolats cliniques de <i>L. monocytogenes</i> afin de détecter aussi rapidement que possible des foyers de listériose et d'éviter la survenue de nouveaux cas.</p>

Cas pratique 4 : « Listeriosis Caused by Persistence of *Listeria monocytogenes* Serotype 4b Sequence Type 6 in Cheese Production Environment » (Nüesch-Inderbilen *et al.*, 2021)

<b>Objet d'étude</b>	Fromagerie
<b>Motif et résultat</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- En 2020, un foyer de listériose lié à un fromage à pâte molle contaminé s'est répandu dans toute la Suisse.</li> <li>- Les isolats des patients ont été caractérisés par WGS. Vingt-deux souches de <i>L. monocytogenes</i> ont pu être rattachées à un cluster dans lequel les souches étaient fortement apparentées. Un autre isolat de patients n'a cependant été associé à aucun foyer en raison du manque de données épidémiologiques.</li> <li>- En avril 2020, la fromagerie a informé les autorités compétentes de la détection de <i>L. monocytogenes</i> dans un fromage à pâte molle (brie), fabriqué à partir de lait pasteurisé.</li> <li>- Les données WGS ont permis d'établir le lien entre l'isolat de <i>L. monocytogenes</i> du produit contaminé et les isolats des patients.</li> <li>- La surveillance de l'environnement mise en œuvre dans l'établissement de fabrication a ensuite permis de détecter des <i>L. monocytogenes</i> dans onze – soit 22 % – des 50 échantillons environnementaux prélevés. Il a pu être démontré grâce aux données WGS que la souche de <i>L. monocytogenes</i> détectée était la même que dans le fromage à pâte molle.</li> <li>- La fabrication a été stoppée et les produits ont été rappelés.</li> <li>- Trente-quatre cas ont été confirmés en laboratoire et dix personnes sont décédées.</li> </ul>
<b>Conclusions</b>	<p>Le foyer de listériose de 2020 a pu être élucidé grâce aux données WGS. La souche de <i>L. monocytogenes</i> détectée, de sérotype 4b, séquence de type 6, a également pu être mise en relation avec des cas de listériose non résolus datant de 2018.</p> <p>Selon l'auteur, les contrôles de routine de la sécurité alimentaire devraient inclure aussi bien l'échantillonnage du produit fini que celui des équipements utilisés et de l'environnement de production.</p> <p>Les échantillons environnementaux positifs à <i>L. monocytogenes</i> devraient être systématiquement caractérisés par WGS, afin de pouvoir identifier rapidement de possibles contaminations croisées avec des denrées alimentaires, ce qui permettrait de réduire le risque de listériose.</p>

Cas pratique 5 : « Intensive Environmental Surveillance Plan for *Listeria monocytogenes* in Food Producing Plants and Retail Stores of Central Italy: Prevalence and Genetic Diversity » (Centorotola *et al.*, 2021)

<b>Objet d'étude</b>	Établissements du secteur alimentaire fabriquant des denrées alimentaires prêtes à la consommation et magasins d'alimentation
<b>Motif et résultat</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- En Italie centrale, suite à un foyer de listériose (2015/2016) dû à de la tête marbrée contaminée, les lieux de transformation de 41 établissements de fabrication de denrées alimentaires prêtes à consommer et des échantillons environnementaux de 45 magasins</li> </ul>

	<p>d'alimentation ont été analysés à la recherche de <i>L. monocytogenes</i>, afin d'estimer le degré de contamination des établissements et d'analyser les caractéristiques moléculaires de ces souches.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sur les 1217 échantillons prélevés, 12 % des échantillons environnementaux des fabricants et 7,5 % des échantillons environnementaux des magasins d'alimentation se sont révélés positifs à <i>L. monocytogenes</i>.</li> <li>- Caractérisation des isolats environnementaux par WGS. Comparaison de toutes les données WGS recueillies.</li> </ul>
<b>Conclusions</b>	<p>Des souches persistantes ont été détectées aussi bien dans des zones qui étaient en contact avec des denrées alimentaires que dans celles qui ne l'étaient pas. Des échantillons ont à nouveau été prélevés dans les établissements concernés, qui ont bénéficié d'un soutien au besoin pour définir d'autres mesures.</p>

