

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Bakterie rodu *Listeria*

LENKA KRÁLÍKOVÁ

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. MARCELA VEJSOVÁ, Ph.D.

HRADEC KRÁLOVÉ, 2018/2019

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové, 7. května 2019

.....

Lenka Králíková

Poděkování

Děkuji všem, kteří mi při tvorbě a zpracování této bakalářské práce byli nápomocni. Především děkuji své školitelce Mgr. Marcele Vejsové, Ph.D. za její odborné vedení, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnovala.

1. OBSAH

1.	Obsah	4
2.	Abstrakt	6
3.	Abstract	7
4.	Úvod	8
5.	Zadání a cíl práce	9
6.	Historie	10
7.	Obecná charakteristika rodu	10
7.1	<i>Morfologie</i>	11
7.2	<i>Kultivace</i>	12
7.3	<i>Antigenní struktura</i>	12
7.4	<i>Biochemické vlastnosti</i>	13
8.	Listeria monocytogenes	14
8.1	<i>Epidemiologie</i>	14
8.1.1	Výskyt nemoci v ČR	16
8.2	<i>Výskyt v potravinách</i>	18
8.2.1	Listérie v mléčných produktech	19
8.2.2	Výskyt listérie v masitých produktech	20
8.2.3	Výskyt listérie v rybách a mořských plodech	21
8.2.4	Výskyt listérie v produktech rostlinného původu	22
8.3	<i>Virulence a patogenita</i>	23
8.4	<i>Patogeneze</i>	25
8.5	<i>Klinické projevy onemocnění</i>	27
8.5.1	Infekce v těhotenství.....	27
8.5.2	Infekce novorozenců	28
8.5.3	Infekce dospělých – meningitida a poškození CNS	29
8.5.4	Infekce dospělých – onemocnění gastrointestinálního traktu.....	30
8.5.5	Infekce dospělých – bakteriémie	31
8.6	<i>Terapie</i>	31

8.7	<i>Prevence</i>	31
9.	Diagnostika	32
9.1	<i>Mikroskopie</i>	34
9.2	<i>Kultivace</i>	34
9.3	<i>Biochemické testy</i>	37
9.3.1	CAMP test	37
9.3.2	Katalázový test	37
9.3.3	Fermentace cukrů	37
9.3.4	API® <i>Listeria</i> test	37
9.4	<i>Sérologické testy</i>	38
9.4.1	Immuno-capture	38
9.5	<i>Molekulární metody</i>	39
9.5.1	PCR	39
9.6	<i>Druhov</i> á identifikace mikroorganismů hmotnostní spektrometrií MALDI – TOF	40
10.	Diskuze	41
11.	Závěr	44
12.	Seznam zkratk	45
13.	Seznam obrázků	48
14.	Seznam grafů	48
15.	Seznam tabulek	48
16.	Použitá literatura	49
16.1	<i>Tištěné zdroje</i>	49
16.2	<i>Elektronické zdroje</i>	51
16.3	<i>Zdroje obrázků</i>	57

2. ABSTRAKT

Autor: Lenka Králíková

Název práce: Bakterie rodu *Listeria*

Bakalářská práce

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Studijní obor: Zdravotní laborant

Cíl práce: Bakalářská práce si klade za cíl popsat rod *Listeria*, dělení rodu, morfologii a laboratorní diagnostiku. Větší pozornost je věnována druhu *Listeria monocytogenes*, jelikož je u lidí hlavním zdrojem nákazy. Dalším cílem je popsat výskyt *L. monocytogenes* v potravinách, její antigenní strukturu, patogenezi a onemocnění, které způsobuje.

Hlavní poznatky: *Listeria monocytogenes* je všude přítomná bakterie. Byla nalezena v čerstvé vodě, hlíně, v rostlinném materiálu i v odpadní vodě. Hlavním zdrojem nákazy pro člověka je kontaminovaná potrava. Nejčastěji se jedná o nepasterizované mléko, zrající sýry či špatně tepelně opracované maso či zeleninu. Bakterie způsobuje onemocnění zvané listerióza, které je nebezpečné především pro novorozence, starší lidi, těhotné ženy a jedince s oslabenou imunitou. Onemocnění se vyskytuje spíše sporadicky, mezi lety 2008–2017 se v České republice za rok vyskytlo průměrně 30 až 37 případů nákazy. V Africe došlo v roce 2017-2018 k epidemii, jedná se o největší zaznamenanou epidemii způsobenou listérií. V případě nákazy je povinností laboratoře i lékaře nahlásit pozitivitu nálezu a provádí se další vyšetření a hledá se zdroj nákazy, aby se zamezilo případně další nákaze a epidemii.

Závěry: Účinnou prevencí proti nákaze bakterií je správná tepelná úprava potravin a vyvarování se případným potravinám, u kterých je potvrzený zvýšený výskyt listérie. V současné době není problém v čas potvrdit výskyt bakterie a nasadit vhodnou léčbu nebo stáhnout produkt z pultů prodejen. Terapie spočívá v podání penicilinových antibiotik, ampicilinu v kombinaci s gentamicinem. V případě alergie na penicilinová antibiotika se podává trimethoprim-sulfamethoxazol.

Klíčová slova: *Listeria monocytogenes*, listerióza, alimentární onemocnění, listérie

3. ABSTRACT

Author: Lenka Králíková

Title: *Listeria* spp.

Bachelor thesis

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy, Hradec Králové

Field of study: Medical Laboratory

Background: The bachelor thesis aims to describe *Listeria* spp. Describe the division of genus, morphology and laboratory diagnostics. More attention is paid to *Listeria monocytogenes* as it is a major source of infection in humans. Another aim is to describe the occurrence of *L. monocytogenes* in food, its antigenic structure, pathogenesis and the disease it causes.

Main findings: *Listeria monocytogenes* is a bacterium present everywhere. It was found in fresh water, clay, plant material and waste water. The main source of infection for humans is contaminated food. They are most often found in unpasteurized milk, matured cheeses or poorly cooked meat or vegetables. Bacteria causes a disease called listeriosis, which is especially dangerous for newborns, elderly people, pregnant women and immunocompromised individuals. The disease occurs rather sporadically. There was confirmed from 30 to 37 cases per year in the Czech Republic between years 2008–2017. There was also an epidemic in Africa in 2017-2018, it was the largest epidemic in the world. In the event of infection, both the laboratory and the physician are obliged to report the positivity of the finding and carry out further examinations to find the source of the infection in order to prevent any further infection and epidemic.

Conclusion: Effective prevention of bacterial infection is the correct cooking of food and avoid any food that has an increased incidence of bladder disease. Currently, there is no problem in time to confirm the presence of bacteria and to deploy appropriate treatment or to withdraw the product from the store counters. The therapy consists of administering penicillin antibiotics, ampicillin in combination with gentamicin. In case of penicillin antibiotic allergy, trimethoprim-sulfamethoxazole is administered.

Key words: *Listeria monocytogenes*, listeriosis, alimentary disease, listeria

4. ÚVOD

Bakterie rodu *Listeria* jsou gram pozitivní, nesporulující tyčky z čeledi *Listeriaceae*. Pouze dva druhy listerií jsou pro člověka patogenní, jsou jimi *Listeria monocytogenes* a *Listeria ivanovii*. Ostatní druhy se u člověka mohou vyskytovat, ale nezpůsobují onemocnění zvané listerióza. Listeriόza je alimentární onemocnění, které se projevuje primárně u některých skupin lidí – těhotné ženy, novorozenci, lidé s imunodeficitem, starší populace. Hlavním zdrojem nákazy je kontaminovaná potrava. Výskyt nemoci bývá většinou sporadický, ale v minulosti došlo k několika epidemiím.

Bakterie může zpříčinit potraty, gastroenteritidy, sepse, meningitidu až smrt. Důležitou roli hraje dodržení pravidel prevence v podobě správné úpravy potravin a jejich zpracování. Terapie spočívá v podání penicilinových antibiotik.

5. ZADÁNÍ A CÍL PRÁCE

Cílem této bakalářské práce je přehledně zpracovat publikované informace o rodu *Listeria* se zaměřením na druh *Listeria monocytogenes*. Charakterizovat druh z pohledu morfologie, biochemických vlastností, patogeneze a onemocnění, která způsobuje. Dále se zaměřit na její výskyt v potravinách a epidemiologii.

6. HISTORIE

Poprvé byla bakterie popsána v roce 1924 biology Murrayem, Swannem a Webbem v Anglickém Cambridge. Zmínění vědci pozorovali u nakažených králíků a morčat septické onemocnění, které bylo doprovázeno významným zvýšením monocytů nad fyziologické hodnoty v periferní krvi. Podle výrazné monocytózy došlo k pojmenování na *Bacterium monocytogenes*. V roce 1927 Pirie izoloval obdobného mikroba z nemocných písečných krych v jižní Africe. Ten jej pojmenoval podle lorda Listera, jenž se zapříčinil za zavedení pravidla asepse a antisepte do chirurgie, *Listerella hepatolytica*. Teprve až o třináct let později bylo potvrzeno, že se jedná o stejnou bakterii a názvy byly spojeny do jednoho dodnes používaného označení *Listeria monocytogenes* (Bednář, 1996; Hof, 2003, Votava, 2003).

První bakteriologicky ověřené případy způsobené touto bakterií popsal v roce 1929 Nyfeldt u pacientů s angínou, uzlinovým syndromem a mononukleózou. Listerii izoloval z krve hemokulturou. Mikrob byl přítomen i v likvoru u pacientů s meningeálními příznaky. V tehdejší Československu byla obdobná onemocnění a příznaky poprvé popsány Málkem a Šonkovou v roce 1944 (Bednář, 1996; Hof, 2003).

Významnou roli tato bakterie jako patogen hrála na konci 40. a začátku 50. let minulého století, kdy způsobila epidemii listeriózy u novorozenců v Německu (1951) i Československu (1953). V roce 1953 byla adnatní listerióza příčinou úmrtí u 2,8 % živě narozených dětí. Tímto začala významná éra zkoumání vlastností listerie jakožto nebezpečného patogenu (Bednář, 1996; Hof, 2003).

7. OBECNÁ CHARAKTERISTIKA RODU

Rod *Listeria* má blízko k laktobacilům a korynebakteriím ovšem některé společné znaky sdílí s aktinomycety. Dělí se na dvě základní skupiny, kam se řadí sedmnáct druhů bakterie. První skupina je *Listeria sensu stricto*, kam patří *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. marthii*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri* a *L. innocua*. Z těchto druhů jsou jediné dva patogenní a to *L. monocytogenes* a *L. ivanovii*. Druhá skupina *Listeria sensu lato* obsahuje zbylých jedenáct druhů jako například *L. grayi*, *L. rocourtiae* nebo *L. aquatica* (Julák, 2006; Orsi a Wiedmann, 2016).

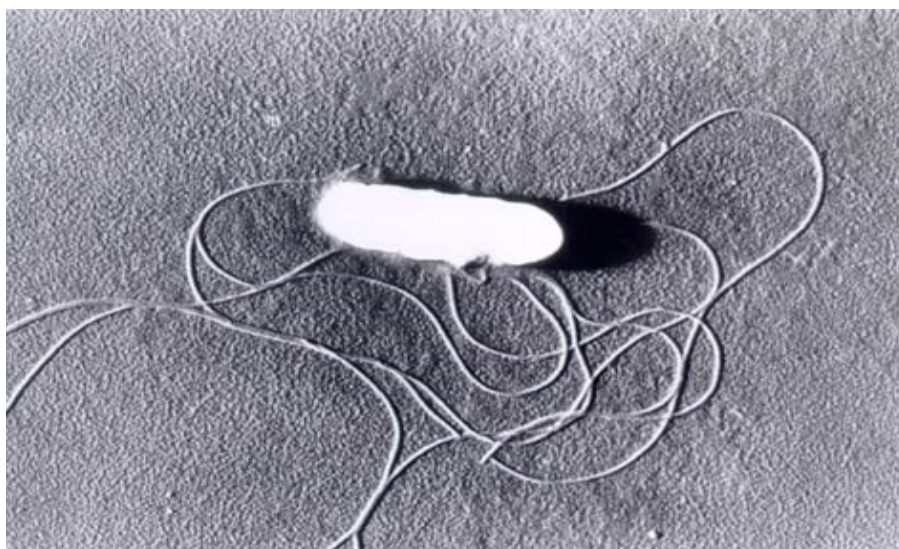
Jednotlivé typy byly izolovány napříč světem, jak v Evropě, tak v Americe či Asii. Stejně tak byly nalezeny jak u zvířat, na rostlinách nebo i v potravinách, jedná se o ubikviterní

organismus. Kupříkladu *Listeria recourtia* byla izolována z předpřipraveného salátu v Salzburgu v roce 2002. *L. fleischmannii* izolovali ve Švýcarsku a Itálii ze sýrů a z ranče v Coloradu v USA. *L. marthii* byla získána z říční vody, půdy, kaluží a dalších prostředí. Pro člověka má největší patologický význam *Listeria monocytogenes*, kdežto druhá patogenní listérie, *Listeria ivanovii*, je nebezpečná hlavně pro ovce (Orsi a Wiedmann, 2016; Procop, 2017).

