

- of *Dermacentor reticulatus* in Germany and detection of *Rickettsia* sp. RpA4. *Int. J. Med. Microbiol.* 2006, **296**, 149-156.
6. Stréter T., Széll Z., Varga I.: Spatial distribution of *Dermacentor reticulatus* and *Ixodes ricinus* in Hungary: evidence for change? *Vet. Parasitol.* 2005, **128**, 347-351.
  7. Zygnier W., Górski P., Wędrychowicz H.: New localities of *Dermacentor reticulatus* tick (vector of *Babesia canis canis*) in central and eastern Poland. *Pol. J. Vet. Sci.* 2009, **12**, 549-555.
  8. Irwin P. Babesiosis and cytauxzoonosis. W: Shaw S.E., Day M.J.: *Arthropod-borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Manson Publishing, London 2005, s. 63-77.
  9. Homer M.J., Aguilar-Delfin I., Telford S.R. 3rd, Krause P.J., Persing D.H.: Babesiosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2000, **13**, 451-469.
  10. Jacobson L.S.: The South African form of severe and complicated canine babesiosis: Clinical advances 1994-2004. *Vet. Parasitol.* 2006, **138**, 126-139.
  11. Jacobson L.S., Lobetti R.G.: Rhabdomyolysis as a complication of canine babesiosis. *J. Small Anim. Pract.* 1996, **37**, 286-291.
  12. Schettlers T.P., Eling W.M.: Can Babesia infections be used as a model for cerebral malaria? *Parasitol. Today* 1999, **15**, 492-497.
  13. Clark I.A., Alleva L.M., Mills A.C., Cowden W.B.: Pathogenesis of malaria and clinically similar conditions. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004, **17**, 509539.
  14. Chauvin A., Moreau E., Bonnet S., Plantard O., Malandrin L.: *Babesia* and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. *Vet. Res.* 2009, **40**, 37 (DOI: 10.1051/vetres/2009020).
  15. Matijatko V., Torti M., Schettlers T.P.: Canine babesiosis in Europe: how many diseases? *Trends Parasitol.* 2012, **28**, 99-105.
  16. Jacobson L.S., Lobetti R.G., Becker P., Reyers F., Vaughan-Scott T.: Nitric oxide metabolites in naturally occurring canine babesiosis. *Vet. Parasitol.* 2002, **104**, 27-41.
  17. Matijatko V., Kiš I., Torti M., Brkjačić M., Kučer N., Barić Rafaj R., Grden D., Živičnjak T., Mrljak V.: Septic shock in canine babesiosis. *Vet. Parasitol.* 2009, **162**, 263-270.
  18. Matijatko V., Kiš I., Torti M., Brkjačić M., Barić Rafaj R., Žvorc Z., Mrljak V.: Systemic inflammatory response syndrome and multiple organ dysfunction syndrome in canine babesiosis. *Vet. Arhiv.* 2010, **80**, 611-626.
  19. Bone R.C., Balk R.A., Cerra F.B., Dellinger R.P., Fein A.M., Knaus W.A., Schein R.M., Sibbald W.J.: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992, **101**, 1644-1655.
  20. Levy M.M., Fink M.P., Marshall J.C., Abraham E., Angus D., Cook D., Cohen J., Opal S.M., Vincent J.L., Ramsay G.: SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit. Care Med.* 2003, **31**, 1250-1256.
  21. Nguyen H.B., Smith D.: Sepsis in the 21st century: recent definitions and therapeutic advances. *Am. J. Emerg. Med.* 2007, **25**, 564-571.
  22. Otto C.M.: Clinical trials in spontaneous disease in dogs: a new paradigm for investigations of sepsis. *J. Vet. Emerg. Crit. Care* 2007, **17**, 359-367.
  23. Boller E.M., Otto C.M.: Sepsis. W: Silverstein D.C., Hopper K.: *Small Animal Critical Care Medicine*. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri 2009, s. 454-458.
  24. Okano S., Yoshida M., Fukushima U., Higuchi S., Takase K., Hagio M.: Usefulness of systemic inflammatory response syndrome criteria as an index for prognosis judgement. *Vet. Rec.* 2002, **150**, 245-246.
  25. Platt S.R.: Coma scales. W: Silverstein D.C., Hopper K.: *Small Animal Critical Care Medicine*. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri 2009, s. 410-413.
  26. Boller E.M., Otto C.M.: Septic shock. W: Silverstein D.C., Hopper K.: *Small Animal Critical Care Medicine*. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri 2009, s. 459-463.
  27. Brady C.A., Otto C.M.: Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and multiple organ dysfunction. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2001, **31**, 1147-1162.

Dr Wojciech Zygnier, Zakład Parazytologii i Inwazyjologii, Katedra Nauk Przedklinicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

## Listerioza współczesnym zagrożeniem

Zdzisław Gliński, Krzysztof Kostro

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Listerioza jest chorobą wywołaną przez *Listeria monocytogenes*, rzadziej przez *L. ivanovii*, która występuje sporadycznie u wielu gatunków zwierząt, szczególnie w klimacie umiarkowanym i chłodnym. U ludzi epidemie wywołane przez *L. monocytogenes* stały się najczęstszym współczesnym zagrożeniem pokarmowym dla człowieka. W wielu krajach trwają zmagania z listeriozą, która pojawia się okresowo, a jej wystąpienie wiąże się głównie z konsumpcją żywności zanieczyszczonej przez tę bakterię (1, 2). Ostatnio w USA wybuchła największa od ćwierćwiecza epidemia listeriozy. Źródłem epidemii we wrześniu 2011 r. była zanieczyszczona przez *L. monocytogenes* odmiana melona (kantalu) pochodząca z fermy w Kolorado; 13 osób zmarło.

