

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ
VETERINARĂ
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ
IAȘI**

**CERCETĂRI BACTERIOLOGICE PRIVIND
LISTERIA MONOCYTOGENES ȘI IMPLICAȚIILE SALE
EPIDEMIOLOGICE**

- REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT -

**CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC,
PROF.DR. PERIANU TUDOR**

**DOCTORAND,
CARP-CĂRARE CĂTĂLIN**

**IAȘI
2006**

CUPRINS

Introducere

Partea I – Stadiul cunoașterii

Cap. 1 Date bibliografice privind taxonomia, morfologia și fiziologia genului *Listeria*

- 1.1 Taxonomie
- 1.2 Cultivare și caractere culturale
- 1.3 Caractere morfologice
- 1.4 Caractere biochimice
- 1.5 Sisteme de tipizare și subtipizare
 - 1.5.1 Serotipie
 - 1.5.2 Lizotipie
 - 1.5.3 Sisteme de tipaj molecular
 - 1.5.3.1 Electroforeza izoenzimelor (Multilocus Enzyme Electrophoresis)
 - 1.5.3.2 Polimorfismul profilurilor de restricție a AND-ului cromozomial
- 1.6 Teste de patogenitate
- 1.7. Fiziologie
 - 1.7.1 Temperatura și influența sa asupra creșterii
 - 1.7.2 pH-ul și influența acestuia asupra creșterii
 - 1.7.3 Influența clorurii de sodiu (NaCl) asupra creșterii
 - 1.7.4 Aw (active water) și influența asupra creșterii
- 1.8 Rezistența speciei *Listeria monocytogenes* la diferiți factori
 - 1.8.1 Temperatura
 - 1.8.2 Radiațiile
 - 1.8.3 Substanțele chimice
 - 1.8.4 Bacteriocinele și lactoperoxidoza
 - 1.8.5 Agenții acidifianți
 - 1.8.6 Antiseptice și dezinfectante
 - 1.8.7 Sensibilitatea la antibiotice

Cap.2 Metode de izolare și identificare a speciei *Listeria monocytogenes*

- 2.1 Îmbogățirea probelor
 - 2.1.1 Factori fizico-chimici selectivi

2.1.2 Inhibitori chimici

2.2 Metode de izolare

2.2.1 Metoda FDA (Food and Drug Administration) (Ryser și Marth, 1988)

2.2.2 Metoda FIL (Federația Internațională a Lactatelor)

2.2.3 Metoda USDA (United States Drug Administration) pentru izolarea speciei *Listeria monocytogenes* din cărnuri

2.2.4 Protocolul de izolare a speciei *L. monocytogenes* pentru diverse produse alimentare

2.2.5 Determinarea speciei *Listeria monocytogenes* după AFNOR V08-055

2.2.6 Izolarea după metoda "Rapid L. Mono" (Sanofi diagnostic, Pasteur)

2.2.7 Metoda CDC (Centers for Disease Control and Prevention) utilizată pentru izolarea din alimente contaminate

2.2.8 Tehnica de izolare din produse patologice de origine animală (COFRAC/CNEVA Pr 116/00/BA 90/00)

2.2.9 Metoda alternativă de izolare din placentă (COFRAC/CNEVA Pr 116/00/BA 90/00)

2.2.10 Tehnica de izolare din fecale de origine animală și silozuri (COFRAC/CNEVA Pr 116/00/BA 90/00)

2.3 Tehnici de identificare

2.3.1 Metode clasice de identificare.

2.3.2 Metode biochimice

2.3.3 Tehnici moderne de identificare

2.3.3.1 Metode serologice

2.3.3.2 Metode lizotipice

2.3.3.3 Metode imunologice

2.3.3.4 Metode imunofizice

2.3.3.5 Metode de biologie moleculară

Cap. 3 Date privind etiologia, epidemiologia și patogeneza listeriozei

3.1 Etiologia infecțiilor listerice

3.2 Epidemiologia listeriozei

3.2.1 Rezervoare de *Listeria monocytogenes*

3.2.2 Alimentele – principala sursă de infecție a omului

3.2.3 Receptivitatea gazdei

3.2.4 Modalități de transmitere.

3.2.5 Incidența listeriozei

3.2.6 Formele epidemiologice ale bolii

3.3 Patogeneza infecțiilor listerice

Cap. 4 Implicațiile speciei *Listeria monocytogenes* în patologia veterinară

4.1 Listerioza ovină

4.2 Listerioza bovină

4.3 Listerioza suină

4.4 Listerioza ecvină

4.5 Listerioza canină

4.6 Listerioza la iepure

4.7 Listerioza la animalele pentru blană

4.8 Listerioza aviară

Partea a II – a – Cercetări proprii

Cap. 5 Cercetări privind portajul genului *Listeria* la diferite specii de animale domestice.

5.1 Material și metodă

5.2 Rezultate și discuții

5.3 Concluzii

Cap. 6 Cercetări privind frecvența speciei *Listeria monocytogenes* în furaje și alimente de origine animală

6.1 Cercetări privind frecvența speciei *Listeria monocytogenes* în furaje

6.1.1 Material și metodă

6.1.2 Rezultate și discuții

6.1.3 Concluzii

6.2 Cercetări privind frecvența speciilor din genul *Listeria* în produse alimentare de origine animală

6.2.1 Cercetări privind frecvența speciei *Listeria monocytogenes* în lapte și unele produse lactate

6.2.1.1 Material și metodă

6.2.1.2 Rezultate și discuții

6.2.1.3 Concluzii

6.2.2 Cercetări privind frecvența *Listeria spp.* în carnea de porc

6.2.2.1 Material și metodă

6.2.2.2 Rezultate obținute și discuții

6.2.2.3 Concluzii

Cap. 7 Cercetări privind listerioza ovină

7.1 Material și metode

7.2 Rezultate și discuții

7.3 Concluzii

Cap. 8 Cercetări privind sensibilitatea tulpinilor izolate față de antibiotice

8.1 Material și metodă

8.2 Rezultate și discuții

8.3 Concluzii

Cap. 9 Concluzii finale

Rezumat

Bibliografie

Introducere

După Bind, sunt mai mult de 20 de ani de când problemele pe care le pune *Listeria* vizează atât domeniul medical uman cât și cel veterinar.

O formidabilă evoluție a avut loc de când cunoștințele transmiterii listeriozei de la animale la oameni s-au aprofundat. (Menudier și col., 1996). Din primii ani de descifrare a epizootologiei și epidemiologiei listeriozei, ea a fost considerată antropozoonoză și chiar ca “antropozoonoza viitorului”. Odată cu acumularea de noi cunoștințe și pe baza perfecționării metodelor de izolare a bacteriei din diferite substraturi și materiale patologice, acest punct de vedere a fost reconsiderat. Transmiterea bolii de la animale la om nu se poate exclude, deși confirmările în această direcție sunt rare, dar trebuie subliniat faptul că sursele de infecție pentru om pot fi reprezentate de rezervoare mult mai vaste. Izolarea speciei *Listeria monocytogenes* din sol, apă, plante, din tubul digestiv al diferitelor specii de animale și al oamenilor clinic sănătoși, dar mai ales din diferite produse alimentare demonstrează că omul se poate infecta prin surse mult mai diverse decât cele reprezentate de animale, sugerându-se chiar posibilitatea infecțiilor endogene la purtătorii animalii și umani, sub acțiunea diferiților factori care micșorează rezistența organismelor. În prezent se cunosc și cazuri de infecție interumană, în special cele intraspitalicești dar care, ca și cele apărute în urma relației animal-om sunt foarte rare.

Observarea unor forme epidemice ale bolii a pus în evidență rolul alimentelor în transmiterea bolii la om (Hird, 1987). Dezvoltarea interesului pentru cercetarea acestei bacterii și lupta împotriva ei au modificat profund nevoile de tehnici analitice. Este de fapt o înlocuire a domeniului de patologie cu cel de igienă alimentară. Specialiștii se ocupă mai puțin de materiale patologice (în general monomicrobiene și adesea contaminate) și mai mult de produse alimentare care într-un număr mare de cazuri sunt puțin bogate în *Listeria*, la momentul analizei, adesea polimicrobiene, susceptibile de a evolua mai ales dacă produsele sunt refrigerate (Bind, 1990). În ceea ce privește receptivitatea, practic toate animalele sălbatice sau domestice sunt sensibile la infecția cu *Listeria* (Larpent, 2000).

De la descrierea primelor cazuri de boală la om și, mai ales după ce s-a stabilit că unele produse alimentare pot sta la originea îmbolnăvirilor sporadice sau colective,

iar procentul de mortalitate printre persoanele bolnave poate atinge valori de 20-30%, s-a acordat o foarte mare atenție cunoașterii și măsurilor de prevenire a acestei toxinfecții alimentare. Dovada o constituie congresele internaționale asupra listeriozei care, începând cu anul 1957 (GIESSEN-Germania) se repetă cu regularitate la intervale de câțiva ani iar în unele țări dezvoltate (SUA, Franța) s-au elaborat programe speciale pentru monitorizarea speciei *Listeria monocytogenes* în alimente.

Definită ca "microorganism al cărui principal mijloc de transmitere la oameni este prin intermediul alimentelor contaminate în timpul producției și procesării" (World Health Organisation Working Group, 1988), *Listeria monocytogenes* este considerat a fi agentul infecțios care induce cea mai mare mortalitate în cazul contaminării. De asemenea creșterea segmentului de populație susceptibil de infecție, datorită unor boli care afectează statusul imunitar, malnutriției sau chiar datorită îmbătrânirii, fac din listerioza umană o boală demnă de luat în serios.

În acest context, trebuie avut în vedere faptul că, infecțiile produse de *Listeria*, nu pot fi încă controlate eficient, datorită necunoașterii incidenței reale la bolnavii cu toxinfecții alimentare, întrucât prevalența în produsele alimentare de origine animală, dar și vegetală nu este evaluată complet și permanent. Chiar dacă contaminarea omului cu *Listeria* are rareori o origine directă animal-om, prezența acestei bacterii la rumegătoare domestice (bovine, ovine) poate avea ca și consecințe contaminarea produselor alimentare destinate omului.

Urmărind acest aspect, cu elementele sale incerte sau încă necunoscute, în cadrul studiilor efectuate, s-a urmărit investigarea, aprofundarea, clarificarea și completarea datelor din literatura de specialitate cu observații proprii. Astfel, am căutat să evidențiem și să aprofundăm elementele revelatorii pentru clarificarea rolului alimentelor de origine animală, dar și a animalelor ca purtătoare de germeni, în declanșarea toxinfecțiilor alimentare la om.

Legat de acest subiect de interes deosebit, s-a abordat și tematica tezei luate în studiu, cu titlul : "Cercetări bacteriologice privind *Listeria monocytogenes* și implicațiile sale epidemiologice". Teza de doctorat are un volum de 253 pagini, și este structurată conform criteriilor în vigoare, în două părți : prima parte care cuprinde un studiu bibliografic, cu date cât mai recente asupra subiectului cercetat, și a doua parte în care sunt descrise cercetările proprii. Lucrarea este ilustrată cu 47 de tabele și 72 de grafice, în majoritatea lor color.

În prima parte, redactată în cadrul a 4 capitole sunt prezentate aspecte legate de taxonomia, fiziologia, epidemiologia și patogeniza listeriilor, precum și date referitoare la principalele metode de izolare și identificare aplicate la ora actuală. În ultimul capitol din prima parte sunt abordate implicațiile speciei *Listeria monocytogenes* în patologia veterinară.

A doua parte, de cercetări proprii, elaborată în patru capitole și unul de concluzii generale, urmărește aspecte legate de portajul bacteriei la animale domestice de interes zootehnic (cap. 5), frecvența bacteriei în alimente de origine animală și furaj însilozat (cap. 6), manifestarea listeriozei din punct de vedere clinic și epidemiologic în două focare de listerioză ovină (cap. 7), precum și un capitol în care s-a studiat sensibilitatea tulpinilor izolate față de antibiotice (cap. 8). În ultimul capitol (cap.9) sunt prezentate sintetic concluziile generale.

În primul capitol din partea bibliografică, sunt descrise date recente referitoare la taxonomia, morfologia și fiziologia genului *Listeria*, urmărindu-se și rezistența speciei *Listeria monocytogenes* la diferiți factori fizici sau chimici.

Capitolul 2 este structurat în 3 subcapitole, și prezintă tehnici de îmbogățire a probelor, urmărind apoi principalele metode de izolare și identificare pentru *Listeria monocytogenes*, din alimente.

În cadrul **capitolului 3** sunt tratate date referitoare la etiologia, epidemiologia și patogeniza listeriozei, iar în **capitolul 4** sunt prezentate implicațiile speciei *Listeria monocytogenes* în patologia veterinară, fiind descrisă listerioza ca boală infecțioasă, la animalele domestice de interes zootehnic.

Capitolul 5, primul din cadrul părții de cercetări proprii, prezintă **cercetările legate de portajul genului *Listeria* la principalele specii de animale domestice** de interes zootehnic.

Contaminarea mediului ambiant se poate realiza adesea de către animalele domestice sau sălbatice, fie direct prin secrețiile și excrețiile acestora, provenite de la animale bolnave sau de la purtătorii sănătoși, fie indirect, atunci când omul folosește ca îngrășământ dejecții provenite de la animale domestice.

În cel de-al doilea caz riscurile apariției îmbolnăvirilor de listerioză la om sunt mai mari, deoarece produsele vegetale fertilizate cu ajutorul îngrășământului contaminat, pot ajunge direct în alimentația consumatorului, iar unele din acestea sunt consumate

fără a fi tratate temic, riscul devenind astfel iminent. În plus dacă bacteria ajunge să contamineze anumite produse vegetale, se poate multiplica apoi pe perioada stocării sau depozitării alimentelor, ducând astfel la o încărcătură bacteriană mare (nr de celule bacteriene/gram), periculoasă pentru consumul uman.

Unii cercetători atribuie un rol major animalelor domestice în portajul, înmulțirea și difuzarea listeriei în mediul extern, și implicit în transmiterea bolii la animale, precum și în contaminarea unor alimente vegetale.

În acest context, s-a urmărit determinarea stării de purtător și eliminator de germeni la câteva specii de animale domestice, cu o importanță deosebită din punct de vedere zootehnic. S-au realizat determinări de portaj din materiile fecale și din tonsile, la două specii sacrificate mai frecvent în abatoare.

5.1 Material și metodă

Cercetările s-au efectuat în perioada 2002-2005 pe un număr total de 169 probe de fecale și 120 probe de tonsile. Din cele 169 probe de fecale, 50 au provenit de la bovine, 50 de la ovine, 50 de la suine și 19 probe au fost recoltate de la iepuri de casă.

Probele de tonsile au fost recoltate în stare proaspătă de la animale sacrificate în abator și destinate consumului alimentar, proveniența lor fiind următoarea : 60 de probe recoltate de la suine și 60 de probe de la bovine. (tabel nr. 25, fig. nr. 14)

Tabel nr. 25

Repartizarea probelor recoltate pe specii

Nr. crt	Specia animală	Material patologic			
		Materii fecale		Tonsile	
1	Bovine	50	29,6%	60	50%
2	Suine	50	29,6%	60	50%
3	Ovine	50	29,6%	-	-
4	Iepuri de casă	19	11,2%	-	-
5	Total nr. probe	169	100%	120	100%

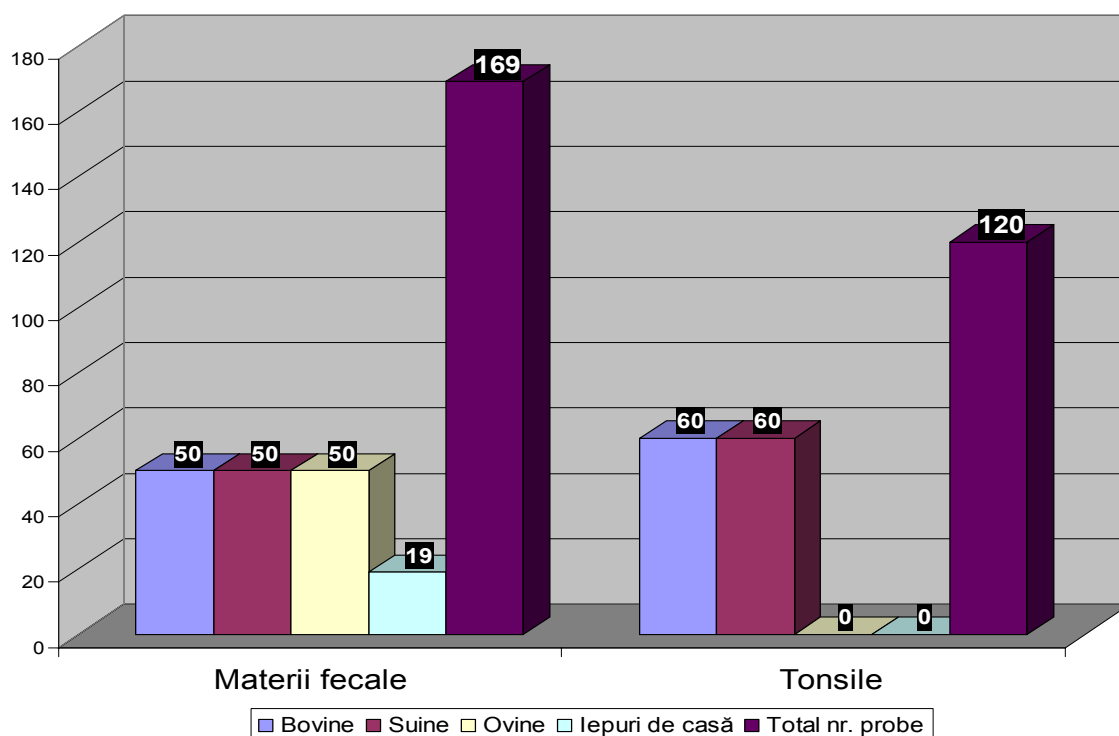


Fig. nr. 14

Repartizarea probelor recoltate pe specii

Pentru izolarea speciei *Listeria monocytogenes* s-a utilizat tehnica recomandată de diferite foruri europene (Centre National d'Etudes Vétérinaires et Alimentaires-CNEVA), special recomandată pentru fecale de origine animală și silozuri.

Conform acestei tehnici 25 de grame din probă s-au diluat în 225 ml bulion Fraser "demi", urmând o incubare la 30°C, timp de 24 de ore. Dacă eșantionul recoltat este insuficient, atunci se poate introduce toată proba în 10 ml bulion de îmbogățire Fraser "demi".

După perioada de incubare, s-a făcut o însămânțare pe mediul selectiv Palcam-modificat, iar 0,1 ml din bulionul de preîmbogățire s-au trecut în bulion de îmbogățire Fraser, care a fost incubat timp de 36-48 ore la 37°C. Din acesta s-au făcut însămânțări pe geloza Palcam modificată, atât la 24 cât și la 48 de ore, plăcile cu mediile selective fiind incubate la 37°C, și observate timp de două zile (fig. nr. 15).

Coloniile suspecte au fost transplantate apoi pe medii neselective, respectiv geloză cu triptonă, soia și sânge de berbec. S-au incubat 18-24 de ore la 37°C și apoi s-au identificat utilizând testele API-*Listeria* și CAMP. Identificarea s-a realizat cu

ajutorul a doua teste care permit fie interpretarea unor caractere biochimice, în cadrul testelor API, fie interpretarea hemolizei, în cadrul testului CAMP. În cazul tonsilelor, prelevarea s-a făcut cu instrumentar steril, iar transportul acestora la laborator s-a efectuat în plăci Petri sterile sau în recipiente speciale pentru material patologic. Până la momentul prelucrării probelor, pentru a împiedica dezvoltarea unei eventuale flore de asociație sau a celei de putrefacție, s-a asigurat o temperatură de refrigerare (4°C).

Pentru izolarea speciei *Listeria monocytogenes* s-a utilizat o tehnică standardizată, recomandată în cazul produselor patologice de origine animală (COFRAC/CNEVA).

Astfel tonsilele recoltate au fost omogenizate în apă peptonată, iar din broiajul obținut s-au făcut însămânțări în bulion cord-creer. În paralel s-au făcut însămânțări pe geloză Palcam modificată (polimixină, acriflavină, clorură de litiu, ceftazidină, esculină, manitol) și pe geloză Columbia ANC cu sânge de berbec. După 24 de ore de incubare la 37°C , din bulionul cu adaos de cord și creer s-au făcut însămânțări pe geloză Palcam și pe geloză ANC cu sânge de berbec. Mediile însămânțate au fost incubate la 37°C și observate timp de trei zile.

Coloniile specifice (5 colonii sau mai multe) s-au transplatat pe geloză triptonă-soia cu sânge de berbec și s-au incubat 18-24 ore la 37°C .

Identificarea și confirmarea speciei s-a realizat tot cu ajutorul testelor Camp și Api-Listeria.

În cadrul testului CAMP, pe suprafața agarului cu sânge de oaie, turnat în plăci Petri, s-au striat în linie dreaptă, pe tot diametrul cutiei, o tulpină proaspătă de *Staphylococcus aureus* și una de *Rhodococcus equi*.

Strierea s-a realizat pastrându-se o distanță de 3-4 cm una de alta și cât mai paralele. Tulpinile care s-au testat, au fost striate perpendicular pe primele două, astfel încât să se oprească la 2-3 mm de cele martor. S-a urmărit accentuarea zonelor de hemoliză produse de tulpinile testate. Accentuarea s-a observat fie în dreptul speciei *Staphylococcus aureus*, în cazul tulpinilor de *Listeria monocytogenes* și *Listeria seeligerii*, fie de către *Rhodococcus equi*, în cazul tulpinilor de *Listeria ivanovii*.

Tot în scopul identificării s-a utilizat și testul API-Listeria, în cadrul căruia s-au examinat 10 caractere biochimice.