7.1 Morfologie

Listérie jsou krátké gram pozitivní tyčky se zaoblenými konci, které jsou silné 0,40 – 0,70 μm a dlouhé 0,50 – 2,00 μm . Při pozorování mikroskopem jsou patrné jako samostatné volné bakterie, někdy se ovšem navzájem propojují do řetízků nebo vytvářejí shluky. Obdobně jako bakterie rodu *Corynebacterium* mají sklony vytvářet palisády. V infekčním vzorku je pozorujeme jako gramlabilní až gramnegativní kokobacily. Chybí jim schopnost tvořit ochranné pouzdro ani nejsou schopny tvorby spór.

Mají vysokou odolnost vůči kyselinám, což napomáhá jejich rezistenci vůči vlivům vnějšího prostředí. Řadí se mezi anaerobní či fakultativně anaerobní organismy. Roli v diagnostice těchto mikroorganismů hraje jejich typický čilý pohyb s přemety a rotací, který připomíná kotrmelce, umožněný přítomností jednoho až čtyř bičíků. Pohyblivost je ovšem omezena teplotou, čím vyšší teplota tím je pohyblivost nižší. Při teplotě 37 °C je pohyblivost bakterie nulová, kdežto u teplot pokojových okolo 20 až 25 °C se bakterie aktivně pohybuje (Bednář, 1996; Greenwood, 1999; Rocourt, 1999; Votava, 2003).



Obrázek 1 Bakterie *Listeria monocytogenes* (převzato z Bureau of Social Welfare and Public Health)

7.2 *Kultivace*

Při kultivaci bakterií rodu *Listeria* není potřeba dodržovat přísné podmínky. Rostou dobře ve velkém teplotním rozmezí od 4° až do 39 °C v modro-šedivých průsvitných koloniích velkých od 0,2 do 0,8 mm s hladkým okrajem. Po 5-10 dnech může kolonie narůst až do velikosti 5 mm v průměru. Bakterie roste na běžných kultivačních mediích jako je krevní agar. Rychlost růstu může být zvýšena použitím glukózy. Krom velkého rozmezí teplot jsou schopny přežít i v extrémních podmínkách s nízkým pH, vysokým obsahem soli 10 % NaCl a žlučových kyselin. Tyto vlastnosti napomáhají listeriím k dlouhodobému přežití bakterie mimo hostitelský organismus (Bednář, 1996; Greenwood, 1999; Rocourt, 1999; Votava, 2003; Julák, 2006; Votava 2010).

7.3 *Antigenní struktura*

Přestože se jedná o gram pozitivní bakterie, rozlišujeme stejně jako u enterobakterií dva typy antigenů, tělové O-antigeny a bičíkové H-antigeny. U tělových O-antigenů rozlišujeme patnáct podtypů, značenými I-XV, a u bičíkových H-antigenů rozlišujeme podtypy čtyři, které označujeme písmeny A-D. Jednotlivé druhy *Listeria spp.* jsou definovány specifickou kombinací obou antigenů. U *L. monocytogenes* rozpoznáváme sérotypy 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e a 7. Vyšetřením antigenů bylo prokázáno metodou aglutinace minimálně třináct různých sérotypů *Listeria monocytogenes*. U *L. seeligeri* jen jeden sérotyp a to 5. Na rozdíl od toho u *L. ivanovii* nacházíme hned několik sérotypů například 1/2b, 6a nebo 6b (Bednář, 1996; Graves, 1999; Votava 2003; Wagner, 2008; Votava, 2010).

Listeria monocytogenes může být pomocí různých genetických technik rozdělena do tří linií. První linie se skládá ze sérotypů 1/2b, 3b, 4b, 4d, a 4e, druhá linie obsahuje sérotypy 1/2a, 1/2c, 3a a 3c. Poslední třetí linie se skládá ze sérotypu 4a a 4c. Podle nejnovějších dostupných dat lze třetí skupinu dále dělit do tří podskupin. Podskupina IIIA se skládá z typických rhamnóza-pozitivních avirulentních sérotypů 4a a virulentních sérotypů 4c. Druhá podskupina IIIB obsahuje atypické rhamnóza-negativní virulentní non-4a a non-4c kmeny, z nichž některé mohou být příbuzné nebo podobné sérotypu 7. Poslední podskupina IIIC se skládá z atypických rhamnóza-negativních virulentních sérotypů 4c (Wagner, 2008).

Nejčastějšími sérotypy, které se nacházejí u nemocných s listeriózou, jsou sérotypy 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3 a 4b. Listerióza ovšem může být vyvolána kterýmkoliv ze třinácti sérotypů *Listeria monocytogenes*. Některé ze sérotypů se vyskytují častěji v souvislosti s určitým

zdravotním stavem. Příkladem je sérotyp 4b, který je nejčastěji nalezen u těhotných pacientek s listeriózou. Tento sérotyp také snadno překoná kyselé prostředí žaludku a lépe se pomnožuje v potravinách oproti jiným sérotypům (Wagner, 2008; Brychta, 2018).

7.4 Biochemické vlastnosti

Listérie jsou kataláza pozitivní bakterie, na rozdíl od strukturně podobných streptokoků a enterokoků. Umí aktivně štěpit cukr, čehož se využívá v diagnostice jednotlivých druhů. Základním živným médiem při kultivaci je glukóza. Při růstu kolonií v aerobních podmínkách dohází k tvorbě laktátu, acetátu a acetoinu. Při anaerobních se acetoin netvoří. K oddělení jednotlivých druhů od sebe se využívá fermentace D-xylózy, L-rhamózy, alfa-metyl-D-manosidu a manitolu s testem redukce nitrátů. V diagnostice dále využíváme schopnosti hydrolyzovat eskulin, který je podkladem hnědého zbarvení kolem kolonií na žluč-eskulinové půdě (Bednář, 1996; Greenwood, 1999; Votava 2003; Greenwood, 2007; Votava, 2010).

8. LISTERIA MONOCYTOGENES

8.1 Epidemiologie

Ačkoliv existuje několik druhů bakterie rodu *Listeria*, jediný známý pro člověka patogenní druh je *Listeria monocytogenes*. Cestu přenosu je občas kvůli všudypřítomnosti patogenu obtížné stanovit. Tělo je napadeno nejčastěji zaživacím traktem po konzumaci kontaminované potravy, zejména se jedná o nepasterované mléčné výrobky, uzené ryby, maso, lahůdkářské a vařené masné výrobky, případně mohou kontaminovat zeleninu. Přestože nejčastěji dochází k nákaze potravou, může k ní dojít i jinými způsoby. Klasickým příkladem je cesta přenosu epitelem z nakažených zvířat u veterinářů nebo ošetřovatelů domácích zvířat, skotu a ovcí. Tento způsob přenosu infekce ovšem není příliš častý. Krom zmíněných cest je možná také cesta prachem nebo hmyzem, k tomu ovšem dochází velmi výjimečně (Bednář, 1996; Greenwood, 1999; Julák, 2006).

Jedním z doložených zdrojů epidemie v Severní Americe byl salát ze syrového zelí, mléko a mexický sýr. Koncem roku 2011 proběhla v USA epidemie z důvodů pozření infikovaného melounu, nakaženo bylo 146 osob. I přesto, že se neustále objevují občasné epidemie, došlo ke značnému snížení výskytu nemoci, hlavně díky zvýšeným nárokům na kontrolu kvality u potravin. Patrná je změna v již už zmiňované Severní Americe, kde došlo od poloviny 80. let minulého století do roku 1993 k snížení nemocných touto chorobou z 7,4 případů na milion obyvatel na 4,4 případů na milion obyvatel. Jeden z posledních velkých výskytů nemoci způsobené *Listeria spp.* byl zaznamenán v Jihoafrické republice od 1. ledna roku 2017 do 3. dubna 2018. Bylo zaznamenáno celkem 999 laboratorně potvrzených případů *Listeria monocytogenes*. Celkem zemřelo 191 lidí. Jedná se o největší známou epidemii listeriózy na světě. Zdrojem infekce byla továrna na masné výrobky Enterprise Foods. Mezi výrobky, označené jako zdroj infekce se řadily výrobky k přímé spotřebě (ready-to-eat), nejčastěji se jednalo o tzv. polonia párky z vepřového a kuřecího masa. Dalším zdrojem nákazy byly i jiné uzeniny a tzv. studená masa. Od roku 2000 je listerióza onemocnění, které musí být při pozitivním nálezu hlášeno (Greenwood, 2007; Demnerová, 2016; SZÚ, 2018; Špačková, 2018; Home – NICD, 2018).

V přírodě jsou kontaminováni nejen zvířata a lidé, ale i voda, půda, fekálie a potrava pro zvířata. Zřídka kdy dochází k izolaci ze znečištěné mořské nebo podzemní vody, častější je výskyt v říčních, průmyslových případně zemědělských odpadních vodách. *Listeria monocytogenes* je schopna přežít v různých prostředích různě dlouhou dobu při různé teplotě.

Jedním z případů je suchá půda, ve které je bakterie schopná při teplotě 4–12 °C přežít 240–311 dní. Opakem je sterilizovaná vodní nádrž při venkovních teplotách, kde bakterie přežívá pouhých 7 dní. Extrémní dobu přežití, až 2190 dní při teplotě 5 °C, má bakterie v dobytčích přirozeně kontaminovaných výkalech a v siláži (Fenlon, 1999; Wagner, 2008).

Klinicky rozlišujeme dvě skupiny onemocnění, prvním je listerióza probíhající v období těhotenství a u novorozenců. Do druhé skupiny spadají dospělé osoby, které byly nakaženy. Do první z těchto kategorií spadá téměř 50 % případů, z čehož 15-25 % infekcí je v souvislosti s těhotenstvím a v častých případech vede k předčasnému porodu či potratu plodu. Jen v minimálních případech plod není postižen. Výskyt listeriózy se zvyšuje s věkem. Nejvíce nemocných dospělých je v období kolem pětapadesátého roku života. Po překročení hranice čtyřiceti let bývají častěji nemocní muži, ovšem vzhledem k tomu, že ženy jsou nejvíce vystaveny riziku nákazy v období fertility, je vyrovnaná distribuce mezi obě dvě pohlaví. Další skupiny lidí, které jsou více či méně vystaveny riziku, jsou uvedeny v tabulce č.1 (Greenwood, 1999; Hof, 2003; Greenwood, 2007).

Tabulka 1 Incidence listeriózy v určité populaci vystavené riziku (na 100 000 obyvatel) (převzato z HOF, H. History and epidemiology of listeriosis)

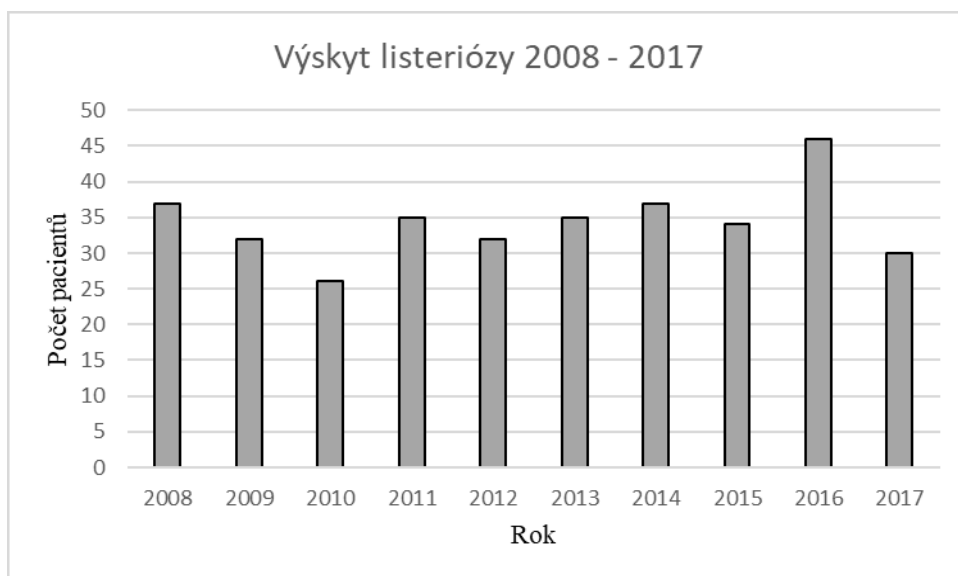
Lidé, kteří jsou v ohrožení	Incidence listeriózy v určité populaci, která je v ohrožení (na 100,000 lidí na rok)
Normální populace	0.7
Staří lidé (>70 let)	2
Alkoholici	5
Lidé s diabetem	5
Předávkování železem	5
Těhotné ženy	12
Lidé s rakovinou	15
Steroidní terapie	20
Lupus erythematodes	50
Pacienti po transplantaci ledviny	100
Chronická lymfatická leukémie	200
AIDS	600
Leukémie (akutní monocytická + akutní lymphoblastická)	1000

Časté je asymptotické přenašečství onemocnění u člověka. Krom přítomnosti v půdě, vodě a vzduchu se bakterie nacházejí i v organismu zdravých zvířat a člověka. Až 5 % dospělých jedinců má bakterii přítomnou ve střevě po konzumaci potravy, která jí byla

nakažena. Doba, po kterou je rod *Listeria* přítomný ve stolici, je buď krátká v rozmezí dnů nebo týdnů, případně může trvat i roky (Greenwood, 1999; Greenwood, 2007).

