

Janko Zupančič,  
višji zdravstveni tehnik  
Inštitut za mikrobiologijo Medicinske fakultete  
v Ljubljani

## Laboratorijska diagnostika listerioze

»Na srečo listerije niso nikoli našli pri štokrlji, sicer bi jo obtožili, da ona okužuje novorojenčke«.  
(Michael Gray na simpoziju za listeriozo, 1966)

UDK 616.981-078:576.851.136

**IZVLEČEK.** *Inštitut za mikrobiologijo Medicinske fakultete v Ljubljani že več let opravlja preglede različnih kužnin na listeriozo. Pri delu uporablja sodobne preiskavne metode za izolacijo in določitev povzročitelja *Listeria monocytogenes* ter serološko ugotavljanje specifičnih protiteles. Rezultati teh preiskav so dragocen pripomoček za odkrivanje vseh oblik listerioze, njeno zdravljenje in preprečevanje.*

**LABORATORY DIAGNOSIS OF LISTERIOSIS.** *Examination of various cultures for listeriosis has been one of the tasks carried out at the Institute of Microbiology for many years. They employ modern procedures of isolation and identification of *Listeria monocytogenes* and serologic determination of specific antigens. The results obtained constitute a precious tool used in detecting, treating and preventing various forms of listeriosis.*

Človeštvo se že tisočletja bori proti škodljivim vplivom in delovanju mikrobov z vsemi razpoložljivimi znanstvenimi, tehničnimi in organizacijskimi sredstvi za svoj obstanek. V tej borbi je podleglo več ljudi kot v vseh dosedanjih vojnah in elementarnih nesrečah. Mnoge nekdanje neozdravljive nalezljive bolezni so ob prizadevanjih zdravstvene službe izkoreninili. Zaradi adaptacije in selekcije mikroorganizmov pa se pojavljajo v novejšem času bolezni, ki jih prej nismo poznali. Tudi za njihovo izkoreninjenje si bodo morale nacionalne zdravstvene službe še naprej nenehno prizadevati.

V SR Sloveniji je iz leta v leto več črevesnih nalezljivih bolezni, intoksikacij in primerov akutnega enterokolitisa, ki se prenašajo z živili. Največ epidemij beležimo v higiensko neustreznih obratih družbene prehrane. Na njihov nastanek pomembno vpliva tudi pomanjkljiva higienska in strokovna izobrazba zaposlenega osebja.

Med bakterije, ki se prenašajo z živili, sodi tudi *Listeria monocytogenes*, povzročitelj listerioze pri človeku in živalih.

Rod *Listeria* uvrščamo v družino Lactobacillaceae in vključuje štiri vrste, med katerimi je tudi *Listeria monocytogenes*. Bakterijo so leta 1926 odkrili

Murray, Webb in Swann (J. Path. Bacteriol. 29 (1926), 407—439) (17). Naslednje leto je Pirie (1927) na čast lordu Listru bakterio poimenoval *Listeria*.

Šele po drugi svetovni vojni so ugotovili, da je listerioza v svetu dokaj razširjena. V obdobju od leta 1951—1966 so opisane številne epidemije, od katerih sta najbolj znani dve v mestu Halle v Nemčiji (leta 1951 in 1966). Prve dni po porodu je zaradi nje umrlo več desetih novorojenčkov. Z bakteriološkimi preiskavami kužnih materialov iz notranjih organov je bila izolirana *L. monocytogenes* (Seeliger, H. P. R. in drugi 1968) (18).

Listerioza se pojavlja pri živalih v obliki epizootije — največkrat je vir infekcije okužena hrana, predvsem silaža. Iz naravnih rezervoarjev se povzročitelj prenaša neposredno ali posredno na človeka. Listerioza se pojavlja pri ljudeh v obliki septično — piemičnih obolenj v lažjih ali težjih oblikah. Pri nosečnicah često povzroča obolenja rodil, iz katerih se povzročitelj prek placente razširi na fetus. Infekcija lahko povzroči splav, prezgodnji porod mrtvega otroka ali listeriono obolenje novorojenčka z različnimi kliničnimi oblikami.

**Glede na klinični potek listerioze pri človeku ločimo sedem oblik obolenja (Seeliger 1961):**

1. anginsko — septične oblike z mononukleozo;
2. okulo — glandularno obliko;
3. septično — tifozno obliko;
4. septično — granulomatozno obliko;
5. listeriozo nosečnic;
6. listeriozo centralnega živčnega sistema in
7. atipične oblike listerioze.

