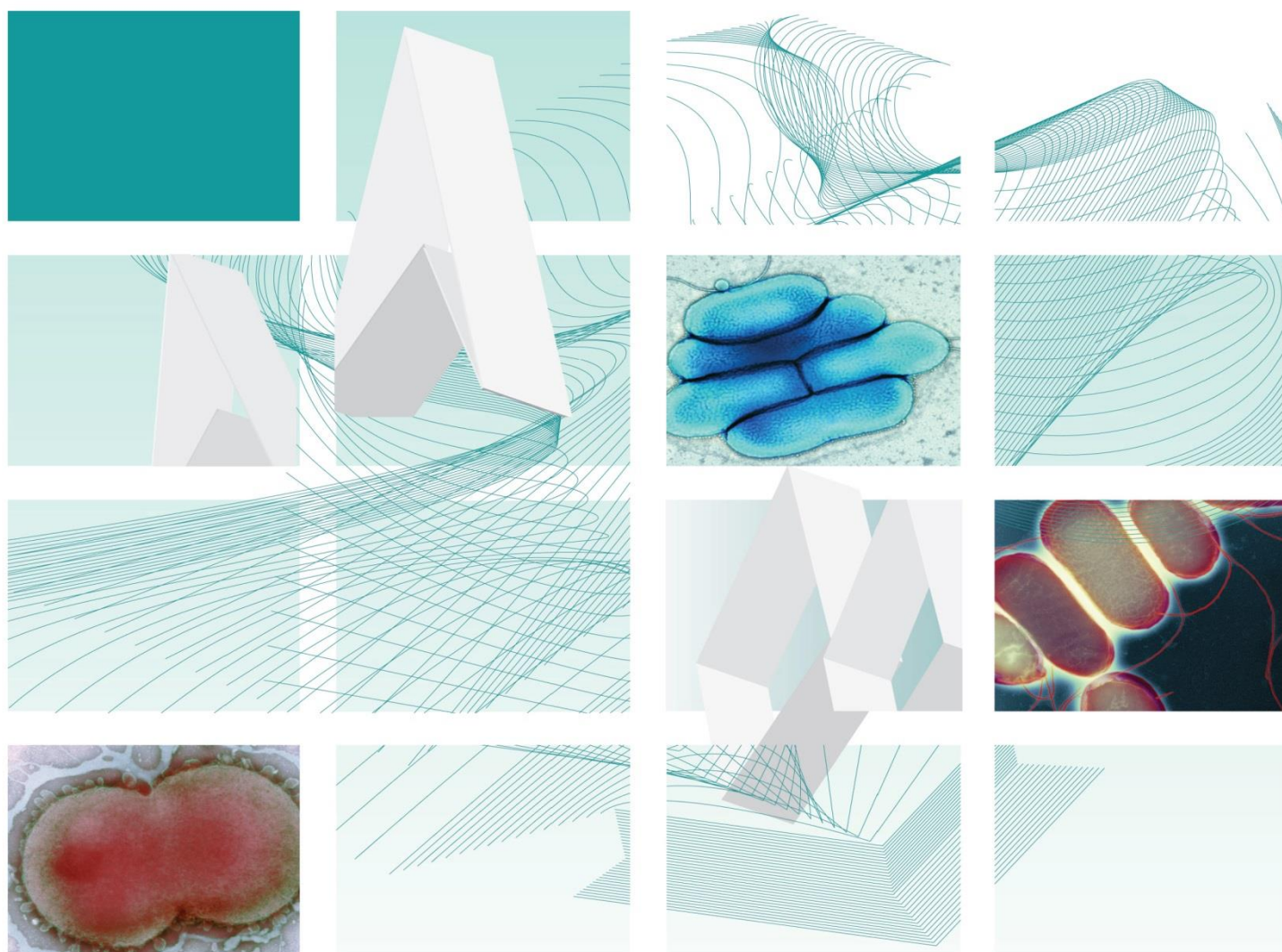


Standard UK per Ricerche Microbiologiche

Identificazione di specie *Listeria*, e di altri bastoncini Gram positivi (eccetto *Corynebacterium*)



"NICE has renewed accreditation of the process used by **Public Health England (PHE)** to produce **UK Standards for Microbiology Investigations**. The renewed accreditation is valid until **30 June 2021** and applies to guidance produced using the processes described in **UK standards for microbiology investigations (UKSMIs) Development process, S9365', 2016**. The original accreditation term began in **July 2011**."

Questa pubblicazione era stata creato da Public Health England (PHE) coolaborazione con NHS.

Ringraziamenti

Le Procedure Standard del Regno Unito per le Ricerche Microbiologiche (SMI - Standards for Microbiology Investigations) sono sviluppate sotto l'egida della Public Health England (PHE) in collaborazione con il Servizio Sanitario Nazionale (NHS, National Health Service), la Sanità Pubblica del Galles e con le organizzazioni professionali i cui loghi sono di seguito elencati sul sito web <https://www.gov.uk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories>. Le SMI sono sviluppate, revisionate e controllate da diversi gruppi di lavoro che sono supervisionati da un comitato direttivo (consultare <https://www.gov.uk/government/groups/standards-for-microbiology-investigations-steering-committee>).

Si ringraziano per i contributi forniti i numerosi operatori dei laboratori clinici, gli specialisti e i laboratori di riferimento che hanno fornito informazioni e commenti durante lo sviluppo di questo documento. Si ringraziano i revisori medici per le modifiche apportate ai contenuti clinici.

Numero di accesso alle pubblicazioni PHE: GW-431

Le SMI del RU sono sviluppate con la collaborazione di



Contenuti

Ringraziamenti.....	2
Tabella modifiche	4
1 Informazioni generali.....	5
2 Informazioni scientifiche.....	5
3 Scopo del documento.....---	5
4 Introduzione	5
5 Informazione tecnica/limitazioni.....--	10
6 Considerazioni sulla sicurezza	11
7 Microrganismi bersaglio.....	11
8 Identificazione.....	11
9 Refertazione.....	17
10 Invio ai laboratori di riferimento.....	18
Appendice: Identificazione di specie <i>Listeria</i> e di altri bastoncini non sporulanti Gram negativi (tranne <i>Corynebacterium</i>).....	19
Bibliografia.....	20



NICE ha accreditato la procedura usata dalla **Public Health England** per produrre gli **Standards for Microbiology Investigations**. L'accreditamento rinnovato è valido per fino al **30 Giugno 2021**, e si applica alle linee guida prodotte usando la procedura descritta negli **UK standards for microbiology investigations (UKSMIs) Development process, S9365', 2016**. L'accreditamento originale è iniziato nel **Luglio 2011**."

Tabella delle Modifiche

Ogni metodo SMI UK ha un proprio registro delle modifiche. Quelle attuali sono specificate in questa pagina. Le precedenti modifiche sono disponibili sul sito web standards@phe.gov.uk.

I documenti nuovi o revisionati dovrebbero essere controllati nel laboratorio secondo il sistema locale di gestione della qualità.

Modifica numero/data.	11/24.03.20
Emissione numero scartata	3.2
Emissione numero inserita	4
Data anticipata delle prossima revisione*	24.0 3.23
Emissione inserita no.	Modifica
Intero documento	Documento presentato in nuovo formato Aggiornata la tassonomia della <i>Listeria</i> . Modifiche minori sulle caratteristiche dei microrganismi Aggiunte le informazioni sul completo sequenziamento del genoma Presentate in tabella le caratteristiche fenotipiche della <i>Listeria</i> e di altri non sporigeni gram positivi. I terreni contenenti triptosio attualmente non utilizzati in laboratorio sono stati rimossi dal documento

*Revisione del documento può essere protratta a cinque anni in funzione delle risorse disponibili

1. Informazione generale

[View](#) informazioni generali relative alle SMI del RU

2. Informazione scientifica

[View](#) informazioni generali relative alle SMI del RU

3. Scopo del documento

Questa SMI UK Standard per la ricerca Microbiologic(UK SMI) descrive l'identificazione della specie *Listeria* e di altri bastoncini Gram positivi non sporigeni (tranne le specie *Corynebacterium*) isolati da campioni clinici a livello di genere e specie.