8.1.1 Výskyt nemoci v ČR

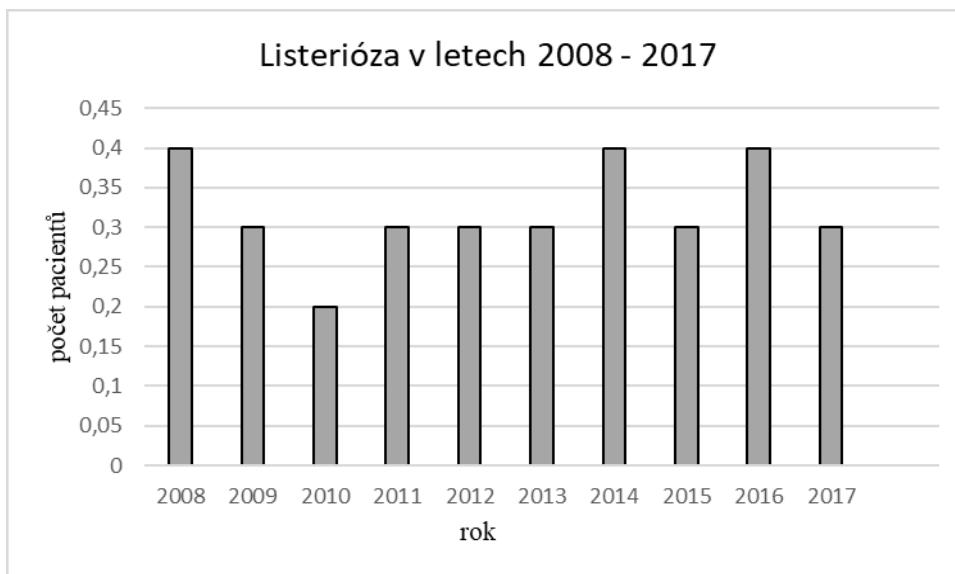
V České republice je listerióza onemocnění, které spadá do národního registru nemocí z povolání mezi nemocí přenosné ze zvířat na člověka buď přímo nebo prostřednictvím přenašečů (SZÚ, 2007).



Graf 1 Výskyt listeriózy v ČR (absolutně) v letech 2008–2017 (převzato z SZÚ 2019)

Na výše zobrazeném grafu č. 1 můžeme vidět vývoj nemocných v průběhu deseti let od ledna roku 2008 do prosince roku 2017. Podle hodnot uvedených na stránkách státního zdravotního ústavu nedošlo k příliš velkým výkyvům. Celkem onemocnělo podle nasbíraných dat 338 lidí. V průměru bylo za rok nemocných lidí 33,8 lidí. V roce 2010 bylo nemocných jen 26 a naopak v roce 2016 46 lidí. Tyto jediné dva výkyvy za uplynulých 10 let byly patrné. Jinak se hodnoty stále drží v konstantních hodnotách od 30 do 37 nemocných ročně (SZÚ, 2007).

Na níže uvedeném grafu č. 2 můžeme vidět výskyt listeriózy v České republice za roky 2008 až 2017 v relativním počtu na 100 000 obyvatel. I zde můžeme pozorovat téměř ustálený výskyt nemoci, kromě roku 2010, kde je patrný nižší výskyt onemocnění (SZÚ, 2007).



Graf 2 Výskyt listeriózy v ČR (relativně na 100 000 obyvatel) v letech 2008–2017 (převzato z SZÚ 2019)

Od roku 2006 došlo několikrát zvýšenému výskytu listeriózy na našem území. V roce 2006 a začátkem roku 2007 bylo celkem nahlášeno v České republice 80 případů onemocnění listeriózou a dalších 7 případů v lednu 2007. Dohromady zemřelo z důvodů pozření kontaminované potravy deset lidí. Mezi mrtvými byli dva novorozenci a zbytek starší lidé se sníženou imunitou. V tomto roce došlo ke dvěma přerušeným těhotenstvím, právě kvůli listerióze. Dále z těchto 71 případů se v 9 z nich jednalo o novorozeneckou listeriózu, u dalších 9 případů se jednalo o listeriózu v graviditě. Oproti roku 2005, kdy bylo postižených pouze 11 okresů, došlo k rozšíření nemoci až do 39 okresů. V roce 2005 došlo pouze k jednomu úmrtí z důvodů listeriózy. Novorozenecká listerióza i listerióza v graviditě se objevila pouze ve 2 případech. Důvodem, výskytu tak velkého množství nemocných v roce 2006, byla konzumace kontaminovaného zrajícího sýru, který byl dostupný v distribuční síti. Dále došlo k nahromadění sporadických případů listeriózy u pacientů, kteří mají sníženou imunitu po chemoterapeutické léčbě nádorů. Ti se mohli nakazit i nízkými infekčními dávkami z jiných rizikových skupin potravin (Anonym, 2007; Beranová, 2007; Anonym, 2010; Gelbíčová, 2018).

Dalším okamžikem, kdy bylo na našem území více nemocných, bylo období mezi červencem 2008 a únorem 2009, kdy se v jižních Čechách nakazili pacienti z vakuově balené vepřové šunky, kterou dostali k večeři v nemocnici. Čtyři z těchto pacientů zemřeli. V letech 2009-2010 došlo k mezinárodnímu výskytu této nemoci. Původcem nemoci byl zrající sýr „Quargel“. Infekce se dostala jak do České republiky, tak i do Rakouska a Německa. V roce 2016 byl pozorován nárůst případů listeriózy v Moravsko-Slezském kraji, kde bylo

zaznamenáno čtrnáct případů. I v tomto případě bylo zdrojem maso, tentokrát krůtí (Gelbíčová, 2018).

8.2 Výskyt v potravinách

Listérie jsou psychrotrofní bakterie schopné přežít a proliferovat při teplotě pod 0 °C. Ani pH je příliš neovlivňuje. Dokáží přežít v rozmezí pH od 4,6 do 9,5. Kvůli těmto vlastnostem, kterými bakterie disponuje, je důležitá efektivní prevence již ve výrobním procesu potravin. Podmínek, které továrna musí splňovat, je velké množství. Jendou z nich je vymezení místa na zpracování syrového jídla. Toto místo musí být kompletně izolované od ostatních výrobních procesů. Další podmínkou je instalace těsnících oken, které zamezí kontaktu potravin se zdroji kontaminace z vnějšího prostředí jako je hmyz nebo zvířata. Důležitý důraz se klade na dezinfekci zdí, pracovních ploch, podlah a stropů. Podlahy musí být speciálně upravené, aby se na nich nezadržovala voda a podlaha snadno usychala. Důležité je umístit podlahové odtoky mimo oblast, kde dochází k balení finálního produktu. Tyto kroky spolu s dalšími slouží k ochraně nejen před listerií, ale i dalšími patogeny jako je např. salmonela (Ryser, 1999; Carpentier, 2011).

Ačkoliv platí tyto ochranné kroky, tak občas ke kontaminaci dojde a potraviny se dostanou do prodeje. V naší historii k tomu došlo hned několikrát. Nejstarším doloženým důkazem je epidemie z let 1949–1957. Při této události se nakazilo přes sto lidí a zdrojem kontaminace bylo syrové mléko, zakysaná smetana a sýr cottage (Ryser, 1999; Carpentier, 2011).

V České republice kontroluje kvalitu potravin státní zemědělská a potravinářská inspekce, státní veterinární správa ČR, orgány veřejného zdraví, ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský a ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv (Anonym, 2009).

Dle SZPI je v případě uvedení nové potraviny určené k přímé spotřebě na trh nutno brát v potaz, jakým způsobem bude potravina dále zpracována. Výrobce potraviny musí zvažovat, jestli bude potravina dále určena ke spotřebě v tepelně upraveném stavu, určena ke konzumaci pouze po krátkodobém ohřevu spotřebitelem nebo zdali je potravina určena k další úpravě jako je pasterizace nebo sterilizace. Na základě rozdělení do těchto tří kategorií se poté liší nutnost splnění kritérií bezpečnosti pro *L. monocytogenes*. Potraviny, u kterých je třeba tyto podmínky dodržet jsou rozděleny do dalších tří kategorií. První kategorie jsou potraviny určené pro kojence a zvláštní léčebné účely, do druhé kategorie řadíme potraviny určené

k přímé spotřebě, které podporují růst *L. monocytogenes* jiné než potraviny určené pro kojence a zvláštní léčebné účely a poslední třetí kategorie zahrnuje potraviny určené k přímé spotřebě, které nepodporují růst *L. monocytogenes* jiné než potraviny určené pro kojence a zvláštní léčebné účely. V Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 se uvádí, že množství *Listeria monocytogenes* přítomné v potravíně by nemělo překročit hladinu 100 cfu na 1 gram potraviny. Na základě tohoto nařízení se ve výše zmíněných třech kategoriích klade důraz na dodržení hladiny pod 100 cfu/g.

U první kategorie, potraviny určené pro kojence a zvláštní léčebné účely, je nutno prokázat nepřítomnost bakterie v 25 g potraviny. Potraviny určené k přímé spotřebě, které podporují růst *L. monocytogenes* jiné než potraviny určené pro kojence a zvláštní léčebné účely mají limit 100 cfu/g v případě údržnosti po celou dobu doporučené doby spotřeby a před uvolněním potraviny na trh musí provozovatel dokázat nepřítomnost bakterie v 25 g potraviny. Poslední třetí kategorie zahrnující potraviny určené k přímé spotřebě, které nepodporují růst *L. monocytogenes* jiné než potraviny určené pro kojence a zvláštní léčebné účely, má limit 100 cfu/g po celou dobu doby spotřeby potraviny (EUR – Lex, 2005; SZPI, 2017).

8.2.1 Listérie v mléčných produktech

Listérie se v mléce krav může vyskytovat jako následek listeriální mastitidy nebo potratu plodu kvůli listérii. Zvláštním případem výskytu listérie v mléce krav je u klinicky zdravých jedinců. Detekovatelné hladiny *Listeria monocytogenes* jsou v mléce po dobu maximálně dvanácti měsíců. Ke kontaminaci mléka může dojít i ze siláží, se kterými je dobytek v dennodenním kontaktu (Ryser, 1999).

Mléko jako zdroj nákazy bylo podezříváno mezi prvními už v roce 1936. V průběhu dalších let docházelo k podrobnému zkoumání etiologie bakterie a objevovaly se postupně další zdroje. V současné době se odhaduje, že přibližně 3-4 % zásob mléka v USA, Kanadě a Evropě obsahuje detekovatelnou hladinu *Listeria monocytogenes*, méně než 10 cfu/ml. Listérie se může vyskytovat jak v mléce čerstvém, tak i v mléce pasterizovaném. Incidence výskytu v čerstvém mléce je mnohonásobně vyšší než v pasterizovaném (Ryser, 1999).

K případům nákazy, kdy je zdrojem nepasterizované mléko, došlo několikrát. Jedním z prvních laboratorně podložených je případ z období poloviny dvacátého století, kdy došlo k naze v Německu. V počátcích se předpokládalo, že za více než sto novorozenců, kteří se narodili mrtví, může bakterie *Corynebacterium infantisepticum*. V roce 1952 se Seelinger

domníval a následně i potvrdil, že se jedná o nákazu listérií. Pravděpodobným zdrojem nákazy mohlo být nepasterizované mléko, smetana, cottage sýr a kyselé mléko (Ryser, 1999).

K dalšímu případu došlo v roce 1994, kdy se několik lidí zúčastnilo pikniku v americkém Illinois. Zdrojem nákazy bylo pasterizované čokoládové mléko. Celkem se nakazilo 54 lidí z 60 (75 %), kteří jej pili. Jediná další potravina, ve které byl potvrzený další výskyt bakterie, byl švýcarský sýr. Hlavními příznaky nákazy bakterií byla bolest hlavy, průjemy, únava, zimnice a bolest svalů. Celkem byli hospitalizováni čtyři pacienti po dobu osmi dní. Nikdo z nich nezemřel (Dalton, 1997).

8.2.2 Výskyt listérie v masitých produktech

Maso jako zdroj nákazy byl v minulosti spojován hlavně se salmonelózou a botulismem. Na začátku dvacátých let dvacátého století se začalo uvažovat, jestli zdrojem nákazy listérií nemůže být maso nakažených zvířat. Prvním, kdo tuto teorii potvrdil, byl Wramby v roce 1944. Ten jako první identifikoval *Listeria monocytogenes* v syrovém mase. Hlavním zdrojem nákazy v masných produktech jsou špatně upravené paštiky, uzeniny a jídla k okamžité konzumaci (Ryser, 1999).

Ve Velké Británii došlo mezi lety 1987–1989 k velkému nárůstu výskytu listeriózy. V průběhu vyšetřování a hledání zdroje nákazy v roce 1989 byly laboratoří zdravotnictví v Cardiffu nalezeny vysoké hodnoty *Listeria monocytogenes* v paštice jedné z obětí. Tento nález podnítil pátrání po dalších infikovaných paštikách. Celkem bylo potvrzeno 75 pozitivních nálezů z celkem 216 testovaných druhů (35 %). Z těchto 216 pozitivních paštik se v 32 % vyskytoval sérotyp 4b, který byl zodpovědný za 23 případů, ke kterým došlo o 2 roky dříve. Na základě této zkušenosti došlo k úpravám ve skladování paštik i k jejich tvorbě. A ačkoliv se laboratoře domývaly, že paštika byla zdrojem nákazy, nešlo tuto teorii jakkoliv potvrdit. Hlavním důvodem byl fakt, že paštiky již nebyly přítomny v ledničkách postižených osob. Poté, co vláda varovala veřejnost o pravděpodobném zdroji nemoci, došlo k poklesu jejího výskytu. Díky poklesu lze předpokládat, že paštika zdrojem nemoci byla (Gilbert, 1993; Ryser, 1999).