### Epidemiologia

Oportunistyczna bakteria *L. monocytogenes* występuje u 42 gatunków udomowionych i dzikich ssaków, przede wszystkim owiec, bydła, a także świń i drobiu, psów i kotów, a także u 17 gatunków ptaków, ryb, owadów, kleszczy, skorupiaków i ostryg. Występuje ona w kale zwierząt, wodzie, glebie, ścięgach i na roślinach (3, 4). Często spotyka się ją w przewodzie pokarmowym oraz

w migdałkach zdrowych zwierząt, pełniących rolę nosicieli i siewców zarazka, w kiszczonkach i produktach mlecznych, zwłaszcza w serach. *Listeria monocytogenes* zanieczyszcza mięso i produkty spożywcze zawierające mięso (1, 5). Od 5 do 10% ludzi jest bezobjawowymi nosicielami listerii w przewodzie pokarmowym. Najczęściej choroba jest rozpoznawana u przeżuwaczy, u których stanowi ważny problem epidemiologiczny i gospodarczy.

*Listeria monocytogenes* wyisobniono po raz pierwszy w 1927 r. od królików i świń morskich, które masowo chorowały i padały w zwierzętarni w zakładzie naukowym w Cambridge. Pierwszy przypadek listeriozy opisano u owiec w 1933 r. w Nowej Zelandii. U kóz i u bydła w 1941 r., a u świń w 1940 r. W 1929 r. wyizolowano *L. monocytogenes* z krwi pacjenta z chorobą przypominającą mononukleozę zakaźną, natomiast w 1936 r. wykazano, że ten zarazek jest przyczyną poronień, zachorowań noworodków i zapalenia opon mózgowych u dorosłych osób. Choroba występuje na całym świecie. W Polsce listerioza jest notowana u przeżuwaczy, głównie w okresie zimowo-wiosennym (grudzień-maj), co ma związek z żywieniem kiszczonkami zanieczyszczonymi przez *L. monocytogenes*. Nadmiar skarmianych kiszczon-

### Listeriosis - newly threat

Gliński Z., Kostro K., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

The purpose of this paper was to present newly arising threat of an old disease. Listeriosis is an infectious disease caused by Gram-positive motile bacterium *Listeria monocytogenes*, ubiquitous in the environment. *L. monocytogenes* can affect a wide variety of animals including cattle, pigs, birds and humans. Many domestic and wild mammals, birds, fish and crustaceans can be carriers of the bacteria. Ruminants, mainly sheep, also get listeriosis from *Listeria ivanovii* infection. *Listeria* organisms spread through fecal-oral route, usually via manure contamination of the pasture or silage. The disease is usually sporadic, but can also occur as farm outbreaks in ruminants. Listeriosis affects the nervous system and is characterized by either meningoencephalitis and a syndrome of circling, facial paralysis, somnolence, endophthalmitis, head pressing, and abortion or by septicemia in the newborn animals. Listeriosis is one of the most important food-borne diseases of humans. It primarily affects elderly and/or immunocompromised people, pregnant women, and newborns. Contaminated food products of animal origin but also vegetables and fruits can be the source of listeria organisms. In this article diagnostic and control aspects of listeriosis as contemporary threat for public health were presented.

**Keywords:** listeriosis, *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, food-borne disease.

może prowadzić do rozwoju subklinicznej kwasicy, uszkodzenia śluzówki żwacza, upośledzenia mechanizmów obronnych,

co sprzyja namnożeniu się listerii. W Polsce listerioza należy do chorób zwierząt podlegających obowiązkowi rejestracji (6). Jest ona umieszczona w wykazie chorób zakaźnych i zakażeń człowieka podlegających obowiązkowemu zgłaszaniu (7).

### Biologia listerii

Do rodzaju *Listeria*, oprócz *L. monocytogenes*, należą: *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, z tym że u zwierząt około 90% zachorowań na listeriozę jest spowodowane przez *L. monocytogenes*, a 10% przez *L. ivanovii*. Natomiast u człowieka prawie wszystkie przypadki listeriozy wywołuje *L. monocytogenes*, rzadko *L. seeligeri* i *L. ivanovii*. *Listeria monocytogenes* jest Gram-dodatnią niezarodnikującą, ruchliwą pałeczką dzięki nielicznym rzęskom, która rośnie w warunkach tlenowych z dodatkiem 5–10% CO<sub>2</sub>. Na agarze z krwią wytwarza wąską strefę β – hemolizy. Zawartość guaniny+cytozyny w DNA wynosi 35–42 mol%. Sekwencja 16S rRNA potwierdza istnienie wzajemnych pokrewieństw pomiędzy różnymi gatunkami listerii. Obecność plazmidu DNA w niektórych szczepach *L. monocytogenes* jest związana z ich opornością na kadm. Rzadko występuje kodowana przez plazmidy oporność na tetracyklinę oraz równoczesna oporność na chloramfenikol, erytromycynę, streptomycynę i tetracyklinę.

Właściwości biologiczne zarazka, takie jak możliwość przeżywania w środowisku o pH w granicach 5,4–9, mała podatność na działanie czynników środowiska, umożliwiają jego przeżycie we wtórnym źródle zakażenia, a także w zakażonym organizmie. Zarazek przeżywa na suchych i wilgotnych powierzchniach, rozmnaża się w pokarmie o względnie dużej zawartości wody w zakresie temperatur od 0 do 45°C. W 4°C rośnie wolno, ponieważ maksymalny czas podwojenia wielkości populacji wynosi 1–2 doby. W zwłokach przeżywa 45–160 dni, w wysuszonym kale kilka lat, w wodzie do roku. Ginie eksponowana na 5% lizol po 5 min, 2,5% sodę kaustyczną lub formalinę po 20 min. Wykazuje dużą oporność na wysokie stężenia chlorku sodu (24%) i niskie temperatury. W mięsie baranin zarazek przeżywa ponad 20 dni w temperaturze od –10 do –20°C. Może przeżyć proces dojrzewania mięsa, peklowanie i mrożenie. Pokarm przechowywany w chłodni jest jednym z ważnych źródeł zakażenia człowieka. W pH wyższym od 5 nie tylko utrzymuje się w kiszonkach, ale może się nawet w nich rozmnażać. Tym samym kiszonki stają się ważnym źródłem zakażenia listeriami dla zwierząt domowych. Dzięki oporności na niskie pH bakteria znosi zarówno działanie soku żołądkowego, jak i działanie kwaśnego środowiska

fagosomów w fagocytach, co umożliwia przeniknięcie zarazka do jelit przez barierę, jaką stanowi kwaśny sok żołądkowy i przeżycie w fagosomach fagocytów.