E' stato utilizzato un approccio sistematico per differenziare con criteri clinici i bastoncini Gram positivi non sporigeni, morfologicamente simili, aerobi e anaerobi facoltativi. In questa SMI non sono descritti microrganismi a vera struttura ramificata, quali le specie *Actinomyces*, *Nocardia* e *Streptomyces* e quelli che generano spore. Sui terreni descritti in questo documento possono essere isolate specie *Mycobacterium* a rapida crescita. I bacilli acido-resistenti devono essere inviati al Laboratorio di Riferimento

Per l'identificazione delle specie *Corynebacterium* consultare [ID 2 - Identification of Corynebacterium species](#).

Questa SMI del Regno Unito comprende sia test biochimici che metodi automatizzati per l'identificazione dei microrganismi. Alcuni test biochimici potrebbero non essere eseguiti di routine in laboratorio, tranne nei casi in cui è richiesta la conferma con una tecnica alternativa o non sono disponibili metodi automatizzati.

Questa SMI deve essere usata congiuntamente con le altre SMI

4 Introduzione

4.1 Tassonomia/caratteristiche

Specie *Listeria*^{1,4}

Attualmente nel genere *Listeria* sono validamente classificate diciannove specie.

L. monocytogenes, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. grayi*, *L. fleischmannii*, *L. marthii*, *L. rocourtiae*, *L. weihenstephanensis*, *L. aquatica*, *L. booriae*, *L. cornellensis*, *L. floridensis*, *L. grandensis*, *L. newyorkensis*, *L. costaricensis*, *L. murrayi* and *L. riparia*. Fra queste diciannove, le prime sei sono potenzialmente infettive per l'uomo, anche se raramente in alcuni casi.

La specie tipo è *Listeria monocytogenes*.

Le specie *Listeria* sono corti bastoncini Gram positivi, da 0,4 a 0,5 × 0,5 a 2,0 µm, con estremità arrotondate, che si presentano isolati o in catene corte. I filamenti da 6 a 20 µm di lunghezza possono comparire singolarmente o in corte catene. Gli appartenenti al genere sono anaerobi facoltativi, non sporigeni, non acido resistenti e non capsulati. La temperatura di crescita ottimale (ma non per la motilità) è di 30-37° C.

Su agar sangue le colonie non sono pigmentate e possono assomigliare a quelle degli streptococchi β -haemolytic ma possono essere differenziate dal test catalasi positivo. Le colonie possono variare di colore e forma in funzione dell'agar cromogeno commerciale utilizzato.

Le specie *Listeria* sono catalasi positive, ossidasi negative e fermentano i carboidrati. Sono ampiamente diffuse nell'ambiente; alcune specie sono patogene per l'uomo e gli animali. Le specie clinicamente importanti sono:

Le specie clinicamente importanti sono:

***L. monocytogenes*³**

Al microscopio appaiono come piccoli bastoncini, a volte disposti in corte catene. Negli strisci diretti possono apparire di forma coccoide, e possono essere scambiati per streptococchi. I bastoncini più lunghi possono assomigliare al *Corynebacterium*. Su agar sangue presentano attività emolitica che è stata usata come caratteristica per distinguere *Listeria monocytogenes* dalle altre specie *Listeria*, ma questo non è un criterio assolutamente definitivo. Potrebbe essere necessaria un'ulteriore differenziazione biochimica per distinguere le diverse specie *Listeria*. *L. monocytogenes* sono catalasi positive e ossidasi negative.

L. monocytogenes è l'agente della listeriosi, grave infezione causata dal consumo di cibo contaminato contenente il battere come formaggio a pasta molle, latte, paté, affettati cotti e sandwich preconfezionati. La listeriosi è stata riconosciuta come un importante problema di salute pubblica e la malattia colpisce le donne, soprattutto in gravidanza, i neonati, gli anziani, e le persone con sistema immunitario indebolito.

***L. ivanovii*⁶**

La specie sono state divise in 2 sottospecie. Questi sono; *Listeria ivanovii* subsp. *ivanovii* e *Listeria ivanovii* subsp. *londoniensis*⁶. Sono anaerobie facoltative e sono state isolate da animali sani, portatori umani e dall'ambiente.

***L. seeligeri*⁷**

Le cellule sono piccoli bastoncini (da 0,4 a 0,8 x 0,5 a 2,5 μ m), gram positivi. La crescita avviene a 4 °C entro 5 giorni. Sono anaerobie facoltative e sono state isolate da piante, suolo e feci di animali (pecore) in Europa.

***L. innocua*^{8,9}**

L. innocua sono mesofile e operano in un intervallo di temperatura ottimale a 30-37° C con un metabolismo molto complesso. Sono in grado di metabolizzare metano, zolfo e azoto, tra i molti altri composti organici e inorganici. Questi microrganismi sono dotati anche di numerose vie biosintetiche, inclusa la sintesi del peptidoglicano. *L. innocua*, come altri componenti del loro genere, sono anaerobie facoltative, il che significa che possono metabolizzare il glucosio (e altri zuccheri semplici) sia in condizioni aerobiche che anaerobiche. Con il metabolismo aerobico del glucosio, formano acido lattico e acido acetico. Tuttavia, in condizioni anaerobiche, il metabolismo del glucosio produce solo acido lattico.

La specie è diffusa nell'ambiente e negli alimenti ed è stata anche associata a un caso segnalato di batteriemia infausto.

***L. welshimeri*⁷**

Le cellule sono piccole (da 0,4 a 0,5, da 0,5 a 2,0 μ m) a bastoncino, mobili con flagelli peritrichi.

Il metabolismo è anaerobico facoltativo. E' prodotto acido, ma non gas da D-glucosio, D-xilosio, e a-metil-D-mannoside. Acido può o non può essere prodotto da L-ramnosio. Acido non è prodotto da D-mannitolo. Sono positive per catalasi, idrolisi dell'esculina, Voges-Proskauer e test rosso metile, e negative per ossidasi, urea, idrolisi della gelatina, indolo, produzione di H₂S e riduzione dei nitrati.

Sono state isolate da piante in decomposizione e dal suolo.

L. grayi¹⁰

Secondo Rocourt e al. (1992), *Listeria grayi* è un sinonimo eterotipico precedente di *Listeria murrayi* e pertanto entrambe sono state assegnate a una sola specie, *Listeria grayi*.

Le cellule sono piccoli bastoncini peritrichi mobili.

Il metabolismo è anaerobio facoltativo e sono catalasi positive. La produzione di ossidasi, urea e gelatina, H₂S e indolo è negativa. I test di Voges-Proskauer e rosso metile sono positivi. La riduzione dei nitrati a nitriti è variabile. L'acido, senza gas, è prodotto da glucosio, mannitolo e altri zuccheri. Gli eritrociti di pecora non sono emolizzati.

Altri bastoncini Gram negativi non sporulanti

I microrganismi classificati come bastoncini Gram positivi privi di spore sono molto diversi non solo morfologicamente, ma anche per metabolismo e struttura.

Specie *Arcanobacterium*^{11,12}

Sono note 13 specie delle quali 5 sono state ri-assegnate al genere *Trueperella* e delle restanti 8 specie, solo una è riconosciuta in grado d'infettare gli esseri umani, *Arcanobacterium haemolyticum*.

Sia le cellule a forma di bastoncino che quelle coccoidi sono Gram positive, non acido-resistenti e non mobili. Sono anaerobie facoltative. La crescita è notevolmente migliorata in atmosfera di CO₂. La crescita è scarsa sui terreni comuni ma è migliorata su quelli contenenti sangue o siero. La temperatura ottimale per la crescita è di 37° C. Non sono in grado di resistere al riscaldamento a 60° C per 15 minuti.

Le specie *Arcanobacterium* possono presentare reazioni variabili alla catalasi e sono positive per il CAMP-test. Consultare le specie successive

Arcanobacterium haemolyticum¹³

Le specie sono state isolate dalla gola di soggetti infetti. Dopo 48 ore le colonie su agar sangue producono zone di β-emolisi e hanno un aspetto simile a *Trueperella pyogenes*

Specie *Aureobacterium*^{14,15}

Le specie di *Aureobacterium* sono aerobi obbligati, producono acido dai carboidrati per ossidazione piuttosto che per fermentazione. I ceppi possono essere resistenti alla vancomicina e possono essere differenziati dal *C. aquaticum* dall'idrolisi della gelatina e caseina.

Specie *Bifidobacterium*^{1,16}

Le specie *Bifidobacterium* variano per forma e possono essere ricurve, claviformi, bastoncini ramificati o occasionalmente coccoidi, Gram positive, dimensioni 0,5-1,3 x 1,5-8µm. Le cellule spesso si colorano in modo irregolare. La crescita è anaerobica, ma alcune

specie possono crescere in aria arricchita con 10% di CO₂. Le specie *Bifidobacterium* non sono sporigene, non acido resistenti e non fermentano i carboidrati.

Specie *Brevibacterium*^{13,17}

Le specie *Brevibacterium* non sono mobili, sono alotolleranti (> 6,5% NaCl), aerobiche, ureasi negative e catalasi positive.

Specie *Cellulomonas*^{13,18}

Esistono oltre 20 specie di *Cellulomonas*, di cui solo *C. hominis* e *C. denverensis* sono state isolate dall'uomo. Possono essere non mobili o mobili a causa di flagelli laterali singoli o sparsi lateralmente. Una delle loro principali caratteristiche distintive è la loro capacità di degradare la cellulosa, utilizzando enzimi come endoglucanasi ed esoglucanasi. Il loro metabolismo è sia ossidativo che fermentativo. Le specie di *Cellulomonas* differiscono dalle specie di *Oerskovia* in quanto prive di crescita di ife.

Specie *Cutibacterium* (già specie *Propionibacterium*)^{19,20}

Al genere *Cutibacterium* appartengono solo 3 specie che sono state riassegnate dal genere *Propionibacterium* e sono *C. acnes*, *C. avidum* e *C. granulosum*. Le specie *Cutibacterium* sono bastoncini pleomorfi non mobili Gram positivi e generalmente crescono meglio in anaerobiosi.

La specie tipo è *Cutibacterium acnes*.

***Dermabacter hominis*¹³**

Dermabacter hominis, attualmente unico membro del genere, non è emolitico, non mobile e catalasi positivo. Le specie *Dermabacter* sono fermentative e producono acido da glucosio, lattosio, saccarosio e maltosio. Idrolizzano l'esculina e producono fosfatasi alcalina, pirrolidonil arilamidasi, leucina amminopeptidasi e DNasi. Non riducono il nitrito o producono di pirazinamidasi.

***Erysipelothrix rhusiopathiae*²¹**

E. rhusiopathiae su agar sangue produce una zona sottile di α-emolisi. E' anaerobia facoltativa, non mobile e catalasi negativa. Tutte le colonie sono chiare, circolari e molto piccole, aumentando le dimensioni tendono ad assumere un'opacità blu pallida dopo ulteriore incubazione o per invecchiamento. Le specie *Erysipelothrix* possono essere distinte dalla specie *Lactobacillus* per la loro capacità di produrre H₂S in un becco di clarino di triple sugar iron agar.

***Gardnerella vaginalis*^{1,16}**

La *Gardnerella vaginalis* è pleomorfa, a forma di bastoncino, Gram variabile. E' anaerobia facoltativa e non mobile. *G. vaginalis* non è sporigena, non è capsulata e ossidasi e catalasi negativa. Produce acido dal glucosio e da altri carboidrati, ma non gas. Idrolizza l'ippurato e non riduce i nitrati.

Specie *Lactobacillus*^{1,16}

Le specie *Lactobacillus* sono formate da lunghi bastoncini Gram positivi. Le colonie possono variare da piccole a medie, grigie e spesso sono α-emolitiche dopo 48 ore su agar sangue. Sono anaerobie facoltative, raramente mobili e catalasi negative. Producono acido lattico come principale prodotto finale.

Specie *Microbacterium*^{13,18}

Le specie *Microbacterium* formano bastoncini piccoli, sottili di forma irregolare, Gram-positivi. La temperatura di crescita ottimale è di 30°C. Le specie sono principalmente ossidative e il loro metabolismo è aerobico, ma alcune specie possono essere fermentative. Possono essere non mobili o mobili per presenza da 1 a 3 flagelli. La maggior parte delle specie sono catalasi positive ma possono essere riscontrate specie negative.

Specie *Mycobacterium*

Le specie *Mycobacterium* diverse da *Mycobacterium tuberculosis* (MOTT) possono essere isolate in coltura primaria per l'identificazione e/o prove di sensibilità entro 48 ore. ([B 40 - Investigation of Specimens for *Mycobacterium* species](#)). Inviare al National Mycobacterium Reference Services-South.

Specie *Oerskovia*¹³

Le specie *Oerskovia* sono rappresentate da batteri Gram positivi non sporigeni. Formano un micelio, un ifa di substrato ampiamente ramificato che si rompe per formare elementi a forma di bastoncino mobili o non-mobili di forma coccoide. Non si formano ife aeree. Sono anaerobie facoltative, fermentanti e catalasi positive. La motilità è variabile.

Specie *Propionibacterium*¹³

Le specie *Propionibacterium* sono Gram positive a forma di bastoncini pleiomorfi (corte forme a Y"). I ceppi generalmente crescono meglio in condizioni anaerobiche, in particolare su isolamento primario, producendo piccole colonie dopo 48 ore. Le specie *Propionibacterium* sono anaerobie facoltative e non sono mobili. Sono catalasi positive tranne *Propionibacterium propionicum* (ora noto come *Pseudopropionibacterium propionicum*), che è catalasi negativo

Nota: Si deve notare che all'interno di questo genere, alcune specie sono state riclassificate in altri generi.

Specie *Rhodococcus*²²

Le specie *Rhodococcus* sono di solito Gram positive. Le cellule assumono forma di cocchi o corti bastoncini che si sviluppano in lunghezza, e possono formare un micelio vegetativo ampiamente ramificato che si può frammentare. Di solito sono parzialmente acido-resistenti per presenza di acido micolico nella loro parete cellulare. L'incubazione a 30°C può aumentare anche il loro riscontro.

Sebbene altre prove biochimiche possano aiutare a differenziare *Rhodococcus* da altri microrganismi, questa possibilità nei confronti di altri actinomiceti aerobi può essere difficile. Le specie *Rhodococcus* tipicamente reagiscono positivamente alla catalasi, riduzione dei nitrati e alle prove di idrolisi dell'urea e sono negative per ossidasi, idrolisi della gelatina, e alla riduzione dei carboidrati. Non sono mobili e non producono spore. La loro incapacità di fermentare i carboidrati è importante per differenziarle dai *Corynebacteria*.

Specie *Trueperella*^{11,23}

Attualmente sono note cinque specie classificate in modo certo nel genere *Trueperella*, e due di queste causano infezioni nell'uomo.

Le cellule sono coccobacilli non mobili, non formanti spore. Nei diversi terreni le dimensioni delle cellule variano per forma e dimensione (0,2-0,9 x 60,3-2.5µm). Le cellule da brodocolture di 24 ore sono Gram positive, ma si può osservare variabilità al Gram nelle colture più vecchie. Le colonie di specie *Trueperella* crescono come colonie puntiformi β-emolitiche. Ciò si verifica sull'agar sangue di pecora dopo 24 ore di incubazione. Sono aerobie e anaerobie facoltative. I componenti sono strettamente fermentativi. L'acido lattico è il

prodotto metabolico principale nel brodo estratto di lievito glucosio, mentre acetato e succinato sono prodotti di minor quantità.

La specie tipo è *Trueperella pyogenes*²⁴

***Trueperella pyogenes*²⁴**

Trueperella pyogenes è un bastoncino che può presentare ramificazioni. *T. pyogenes* è facoltativamente anaerobio, non mobile e catalasi negativo, ma è stato segnalato un ceppo positivo. Il metabolismo è strettamente fermentativo. La differenziazione tra *T. pyogenes* e *A. haemolyticum* può rivelarsi difficile ma può essere distinta dalla fermentazione di α mannosio, pirazinamidasi e test di gelatina.

Questo microrganismo è frequentemente isolato da numerose manifestazioni di malattia piogeniche in molte specie animali e nell'uomo.

***Trueperella bernardiae*²⁵**

Trueperella bernardiae è rappresentata da bastoncini con predominanza di coccobacilli. Non si osserva ramificazione primaria. *T. bernardiae* è anaerobia facoltativa, non mobile e catalasi negativa e non produce acido dal glucosio dopo 48 ore d'incubazione. I diametri delle colonie variano da 0,2 a 0,5 millimetri dopo 48 ore d'incubazione.

Questa specie è stata isolata dal sangue umano, e anche da ascesso dell'orecchio e del torace.

***Turicella otitidis*^{13,18,26}**

Il genere comprende una sola specie, *Turicella otitidis*. Al microscopio assomiglia a un corineiforme, ma ha cellule più lunghe. Le colonie di *T. otitidis* sono convesse, di colore biancastro, cremose con diametro da 1.0 a 2.0 mm dopo 48 ore d'incubazione. Non è fermentante e si presenta sia isolata che come bastoncino Gram-negativo. Gli isolati manifestano un'intensa reazione CAMP e sono DNasi positivi e catalasi positivi.

Qualche sistema d'identificazione commerciale può spesso riconoscere erroneamente *T. Otitidis* come specie *Corynebacterium*. Questo microrganismo è stato isolato da secrezioni dell'orecchio medio dei pazienti con otite media.

5 Informazioni Tecnica/Limitazioni

Differenziazione delle specie *Listeria* dagli streptococchi di Group B

Le colonie di specie *Listeria* assomigliano a quelle degli streptococchi di Gruppo B; il test della catalasi è rapido, di facile esecuzione e aiuta a differenziare le specie *Listeria* da quelle degli streptococchi di gruppo B. Le specie *Listeria* sono catalasi positive, mentre gli streptococchi di gruppo B sono catalasi negativi.

Test di motilità (consultare di seguito)

La motilità è uno dei numerosi parametri utilizzati per caratterizzare le specie *Listeria*. Questo dovrebbe essere utilizzato congiuntamente ad altri test. Questo test non deve essere utilizzato per l'identificazione primaria delle specie *Listeria* o scopi diversi dalla ricerca per la determinazione della mobilità.

Le specie *Listeria* sono mobili per flagelli peritrichi a 20-25°C, non mobili a 35°C e oltre. Pertanto, deve essere scelta per incubazione una temperatura adeguata per evitare falsi risultati negativi. Occasionalmente, sono stati riscontrati ceppi non mobili²⁷.

6 Considerazioni sulla Sicurezza^{28,29}

Microrganismi di Gruppo di Rischio 2

Al personale in gravidanza dovrebbe essere vietato di lavorare con culture note o sospette per specie *Listeria*.

Le procedure di laboratorio che generano aerosol infettivi devono essere eseguite in cabina microbiologica di sicurezza.

Fare riferimento alle attuali linee guida sulla manipolazione sicura di tutti gli organismi documentati in questa SMI del RU.

Le linee guida precedentemente esplicitate devono essere supplementate con la COSHH locale e con la valutazione del rischio.

E' essenziale il rispetto delle regolamentazioni di spedizione postale e di trasporto

7 Microrganismi Bersaglio

Specie *Listeria* e altri bastoncini Gram positivi morfologicamente simili, segnalati per avere causato infezione umana^{13,30}

Listeria monocytogenes, specie *Arcanobacterium*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Altre specie *Listeria* segnalate come causa occasionale o di singola infezione nell'uomo^{9,31-}

Listeria ivanovii, *Listeria seeligeri*, *Listeria innocua*, *Listeria grayi*

Altre specie morfologicamente simili alle specie *Listeria* note per aver causato infezione umana^{13,28,29}

Specie *Aureobacterium*, specie *Bifidobacterium*, specie *Brevibacterium*, specie *Cellulomonas*, *Dermabacter hominis*

Altri bastoncini Gram positivi che sono stati implicati in infezioni umane^{13,18,}

8 Identificazione

8.1 Aspetto Microscopico

Colorazione Gram ([TP 39 - Staining Procedures](#))

Bastoncini Gram positivi. L'aspetto microscopico varia nelle diverse specie.

Specie *Listeria*

Bastoncini Gram positivi di circa 0.5 x 0.5 – 3µm con estremità arrotondate, isolati e talvolta in coppie che possono assomigliare a 'corineiformi' o a diplococchi. Non formano spore e ramificazioni e non sono dotati di capsula.

Specie *Arcanobacterium*

Sono cellule Gram positive con aspetto di bastoncino o coccoide; sono sottili, irregolari e prevalentemente a forma di bastoncino o disposti ad angolo per realizzare formazioni a V durante le prime 18 ore di crescita, nel tempo successivo diventano granulari e segmentati, simili a piccoli cocchi, irregolari.

Specie *Aureobacterium*

Le cellule sono bastoncini corti irregolari Gram positive.

Specie *Bifidobacterium*

Queste specie sono Gram positive, hanno una forma diversa e possono essere bastoncini ricurvi, claviformi o ramificati o occasionalmente a forme coccoidi, da 0,5 a 1,3 x 1,5 a 8µm. Le cellule spesso si colorano in modo irregolare. Le colonie sono convesse, margine continuo e da crema a bianche, lisce, luccicanti e morbide.

Specie *Brevibacterium*

Bastoncini Gram positivi presentano un ciclo marcato da rodococco. Nella sottocultura recente, le cellule appaiono come bacilli, ma assumono forma di cocchi nelle culture più vecchie.

Specie *Cellulomonas*

Le cellule sono bastoncini irregolari sottili Gram positivi che producono colonie pigmentate gialle o arancioni

Specie *Cutibacterium*

Bastoncini pleomorfi Gram positivi. Le colonie appaiono piccole, rotonde, opache, di colore da bianco a biancastro che non sono emolitiche ma a volte sono β emolitiche dopo 5-6 giorni.

Dermabacter hominis

Sono bastoncini Gram positivi molto corti che possono essere erroneamente considerati come cocchi.

Per tutte gli altri bastoncini Gram positivi privi di spore, consultare la sezione "Caratteristiche".

Erysipelothrix rhusiopathiae

Le cellule sono bastoncini sottili non sporulanti Gram positivi che si presentano in corte catene, a coppie, in una configurazione a "V" o anche raggruppate in modo casuale. Questo microorganismo può apparire Gram variabile a causa della sua tendenza a decolorarsi rapidamente.

Specie *Trueperella*

Le cellule sono Gram positive, coccobacilli e bastoncini corti che si presentano singolarmente, in coppie (V, T e formazioni a palizzata) o in gruppi.

8.2 Terreni di isolamento primario

Agar sangue incubato in 5-10% CO₂ da 35° C a 37° C per 16 a 48 ore.

Agar selettivo *Listeria* incubato in O₂ da 35° C a 37° C per 40 a 48 ore.

Nota: le specie *Listeria* sono anche in grado di crescere da 2° C a 43° C.

8.3 Aspetto colonie

Tabella 1: Riepilogo degli organismi e loro aspetto sulla piastra di agar sangue.

Microrganismo	Caratteristiche di crescita su agar sangue dopo incubazione a 35-37°C per 16-48 ore
<i>L. monocytogenes</i>	Le colonie di hanno un diametro da 0,5 a 1,5 mm, lisce, traslucide con un caratteristico aspetto di vetro smerigliato che può essere emulsionato e con una zona di β-emolisi nebulosa che si estende da 1 a 2 mm dal bordo della colonia.

Identificazione di specie *Listeria* e di altri Bastoncini Gram Positivi non Sporigeni, (eccetto (*Corynebacterium*))

<i>L. ivanovii</i>	Le colonie sono simili a quelle di <i>L. monocytogenes</i> ma sviluppano ampie zone di emolisi completa con zone esterne di emolisi parziale Le cellule sono piccole bastoncini mobili. Le colonie su agar sangue di pecora o di cavallo (5%) sono fortemente β -emolitiche. La crescita avviene a 4° C entro 5 giorni
<i>L. seeligeri</i>	Le cellule sono piccoli bastoncini (da 0,4 a 0,8 x 0,5 a 2,5 μ m) Le colonie sono simili a quelle di <i>L. monocytogenes</i> ma sono prodotte zone di β -emolisi
<i>L. innocua</i>	Le cellule sono piccole bastoncini che appaiono isolati o in corte catene. Colonie di color crema, prive di emolisi
<i>L. grayi</i>	Le colonie sono piccole, regolari, lisce con diametro da 1 a 2 mm di dopo 1-2 giorni d'incubazione a 37°C.
<i>L. welshimeri</i>	Le cellule sono piccoli bastoncini (da 0,4 a 0,5 x 0,5 a 2,0 μ m). Gli eritrociti di pecora non sono emolizzati. La crescita avviene a 4° C entro 5 giorni.
Specie <i>Arcanobacterium</i>	Le cellule sono sottili, irregolari e prevalentemente a forma di bastoncino o disposte ad angolo per dare formazioni a V durante le prime 18 ore di crescita su agar sangue, nel tempo diventando granulari e segmentate, somiglianti a piccoli cocchi irregolari. Dopo 48 ore d'incubazione, le colonie producono zone di β -emolisi.
Specie <i>Aureobacterium</i>	Colonie non emolitiche, pigmentate di giallo.
Specie <i>Bifidobacterium</i>	Le colonie sono basse, grigio marrone, e ovoidali con centro opaco marrone bordi traslucidi crenati
Specie <i>Brevibacterium</i>	Le colonie sono opache, bianco grigiastre, diametro 2 mm o maggiore dopo 24 ore, convesse con superficie liscia e lucida. Non sono emolitiche e possono diventare giallo verdi dopo 48 ore.
Specie <i>Cellulomonas</i>	Non-emolitiche, colonie pigmentate gialle o arancione
<i>Cutibacterium acnes</i>	Le colonie sono rotonde, opache, di colore da bianco a biancastro a volte β -emolitiche dopo 5-6 giorni
<i>Dermabacter hominis</i>	Non-emolitiche, piccole grigie/bianche convesse con margine continuo
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	Dopo 48 ore di incubazione, si manifestano due tipi di colonie: una piccola liscia, forma (S), 0.5-1mm di diametro, trasparente, convessa e circolare con margine continuo. La forma grande rugosa (R) è più piatta, più opaca e bordo irregolare. La maggior parte dei ceppi presenta una zona ristretta di α -emolisi, ma le forme -R non producono emolisi.
<i>Gardnerella vaginalis</i>	La crescita è potenziata dall'aggiunta del 5-10% di CO ₂ . 2 Le colonie sono piccole, circolari, convesse e grigie. Produce anche β -emolisi diffusa su agar sangue di coniglio ma non su agar sangue di pecora. L'emolisi sull'agar sangue di cavallo è variabile.
Specie <i>Lactobacillus</i>	Le colonie sono piccole e spesso α -emolitiche su agar sangue dopo 48 ore
Specie <i>Microbacterium</i>	Le colonie sono rotonde, convesse con margine continuo, umide, lucenti e possono produrre un pigmento giallo o arancione.
Specie <i>Oerskovia</i>	Le colonie possono produrre un pigmento giallo.
<i>Propionibacterium species</i>	Producono piccole colonie dopo 48 ore di incubazione. .
Specie <i>Rhodococcus</i>	Le colonie possono essere ruvide, lisce o mucose e sono incolori, crema, beige, gialle, arancioni o rosse

Specie <i>Trueperella</i>	Colonie β-emolitiche crescono sull'agar sangue dopo 24 ore di incubazione e dopo 48-72 ore di incubazione, le colonie hanno un diametro da 0,5 a 1,5 mm, convesse, circolari e traslucide con bordi continui. <i>T. pyogenes</i> produce zone evidenti di β-emolisi dopo 48 ore di incubazione. L'emolisi di <i>T. bernardiae</i> è variabile.
<i>Trueperella bernardiae</i>	Le colonie presentano emolisi variabile, appaiono circolari, lisce e leggermente convesse con un aspetto vetroso.
<i>Trueperella pyogenes</i>	Le colonie producono zone evidenti di β-emolisi dopo incubazione di 48 ore. Appaiono convesse, bianche, lisce, traslucide e morbide con bordi continui.
<i>Turicella otitidis</i>	Le colonie hanno un aspetto convesso, biancastro, cremoso e non emolitiche.

Altre specie di *Listeria* mostrano un aspetto simile delle colone e sono emolitiche o non emolitiche: queste specie sono isolate molto raramente da sedi normalmente sterili e per l'identificazione devono essere inviate al Laboratorio di Riferimento.

Per tutti gli altri bastoncini Gram positivi privi di spore^{13,18}

Su agar sangue l'aspetto varia nelle diverse specie, dopo incubazione aerobica a 35-37 ° C per 16-48 ore. Consultare la Tabella 1 precedente.

8.4 Procedure del test

Test della Catalasi ([TP 8 - Catalase Test](#))

Le specie *Listeria* sono catalasi positive.

Le specie *Arcanobacterium* possono fornire reazioni variabili della catalasi.

Erysipelothrix rhusiopathiae è catalasi negativa.

Per gli altri bastoncini non sporulanti consultare la Tabella 2 e l'Appendice.

Test di Motilità ([TP 21 - Motility Test](#))

Questo è eseguito a 20°C - 25°C per le specie *Listeria* e a circa 30°C per tutti gli altri microrganismi.

Tutte le specie *Listeria* presentano motilità disordinata a 20°C - 25°C ma non a temperatura superiore a 30°C. Gli altri microrganismi possono essere mobili, ma non presentano questo tipo di movimento.

Per le altri bastoncini non sporulanti, consultare la Tabella 2 e l'Appendice

Sistemi commerciali di identificazione

I laboratori devono seguire le istruzioni del produttore per i test rapidi e le confezioni commerciali

Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time-of-Flight (MALDI-TOF)³²

Questo strumento ha dimostrato di essere rapido ed efficace per la propria riproducibilità, velocità e sensibilità analitica.

MALDI-TOF è stato sviluppato e validato per le specie e le caratteristiche delle specie *Listeria* utilizzando isolati provenienti da numerose sedi.

È noto per essere stato utilizzato per identificare altri bastoncini Gram positivi non sporigeni quali *T. bernardiae*, *E.rhusiopathiae*, *A.haemolyticum* e *G.vaginalis*^{33,34}.

Per ulteriori informazioni fare riferimento alla UK SMI [TP 40 - MALDI TOF MS test procedure](#).

Amplificazione Acido Nucleico (Nucleic Acid Amplification Test-NATTS)^{35,36}

La PCR si è ora affermata come una tecnica rapida, affidabile e riproducibile per l'identificazione delle specie di *Listeria* e, cosa ancora più importante, per la differenziazione di *L. monocytogenes* da altre specie utilizzando sonde mirate verso geni che codificano per i fattori di virulenza o geni di sottounità RNA.

Il saggio di sierotipizzazione basato per la PCR Multiplex, come quello con l'uso di primer PCR specifici di gruppo, ha fornito ugualmente strumenti aggiuntivi per l'identificazione e il raggruppamento di *L. monocytogenes*, tuttavia, è necessario prendere in considerazione la tipologia del laboratorio e i campioni ricevuti.

Tabella 2: Caratteristiche fenotipiche della *Listeria* e di altri bastoncini gram-positivi non sporigeni (eccetto *Corynebacterium*)

Microrganismi	Colorazione Gram	Catalasi	Mobilità
<i>Listeria</i> Specie	Positiva	Positiva	Positiva
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	Positiva	Negativa	Negativa
Specie <i>Aureobacterium</i>	Positiva	Positiva	Variabile
Specie <i>Bifidobacterium</i>	Positiva	Negativa	Negativa
Specie <i>Brevibacterium</i>	Positiva	Positiva	Negativa
Specie <i>Cellulomonas</i>	Positiva	Positiva	Variabile
<i>Cutibacterium</i>	Positiva	Positiva	Negativa
<i>Dermabacter hominis</i>	Positiva	Positiva	Negativa
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	Positiva	Negativa	Negativa
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Variabile	Negativa	Negativa
Specie <i>Lactobacillus</i>	Positiva	Negativa	Raramente mobile
Specie <i>Microbacterium</i>	Positiva	Variabile	Variabile
Specie <i>Oerskovia</i>	Positiva	Positiva	Variabile
Specie <i>Propionibacterium</i>	Positiva	Positiva	Negativa
Specie <i>Rhodococcus</i>	Positiva	Positiva	Negativa
<i>Trueperella pyogenes</i>	Positiva	Negativa	Negativa
<i>Trueperella bernardiae</i>	Positiva	Negativa	Negativa
<i>Turicella otitidis</i>	Positiva	Positiva	Negativa

8.5 Identificazione successiva

Dopo il rilievo della morfologia delle colonie, test della catalasi, test di motilità e risultati di identificazione biochimica, se è richiesta un'ulteriore identificazione, inviare l'isolato al Laboratorio di Riferimento.

Sono stati sviluppati numerosi metodi di tipizzazione rapida per isolati da campioni clinici; questi includono tecniche molecolari come Fluorescent Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) e Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE). Tutti questi approcci consentono la sottotipizzazione di ceppi non correlati, ma lo fanno con diversa accuratezza, capacità discriminatoria, e riproducibilità.

Tuttavia, alcuni di questi metodi rimangono accessibili solo ai laboratori di riferimento e sono difficili da implementare per l'identificazione batterica di routine in un laboratorio clinico.

Sequenziamento dell'intero genoma (WGS)³⁷

Il sequenziamento dell'intero genoma (WGS), noto anche come sequenziamento della complessa struttura del genoma, è un metodo di laboratorio che determina la sequenza completa del DNA del genoma di un microrganismo in una sola volta.

Il WGS è stato utilizzato con successo per esplorare il genoma dei microrganismi, nonché per identificare i geni riconosciuti responsabili della patogenesi, per sviluppare metodi migliori per l'identificazione dei ceppi e per far progredire la comprensione dell'evoluzione dei microrganismi. L'analisi WGS può fornire dati filogenetici, che aiutano a eseguire la sorveglianza in tempo reale o retrospettiva di *L. monocytogenes* e le relative indagini sulle epidemie³⁸.

Polimorfismo a singolo nucleotide (SNP)³⁹

L'approccio basato sul polimorfismo a singolo nucleotide (SNP) è il principio più comunemente usato per il recupero delle informazioni di sottotipizzazione dai dati WGS. Gli SNP sono flessibili, non richiedono uno schema ridefinito e forniscono una risoluzione di sottotitolazione eccezionalmente elevata.

SNP è usato per la tipizzazione altamente discriminante di *L. monocytogenes*.

Sequenziamento del gene dell'rRNA 16S⁴⁰

Il sequenziamento del gene 16S rRNA è un metodo di identificazione genotipica ampiamente riconosciuto utile per la sottotipizzazione molecolare delle specie e dei ceppi batterici.

Questo metodo di sequenziamento dell'rRNA 16S è utilizzato per la speciazione rapida, specifica e sensibile degli isolati di *Listeria*, nonché per la differenziazione all'interno delle specie per gli isolati di *L. monocytogenes*, *L. innocua* e *L. welshimeri*

8.6 Conservazione e Invio

Se necessario, conservare l'isolato puro su becco di clarino di agar sangue o nutriente per l'invio al laboratorio di riferimento

9 Refertazione

9.1 Infezione Specialistica⁴¹

L'infezione è più comunemente acquisita dal consumo di cibo contaminato (incluso quello servito in ospedale), anche se l'infezione crociata nelle sedi di consegna è ben documentata. L'isolamento del battere è più frequente dal sangue o LCS. Informare l'infettivologo di tutte le *Listeria monocytogenes* identificate in modo preliminare e confermate, e di altre specie di *Listeria* isolate da sedi sterili quando il modulo di richiesta contiene informazioni pertinenti, ad esempio

- Paziente di >60 anni, immunocompromesso, gravida o neonato
- Sospetto di sepsi, meningite/o meningoencefalite in soggetti con alcolismo, abuso di altre sostanze o immunocompromessi. Inoltre, i pazienti con altri gravi disturbi soggiacenti, come il cancro o i pazienti che ricevono trattamenti che inducono neutropenia e/o mucosite
- Ricerca per epidemie

Informare l'infettivologo del presunto e confermato isolamento di bastoncini non-sporigeni Gram positivi. In genere, questi includeranno

- Casi di sospetta endocardite
- Infezione di dispositivi medici permanenti (valvole protesiche, pacemaker, cateteri peritoneali e vascolari, shunt LCR)
- Anamnesi con abuso di sostanze, alcolismo, immunodeficienza o altri gravi disturbi soggiacenti, come il cancro o pazienti in trattamento che inducono neutropenia e/o mucosite

Seguire i protocolli locali per la segnalazione al medico.

9.2 Identificazione preliminare

Se sono dimostrate le caratteristiche di crescita appropriate, aspetto delle colonie, colorazione Gram della coltura e risultati della catalasi.

9.3 Conferma dell'identificazione

La conferma dell'identificazione e la tossigenicità dei bastoncini Gram positivi non sporigeni sono eseguite solo dall'Unità di riferimento Antimicrobial Resistance and Healthcare Associated Infections Reference Unit (AMRHAI), mentre la conferma dell'identificazione per gli isolati di *L. monocytogenes* e le specie di *Listeria* è effettuata dai servizi di riferimento della Foodborne Pathogens Reference Services presso la Gastrointestinal Bacteria Reference Unit, Colindale. ..

9.4 Gruppo Protezione Lavoro (Health Protection Team (HPT))

Fare riferimento agli accordi locali nelle amministrazioni decentrate.

9.5 Salute Pubblica Inglese (Public Health England)⁴²

Fare riferimento alle attuali linee guida sulla segnalazione SGSS.

9.6 Prevenzione infezione e gruppo di controllo (Infection and prevention control team)

Informare il Gruppo di Prevenzione e Controllo delle Infezioni degli isolati presunti e confermati di *L. monocytogenes* secondo i protocolli locali.

10 Invio ai laboratori di riferimento

Per informazioni sui test disponibili, tempi di consegna, procedure di trasporto e altri requisiti del laboratorio di riferimento, consultare lo [Specialist and reference microbiology: laboratory tests and services page](#) su GOV.UK per manuali utente e moduli di richiesta

Microrganismi con resistenze insolite o inattese, o associati a un problema di laboratorio o clinico, o un'anomalia che richieda un'indagine, devono essere inviati al laboratorio di riferimento appropriato.

Contattare il laboratorio nazionale di riferimento appropriato per informazioni sulle prove disponibili, tempi di consegna, procedure di trasporto e qualsiasi altro requisito per l'invio del campione:

Inghilterra e Galles

<https://www.gov.uk/specialist-and-reference-microbiology-laboratory-tests-and-services>

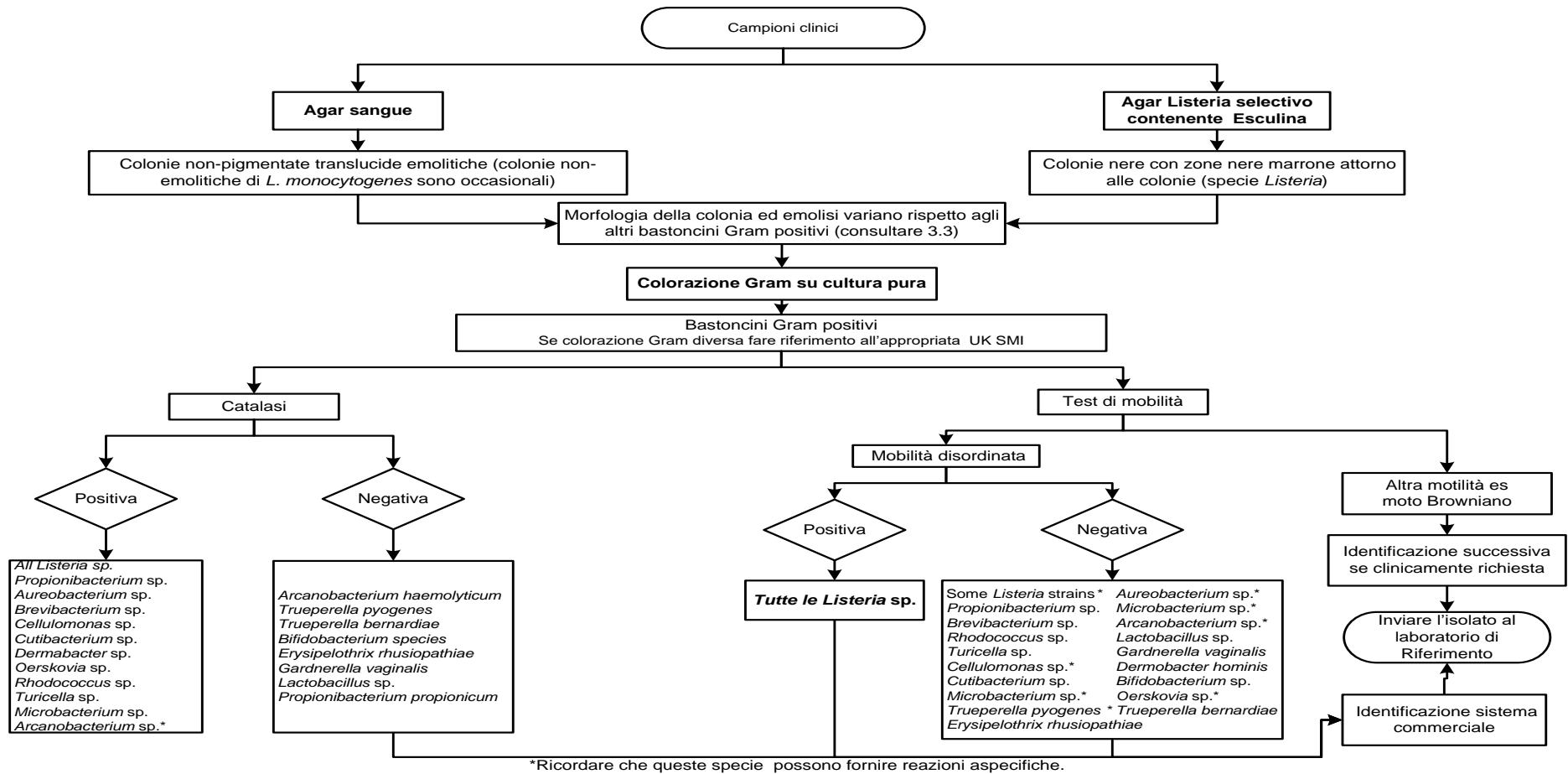
Scozia

<https://www.hps.scot.nhs.uk/a-to-z-of-topics/reference-laboratories/>

Irlanda del Nord

<http://www.publichealth.hscni.net/directorate-public-health/health-protection>

Identificazione di specie *Listeria* e altri bastoncini Gram positivi non-sporulanti (eccetto *Corynebacterium*)



Questo diagramma è solo a scopo indicativo

Bibliografia

Per le informazioni relative alle classificazioni documenti forniti, fare riferimento al collegamento informativo scientifico sopra riportato nella sezione 2.

1. Holt JG. Regular, nonsporing gram-positive rods. Genus *Listeria*. In: Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST, editors. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 1994. p. 565-70. **A, V**
2. Euzéby JP. Genus *Listeria*. 2013. **A, III**
3. Patrick R. Murray EJB, James Jorgensen, Michael Pfaller, Marie Louise Landry. *Manual of Clinical Microbiology* 2007;9. **A, III**
4. Orsi RH, Wiedmann M. Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Applied microbiology and biotechnology* 2016;100:5273-87. **A, III**
5. Seeliger HPR, Rocourt J, Schrettenbrunner A, Grimont PA, D J. *Listeria ivanovii* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1984;34:336-7. **B, III**
6. Boerlin P, Rocourt J, Grimont F, Grimont PA, Jacquet C, Piffaretti JC. *Listeria ivanovii* subsp. *londoniensis* subsp.nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1992;42:69-73. **B, II**
7. Rocourt J, Grimont PA. *Listeria welshimeri* sp. nov. and *Listeria seeligeri* sp.nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1983;33:866-9. **B, V**
8. Pine L, Malcolm GB, Brooks JB, Daneshvar MI. Physiological studies on the growth and utilization of sugars by *Listeria* species. *CanJMicrobiol* 1989;35:245-54. **A, II**
9. Perrin M, Bemer M, Delamare C. Fatal case of *Listeria innocua* bacteremia. *JClinMicrobiol* 2003;41:5308-9. **A, IV**
10. Rocourt J, Boerlin P, Grimont F, Jacquet C, Piffaretti JC. Assignment of *Listeria grayi* and *Listeria murrayi* to a single species, *Listeria grayi*, with a revised description of *Listeria grayi*. *IntJSystBacteriol* 1992;42:171-4. **B, II**
11. Yassin AF, Hupfer H, Siering C, Schumann P. Comparative chemotaxonomic and phylogenetic studies on the genus *Arcanobacterium* Collins et al. 1982 emend. Lehnen et al. 2006: proposal for *Trueperella* gen. nov. and emended description of the genus *Arcanobacterium*. *IntJSystEvolMicrobiol* 2011;61:1265-74. **A, III**
12. Euzéby JP. Genus *Arcanobacterium*. 2013. **A, III**
13. Funke G, von Graevenitz A, Clarridge JE, III, Bernard KA. Clinical microbiology of coryneform bacteria. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:125-59. **B, V**
14. Nolte FS, Arnold KE, Sweat H, Winton EF, Funke G. Vancomycin-resistant *Aureobacterium* species cellulitis and bacteremia in a patient with acute myelogenous leukemia. *JClinMicrobiol* 1996;34:1992-4. **B, IV**
15. Funke G, von GA, Weiss N. Primary identification of *Aureobacterium* spp. isolated from clinical specimens as "*Corynebacterium aquaticum*". *JClinMicrobiol* 1994;32:2686-91. **B, I**

Identificazione di specie *Listeria* e di altri Bastoncini Gram Positivi non Sporigeni, (eccetto (*Corynebacterium*))

16. Connie R. Mahon and Donald C. Lehman. Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th Edition 2019. **A, III**
17. Gruner E, Pfyffer GE, von GA. Characterization of *Brevibacterium* spp. from clinical specimens. *JClinMicrobiol* 1993;31:1408-12. **B, II**
18. Janda WM. *Corynebacterium* species and the Coryneform bacteria part II: current status of the cdc coryneform groups. *Clin Microbiol Newslett* 1998;20:53-66. **A, III**
19. Scholz CF, Kilian M. The natural history of cutaneous propionibacteria, and reclassification of selected species within the genus *Propionibacterium* to the proposed novel genera *Acidipropionibacterium* gen. nov., *Cutibacterium* gen. nov. and *Pseudopropionibacterium* gen. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 2016;66:4422-32. **B, III**
20. Pecastaings S, Roques C, Nocera T, Peraud C, Mengeaud V, Khammari A et al. Characterisation of *Cutibacterium acnes* phylotypes in acne and in vivo exploratory evaluation of Myrtacine((R)). *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV* 2018;32 Suppl 2:15-23. **B, I**
21. Brooke CJ, Riley TV. *Erysipelothrix rhusiopathiae*: bacteriology, epidemiology and clinical manifestations of an occupational pathogen. *JMed Microbiol* 1999;48:789-99. **B, V**
22. Conlin M, Willingham K, Oliver J. *Rhodococcus* Bacteremia in an Immunocompetent Patient. *Laboratory Medicine* 2000;31:263-5. **B, IV**
23. Euzeby JP. Genus *Trueperella*. 2013. **A, III**
24. Reddy CA, Cornell CP, Fraga AM. Transfer of *Corynebacterium pyogenes* (Glage) Ebersson to the Genus *Actinomyces* as *Actinomyces pyogenes* (Glage) comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1982;32:419-29. **B, II**
25. Funke G, Ramos CP, Fernandez-Garayzabal JF, Weiss N, Collins MD. Description of human-derived Centers for Disease Control coryneform group 2 bacteria as *Actinomyces bernardiae* sp. nov. *IntJSystBacteriol* 1995;45:57-60. **B, I**
26. FUNKE G, STUBBS S, ALTWEGG M, CARLOTTI A, COLLINS MD. *Turicella otitidis* gen. nov., sp. nov., a Coryneform Bacterium Isolated from Patients with Otitis Media 1994;44:270-3. **B, I**
27. Mitchell RG. *Listeria* and *Erysipelothrix*. In: Collee JG, Fraser AG, Marmion BP, Simmons A, editors. *Mackie & McCartney Practical Medical Microbiology*. 14th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1996. p. 309-15. **A, III**
28. Pathogens. ACoD. The Approved List of Biological Agents. 1-35 HaSE 2013. **A, VI**
29. Advisory Committee on Dangerous Pathogens. *Biological agents: Managing the risks in laboratories and healthcare premises*. Health and Safety Executive 2005. **A, V**
30. McLauchlin J. The pathogenicity of *Listeria monocytogenes*: a public health perspective. *Rev Med Microbiol* 1997;8:1-14. **B, V**
31. Rapose A, Lick SD, Ismail N. *Listeria grayi* bacteremia in a heart transplant recipient. *TransplInfectDis* 2008;10:434-6. **B, IV**
32. Barbuddhe SB, Maier T, Schwarz G, Kostrzewa M, Hof H, Domann E et al. Rapid identification and typing of *Listeria* species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *ApplEnvironMicrobiol* 2008;74:5402-7. **B, II**

33. Hijazin M, Alber J, Lammler C, Weitzel T, Hassan AA, Timke M et al. Identification of *Trueperella* (*Arcanobacterium*) *bernardiae* by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry analysis and by species-specific PCR. *JMed Microbiol* 2012;61:457-9. **B, III**
34. McElvania Tekippe E, Shuey S, Winkler DW, Butler MA, Burnham CA. Optimizing identification of clinically relevant Gram-positive organisms by use of the Bruker Biotyper matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system. *Journal of clinical microbiology* 2013;51:1421-7. **A, II**
35. Gasanov U, Hughes D, Hansbro PM. Methods for the isolation and identification of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*: a review. *FEMS MicrobiolRev* 2005;29:851-75. **B, III**
36. Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *JClinMicrobiol* 2004;42:3819-22. **A, III**
37. Halbedel S, Prager R, Fuchs S, Trost E, Werner G, Flieger A. Whole-Genome Sequencing of Recent *Listeria monocytogenes* Isolates from Germany Reveals Population Structure and Disease Clusters. *Journal of clinical microbiology* 2018;56. **B, III**
38. Lüth S, Kleta S, Al Dahouk S. Whole genome sequencing as a typing tool for foodborne pathogens like *Listeria monocytogenes* – The way towards global harmonisation and data exchange. *Trends in Food Science & Technology* 2018;73:67-75. **B, III**
39. Saltykova A, Wuyts V, Mattheus W, Bertrand S, Roosens NHC, Marchal K et al. Comparison of SNP-based subtyping workflows for bacterial isolates using WGS data, applied to *Salmonella enterica* serotype Typhimurium and serotype 1,4,[5],12:i. *PLOS ONE* 2018;13:e0192504. **A, II**
40. Hellberg RS, Martin KG, Keys AL, Haney CJ, Shen Y, Smiley RD. 16S rRNA partial gene sequencing for the differentiation and molecular subtyping of *Listeria* species. *Food microbiology* 2013;36:231-40. **A, I**
41. Rogalla D, Bomar PA. *Listeria Monocytogenes*. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; StatPearls Publishing LLC.; 2020. **B, III**
42. Public Health England. Laboratory Reporting to Public Health England: A Guide for Diagnostic Laboratories. Public Health England 2016. 1-29. **A, VI**