V roce 2000 došlo ve Francii k rozšíření listeriózy kontaminovaným prasečím jazykem v aspiku. Prvotním zdrojem onemocnění byla továrna Sopar sídlící v Meaux, což je město poblíž Paříže. Ovšem i po jejím zavření se během dalšího měsíce situace nezměnila a objevily se další zdroje nákazy z masa jiných firem. Konkrétně se jednalo o firmy Délices de Suzon, Antoine Augé a Val Heureux. Z tohoto důvodu vláda nabádala občany, kteří jsou ve

zvýšeném riziku, aby se vyhýbali produktům z vepřového masa. Po důkladnějším zkoumání, byla továrna Sopar vyřazena ze seznamu továren, které za epidemii mohli. V jejich produktu se nacházel jiný sérotyp *Listeria monocytogenes*, než který byl nalezen u pacientů. Po pozdějším vyšetřování bylo zjištěno, že ne všichni nemocní jedli vepřové. Z toho důvodu se někteří odborníci domnívají, že došlo ke kontaminaci špatně otřenými noži při porcování masa. Celkem bylo v tomto roce nemocných 26 lidí a sedm z nich zemřelo. K podobné epidemii došlo v roce 1992, kdy bylo infikováno 279 lidí z čehož 63 zemřelo a 20 žen potratilo (Dorozynski, 2000).

V roce 2017 se do České republiky dostalo přibližně 230 kilogramů slovenské slaniny, která v sobě obsahovala listerii, ovšem došlo k včasnému stažení produktu z pultů prodejen Tesco a Globus, kam byl produkt dodán. Příkladem výskytu v masných produktech je i výše zmíněná epidemie, ke které došlo v Africe v roce 2017 (Anonym, 2018).

8.2.3 Výskyt listérie v rybách a mořských plodech

Výskyt v rybách a mořských plodech je předpokládán už od roku 1971, kde došlo údajně k první nákaze. Nebylo možné stoprocentně potvrdit původce nákazy. První potvrzený případ s potvrzenou potravinou, jakožto zdrojem nemoci, je z roku 1989. 54letá Italka po pozření nedovařené ryby trpěla meningitidou. Z ryby se povedlo úspěšně izolovat listerii, jejíž sérotyp (4b) odpovídal sérotypu nalezeném v mozkomíšním moku nemocné. Způsob, jakým se nakazila ryba, není znám. V srpnu 1991 v Tasmánii došlo k případu onemocnění 37leté matky a jejího 10letého syna, kteří trpěli horečkou, bolestí hlavy, zvraceli, měli průjem a zimnici. K nákaze došlo po pozření nedovařených uzených mušlí dovezených z Nového Zélandu. Provedli se testy na otevřeném balení mušlí, a i na balení, které ještě otevřené nebylo. Obě dvě testované potraviny byly pozitivní na výskyt listérie. I přes upozornění veřejnosti vládou se nakazila další žena, která měla stejné symptomy jako matka se synem. Ačkoliv výsledky z analýzy nejsou k dispozici dá se předpokládat, že mušle byly zdrojem nákazy v obou dvou případech (Ryser, 1999).

V období mezi říjnem 2015 a květnem 2018 bylo prokázáno několik případů listeriózy v oblasti Dánska, Francie a Německa. První případ, ke kterému došlo, byl v Dánsku. Předpokládalo se, že nákaza je spojená s konzumací uzeného lososa původem z Polska. Po důkladném zkoumání nedošlo k potvrzení této hypotézy. V tomto časovém rozmezí došlo několikrát k projevu stejných symptomů u jiných lidí v jiných státech. Předpokládá se stálá aktivita zdroje nákazy. Celkem bylo potvrzeno dvanáct případů, z čehož čtyři zemřeli (Anonym, 2018).

8.2.4 Výskyt listérie v produktech rostlinného původu

Zelenina by neměla být znečištěna jakýmkoliv druhem patogenu, pokud nebyla hnojená lidskými či zvířecími exkrementy, případně nepřišla do styku s kontaminovanou vodou. Ačkoliv existují organismy tvořící spory jako je *Clostridium perfringens* a *Bacillus cereus*, které se mohou na čerstvé zelenině vyskytovat. Nemoci z těchto patogenů se dá předejít, jestliže je zelenina patřičně tepelně upravena. Hlavním způsobem prevence před kontaminací potravin je kontrola hnojiva, jeho původu a kontrola průběhu balení potravin. Hlavní roli hraje také úprava potravin doma u každého jedince před konzumací. Bakterie je schopná přežít na rostlině po dobu 10-12 let. V tabulce 3 níže je uvedena zelenina, u které byl v období mezi říjnem 1987 a srpnem 1988 prokázán výskyt *Listeria spp.* Zkoumaná byla nemytá syrová zelenina vypěstovaná v Minneapolis v Minnesotě (Brackett, 1999).

Tabulka 2 Incidence *Listeria spp.* v nemyté syrové zelenině pěstované v Minneapolis, Minnesota. Období mezi říjnem 1987 a srpnem 1988 (převzato z BRACKETT, 1999)

Typ zeleniny	Počet analyzovaných vzorků	Počet pozitivních vzorků (%)				Celkem
		<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. seeligeri</i>	
Brokolice	92	0	0	0	0	0
Zelí	92	1 (1,1)	0	0	1 (1,1)	2 (2,2)
Mrkev	92	0	0	0	0	0
Květák	92	0	0	0	0	0
Okurky	92	2 (2,2)	5 (5,4)	2 (2,2)	0	9,8
Salát	92	0	1 (1,1)	0	0	1 (1,1)
Houby	92	0	11 (12,0)	0	0	11 (12,0)
Brambory	132	28 (21,2)	5 (3,8)	1 (0,8)	0	34 (25,8)
Ředkvičky	132	19 (14,4)	4 (3,0)	5 (3,8)	12 (9,1)	40 (30,3)
Rajčata	92	0	0	0	0	0
Celkem	1000	50 (5,0)	26 (2,6)	8 (0,8)	13 (1,3)	97 (9,7)

V roce 1981 došlo v Kanadě k rozšíření infekce spojené se spotřebou kontaminovaného zelí. Celkem bylo zaznamenáno čtyřicet případů perinatální listeriózy a sedm případů listeriózy u dospělých. Průzkum zdroje nákazy odhalil v ledničce jednoho z pacientů infikovaný salát Coleslaw. Byl pozitivní na *L. monocytogenes* sérotyp 4b a odpovídal sérotypu objevenému v krvi pacienta. Salát byl připraven komerčně ze zelí a mrkve získané od místních zemědělců. Jeden ze zemědělců krom pěstování zelí choval i ovce. Dvě z těchto ovcí zemřeli na listeriózu a jejich trus byl použit na hnojení salátu (Ryser, 1999).

V uplynulých letech od roku 2015–2018 se v několika evropských zemích rozšířil výskyt listérie. Jedná se především o Rakousko, Dánsko, Finsko, Švédsko a Velkou Británii. K 8.březnu 2018 bylo nahlášeno 32 případů zahrnujících 6 mrtvých. Pátrání po zdroji vede k mražené kukuřici balené v Polsku a zpracované a vypěstované v Maďarsku. V Polsku, Finsku, Švédsku a Estonsku stáhli produkty z trhu, což by mělo zamezit další nákaze (Anonym, 2018).

8.3 Virulence a patogenita

Listeria monocytogenes je schopna napadnout různé typy buněk v lidském těle jako jsou například makrofágy a některé buněčné linie lidských tkáňových kultur. Na povrchu buněčné membrány listérie jsou ve velkém množství volné i vázané lipidy. Na stěně bakterie se nacházejí rezidua glukosaminu s volnými skupinami aminokyselin. Výskyt reziduí má za následek zvýšení rezistence stěny listerií na účinek lyzozomu a tím zvyšují i jejich přežití v makrofágu. V plazmatické membráně se nachází další struktura zvaná monocytosis producing agent (MPA). MPA pod vlivem působení endogenního faktoru neovlivňuje imunitní odpověď ovšem má schopnost zvýšit počet makrofágů ve dřeni, krvi a slezině. Ve stěně listerií se vyskytuje faktor E_i , jehož biologické účinky jsou příbuzné účinkům lipopolysacharidů gram negativních mikrobů. Lipopolysacharidy u gram negativních bakterií jsou jednou z hlavní složek buněčné membrány a také se jedná o silné endotoxiny, které způsobují u organismu významnou imunitní reakci. Působením faktoru E_i může docházet k rozvoji erytému až nekróze v kůži králíka, tvorbě edémů, lokální Schwartzmanova reakce nebo mohou mít pyrogenní efekt (Holder, 1969; Bednář, 1996; Procop, 2017).

Většina genů, které nějakým způsobem ovlivňují intracelulární život *L. monocytogenes* a její virulenci, je kódována pomocí na PrfA závislým virulentním genovým klastrem. Klastr se skládá z šesti genů, kde každý má svou vlastní úlohu. Prvním je gen *hly* kódující listeriolysin O. Gen *plcA* jehož produktem je fosfatidylinositol-specifická fosfolipáza C, gen *plcB* kódující fosfatidylcholin-specifickou fosfolipázu C a gen *mpl* kódující metalloproteázu. Dalším genem, který se uplatňuje v syntéze virulentních faktorů listérie je gen potřebný pro polymerizaci aktinu *actA*. Posledním genem, který je kódován tímto klastrem je pozitivní regulační faktor PrfA. Pozitivní regulační faktor PrfA je kódován stejnojmenným genem *PrfA*. Geny, které kódují syntézu internalinů *inlA*, *inlB* a *inlC* se nacházejí mimo tento virulentní genový klastr. Většina z nich je ovšem ovlivňována funkcí jiných genů, které do klastru patří, a proto i ony jsou regulovány aktivátorem PrfA (De Las Heras, 2011).

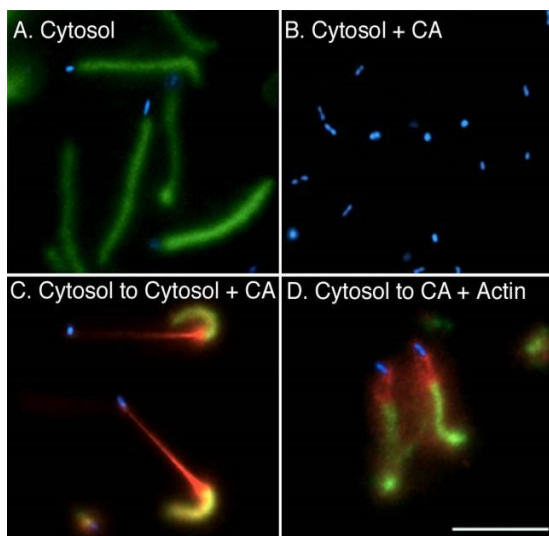
Listeria monocytogenes syntetizuje proteiny internaliny. Internaliny se řadí mezi proteiny bohaté na leucinové repetice (LRR). Dvě skupiny proteinů, které bakterie hlavně syntetizuje, jsou internalin A a internalin B. Oba proteiny zajišťují efektivní proniknutí do hostitelské buňky. Receptor pro internalin A na lidském epitelu je E-kadherin. Kdežto pro internalin B je hlavním receptorem globulární část komponentu C1q. InB obsahuje místo bohaté na leucin, díky kterému má schopnost se vázat na receptor hostitelské buňky pro hepatocytový růstový faktor. Bakterie pohlcená do fagozomu si začne produkovat listeriolysin O a fosfolipázy. Fosfolipázy umožňují uvězněnému organismu uniknout z fagozomu před uvolněním látek z lyzozomu. Listeriolysin O, kódovaný *hly* genem, je svou strukturou podobný streptolysinu O, který produkují streptokoky skupiny A. Stejně jako fosfolipázy i on se podílí na úniku buňky z fagozomu. Další jeho schopností je schopnost, po aktivaci redukcujícími činidly, se navázat na cholesterol v membráně hostitelské buňky. LLO se na cílovou membránu připojí a rozruší její strukturu, čímž vytvoří membránové póry. Díky těmto vznikajícím pórům se změní vnitřní hladiny vápenatých iontů a zároveň se změní pH napadené buňky. Změny probíhající na hostitelské buňce mají za následek potlačení lyzozomální fúze (Bednář, 1996; Dramsi, 2002; Schnupf, 2007; Procop, 2017).

Tvorba listeriolysinu O je závislá na množství železa. Bakterie získává železo nezbytné pro správnou funkčnost metabolismu z napadeného organismu. *Listeria* produkuje siderofory, které mohou železo získat. Může jej vychytávat kupříkladu z hemu, transferinu nebo jiných struktur, kde je železo uloženo (Klebs, 2012).