W postępowaniu epidemiologicznym i epizootologicznym istotną rolę odgrywa serotypowanie szczepów wywołujących zachorowania. Listerie posiadają antygeny somatyczne (A, B, C, D) i antygeny rzęskowe (1–7). Na ich podstawie wyróżnia się 12 serotypów tego zarazka (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4bc, 4d, 4e, „7”). Jakkolwiek wszystkie serotypy cechują się chorobotwórczością, ponad 95% izolatów *L. monocytogenes* pochodzących od pacjentów należy do serotypów 1/2a, 1/2b i 4b. Oprócz serotypowania do typowania listerii wykorzystuje się ponadto typowania fagami, wieloogniskową enzymatyczną elektroforezę (multilocus enzyme electrophoresis – MEE), analizę restrykcyjną DNA w połączeniu z elektroforezą w żelu w pulsacyjnym polu elektrycznym (PFGE), analizę mikrosieciową, amplifikację polimorficznego DNA (RAPD) (4).

### Patogeneza listeriozy

Przeniknięcie przez szczelne dla innych bakterii bariery fizjologiczne przewodu pokarmowego i mózgu, zakażenie komórek oraz uszkadzające działanie jest możliwe dzięki czynnikom wirulencji, których produkcja jest kontrolowana przez geny wirulencji. Do czynników wirulencji *Listeria* zalicza się internaliny A i B (InIA, InIB), białko p60 (Cha), białko Ami, powierzchniowe białko Auto, białko p104, FbpA, sortazy A i B, listeriolizynę O. W obrębie szczepów *L. monocytogenes* występują różnice w determinantach wirulencji (8, 9, 10).

Internaliny są białkami powierzchniowymi o masie 80 kDa, które wchodzą w skład ściany komórki bakteryjnej. Dzięki nim jest możliwe wnikanie patogenu do komórek docelowych. InIA, która odpowiada za inwazję ściany komórek nabłonka wiąże się ze swoistym dla siebie receptorem F – kadheryną, będącym przezbłonową glikoproteiną. InIB umożliwia *L. monocytogenes* wniknięcie do hepatocytów, komórek nabłonka, śródbłonka naczyń, neuronów mózgu. Receptorem jest przezbłonowy czynnik wzrostu hepatocytów c-Met oraz gC1qR, heparyna i peptydoglikan siarczanu heparyny. Białko p60 pełni rolę adhezywny i hydrolazy mureiny. Białko Ami, ściśle związane ze ścianą komórkową hydrolizuje mureinę i uczestniczy w adhezji, podczas gdy białko Auto kontroluje strukturę i skład ściany komórkowej. Białko FbpA zapobiega rozpoznaniu drobnoustroju przez układ immunologiczny gospodarza, działa regulacyjnie w stosunku do InIB i listeriolizyny O, wpływa na adhezję patogenu oraz jego wniknięcie do komórek gospodarza.

Sortazy odpowiadają za właściwe zakotwiczenie patogenu do ściany komórkowej i mają udział w wydzielaniu czynników wirulencji (8). Listeriolizyna O jest cytolitycznym białkiem aktywowanym przez czynniki redukujące i hamowanym przez substancje utleniające. Koduje ją gen *hly*, będący częścią wyspy patogenności LIPI-1 *L. monocytogenes* (11, 12, 13). Maksymalna aktywność cytolityczna jest przy pH 5,5. Listeriolizyna O jest selektywnie aktywowana w fagosomach w pH około 5,9. Po uszkodzeniu fagosomu *Listeria* przedostaje się do cytosolu, gdzie się namnaża. W cytosolu unika rozpoznania i zniszczenia przez układ immunologiczny gospodarza. Listeriolizyna powoduje też defosforylację histonu H3 i deacetylację histonu H4 we wczesnej fazie zakażenia (14).

*Listeria monocytogenes* po przedostaniu się do przewodu pokarmowego, najczęściej z pokarmem, i po pokonaniu bariery jelitowej, osiedla się i rozmnaża w kępkach Peyera i w większości przypadków jest fagocytowana przez monocyty i makrofagi występujące w *lamina propria*. Z błony śluzowej jamy ustnej lub ran na głowie *L. monocytogenes* drogą nerwową może zakażać ośrodkowy układ nerwowy. W jelicie zarazek atakuje nie tylko komórki M nabłonka jelitowego, ale też inne typy komórek nabłonka i fibroblasty. Stamtąd przedostaje się za pośrednictwem chłonki do krwi i za pośrednictwem zakażonych monocytów zarazek jest roznoszony po organizmie, zakaża i rozmnaża się w nabłonkach, hepatocytach, fibroblastach, komórkach dendrytycznych. Niefagocytowane bakterie dzięki internalinie i białku p60 wnikają do hepatocytów, tam się osiedlają i rozmnażają (15). Listeriolizyna O i fosfatydylo-inozytolowa-lipaza C i fosfolipaza C umożliwiają listeriom ucieczkę z fagosomów do cytosolu i w ten sposób uniknięcie strawienia w fagosomie. Zakażone komórki wraz z wytworzonym wokół nich naciekiem zapalnym tworzą ogniska ziarniniakowe.

*Listeria* potrafi nie tylko przeniknąć przez barierę krew–jelito i barierę krew–mózg, lecz też przez łożysko do płodu. Płód zakaża się w macicy lub podczas porodu. Z chwilą przedostania się zarazka do krwi rozwija się uogólnione zakażenie i w konsekwencji dochodzi do zapalenia mózgu, zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, układu rozrodczego, obumarcia płodów.

Chociaż *L. monocytogenes* jest wewnątrzkomórkowym pasożytem, to zakażony organizm dysponuje kilkoma mechanizmami obronnymi. Pierwszym z nich jest fagocytoza patogenu przez aktywowane fagocyty, głównie neutrofile tworzące nacieki zapalne we wrotach zakażenia. Jednakże wydzielany przez makrofagi pochłaniające listerie TNFα i IL-12, łącznie z czynnikami wirulencji produkowanymi przez bakterie, aktywują

komórki NK. Komórki te produkują INF $\gamma$ . Pod wpływem TNF $\alpha$  i INF $\gamma$  zostaje wyłączona aktywność bakteriofagowa makrofagów.