5.2 Rezultate și discuții

În urma cercetărilor efectuate în cazul portajului listeriei din fecale de bovine, s-a constatat prezența bacteriei *Listeria spp.* în 4 din cele 50 de probe examinate, ceea ce reprezintă 8%. Din acestea, trei (6%) s-au dovedit a fi *Listeria monocytogenes*, iar o tulpină (2%) a fost identificată ca fiind *Listeria ivanovii*, aspecte prezentate sintetic și mai jos (tabel nr. 27, fig. nr.16 și 17)

Tabel nr. 27

Portajul speciilor de *Listeria* în fecale de bovine

Nr. de probe examinate	Nr. probe pozitive		Nr. probe negative
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. ivanovii</i>	
50	3 (6%)	1 (2%)	46 (92%)

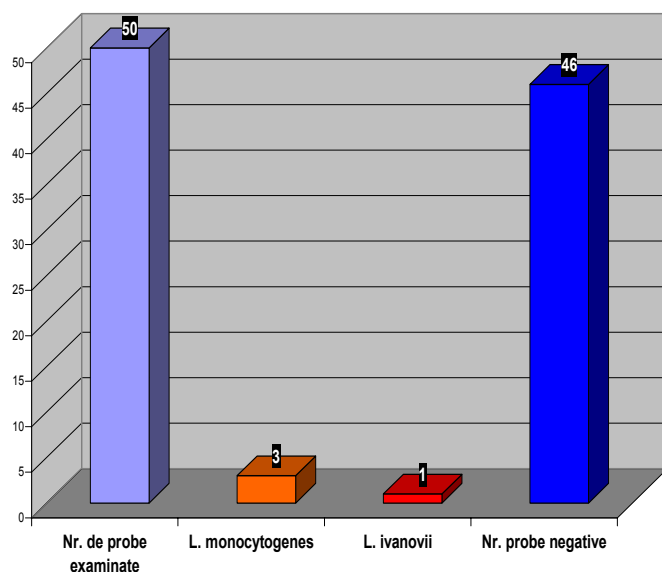
Portajul speciilor de *Listeria* în fecale de bovine

Fig. nr. 16

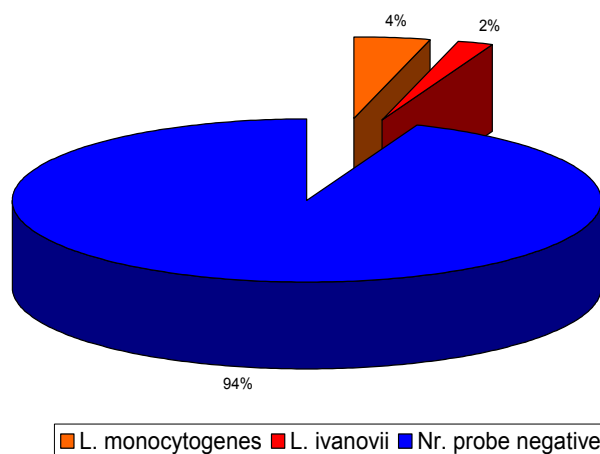


Fig. nr. 17

În cazul fecalelor recoltate de la ovine, cercetările efectuate în vederea portajului, au arătat că din totalul celor 50 de probe analizate s-au identificat două tulpini de *Listeria monocytogenes* (4%), aspect prezentat sintetic în tabelul și figurile de mai jos. (tabel nr. 28, fig. nr. 18 și 19)

Tabel nr. 28

Portajul speciei *Listeria monocytogenes* în fecale de ovine

Nr. probe examinate	Probe pozitive <i>Listeria monocytogenes</i>	Probe negative
50	2 (4%)	48 (96%)

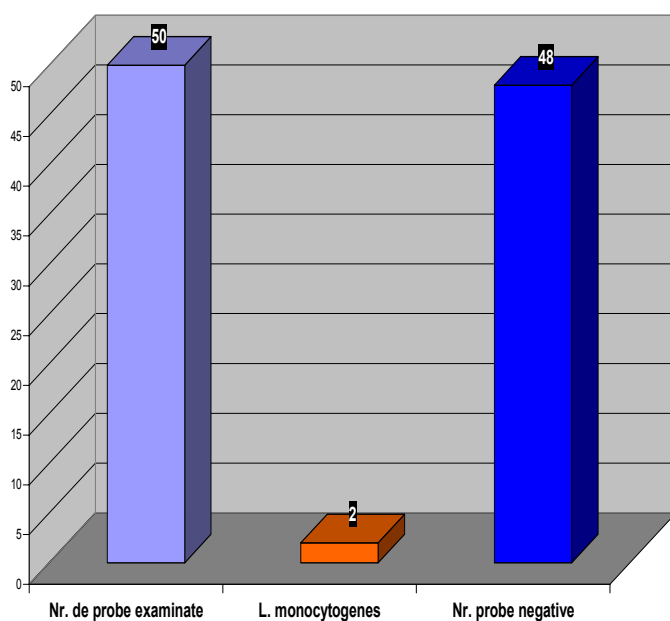


Fig. nr. 18

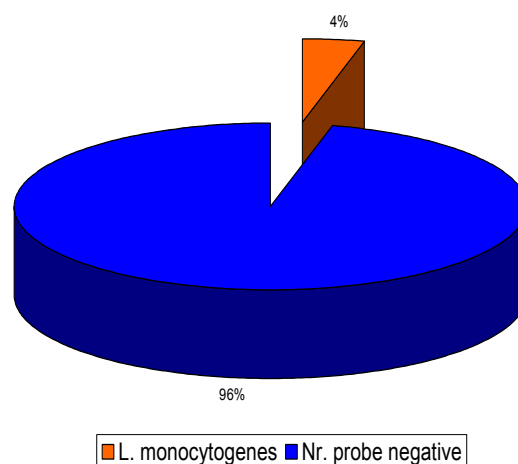


Fig. nr. 19

Portajul speciei *Listeria monocytogenes* în fecale de ovine

Din totalul celor 50 de probe de fecale examinate de la suine, trei tulpini (6%) au fost identificate ca *Listeria monocytogenes*, restul de 47 probe (94%) dovedindu-se negative. (tabel nr. 29, fig. nr. 20 și 21)

Tabel nr. 29

Portajul speciei *Listeria monocytogenes* în fecale de suine

Nr. probe examinate	Probe pozitive <i>Listeria monocytogenes</i>	Probe negative
50	3 (6%)	47 (94%)

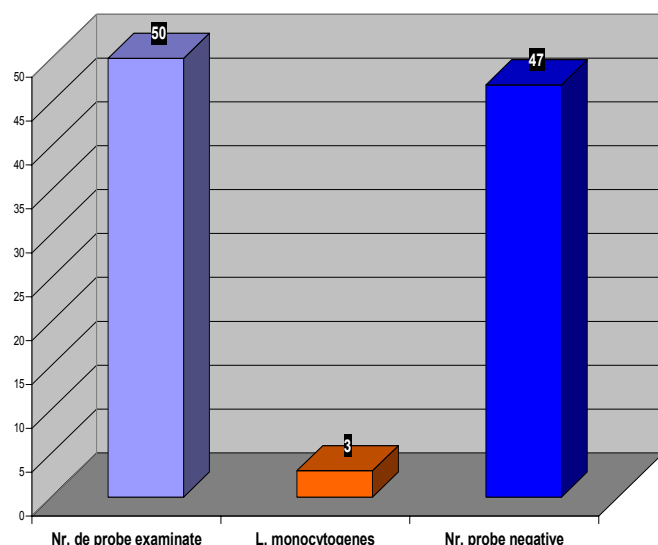


Fig. nr. 20

Portajul speciei *Listeria monocytogenes* în fecale de suine

În cazul celor 19 probe de fecale recoltate de la iepuri de casă și examinate în vederea portajului nu s-a identificat nici o tulpină de *Listeria monocytogenes*.

Din cele 60 de probe de tonsile recoltate de la bovine, s-au izolat trei tulpini de *Listeria monocytogenes* și două de *Listeria innocua*, ceea ce reprezintă 5% și respectiv 3,33% (tabel nr.30, fig. nr. 22 și 23)

Tabel nr.30

Portajul genului *Listeria* la nivelul tonsilelor de bovine

Nr. probe examinate	Probe pozitive		Probe negative
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	
60	3 (5%)	2 (3,33%)	55 (91,77%)

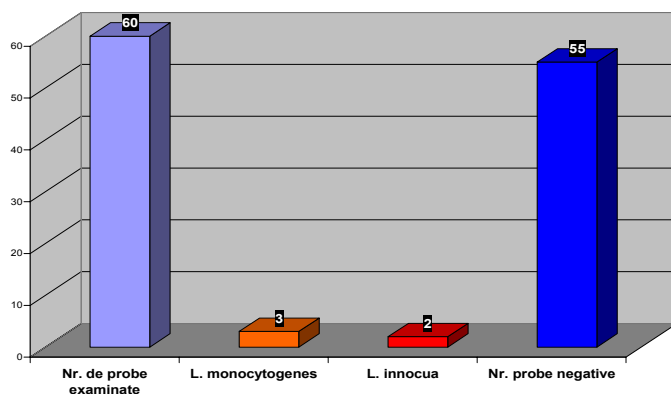


Fig. nr. 22

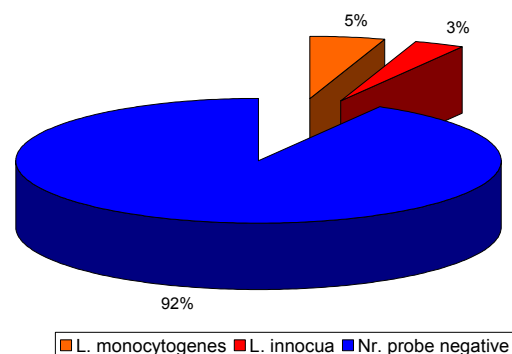
Portajul genului *Listeria* la nivelul tonsilelor de bovine

Fig. nr. 23

În cazul probelor recoltate de la suine, din cele 60 de probe de tonsile analizate, s-au izolat patru tulpini de *Listeria monocytogenes* și una de *Listeria innocua*, ceea ce reprezintă 6,66% și respectiv 1,66% (tabel nr. 31, fig. nr. 24 și 25)

Tabel nr.31

Portajul genului *Listeria* la nivelul tonsilelor de suine

Nr. probe examinate	Probe pozitive		Probe negative
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	
60	4(6,66%)	1 (1,66%)	55 (91,68%)

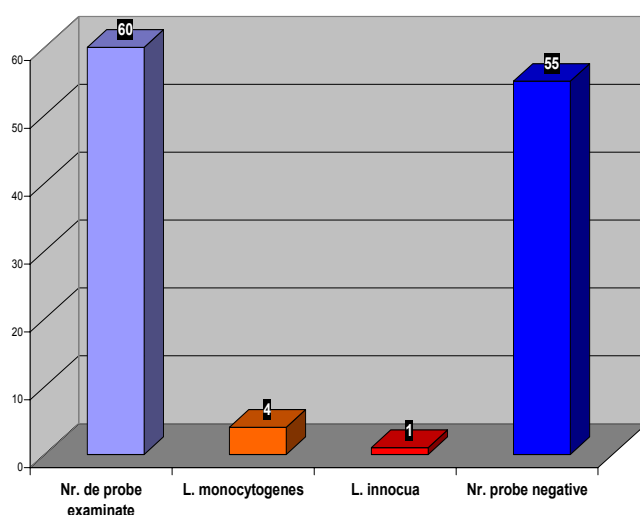


Fig. nr. 24

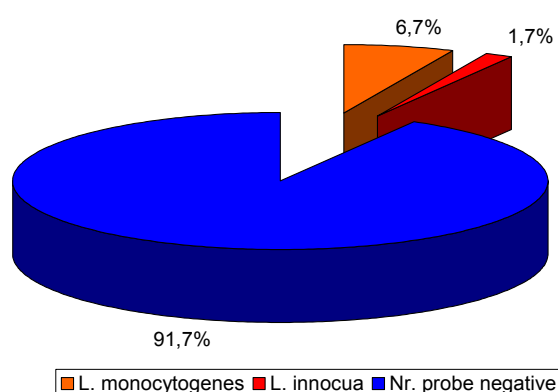


Fig. nr. 25

În cadrul testului Camp efectuat pe agar cu sânge de oaie s-a urmărit accentuarea zonelor de hemoliză produse de tulpinile cercetate în prezența unor tulpini proaspete de *Staphylococcus aureus* și *Rhodococcus equi*. Tulpinile cercetate au manifestat o accentuare a zonei de beta hemoliză în apropierea speciei *Staphylococcus aureus*, aspect caracteristic pentru speciile *Listeria monocytogenes* și *Listeria seeligeri*.

Confirmarea definitivă s-a realizat cu ajutorul testului Api-*Listeria*, care conține substraturi sub formă deshidratată, ce permit realizarea unor teste enzimactice sau de fermentație a zaharurilor.

5.3 Concluzii

Cercetările privind portajul speciei *Listeria spp.* în fecale (bovine, ovine, suine, iepuri de casă) și tonsile recoltate de la bovine și suine, au dus la următoarele concluzii:

1. Din cele 169 probe de fecale examinate s-au izolat 8 tulpini (4,73%) de *Listeria monocytogenes*, o tulpină (0,59%) de *Listeria ivanovii* și o tulpină (0,59%) de *Listeria innocua*.
2. Din cele 120 de probe de tonsile recoltate de la bovine (60 probe) și suine (60 probe), s-au izolat 7 tulpini de *Listeria monocytogenes*, ceea ce reprezintă 5,83% și 3 tulpini (2,5%) de *Listeria innocua*.
3. Pentru izolarea bacteriei *Listeria spp.* s-au folosit metode standardizate (CNEVA-Centre National d'Etudes Vétérinaires et Alimentaires) ce au constatat în utilizarea îmbogățirii selective într-un mediu lichid (Fraser sau bulion cord-creer), urmată de însămânțarea pe mediul special Palcam.
4. Identificarea speciilor de *Listeria* s-a realizat cu ajutorul testului CAMP, bazat pe interpretarea zonelor de hemoliză și testul Api-Listeria, care permite interpretarea unor teste enzimaticе sau biochimice.
5. Pentru diferențierea speciei *Listeria monocytogenes* de *Listeria innocua* s-a utilizat testul Api-Listeria (test enzimatic DIM-dif. innocua/monocytogenes)
6. Pentru diferențierea speciei *Listeria monocytogenes* de *Listeria ivanovii*, s-a utilizat testul CAMP, tulpina de *L. ivanovii* accentuându-și zona de hemoliză în prezența tulpinei de *Rh. equi*.

Cap.6 Cercetări privind frecvența speciei *Listeria monocytogenes* în furaje și alimente de origine animală

Listerioza atât la animale cât mai ales la om este considerată ca o boală de origine alimentară. Noțiunea de "listerioză-maladie alimentară", a apărut în 1972, când s-a făcut legătura dintre apariția unei epidemii de listerioză ovină și alimentația cu siloz de porumb (Nicolas, 1993).

Astfel, datorită originii alimentare a listeriozei atât la animale cât și la om, scopul cercetărilor efectuate a fost de a urmări prezența și frecvența listeriilor în unele furaje (siloz), precum și în unele produse alimentare de origine animală destinate consumului uman.

6.1 Cercetări privind frecvența speciei *Listeria monocytogenes* în furaje

După cele mai multe studii în ceea ce privește apariția listeriozei la animale și în special la rumegătoare, alimentația pare să dețină un rol foarte important în declanșarea bolii, fiind considerată de multe ori la fel de importantă ca și patogenitatea tulpinii. Orice deficiență în alimentație poate crea condiții favorabile pentru multiplicarea excesivă a germenului și apariția bolii.

Alimentația nerațională, în special excesul de furaje însilozate, de calitate necorespunzătoare, fermentate incomplet, cu un pH de peste 5,5, constituie principalul factor în declanșarea bolii, motiv pentru care listerioza a mai fost denumită și boala de siloz. De altfel, deseori în focarele de listerioză în urma corectării unor deficiențe în alimentație, se ajunge la reducerea sau chiar la sistarea îmbolnăvirilor.

La ovine, folosirea furajelor însilozate de calitate necorespunzătoare și în cantități excesive reprezintă unul din factorii principali ai creșterii receptivității la infecție.

Se poate aprecia deci, că alimentația are un rol favorizant, uneori chiar hotărâtor în declanșarea bolii, și că infecțiile produse de *Listeria monocytogenes* au un pronunțat caracter favorizant.

6.1.1 Material și metodă

Cercetările s-au efectuat pe un număr de 42 de probe furaj însilozat recoltate dintr-o unitate în care au apărut cazuri izolate de listerioză la oi și în care alimentația de bază era silozul, datorită perioadei de stabulație.

Probele s-au recoltat din zone diferite ale silozului, prelevarea numărului de probe fiind în funcție de pH-ul găsit. Deoarece pH-ul în profunzimea silozului era sub 5, pH ce nu permite multiplicarea listeriei, s-au ales un număr mai mic de probe, respectiv 6, în timp ce pH-ul la suprafață și pe marginile platformei de siloz a variat între 5,5 și 6, locuri din care s-au recoltat câte 18 probe (tabel nr. 32).

Proveniența probelor de siloz

Nr. Total de probe	Probe de la suprafață (pH-6)	Probe de pe margini (ph 5,5-6)	Probe din profunzime (ph<5)
42	18	18	6

Conform unui sistem de punctare a calității nutrețului murat, în funcție de pH se poate constata că furajul analizat nu îndeplinea pe deplin condițiile unui furaj de bună calitate, putând fi notat cu 2 puncte dintr-un maxim de 5. (tabel nr. 33)

Tabel nr. 33

Sistemul de punctare a calității nutrețului murat pe baza valorii de pH

Valoare pH	Culoarea indicator de pH	Punctaj
$\leq 4,2$	Roșu	5
4,2-4,6	Roșu-oranj	4
4,6-5,1	Oranj	3
5,1-6,1	Galben	2
6,1-6,4	Galben-verde	1
6,4-7,2	Verde	0

Ca metodă de lucru s-a folosit o tehnică de izolare standard (Centre National d'Etudes Vétérinaires et Alimentaires-CNEVA Pr 116/2000) special recomandată pentru silozuri, foarte asemănătoare cu cea aplicată și în România. Conform acestei metode din probele aduse la laborator s-au cântărit câte 25 grame siloz, ce au fost introduse în bulion de preîmbogățire Fraser-demi. În continuare s-au lăsat la incubat timp de 24 de ore la 30°C.

După perioada de incubare s-a făcut o însămânțare pe mediile selective Palcam și Oxford, iar 0,1 ml din bulionul de preîmbogățire s-au trecut în bulion de îmbogățire Fraser, ce a fost incubat și el timp de 36-48 de ore la 37°C. Din acesta s-au realizat

însămânțări atât la 24 cât și la 48 de ore pe mediile selective Palcam și Oxford, plăcile fiind incubate și observate timp de două zile.

Plăcile însămânțate au fost lăsate la 37°C timp de 24 de ore și apoi coloniile specifice s-au supus unor teste minime de identificare (Api-*Listeria*, CAMP).

Deoarece s-a considerat că identificarea bacteriei din siloz nu este indeajuns pentru a incrimina specia *Listeria monocytogenes* ca și agent etiologic, s-a urmărit în continuare patogenitatea tulpinilor izolate. Aceasta s-a observat atât in vitro prin cultivarea tulpinilor pe agar cu sânge de berbec, dar mai ales in vivo, prin inocularea șoarecilor albi.

6.1.2 Rezultate și discuții

În urma cercetărilor efectuate în vederea izolării speciei *Listeria monocytogenes* din furaje, s-a constatat că dintr-un număr total de 42 de probe de siloz analizate, s-au izolat 3 (7,14%) tulpini de *Listeria monocytogenes*.

Din cele 3 tulpini identificate, 2 (11,1%) au fost izolate de la suprafața silozului, o tulpină (5,5%) de pe marginile platformei de siloz, în timp ce în probele recoltate din profunzime nu s-a izolat *Listeria monocytogenes* (tabel nr. 34)

Tabel nr. 34

Frecvența speciei *Listeria monocytogenes* în siloz

Nr. crt	Locul de recoltare	pH	Nr. probe analizate	Probe pozitive		Probe negative	
				Nr.	%	Nr.	%
1.	Probe de suprafață	6	18	2	(11,1%)	16	(88,9%)
2.	Probe de pe margine	5,5-6	18	1	(5,5%)	17	(94,5%)
3.	Probe din profunzime	<5	6	-		6	
4.	Total probe	-	42	3	(7,14%)	39	(92,86)

Patogenitatea tulpinilor izolate s-a demonstrat prin inocularea șoarecilor albi. De menționat că izolarea tulpinilor de *Listeria monocytogenes* din siloz s-a realizat în timpul administrării acestuia ca alimentație de bază, și concomitent cu apariția unor cazuri izolate de listerioză, cu manifestări nervoase la câteva oi adulte (în jur de doi ani). De asemenea un aspect important îl reprezintă și faptul că o dată cu schimbarea tipului de siloz, au dispărut și cazurile izolate de listerioză.

pH-ul cu valoarea de peste 5, prezent în anumite zone ale furajului a avut un rol hotărâtor în dezvoltarea excesivă a bacteriei. Astfel Sargisson (1993) subliniază că un siloz de bună calitate și bine conservat, cu un pH sub 4, va duce la distrugerea listeriilor. Același autor arată că frecvența izolării speciei *Listeria monocytogenes* din siloz, este crescută în special în cazul unei proaste conservări. Un pH cu valoarea de peste 5-5,5 reprezintă sigur o valoare de la care *Listeria* se poate multiplica ajungând adesea la doze mari, capabile să producă infecția (10^4 celule bacteriene/gram furaj), în timp ce un pH de 4,5-5 chiar dacă nu distruge bacteria în totalitate, îi împiedică complet multiplicarea. Acest aspect care reiese și din cercetările noastre, prin faptul că *Listeria* nu s-a putut izola din profunzimea silozului unde pH-ul era sub 5, ci numai din probele unde pH-ul era mai mare de 5, argumentează pe deplin afirmația că listerioza la oi este o boală datorată deficienței din alimentație, și în special silozului de proastă calitate.