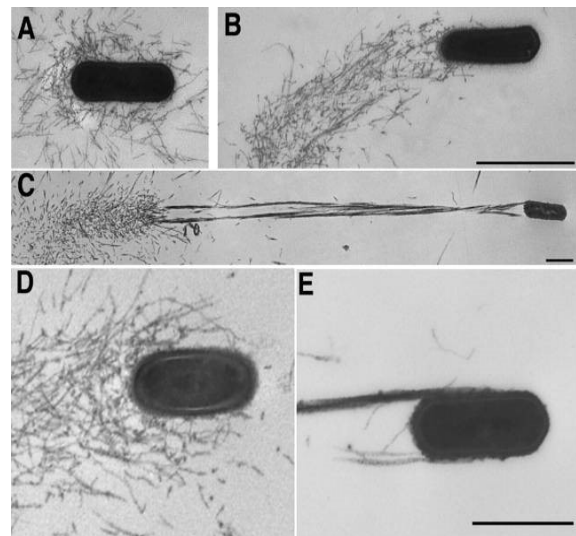
V momentě proniknutí bakterie do cytosolu napadené buňky dochází k aktivaci dalšího membránového proteinu *ActA*. Tento protein aktivuje polymerizaci aktinu na podobu aktinových „ocásků“. Tyto „ocásky“ umožňují bakterii se uvnitř hostitelské buňky aktivně pohybovat. V tento okamžik dochází k aktivaci dalšího mechanismu zaručujícího intracelulární přežití. Tímto mechanismem je například syntéza enzymů, které modifikují peptidoglykan. Tyto enzymy mají schopnost deacylovat D-glukosaminové zbytky v buněčné stěně bakterií, což je činí rezistentními vůči lýze intracelulárním lyzozomem (Bednář, 1996; Briher, 2004; Jasnin, 2013; Procop, 2017).

Na níže uvedených obrázcích jsou tenkovrstvé elektronové mikrografy ukazující segregaci aktinových filament. Na obrázku číslo 2 je záznam pohyblivosti listérie. Bakterie jsou značeny modře a aktin je zelený nebo červený. CA je homologie kofilinu a kyselá oblast N-WASP domény. Na třetím obrázku jsou bakterie vystaveny různému prostředí a sleduje se změna jejich pohybu. Při postupném pohledu od části vlevo nahoře (A) můžeme vidět listérie

pohybující se v mozkovém cytosolu. Na části obrázku značené (B) byl do cytosolu přidán inhibitor Arp2/3 CA. V třetí části (C) se *Listeria monocytogenes* pohybuje z počátku v cytosolu, kde je vidět aktin značený Alexa® 488 (zelená), pak přešla na cytosol obsahující CA a aktin označený TMR (červený). V případě (D) jsou stejné podmínky jako u (C), ovšem bakterie přešla na CA a samotný TMR-značený aktin. Na obrázku číslo 3 se nachází několik záznamů z mikroskopu, na kterých je vidět tvorba aktinových filament u listérie. Jedná se o záznam z experimentu s Arp 2/3, který reguluje tvorbu aktinu (Brieher, 2004).



Obrázek 3 *Listeria monocytogenes* pohybující se v různě modifikovaném prostředí. Měřítko 10 µm. (převzato z: BRIEHER,2004)



Obrázek 2 (A) Rozvětvený aktinový mrak a aktin samotný. (B) (C) (D) (E) ocas aktinové komety s rozvětveným aktinem. Měřítko 1 µm.(převzato z: BRIEHER,2004)

8.4 Patogeneze

Listérie má schopnost se množit nejen uvnitř hostitelské buňky, ale i na jejím povrchu. K přenosu do hostitelské buňky dochází pasivně, fagocytózou makrofágy, nebo se může jednat o aktivní přenos. V tomto případě bakterie využívá k proniknutí do buněk speciální proteiny zvané internaliny. Tyto proteiny mají schopnost narušit strukturu buněčné stěny a vytvořit póry umožňující proniknutí bakterie do cílové buňky. Díky této vlastnosti patří *Listeria monocytogenes* mezi fakultativně intracelulární parazity (Bednář, 1996).

Do těla se bakterie dostává nejčastěji gastrointestinálním traktem z kontaminované potravy. Pokud se jedná o těhotnou ženu může později při rozšíření infekce dojít k dalšímu přenosu přes placentu na plod. Poté co člověk kontaminovanou potravinu pozře a listerie překoná kyselé prostředí v žaludku, se dostává do střev a pomocí krve dále do těla. Hlavně do

jater, sleziny, mozku a případně placenty. Rozlišují se hlavní dva typy mechanismu, kterými může *L. monocytogenes* prostoupit přes střevní sliznici do krve hostitele. V prvním případě bakterie po kontaktu se střevní sliznicí napadá místa, kde se nacházejí enterocyty. Dochází ke specifickým reakcím mezi receptorem a ligandem. Receptorem je E-kadherin na enterocytech a ligandem internalin A, který syntetizuje *L. monocytogenes*. Při reakci a propojení dojde k lokálním změnám v cytoskeletu a bakterie snadno prostoupí do enterocytu. Druhým nesespecifickým způsobem je fagocytóza pomocí M buněk v Peyerských plátech. Fagocytóza ovšem není příliš efektivní, na rozdíl od invaze enterocytu. Prostoupení bakterie přes sliznici může být usnadněno, pokud napadený organismus trpí zhoršeným stavem sliznice například po léčbě antibiotiky nebo po průjmovém onemocnění (Bednář, 1996; Kuhn, 1999; Votava, 2003; Kuhn, 2008).

Po prostoupení sliznice střeva se bakterie dostává do krevního řečiště, kde je rozpoznána makrofágy a antigen prezentujícími buňkami. Po pohlcení mikrobu makrofágem jsou bakterie uloženy ve fagozómu. Změna pH indukuje produkci hemolyzujícího proteinu listeriolysinu O. Listeriolysin O má krom jiných vlastností také schopnost rozložit fagozóm a uvolnit bakterii do cytoplasmy makrofágu. Na uvolnění z fagozómu se podílejí také fosfolipázy. Dochází k uvolnění bakterie do cytoplasmy makrofágu, kde začne listérie proliferovat. Mikrob aktivuje gen pro aktin (*ActA*), jenž umožňuje pohyb z buňky do buňky. Tento protein vyskytující se na povrchu listérie indukuje v hostitelské buňce syntézu aktinových filament. Ty umožňují pohyb bakterie směrem k membráně infikované buňky a proniknutí přes membránu z jedné buňky do druhé rychlostí až 1,5 $\mu\text{m/s}$. Při postupování membránou z jedné buňky do druhé vznikají podlouhlé membránové výčnělky, zvané listeriopody. Listeriopody jsou následně fagocytovány sousedními buňkami. Podobný mechanismus mezibuněčného šíření můžeme najít například i u bakterie *Shigella flexneri*. Po přestupu do další hostitelské buňky se musí listérie uvolnit z vakuoly se dvěma membránami pomocí listeriolysinu O a fosfatidylcholin-dependentní fosfolipázy C. Díky této cestě šíření se *Listeria monocytogenes* může pohybovat z buňky do buňky, aniž by byla vystavena jakýmkoliv faktorům imunity jako je komplement, protilátky či polymorfonukleáry (Kuhn, 1999; Gedde, 2000; Kuhn, 2008; Wang, 2015).

V počátečních infekce je ložisko v krvi obklopeno makrofágy a monocyty, které se snaží infekci zastavit. Monocytosis producing agent zvyšuje tvorbu nových monocytů v dřeni a jejich příliv do ložiska. Imunitu poté zprostředkovávají hlavně T lymfocyty, které produkují lymfokiny. Po kontaktu s lymfokiny listérie zaniká. Pokud je počet monocytů s makrofágy

stejný jako množství přítomného parazita dochází k ohraničení ložiska. Pokud ovšem k ohraničení nedojde, dochází k dalšímu šíření infekce, a to hlavně krevní cestou, infekce se generalizuje (Bednář, 1996).

8.5 Klinické projevy onemocnění

Onemocnění způsobené listériemi se obecně nazývá listerióza. Listeriíza se vyskytuje u lidí i zvířat. Náchylnější k onemocnění jsou těhotné ženy, novorozenci a lidé se sníženou imunitou. Občas se může vyskytnout u jinak zdravých jedinců. U zdravého dospělého proběhne ve většině případů bezpříznakově případně se symptomy podobají chřipce nebo průjmovému onemocnění. Lidská onemocnění nemají krom listeriózy v období těhotenství typické klinické projevy. Na rozdíl od jiných onemocnění získaných z potravin např. salmonelózy je listeriíza doprovázena vysokým procentem mortality nemocných a to až 20 %. *Listeria monocytogenes* způsobuje hlavně intrauterinní infekci, meningitidu a septikémii. Při přímém kontaktu může dojít k infekci oka. Fokální infekce jsou vzácné ovšem jsou možné např. intraabdominální absces. Inkubační doba se pohybuje individuálně od jednoho do devadesáti dní. V případě intrauterinní infekce se inkubační doba pohybuje většinou kolem jednoho měsíce. Prognóza uzdravení a přežití se liší podle formy listeriózy. Generalizované formy – meningoencefalitida, septikémie a infekce novorozenců – mívají vysokou smrtelnost. Na rozdíl méně časté formy – keratokonjunktivitida, endometritida, endoftalmitida – mají při včasné zahájení léčby prognózu dobrou (Votava, 2003; Greenwood, 2007; Votava 2010; Procop, 2017).

8.5.1 Infekce v těhotenství

Listeriíza u těhotných žen je až osmnáctkrát častější na výskyt v porovnání s netěhotnou populací. 16–27 % všech infekcí způsobených listérií probíhá u těhotných žen. V průběhu těhotenství je snižená buněčná imunita ženy z důvodů zvýšených hladin progesteronu. Zvýšená hladina hormonu může za to, že ženy jsou v tomto období náchylnější k intracelulárním parazitům, jakým je i *Listeria monocytogenes*. Rozvoj nemoci podporuje také železo, které je ženám předepisováno v podobě doplňků stravy, a které bakterie potřebují pro svůj správný životní cyklus. Přenos infekce na plod je způsoben prostoupením bakterie přes placentu následkem bakteriémie u matky. Mikrob je schopný plod napadnout i během porodu přenosem z vagíny či děložního čípku. Tento způsob přenosu bakterie z porodního kanálu na dítě může mít za následek nozokomiální přenos mezi novorozenci (Greenwood, 1999; Slutsker, 1999; Lamon, 2011; Mateus, 2013; Poulsen, 2013).

Nákaza listérií vede u těhotných žen k onemocnění matky, infekci postihující plod a následně k potratu. Onemocnění matky neznamena okamžitě onemocnění plodu a stejně tak ne vždy dochází k potratu. Nebezpečí této choroby spočívá v tom, že může probíhat několika možnými způsoby a nemá žádný specifický příznak. Může probíhat podobně jako lehká chřipka, projevovat se pouze zvýšenými teplotami anebo může probíhat asymptoticky. Bez příznaků mohou být matky až do porodu dítěte. Hlavními symptomy, kterými se projevuje jsou horečky, zimnice, bolest v krku, bolest hlavy a občas malátnost nebo zánět spojivek. Ve vážnějších případech může docházet k bakteriémii (Greenwood, 1999; Slutsker, 1999; Lamon, 2011; Mateus, 2013; Poulsen, 2013).

Větší náchylnost k listerióze mají ženy v třetím trimestru těhotenství. Týká se to až třetiny případů, vzácně pak v druhém trimestru a výjimečně se vyskytuje v prvním trimestru. Listeriíza během prvních dvou trimestrů na rozdíl od pozdějších gestací vede k potratu nebo porodu mrtvého plodu (Lamon, 2011; Mateus, 2013).

8.5.2 Infekce novorozenců

Po porodu se listeriíza projevuje u novorozenců ve dvou časových úsecích. Buď se jedná o časnou listeriízu, kdy je nástup během prvních dvou dní života, nebo pozdní listeriíza, která se projevuje v 5-14 dni života. U novorozenců s časným nástupem nemoci je původ v infekci dělohy a děti bývají narozeni předčasně. Nejčastějším projevem je septikémie a občas pneumonie. V pozdních onemocnění novorozenců je nejčastějším klinickým syndromem meningitida. Na rozdíl od časnou novorozeneckou listeriízu se rodí novorozenci s pozdním nástupem listeriízu matkám s asymptotickým výskytem bakterie. Charakteristické vlastnosti obou onemocnění jsou uvedeny v tabulce č. 3. Stupeň závažnosti onemocnění se odvíjí od doby určení onemocnění a mikrobiologického nálezu. Na rozdíl od onemocnění u dospělých je pro novorozence onemocnění způsobené listérií fatální a umírají do několika dní po porodu s nálezem pneumonie, hepatosplenomegalie, petechií, abscesů v játrech a v mozku, peritonitidy a enterokolitidy (Greenwood, 1999; Lamon, 2011; Mateus, 2013).