Istotną rolę w odporności przeciwzakaźnej przeciwko zakażeniu odgrywa odporność swoista związana z odpowiedzią komórek T na determinanty antygenowe *L. monocytogenes*. Komórki T CD8<sup>+</sup> dzięki swojemu działaniu cytotoksycznemu na zakażone neutrofile i makrofagi uczestniczą w likwidacji zakażenia. Ich działanie jest specyficznie ukierunkowane na epitop 91-90 listeriolizyny O. Natomiast komórki T CD4 $\alpha\beta$  i  $\gamma\delta$  są przede wszystkim odpowiedzialne za powstanie zapalnych ziarniaków, a tym samym nie są bezpośrednio zaangażowane w działanie ochronne przed zakażeniem organizmu (16). W organizmie z immunosupresją oraz u ciężarnych kobiet i ciężarnych samic zwierząt odpowiedź immunologiczna jest słabiej nasiloną i nie likwiduje zakażenia. Często dochodzi do uogólnienia zakażenia, zaatakowania płodu lub ośrodkowego układu nerwowego.

### Źródła zakażenia i sposoby transmisji choroby

Fakt, że *L. monocytogenes* występuje powszechnie w środowisku, zanieczyszczając glebę, wodę, rośliny, kiszonki, oraz że ponad 40 gatunków zwierząt domowych i dzikich jest nosicielami tego zarazka i rozsiewa go wraz z kałem stwarza ogromną możliwość transmisji zarazka wieloma drogami wśród zwierząt, pomiędzy zwierzętami i człowiekiem, a także w populacji ludzkiej (17).

Głównym źródłem zakażenia dla zwierząt są gleba i kiszonki. W kisonkach i w glebie zarazek może przeżywać ponad 2 lata. Również ważnym źródłem zakażenia są zwierzęta chore oraz pomieszczenia inwentarskie zanieczyszczone kałem zwierząt siewców, którzy wydalają zarazki wraz z kałem, błonami i wodami płodowymi, mlekiem i moczem, oraz bezobjawowi nosiciele i siewcy zarazka. Zarazek izolowano też z kału i wydzieliny jamy nosowej zdrowych zwierząt. W pH wyższym niż 5 *L. monocytogenes* nie tylko utrzymuje się w kisonkach, ale może się nawet w nich rozmnażać. Wrotami zakażenia jest najczęściej przewód pokarmowy po spożyciu paszy, wody lub przez ściółkę zanieczyszczoną przez *L. monocytogenes*. Wrotami zakażenia może być jama nosowa, spojówki oraz drogi rodne. Wszystkie czynniki stresowe, które osłabiają odporność predysponują do zachorowania.

W populacji ludzkiej listerioza szerzy się za pośrednictwem pokarmu zanieczyszczonego przez *L. monocytogenes*, drogą powietrzno-pyłową poprzez pył skażony zarazkiem oraz przez bezpośredni kontakt człowieka z chorymi zwierzętami i ich wydzielinami, w trakcie porodu oraz

z zakażonymi ludźmi. Wrotami zakażenia jest dla człowieka przewód pokarmowy, uszkodzona skóra, błony śluzowe układu oddechowego oraz spojówki. Istnieje możliwość zakażenia płodu poprzez łożysko. Mleko i przetwory mleczne pochodzące od zwierząt chorych lub siewców zarazka (sery miękkie i pleśniowe), surowe mięso i jaryzyny, owoce morza, mrożonki, niekiedy próżniowo pakowane wędliny, uprzednio zanieczyszczone przez *L. monocytogenes*, stanowią najważniejsze źródło zakażenia (18). Wrota zakażenia stanowi także łożysko. Oprócz bytowania w organizmie zwierząt i glebie *Listeria* bytuje w wodach powierzchniowych, ściekach, gnijących szczątkach roślin, rozwija się na przedmiotach codziennego użytku (ścierki do naczyń, wanny, zlewozmywaki, chłodziarki). Zdolność do namnażania się w niskich temperaturach, łatwość uodporniania się listerii na podprogowe dawki stosowanych konserwantów i środków myjących, sprzyjają rozwojowi zarazka i powstawaniu trudnych do usunięcia powierzchniowych biofilmów (19). Nie zawsze udaje się ustalenie zależności pomiędzy chorobą zwierząt a zakażeniem człowieka przez *L. monocytogenes*. Zarazek izolowany jest bowiem często z przewodu pokarmowego zdrowych zwierząt i ludzi.

### Listerioza u zwierząt

W Polsce na listeriozę chorują najczęściej przeżuwacze (bydło, owce, kozy), głównie w okresie zimowo-wiosennym (grudzień–maj), co ma związek z żywieniem kisonkami zanieczyszczonymi przez *L. monocytogenes*. Nadmierne skarmianie kisonkami sprzyja namnożeniu się listerii w organizmie zwierzęcia. Choruje bydło w różnym wieku, obydwu płci, często młodzię. Częściej choruje bydło w wieku do 3 lat. Przebieg choroby jest łagodniejszy u bydła aniżeli u owiec, a odsetek wyzdrowień dochodzi do 50%. Okres inkubacji może wynosić nawet jeden dzień, a postaci mózgowej wynosi 2–3 tyg., przy czym choroba trwa u owiec i kóz przeważnie 1–4 dni, dłużej u bydła (17). Większość zakażeń ma charakter zakażeń subklinicznych lub latentnych, które przechodzą w jawną postać choroby pod wpływem stresu. Efektem zakażenia u wszystkich gatunków zwierząt domowych jest zapalenie łożyska, macicy, zakażenie i śmierć płodu, ronienia, przedwczesne porody, trwające do miesiąca siewstwo zarazka z wyciekami z dróg rodnych, śmierć noworodków, nosicielstwo przez noworodki, które przeżyły zakażenie. U zwierząt ronienie oraz posocznica noworodków jest wynikiem śródmacicznego zakażenia od ciężarnych matek, natomiast w posocznicy jagniąt w pierwszych tygodniach życia wrotami zakażenia jest głównie pępowina

zanieczyszczona przez zarazek obecny w pokarmie lub w środowisku. Zapalenie rogówek i spojówek obserwowane często zimą jest spowodowane przedostaniem się do worka spojówkowego zarazka obecnego w paszy, najczęściej w kisonce. Może też rozwinąć się zapalenie wymienia i wtedy zarazek może być obecny w mleku przez około miesiąc.