Cas pratique 6 : « Environmental sampling for *Listeria monocytogenes* control in food processing facilities reveals three contamination scenarios. » (Muhterem-Uyar *et al.*, 2015)

<b>Objet d'étude</b>	Établissements de transformation de viande et de lait (transformation à la ferme et entreprises industrielles)
<b>Motif et résultat</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mise en œuvre de mesures de surveillance de l'environnement à la recherche de <i>L. monocytogenes</i> dans six pays européens entre mars 2013 et mars 2014.</li> <li>- Douze établissements du secteur alimentaire (quatre transformateurs à la ferme, cinq entreprises industrielles de transformation du lait et trois établissements de transformation de la viande) ont été inspectés. Six des 12 établissements étaient exempts de contamination environnementale par <i>L. monocytogenes</i> au début de l'étude.</li> <li>- Au total, 2242 échantillons environnementaux ont été analysés à la recherche de <i>L. monocytogenes</i>. La fréquence totale de résultats positifs à <i>L. monocytogenes</i> était de 12,6 % (n = 282 ; 8,8 % dans des établissements de transformation de lait et 32 % dans ceux de viande), 3,5 % (n = 78) d'entre eux étant des résultats provenant de surfaces en contact avec des denrées alimentaires (<i>Food Contact Surfaces</i>, FCS) et 9,1 % (n = 204) des résultats concernant des surfaces sans contact avec des denrées alimentaires (<i>Non FCS</i>, NFCS).</li> <li>- Les isolats de <i>L. monocytogenes</i> ont été détectés par PCR.</li> <li>- La présence de <i>L. monocytogenes</i> a été décelée au moins une fois dans tous les établissements.</li> </ul>
<b>Conclusions</b>	<p>Selon les auteurs, les données de l'étude révèlent que <i>L. monocytogenes</i> est un germe fréquent dans les environnements de production des entreprises européennes étudiées et qu'il y a donc un risque permanent de contaminations croisées (« consistent cross-contamination risk »).</p>

Cas pratique 7 : « Phenotypic and molecular typing of *Listeria monocytogenes* isolated from the processing environment and products of a sandwich-producing plant. » (Blatter *et al.*, 2010)

<b>Objet d'étude</b>	Établissement de fabrication de sandwiches (produits prêts à l'emploi)
<b>Motif et résultat</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Surveillance sur 12 mois à la recherche de <i>L. monocytogenes</i> dans l'environnement, les ingrédients et les produits finis d'un fabricant suisse de sandwiches.</li> <li>- La bactérie <i>L. monocytogenes</i> a été mise en évidence par culture dans 70 (3,5 %) des 2028 échantillons prélevés par frottis provenant de l'environnement et dans 16 (7,4 %) des 217 échantillons de sandwiches et de leurs ingrédients. Sur les 86 souches de <i>L. monocytogenes</i> isolées, 93 % ont pu être rattachées au sérotype 1/2a. Parmi les résultats positifs, 67 (77,9 %) ont pu être rattachés au génotype (a, A) par rep-PCR (<i>repetitive element PCR</i>) et PFGE. Diverses souches de ce génotype ont persisté pendant plus de neuf mois sur les lieux de transformation (surtout sur les trancheuses et les tapis roulants), mais ont également été régulièrement détectées dans des sandwiches et leurs ingrédients.</li> </ul>
<b>Conclusions</b>	<p>Au bout de neuf mois, les règles de nettoyage et de désinfection de l'entreprise ont été remaniées. Ensuite, la bactérie <i>L. monocytogenes</i> n'a plus été détectée ni sur les lieux de transformation ni dans les sandwiches.</p>