Tabulka 3 Charakteristika adnatní listeriózy (převzato z PEUTHERER; 1999)

	Typ infekce	
	časná	pozdní
začátek po porodu	<2 dny	> 5 dní
faktory matky: obtížný porod nízká porodní hmotnost horečnaté onemocnění abnormální amniová tekutina	časná	vzácná
zdroj infekce	matka	nemocniční původ a (?) získaná od matky
znaky/příznaky	diseminovaná infekce kardiopulmonární potíže, znaky postižení CNS, zvracení průjem, hepatosplenomegalie, exantém	meningitida, dráždivost, nechutenství, horečka
laboratorní nálezy	leukocytóza a leukopenie, trombocytopenie, stíny na rtg snímku, zvýšený fibrinogen	leukocytóza, rtg změny, mozkomíšní mok: bílkoviny a leukocyty zvýšeny, glukóza snížena
místo izolace	obvykle krev, povrch těla, amniová tekutina, méně často aspirát žaludku a mozkomíšní mok	běžně mozkomíšní mok, méně často krev
mortalita	30-60 %	10-12 %

8.5.3 Infekce dospělých – meningitida a poškození CNS

Meningitida a další projevy *L. monocytogenes* v centrálním nervovém systému se u dospělých jedinců vykytují spíše ojediněle a primárně ovlivňují predisponované jedince. V současné době je *L. monocytogenes* třetím nejčastějším zdrojem bakteriální meningitidy hned po *Streptococcus pneumoniae* a *Neisseria meningitidis*. Předpokládá se, že v budoucnu bude větší nárůst nemocných listerií kvůli stárnutí populace a vyššímu počtu imunokompromitovaných osob (Dzupova, 2013).

Meningitida je nejčastějším projevem listeriózy u lidí. V porovnání s meningitidami způsobenými streptokoky a meningokoky se listeriová meningitida projevuje odlišně. Pro listeriovou meningitidu je typický nižší výskyt ztuhlého krku, který je pouze u 25 % nemocných. Více časté jsou poruchy pohybu jako je ataxie, třes a myoklonus. Více časté jsou taky záchvaty, u 10–25 % nemocných. U všech věkových skupin je klinický obraz stejný, ale u pacientů s oslabenou imunitou má nemoc rychlejší průběh. V periferní krvi nemocného je patrná leukocytóza, v mozkomíšním moku je zvýšený počet bílých krvinek, koncentrace glukózy je snižena a koncentrace bílkovin zvýšena. Bakteriologický náález je často negativní, a proto nelze listeriovou meningitidu klinicky odlišit od meningitidy způsobené pneumokoky nebo meningokoky (Greenwood, 1999; Clauss, 2008).

Infekce může pokročit a rozšířit se do mozkového kmene (např. rhombencefalitida) a zobrazovací metody mohou ukázat mikroabscesy v oblasti mezimozku a mozečku. Rhombencefalitida se typicky objevuje u zdravých dospělých jedinců, na rozdíl od jiných forem onemocnění CNS způsobených listerií. Probíhá symptomaticky ve dvou fázích. První fáze trvá přibližně 4 dny a doprovází ji horečka, bolesti hlavy, nevolnost, zvracení. V průběhu rychle nastupující druhé fáze se rozvíjí cerebelární znaky, hemiparéza nebo hemisenzorie a mohou se objevit meningeální příznaky. Komplikaci spojenou s listeriovou meningoencefalitidou a rhombencefalitidou představují mozkové abscesy. Abscesy jsou často nalezeny v oblasti podkorové oblasti mozku. Při abscesech, encefalidě nebo cerebritidě může být náález v mozkomíšním moku normální, bílé krvinky mohou být mírně zvýšené. Koncentrace glukózy je snižena a koncentrace bílkovin mírně zvýšena. Kultivační i mikroskopický náález je negativní. K určení správné diagnózy se provádí izolace *Listerie monocytogenes* z krve nebo mozkomíšního moku. Dále se provádějí klasické mikrobiologické vyšetření (Greenwood, 1999; Clauss, 2008).

8.5.4 Infekce dospělých – onemocnění gastrointestinálního traktu

Jako první přijde do kontaktu s patogenem střevo. Prvními příznaky, které se na člověku projeví jsou proto potíže se zažíváním. Onemocnění střev způsobené listerií se typicky projeví do 24 hodin od požití silně kontaminované potravy a trvá obvykle dva dny. Nejčastějšími příznaky je únava, ospalost, horečka a bolest hlavy. Ve většině případů je přítomný alespoň jeden ze symptomů nemoci gastrointestinálního traktu jako je nevolnost, zvracení, průjem a bolest podbřišku. Stolice je většinou vodovitá a bez přítomnosti krve. Krev ve stolici je pouze v minimálním počtu případů cca 3 %. Ve výjimečných případech může

dojít ke komplikaci nemoci a přenosu bakterie do krve což může vést k sepsi a následně ke smrti (Ooi, 2005; Greenwood, 2007; Mahmood, 2017).

8.5.5 Infekce dospělých – bakteriémie

Incidence primární bakteriémie je vyšší u mužů než u žen. Nejčastěji se vyskytuje u pacientů s krevními nádory anebo po transplantaci ledviny. Bakteriémie může u některých jedinců vést k rozvoji nemoci centrálního nervového systému se špatnou prognózou (Greenwood, 2007).

8.6 Terapie

Listeria monocytogenes je citlivá k širokému spektru antibiotik. Mezi ně patří penicilin, ampicilin, vankomycin, tetracykliny, chlorafenikol, aminoglykosidy, erytromycin, trimethoprim-sulfamethoxazol (TMP/SMX) a imipenem. V léčbě listeriózy se velmi dobře osvědčují fluorované chinolony a azithromycin, obě dvě léčiva jsou schopna skvěle proniknout do buňky a představují možnou budoucnost v léčbě listeriózy. Stále se ovšem neupustilo od léčby vysokými dávkami ampicilinu, který je hlavním lékem v případě nákazy. V případě potřeby se ampicilin kombinuje pro zvýšení efektivity s dalším antibiotikem např. gentamicinem. Pokud je pacient alergický na penicilinová antibiotika může mu být podán TMP/SMX s amoxicilinem. Kvůli vyšší účinnosti ampicilinu vůči TMP/SMX musí dojít k definitivnímu potvrzení alergie. Listérie jsou primárně rezistentní na všechny cefalosporiny. U novorozenců s meningitidou se ampicilin podává empiricky kvůli likvidaci případnému výskytu listérie nebo *Streptococcus agalactiae* (Temple, 2000; Votava, 2003; Greenwood, 2007; Votava 2010; Procop, 2017).

Délka léčby se odvíjí od místa postižení a množství postižených orgánů. V případě bakteriémie a bakteriémie v těhotenství probíhá léčba dva týdny. U nemocných s akutní meningitidou probíhá léčba po dobu jednadvaceti dní. Další onemocnění jako je infekční endokarditida, mozkový absces nebo infekce kloubů vyžadují léčbu celý měsíc až dva. V případě infekce kloubů je potřeba brát TMP/SMX až do konce života (Temple, 2000).

Důležitou roli v léčbě také hraje imunitní stav pacienta. Lidé postižení virem HIV mohou potřebovat celoživotní léčbu z důvodů rizika návratnosti nemoci. (Procop, 2017).

8.7 Prevence

Specifický způsob prevence vůči bakterii neexistuje. Existují ovšem určitá doporučení a postupy, kterými se může člověk chránit, a kterými chrání potravinářské společnosti své zákazníky. Vzhledem k všudypřítomnosti patogenu je hlavním krokem při prevenci správné

zpracování potravin už na výrobní lince před dodáním do obchodů. Musí být dodržovány přísné zásady výrobní praxe, hygienické postupy a účinná kontrola teploty během celého procesu výroby. Jakým způsobem je s potravinou zacházeno, jak je distribuována a skladována může omezit růst bakterie. V potravinářském průmyslu probíhají pravidelné kontroly výskytu bakterie. Je nutné dodržovat systém analýzy rizika a stanovení kritických kontrolních bodů tzv. HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points). Zvýšená pozornost se věnuje potravinám, které před konzumací nepotřebují projít tepelnou úpravou (Slutsker, 1999; Votava, 2003; Brychta, 2018).

Stejně jako u jiných onemocnění z potravy, salmonelóza nebo kampylobakterií, i zde jsou určitá doporučení, která by měl každý člověk dodržovat, aby předešel nákaze. Mezi preventivní opatření se řadí pořádné umytí syrové zeleniny. Dále se doporučuje oddělovat syrové jídlo od uvařeného, při přípravě masa jej pořádně uvařit a nejíst ho syrové, vyhýbat se nepasterizovanému mléku nebo potravinám z tohoto typu mléka a v neposlední řadě umývat si ruce, nože a pracovní plochu, na které se jídlo připravuje. Důvod potřeby separace potravin uvařených od neuvařených a důraz na dostatečnou tepelnou úpravu je důležitý kvůli teplotní rezistenci bakterie (Slutsker, 1999; Brychta, 2018).

Těhotné ženy a lidé s poruchou imunity by měli podstoupit jistá omezení v jídelníčku kvůli snížení riziku nákazy. Měli by se vyhnout kontaktu s lidmi trpícími listeriózou, dále pak vynechat některá jídla jako je měkký sýr např. camembert, mexický sýr nebo niva. Jídla, která jsou kupována jako předpřipravená, by měla být před konzumací zahřáta na co nejvyšší teplotu. Tito lidé by se také měli vyhnout potravinám z lahůdek a případné uzeniny by měly být zahřáté na vysokou teplotu (Faber, 1991; Slutsker, 1999; Janakiraman, 2008).

Pokud již k rozšíření infekce došlo musí dojít k zavedení represivních protiepidemických opatření. Ta zahrnují v první řadě nahlášení onemocnění a následně pátrání po zdroji nákazy. Hledání zdroje nákazy v České republice provádí veterináři ve spolupráci se státní zemědělskou a potravinářskou inspekcí (SZPI) (Hamplová, 2015).

9. DIAGNOSTIKA

Standartní metody k detekci a izolaci bakterie jsou metody založené na kultivaci na půdách obohacených o složky, které podporují růst *Listeria spp.* Jednotlivé druhy jsou poté od sebe odlišovány na základě různé morfologie kolonií, fermentace cukrů a hemolytických vlastností. Tyto metody jsou spolehlivé, ale také časově náročné a nemusí být vhodné pro testování potravin s krátkou životností. Z těchto důvodů se i v praxi začínají využívat metody

rychlejší se stejnou citlivostí jako kultivace. Hlavní metodou, která se v dnešní době používá, je metoda MALDI-TOF. Další novodobé metody, které se využívají ke stanovení přítomnosti bakterie jsou metody založené na protilátkách (ELISA) nebo na molekulárních technikách (PCR, hybridizace DNA). Dalším způsobem detekce je využití metod cílících na RNA spíše než na DNA. Tohoto způsobu detekce využívá metoda real-time PCR (RT-PCR) nebo amplifikace sekvencí na bázi nukleové kyseliny (NASBA). Tyto testy poskytují informace o životaschopnosti buněk a mohou být využity k podávání informací o množství bakterie ve vzorku, kvantitě. Dále se využívají testy, které dokáží určit jednotlivé sérotypy bakterie což je důležité u řešení původu onemocnění. Včasné metody typizace rozlišují izoláty na základě fenotypových markerů jako je multilokusová enzymová elektroforéza, fágová typizace a sérotypizace. Tyto metody ovšem bývají nahrazeny molekulárními testy, které dokáží určit i genetické vztahy mezi izoláty a jsou v mnohém přesnější. Nejnovější metody, které se využívají jak v určování bakterie, tak i v sérotypizaci jsou prozatím využívány primárně ve výzkumných zařízeních (Gasarov, 2005).

Listérie izolovaná z biologického materiálu může být nalezena v krvi, mozkomíšním moku, plodové vodě a biopsii tkáně plodu nebo matky. Přímým nanesením vzorku na plotnu dojde při pozitivitě přes noc k nárustu kolonie. Listerie se mohou po Gramově barvení projevovat různě, mohou být různé morfotypy *Listeria monocytogenes*. Může dojít k záměně za difteroidy nebo za určité typy streptokoků, nejčastěji *Streptococcus pneumoniae*, enterokoky a *Streptococcus viridans* (Procop, 2017).

Izolace a detekce listerií v potravinách se řídí metodami schválenými Mezinárodní organizací pro normalizaci (ISO) (ISO 112090), Evropskou komisí, Evropským parlamentem, EFSA (European Food Safety Authority) a ECDC (European Center for Disease Prevention and Control). Důležitou roli v detekci a výběru metody hraje matrix potraviny, kterou je třeba analyzovat. Způsob izolace a detekce *Listeria monocytogenes* z jiného než biologického materiálu (např. z potravin, životního prostředí) se liší od metod používaných pro izolaci z lidských klinických vzorků. Metoda ISO 112090 se skládá ze dvou kroků. V prvním kroku dojde k přenesení vzorku z potravin do Fraserova bujónu na dobu 24 hodin. Poté se alikvotní podíl převede do plného Fraserova bujónu pro další zkoncentrování. Fraserův bujón obsahuje selektivní činidla akriřavin, kyselinu nalidixovou a eskulin, což umožňuje detekci aktivity β -D-glukosidázy listérie. V případě aktivity dojde k zčernání média. Primární i sekundární obohacený bujón se přenesou na agary Oxford a PALCAM (Gasarov, 2005; Brychta, 2018).

9.1 Mikroskopie

Důležitou roli ve správném stanovení a určení přítomnosti bakterie hraje mikroskopie. Ve větší míře se provádí mikroskopie fixovaného a barveného preparátu. Provádí se u téměř všech vzorků. Mikroskopie hraje důležitou roli u diagnostiky likvoru. V přítomnosti malého množství bakterie může dojít k falešně negativnímu určení (Votava 2003).

V případě mikroskopického pozorování nativního preparátu je možné vidět pod mikroskopem typický kotrmelcový pohyb, který listérie vykonávají. Podmínkou k tomu, aby se listérie hýbali, je inkubace při pokojové teplotě. Jestliže bakterie přijde do teploty kolem 37 °C stává se nepohyblivou (Votava 2010; Greenwood, 2012).

V případě barvení preparátu se využívá barvení dle Grama, které rozděluje bakterie na dvě základní taxonomické skupiny, Gram pozitivní a Gram negativní. Listérie se řadí mezi bakterie Gram pozitivní což se mikroskopicky projevuje modrofialovým zbarvením mikroba (Votava 2010).

9.2 Kultivace

Důležitou roli hraje i kultivace, která má nezastupitelnou roli především pro další práci s kmenem. Tímto způsobem lze také stanovit rezistence na antibiotika (Votava,2005).

Pro správný růst bakterie je důležité dodržení podmínek, při kterých dochází k ideálnímu růstu. Podmínky, které je třeba dodržet jsou dostatek vody, živin, správné pH a teplota, vhodný osmotický tlak, ochrana před zářením a sterilita prostředí. Obvykle dochází k inkubaci při 37 °C a po dobu jednoho až dvou dnů, záleží na typu zvolené plotny (Votava 2010).

Listeria monocytogenes dobře roste na ovčím krevním agaru (SBA), na kterém tvoří šedivo-bílé kolonie, které jsou velmi podobné koloniím tvořeným β – hemolytickými streptokoky skupiny B. Kvůli podobnosti chování listérie a streptokoků na agaru je potřeba vždy provést katalázový test, který mají listérie na rozdíl od streptokoků pozitivní. Po 12 až 24hodinové inkubaci se může u jednotlivých kolonií objevit omezená β -hemolýza, která nepřesahuje okraje kolonie. Při delší inkubaci, případně naočkování pomocí roztěru velkého množství inokula, dojde ke zvýraznění hemolýzy. Různé druhy listérií se vykazují různou úrovní hemolýzy. *L. ivanovii* na SBA nebo na krevním agaru s koňskou krví produkuje také β -hemolýzu, která je mnohem výraznější než u *Listeria monocytogenes*. Kdežto *L. seeligeri* prokazuje ještě méně výraznou hemolýzu než *L. monocytogenes* (Donnelly, 1999; Procop, 2017).

První specializovaný agar, na kterém se provádí separovaná kultivace *Listeria monocytogenes*, byl připraven v roce 1960 McBridem a Girardem. Je vyroben z fenylethanolového agaru, do které se přidá kombinace chloridu lithného, glycinu a ovčí krve. MLA agar může být modifikovaný a upravený na speciální požadavky kultivace. Příkladem modifikace agaru je přidání většího množství ovčí krve což zapříčiní částečnou rozlišovací schopnost a schopnost inhibovat pozadí mikroflóry. V průběhu dalších let došlo k dalším modifikacím jako přidání většího množství chloridu lithného. Tento typ agaru a jeho modifikace se využívá k detekci *Listeria monocytogenes* z fety, modrého sýru, cihlového sýru a za studena balených sýrových jídel (Donnelly, 1999).

Dalším typem agaru využívaného na detekci bakterie v potravinách je Oxford/MOX Agar, kdy je eliminována potřeba šikmého osvětlení agaru. Agar byl vyroben z krevního agaru přidáním několika dalších složek, mezi které patří fosfomycin, cefotetan, chlorid lithný, cykloheximid, akriflavin a sulfát kolistinu. Přidán byl i eskulin a citronan železito-amonný. Eskulin se při pozitivním růstu bakterie hydrolyzuje a dochází k černému zbarvení kolonií (Donnelly, 1999).

PALCAM agar je agar využívající se k selektivní kultivaci *Listeria monocytogenes*. Na tomto agaru je zcela inhibován růst *Escherichia coli* a částečně inhibována kultivace *Staphylococcus aureus*. V případě pozitivního růstu se listérie projevuje černým zbarvením. V případě kultivace na tomto agaru je potřeba dodržovat speciální podmínky. Základem je udržovat přesně stanovené složení ovzduší tzv. mikroaerobní podmínky. Doporučuje se upravit vzduch na 5 % O₂, 10 % CO₂, 85 % N₂. Tato úprava ovzduší se provádí pouze u PALCAM agaru (Donnelly, 1999).

Byla vyvinuta spousta dalších agarů, které jsou nějakým způsobem modifikovány na lepší zobrazení listerií. Ve většině případů se jedná o agary, u kterých dojde k biochemické reakci a kolonie se zabarví jinou barvou a dojde k usnadnění detekce. Jejich modifikace a různé úpravy umožňují detekovat listérie jak v mléce a mase, tak i v mořských plodech a zelenině. Bylo prokázáno, že všechny tři specializované agary případně jejich modifikace jsou si rovnocenné v detekci bakterie (Donnelly, 1999).

Ke správnému zhodnocení agarů a růstu kolonií se může použít Henryho technika šikmého osvětlení agaru. Při tomto postupu jsou plotny pozorovány šikmo přenášeným bílým světlem v úhlu 45° a druhý úhel odrazu světla je 135°. Tento způsob napomáhá snadnějšímu pozorování malých kolonií pod mikroskopem a jejich snadnému vyhodnocení. Při tomto

způsobu pozorování Henry zjistil, že kolonie mají namodralou či zelenou barvu, jsou malé, kulaté, jemné textury. Metoda byla upravena Lachicou, který si všiml, že pokud zamění úhly, pod kterými plotnu pozoruje a přidá zvětšení kolonie se dají mnohem lépe rozeznat a pozorovat. Ačkoliv se jedná o účinnou metodu pozorování z důvodu časové náročnosti není její využití v rutinní praxi možné a využívá se pouze ve výzkumu (Donnelly, 1999).

Inkubace se provádí při 30-37 °C, plotny jako MOX agar jsou inkubovány po dobu 48 hodin. Agary, které nejsou selektivní pro listérie mohou být vyhodnocovány již po 24 hodinách. Vzhledem k lepšímu růstu bakterie při omezeném přísunu kyslíku je regulováno i ovzduší, ve kterém se nechávají plotny inkubovat (Donnelly, 1999).

Bakterie je schopná specifického pohybu, který můžeme pozorovat v kultivačním médiu. V případě positivity výskytu se ve zkumavce se speciálním agarem a naočkovanou bakterií objeví deštníkovitý tvar poruchy agaru. Typický pohyb bakterie je používán k diferenciaci od *Corynebacterium spp.* Bývalý druh corynobakterií *Leifsonia aquatica*, dříve *Corynebacterium aquaticum*, je také pohyblivý, kataláza pozitivní a gram pozitivní bakterie, ale není schopná hemolýzy. Dnes tento druh řadíme do jiné taxonomické skupiny (Procop, 2017).



Obrázek 4 Deštníková zóna růstu listérie v SIM médiu (převzato z Thistle QA)

9.3 Biochemické testy

9.3.1 CAMP test

Dalším způsobem identifikace listérie je CAMP test. Test je založený na principu křížového naočkování zkoumaného kmene přes stafylokokovou čáru (*Staphylococcus aureus*). Pozorují se hemolytické změny na krevním agaru. K změnám v hemolýze dochází v místě překřížení. Různými změnami a jejich interpretací můžeme od sebe rozeznat kolonie *Streptococcus agalactiae*, *Arcanobacterium haemolyticum* a *Listeria monocytogenes*. CAMP test se může také využít na rozlišení jednotlivých druhů listérií od sebe. Konkrétně se jedná o odlišení *L. monocytogenes* od *L. ivanovii*. V případě naočkování *L. ivanovii* přes *Staphylococcus aureus* nedojde k tvorbě hemolýzy a test hodnotíme jako negativní. Pokud se ovšem použije místo *Streptococcus aureus* bakterie *Rhodococcus equi* CAMP test vyjde pro *L. ivanovii* pozitivně (Votava, 2005; Votava 2010; Procop, 2017).

9.3.2 Katalázový test

Katalázový test je test na stanovení biochemické aktivity a zjištění přítomnosti peroxidázy v bakterii. Bakteriální kolonie se rozmíchá v kapce peroxidu vodíku a v případě positivity dojde k tvorbě bublinek O_2 . *Listeria monocytogenes* je kataláza pozitivní, fakultativní, Gram pozitivní mikrob. Na základě pozitivního katalázového testu lze listérie odlišit od streptokoků skupiny B (Procop, 2017).

9.3.3 Fermentace cukrů

Dalším biochemickým testem, kterým lze odlišit listérie od jiných bakterií, ale i odlišit listérie mezidruhově, je test fermentace cukrů. Jedná se o fermentaci D-xylózy a D-manitolu. V obou případech je *Listeria monocytogenes* negativní a cukry nefermentuje. Dokáže ovšem fermentovat L-rhamnózu a α -methyl-D-manosid a v tomto případě reakce vychází jako pozitivní (Geenwood, 1999).

9.3.4 API® Listeria test

Jedná se o semikvantitativní metodu využívanou k určení enzymatických aktivit bakterie. Enzymatická aktivita je testována v standardizovaných a miniaturních testovacích prouzcích, které jsou vyhodnocovány pomocí komplexních identifikačních databází. Nejdříve se z několika kolonií bakterií, sebraných z agaru, vytvoří suspenze, která se přenesse do kapslí, ve kterých se vyskytují jednotlivé reagenty. U těchto reagentů se poté zjišťuje pozitivita či negativita reakce. Testovací kit na detekci listérie se sestává z deseti testů. Diferenciace *L. innocua* a *L. monocytogenes* založená na přítomnosti či nepřítomnosti arylamidázy (DIM

test), hydrolyza eskulinu, přítomnost ox-mannosidázy a produkce kyseliny z D-arabitolu, D-xyulózy, L-ramnózy, α -methyl-D-glukosidu, D-ribózy, glukázy-1-fosfátu a D-tagatózy. Podle jednotlivých pozitivních výsledků od sebe jsme schopni odlišit různé druhy listerií, výsledky pozitivity či negativity jsou uvedeny na obrátku níže (Bille, 1992; Anonym, 2019).

TABLE 1. Identification scheme of *Listeria* species on the API *Listeria* system as provided by the manufacturer

Test	Test results ^a with:						
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. ivanovii</i> subsp. <i>ivanovii</i>	<i>L. ivanovii</i> subsp. <i>londoniensis</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. grayi</i>
DIM	-	+	+	V	V	V	+
Esculin hydrolysis	+	+	+	+	+	+	+
α -Mannosidase	+	+	-	-	-	+	V
Acidification of:							
D-Arabitol	+	+	+	+	+	+	+
D-Xylose	-	-	+	+	+	+	-
L-Rhamnose	+	V	-	-	-	V	-
α -Methyl-D-glucoside	+	+	+	+	+	+	V
D-Ribose	-	-	-	+	-	-	+
Glucose-1-phosphate	-	-	-	+	V	-	-
D-Tagatose	-	-	-	-	-	+	-

^a +, positive reaction; -, negative reaction; V, variable reaction.

Obrázek 5 Identifikační schéma *Listeria* spp pomocí API® *Listeria* systému (převzato z Bille, 1992)

9.4 Sérologické testy

Immunoanalytické metody založené na reakci protilátka antigen specifických pro listerii se využívají primárně v potravinářském testování. Metody jsou atraktivní hlavně pro svou jednoduchost, citlivost, přesnost a možnost provést testování přímo z obohaceného média bez přípravy vzorku. Metody, které se provádí v praxi jsou ELISA nebo aglutinace (Gasanov, 2005).

9.4.1 Immuno-capture

Immuno-capture je elegantní metoda, při které se využívají magnetické perličky nebo dipové tyčky obalené specifickými protilátkami. Tyto částice se využívají k separaci listerie od kompetitivní mikroflóry a inhibičních složek potravin. Dojde ke zkoncentrování mikroorganismu a zvýšení senzitivity testu. Spojením zachycovací metody a metody molekulární můžeme snáze rozpoznat jednotlivé podtypy bakterie. Základním principem metody je odlišení *Listeria monocytogenes* od ostatních druhů. Rozlišení je založeno na protilátkách specifických proti virulentním faktorům, které jsou produkované *Listeria monocytogenes*. Toto využití metody je značně úspěšné a zařazuje se do laboratorní praxe (Gasanov, 2005).

9.5 Molekulární metody

K typizaci kmenů se používají molekulárně epidemiologické metody, které jsou založené na vyšetření DNA. DNA je rozštěpena restričními endonukleázami na fragmenty, které jsou následně rozděleny v elektrickém poli. Každý organismus má jedinečný profil DNA. Nejlevnější a nejsnadnější je restriční a endonukleázová analýza plazmidové DNA a restriční endonukleázová analýza chromozomální DNA (Votava, 2005).

9.5.1 PCR

Jedná se o metodu založenou na rychlém zmnožení úseku DNA a na replikaci nových nukleových kyselin. Úseky DNA, které je třeba amplifikovat, se označí krátkými sekvencemi tzv. primery, podle kterých jsou rozeznávány jako cílové. K syntéze nového vlákna DNA se nejčastěji používá termostabilní DNA polymeráza bakterie *Thermus aquaticus*, *Taq* polymeráza. Celá reakce probíhá v zařízení zvaném termocykler, které dokáže měnit teploty během několika sekund. Dokáže teplotu, jak zvyšovat, tak i snižovat o několik desítek stupňů Celsia. Metoda je natolik citlivá, že dokáže odhalit i jedinou molekulu DNA ve vzorku (Votava 2005).