Listeriozie u bydła często nie towarzyszą objawy kliniczne lub jedynym objawem jest poronienie w 4–7 mies. ciąży. Tylko w przypadku powikłania poronienia, np. zatrzymania łożyska i posocznicy, krowy padają w ciągu 4–14 dni. Wśród postaci klinicznych wyróżnia się zapalenie mózgu, postać posocznicową rzadko obserwowaną u bydła, postać rozrodczą związaną z poronieniami oraz zakażenia latentne.

W postaci posocznicowej występują mało charakterystyczne objawy, takie jak: utrata łaknienia, osowiałość, gorączka, osłabienie. Może wystąpić zapalenie płuc lub zapalenie ucha środkowego. U płodów rozwija się posocznica, martwica wątroby i mięśnia sercowego. Postać posocznicową spotyka się też u cieląt jeszcze przed pełną aktywnością żwacza. Rozwija się ona z postaci jelitowej choroby. Zwierzęta padają w ciągu kilku dni.

Na postać nerwową chorują dorosłe owce, krowy, kozy rzadko świnię, wśród objawów zapalenia mózgu lub zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego (20). Z reguły występuje jednostronne porażenie nerwów twarzowych, osowienie, depresja, ruchy maneżowe, utrata łaknienia spowodowana utrudnieniem pobierania pokarmu. Porażeniu nerwu twarzowego towarzyszy opadanie wargi dolnej i małżowin usznych, przekrwienie spojówek i śluzowo-ropny wyciek z worka spojówkowego (21). Niekiedy zamiast tych objawów występują drgawki, chwiejność zadu i ruchy maneżowe. Czasami najważniejszym objawem jest porażenie gardła. Najczęściej padają zwierzęta z zaburzeniami nerwowymi.

Trzoda chlewna zakaża się przez przewód pokarmowy, górne drogi oddechowe lub przez spojówki oczu bądź ma miejsce samozakażenie. Występują bądź zakażenia bezobjawowe lub posocznica albo postać nerwowa. Niekiedy jedynym objawem choroby mogą być ronienia. W postaci posocznicowej, która występuje sporadycznie, stwierdza się mało charakterystyczne objawy, takie jak utrata łaknienia, osowiałość, gorączka, osłabienie. Może wystąpić zapalenie płuc lub zapalenie ucha środkowego. Postać nerwowa, na którą chorują z reguły zwierzęta starsze (stado podstawowe, tuczniki), charakteryzuje się skręceniem głowy na bok, ruchami maneżowymi, zaburzeniem koordynacji ruchów, porażeniem małżowin usznych i napadowymi skurczami spastycznymi. Świnie zazwyczaj padają po kilku dniach od wystąpienia objawów nerwowych. Ta postać kliniczna

choroby rozwija się często z postaci posocznicy lub na skutek przedostania się zarazka z jamy ustnej lub z worka spojówkowego do ośrodkowego układu nerwowego. Choroba ma szybki przebieg i upadki występują po 3–4 dniach trwania choroby.

Postać kliniczna listeriozy rzadko występuje u ptaków dorosłych, częściej obserwuje się ją u osobników młodych. Najczęściej diagnozowana jest posocznica, której towarzyszy osłabienie, biegunka, wychudzenie, rzadko zapalenie mózgu i opon mózgowych. U gąsiąt również często diagnozuje się zapalenie opon mózgowych i posocznica (22, 23). U królików zakażenie *L. monocytogenes* powoduje ronienia lub nagłe padnięcia w późnej ciąży. Mogą też występować nieswoiste objawy, takie jak utrata apetytu i związany z nią spadek masy ciała i depresja. U kotów rzadko rozwija się w listeriozie posocznica lub zapalenie mózgu, typowym objawem jest depresja, brak apetytu, bolesność brzucha, wymioty, biegunka, podczas gdy u psów rozwija się posocznica i występują objawy neurologiczne przypominające wściekliznę (24).

W listeriozie u bydła brak zmian sekcyjnych lub stwierdza się przekrwienie opon mózgowych, obrzęk mózgu oraz zmętnienie płynu mózgowo-rdzeniowego, czasem wybroczyny w moście i rdzeniu przedłużonym. Niekiedy duża ilość śluzu wypełnia gruczoły błony śluzowej małżowin nosowych, a w podśluzówce jest naciek monocytarny. Zmiany mikroskopowe w postaci rozsianych nacieków monocytów i neutrofilów dotyczą mostu, rdzenia przedłużonego i przedniego odcinka rdzenia kręgowego.

Postać posocznicy cechuje obecność drobnych ognisk martwiczych w narządach wewnętrznych, zwłaszcza w wątrobie, śledzionie i w mięśni sercowym, obrzęk płuc i śledziony, wybroczyny pod nasierdziem oraz zwiększona ilość płynu w jamach opłucnej i osierdziowej. U cieląt w wieku do 3 tyg. oprócz ognisk martwiczych w wątrobie występuje krwotoczne zapalenie żołądka i jelit.

Poronione płody w różnym stopniu ulegają autolizy, jamy ciała wypełnia jasny płyn lub zawierający domieszkę krwi; w wątrobie występują liczne drobne ogniska martwicy, zwłaszcza w prawych płacach. Ogniska martwicy mogą występować też w płucach i w śledzionie. W błonie śluzowej trawieńca występują płytkie nadżerki o średnicy 1–3 mm. Proces autolizy może maskować obecność tych zmian. Mogą występować zmiany zapalne w błonie śluzowej macicy i zapalenie łożyska.

