

Etude des facteurs influençant la survie et la viabilité de *Listeria monocytogenes* au cours du traitement aérobie et anaérobie du lisier de porc

Jérémy Desneux, Anne-Marie Pourcher^a

^a Directeur de thèse

Introduction

Les traitements biologiques appliqués au lisier de porc pour éliminer la pollution azotée n'ont qu'un faible impact sur les microorganismes pathogènes. De fait, dans les zones à forte densité d'élevages, l'épandage du lisier peut représenter un risque sanitaire *via* la dissémination des microorganismes pathogènes. Une étude menée en 2008 par Irstea sur 44 élevages porcins bretons a montré une prévalence élevée de *Listeria monocytogenes* dans les lisiers et les effluents de lagunes. Dans plusieurs des élevages testés, *L. monocytogenes* a été retrouvée dans des effluents de lagune alors que sa présence n'a pas été démontrée dans les lisiers bruts.

Plusieurs questions sont alors soulevées par ces observations :

- Les conditions environnementales des lagunes favorisent-elles la persistance de cette bactérie ?
- Les lagunes contribuent-elles à la dissémination de *L. monocytogenes* dans l'environnement ?

Objectifs du doctorat

- Etudier l'influence des facteurs abiotiques et biotiques susceptibles d'influencer la survie de *L. monocytogenes* au cours du traitement des effluents porcins. Trois filières de gestion du lisier ont été retenues : **le simple stockage en fosse**, **la digestion aérobie** (traitement majoritairement utilisé en Bretagne) et **la digestion anaérobie mésophile** (filière en plein essor). Deux températures (hivernale et estivale), trois souches (isolées du lisier et/ou de la lagune) et trois types d'effluents seront comparés :
 - Lisier stocké en fosse
 - Effluent de lagune (obtenu après décantation du lisier traité par digestion aérobie)
 - Digestat de lisier
- Comprendre au niveau génomique l'adaptation de *L. monocytogenes* dans ces environnements.
- Etudier l'influence du traitement du lisier sur les gènes impliqués dans la virulence de *L. monocytogenes*.

Méthodologie

- Suivi de *L. monocytogenes* dans les microcosmes par plusieurs méthodes :

Méthode de quantification	Technique	Etat physiologique des souches
culturelle	milieu additionné de rifampicine	Formes viables cultivables
moléculaire	PCRq sur le gène <i>hlyA</i>	Formes vivantes et mortes
moléculaire	Étape de contact avec le PMA (propidium monoazide) suivie d'une PCRq du gène <i>hlyA</i>	Formes viables non cultivables

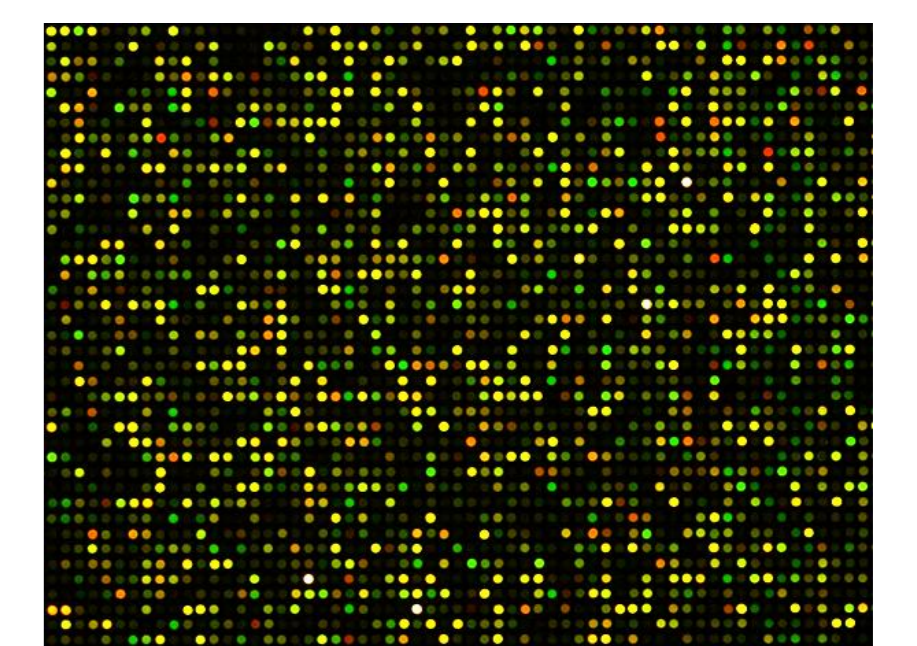


Fig 1 : Puce à ADN

- Analyse du transcriptome par puce à ADN (Fig 1) : extraction d'ARN, fabrication d'une puce, hybridation et analyse des données.