Dacă silozul este prost preparat sau conservat, în special o tasare insuficientă, aciditatea în profunzimea silozului este scăzută ($\text{pH} > 5$), iar anaerobioza nu este totală, aceasta va permite o proliferare selectivă a germenilor din genul *Listeria*.

Contaminarea unui siloz se poate realiza cu un număr redus de listerii, chiar de la începutul preparării acestuia. Condițiile de aerobioză prezente la suprafață și în primii centimetri ai silozului, corelate cu un pH mai mare de 5 și o temperatură scăzută a mediului exterior pot duce la o veritabilă îmbogățire selectivă a listeriilor.

Astfel un siloz de proastă calitate preparat toamna și care este păstrat pe perioada iernii afară, poate reprezenta o potențială sursă de infecție a animalelor. Chiar dacă numărul de listerii prezent în momentul preparării este mic, timpul necesar obținerii silozului fiind de minim trei săptămâni, numărul bacteriilor/kg siloz poate ajunge la o doză suficient de mare în momentul consumării furajului (10^7 UFC/kg furaj). În concluzie, pentru prevenirea listeriozei animale, trebuie acordată o atenție deosebită furajării. Astfel silozul alterat sau mucegăit nu trebuie administrat, iar anaerobioza trebuie menținută pe o durată cât mai mare de timp

6.1.3 Concluzii

Analizele efectuate privind prezența speciei *Listeria monocytogenes* în siloz, au dus la următoarele concluzii :

1. În furajele însilozate *Listeria monocytogenes* a fost izolată în 3 (7,14%) din totalul celor 42 de probe cercetate.
2. Din cele trei tulpini izolate, două (4,76%) au provenit de la suprafață și una (2,38%) de pe margini
3. În probele din profunzime, unde pH-ul era mai mic de 5 nu s-a izolat nici o tulpină de *Listeria monocytogenes*.
4. Izolarea tulpinilor de *Listeria monocytogenes* din siloz a coincis cu apariția unor cazuri izolate de listerioză.
5. Toate tulpinile izolate s-au dovedit a fi patogene prin inocularea a 0,2 ml cultură proaspătă, pe cale intraperitoneală la șoareci albi.

6.2 Cercetări privind frecvența speciilor din genul *Listeria* în produse alimentare de origine animală

Conform celor mai recente cercetări în domeniu, pentru listerioza umană, cea mai importantă sursă de infecție o constituie alimentele contaminate.

De la descrierea primelor cazuri de boală la om, și mai ales, după ce s-a stabilit că unele produse alimentare pot sta la originea îmbolnăvirilor sporadice sau colective, iar procentul de mortalitate printre persoanele bolnave poate atinge valori de 20-30%, s-a acordat o foarte mare atenție cunoașterii și măsurilor de prevenire a acestei toxinfecții alimentare. Dovada o constituie congresele internaționale asupra listeriozei, care, începând cu 1957 (Giessen-Germania), se repetă cu regularitate la intervale de câțiva ani, iar în unele țări dezvoltate (SUA, Germania, Elveția) s-au elaborat programe speciale pentru monitorizarea speciei *Listeria monocytogenes* în alimente.

Pe măsură ce boala va fi mai bine cunoscută și diagnosticată ca o boală de origine alimentară și cu o rată mare de mortalitate, iar declararea ei va fi obligatorie în toate țările, se vor aduna date cât mai exacte asupra incidenței listeriozei atât la animale, dar mai ales la om. Dintre toate bolile de origine alimentară, listerioza, atât ca frecvență cât, mai ales, ca gravitate, se află pe unul din primele locuri. Importanța

epidemiologică a listeriozei a crescut foarte mult odată cu descrierea primelor îmbolnăviri în grup, la originea cărora a stat consumul unor alimente.

Infecțiile umane sunt predominant de origine alimentară, animală sau vegetală, cel mai frecvent fiind implicate produsele din carne și din lapte.

6.2.1 Cercetări privind frecvența speciei *Listeria monocytogenes* în lapte și unele produse lactate

Laptele, în special cel nepasteurizat precum și unele produse lactate (brânzeturi cu pastă moale) obținute din acesta, reprezintă unul din principalele tipuri de alimente de origine animală ce stă la baza multor episoade de toxinfecții alimentare produse de către *Listeria monocytogenes*.

Începând cu epidemia de listerioză umană ce a apărut la Boston (1983), provocată de consumul de lapte pasteurizat recontaminat, și apoi continuând cu episoadele de toxinfecții produse de diferite tipuri de brânzeturi, apărute în unele țări, numeroase lucrări au permis evaluarea frecvenței contaminării laptelui și produselor lactate cu această bacterie.

Laptele crud poate fi contaminat pe cale endogenă de către *Listeria monocytogenes*, fie în urma unor stări patologice (mamite), fie în mod fiziologic, în cazul existenței purtătorilor sănătoși. Procentul de contaminare a laptelui crud variază în limite foarte largi (1-45%), funcție de țară și autor.

Un risc epidemiologic foarte important în cazul acestei bacterii îl reprezintă faptul că *Listeria* se poate multiplica pe perioada conservării alimentului la frig (4°C), astfel încât doza de germeni în momentul consumării alimentului, să crească semnificativ față de doza inițială, ajungând la un potențial infecțios.

6.2.1.1 Material și metodă

Izolarea și identificarea speciei *Listeria monocytogenes* din alimente s-a făcut conform standardului SR ISO 11 290-1/2000. În perioada 2003-2005 s-au testat un număr total de 232 probe, din care : 30 probe de lapte de vacă pasteurizat, 62 probe lapte de vacă nepasteurizat, 47 probe brânză de vaci obținută din lapte nepasteurizat, 45 probe smântână obținută din lapte nepasteurizat și 48 probe caș proaspăt de oaie

Probele au fost recoltate din sector particular, mai puțin probele de lapte pasteurizat care au fost recoltate din comerț. (lapte la pungă)

În cadrul protocolului de lucru, conform figurii nr. 28, pentru preîmbogățire s-au omogenizat 25 grame/ml de produs în 225 ml bulion demi-Fraser. După o incubare de 24 ore la 30°C, a urmat o îmbogățire secundară selectivă prin trecerea a 0,1 ml din cultura de preîmbogățire în 10 ml bulion Fraser. După o altă perioadă de incubare la 35-37°C, timp de 24 de ore, s-a trecut la izolarea selectivă care s-a făcut prin strierea a 0,1 ml de cultură pe mediile selective Palcam și Oxford. Plăcile Petri astfel însămânțate s-au incubat la 35°C, timp de 24-48 de ore. Confirmarea speciei *Listeria monocytogenes* s-a făcut cu ajutorul testelor API-*Listeria*, în cadrul cărora s-au examinat 10 caractere biochimice.

6.2.1.2 Rezultate și discuții

Frecvența speciilor din cadrul genului *Listeria*, în produsele examinate a fost următoarea : în laptele de vacă nepasteurizat 6,45%, în brânză de vaci obținută din lapte nepasteurizat 4,25%, în smântână 6,66%, în caș proaspăt de oaie 6,25%, iar în laptele de vacă pasteurizat nu a fost izolată (tabel nr. 35, fig. nr. 29).

Tabel nr. 35

Frecvența *Listeria spp.* în produsele examinate

Produsul examinat	Nr. probelor examinate	Probe negative		Probe pozitive	
		Nr.	%	Nr	%
Lapte de vacă nepasteurizat	62	58	93,55	4	6,45
Lapte de vacă pasteurizat	30	30	100	-	-
Brânză de vaci obținută din lapte nepasteurizat	47	45	95,75	2	4,25
Smântână obținută din lapte nepasteurizat	45	42	93,34	3	6,66
Caș proaspăt de oaie	48	45	93,75	3	6,25
Total probe examinate	232	220	94,83	12	5,17

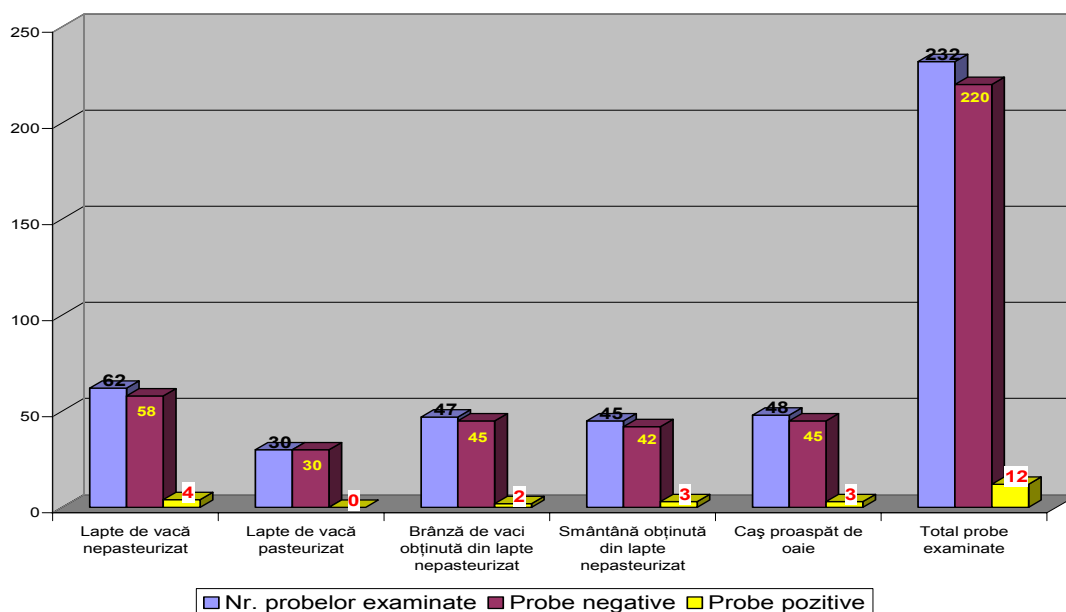


Fig. nr. 29 Frecvența *Listeria spp.* în produsele examinate

În cadrul genului *Listeria* distribuția pe specii în funcție de produs a fost următoarea (fig. nr. 30) :

- din 62 probe de lapte de vacă nepasteurizat s-au izolat 3 (4,83%) tulpini de *Listeria monocytogenes* și o tulpină (1,62%) de *Listeria innocua*;
- din 47 probe de brânză de vaci obținută din lapte nepasteurizat s-a izolat o tulpină (2,125%) *Listeria monocytogenes* și o tulpină (2,125%) de *Listeria welshimeri* ;
- din 45 probe smântână obținută din lapte nepasteurizat s-au izolat 2 tulpini (4,44%) de *Listeria monocytogenes* și o tulpină (2,22%) de *Listeria innocua* ;
- din 48 probe caș proaspăt de oaie s-au izolat două tulpini de *Listeria innocua* (4,16%) și o tulpină (2,08%) de *Listeria monocytogenes* ;

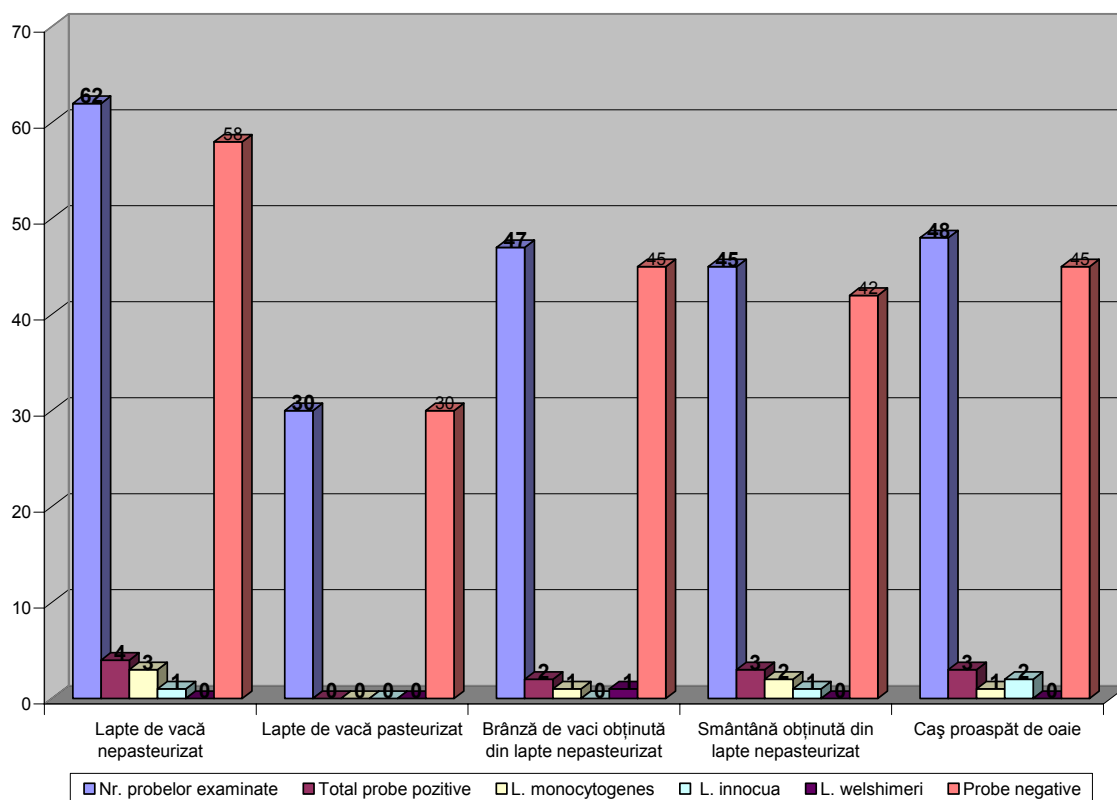


Fig. nr. 30 Distribuția speciilor de *Listeria* în funcție de produs

Astfel mediile Palcam și Oxford s-au dovedit a fi intens selective. Pe aceste medii după 24 de ore de incubare, *Listeria monocytogenes* a format colonii de culoare închisă, înconjurată de un halou negru, datorită faptului că produce hidroliza esculinei (fig. nr. 31, 32, 33 și 34).

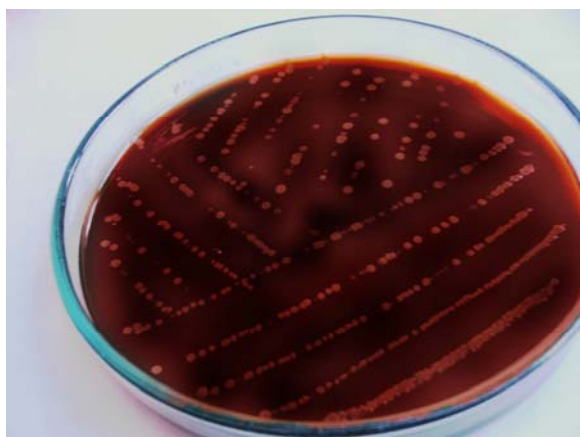


Fig. nr. 31

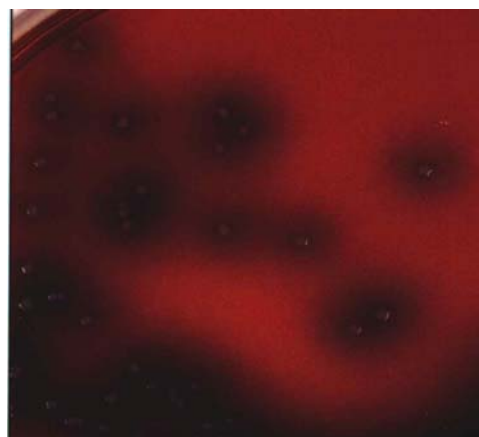


Fig. nr. 32

Listeria monocytogenes pe mediul selectiv Palcam

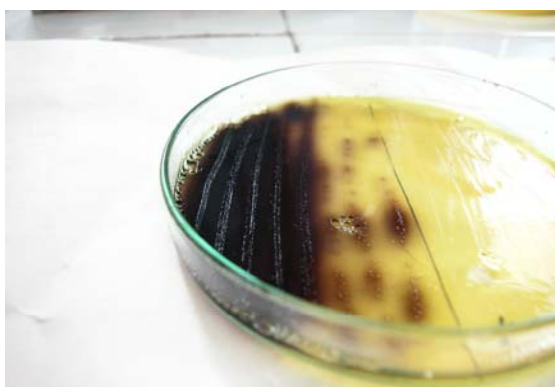


Fig. nr. 33

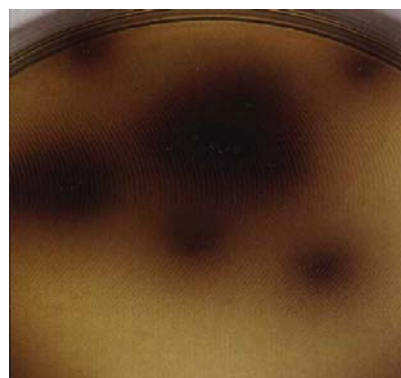


Fig. nr. 34

Listeria monocytogenes pe mediul selectiv Oxford

La examinarea frotiurilor efectuate din culturi și colorate Gram, s-a constatat prezența unor bacili scurți Gram-pozitivi, fără a avea o aranjare caracteristică, însă ocazional se pot observa grupări “V”, “Y”, sau în palisadă. (fig. nr. 35 a și b)



Fig. nr. 35, a

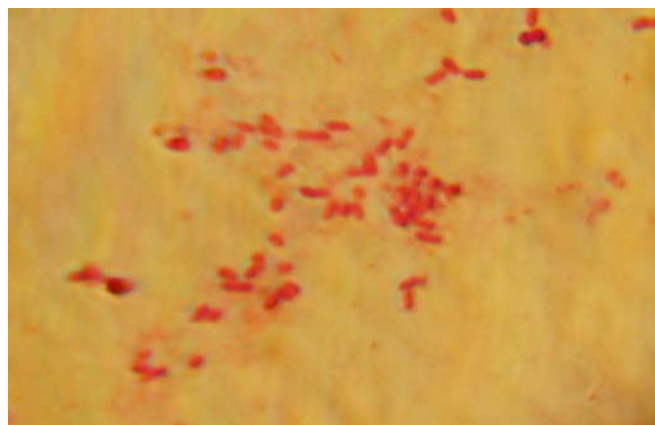
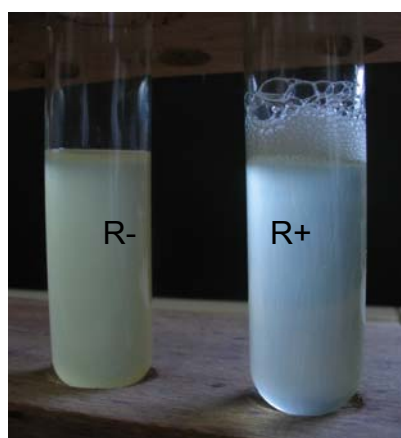


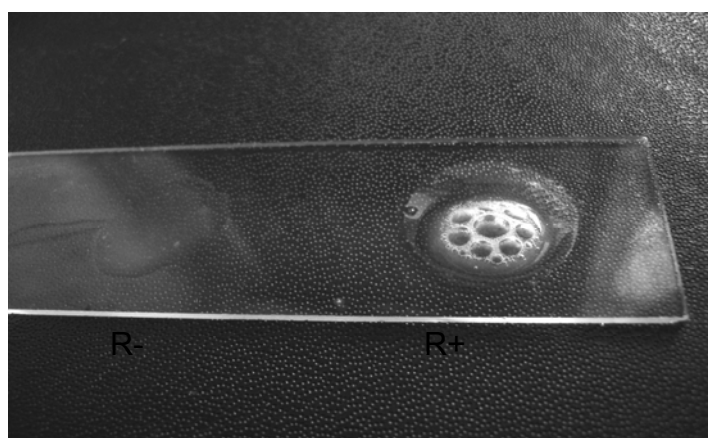
Fig. nr. 35, b

Listeria monocytogenes.Colorație Gram. Frotiu din cultură 5 x 90

Testul catalazei s-a efectuat prin introducerea unei anse de cultură într-o picătură de peroxid de hidrogen 3%. Toate tulpinile cercetate au reacționat pozitiv, aspect dovedit de apariția bulelor de gaze (fig. nr. 36).



a



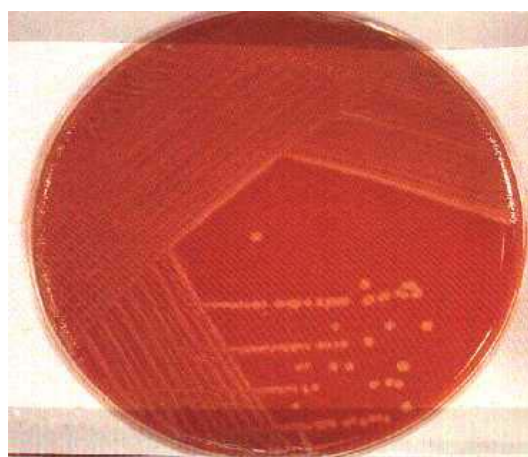
b

Fig. nr. 36 Testul catalazei

Pentru confirmarea și identificarea speciei *Listeria monocytogenes*, tulpinile care au reacționat caracteristic la testele de mai sus (colorația Gram, catalaza și mobilitatea la 25°C) s-au supus testelor de hemoliză și CAMP, confirmarea definitivă făcându-se cu ajutorul testelor biochimice API-*Listeria*.

O reacție importantă pentru definirea speciilor este producerea de hemolizine pe agarul cu sânge de oaie, știindu-se faptul că speciile din cadrul genului *Listeria* produc diferite tipuri de hemoliză.

Astfel tulpinile de *Listeria monocytogenes* au produs colonii mici, înconjurate de o zonă clară dar mică de hemoliză (fig. nr. 37), spre deosebire de *Listeria ivanovii* care manifestă o activitate hemolitică foarte puternică, sau spre deosebire de alte specii din cadrul genului care nu produc hemoliză.

Fig. nr. 37 *Listeria monocytogenes*-agar cu sânge de oaie (Hemoliza de tip β)

O reacție mai slabă sau mai accentuată de beta-hemoliză poate fi pusă în evidență și cu ajutorul testului CAMP. În cadrul acestui test efectuat pe agar cu sânge de oaie s-a urmărit accentuarea zonei de hemoliză a tulpinilor cercetate în prezența unor tulpini proaspete de *Staphylococcus aureus* și *Rhodococcus equi*.