### Listerioza u ludzi

W latach 80. XX w. jednoznacznie uznano listeriozę za antropozoonozę, gdy do zakażenia człowieka dochodzi przez przewód

pokarmowy za pośrednictwem żywności zanieczyszczonej przez listerie (18). Rzadziej zakażenie szerzy się przez kontakt bezpośredni z chorymi zwierzętami i ich wydzielinami, drogą inhalacyjną, przez uszkodzoną skórę i spojówkę. Istnieje możliwość zakażenia płodu poprzez łożysko (25). Grupę podwyższonego ryzyka stanowią producenci trzody chlewnej, bydła, owiec, drobiu i innych ptaków, personel służby weterynaryjnej wykonujący usługi lecznicze, pracownicy weterynaryjnych laboratoriów diagnostycznych, naukowych instytucji weterynaryjnych i medycznych, pracownicy przemysłu mięsnego (rzeźnicy i masarze), jajczarskiego, sprzedawcy mięsa i osoby mające styczność z kanalizacją i ściekami. Do tej grupy zalicza się też ciężarne kobiety, noworodki i ludzi z niedoborem immunologicznym.

Zachorowanie zależy od zjadliwości zarazka, wielkości dawki zakaźnej, drogi zakażenia i przede wszystkim od czynników predysponujących, do których należą: ciąża, wiek, wadliwe żywienie, pierwotne choroby zakaźne i pasożytnicze oraz immunosupresja. Dlatego też częściej chorują ciężarne kobiety, rozwijające się w macicy płody i noworodki, osoby starsze oraz osoby z chorobą nowotworową, AIDS, immunosupresją farmakologiczną oraz pacjenci z wyniszczającymi chorobami. Godny uwagi jest fakt, że 5–10% ludzi jest bezobjawowymi nosicielami listerii w przewodzie pokarmowym lub w pochwie.

Listerioza u człowieka charakteryzuje się zmianami chorobowymi o różnym umiejscowieniu. Występują cztery postaci kliniczne choroby:

- 1) płodowa,
- 2) posocznica noworodków,
- 3) zakażenie ośrodkowego układu nerwowego charakteryzujące się zapaleniem mózgu, zapaleniem mózgu i opon mózgowych,
- 4) postać żołądkowo-jelitowa.

U człowieka do najgroźniejszych należy zakażenie ośrodkowego układu nerwowego, posocznica, a u ciężarnych kobiet poronienie. Poronienie oraz posocznica noworodków jest wynikiem śródmacicznego zakażenia od ciężarnych matek (25, 26). Listerie mają predylekcję do ośrodkowego układu nerwowego, zwłaszcza do pnia mózgu i opon mózgowych. Dlatego też najczęściej rozwija się zapalenie opon mózgowych lub posocznica, w przebiegu której może być zaatakowany ośrodkowy układ nerwowy. Rzadziej występuje porażenie nerwów czaszkowych i ropnie mózgu. Często zmianom w ośrodkowym układzie nerwowym towarzyszą zaburzenia psychiczne, a u około 25% pacjentów ataki padaczkowe. Może też wystąpić zapalenie oka, wsierdza i skóry. Listerie mogą namnażać się w pochwie i macicy kobiet, przy braku objawów chorobowych (19). Objawy pojawiają się dopiero w trzecim trymestrze ciąży pod postacią

gorączki, bólów mięśni, stawów i głowy. Zakażona matka może zakażać płód w macicy lub w trakcie porodu. Zakażenie płodu przed trzecim trymestrem ciąży z reguły kończy się poronieniem, zaś następstwem zakażenia płodu w późniejszym okresie ciąży jest urodzenie noworodka, który choruje w wieku 1–4 tygodni. Noworodki zakażone w trakcie porodu chorują (25).

Listerioza noworodków przebiega albo w postaci posocznicy, co jest następstwem zakażenia płodu w macicy, albo jako zapalenie opon mózgowych, gdy do zakażenia dochodzi w drogach rodnych podczas porodu. Listerie izoluje się z łożyska oraz krwi, smółki, nosa, uszu i gardła płodów. Znane są przypadki zakażenia płodów podczas porodu odbytego na drodze cesarskiego cięcia. Śmiertelne zachorowania u ludzi występują rzadko i z reguły dotyczą pacjentów z immunosupresją. Ostatnio jednak, oprócz zachorowań sporadycznych, występują w wielu krajach epidemie listeriozy, mimo że metody wykrywania *L. monocytogenes* w żywności są coraz skuteczniejsze.

Ze względu na fakt, że listerioza może przebiegać pod różnymi postaciami klinicznymi, podejrzenie choroby musi być potwierdzone badaniem serologicznym i stwierdzeniem obecności zarazka. W badaniach serologicznych wykorzystuje się odczyn immunofluorescencji z płynem mózgowo-rdzeniowym, odczyn wiązania dopełniacza z surowicą krwi. Do izolacji zarazka lub wykazania jego obecności w preparatach barwionych wykorzystuje się płyn mózgowo-rdzeniowy i patologicznie zmienione tkanki. Metody stosowane do izolacji i identyfikacji zarazka od zwierząt mają zastosowanie w diagnostyce listeriozy człowieka (27).

Prewencja odgrywa decydujące znaczenie w listeriozie. Pomimo niewielkiej inwazyjności zarazka wywołującego listeriozę, należy zachować szczególną ostrożność w kontakcie z materiałem, który może być zanieczyszczony tym drobnoustrojem. Dotyczy to poronionych płodów i łożyska, sekcjonowania zwłok zwierząt z objawami posocznicy. Szczególną ostrożność powinny zachować ciężarne kobiety ze względu na możliwość zakażenia płodu i poronienia. Ponieważ *L. monocytogenes* jest wydalana przez wiele miesięcy okresowo z mlekiem krów z zapaleniem wymienia, przez krowy roniące oraz nosiciele bezobjawowych, mleko i produkty mleczne stanowią zagrożenie dla zdrowia człowieka (1, 2, 4, 18). Ważne znaczenie w przecięciu dróg szerzenia się choroby odgrywa higiena żywienia, izolacja zwierząt roniących i niszczenie płodów, dezynfekcja pomieszczeń, gdzie przebywały chore zwierzęta i przestrzeganie zasad higieny osobistej. W ochronie człowieka przed listeriozą zasadnicze znaczenie ma przestrzeganie zasad higieny osobistej oraz higiena produktów pochodzenia zwierzęcego (19, 37).

