
DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL LISTERIOZEI

35.1. DATE GENERALE

35.1. 1. O minidefiniție

Listeriile sunt mici bacili grampozitivi, nesporulați, neacidorezistenți. Aerobi și microaerofili, cultivă între 1 și 45°C, fiind mobili numai în culturile la 20—25°C. Catalazopozitivi și oxidazonegativi, atacă zaharurile fermentativ.

35.1.2. Repere taxonomice

Genul *Listeria* reunește 8 specii, dintre care numai două, *L.monocytogenes* și *L.ivanovii*, pot îmbolnăvi omul. Din combinații ale antigenilor somatici (factorii O) și flagelare (factorii H) rezultă mai multe serovaruri. *L.monocytogenes* are 13 serovaruri, *L.ivanovii* numai unul.

35.1.3. Habitat

Listeriile au răspândire cosmopolită și sunt ubicvitare în ambianța noastră: se izolează din apele de suprafață, apele reziduale, sol, nămol; sunt prezente în fecalele unei game largi de animale (mamifere, păsări, pești, nevertebrate) și în vegetale în descompunere.

Pot contamina alimente ca lapte, brânzeturi, carne, zarzavaturi, iar capacitatea de a tolera substanțele conservante și de a crește la temperatura frigidierelor ridică probleme deosebite pentru conservarea prin refrigerare a alimentelor contaminate cu *Listeria*.

La om portajul fecal și genital de *Listeria* variază între 0,6 și 70%, cu o medie de 5—10%.

Cu o astfel de răspândire, înțelegem de ce principala poartă de intrare în organism este cea orală, dar și transmiterea sexuală este posibilă.

35.1.4. Factori de patogenitate

L.monocytogenes este o bacterie facultativ intracelulară a cărei virulență este determinată de mai mulți factori:

■ Hemolizine, listeriolizine α și β , oxigenabile și tiolactivate asemănător streptolizinei O. *L.ivanovii* produce o hemolizină asemănătoare listeriolizinei β , dar antigenic diferită.

- Structuri parietale sau de înveliș care determină monocitoză și imunosupresie.
- Adezine, invazine (fosfolipază etc.), superoxidismutază și catalază, care îi asigură supraviețuirea în fagozomi.

35.1.5. Receptivitatea la listerioze

La adultul normoreactiv infecțiile cu *L. monocitogenes* evoluează în general inaparent. Infecții manifeste clinic sunt, în general, mai rare și benigne.

Gazda imunocompromisă (alcoolici, imunosupresați etc.) au receptivitatea crescută. Dar cel mai receptiv la listerioză, care se transmite transplacentar, este fătul.

35.1.6. Listeriozele

Infecțiile cu *L. monocitogenes* după ingestia de doze masive prin consum de alimente în care bacteria s-a multiplicat evoluează ca *toxiinfecții alimentare cu sindrom diareic*. Alte infecții, relativ benigne, ale adultului normoreactiv sunt: *angină cu mononucleoză, conjunctivită, infecții ale tractusului urinar sau genital, cutanate*.

Foarte grave sunt *meningoencefalitele și septicemiile* cu *L. monocitogenes* la gazde imunocompromise.

Aproape 1/2 din listerioza umană evoluează ca *infecție perinatală*. Gravida în ultimul trimestru de sarcină poate face o infecție benignă sau inaparentă, care se transmite transplacentar produsului matur cu meningoencefalită sau septicemie cu noduli necrotici diseminați predominant în ficat.

Infecții cu *L. ivanovii* au fost rar semnalate.

35.2. INVESTIGAȚIA ETIOLOGICĂ ÎN LISTERIOZE

35.2.1. Diagnosticul microbiologic

35.2.1.1. Prelevate patologice

Se examinează probe de alimente, fecale, urină, exsudate, lichid cefalorahidian sau sânge, în raport cu localizarea infecției la adult. De la avortoni sau nou-născuții prematuri și infectați se prelevă probe de țesut hepatic, creier, lichid cefalorahidian, sânge.

35.2.1.2. Microscopia directă

Microscopia directă orientează diagnosticul către listerioză când, în prelevate necontaminate, depistează bacili fini grampozitivi în contextul unei reacții inflamatorii cu polimorfonucleare și macrofage.

35.2.1.3. Izolarea și identificarea

Etapa I. Se epuizează prelevatele necontaminate pe o placă cu geloză-sânge, iar cele contaminate pe geloză-sânge selectivă prin adaos de acid nalidixic (40 $\mu\text{g/ml}$) și tripaflavină (40 $\mu\text{g/ml}$), cu incubare peste noapte la 37°C în atmosferă cu 10% CO₂. Procentul izolărilor crește dacă, în afara epuizării inițiale pe geloză-sânge, prelevatele patologice se însămânțează pentru *imbogățire în bulion cu tioglicolat de sodiu, cu incubare la 4°C* și cu repicări săptămânale pe mediul selectiv.

Etapa II. Se urmărește apariția coloniilor rotunde cu diametrul de 0,5—1,5 mm, ușor convexe, S, cenușii-albastrii, cu irizație albastră-verzuie la iluminare oblică, vâscoase, dar ușor emulsionabile. Coloniile de *L.monocytogenes* se înconjură după 48 ore cu o zonă îngustă de β -hemoliză, iar cele de *L.Ivanovii* cu zone duble sau triple de β -hemoliză pronunțată. Se verifică microscopic 2—3 colonii pentru prezența bacililor fini grampozitivi și se repică pe panta de geloză-sânge, pentru acumularea de cultură pură necesară identificării.

Etapa III. Se identifică izolatele suspecte pe baza următoarelor caractere:

■ **Microscopice.** Listeriile sunt bacili grampozitivi, colorați uniform, de 0,4—0,5 μm diametru și 0,5—2 μm lungime. În culturi bătrâne apar în forme filamentoase. Se dispun izolat, în scurte lanțuri (confuzie posibilă cu streptococii), în palisade și unghiuri (confuzie posibilă cu corinebacteriile). Morfologic pot fi confundate și cu *Erysipelothrix*.

■ **Testul catalazei,** pozitiv pentru listerii, elimină confuzia cu streptococii catalazonegativi.

■ **Testele de mobilitate** diferențiază listeriile, mobile, de corinebacterii și *Erysipelothrix*, organisme imobile. Testele se fac pe culturi incubate la 22—25°C. În preparatul umed între lamă și lamelă listeriile au mișcări dezordonate de rostogolire, iar însămânțate prin înțepare în coloană de geloză moale opacifiază mediul intens cu aspect umbeliform.

■ **Testul cheratconjunctivitei** (testul Anton) după inocularea culturii în sacul conjunctival la iepure sau cobai diferențiază *L.monocytogenes* și *L.Ivanovii*, care dau testul pozitiv, de listeriile nepatogene cu test negativ.

■ **Testul CAMP.** Pe geloză cu sânge de berbec *L.monocytogenes* dă testul pozitiv cu *S.aureus*, iar *L.Ivanovii* cu *Rhodococcus equi*.

■ **Identificarea serovarurilor** de *L.monocytogenes* se face corect numai în laboratoarele de referință prin reacții de aglutinare pe lamă și în tuburi. Prezintă interes epidemiologic.

Etapa IV. Se analizează, se interpretează rezultatele testelor de identificare și se redactează buletinul de analiză.

35.2.2. Diagnosticul serologic

Se urmărește dinamica anticorpilor anti-*Listeria monocytogenes* prin RFC, imuno-precipitare sau hemaglutinare indirectă, utilizând antigeni tripsinați și seruri adsorbite (pentru a elimina reacțiile încrucișate cu stafilococi și enterococi). Titruri de 1:60 sunt suspecte, iar creșterea de cel puțin 4 ori a titrului după 10—14 zile certifică listerioza. O reacție negativă nu poate exclude infecția cu *L.monocytogenes*, dat fiind predominanța mecanismelor imunitare celulare.

35.2.3. Biopreparate pentru diagnosticul listeriozei

- Seruri aglutinante anti-O și anti-H sunt dificil de preparat, iar utilizarea lor, de regulă, este limitată în laboratoarele de referință.
- Antigeni tripsinați pentru serodiagnostic prin aglutinare în tub, RFC etc.