V želji, da bi ugotovili razširjenost listerioze, opravlja Inštitut za mikrobiologijo Medicinske fakultete v Ljubljani že od leta 1965 v Sloveniji redne bakteriološke in serološke preglede različnih kužnin na listeriozo.

Za bakteriološko diagnozo listerioze uporabljamo mikroskopske, kulturelne, biološke in serološke metode.

Za bakteriološko ugotavljanje listerioze jemljemo in pošiljamo v preiskavo različne materiale, odvisno od vrste in lokalizacije bolezni. Navadno so to: likvor, kri, urin, mleko, amnijska tekočina, placenta, brisi vagine, žrela, nosu, očne veznice in druge; pri umrlih pa še različna tkiva in tekočine.

## 1. Mikroskopske preiskave

Prve podatke o povzročitelju listerioze *monocytogenes* dobimo z mikroskopskim pregledom razmaza bolnikove kužnine ali drugega materiala, ki ga obarvamo po Gramu. Na ta način ugotovimo prisotnost po Gramu pozitivnih bacilov in kokobacilov brez spor in kapsul. V preparatih viseče kaplje so bacili gibljivi. S pomočjo elektronsko-mikroskopskega pregleda oziroma z metodo barvanja bičkov lahko vidimo na bakteriji 4 peritrihe flagele. V preparatih, prirejenih iz starih kultur, posebno iz kolonij R tipa, so bacili dolgi oziroma nitasti.

## 2. Kultiviranje in identifikacija

*L. monocytogenes* se razmnožuje na vseh bakterioloških gojiščih v aerobnih pogojih; še boljše pa mikroaerofilno v 5 % atmosferi CO<sub>2</sub> pri optimalni temperaturi 37° C. Uspeva pa tudi pri nižjih temperaturah, celo pri temperaturi okoli 0° C. Vrsta materiala, število klic, prisotnost kontaminantov vpliva na izbiro tehnike za primarno izolacijo *L. Monocytogenes*.

Uporabljamo metode hladnega kultiviranja (Gray, 1948), kultiviranje na selektivnih gojiščih in kultiviranje po specifični odelavi kužnega materiala, ki traja 3 do 6 mesecev.

Izolirane bakterijske seve diferenciramo in indentificiramo biokemično, serološko in biološko na kuncih s pomočjo Antonovega očesnega preskusa.

Na podlagi antigenov, posebno somatskega O in flagelarnega H, so sevi *L. monocytogenes* razdeljeni na 5 seroloških vrst in več podvrst. Za diferenciacijo posameznih seroloških vrst so v rabi metode aglutinacije, predvsem na predmetniku ob uporabi monospecifičnih in faktorskih O serumov.

Za tipizacijo in potrditev bakteriološke diagnoze se po mednarodnem dogovoru pošlje vsak izolirani sev *L. monocytogenes* v evropski center za listeriozo na univerzo v Würzburg.

## 3. Biološke preiskave

Za biološke preskuse z namenom izolacije, določitve vrste in ugotavljanja patogenosti, uporabljamo kunce ali miši. Najboljše rezultate daje intravenozni, intraperitonealni in intraokularni vnos kužnine oziroma kulture.

## 4. Serološki pregledi

Za ugotavljanje specifičnih protiteles (O in H ločeno) v serumu bolnika ali živali uporabljamo reakcijo aglutinacije v epruveh in reakcijo vezave komplementa.

Za reakcijo aglutinacije je potrebno pripraviti posebej antigen O in posebej H antigen *L. monocytogenes* seroloških vrst 1 in 4 b. Dvojnimi dilucijam seruma, v katerem iščemo protitelesa, dodajamo posamezne antigene ustrezne gostote. Po inkubaciji v vodni kopeli pri 50° C ugotavljamo titer aglutininov. Serološke teste s titri 1 : 320 in več opredelimo kot pozitivne.

Reakcija vezave komplementa (RVK) z *L. monocytogenes* je lahko kvalitativna ali kvantitativna. Opravimo jo po klasični Kolmerjevi metodi (kot je v rabi za serološko diagnostiko luesa) s tem, da kot antigen uporabimo kulturo *L. monocytogenes*.

## Sklepne ugotovitve

Ker *L. monocytogenes* ni »izbirčna« glede pogojev razmnoževanja in preživljanja, je zelo razširjena v naravnem biotopu. Zaradi širokega spektra patogenega delovanja pri ljudeh in živalih lahko povzroča vrsto različnih obolenj. V normalnih

razmerah v pogojih urejene sanitarno-higienske in ostalih zdravstvenih služb *L. monocytogenes* predstavlja za osebe z normalno imunsko odpornostjo fakultativno patogeni mikroorganizem s slabo virulenco. Večje mehanizme patogenosti razvije *L. monocytogenes* v organizmih z zmanjšano imunsko odpornostjo: ogroža zlasti plod v času intrauterinega življenja, novorojenčke, posebno nedonošenčke in osebe s kroničnimi obolenji.

V zadnjem času s pomočjo bakterioloških in seroloških metod v Sloveniji najčešče ugotavljamo prisotnost humane listerioze pri nosečnicah in novorojenčkih. Listerioza v času nosečnosti, pa tudi druge oblike humane listerioze (meningitis), se pojavljajo posamično brez znakov epidemičnega širjenja, kot na primer v drugih evropskih državah.

V izrednih razmerah (elementarne in druge nesreče, vojne), pri katerih lahko pride do poslabšanja splošnih higienskih razmer, pa lahko naravni rezervoarji *L. monocytogenes* iznenada postanejo vir množičnih okužb (okužena živila, voda, pomanjkljiv sanitarni nadzor itd.) in epidemij.

#### Literatura:

1. Beganović H. A., F. Hadihalilović: *Listeria monocytogenes* utvrđena u sušenom ovčjem mesu. *Veterinaria* 9 (1960), 523—526.
2. Berberović M.: Epizootija listerioze kod koza na području Zenice. *Veterinarski glasnik* 18 (1964), 1101—1104.
3. Brzin B., N. Vargazon: Listerioza pri človeku. *Zdravstveni vestnik* 29 (1960), 1—8.
4. Džinić M., M. Nadaždin, M. Hadžimuratović, A. Sivčević: Povezanost ishrane silažom i gubitaka od listerioze u ovčarstvu brdsko-planinskih područja BiH. *Veterinarski glasnik* 21 (1967), 15—24.
5. Foršek Z., M. Hadžimuratović, M. Popović-Sabo: Pobačaj govoda asociiran sa infekcijom listerijama. *Veterinaria* 12 (1963), 323—326.
6. Gavez E., Z. Foršek: Listerioza u Jugoslaviji. Prva njena determinacija kod ovaca u BiH. *Veterinaria* 7 (1968), 545—556.
7. Mikuš D., Z. Stropnik: Naše izkušnje s perinatalno listeriozo. *Zdravstveni vestnik* 38 (1969), 349—351.
8. Mravunac B., V. Čupić, R. Hirtzler, B. Tompak, M. Milunić: Listerioza u dječjoj dobi. *Arhiv za zaštitu majke i djeteta* 10 (1966), 163—168.
9. Mršević S., M. Mocić, K. Drndarski, B. Bandur: Listerioza kod ljudi. *Srpski arhiv* 10 (1965), 885—895.
10. Seeliger H. P. R.: *Listeriosis*. 2<sup>nd</sup> Edition. Karger Verlag, Basel 1961.
11. Stropnik Z., Listerioza v SRS. Zbornik radova XX. naučnog sastanka mikrobiologa, epidemiologa i infektologa Jugoslavije, Pula 1978, 944—948.
12. Stropnik Z., D. Sedlar: Prilog poznavanju pojave listerioznog meningitisa u Sloveniji. *Mikrobiologija* 4 (1967), 139—146.
13. Šipka M.: *Listeria monocytogenes* u mleku krave, *veterinarski glasnik* 15 (1961), 203—205.
14. Šipka M., S. Žakula, R. Perkućin, P. Marković, P. Zaremski: Listerioza kod krava na području AP Vojvodine. *Veterinarski glasnik* 20 (1966), 349—352.
15. Škodnik-Janša K., Z. Stropnik: Genitalna i neonatalna listerioza. *Mikrobiologija* 3 (1966), 205—212.
16. Zaharija I.: Listerioza. *Veterinarski glasnik* 10 (1966), 674—78.
17. Murray, E. G. D., Webb, R. A., Swann, M. B. R.: A disease of rabbits characterized by large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto underscribed *B. Bacterium monocytogenes*. *J. Path. Bacteriol.* 29 (1926), 407—439.
18. Seeliger, H. P. R., Emmerling, P. in Emmerling H.: Zur Verbreitung der Listeriose in Deutschland. *Dtsch. Med. Wschr.* 93 (1968), 2037—2043.

---

**NAJPAMETNEJŠI JE TISTI, KI SE TEGA NE ZAVEDA**

**Boileau**