*Listeria monocytogenes* jest bardzo wrażliwa na penicyliny. Ampicylina jest lekiem z wyboru. Stosowany jest też trimetoprim z sulfametoksazolem (Baktrim). Efekty leczenia zależą od szybkiego podania leków. Celem uzyskania stężenia leczniczego w mózgu leki stosuje się w dużych dawkach. Przy zaawansowanych zmianach w mózgu leczenie ludzi, podobnie jak zwierząt, nie daje efektu.

## Rozpoznanie

Na podejrzenie listeriozy u bydła wskazuje sezonowość zachorowań, występowanie zależności pomiędzy skarmianiem zwierząt kiszonkami a zachorowaniami, obecność objawów neurologicznych i ronień oraz zmian anatomopatologicznych. Jednakże o ostatecznym rozpoznaniu choroby decyduje wyizolowanie *L. monocytogenes* z mózgu zwierząt, wątroby i śledziony padłych nieleczonych zwierząt oraz z łożyska. Nie w każdym przypadku izoluje się zarazek z kału, moczu, mleka i wycieku z dróg rodnych chorych zwierząt. W celu zwiększenia prawdopodobieństwa izolacji *L. monocytogenes* wskazana jest przed posiewem na podłoża bakteriologiczne homogenizacja tkanki mózgowej i jej przetrzymanie w 4°C przez kilka tygodni i dokonywanie posiewów w odstępach tygodniowych.

Do identyfikacji listerii w pożywieniu, próbkach pobranych od zwierząt i ludzi wykorzystuje się zarówno konwencjonalne (stanowiące złoty standard), jak i najnowocześniejsze metody diagnostyczne, takie jak: typowanie fagami, metody immunoenzymatyczne, testy oparte na analizie restrykcyjnej DNA oraz amplifikacji polimorficznego DNA. Metoda immunohistochemiczna jest stosowana do wykrywania antygenów *L. monocytogenes* u zwierząt z postacią nerwową choroby (28). Szczegółowy opis metod izolacji i identyfikacji zarazków oraz ich krytyczną ocenę zawiera podręcznik Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (4). Technika PCR jest coraz częściej stosowana w diagnozowaniu choroby. Metoda immunofluorescencji umożliwia szybką identyfikację *L. monocytogenes* w rozmazach sporządzonych z tkanek zwierząt padłych, poronionych płodów i mleka. Bardzo czuła jest metoda immunohistochemiczna wykorzystywana do wykrywania antygenów *L. monocytogenes* w utrwalonych formaliną preparatach z układu nerwowego (29).

Do wykrywania przeciwciał dla listeriolizyny O wykorzystuje się test pośredni ELISA. Jednakże ze względu na antygenowe pokrewieństwo listeriolizyny O ze streptolizyną *Streptococcus pyogenes*, pneumolizyną *S. pneumoniae*, perfringolizyną *Clostridium perfringens*, swoistość testu jest niezbyt duża (30). Wiele testów immunologicznych wykorzystuje się

do wykrywania listerii w produktach spożywczych (31, 32). W obrębie Unii Europejskiej jest zalecane badanie produktów spożywczych w kierunku zanieczyszczenia drobnoustrojami z rodzaju *Listeria* (33).

W rozpoznaniu różnicowym u bydła należy uwzględnić ketozę, wściekliznę, gąbczastą encefalopatię bydła (BSE), porażenie nerwów twarzowych, zatorowo-zakrzepowe zapalenie mózgu oraz zatrucie ołowiem (34).

## Postępowanie w listeriozie u zwierząt

Profilaktyka polega na ograniczeniu stresów, prawidłowym żywieniu, stosowaniu dobrej jakości kiszzonek, niszczeniu gryzoni, które są źródłem zakażenia i siewami *L. monocytogenes*, przestrzeganiu higieny wybiegów, wodopojów i obór. Ważne znaczenie w przecięciu dróg szerzenia się choroby odgrywa izolacja zwierząt roniących i dekontaminacja płodów oraz dezynfekcja pomieszczeń, gdzie przebywały chore zwierzęta (35, 36).

Przed przystąpieniem do leczenia bydła należy wstrzymać karmienie podejrzaną karmą (kiszonki). Leczenie antybiotykami wcześniej podjęte, gdy objawy kliniczne nie są silnie rozwinięte, daje efekty. Antybiotykami z wyboru jest penicylina stosowana przez 7–14 dni w dużych dawkach w celu uzyskania minimalnego poziomu bakteriobójczego w mózgu. Przydatne okazały się również ceftiofur, erytromycyna, trimetoprim w kombinacji z sulfonamidami. Przy silnie zaznaczonych objawach neurologicznych leczenie nie przynosi efektów (34).

## Piśmiennictwo

- Rocourt J., Bille J.: Foodborne listeriosis. *World Health Stat. Quart.* 1997, **50**, 67-73.
- Gliński Z., Luft-Deptula D., Kostro K.: Biologia i patogenność *Listeria monocytogenes* dla zwierząt i człowieka. *Medycyna Wet.* 2003, **59**, 1059-1063.
- Fenlon D.R.: Wild birds and silage as reservoirs of *Listeria* in the agricultural environment. *J. Appl. Bacteriol.* 1985, **59**, 537-543.
- OIE: *Listeria monocytogenes*. *Terrestrial Manual*. OIE, Paris. 1238-1254, 2008.
- Husu J.R.: Epidemiological studies on the occurrence of *Listeria monocytogenes* in the feces of dairy cattle. *J. Vet. Med.* 1990, **37**, 276-282.
- Ustawa z dnia 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt (DzU z dnia 20 kwietnia 2004 r.)
- Ustawa z dnia 5 grudnia 2008r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń chorób zakaźnych u ludzi (DzU z 2008r., nr 234, poz. 1570, załącznik 1).
- Osińska O. A., Jagielski T., Bielecki J.: Molekularne determinanty wirulencji *Listeria monocytogenes* – patogenez, czynniki wirulencji: białka powierzchniowe uczestniczące w adhezji do komórek gospodarza. *Post. Mikrobiol.* 2006, **45**, 209-220.
- Cabanem D., Sousa S., Ceberia A., Lecuit M., Garcia del Portillo F., Cossart P.: Gp96 is a receptor for a novel *Listeria monocytogenes* virulence factor, Vip, a surface protein. *EMBO J.* 2005, **24**, 2827-2838.
- Dussurget O., Cabanes D., Dehoux P., Lecuit M., Buchrieser C., Glaser P., Cossart P.: *Listeria monocytogenes* bile salt hydrolase is a PrfA-regulated virulence factor involved in the intestinal and hepatic phases of listeriosis. *Mol. Microbiol.*, **45**, 1095-1106.