Résultats

- Optimisation des kits d'extraction d'ADN sur le lisier de porc ⇒ **choix du kit le plus adapté aux matrices étudiées** (Fig 2)
- Pré-tests de survie de *L. monocytogenes* en microcosmes ⇒ **comportement différent entre le lisier et la lagune**
- Mise au point du PMA ⇒ **conditions optimales déterminées**
- Mise en place du protocole d'extraction d'ARN pour l'analyse du transcriptome

Perspectives

- Sélection de 3 souches en fonction de leur typage moléculaire (ANSES HQPAP) :

1 spécifique du lisier, 1 spécifique de l'effluent de lagune et 1 commune aux deux matrices

- Suivi de la persistance des 3 souches en microcosmes
- Analyses transcriptomiques et fabrication d'une puce

www.irstea.fr (en collaboration avec l'UMR 1347 d'Agroécologie de Dijon)

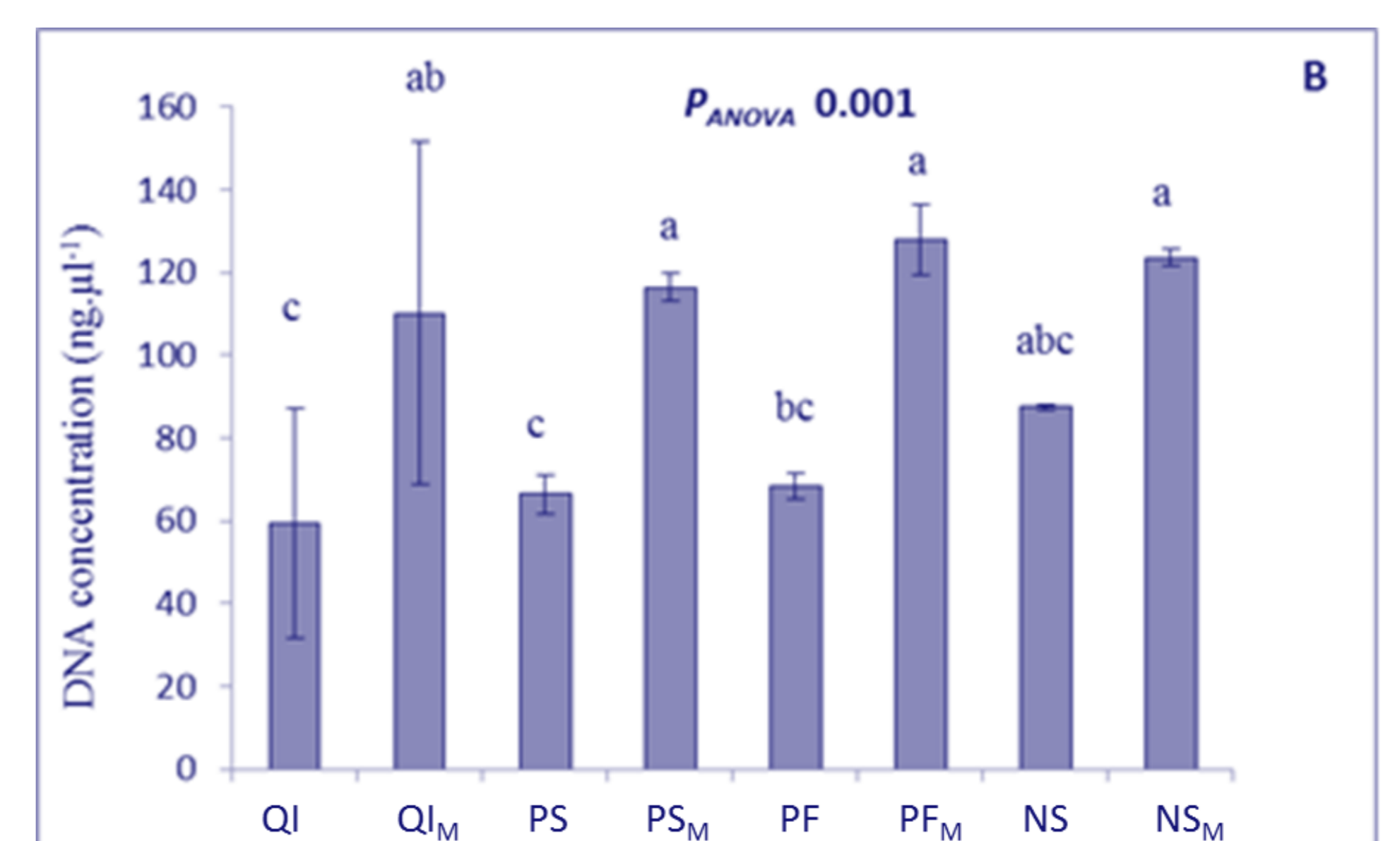


Fig 2 : Rendement de l'extraction d'ADN pour 4 kits testés avec ou sans modification

QI : Qiagen DNA stool, PS : PowerSoil, PF : PowerFecal, NS : NucleoSpin, M : modification du kit. Les lettres indiquent les groupes statistiques (test de Newman-Keuls). Les groupes ayant des lettres identiques ne diffèrent pas statistiquement ($p < 0,05$)