Tulpinile de *Listeria monocytogenes* au manifestat o accentuare a zonei de beta hemoliză în apropierea speciei *Staphylococcus aureus*, (fig. nr. 38) aspect caracteristic și pentru *Listeria seeligeri*.

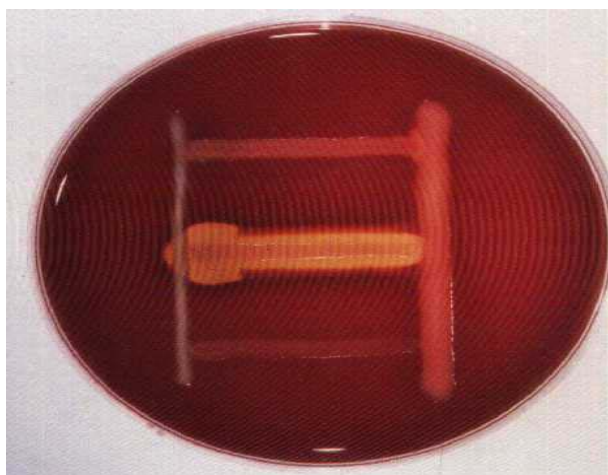


Fig. nr. 38 Testul CAMP

Confirmarea definitivă s-a realizat cu ajutorul testelor *Api-Listeria*, care conțin substraturi sub formă deshidratată, ce permit realizarea testelor enzimatică sau de fermentație a zaharurilor.

Reacțiile produse în timpul perioadei de incubație s-au tradus prin schimbări spontane de colorație sau schimbări relevate de adăugarea reactivului. (fig. nr. 39, 40, 41 și 42). După o incubație de 18-24 de ore la o temperatură de 35-37°C, citirea reacțiilor s-a făcut vizual cu ajutorul unui tabel de citire și identificare.

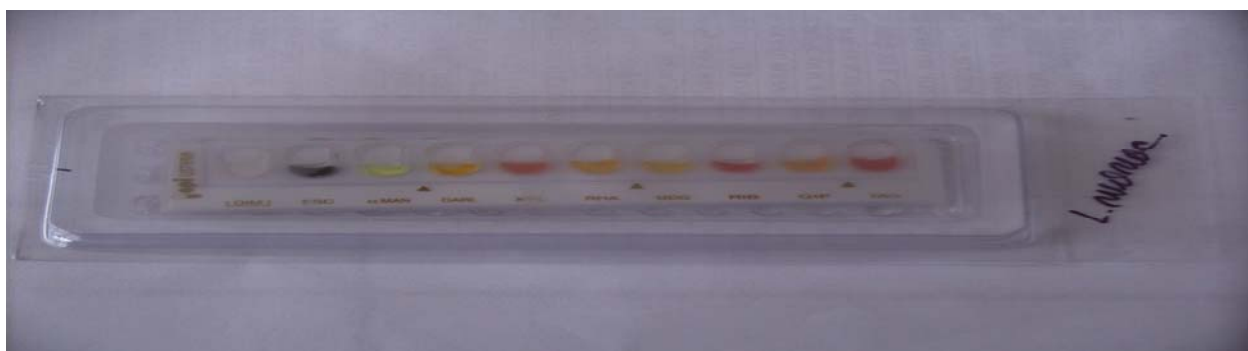


Fig. nr. 39 și 40 *Listeria monocytogenes* identificată pe galerii manuale API LISTERIA



Fig. nr. 41 *Listeria welshimeri* identificată pe galerii manuale API LISTERIA

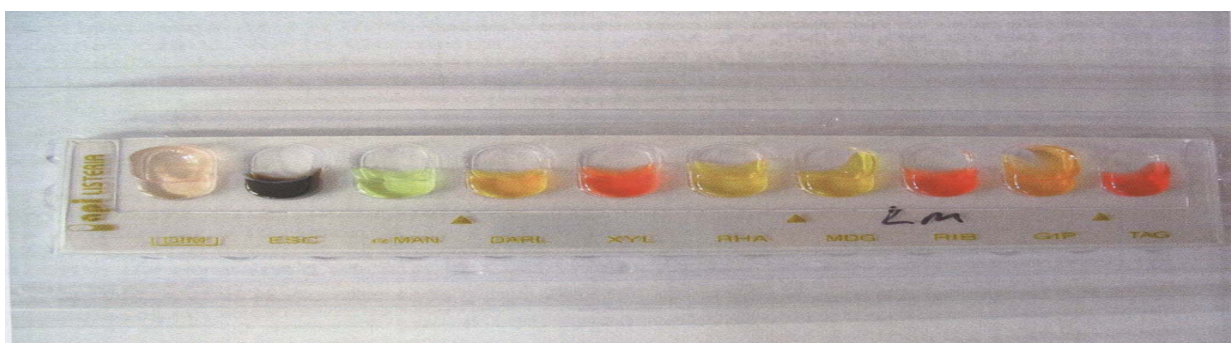


Fig. nr. 42 *Listeria innocua* identificată pe galerii manuale API LISTERIA

6.2.1.3 CONCLUZII

În urma cercetărilor efectuate asupra frecvenței speciilor din genul *Listeria* în lapte și unele produse lactate s-au desprins următoarele concluzii :

1. În produsele analizate s-a constatat prezența *Listeria spp.* în următoarele procente : în lapte de vacă nepasteurizat 6,45%, în brânză de vaci obținută din lapte nepasteurizat 4,25%, în smântână obținută din lapte nepasteurizat 6,66%, iar în cașul proaspăt de oaie 6,25%.
2. Din totalul de 232 probe analizate, 12 (5,17%) au fost găsite pozitive pentru *Listeria spp.*, din care s-au izolat 7 (3,02%) tulpini de *Listeria monocytogenes*, 4 (1,72%) de *Listeria innocua* și o tulpină (0,43%) de *Listeria welshimeri*.
3. *Listeria monocytogenes* nu s-a izolat în probele provenite din laptele de vacă pasteurizat, aspect care ne face să credem că acest procedeu termic este eficient în distrugerea listeriilor.
4. Metoda utilizată pentru izolarea și identificarea speciei *Listeria monocytogenes* a avut o rapiditate de 2 până la 5 zile, în funcție de perioada de îmbogățire, comparativ cu metodele clasice la care această perioadă este mai lungă.
5. Diferențierea finală a speciei *Listeria monocytogenes* de alte specii din cadrul genului s-a făcut prin interpretarea testelor Api-*Listeria*, CAMP și producerea de hemoliză, celelalte teste utilizate pentru identificare nepermițând decât încadrarea bacteriei în genul *Listeria*.
6. Frecvența bacteriei în laptele nepasteurizat a fost apropiată de cea a produselor lactate examinate, ceea ce arată o corelație între laptele nepasteurizat și unele produse lactate obținute din lapte integral.
7. Specia *Listeria monocytogenes* a predominat în probele găsite pozitive cu un procent de 58,33%, celelalte specii izolate fiind considerate fără semnificație patogenă.

6.2.2 Cercetări privind frecvența *Listeria spp.* în carnea de porc

În ultimii ani, anchetele epidemiologice au permis constatarea unei creșteri în ceea ce privește contaminarea cu *Listeria* a speciilor de animale domestice, în special la cele de interes zootehnic. Aceste animale purtătoare de germeni pot ușor contamina mediul ambiant și chiar carcasele de carne în timpul sacrificării lor, sau pe perioada prelucrării acestora, ceea ce explică prezența germenilor din genul *Listeria* în cărnurile proaspete, uneori chiar în procente foarte mari (41%) (Nicolas, 1985). Măsurile drastice de igienă limitează contaminarea cărnurilor proaspete cu *L. monocytogenes*. De altfel, această bacterie poate fi utilizată și ca un indicator bacteriologic al condițiilor de igienă în abatoare, în cadrul programului HACCP (Gobat și Jemmi, 1990).

În ceea ce privește preparatele din carne, acestea au fost rar implicate în episoade de toxinfecții alimentare produse de *Listeria monocytogenes*

Pentru microbiologia alimentară interesează în mod deosebit *L. monocytogenes*, deoarece aceasta este patogenă pentru om și animale.

Pop și Nicolau (1994), consideră că cel puțin 40% din cazurile de îmbolnăvire au origine alimentară. Ene Livia și col., (1994), consideră că din 81 de tulpini de *Listeria* izolate, 74 tulpini, deci 91,36 sunt *L. monocytogenes* și 7 tulpini, respectiv 8,64% au fost *L. ivanovii*

Carnea crudă, preparatele din carne, etc, pot fi contaminate cu listerii. Păstrarea la frigider, favorizează multiplicarea listeriei, deoarece este recunoscut ca fiind un germene psihrotrof, iar temperaturile de 2-5°C îmbogățesc alimentele în listerii .

6.2.2.1 Material și metodă

În perioada 2004-2005, au fost analizate pentru *Listeria spp.*, 74 probe de carne de porc, proaspătă sau refrigerată, și 26 probe preparate din carne. Eșantioanele au fost recoltate din abatoare, unități de procesare pe parcursul fluxului tehnologic sau din rețeaua comercială.

Pentru determinarea prezenței și a numărului de *Listeria spp.* a fost utilizată metoda orizontală SR ISO 11 290/2000, care folosește mediile de preîmbogățire sau de resuscitare. Etapele necesare izolării și identificării *Listeria spp.*, au fost respectate conform metodei de lucru. Listeriile sunt prezente în general în număr mic în produsele

alimentare și sunt însoțite de cele mai multe ori de alte genuri bacteriene, ceea ce impune utilizarea unei îmbogățiri selective.

Conform acestei metode tulpinile de *L. monocytogenes* formează colonii specifice pe mediile selective solide, prezintă caractere morfologice, fiziologice și biochimice descrise în acest Standard și sunt izolate conform etapelor prevăzute de acesta.

Inițial, s-a procedat la o preîmbogățire timp de 24 de ore, la 30° C. În cazurile urgente s-a procedat la resuscitarea probei (25 g), prin adăugarea a 225 ml de APT, incubată la 20°C, timp de 1-2 ore.

Identificarea a fost efectuată prin strierea mediilor Oxford și Palcam, prin selectarea coloniilor cu aspect cultural caracteristic. În plus s-a considerat necesară completarea metodei prin utilizarea mediului Compass L. mono, mediu cromogen foarte practic. Confirmarea s-a efectuat prin subcultivarea coloniilor și confirmarea tulpinilor obținute prin teste morfologice, biochimice etc.

6.2.2.2 Rezultate obținute și discuții

În perioada 2004-2005, s-au analizat pentru *Listeria spp.*, 74 probe de carne de porc: proaspătă sau refrigerată și 26 probe de preparate din carne, conform metodei SR-ISO 101290/2000.

Din cele 74 probe carne de porc analizate, au fost izolate un număr de 4 (5,40%) tulpini de *Listeria spp.*, în timp ce în probele provenite din preparate de carne nu s-a izolat germenele. (tabel nr. 38, fig. nr. 43)

Tabel nr. 38

Frecvența *Listeria spp.* în produsele analizate

Proba analizată	Nr. probe	<i>Listeria spp.</i>			
		Probe pozitive		Probe negative	
		Nr.	%	Nr.	%
Carne de porc	74	4	5,40	70	94,60
Preparate din carne	26	-	-	26	100
Total	100	4	4	96	96

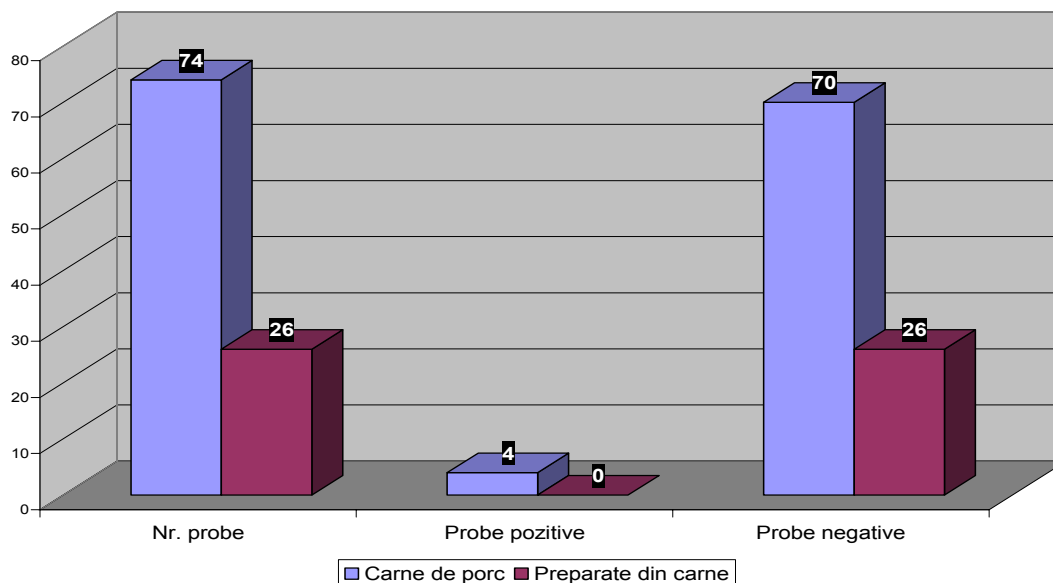


Fig. nr. 43 Frecvența *Listeria spp.* în produsele analizate

Frecvența anuală a listeriilor constatată în carnea de porc a fost de:

- 6,45%, în anul 2004;
- 4,65%, în anul 2005 (tabel nr. 39, fig. nr. 44).

Frecvența anuală a speciei *Listeria monocytogenes* a fost de 3,22%, în anul 2004 și 0,00%, în anul 2005.

Tabel nr. 39

Frecvența anuală a *Listeriei spp.* în carnea de porc

Anul	Număr probe examinate	<i>Listeria spp.</i>	Număr tulpini <i>Listeria</i> izolate	%
2004	31	<i>L. monocytogenes</i>	1	6,45
		<i>L. ivanovii</i>	1	
2005	43	<i>Listeria welshimeri</i>	2	4,65
Total	74	-	4	5,40

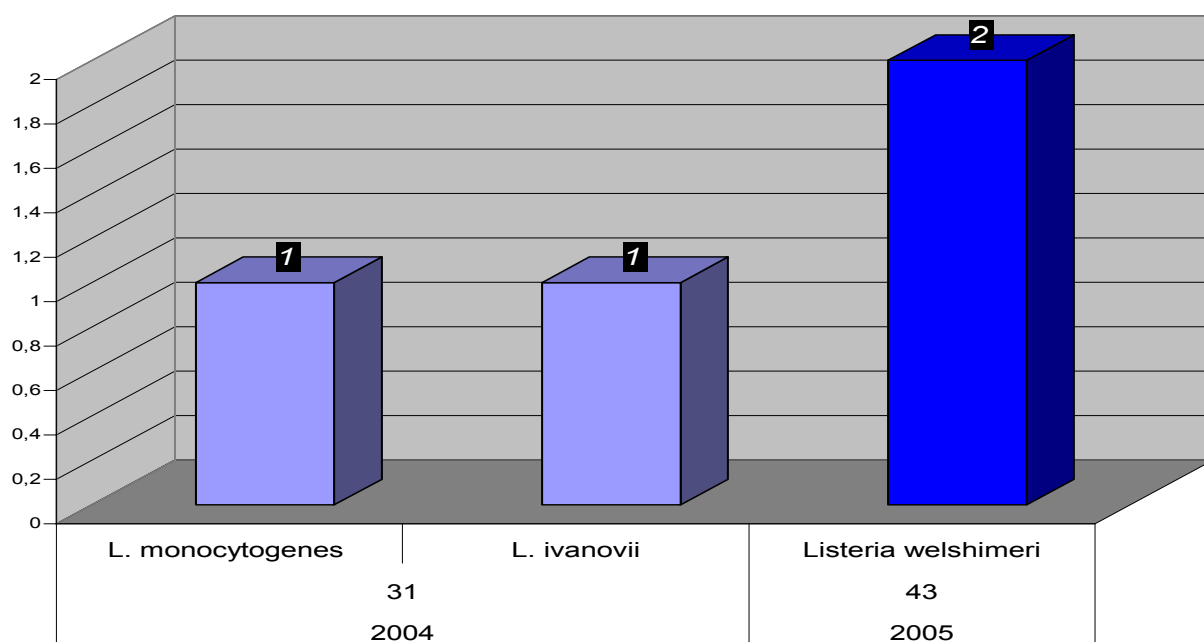


Fig. nr. 44 Frecvența anuală a *Listeriei spp.* în carnea de porc

Confirmarea tulpinilor izolate pe galeriile API *Listeria* a identificat următoarele specii:

- tulpina nr. 1, *Listeria monocytogenes*,
- tulpina nr. 2, *Listeria ivanovii* , (fig. nr. 46)
- tulpinile nr. 3 și 4, *Listeria welshimeri* (fig. nr. 47)

Incidența constatată pentru cele 74 probe analizate a fost de 5,40% contaminate cu *Listeria spp.*, din care contaminate cu listerii slab virulente au fost 3 (4,05%), iar cu *Listeria monocytogenes* s-a constatat o contaminare de 1,35%. (tabel nr. 40, fig. nr. 48).

Tabel nr. 40

Rezultatele incidenței speciilor de *Listeria*

Nr. Tulpină	Specia	Număr tulpini	%
1	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 tulpină	1,35
2	<i>Listeria ivanovii monocytogenes</i>	1 tulpină	1,35
3-4	<i>Listeria welshimeri</i>	2 tulpini	2,70
/	Total/%	4 tulpini	5,40

Pe mediile selective Palcam și Oxford coloniile de *Listeria* au apărut sub forma unor colonii de culoare închisă, înconjurate de un halou tot de nuanță maro spre negru, datorită faptului că bacteria produce hidroliza esculinei prezentă în mediu. (fig. nr. 49 și 50)

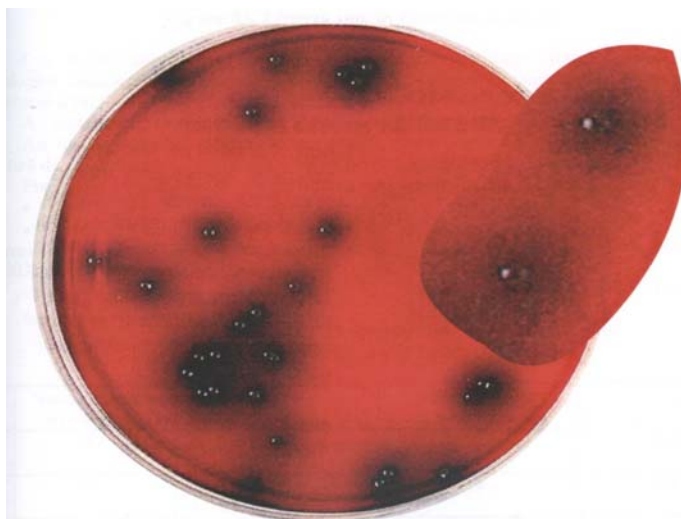


Fig. nr. 49 *Listeria* spp. pe mediul Palcam



Fig. nr. 50 *Listeria* spp. pe mediul Oxford

Pe mediu cromogen, Compass L. mono, coloniile suspecte au prezentat culoare albastră cu sau fără halou în jur. (fig. nr. 51)

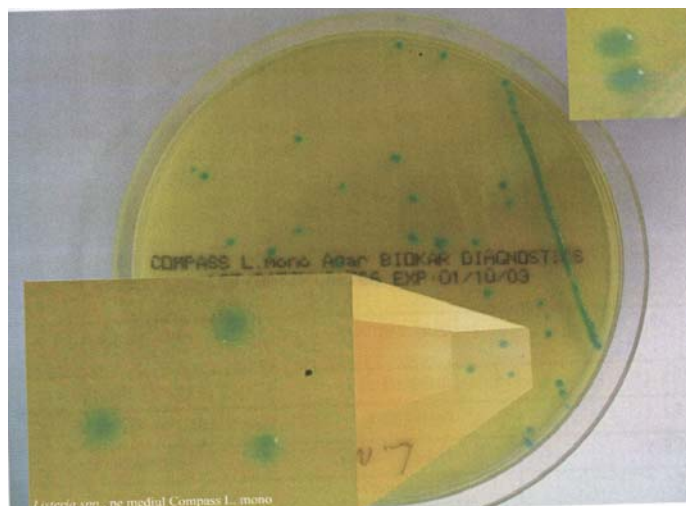


Fig. nr. 51 *Listeria spp.*, pe mediul Compass

Pe mediul Rapid L. Mono se apreciază activitatea fosfatidilinositol fosfolipazei C (PI-PLC) specifică pentru detecția *L. monocytogenes*.

6.2.2.3 Concluzii

Ca urmare a cercetărilor întreprinse în ceea ce privește frecvența *Listeria spp.* în carnea de porc și preparate din carne, s-au desprins următoarele concluzii :

1. Au fost examinate un număr total de 100 de probe, din care 74 probe de carne de porc și 26 preparate din carne, *Listeria spp.* fiind identificată în 4 (5,40%) probe izolate numai din carne de porc crudă.
2. În cazul cărnii de porc s-a constatat o incidență de 1,35% pentru *Listeria monocytogenes* și *Listeria ivanovii*, iar 2 (2,70%) probe au fost contaminate cu *Listeria welshimeri*;
3. Nu s-a izolat *Listeria spp.* în probele recoltate din preparate de carne.
4. Mediul cromogen Compass L. Mono este foarte util atât în izolarea selectivă a speciilor de *Listeria*, cât și în diferențierea speciei *Listeria monocytogenes* de alte specii din cadrul genului considerate apatogene.

CAP. 7 CERCETĂRI PRIVIND LISTERIOZA OVINĂ

Incidența crescută a infecțiilor cu listeria la cele mai variate specii de animale, pierderile economice pe care le determină, polimorfismul manifestărilor clinico-epidemiologice cu un procent ridicat de infecții inaparente sau atipice, starea de purtător de lungă durată, precum și pericolul pe care îl prezintă animalele cu potențial infecțios pentru om, au făcut ca listerioza (infecțiile cu listeria) să devină o problemă de mare actualitate atât pentru patologia veterinară, cât și pentru medicina umană; infecția fiind o zoonoză.

Încredințați de existența bolii și în această parte a țării, am socotit util să investigăm factorii epidemiologici, manifestările clinice și posibilitățile de tratament, în condiții de teren, în două focare de listerioză ovină.

7.1 Material și metode

Investigațiile s-au efectuat în perioada 2004-2005, în două unități („S” și „D”) de creșterea ovinelor, cu un efectiv total de 1.139 (692 în unitatea „S” și respectiv 447 în unitatea „D”) de rase și vârste diferite, unde s-au înregistrat cazuri de îmbolnăvire. Pentru stabilirea diagnosticului s-au întreprins investigații epidemiologice, morfoclinice și de laborator.

Precizarea diagnosticului s-a făcut pe baza examenului bacteriologic. Astfel în vederea izolării germenului s-au făcut însămânțări pe medii de cultură din organele parenchimatoase și din mai multe zone ale encefalului, de la ovine care au murit sau care au fost sacrificate de necesitate, și care în viață prezentau manifestări ce suspiciona listerioza.

Au fost examinate în această direcție 16 probe de la ovine (10 probe de la oi care au murit și 6 probe de la ovine sacrificate de necesitate), provenind din cele două unități, izolându-se un număr de 11 tulpini de *Listeria monocytogenes*.

Controlul patogenității tulpinilor a fost făcut prin inoculări la șoareci a culturilor de 24 ore din bulion. Șoarecii inoculați au murit după 3-5 zile, prezentând în mod constant hepatită necrotică din care au fost izolate de fiecare dată listerii.

Instilarea conjunctivală a culturii de 24 ore la iepure a produs o conjunctivită acută seroasă, transformată apoi în purulentă.

Toate cele 34 de ovine moarte s-au sacrificate de necesitate au fost necropsiate și examinate pentru evidențierea leziunilor macroscopice.

De la 4 cadavre (3 cu manifestări nervoase și unul cu formă septicemică) s-au recoltat probe pentru examen histopatologic, folosind tehnicile curente.

7.2 Rezultate și discuții

Primul focar de listerioză din unitatea „S” a fost identificat la sfârșitul lunii ianuarie 2004, într-o turmă de 692 ovine. În decurs de 15 zile, în perioada 29 ianuarie – 13 februarie 2004, s-au îmbolnăvit 18 oi, ceea ce reprezintă 2,60%. Din cele 18 ovine îmbolnăvite 6 (33,33%) au murit , 9 (50,00%) au fost sacrificate de necesitate, iar 3 (16,67%) s-au vindecat 3 (tabel nr.41, fig. nr. 52).

Îmbolnăvirile au apărut în urma introducerii în alimentația oilor, a porumbului însilozat provenit dintr-un siloz proaspăt început. Aceasta a dus la bănuiala că furajul însilozat a constituit factorul favorizant în apariția manifestărilor de boală. Mai mult, afirmația se sprijină și pe faptul că în urma schimbării alimentației prin eliminarea furajului murat și a introducerii concentratelor în rație, nu au mai fost înregistrate cazuri de îmbolnăvire.

Al doilea focar de listerioză a fost confirmat bacteriologic în perioada februarie-martie 2005, într-o altă turmă de ovine, cu un efectiv de 447. De la 21 februarie și până la 26 martie 2005, într-o perioadă de 34 de zile, s-au îmbolnăvit 16 ovine, reprezentând 3,57%. Din cele 16 ovine cu simptome de boală 2 (12,50%) au murit iar 14 (87,50%) au fost sacrificate de necesitate (tabel nr. 41).

Din investigațiile epidemiologice întreprinse în cele două unități rezultă că, din totalul de 1139 ovine (tabel nr. 41) s-au îmbolnăvit 34, ceea ce reprezintă 2,99%, au murit 8 (23,53%), au fost sacrificate de necesitate un număr de 23 (67,65%) și s-au vindecat 3 (8,82 %).

La apariția bolii , în mare măsură a contribuit și alimentația ovinelor, care, în special în a doua perioadă a iernii, a fost deficitară atât cantitativ, cât și calitativ, folosindu-se excesiv furaje însilozate, unele mucegăite, în majoritate fibroase și în cantități insuficiente.

Tabel nr. 41

Rezultatele investigațiilor epidemiologice în cele două unități cu listerioză la ovine.

Nr.crt.	Uni-tatea	Nr. ani-malee	Intervalul apariției	Durata evoluției în zile.	Nr.animale Îmbolnăvite.		Nr. animale moarte		Nr. animale sacrificate		Nr. animale Vindecate.	
					Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%.	Nr.	%
1	„S”	692	29. 01 – 13. 02. 2004	15	18	2,60	6	33,33	9	50,00	3	16,67
2	„D”	447	21. 02. - 26. 03. 2005.	34	16	3,57	2	12,50	14	87,50	-	-
To-tal		1139			34	2,99	8	23,53	23	67,65	3	8,82

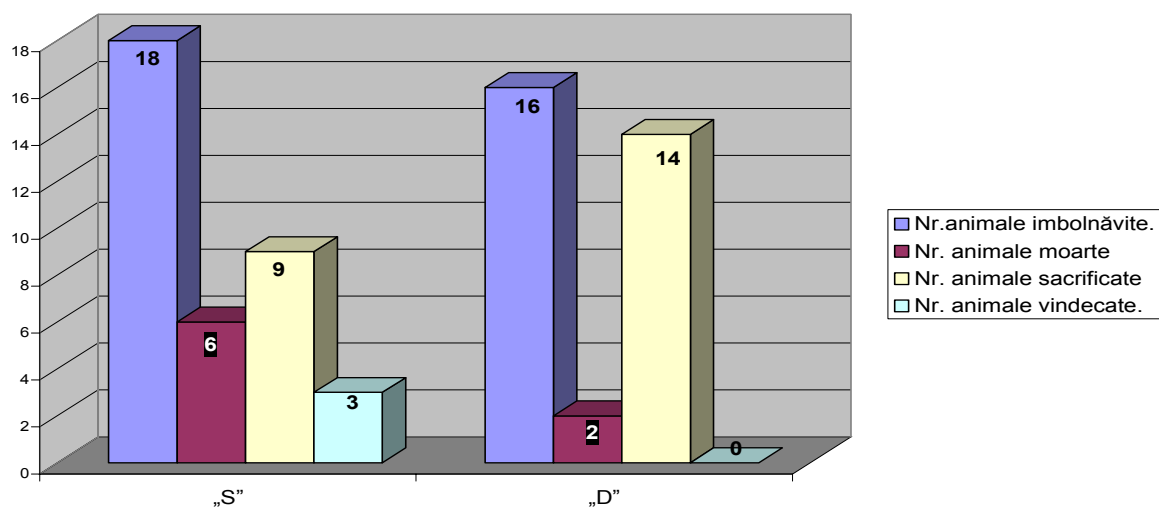


Fig. nr. 52

Rezultatele investigațiilor epidemiologice în cele două unități cu listerioză la ovine

Aspectul clinic al bolii în focarele descrise a fost aproximativ același, corespunzând datelor din literatura de specialitate (tabel nr. 42, fig. nr. 53). Astfel din cele 34 ovine cu manifestări de listerioză la 7 (20,59%) evoluția a fost acută septicemică, iar la 27 (79,41%) ovine au prezentat simptome de encefalomielită, evoluție subacută. De menționat că nu s-au înregistrat nici un caz de avort listeric.

De fapt în literatura de specialitate se afirmă că, localizarea genitală exprimată prin avort se întâlnește rar, de obicei la oile primipare și niciodată nu evoluează concomitent cu manifestările de meningoencefalită (forma nervoasă).

De asemenea, menționăm că formele evolutive acute, septicemice, au fost diagnosticate la miei sugari și la tineretul ovin.

Tabel nr.42

Formele evolutive în listerioza ovină

Nr crt.	Unitatea	Nr. animale îmbolnăvite	Formele evolutive					
			Acută (septicemică)		Subacută			
					Nevoasă		Genitală (abortigenă)	
			Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
1	„D”	18	5	27,77	13	72,23	-	-
2.	„S”	16	2	12,22	14	77,78	-	-
Total		34	7	20,59	27	79,41	-	-

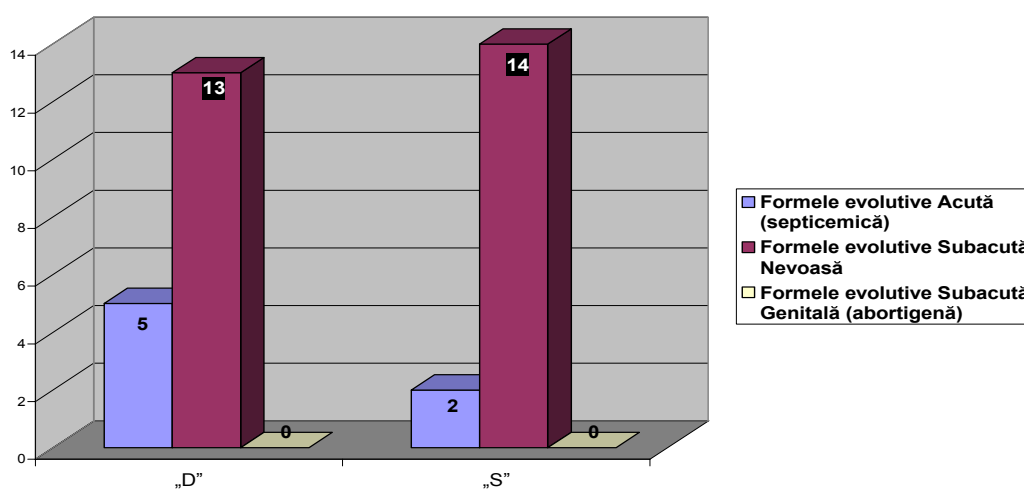


Fig. nr. 53

Formele evolutive în listerioza ovină

La ovinele îmbolnăvite s-a observat de la început o stare de abatere, reducerea totală a poftei de mâncare, sau chiar dispariția apetitului. În unele cazuri s-au semnalat conjunctivite, iar unele exemplare prezentau scurgeri seroase din cavitățile nasale, altele salivă abundentă. Majoritatea oilor îmbolnăvite au prezentat manifestări clinice din partea sistemului nervos central.

La câteva cazuri s-au înregistrat paralizii ale unei urechi sau a buzei inferioare (fig. nr. 57). Aceste manifestări (pareze), după Sullivan (1985) se explică prin aceea că între encefalita din listerioză și nevrita trigemenilor există o strânsă corelație.



Fig. nr. 57 Aspect clinic, pareza urechii (stînga)

În majoritatea cazurilor oile stăteau în decubit lateral și executau cu picioarele mișcări de pedalare (fig. nr. 58). Deseori s-au observat tulburări oculare manifestate prin amauroză, și devierea laterală a capului-autoascultare (fig. nr. 59).



Fig. nr. 58 Aspect clinic-mișcări de pedalare



Fig. nr. 59 Aspect clinic – amauroză

La examenul necropsic, modificările macroscopice, s-au rezumat la tulburări circulatorii, manifestate prin hiperemia vaselor din țesutul conjunctiv subcutanat, hiperemia ficatului și a rinichilor, apariția de hemoragii sub epicard și endocard.

La cadavrele de miei, la care boala s-a manifestat acut, în toate cazurile s-a observat prezența de focare miliare, mai ales în ficat – leziunea de hepatită miliară necrotică.

În toate cazurile cu manifestări nervoase, a fost prezentă hiperemia meningelor. Encefalul apărea congestionat cu meningele infiltrat, mai ales în straturile inferioare, la nivelul bulbului, protuberanței, pedunculilor cerebrali și cerebeloși. Lichidul cefalorahidian din ventriculii laterali era opalescent și în cantitate mai mare, iar plexurile vasculare puternic injectate.

Examenul histopatologic efectuat pe diferite zone din sistemul nervos central la oile moarte de listerioză au evidențiat leziuni de encefalită cu localizare bulbo-protuberanțială, în pedunculii cerebrali și cerebeloși și mai rar în cornul lui Ammon și scoarța cerebrală.

Encefalita era exprimată prin congestie (fig. nr. 60 și 61), perivascularite cu dilatarea exagerată a spațiului Virchow-Robin, cu infiltrații de leucocite, histiocite și rare granulocite (fig. nr. 62). Alături de acestea se disting proliferații gliale, insulare și mai rar proliferații gliale difuze.

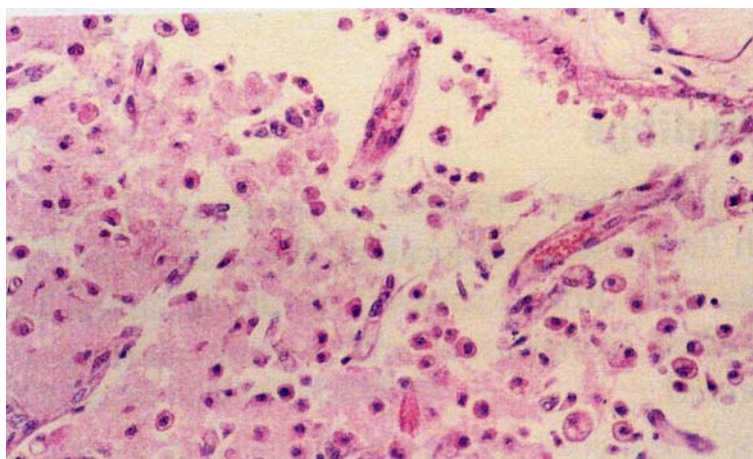


Fig. nr. 60 Secțiune prin creier de oaie : Congestie, infiltrație limfocitară și agregate celulare (Col.Hematoxină – eozină x 87).

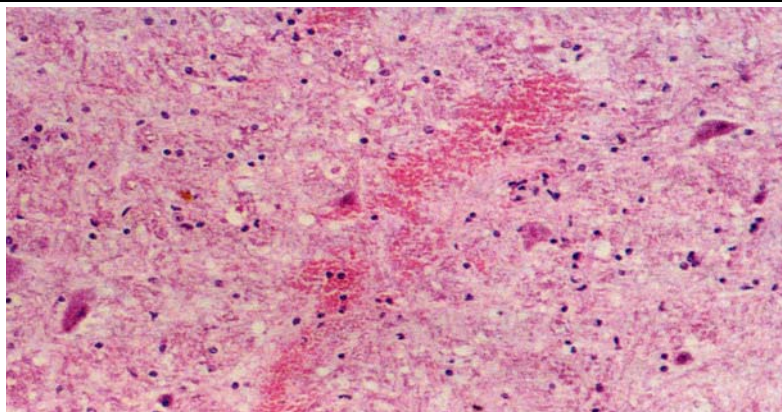


Fig. nr. 61 Secțiune în creier de oaie cu listerioză septicemică: - congestie meningeală și hemoragii (Col. Hematoxină-eozină, x 43).

-Secțiunile histologice efectuate în limfonoduri (fig. nr. 63) au evidențiat leziuni de limfadenită cu infiltrație de neutrofile, iar cele din splină (fig. nr. 64) congestie și hemosideroză.

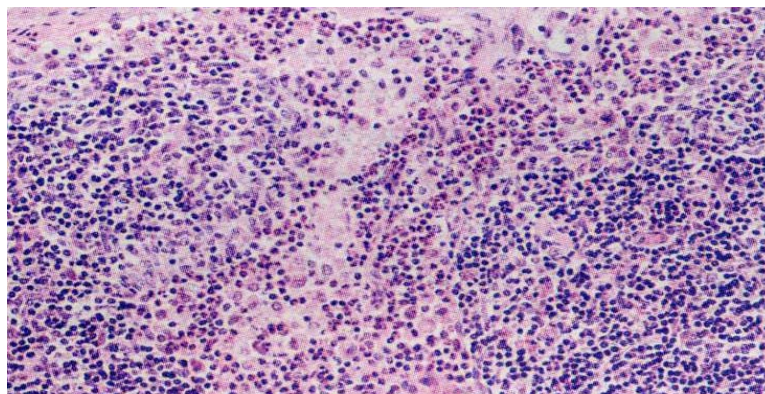


Fig. nr. 63 Secțiune în limfonod : limfadenită cu infiltrație neutrofilică (Col. Hematoxină – eozină, x 87).

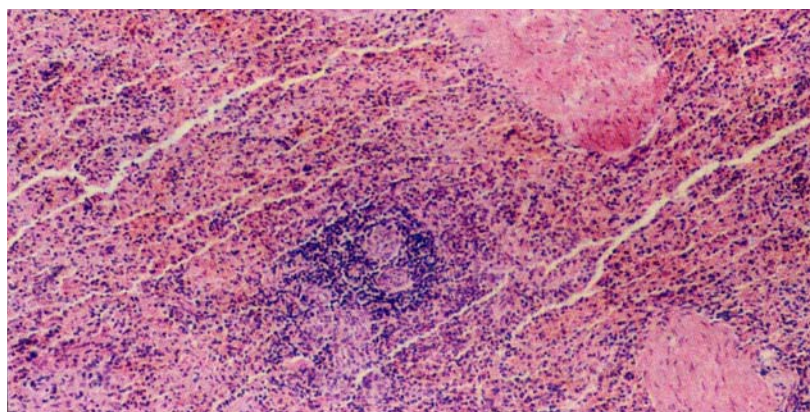


Fig. nr. 64 Secțiune în splină : hemosideroză și congestie (Col. Hematoxină – eozină x 43).

Însămânțările efectuate pe medii uzuale de cultură, ca și pe medii cu sânge (agar cu sânge), din organele parenchimatoase (ficat, splină) ca și din diverse segmente ale encefalului de la 10 cadavre și din organele a 6 ovine sacrificate de necesitate, au dus la izolarea și identificarea a 11 tulpini de *Listeriei monocytogenes* (fig. nr. 65).

Tabel nr. 43

Rezultatul examenului bacteriologic.

Nr.crt	Specificare	Total tulpini izolate	Însămânțări și izolări din:									
			Bulb		Tuberculi cuadrige-meni		Pedunculii cerebrali și cerebeloși		Ficat		Splină	
			Nr	%	Nr..	%	Nr.	%	Nr	%	Nr.	%
1	Animale moarte 10	10	10	100	8	80	7	70	-	-	-	-
2	Animale sacrificate -6	1	1	16,66	-	-	-	-	-	-	-	-
	Total-16	11	11	68,75	8	50	7	43,75	-	-	-	-

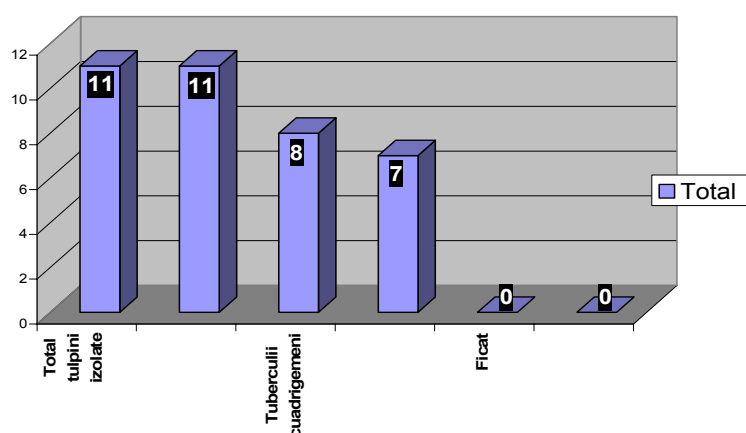
Rezultatul examenului bacteriologic
Bacteriological exam results

Fig. nr. 65

Inoculările celor 11 tulpini, cultivate în bulion glucozat, de 24 de ore în doză de 0,2 ml pe cale intraperitoneală au determinat moartea șoarecilor albi în decurs de 4-7 zile. Din cele 11 tulpini, una izolată de la un miel s-a dovedit slab patogenă, omorând șoarecele după 10 zile de la inoculare.

Instilată în sacul conjunctival la iepure, listeria a determinat în decurs de 2-3 zile o conjunctivită de tip granular și o cheratită difuză. Procesul inflamator ocular s-a resorbit în câteva zile, dar animalul a rămas cu opacitatea permanentă a corneei.

Toate cele 34 de ovine cu simptome de listerioză au fost supuse tratamentului cu ampicilină în doză de 0,025 g/kg, și zi. Inocularea s-a făcut pe cale intravenoasă, la interval de 12 ore. Din cele 34 de animale tratate, numai în 3 cazuri s-au obținut vindecări (tabel nr. 44, fig. nr. 68).

Din analiza datelor obținute se constată, că în urma aplicării tratamentului cu ampicilină, pe cale intravenoasă în doză de 0,025 g/kg și zi, timp de 3-5 zile, rezultatele diferă în funcție de forma evolutivă. Astfel, din cele 34 ovine tratate, vindecări s-au obținut numai în 3 cazuri ceea ce reprezintă 8,82%. Celelalte animale, în majoritate cu manifestări nervoase, 31 (91,18%) au murit sau au fost sacrificate de necesitate.

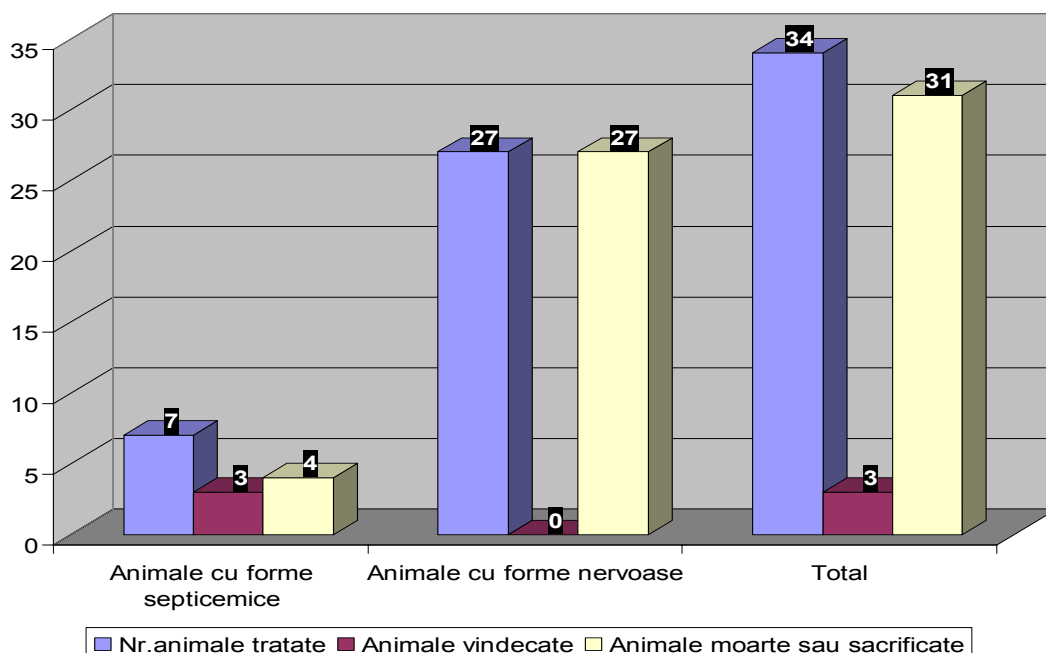


Fig. nr. 68

Rezultatele tratamentului cu ampicilină

7.3 Concluzii

Investigațiile epidemiologice, morfoclinice și de laborator în două episoade de listerioză ovină au condus la desprinderea următoarelor concluzii:

1. Îmbolnăvirile s-au înregistrat în perioada ianuarie-aprilie, în condiții de stabulație strictă și prelungită, cu o alimentație în care predomina furajul însilozat.

2. Sezonul rece și friguros, corelat cu alimentația saracă, acidă, ca urmare a furajului însilozat a favorizat apariția și evoluția manifestărilor clinice de listerioză.

3. Din totalul de 1.139 ovine, s-au îmbolnăvit 34, ceea ce reprezintă 2,99%, au murit 8 (23,53%) și au fost sacrificate de necesitate un număr de 23 (67,65%) ovine

4. Clinic boala a evoluat acut septicemic în 7(20,59%)cazuri, prezente numai la tineret și subacut cu manifestări nervoase la 27 (79,41%) de ovine adulte.

4.1. În evoluția subacută cu manifestări din partea sistemului nervos s-a înregistrat dromomanie, vertije, opistotonus, pareze și paralizii ale buzelor, membrelor, decubit și moarte.

5. Însămânțările pe medii de cultură cu sânge și pe medii glucozate, din diverse zone ale sistemului nervos central, organele parenchimatoase (ficat și splină) și din sânge au dus la izolarea a 11 tulpini de *Listeria monocytogenes*, identificate pe baza caracterelor morfologice, culturale, biochimice și de patogenitate.

5.1. Izolarea a reușit în 100% din bulb, 80 % din tuberculii cuadrigeni și în 70% din pedunculii cerebrali și cerebeloși.

5.2. Incercările de izolare din organele parenchimatoase (ficat și splină) și din sânge, chiar la animalele de la care *Listeria monocytogenes* s-a izolat din bulb, au fost negative.

6. Determinarea patogenității tulpinilor izolate s-a făcut prin instilarea culturilor de 24 de ore în sacul conjunctival la iepure

7. Tratamentul cu ampicilină în doză de 0,025 g/kg și zi administrată pe cale intravenoasă a dus la obținerea vindecării la 3 (8,82%) animale cu manifestări acute septicemice de boală. Nu s-a înregistrat nici o vindecare la cele 27 (79,41%) de animalele cu manifestări din partea sistemului nervos.

Cap. 8 Cercetări privind sensibilitatea tulpinilor izolate față de antibiotice

Sensibilitatea speciei *Listeria monocytogenes* față de antibiotice este studiată de mai mulți ani, în vederea obținerii unui protocol de tratament cât mai eficient împotriva listeriozei, atât la animale dar mai ales la om.

În același context, scopul cercetărilor efectuate a fost de a urmări comportamentul tulpinilor de *Listeria monocytogenes* izolate, față de o serie de antibiotice clasice dar și moderne, și de a observa dacă există modificări de sensibilitate în funcție de originea tulpinei.

8.1 Material și metodă

Cercetările s-au efectuat pe un număr total de 23 tulpini de *Listeria monocytogenes*, din care 11 proveneau din focare de listerioză ovină, 8 tulpini izolate din alimente, 3 din furaj însilozat și o tulpină de colecție standardizată (CETC 4032 – Centrul spaniol de culturi test), considerată drept etalon. (tabel nr. 45, fig. nr. 69).

Tabel nr. 45

Originea tulpinilor de *Listeria monocytogenes* studiate

Nr. Total de tulpini cercetate	L.m CETC 4032		Tulpini izolate din focare de listerioză ovină		Tulpini izolate din alimente		Tulpini izolate din furaj însilozat	
	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
23	1	4,35	11	47,83	8	34,78	3	13,04

Pentru efectuarea antibiogramei s-a utilizat metoda difuzimetrică pentru bacterii aerobe. Aceasta se bazează pe proprietatea antibioticelor de a difuza în medii solide de cultură realizând concentrații diferite, ce scad treptat de la locul de depunere înspre marginea zonei de difuzie.

Interpretarea rezultatelor s-a făcut în funcție de zona de inhibiție din jurul microcomprimatelor, funcție de aceasta tulpinile fiind apreciate sensibile, dacă diametrul zonei de inhibiție a fost mai mare de 6 mm, moderat sensibile dacă zona de

inhibiție era cuprinsă între 2 -5 mm, și rezistente atunci când zona de inhibiție a fost foarte mică (≤ 2 mm) sau chiar absentă.



Fig. nr. 70 Însămânțarea mediilor

După scoaterea plăcilor de la termostat s-a trecut la repartizarea microcomprimatelor de antibiotice, care s-a realizat cu ajutorul dispenser-ului mecanic (fig. nr. 71), astfel încât să se respecte distanța de 15 mm între microcomprimat și marginea plăcii, și 30 mm între microcomprimat;



Fig. nr.
71 Dispenser mecanic pentru repartizarea
microcomprimatelor

8.2 Rezultate și discuții

Rezultatele testării sensibilității la antibiotice a tulpinelor izolate din diferite medii, sunt prezentate în extenso în tabelul nr. 46. Astfel analizând rezultatele obținute, se constată că majoritatea tulpinelor izolate au manifestat un comportament asemănător cu cel al tulpinei de colecție (L.m CETC 4032), considerată drept etalon.

Ca antibiotice s-au ales un număr de 9 tipuri de antibiotice, recomandate pentru testarea sensibilității listeriilor, și anume : ampicilină, penicilină G, gentamicină, tetraciclină, eritromicină, cloramfenicol, trimetoprim, rifampicin și o cefalosporină (ceftiofur).

Sensibilitatea celor 23 de tulpini testate, față de antibioticele utilizate s-a dovedit a fi următoarea (tabel nr. 47, fig nr. 72) :

- la ampicilină, 21 (91,30%) tulpini au fost sensibile și 2 (8,70%) moderat sensibile;
- la gentamicină, 20 (86,95%) au fost sensibile, iar 3 (13,05%) moderat sensibile;
- la eritromicină, 14 (60,87%) au fost sensibile și 9 (39,13%) moderat sensibile;
- la penicilină G, 12 (52,17%) au fost sensibile și 11 (47,83 %) moderat sensibile;
- la tetraciclină, 12 (52,17%) au fost sensibile, 9 (39,13%) moderat sensibile, iar două tulpini (8,70%) s-au dovedit a fi rezistente;
- la trimetoprim, 12 (52,17 %) au fost sensibile, iar 11 (47,83%) moderat sensibile;
- la rifampicin, 5 (21,74%) au fost sensibile și 18 (78,26%) moderat sensibile;
- la cloramfenicol, 3 (13,04%) au fost sensibile și 20 (86,96%) moderat sensibile;
- la ceftiofur, o singură tulpină (4,35%) a fost moderat sensibilă, restul de 22 (95,65%) tulpini dovedindu-se rezistente.

Analizând tabelul nr. 47, se constată că procentul cel mai mare de sensibilitate a fost față de ampicilină (91,36%) și gentamicină (86,95%), urmând apoi eritromicina cu 60,87%, penicilina G și tetraciclina cu câte 52,17% și trimetoprim tot cu 52,17%, restul antibioticelor producând sensibilitate într-un procent mai scăzut.

În ceea ce privește rezistența la antibiotice, așa cum se aștepta, procentul cel mai mare de rezistență a fost în cazul ceftiofurului, de 95,65%, cunoscându-se faptul că *Listeria* este rezistentă la cefalosporine.

Tabel nr. 47

Sensibilitatea tulpinilor izolate față de antibiotice, prezentată în ordine descrescătoare

Nr. crt	Antibioticul testat	Nr. Total tulpini	S		MS		R	
			Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
1	Ampicilină	23	21	91,30	2	8,70	-	-
2	Gentamicină	23	20	86,95	3	13,05	-	-
3	Eritromicină	23	14	60,87	9	39,13	-	-
4	Penicilină G	23	12	52,17	11	47,83	-	-
5	Tetraciclină	23	12	52,17	9	39,13	2	8,70
6	Trimetoprim	23	12	52,17	11	47,83	-	-
7	Rifampicin	23	5	21,74	18	78,26	-	-
8	Cloramfenicol	23	3	13,04	20	86,96	-	-
9	Ceftiofur	23	-	-	1	4,35	22	95,65

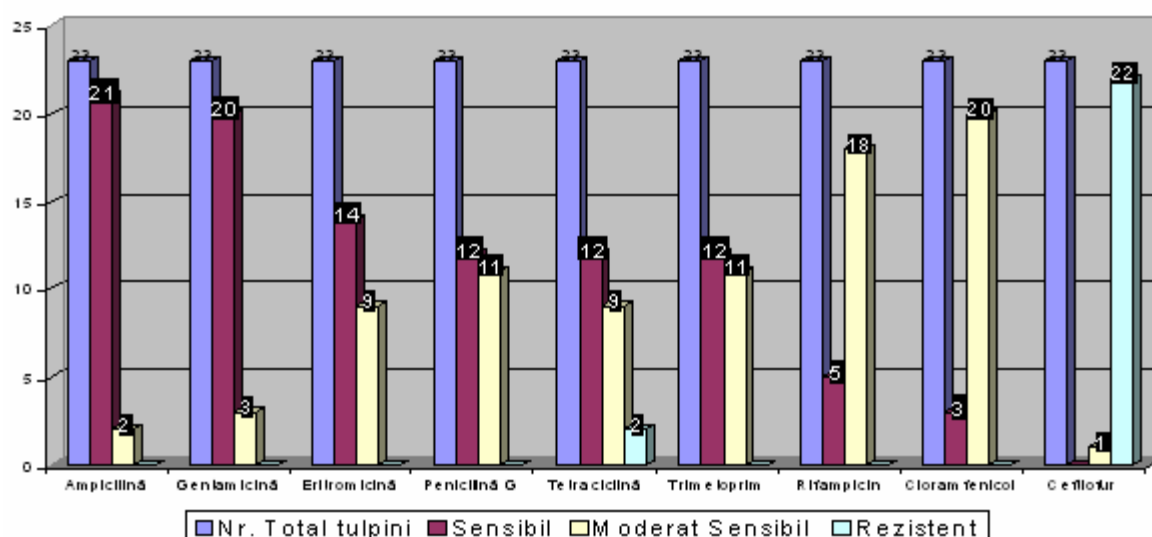


Fig. nr. 72 Sensibilitatea tulpinilor izolate față de antibiotice, prezentată în ordine descrescătoare

Tulpinile de *Listeria monocytogenes* studiate, au avut un comportament asemănător față de antibioticele luate în calcul. De altfel cei mai mulți autori consideră că tulpinile de *Listeria* nu au suferit în timp modificări majore în ceea ce privește sensibilitatea la antibiotice.

Așa cum s-a constatat și din studiul de față, ampicilina, utilizată de mult timp în tratamentul listeriozei, rămâne antibioticul de bază, cel mai activ, dar și cel mai eficient, din punct de vedere vital și economic. O asociere a acestei molecule cu o aminoazidă cum ar fi gentamicina, permite obținerea unui efect bactericid mult mai rapid. Durata tratamentului la om este de obicei 4-6 săptămâni, cu un minim de 2 săptămâni în toate cazurile. În caz de alergie la β -lactaminaze, alternativa de tratament poate fi reprezentată de asocierea trimetoprim-sulfametoxazol, administrată o dată la 12 ore.

Este important de reamintit faptul că cefalosporinele de a 3-a generație, utilizate frecvent în tratamentul cazurilor de meningită la om, precum și fluorquinolonele recente, care au avantajul unei bune penetrări celulare, sunt cel mai adesea ineficiente în tratamentul episoadelor de listerioză.

Datorită recunoașterii actuale a infecțiilor umane de natură alimentară, este importantă tratarea rezistenței la antibiotice a *Listeria spp.*, precum și revizuită utilizarea antibioticelor în alimentația animalelor.

8.3 Concluzii

În urma cercetărilor efectuate privind sensibilitatea tulpinilor izolate față de antibiotice s-au desprins următoarele concluzii :

1. Sensibilitatea cea mai mare s-a manifestat față de ampicilină (91,30%) și gentamicină (86,95%).
2. Procentul cel mai mare de rezistență (95,65%) s-a înregistrat în cazul ceftiofurului, aspect care confirmă faptul că *Listeria spp.* este rezistentă la cefalosporine.
3. În cazul listeriozei, recomandăm ca tratament ampicilina, eventual asociată cu gentamicina datorită potențării efectului bactericid mai rapid de către această aminoazidă.
4. În cazul alergiei la peniciline se recomandă ca alternativă de tratament asocierea dintre trimetoprim-sulfametoxazol, administrată o dată la 12 ore.

Cap. 9 Concluzii generale

În urma cercetărilor efectuate privind genul *Listeria* și implicațiile sale epidemiologice se desprind următoarele concluzii generale:

1. Examenul bacteriologic a 289 probe de materii fecale și tonsile recoltate de la bovine, ovine, suine și iepuri a permis izolarea a 20 (6,92%) tulpini de *Listeria spp.*, din care 15 (75%) identificate ca *Listeria monocytogenes*, 4 (20%) ca *Listeria innocua* și 1 (5%) ca *Listeria ivanovii*.
2. Din cele 168 probe de materii fecale provenite de la bovine, ovine, suine și iepuri s-au izolat 8 (4,73%) tulpini de *Listeria monocytogenes*, 1 (0,59%) de *Listeria ivanovii* și 1 (0,59%) de *Listeria innocua*.
3. Examenul bacteriologic al celor 120 (60 de la bovine și 60 de la suine) probe de tonsile recoltate de la bovine și suine a dus la izolarea a 7 (5,83%) tulpini de *Listeria monocytogenes* și 3 (2,5%) de *Listeria innocua*.
4. În urma examinării celor 42 probe de furaj însilozat s-au izolat 3 (7,14%) tulpini de *Listeria monocytogenes*.
5. Din tulpinile de *Listeria* izolate 2 (4,76%) au provenit din probele recoltate de la suprafața silozului și 1 (2,38%) din probele recoltate de la marginea silozului.
6. Examenul bacteriologic al probelor recoltate din profunzimea silozului, cu valori de pH sub 5, a fost negativ, neizolându-se nici o tulpină de *Listeria*.
7. Din cele 232 probe de lapte și produse lactate examinate, un număr de 12 (5,17%) au fost pozitive pentru *Listeria spp.*, identificându-se câte 1 (1,35%) tulpină de *Listeria monocytogenes* și *Listeria ivanovii*, și 2 (2,70%) tulpini de *Listeria welshimeri*.
8. Investigațiile epidemiologice efectuate în două focare de de listerioză ovină, cu un efectiv total de 1139, au evidențiat o morbiditate de 2,99%.
9. Din cele 34 de ovine îmbolnăvite, 8 (23,53%) au murit, 23 (67,65%) au fost sacrificate de necesitate, iar 3 (8,82%) s-au vindecat.
10. Sezonul rece și frigos, corelat cu alimentația unilaterală deficitară calitativ și cantitativ, ca urmare a utilizării în exces a furajului însilozat, cu un pH necorespunzător a favorizat apariția și evoluția manifestărilor clinice de

listerioză.

11. Clinic boala a evoluat acut septicemic în 7 (20,59%) cazuri, la miei și tineret și subacut cu manifestări nervoase la 27 (79,41%) ovine adulte.

12. Tratamentul cu ampicilină aplicat ovinelor îmbolnăvite a determinat vindecarea a 3 (8,82%) cu manifestări acute septicemice și nu a avut eficacitate la cele 27 (79,41%) cu manifestări nervoase.

13. Cercetările privind sensibilitatea celor 23 de tulpini de *Listeria spp.* izolate din diferite medii au evidențiat că ampicilina a fost activă în 91,30% din cazuri, urmată de gentamicină cu 86,95%. Cel mai puțin activă s-a dovedit a fi ceftiofurul, unde procentul de rezistență a fost de 95,65%.

14. De asemenea, menționăm că tulpinile izolate au manifestat un comportament asemănător celor de colecție (L.m CETC 4032), cu excepția a două tulpini care s-au dovedit a fi rezistente la tetraciclină.

15. Apariția unor tulpini noi multirezistente la antibiotice față de care în trecut *Listeria monocytogenes* era sensibilă, confirmă capacitatea bacteriei de a dobândi unele gene de rezistență, fenomen întâlnit și în literatura recentă de specialitate.

Bibliografie selectivă

1. **Amgar A.** - « Compte-rendus de la conférence internationale "*Listeria* et sécurité alimentaire", 13-14 juin 1991, Laval, France Laval, ASEPT, 1991, p. 221
2. **Andre P., Roose H., Van Noyen R., Dejeacher L., Uyttendaele I., De Schriiver K.** - Listériose neuro-méningée associée à la consommation de crème glacée. Méd. Mal. Infect., 20, 1990, p. 570-572.
3. **Andrei M.** – Listerioza oilor, boală condiționată de factori alimentari, Rev. Zooteh. Și Med. Veterinară, nr. 1, 1974, p. 54-56.
4. **Audurier A., Taylor A.G., Carbonelle B., Mc Lauchlin J.** - A phage typing system for *Listeria monocytogenes* and its use in epidemiological studies. Clin. Invest. Med., 7, 1984, p. 229-232.
5. **Augustin J.C.** - Résistance de *Listeria monocytogenes* aux traitement physiques, Pathol Biol, 44, 1996, p. 790-807.
6. **Astiers-Dumas M.** – Mise au point. Listeriosis. Med. Et Nutrition, 1992, 6, p. 332-338.
7. **Avril J.L.** - Nouveau dictionnaire de bactériologie clinique, Ellipses, Paris, 1997.
8. **Baird-Parker A.C., Mayes T.** - Control by the application of HACCP. In "Compte-rendus de la conférence internationale *Listeria* et sécurité alimentaire". Amgar A Ed. 13-14 juin 1991, Laval, France. Laval, ASEPT, 1991, p. 174-177.
9. **Bakulov I., Kotlyarov V.M., Turova T.P., O Bakaldina N.B., Ivanova T.L.** - (En russe) Identification of *Listeria* by the molecular DNA-RNA hybridization technique. Mol. Gen. Microbiol. Virol., 7, 1988, p. 31-34.
10. **Baloga A.O., Harlander S.K.** - Comparison of methods for discrimination between strains of *Listeria monocytogenes* from epidemiological surveys. Apl. Environ. Microbiol., 57, 1991, p. 2324-2331.
11. **Bannerman E.S., Bille J.** - A new selective medium for isolating *Listeria* sp. from heavily contaminated material. Apl. Environ., Microbiol., 54, 1988, p. 165-167.
12. **Bannister B.A.** - *Listeria monocytogenes* meningitis associated with eating soft cheese. J. Infect., 15, 1987, p. 165-168.
13. **Barclay R., Threfall D.R., Leighton I.** - Separation and properties of the haemolysins and extracellular enzymes of *Listeria monocytogenes* and *Listeria ivanovii*. J. Med. Microbiol., 30, 1989, p. 119-127.
14. **Bazgan Olimpia, Chidon Radivanski A.** – Izolarea și identificarea *Listeriei monocytogenes* din alimente de origine animală. Lucrări științifice, vol. 44, fascicula II, Ed. Ion Ionescu de la Brad, IAȘI-2001, p.708-710
15. **Bazgan Olimpia** – Diagnostic de laborator și Igiena alimentelor de origine animală, Ed. Moldogrup, Iași, 1999, p. 203-206.
16. **Băieș I., Bran I.** – Bolile infecțioase ale animalelor domestice. Ed. Didactică și Pedagogică, București, 1971.
17. **Bărzoș D., Meica S., Neguț M.** - Toxiinfecții alimentare. Ed. Diacon Coresi, București 1999, pag.184-225.
18. **Bărzoș D., Apostu S.** – Microbiologia produselor alimentare, Ed. Risoprint, Cluj-Napoca, 2002, p. 150-155.
19. **Benedict R.C., Schultz F.J.** - An effect on iron level and food type en production of hemolysin and catalase of *Listeria monocytogenes* strain Scott A. J. Food Protect., 54, 7, 1991, p. 528-531.

20. **Beran G.W.** - Handbook of zoonoses, 2th éd., Seet A Bacterial, Rickettsial, Chlamydial and mycotic, CRC Press, Boca Raton, 1994.
21. **Bercea I., Mardari Al., Moga-Mînzat R., Popoviciu A.** – Boli infecțioase ale animalelor. Ed. Didactică și Pedagogică, București, 1981.
22. **Berche P., Decreusefond C, Theodorov I., Stiffel C.** - Impact of genetically regulated T cell proliferation on acquired resistance of *Listeria monocytogenes*. J. Immunol., 152, 1989, p. 932-939.
23. **Berche P., Gaillard J.L., Simonet M.** – Bacteriologie. Flammarion, Paris, 1988, p. 312-321.
24. **Berche P., Reich K.A., Bonnichon M., Beretti J.L., Geoffroy C, Raveneau J., Cossart P., Gaillard J.L., Geslin P., Kreis H., Veron M.** - Detection of anti-LLO for sérodiagnostic of human listeriosis. Lancet, 335, 1990, p. 642-647.
25. **Berenguer J., Solera J., Diaz M.D., Moreno S., Lopez-Herce J.A., Bouza E.** - Listeriosis in patients infected with human immunodeficient virus. Rev. Infect. Disease, 13, 1991, p. 115-119.
26. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology** - Vol 2, Williams and Wilkins Baltimore, 1986.
27. **Bessesen M.T., Luo Q., Rotbart H.A., Blaser M.J., Ellison R.T.** - Detection of *Listeria monocytogenes* by using the polymerase chain reaction. Apl. Environ. Microbiol., 56, 1990, p. 2930-2932.
28. **Best M., Kennedy M.E., Coates F.** - Efficacy of a variety of disinfectants against *Listeria sp.* Apl. Environ. Microbiol. 56, 1990, p. 377-380.
29. **Bille J.** - Listeria. Méd. Hyg., 49, 1991, p. 621-624.
30. **Bille J., Doyle M.** – *Listeria* and *Erysipelothrix*. in "Manual of clinical microbiology". Washington, American Society for Microbiology, 1991.
31. **Bille J., Catimel B., Bannerman E., Jacquet C, Yersin M.N., Caniaux I.** - API *Listeria*, a new and promising one-day system to identify *Listeria* isolates. Apl. Environ. Microbiol., 58, 1992, p. 1857-1860.
32. **Bind J.L., Avoine C, Delaval J.** - Analyse critique des méthodes d'isolement, de dénombrement et d'identification des *Listeria* en agro-alimentaire, Pathol. Biol., 44, 1996, 757-768.
33. **Boerlin P., Rocourt J., Crimont F., Grimont P.A.D., Jacquet C, Piffaretti J.C.** - *Listeria ivanovii* subsp. londoniensis subsp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 42, 1992, p. 69-73.
34. **Bojsen-Moller** - Human listeriosis diagnostic, epidemiologic and clinical studies. Acta Pathol. Microbiol. Scand., Sect. B, 229, 1972, p. 72-92.
35. **Border P.M., Howard J.J., Plastow G.S., Siccens K.W.** - Detection of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* using polymerase chain reaction. Lett. Apl. Microbiol., 11, 1990, p. 158-162.
36. **Bornert G.** – Revue Med. Vet., 154, 3, p.182-194.
37. **Borovian G.E.** - Control of *Listeria monocytogenes* in comparison to other food pathogens using food preservatives. In "Proceedings of annual meeting of American Society for Microbiology". New Orleans, May 14-18, Abstract., 167, 1989.
38. **Bortolussi R., Issekutz T., Burbridge S., Schellekens S.** - Neonatal host defense mechanisms against *Listeria monocytogenes* infection : the role of lipopolysaccharides and interferons. Pediatr. res., 25, 1989, p. 311-315.
39. **Bosgiraud C., Menudier A., Cornuejols M.J., Hangard-Vidaud N., Nicolas J.A.** - Etude de la virulence de *Listeria monocytogenes* isolées d'aliments de l'homme. Microbiol. Aliment. Nutr., 7, \ /1989, p. 413-420.

40. **Bourgeois CM., Mescle J.F., Zucca J.** - Microbiologie alimentaire, Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, Tec et Doc Lavoisier, Paris, 1996.
41. **Bradshaw J.G., Peeler J.T., Twedt R.M.** - Thermal resistance of *Listeria sp.* in milk, I. Food Prot., 54, 1991, p. 12-14.
42. **Brosch R., Buchrieser C., Sixl-Voigt B., Rocourt J.** - Use of pulsed field electrophoresis of DNA restriction fragments for comparing *Listeria monocytogenes* strains isolated from human infections and food in Austria Zentrabl. Bakteriolog., 275, 1991, p. 557-560.
43. **Buisson L.** - Les listerioses. Lettre infectiologue, 6, 1991, p. 60-61
44. **Buiuc D., Negruț M.** - Tratat de microbiologie. Ed. Medicală, București, 1999.
45. **Busch S.V., Donnelly C.W.** - Development of a repair-enrichment broth for resuscitation of heat-injured *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua*. Appl. Environ. Microbiol., 58, 1992, p. 14-20.
46. **Carp-Cărare M., Eleonora Guguianu, Dorina Timofte** - Lucrări practice de microbiologie veterinară, USAMV Iași, 1997, p. 193-197.
47. **Carp-Cărare C., Timofte Dorina, Guguianu Eleonora** - Frecvența speciei *Listeria monocytogenes* în lapte și brânza proaspătă de vaci, Lucrări științifice, vol. 44(3) Fascicula II, p. 711-713, Editura "Ion Ionescu de la Brad", Iași-2001.
48. **Carp-Cărare C., M. Carp- Cărare, I. C. Țuc, Dorina Timofte** - New bibliographical stuffs concerning the epidemiology of genus *Listeria*, the *Listeria monocytogenes* species, Buletin USAMV-Cluj-Napoca Seria Medicină Veterinară, volumul 57-58, 2002, p 510-515.
49. **Carp-Cărare C., M. Mares, I.C. Tuc** - Studii privind frecvența contaminării unor sortimente de brânzeturi cu *Listeria monocytogenes*, Revista română de medicină veterinară, Vol. 13, p. 252, Al XI-lea congres național de Medicină Veterinară, Iași, 2003.
50. **Carp-Cărare C., V. Floriștean, Eleonora Guguianu, Cristina Rebegea, M. Carp-Cărare** - Studiu privind prezența speciei *Listeria monocytogenes* în lapte și unele produse lactate, Lucrări științifice vol.46, Editura "Ion Ionescu de la Brad", Iași-2005.
51. **Carp-Cărare C., Perianu T., Velescu Elena, Tănase Oana-Irina, Pavli C.** - Aspecte epidemiologice și clinice în listerioza ovină. Simpozionul anual de comunicări științifice, UȘAMV – Iași, 8-9 iunie 2006.
52. **Carp-Cărare C.** - Observații privind izolarea speciei *Listeria monocytogenes* din furajul înșilozat. Simpozionul anual de comunicări științifice, UȘAMV – Iași, 8-9 iunie 2006.
53. **Catteau M.** - Détection de *Listeria monocytogenes* dans les aliments : évolution des méthodes de recherches sélectives. In "Compte-rendus de la conférence internationale. Listeria et sécurité alimentaire". Amcar A. Ed. 13-14 juin 1991b. Laval, France. Laval, ASEPT, 1991, p. 135-141.
54. **Collins M.D., Wallbanks S., Lane D.J., Shah J., Nietupski R., Smida J., Dorsch M., Stackebrandt E.** - Phylogenetic analysis of the genus *Listeria* based on reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA. Int. J. Syst. Bacterid., 41, 1991, p. 240-246.
55. **Comi C, Cantoni C, Valenti M., I. Civilini M.** - *Listeria* species in italian cheeses. Microbiol. Aliment. Nutr., 8, 1990, p. 377-382.
56. **Conner D.E, Scott V.N., Bernard D.T.** - Growth, inhibition and survival of *Listeria monocytogenes* as affected by acidic conditions. J. Food Prot., 53, 1990, p. 652-655.

57. **Cossart P.** - *Listeria monocytogenes* : un système modèle à l'interface génétique bactérienne et biologie cellulaire. Bull. Soc. Fr. Microbiol., 7, 1992, p. 247-250.
58. **Cowart R.E., Lashmet J., McIntosh M.E., Adams T.J.** - Adherence of the virulent strain of *Listeria monocytogenes* to the surface of a hepatocarcinoma cell line via lectin-substrate interaction. Arch. Microbiol., 153, 1990, p. 282-286.
59. **Cox L.J., Siebenga A., Pedrazzani C.** - Performance of enhanced haemolysin agar compared to Oxford medium for the isolation *Listeria monocytogenes* from food enrichment broths. Food Microbiol., 8, 1991b, p. 51-62.
60. **Curtis C.D.W., Mitchell R.G., King A.F., Griffin E.J.** - A selective differential medium for the isolation of *Listeria monocytogenes*. Lett. Appl. Microbiol., 8, 1989, p. 95-98.
61. **Darie P.** – Cercetări privind *Listeria monocytogenes* și listerioza la animale în R.S. România, Teză de doctorat, București, 1968.
62. **Darie P., Harviuc S.** - Listerioza animalelor domestice, Ed.Ceres București, 1975
63. **Duca Eugenia, Duca M., Furtunescu G.** - Microbiologie medicală, Ed. Didactică și Pedagogică-București, 1979, p. 505-509
64. **Degnan A.J., Kaspar C.W., Otwell W.S., Tamplin M.L., Luchansky J.B.** - Evaluation of lactic acid bacterium fermentation products and food grade chemicals to control *Listeria monocytogenes* in blue crab (*Callinectes sapidus*) meat. Appl. environ. Microbiol., 60, 1994, p. 3198-3202.
65. **Dijkstra R.G.** - Ecology of *Listeria*. Epidemiological studies on listeriosis in animals and its relationship to food and man. Microbiol. Aliment. Nutr., 7, 1989, p. 353-359.
66. **Dillon R., Patel T., Ratnam S.** - Occurrence of *Listeria* in hot and cold smoked seafood products. Int. Food Microbiol., 22, 1994, 73-77.
67. **Dobrea Mimi** - Teză de doctorat "Implicații ale speciei *Listeria monocytogenes* în controlul sanitar –veterinar al unor produse alimentare de origine animală", UȘAMV București, 1998.
68. **Donnelly C.W., Brackett R.E., Doores S., Lee W.H., Lovett J.** -*Listeria* in "Compendium methods for the microbiological examination of foods". Vanderzanl et Splettstoesser D.F. American public health Association, 1992, p. 637-663.
69. **Doyle M.P.** – Heat resistance of *Listeria monocytogenes*, J. Food Protection, 64, p. 410-429, 2001.
70. **Doyle M.P., Beuchat L.R., Montville T.Y.** - Food microbiology Fundamentals and frontiers, ASM Press, Washington, 1997.
71. **El-Gazzar F.E., Marth E.H.** - *Listeria monocytogenes* and listeriosis related to milk, milk products and dairy ingredients : a review. II. *Listeria monocytogenes* and dairy technology. Milchwissenschaft, 46, 1991, p. 82-86.
72. **El-Kest S.E., Marth E.H.** - Inactivation of *Listeria monocytogenes* by chlorine, J.Food Protect., 51, 1988, pp.520-530.
73. **Eleftheriadou Mary, Varnava-Tello Andri, Maria Metta-Loizidou, Andri-Silvia Nikolau, Dina Akelidou** – The microbiological profile of foods in the Republic of Cyprus. Food Microbiology, 19, 2002, p. 463-471.
74. **Ene Livia, Duda R., Mihnea Luminița, Verdeș N.** - Frecvența izolării *Listeriei monocytogenes* din produse alimentare și prelevate clinice umane. Preocupări actuale în domeniul microbiologiei alimentare. Inst. de sănătate publică și cercetări medicale Mihai Ciucă, 1994, p66-74.
75. **Espaze E.P., Rocourt J., Courtieu A.L.** - La listériose en France en 1988. Etude à partir de souches adressées au Centre National de Référence. Bull.

- Epidemiol. Hebd., 3, 1991, p. 9-10.
76. **Fabiani C, Marsoin J., Cartier F., Cormier M.** - Recherche par coproculture des porteurs de *Listeria* chez les transplantés rénaux. Méd. Mal. Infect., 6, 1976, p. 15-20.
 77. **Facinelli B., Roberts M.C., Giovanetti Ev Casolari C, Fabio U., Varaldo P.E.** - Genetic basis of tetracycline resistance in food - borne isolates of *Listeria innocua*, Apl. Environm. Microbiol., 59, 1993, p. 614-616.
 78. **Farber J.M.** - Prevention and control of foodborne listeriosis. Dairy Food Environm. Sanit., 12, 1992, p. 334-340.
 79. **Farber J.M., Daley E.** - Presence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally-contaminated meats. Int. J. Food Microbiol., 22, 1994, p. 33-42.
 80. **Farber J.M., Speirs J.I.** - Monoclonal antibodies directed against the flagellar antigens of *Listeria spp.*, and their potential in EIA based methods. J. Food Protect., 50, 1987, p. 479-484.
 81. **Fenlon D.R., Wilson J., Donachie W.** - The incidence and level of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing, J. Apl. Bacteriol, 81, 1996, p. 641-650.
 82. **Fiedler F.** - Biochemistry of the cell surface of *Listeria* strains : a locating general view. W Infection, 16, 1988, p. 92-97.
 83. **Flint S.H., Kells N.J.** - The sub-typing of *Listeria monocytogenes* isolated from food, environments surrounding food manufacturing sites, and clinical samples in New Zealand using multiocus enzymes electrophoresis, Int. J. Food microbiol., 31, 1996, p. 349-355.
 84. **Franco Abuin C.M., Quinto Fernandez E.J., Fente Sampayo C., Rodriguez Otero J.L., Dominguez Rodriguez L., Cepeda Saez A.** - Susceptibilities of *Listeria* species isolated from food to nine antimicrobial agents. Antimicrob. Agents chemother, 38, 1994, p. 1655-1657.
 85. **Frank J.F., Koffi R.A.** - Surface-adherent growth of *Listeria monocytogenes* is associated with increased resistance to surfactant sanitizers and heat. J. Food Protect., 53, 1990, p. 550-554.
 86. **Frederiksen W.** - Listeria epidemiology in Danmark 1981-1990. In "Compte-rendus de la conférence internationale. Listeria et sécurité alimentaire". Amgar A. Ed. 13-14. juin 1991, Laval, France. Laval, ASEPT, 1991, p. 48-49.
 87. **Gaillard J.L., Berche P., Frehel C, Guin F., Cossart P.** - Entry of *Listeria monocytogenes* into cells is mediated by internalin, a repeat protein C reminiscent of surface antigens from Gram-positive cocci. Cell., 65, 1991, p. 1127-1141.
 88. **Galsworthy S.B.** - Monocytosis producing activity from virulent and avirulent strains *Listeria*. Acta Microbial. Hung., 37, 1990, p. 97-99.
 89. **Gelinas P.** - Répertoire des microorganismes pathogènes transmis par les aliments, Edisem Saint-Hyacinthe, 1995.
 90. **Gellin B.G., Broome C.V., Bibb W.F., Weaver R.E., Gaventa S., Mascola L.** - The listeriosis study group : the epidemiology of listeriosis in the United States - 1986. Am. J. Epidemiol., 133, 1991, p. 392-401.
 91. **Geoffroy C, Raveneau ., Beretti J.L., Lecroisey A., Vasquez-Boland J.A., Alouf J.E., Berche P.** • Purification and characterization of the extracellular 29 kilodaltons phosphatase C from *Listeria monocytogenes*. Infect. Immun. , 59, 1991, p. 2382-2388.
 92. **Gilbert R.J.** - Occurrence of *Listeria monocytogenes* in foods in the United Kingdom. In "Compte-rendus de la conférence internationale. Listeria et sécurité

- alimentaire". Amcar A. Ed. 13-14 juin 1991, Laval, France. Laval, ASEPT, 1991, p. 82-88.
93. **Gobat P.F., Jemmi T.** - Epidemiological studies on *Listeria spp.* in slaughter-house. Fleischwirtsch., 70, 1990, p. 1448-1450.
 94. **Golden D.A., Beuchat L.R., Brackett R.E.** - Evaluation of selective direct plating media for their suitability to recover uninjured, heat-injured, and freeze-injured *Listeria monocytogenes* from foods. Apl. Env. Microbiol., 54, 1988, p. 1451-1456.
 95. **Goulet V., Rebiere I., Mamet J.P., MIEGEVILLE A.F., COURTIEU A.L.** • Surveillance de la listériose humaine en France de 1987 à 1989 à partir d'un réseau de laboratoires. In "Compte-rendus de la conférence internationale. Listeria et sécurité alimentaire". Amgar A. Ed. 13-14 juin 1991, Laval, France. Laval, ASEPT, 1991, p. 31-37.
 96. **Grau F.H., Vanderlinde P.B.** - Occurrence, numbers and growth of *Listeria monocytogenes* on some vacuum-packaged processed meats. J. Food Protect., 55, 1992, p. 4-7.
 97. **Graves L.L., Swaminathan B., Reeves M.W., VVenger** • Ribosomal DNA finger printing *Listeria monocytogenes* using a digoxi-genin-labeled DNA probe. Eur. J. Epidemiol., 7, 1991, p. 77-82.
 98. **Gray M.L.** - Isolation of *Listeria monocytogenes* from oat silage. Sci., 132, 1960b, p. 1767-1768.
 99. **Guguianu Eleonora** – Bacteriologie generală, Ed. Venus, Iași, 2002.
 100. **Guiraud J.P.** - Microbiologie alimentaire, Dunod, Paris, 1998.
 101. **Guna Singhe CF., Henderson C, Rutter M.A.** - Comparative study of two plating media (Palcam and Oxford) for detection of *Listeria* species in a range of meat products following variety of enrichment procedures. Letters in applied microbiology, 1994, 18, p. 156-158.
 102. **Haroviuc S.** – Focare de listerioză în regiunea Galați. Rev. Zootehnie și Medicină Veterinară, nr. 1, 1966. p. 45-47.
 103. **Hart CD., Mead G.C, Norris A.P.** • Effects of gaseous environment and temperature on the storage behaviour of *Listeria monocytogenes* on chicken breast meat. J. Apl. Bacteriol., 70, 1991, p. 40-46.
 104. **Herman L, De Ridder H.** - Comparison of different methods for destruction of *Listeria monocytogenes* in dairy products. Milchwissenschaft, 48, 1993, p. 684-686.
 105. **Hibma A.M., Jassim S.A., Griffiths M.W.** - In vivo bioluminescence to detect the attachment of L- forms of *Listeria monocytogenes* to food and clinical contact surfaces, Int. J. food microbiol., 33, 1996, p. 157-167.
 106. **Hof H., Rocourt J.** - Is any strain of *Listeria monocytogenes* detected in food a health risk Int. J. food Microbiol., 16, 1992, p. 173-182.
 107. **Holt J.G., Krieg N.R., Smath P.H.A., Staley Y.T., Williams S.T.** - Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Williams and Wilkins Baltimore, 1994.
 108. **Ișan Elena** - Unele modificări organoleptice, morfopatologice și microbiologice ale cărnii destinate consumului. Teză de doctorat, UȘAMV-Iași, 2004.
 109. **Ivana Simona** – Bacteriologie veterinară specială, Ed. Ceres, 2002.
 110. **Jacquet C, Reynaud A.** - Différences in the sensitivity to eight desinfectants of *Listeria monocytogenes* strains as related to their origin (short note"). Int. Food Microbiol., 22, 1994, p. 79-83.
 111. **Jacquet C, Rocourt J., Reynaud A.** - Etude des sites de contamination par *Listeria monocytogenes* dans une laiterie et typage des souches isolées. In "Les

- microorganismes contaminants dans les industries agro-alimentaires, colonisation, détection et maîtrise. Paris, Société Française de Microbiologie, 1991, p. 35-41.
112. **Jacquet C.H.** • *Listeria* et listériose humaine, In : Sécurité alimentaire du consommateur, Moll M et Moll N, éd., Tec et Doc Lavoisier Paris, 1995, p. 21-53
 113. **Janda J.M., Abbott S.L.** • Unusual food -borne pathogens. *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* and *Eduvarsiella spenis*. Clin. Lab med, 19, 1999, p. 553-582.
 114. **Jay J.M.** – Prevalence of *Listeria spp.*, in meat and poultry products. Food Control, 7, 1996, p. 209-214.
 115. **Joffin Christian, Jean – Noel Joffin** – Microbiologie alimentaire, a v-a ed., Centre Regional de Documentation Pedagogique, Bordeaux, 1999, France.
 116. **Johansson T.** - Enhanced detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* from foodstuffs and food processing environments, Int. J. Food. Microbiol, 40, 1998, p. 77-85.
 117. **Johnson J.L.** - Fate of *Listeria monocytogenes* in muscle of inoculated animals and in meat products. Thesis, Ph. D., University of Wisconsin-Madison, 1989, 163 p.
 118. **Kathariou S.** • Pathogenesis determinants of *Listeria monocytogenes* in Microbial food borne diseases, Cary J. W., Linz J. E. et Bhatnagar D. ed. Economic Publ. Co Lancaster, 2000.
 119. **Katsaras K., Dresel J.** – Effects of added soy protein on bacterial growth in vacuum packaged sliced Bruchwurst sausage. Mitteilung schatt-der-Bundesanstalt-fuer-Fleischforschung, 32, 1993, p.26-34.
 120. **Kaufman S.H.E.** - Listeriosis : new findings-current concerns. Microbial Pathogen., 5, 1988a, p. 225-231.
 121. **Kerr K.G., Rotowa N.A., Hawkey P.M., Lacey R.W.** - Evaluation of the mast ID and API 50CH systems for identification of *Listeria spp.* Apl. Environ. Microbiol., 56, 1990, p. 657-660.
 122. **Klinger J.D., Johnson A., Croan D., Whipie K., Flynn P., Kimball M., Lawrie J., Curiale M.** - Comparative studies of nucleic acid hybridization assay for *Listeria* in foods. J. AOAC, 71, 1988, p. 669-673.
 123. **Kornacki J.L., Evanson D.J., Reid W., Rowe K., Flowers R.S.** - Evaluation of the USDA protocol for destruction of *Listeria monocytogenes*, journal of food protection, 56, 1993, p. 441-443.
 124. **Kroeckel L.** - Effect of sakazin P from *Lactobacillus sake* Lb 674 on acidification activity of *Listeria innocua* Li1. 32, 1993, pp. 21-25.
 125. **Kuhn M., Goebel W.** – Identification of an intracellular protein of *Listeria monocytogenes* possibly involved in intracellular uptake by mammalian cells. Infect. Immun., 57, 1989, p. 55-61.
 126. **Lahellec C, Salvat G., Brisabois A.** - Incidence of *Listeria* in food, Pathol. Biol., 44, 1996, p. 808-815.
 127. **Laine K., Michard J.** - Fréquence et abondance des *Listeria* dans les légumes frais découpés prêts à l'emploi. Microbiol. Aliment. Nutr., 6, 1988, p. 329-335.
 128. **Lanceveld L.P.M., Corput P. Van de, Faasen M.Y.M.G.** - The risk of contamination of pasteurized dairy products with *Listeria spp.* Voedings middelen technologie, 26, 1993, p. 13-16
 129. **Larpent J.P.** - Mémento technique de f microbiologie Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 1997.
 130. **Larpent J.P.** - Microbiologie alimentaire : techniques de laboratoire, Tec et Doc,

- Lavoisier, Paris, 1997.
131. **Larpent J.P.** - *Listeria*, Ed. Tec et DOC, 2-e Edition, Paris, 2000
 132. **Lee S.H., Frank J.F.** - Effect of growth temperature and media on inactivation of *Listeria monocytogenes* by chlorine. Food Sat., 11, 1991, p. 65-71.
 133. **Léger L.** - *Listeria* est-elle incontournable ? Rev. Ind. Aliment., 467, 1991, p. 37-38.
 134. **Lew A.E., Desmarchelier P.M.** - Restriction fragment length polymorphism analysis of *Listeria monocytogenes* and its application to epidemiological investigations. Int. J. Food Microbiol., 15, 1992, p. 347-356.
 135. **Lewis S.J., Corry J.E.L.** - Comparison of a cold enrichment and the FDA method for V isolating *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* sp. from ready-to-eat food on retail sale in the UK. Int. J. Food Microbiol., 12, 1991b, p. 281-288.
 136. **Loessner M.J.** - Improved procedure for bacteriophage typing of *Listeria* strains and evaluation of new phages. Apl. Environ. Microbiol., 57, 1991, p. 882-884.
 137. **Lovett J.** - *Listeria monocytogenes*. In "Foodborne bacterial pathogens". Doyle Ed. New York, Marcel Dekker Inc., 1989, p. 283-310.
 138. **Lund A.M., Zottola E.A., Pusch D.J.** - Comparison of methods for isolation of *Listeria* from raw milk. J. Food Protect., 54, 1991, p. 602-606.
 139. **Mac Carthy S.A.** • Pathogenicity of non-stressed, heat-stressed and resuscitated *Listeria monocytogenes* 1A1 cells. Apl. Environ. Microbiol., 57, 1991, p. 2389-2391.
 140. **Mac Gowan A.P., Holt H.A., Reeves D.S.** - In vitro synergy testing of nine antimicrobial combination against *Listeria monocytogenes*. J. Antimicrobial. Chemother., 25, 1990, p. 561-566.
 141. **Mac Lauchlin J., Audurier A., Taylora G.** - The evaluation of a phage typing systems for *Listeria monocytogenes* for use in epidemiological studies. J. Med. Microbiol., 22, 1986, p. 257-265.
 142. **MacLeod N.S.M., Watt J.A.** - *Listeria monocytogenes* type 5 as a cause of abortion in sheep. Vet. Rec, 95, 1974, p. 365-367.
 143. **Manzano M., Cocolin L., Cantoni C., Comi G.** - A rapid method for the Identification and partial serotyping of *Listeria monocytogenes* in food by PCR and restriction enzyme analysis, Int. J. food Microbiol., 42, 1998, p. 207-212.
 144. **Marth E.H.** - Disease characteristics of *Listeria monocytogenes*. Food Tech., 42, 1988, p. 165-168.
 145. **Mânzat R. M. (coordonator)** – Boli infecțioase ale animalelor domestice – Bacterioze, Ed. Brumar, Timișoara, 2001, p. 376-381.
 146. **Mengaud J., Braun Breton C, Cossart P.** - Identification of phosphatidylinositol-specific phospholipase C activity in *Listeria monocytogenes* a novel type of virulence factor ? Mol. Microbiol., 5, 1991, p. 367-372.
 147. **Menudier A., Rougier F.P., Bosgiraud** – Comparative virulence between different strains in Zebra Fish, *Brachydanio rerio* and mice, Pathol. Biol., 44, 1996, p. 783-789.
 148. **Meyer D.H., Bunduki M., Beliveau C.M., Donnelly C.W.** - Differences in invasion and adherence of *Listeria monocytogenes* with mammalian gut cells. Food Microbiol., 9, 1992, p. 115-126.
 149. **Neumann H.H., Konermann H., Abdel-Hakiem E.H.** - Zum Vorkommen von *L*/sferia-Arten und *t*/sfer/a-Serovars in Kase. Arch. Lebensmittelhyg., 42, 1991, p. 90-92.
 150. **Nicolas J.A.** - Rôle de la consommation f d'ensilage dans la listériose ovine. Microbiol. Aliment. Nutr., 1, 1993, p. 71-76.

151. **Nicolas J.A.** - La listériose animale. Rev. Méd. Vét., 137, 1986, p. 645-650.
152. **Niederhanser C, Candrian U., Hofelein C, Jermini M., Buehler H.P., Luthy J.** - Use of polymerase chain reaction for detection of *Listeria monocytogenes* in food. Apl. Environ. Microbiol., 58, 1992, p. 1564-1568.
153. **Nielsen J.W., Dickson J.J., Crouse J.D.** - Use of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilacti* to inhibit *Listeria monocytogenes* associated with fresh meat. Apl. Environ. Microbiol., 56, 1990, p. 2141-2145.
154. **Nieman R.E., Lorber B.** • Listeriosis in adults a changing pattern : report of eight cases and review of the literature. Rev. Infect. Dis., 2, 1980, p. 207-227.
155. **Noack D.J., Joeckel J.** - *Listeria monocytogenes*. Occurrence and significance in meat and meat products and experience with recommendations for its detection assessment. Fleischwirtschaft, 73, 1993, p. 581-584.
156. **Noah C.W., Perez J.C., Ramos N.C., Mac Kee C.R., Gipson M.V.** - Detection of *Listeria sp.* in naturally contaminated seafoods using four enrichment procedures. Food Protect., 54, 1991, p. 174-177.
157. **Norme Fil Internationale 143** • Lait et produits laitiers. Recherche de *Listeria monocytogenes*. 1990, p. 1 -8.
158. **Norme Internationale ISO 105 60** • Lait et produits laitiers. Recherche de *Listeria monocytogenes*. 1990.
159. **Oprean O. Z.** – Morfopatologie generală veterinară. Ed. "Ion Ionescu de la Brad", Iași- 2005.
160. **Papageorgiou D.K., Marth E.H.** – Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of feta cheese. J. Food Protect., 52, 1989b, p. 82-87.
161. **Patterson M.F., Damoglau A.P., Buick R.K.** - Effects of irradiation dose and storage temperature on the growth of *Listeria monocytogenes* on poultry meat. Food Microbiology, 10, 1993, p. 197-203.
162. **Paul I.** - Etiomorfopatologie veterinară, Ed.All, 1996, Pag.298-304.
163. **Paul I.** - Etiomorfopatologia bacteriozelor la animale, Ed. Pim, Iași 2005, p. 106-113.
164. **Perianu T.** - Bolile infecțioase ale animalelor domestice, Bacterioze Ed. Fund. Chemarea, Iași, 1996, p. 394-406.
165. **Perianu T., Ștefan N., Carp-Cărare M., Velescu E., Alexandru N., Țuc C.I.** - Boli infecțioase ale animalelor domestice, Vol.I, Bacterioze, Ed. Venus, Iași 2004, p. 431-443.
166. **Peterkin P.I., Idziak E.S., Sharpe A.N.** - Use of a hydrophobic grid membrane filter DNA probe method to detect *Listeria monocytogenes* artificially contaminated foods. Food Microbiol., 9, 1992, p. 155-160.
167. **Pinner R.W.** – Epidemiological investigation. Jama, 269,15,1992, p. 2046-2050.
168. **Pop Alexandra, Nicolau Venera** - Listeriozele de origine alimentară. Preocupări actuale în domeniul microbiologiei alimentare. Inst. de sănătate publică și cercetări medicale Mihai Ciucă, 1994, p. 52-56.
169. **Pop M., VasIU C., Răpunțean Gh.** – Profilaxia și combaterea în bolile infecțioase la animale. Ed. Ceres, București, 1988.
170. **Popoviciu A.** – Lucr. I.C.V.B Pasteur, 16, 1982, p.121
171. **Powell M.A., Gooding C.M., Garrett S.D., Lund B.M., Mac Kee R.A.** • Proteinase inhibition of the destruction of *Listeria monocytogenes* in milk using the polymerase chain reaction. Lett. Apl. Microbiol., 18, 1994, p. 59-61.
172. **Proctor V.A., Cunningham** - Antimicrobial properties of lysozyme alone and in

- combination with other additives *in vitro* and in selected meat products. J. rapid methods and automation in microbiology, 1, 1993, p. 315-328.
173. **Premaratne R.J., Lin W.J., Johnson E.A.** - Development of an improved chemically defined minimal medium for *Listeria monocytogenes*. Apl. Environ. Microbiol., 57, 1991, p. 3046-3048.
 174. **Rainaldi L., Luciani M.A., Picconi F.** - Behaviour of *Listeria spp.* in meat products. Ital. j. Food Sci., 3, 1991, p. 291-296.
 175. **Răducănescu H., Bica Valeria** - Bacteriologie Vetrinară, Ed. Ceres, București, 1986, pag. 140-144
 176. **Răpunțean Gheorghe, Răpunțean S.** – Bacteriologie specială veterinară, Ed. Tipo-Agronomia, Cluj-Napoca, 1999.
 177. **Răpunțean Gheorghe, Răpunțean S.** – Bacteriologie specială veterinară, Ed. Academic Pres, Cluj-Napoca, 2005, p. 38-46.
 178. **Rocourt J.** - Taxonomie du genre *Listeria* et typage de *L. monocytogenes*, Pathol Biol., 44, 1996, 749-756.
 179. **Rocourt J.** - Taxonomy of the genus *Listeria*. Infect., 16, 1988, p. 89-91.
 180. **Rodriguez J.L., Gaya P., Medina M., Nunez M.** - A comparative study of the gene-trak *Listeria* assay, the *Listeria*-Tek ELISA test and the FDA method for the destruction of *Listeria* species in raw milk. Lett. Apl. Microbiol., 17, 1993, p. 178-181.
 181. **Rollier I., Croegaert T., Verplaetse A., Van Hoof J.** - Comparison of three plating media for enumeration and three media for isolation of *Listeria spp.* in fermented sausages. Arch. Lebensmittelhyg., 42, 1991, p. 49-76.
 182. **Romero N.C., Nader de Macias M.E., Apella M.C., Oliver G.** - Inhibition of *Listeria monocytogenes* by strains of lactic acid bacteria used as ferments. Microbiol. Aliment. Nutr., 8, 1990, p. 335-340.
 183. **Rorvik L.M., Yndestad M.** - *Listeria monocytogenes* in foods in Norway. Int. J. Food Microbiol., 13, 1991, p. 97-104.
 184. **Roșca V.** – Observații epizootologice și cercetări de laborator privind etiologia avorturilor la ovine în regiunea Bacău, Rev. Zootehnie și Medicină Veterinară, nr.7, 1967, p. 64-70.
 185. **Roșca V.** - Studii privind infecția listeriană la animale și om în zona centrală a Moldovei.-Teză de Doctorat, București, 1971
 186. **Ryser E.T., Maisnier-Patin S., Gratadoux J.Y., Richard J.** - Isolation and identification of cheese-smear bacteria inhibitory to *Listeria spp.* Intern. J. Food Microbiol., 21, 1994, p. 237-246.
 187. **Ryser E.T., Marth E.H.** - *Listeria*, Listeriosis and food safety, 2nd Ed., Manuel Dekker, New York, 1999.
 188. **Săvuța Gh.** – Epidemiologie veterinară generală, Ed. Ion Ionescu de la Brad, Iași, 2001.
 189. **Schlech W.F.** - Pathogenesis and immunology of *Listeria monocytogenes*, Pathol. Biol., 44, 1996, p. 775-782.
 190. **Schmidt U., Leistner L.** - Behaviour of *Listeria monocytogenes* in non-packaged sliced Bruchwurst. Fleischwirtschaft, 73, 1993, p. 733-740.
 191. **Schofield G.M.** - Emerging foodborne pathogens and their significance in chilled foods. J. Apl. Bacteriol., 72, 1992, p. 267-273.
 192. **Schonberg A., Gerigk K.** - *Listeria* in effluents from the food processing industry, Rev. Sci. Tech., 10, 1991, p. 787-797.
 193. **Schuchat A., Swaminathan B., Broome C.V.** - Epidemiology of human listeriosis. Clin. Microbiol. Rev., 4, 1991b, p. 169-183.

194. **Schwartzkoff A.** - *Listeria monocytogenes*, Aspects of pathogenicity, Pathol. Biol., 44, 1996, 769-774.
195. **Seeliger H.P.R., Rocourt J.** - Les grandes étapes de la connaissance de *Listeria*. Microbiol. Aliment. Nutr., 7, 1989, p. 319-323.
196. **Sheridan J.J., Walls I., Mac Lauchlin J., Mac Dowell D., Welch R.** - Use of a microcolony technique combined with an indirect immunofluorescence test for the rapid detection of *Listeria* in raw meat. Lett. Appl. Microbiol., 13, 1991, p. 140-144.
197. **Sîrmon Elisabeta, Marica D.** - Identificarea speciei *Listeria monocytogenes* într-un caz de avort și în focare de boală la oi. Probleme veterinare, nr. 6, 1957, p. 35-38.
198. **Skovgaard N., Norrung B.** - The incidence of *Listeria* sp. in feces of Danish pigs and in minced pork meat. Int. J. Food Microbiol., 8, 1989, p. 59-63.
199. **Slade P.J.** - Monitoring *Listeria* in the food production environment. I. Detection of *Listeria* in processing plants and isolation methodology. Food Res. Int., 25, 1992, p. 45-56.
200. **Slade P.J., Collins-Thompson D.L.** - Enumeration of *Listeria monocytogenes* in raw milk. Lett. Appl. Microbiol., 6, 1988, p. 121-123.
201. **Smoot L.M., Pierson M.D.** - Effect of environmental stress on the ability of *Listeria monocytogenes* Scott A to attach to food contact surfaces, J. Food Prot., 61, 1998, p. 1293-1298.
202. **Sorin M.L., Carnier M., Bonneau M., Robinson R.** - Test de detection rapide des *Listeria* dans les produits laitiers. Sci. Aliment., 8, 1988, p. 229-234.
203. **Stamatin N.** - Microbiologie Veterinară, Vol. 2, Ed. Agrosilvică de Stat, 1957, p. 414-428.
204. **Stamm A.M., Dismukes W.E., Simmons B.P., Cobbs C.G., Elliott A., Budrich P., Harmon J.** - Listeriosis in renal transplant recipients : report of an outbreak and review of 102 cases. Rev. Infect. Disease, 4, 1982, p. 665-682.
205. **Stamm A.M., Smith S.H., Kirlin J.K., Mac Giffin D.C.** • Listerial myocarditis in cardiac transplantation. Rev. Infect. Dis., 12, 1990, p. 820-823.
206. **Stedman's Bergey's Bacteria Words** - Williams and Wilkins. Baltimore, 1992, 354 p.
207. **Sutra L.** - *Listeria monocytogenes*, In : Manuel de bactériologie alimentaire, Sutra L., Federighi M. et Jouve J.L., ed. Polytechnica, Paris, 1998.
208. **Tapero J.W.** - Reduction in the incidence of human listeriosis in the United States. Jama. 14, 273, 1995, p. 1118-1122.
209. **Tassou C.C., Drosinos E.H., Nychas C.J.** - Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4 degrees, and 10 degrees C, J. Appl. Bacteriol., 78, 1995, p. 593-600.
210. **Terplan C, Schoen R., Springmeyer W., Becker H.** -Investigations on incidence, origin and behavior of *Listeria* in cheese. Vet. Med. Hefte, 5, 1987, p. 98-105.
211. **Teulon D.R., Wilson J., Danachie W.** - The incidence and level of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing, J. Appl. Bacteriol., 81, 1996, p. 641-650.
212. **Tilney L.G., Portnoy D.A.** - Actin filaments and the growth, movements and spread of the intracellular bacterial parasite, *Listeria monocytogenes*. J. Cell. Biol., 109, 1989, p. 1597-1608.
213. **Tompkin R.B., Christiansen L.N., Shaparis A.B., Baker R.L., Schroeder**

- J.M.** – Control of *Listeria monocytogenes* in processed meats. Food Aust., 44, 1992, p. 370-376.
- 214. Trott D.J., Robertson I.D., Hampson D.J.** - Genetic characterisation of isolates of *Listeria monocytogenes* from man, animals and food, J. Med. Microbiol., 38, 1993, p. 122-128.
- 215. Țogoe I., Mimi Dobrea, Simona Ivana, Carmen Negoită** – Bacteriologie veterinară specială, Ed. Printech, București 2005.
- 216. Țogoe I., Mimi Dobrea** – Bacteriologie veterinară, Ed. Printech, București, 2006, p. 171-173.
- 217. Van Netten P., Van de ven A., Perales I., Mossel D.A.A.** – A selective and diagnostic medium for use in enumeration of *Listeria* spp. In foods. Int. J. Food Microbiol., 6, 1988, p.187-198.
- 218. Vasiu C.** – Boli infecțioase la animale. Bacterioze. Ed. Mega, Cluj-Napoca, 2004, p. 202-210.
- 219. Vasquez-Boland J.A., Koks C., Dramsi S., Ohayon H., Geoffroy C., Mengaud J., Cossart P.** – Nucleotide sequence of lecithinase operon of *Listeria monocytogenes* an possible role of lecithinase in cell-to-cell spread. Infect. Immun., 60, 1992, p. 219-230.
- 220. Velescu Elena** – Patologia bolilor infecțioase la animale. Ed. Terra Nostra, Iași, 2002, p. 109-116.
- 221. Vicente M.F., Baquero F., Perez-Diaz J.C.** - Cloning and expression of the *Listeria monocytogenes* haemolysin in *Escherichia coli*. FEMS Microbiol. Lett., 30, 1985, p. 77-79.
- 222. Vlayen P.** - Listerioses et produits alimentaires. Aliment. Diet. Hyg., 5, 1986, p. 237-244.
- 223. Vlayen P.** - Listériose et fromages. Aliment. Diet. Hyg., 6, 1987, p. 24-29.
- 224. Voiculescu M.** – Boli infecțioase, Ed. Medicală, București, 1991, p. 1061-1067.
- 225. Volintir V.** – Bolile infecțioase ale animalelor domestice, Ed. Didactică și Pedagogică, București, 1975, p. 32-38.
- 226. Walker S.J., Archer P., Banks J.G.** – Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperature. J. Appl. Bacteriol., 68, 1990, p. 157-162.
- 227. Warburton D.W., Farber J.M., Powell C., Tiwari N.P., Read S., Plante R., Babiuk T., Laffey P., Kauri T., Mayers P., Champagne M.J., Hunt T., La Casse P., Viet K., Smando R., Coates F.** • Comparison of methods for optimum detection of stressed and cow levels of *Listeria monocytogenes*. Food Microbiol., 9, 1992, p. 127-145.
- 228. Westoo A., Peterz M.** - Evolution of methods for detection of *Listeria monocytogenes* in foods : NMKL collaborative study. AOAC Int., 75, 1992, p. 46-52.
- 229. Wood B.J.B.** - The lactic acid bacteria. Volume 1. The lactic bacteria in health and disease. Barking, Elsevier Science Publishers Ltd., 1992, 500 p.
- 230. Yu L.S.L., Fung D.Y.C.** - Evaluation of FDA and USDA procedures for enumerating *Listeria monocytogenes* in ground beef. Food Microbiol., 8, 1991, p. 69-74.
- 231. ***** - SR-ISO 11 290 /2000 – Metoda orizontală pentru detectarea și numărarea bacteriei *Listeria monocytogenes*.
- 232. ***** - Instrucțiuni de utilizare galerii manuale API Listeria.

LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE CU SUBIECTE DIN TEZA DE DOCTORAT

1. **Carp-Cărare C., Timofte Dorina, Guguianu Eleonora** - Frecvența speciei *Listeria monocytogenes* în lapte și brânza proaspătă de vaci, *Lucrări științifice*, vol. 44(3) Fascicula II, p. 711-713, Editura "Ion Ionescu de la Brad", Iași-2001.
2. **Carp-Cărare C., M. Carp- Cărare, I. C. Țuc, Dorina Timofte** - New bibliographical stuffs concerning the epidemiology of genus *Listeria*, the *Listeria monocytogenes* species, *Buletin USAMV-Cluj-Napoca Seria Medicină Veterinară*, volumul 57-58, 2002, p 510-515.
3. **Carp-Cărare C., M. Mares, I.C. Tuc** - Studii privind frecvența contaminării unor sortimente de brânzeturi cu *Listeria monocytogenes*, *Revista română de medicină veterinară*, Vol. 13, p. 252, Al XI-lea congres național de Medicină Veterinară, Iasi, 2003.
4. **Carp-Cărare C., V. Floriștean, Eleonora Guguianu, Cristina Rebegea, M. Carp-Cărare** - Studiu privind prezența speciei *Listeria monocytogenes* în lapte și unele produse lactate, *Lucrări științifice* vol.46, Editura "Ion Ionescu de la Brad", Iași-2005.
5. **Carp-Cărare C., Perianu T., Velescu Elena, Tănase Oana-Irina, Pavli C.** – Aspecte epidemiologice și clinice în listerioza ovină. Simpozionul anual de comunicări științifice, UȘAMV – Iași, 8-9 iunie 2006.
6. **Carp-Cărare C.** – Observații privind izolarea speciei *Listeria monocytogenes* din furajul însilozat. Simpozionul anual de comunicări științifice, UȘAMV – Iași, 8-9 iunie 2006.