- Cossart P.: The listeriolysin O gene: a chromosomal locus crucial for the virulence of *Listeria monocytogenes*. *Infection* 1988, **16**, suppl 2, 157-199.
- Cossart P., Vicente M.F., Mengaud J., Baquero F., Perez-Diaz J.C., Berche P.: Listeriolysin O is essential for virulence of *Listeria monocytogenes*: direct evidence obtained by gene complementation. *Infect. Immun.* 1989, **57**, 3629-3636.
- Liu D.: Identification, subtyping and virulence determination of *Listeria monocytogenes*, an important foodborne pathogen. *J. Med. Microbiol.* 2006, **55**, 645-659.
- Hamon M.A., Batsché E., Régnault B., Tham T.N., Seveau S., Muchardt C., Cossart P.: Histone modifications induced by a family of bacterial toxins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2007, **104**, 13467-13472.
- Gaillard J. L., Berche P., Frehel C., Gouin E., Cossart P.: Entry of *Listeria monocytogenes* into cells is mediated by internaline, a repeat protein reminiscent of surface antigen from Gram-positive cocci. *Cell* 1991, **65**, 1127-1141.
- Bruno L. M., Portnoy D. A., Unanue E. R.: Presentation of *Listeria monocytogenes* to CD8+ T cells requires secretion of hemolysin and intracellular bacterial growth. *J. Immunol.* 1990, **145**, 3540-3546.
- Roberts A.J., Wiedemann M.: Pathogen, host and environmental factors contributing to the pathogenesis of listeriosis. *Cell. Mol. Life Sci.* 2003, **60**, 904-918.
- Jensen N.E., Aarestrup F.M., Jensen J., Wegener H.C.: *Listeria monocytogenes* in bovine mastitis. Possible implication for human health. *Int. J. Food Microbiol.* 1996, **32**, 209-216.
- Schuchat A., Swaminathan B., Broome C.V.: Epidemiology of human listeriosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 1991, **4**, 169-193.
- Wood J.S.: Encephalitic listeriosis in herd of goats. *Can. Vet. J.* 1972, **13**, 80-82.
- Walker J.K., Morgan J.H.: Ovine ophthalmitis associated with *Listeria monocytogenes*. *Vet. Rec.* 1993, **132**, 636-632.
- Rose J.A., Domingo M., Domonguez L., Ferrer L., Marco A.: Immunohistologic diagnosis of avian listeriosis. *Avian Pathol.* 1988, **17**, 227-233.
- Kurazone N., Nakamura K., Homada M., Yonemaru T., Sakoda T.: Pathology of listeria encephalitis in chickens in Japan. *Avian Dis.* 2003, **47**, 1496-1502.
- Crum N.F.: Update on *Listeria monocytogenes* infection. *Curr. Gastroenterol. Rep.* 2002, **4**, 287-296.
- Berche P.: Physiologie et diagnostic biologique des infections materno-infantiles a *Listeria monocytogenes*. *Medicine Therap/Pediatric* 1999, **2**, 33-39.
- Ross D.S., Jones J.L., Lynch M.F.: Toxoplasmosis, cytomegalovirus, listeriosis and preconception care. *Matern Child Health J.* 2006, **10**, 189-193.
- Gliński Z., Kostro K., Buczek J.: *Zoonozy*. PWRiL, Warszawa 2008.
- Loeb E.: Encephalitic listeriosis in ruminants: immunohistochemistry as a diagnostic tool. *J. Vet. Med.* 2004, **51**, 453-455.
- Pampero C.M., Odeon A.C., Cipolla A.L., Moore D.P., Poso M.A., Odrizola E.: Demonstration of *Listeria monocytogenes* by immunohistochemistry in formalin-fixed brain tissues from natural cases of ovine and bovine encephalitis. *J. Vet. Med.* 2002, **49**, 379-383.
- Low J.C., Davies R.C., Donachie W.: Purification of listeriolysin O and development of an immunoassay for diagnosis of listeric infection in sheep. *J. Clin. Microbiol.* 1992, **30**, 2505-2708.
- Dunbar S.A., Vander Zee C.A., Oliver K.G., Kerm K.L., Jacobson J.W.: Quantitative multiplexed detection of bacteria pathogen: DNA and protein applications of the Lumindex LabMAP system. *J. Microbiol. Methods* 2003, **53**, 245-252.
- Rossmann P., Krassing M., Wagner M., Hein I.: Detection of *Listeria monocytogenes* in food using a combined enrichment/real-time PCR method targeting the prfA gene. *Res. Microbiol.* 2006, **157**, 763-771.
- The European Regulation EC 2073/2005 „Microbiological Criteria for Foodstuffs” states that all „Ready-to-eat” (RTE) foods must be tested for *Listeria*.
- Gliński Z., Kostro K. (red.): *Ochrona zdrowia i zwalczanie chorób zakaźnych zwierząt*. PWRiL, Warszawa 2011.
- Low J. C., Donachie W.: A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. *Vet. J.* 1997, **153**, 9-29.
- Rocourt J.: *Listeria monocytogenes*: the state of the science. *Dairy Food Environ. Sanitat.* 1994, **14**, 70-82.
- Schlech W.F.: Foodborne listeriosis. *Clin Infect Dis*, 2000, **31**, 770-775.

Prof. zw. dr hab. mgr Z. Gliński, Katedra Epizootiologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin