

Listeria

Historique

**Espèce décrite en 1926 par Murray lors d'une épizootie
(épidémie chez les animaux)**

Lord Lister, chirurgien anglais

monocytose sanguine

- **Taxonomie**
- La taxonomie moderne montre que le genre *Listeria* est sans relation avec celui des *Corynebacterium*, mais qu'il appartient à la branche des *Clostridium* à côté des *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*.
- Le genre *Listeria* comprend actuellement six espèces : *L. monocytogenes* (la seule pathogène à la fois pour l'homme et l'animal), et des espèces génotypiquement apparentées,
- *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*.
- Pour *L. grayi* ainsi que *L. murrayi*, avec laquelle elle a été récemment regroupée, un genre distinct, *Murraya*, a été proposé.

- **Caractères bactériologiques**

- **Morphologie**

- - Petits bacilles à Gram+, isolés ou associés en chaînettes, palissades, lettres grecques
- - Immobiles à 37°C, mobiles à 20°C (cils péritriches)
- - Non sporulés

- **Culture**

- - Possible de 4 à 42°C, de pH acide à pH basique
- - Favorisée sur milieux au sang
- - Petites colonies translucides de 1mm ø entourées d'une β -hémolyse étroite
- - Espèce aérobie-anaérobie facultative (microaérophile)

- **Vitalité**
- - **Bactérie persistante (sol, surfaces, aliments...)**
- - **Résiste à de fortes concentrations de NaCl (saumure)**
- - **Résiste 30' à 55°C**

Habitat et pouvoir pathogène

- **Habitat**
- *L. monocytogenes* est une bactérie saprophyte et ubiquitaire (sol, eaux, végétaux et matières fécales de mammifères sains (homme et nombreuses espèces animales)).
- Cette espèce est retrouvée dans des aliments d'origine animale (lait, viande, charcuterie, poissons, fromages, etc.) ou d'origine végétale (crudités, choux, etc.).
- C'est une bactérie très résistante dans le milieu extérieur pouvant survivre 1 à 2 ans.
- Elle peut se multiplier à + 4 °C (donc dans les réfrigérateurs) et survivre plusieurs années au froid.
- Les concentrations de *L. monocytogenes* peuvent atteindre 100 à 1000 UFC/g de viande et même 10⁶ UFC/g pour les fromages.
- La contamination de l'aliment peut survenir à n'importe quelle étape de sa production (matière première, transformation, distribution), mais aussi chez le consommateur dans le réfrigérateur.

- **Épidémiologie**

- La contamination de l'homme est rarement directe au contact d'animaux infectés ou interhumaine ; elle est pratiquement toujours indirecte, liée à l'ingestion d'aliments contaminés.
- Le terrain (grossesse, immunodépression, âge) joue un rôle important dans le développement d'une maladie ; dans la vie quotidienne, les expositions sont très fréquentes, sans conséquence pour les sujets sains (on estime à 1 à 20 % les porteurs sains).
- Les cas de listériose humaine surviennent soit de façon sporadique, soit sous forme d'épidémies.
- Des cas d'infections nosocomiales ont aussi été rapportés, notamment dans les maternités, et sont le plus souvent la conséquence du non-respect des règles d'hygiène.

Pouvoir pathogène

Listériose foeto-maternelle

1. Forme précoce généralisée :

- contamination anténatale de l'enfant par voie sanguine, point de départ intestinal
- en fonction de la période de la grossesse: avortement ou accouchement prématuré (apparition rapide des signes infectieux chez l'Enfant < 5j)

2. Forme tardive neuro-méningée :

- contamination de l'enfant au cours de l'accouchement
- méningite néo-natale quelques jours plus tard (généralement > 5j)

3. Chez la mère :

- infection souvent bénigne, syndrome pseudo-grippal

Listériose de l'adulte

- Terrain favorisant

déficiences transitoires ou chroniques de l'immunité cellulaire

cancers, diabète, cirrhose, grossesse...

- Formes neuro-méningées ++

réaction leucocytaire faible ou panachée dans le LCR, liquide clair

Infections animales

- Listériose = saprozoonose

- nombreuses espèces animales sensibles (>50 dont les bovins)
- méningo-encéphalites, septicémies, avortements...
- individus porteurs sains

Physiopathologie de l'infection

Développement intracellulaire

- La virulence de la bactérie est liée à sa capacité à se multiplier dans les cellules phagocytaires (macrophages notamment);

Protéines d'invasion

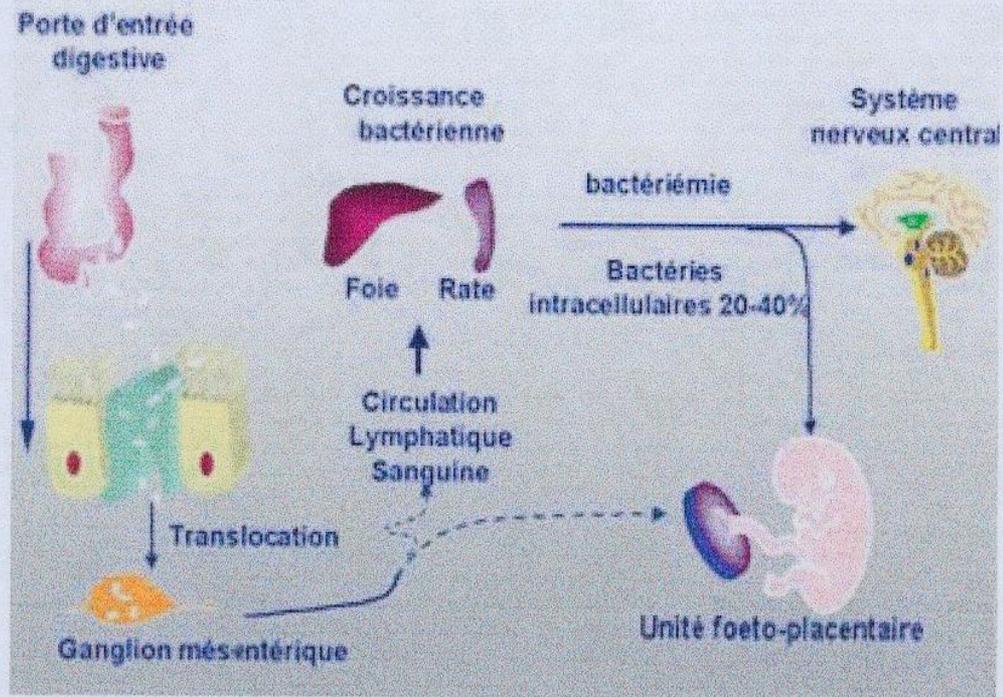
- Ligands de surface reconnaissant des récepteurs cellulaires spécifiques:
ex. internaline et E-cadhérine / entérocytes

La listériolysine O

- Lyse les vacuoles de phagocytose (phagolysosomes)

La protéine ActA

- Polymérise l'actine à l'un des pôles de la bactérie, permet la diffusion de cellule à cellule (envahissement des tissus)



Physiopathologie de la listériose

Diagnostic bactériologique

- **Diagnostic direct**
- **Prélèvements**
- Des hémocultures doivent être systématiquement pratiquées en cours de grossesse devant toute suspicion d'infection.
- Chez le nouveau-né, liquide gastrique et méconium sont prélevés dans le cadre d'un dépistage. En cas de suspicion clinique d'infection, une ponction lombaire et des hémocultures, prélèvements pharyngés, conjonctivaux et cutanés sont pratiqués.
- Chez la mère, les prélèvements concernent lochies, liquide amniotique, placenta.

- L'examen du placenta peut parfois montrer macroscopiquement des nodules listériens.
- Dans les méningites, on observe généralement une cytologie modérée : 100 à 500 éléments/mm³ avec une formule panachée polynucléaires-lymphocytes qui doit faire suspecter *L. monocytogenes* même en l'absence d'examen direct évocateur.
- Il est possible d'observer des méningites à liquide clair (20 à 30 éléments/mm³), mais aussi des méningites purulentes à prédominance de polynucléaires neutrophiles.
- Différents prélèvements de lésions cutanées, urines, voire LCR, hémocultures permettent l'isolement non attendu de *L. monocytogenes*.
- La recherche dans les selles est rarement pratiquée.

Transport

Il n'y a pas d'exigence particulière, la bactérie étant résistante.

Le prélèvement, s'il n'est pas à traiter en urgence, peut être stocké à + 4 °C avant ensemencement.

Examen direct

L. monocytogenes est un petit bacille à Gram positif (0,5 à 1,2 µm) ; il peut être isolé ou en courtes chainettes (Fig).

Des formes plus longues et des amas voire des aspects en palissade peuvent se voir dans les cultures, pouvant les faire confondre avec des corynebacteries.

Les LCR sont généralement paucibacillaires et les bactéries peuvent être intra- ou extracellulaires.



Fig. Image de *Listeria* en microscopie à balayage.

Culture

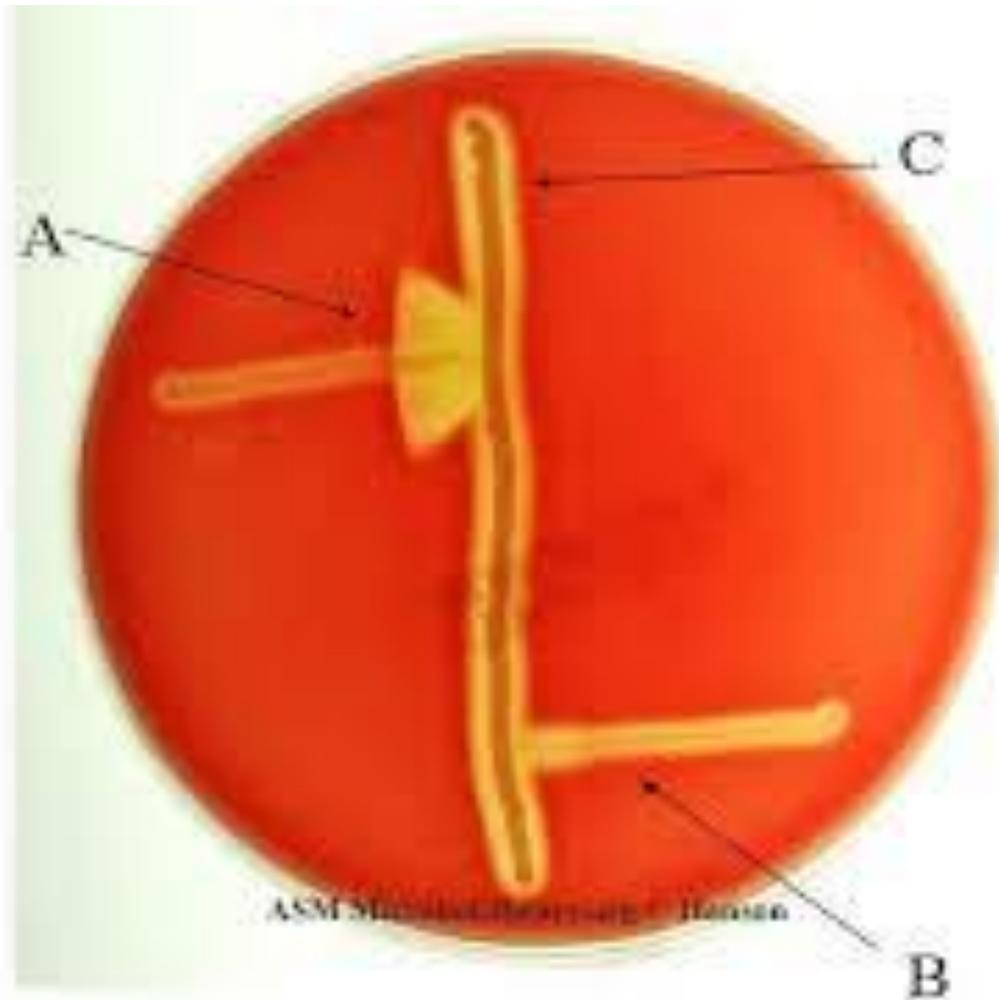
L. monocytogenes cultive bien sur milieux usuels, la croissance étant favorisée par l'addition de sang (5 %).

La croissance est obtenue en aérobiose, voire en atmosphère microaerophile. Les milieux sont généralement placés à 37 °C, mais des enrichissements en bouillon laissés à 4 °C ont été proposés sans que le gain soit flagrant.

Pour la culture, on tentera l'ensemencement direct de :

■ **milieux nutritifs** où la croissance est généralement observée après 18 heures à 37 °C. On utilise une gélose trypticase-soja sur laquelle on observe des petites colonies, translucides qui présentent une iridescence bleu-vert en lumière oblique ou une gélose au sang (mouton, cheval, etc.) permettant en outre d'observer une étroite zone d'hémolyse rendue visible en déplaçant la colonie ou potentialisée par le CAMP-test (Christie-Atkins-Munch-Peterson).

- Le CAMP-test est réalisé en utilisant une gélose trypticase, soja contenant 5 % d'hématies de mouton, en pratiquant à la surface des stries perpendiculaires de la souche de *Listeria* et d'une souche de *Staphylococcus aureus* (CIP 5710) ou de *Rhodococcus equi* (CIP 5869).
- L'hémolyse est accentuée autour de la souche de *S. aureus* et *L. monocytogenes* et autour de la souche de *R. equi* pour *L. ivanovii* ;

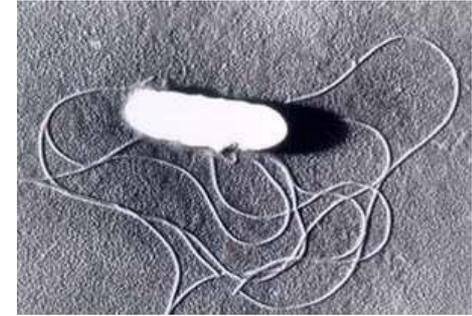


- **milieux sélectifs** : on peut utiliser des géloses au sang rendues sélectives par l'addition de colistine ou d'acide nalidixique, de chlorure de lithium et/ou de cycloheximide.
- A noter que la culture est possible sur milieux hostiles (hypersalés, biliés) ou sur gélose de MacConkey.
- Depuis peu, des milieux utilisant des substrats chromogènes (CHEglucoside) avec du gluconate ferreux permettent de détecter les colonies de *L. monocytogenes* produisant un pigment noir, ou bien on utilise la détection de β -glucosidase ou de phospholipase C.
- Différents milieux chromogènes sont commercialisés (ALOAR, BMC *L. monocytogenes*R, CHROM AgarR, etc.).

- **Identification**

- La coloration de Gram permet l'observation des bacilles à Gram positif plus longs qu'à l'examen

direct, parfois en courtes chainettes ou en amas.

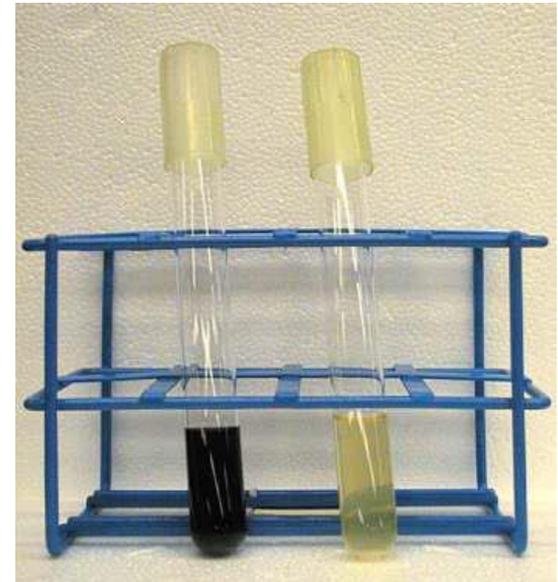


- L'examen entre lame et lamelle de cultures en bouillon conduites parallèlement

à 22 et à 37 °C

permet d'observer une mobilité à 22 °C (péritriche) et une quasi-absence à 37 °C.

- Catalase +, esculine +, VP+, RM+.



- Le diagnostic de genre et d'espèce est obtenu en recourant à des galeries miniaturisées (API *Listeria*R, bioMérieux) ou à des systèmes automatisés (VitekR).
- Les caractères différentiels au sein du genre sont regroupés dans le tableau ci-après.
- Seule l'espèce *L. monocytogenes* est pathogène pour l'homme ; quelques rares isollements de *L. ivanovii* ont été rapportés chez l'homme. L'identification du genre *Listeria* et de l'espèce est possible par MALDI-TOF.

■ sérovars : il existe 15 Ag somatiques O (I a XV) et 5 Ag flagellaires H (A a E).

Le stéréotypage peut également être réalisé par PCR multiplex à partir de la séquence du gène *prf* et de 4 séquences d'autres gènes permettant « le serogroupe PCR ».

- lysotype relevant de laboratoires spécialisés à l'aide de lots de phages;
- méthodes moléculaires : dans le cas d'épidémies.

| | <i>L. monocytogenes</i> | <i>L. ivanovii</i> | <i>L. innocua</i> | <i>L. welshimeri</i> | <i>L. seeligeri</i> | <i>L. grayi</i> * | <i>L. murrayi</i> * |
|-----------------------------|--|--------------------|------------------------|----------------------|-------------------------------|-------------------|---------------------|
| Hémolyse | + | ++ | - | - | + (faible) | - | - |
| CAMP-test | | | | | | | |
| <i>S. aureus</i> | + | - | - | - | + | - | - |
| <i>R. equi</i> | - | + | - | - | - | - | - |
| Acidification | | | | | | | |
| D-xylose | - | + | - | + | + | - | - |
| L-rhamnose | + | - | v | v | - | - | v |
| Mannitol | - | - | - | - | - | + | + |
| α -méthylD-mannoside | + | - | + | + | - | + | |
| Nitrate réductase | - | - | - | - | - | - | + |
| Pathogène pour souris | + | + | - | - | - | - | - |
| Pouvoir pathogène naturel | Animaux Homme | Ovins | - | - | - | - | - |
| Sérovars | 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4ab, 4c, 4d, 4 ^e , 7 | 5 | 6a, 6b, 4ab, s.n.d. | 6a, 6b | 1/2b, 4c, 4d, 6b s.n.d. | | |

* *Murraya*.

CAMP : Christie, Atkins, Munch-Petersen ; s.n.d. : sérovar non désigné.

- **Virulence**
- La difficulté consiste à distinguer les souches virulentes ou non virulentes.
- Le caractère hémolytique et/ou la recherche du gène de l'hémolysine- β sont en faveur d'une virulence.
- Mais la technique la plus couramment pratiquée pour identifier les souches virulentes repose sur le **test d'Anton** (Fig.). Il consiste en l'instillation au niveau du sac conjonctival d'un oeil de lapin d'une suspension bactérienne (3 gouttes d'une culture de 18 heures en bouillon diluées dans 5 ml d'eau distillée) ; celle-ci est suivie, si la souche est virulente, de l'apparition d'une conjonctivite purulente.