Polymerázová řetězová reakce probíhá ve třech krocích. Nejdříve dochází k denaturaci hledané DNA na dvě izolovaná vlákna. Po ochlazení se na vlákna připojují primery, což jsou dva krátké syntetické nukleotidy, které označí hledaný úsek DNA. Poté se do reakce připojí *Taq* polymeráza, která prodlužuje primery a vzniká na každém vlákně DNA kopie její hledané sekvence. Po nalezení potřebné sekvence dojde k amplifikaci. Amplifikovaná DNA se následně prokazuje elektroforézou a následným barvením. K průkazu určitého agens lze pátrat po jakémkoliv mikroorganismu. Jsou k tomu potřeba univerzální primery, které umožňují amplifikaci kterékoli bakterie či kvasinky (Votava 2005).

V případě detekce *Listeria monocytogenes* v likvoru využíváme metody real-time PCR. Primer je navržený k detekci genu *hly*, který kóduje listeriolysin O. Metoda je velmi citlivá a je možné detekovat jedinou kopii genu v mililitru vzorku (Le Monnier, 2011).

Metoda využívá k detekci *Listeria monocytogenes* charakteristické sekvence jejího genomu. Nález sekvence potvrzuje výskyt bakterie ve vzorku (Gasarov, 2005).

Molekulárně-genetické metody jsou velmi dobře citlivé v případě čistých bakteriálních kultur, ovšem při stanovování složitějších matric dochází ke snížení citlivosti. Důležitou roli hraje správná separace mikroorganismu před samotnou analýzou pomocí metod fyzikálně-chemických nebo imunochemických (Gasarov, 2005; Procop, 2017).

9.6 Druhá identifikace mikroorganismů hmotnostní spektrometrií MALDI – TOF

MALDI – TOF je zkratka z anglického názvu – Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization, s analyzátozem doby letu Time of Flight. Jedná se o metodu, pomocí které jsme schopni rychle a velmi přesně identifikovat bakterii, plíseň či kvasinku izolovanou z biologického materiálu, ze zvířat, potravin a ze vzorků prostředí. Hlavními výhodami této metody je vysoká přesnost a aplikovatelnost na široké spektrum mikroorganismů. Z ekonomického hlediska se jedná o efektivní metodu, která je rychlejší než tradiční metody využívané k analýze vzorku.

Vzorek pro analýzu se připraví přenosem individuální kolonie mikroorganismu na určitou pozici nosiče – terčiku MALDI target. Vzorek je ošetřen speciální maticí a usušen. Jestliže tato metoda přípravy vzorku není úspěšná, lze přistoupit ke složitější metodě přípravy vzorku, extrakci bílkovin. Směs matrice a vzorku je poté ozářena nanosekundovým pulsem z laseru hmotnostního spektrometru MALDI-TOF. Po ozáření matrice absorbuje energii pulsu a její rozklad ionizuje molekuly vzorku, hlavně ribosomální proteiny. Pozitivně nabití ionty jsou urychleny silným elektrickým polem a přestupují do vakua v trubici detektoru. Zde se pohybují rychlostí, která je úměrná jejich hmotnosti a náboji. Doba letu iontů se měří a poté se přepočítá na poměr molekulové hmotnosti a náboje.

Záznam získaný z této analýzy se nazývá hmotnostní spektrum. Tato spektra jsou pro velký počet mikroorganismů druhově specifická. Díky tomu se může metoda využít k potvrzení či vyvrácení přítomnosti bakterie. Výsledky jsou interpretovány pomocí databází, ve kterých se nachází referenční hmotnostní spektra identifikátorů pro jednotlivé kmeny mikroorganismů získaná opakovanou analýzou referenčních kmenů. Srovnávací algoritmus po porovnání jednotlivých spekter mezi sebou vydá výsledek v podobě skóre, které vyjadřuje shodu hmotnostního spektra vyšetřovaného materiálu s hodnotami referenčního molekulárního indikátoru v databázi. Vlastní interpretaci výsledku musí provést mikrobiolog. V některých případech je potřeba provést další konfirmační vyšetření pro potvrzení či vyloučení přítomnosti bakterie (Jurinke, 2004; Patel, 2014; SVÚ Jihlava, 2019).

10. DISKUZE

Cílem této práce bylo shrnout základní informace o *Listeria spp.* V průběhu minulého i současného století bylo vydáno několik publikací zabírajících se touto problematikou. Jednou z prvních těchto publikací byla kniha vydaná v roce 1961 od H. P. R. Seeligera s titulem *Listeriosis*. Aktuální česká kniha, která se této problematice věnuje, byla vydána v roce 2018 národní referenční laboratoří pro *Listeria monocytogenes*, při SVÚ Jihlava s titulem *Výskyt Listeria monocytogenes v potravinách a riziko onemocnění pro člověka*. Z časového rozpětí, ve kterém byly obě knihy napsány, lze usuzovat že listerióza je stále aktuálním a probíraným tématem.

Výskyt *Listeria spp.* je z historického hlediska potvrzený již v počátcích minulého století. První bakterii, u které byla z rodu *Listeria spp.* potvrzena jako patogenita je *Listeria monocytogenes*. Jediná další bakterie, která má schopnost u člověka vyvolat listeriózu je *Listeria ivanovii*. Ostatní druhy *Listeria spp.* jsou pro člověka nepatogenní a mohou se vyskytovat v lidském těle bez rizika projevu nemoci. Způsob přenosu bakterie na člověka je možný ze zvířete nebo z potravin. Přenos z člověka na člověka je možný pouze v případě těhotných žen, kdy se nakaženým ženám narodí nemocné dítě. Případně je možný přenos v případě novorozence kojeného matkou, která má v mateřském mléce listérie (Bednář, 1996; Votava, 2003; Hof, 2003).

Listerióza je onemocnění, kterým primárně trpí lidé s kompromitovanou imunitou. Nejčastěji jí onemocní těhotné ženy, starší občané, lidé nakažení HIV a lidé, kteří mají z jakýchkoliv důvodů porušenou střevní mikroflóru případně narušenou obranyschopnost. Důvod, proč bakterie napadá tyto skupiny lidí snáz, je díky jejímu prostupu do těla hostitele. Po prostupu bakterie přes stěnu střeva dojde k jejímu transportu do krve, kde v případě sníženého množství složek imunitního systému (např. lymfocyty, neutrofilie) nedojde k rozeznání antigenu protilátkami a buňka se může snadno množit dál a rozšířit se více do těla, napadat další orgány. Jak už bylo výše zmíněno listérie je schopna infikovat i zdravé jedince, dochází k tomu ovšem ojediněle a ve větším množství případů ani člověk nemusí vědět, že průjem, kterým trpí, je způsobený listerií.

V práci byla uvedena data, týkající se incidence výskytu v České republice mezi lety 2008–2017. V tomto období nedošlo k žádné velké epidemii a výskyt nemoci byl sporadický, a ne neobvyklý v porovnání se světem, kde v uplynulých letech došlo k několika epidemiím. Nejdéle datovaný případ výskytu listeriózy na našem území pochází z období poloviny

minulého století, kdy u nás stejně jako v Německu, došlo ke zvýšené úmrtnosti novorozenců (Bednář, 1996). V minulých dvou letech došlo k velké epidemii na území Afriky. Dle údajů uvedených na SZÚ a NICD se jednalo o jednu z největších epidemií způsobenou *Listeria monocytogenes*. Hlavním důvodem propuknutí takto velké epidemie byly špatně zpracované uzeniny v továrně na území Afriky. Věk nemocných se pohyboval od čerstvě narozených až po 93leté lidi (věkový medián 18 let) ze všech nemocných (999) největší procentuální část zaobírali novorozenci mladší nebo staří 28 dní s 42 % výskytem nemoci. 96 % nemocných novorozenců (396/412) mělo časný nástup nemoci. Nejvíce případů výskytu listeriózy bylo nahlášeno v provincii Gauteng v JAR. Jedná se o více než polovinu všech případů (59 %). Listerie byla nejvíce detekovaná pomocí hemokultury na krevním agaru, kde se projevuje hemolýzou. Následně se provedli testy na odlišení *Listeria monocytogenes* od jiných bakterií, které jsou schopné hemolyzovat. Z informací uvedených v této práci lze předpokládat, že všechny větší epidemie, ke kterým v uplynulých letech došlo, měly nějakou spojitost s potravinami, u kterých došlo v pochybení již v přípravné fázi v továrnách (Home – NICD, 2018).

K diagnostice listerií se využívají základní metody od mikroskopie přes kultivaci až po biochemické testy. V případě kultivace se využívá speciálně modifikovaných agarů, které mají schopnost na základě rozdílných biochemických reakcí, kterých je bakterie schopna, určit pozitivní výskyt bakterie ve vzorku. Díky těmto půdám jsme schopni rozlišit i některé druhy listerií mezi sebou. Častější metodou na rozlišení dvou různých druhů od sebe jsou biochemické testy jako například API® *Listeria* test či molekulární metody jako je PCR nebo real-time PCR. PCR je metoda, která se nově zařazuje do praxe v diagnostice této bakterie. Důležitou roli v diagnostice hraje metoda MALDI-TOF, která se využívá k potvrzení přítomnosti bakterie ve vzorku a je schopna rozlišit jednotlivé druhy bakterií mezi sebou.

Jak je uvedeno v kapitole 7.7. hlavním způsobem, kterým se člověk může bránit proti nákaze je prevence. Člověk by měl dbát na zvýšenou opatrnost u některých typů potravin, jako jsou zrající sýry, nepasterizované mléko, jídlo připravené k okamžité konzumaci nebo uzené ryby. Všechny tyto potraviny v minulosti byly zdrojem nákazy a je u nich předpokládán vyšší výskyt listerií než u jiných potravin. Ovšem ani tak by nemělo množství bakterie překročit stanovené hodnoty. Ochrana proti nákaze spočívá ve správné tepelné úpravě potravin, před pozřením, dále by se měl klást důraz oplachování zeleniny před přípravou.

V případě nákazy je povinností laboratoře a lékaře nákazu hlásit. Dalším krokem je hledání zdroje nákazy a zabránění dalším nákazám. V případě propuknutí epidemie je hlavním krokem zabránění dalšímu šíření a stažení kontaminované potraviny z trhu. V případě globálního problému je důležité informovat obyvatele a případné konzumenty produktu, před možnou nákazou a nebezpečím.

V případě potvrzení listeriózy se nasazuje léčba antibiotiky. Hlavním antibiotikem, které se používá, je ampicilin v kombinaci s nějakým dalším antibiotikem, kupříkladu gentamicinem. Pokud pacient trpí alergií na penicilin je u něj nasazena léčba nepenicilinovými antibiotiky jako je TMP/SMX nebo amoxicilin. Doba trvání terapie se odvíjí od množství mikroba v těle a jeho rozšíření do důležitých orgánů. Léčba může probíhat dva týdny nebo klidně i celý rok a u některých pacientů je nutné nasadit celoživotní léčbu antibiotiky.

11. ZÁVĚR

Bakalářská práce se zabývá bakteriemi rodu *Listeria*. V práci byla popsána historie výskytu, obecná charakteristika rodu, morfologie, kultivace a antigenní struktura. Větší pozornost jsem věnovala druhu *Listeria monocytogenes*, který je hlavním patogenem u lidí. U tohoto druhu jsem popsala mechanismus, kterým bakterie napadá svého hostitele, faktory virulence, patogenitu, patogenezí a klinické projevy listeriózy u člověka. V práci se věnuji epidemiologii a historickým okamžikům, kdy došlo ke zvýšenému výskytu bakterie v potravinách.

Dále jsem se zaměřila na způsoby detekce a diagnostiky bakterie v biologickém materiálu a potravinách, které jsou hlavním zdrojem nákazy. V biologickém materiálu se přítomnost bakterie detekuje snadno díky β -hemolýze, kterou tvoří na krevním agaru. Poté se jen provedou selektivní testy, aby došlo k rozlišení od jiných druhů. Provádí se i testy na rozlišení jednotlivých sérotypů či druhů listerií mezi sebou. U potravin záleží na matrix, ze které je potřeba bakterii izolovat a následně se většinou provádí kultivace na selektivních agaroch, pro kultivaci *Listeria spp.*

V neposlední řadě se také práce věnuje terapii a způsoby prevence proti nákaze. Výskyt listeriózy je v České republice sporadický a v průměru dochází k hlášení přibližně 37 případů za rok. K poslednímu velkému výskytu nemoci u nás došlo v roce 2006. Ve světě k němu došlo v letech 2017–2018 a to konkrétně v jižní Africe. Hlavním způsobem obrany proti nákaze je prevence, která je regulována a kontrolována státními orgány. V případě rizikových skupin je důležité preventivně vyřadit potraviny, u kterých je předpokládán vyšší výskyt bakterie, z jídelníčku. Zvýšenou pozornost musí věnovat i lidé, kteří se dostanou do kontaktu se zvířaty, u kterých je potvrzený přirozený vyšší výskyt bakterie v přirozené střevní mikroflóře.

12. SEZNAM ZKRATEK

<i>ActA</i>	membránový protein aktivující polymerizaci aktinu
Arp 2/3	actin-related protein 2/3 (protein související s aktinem 2/3)
C1q	komponenta komplementu 1q
CA	homologie kofilinu
Cfu/ml	Colony forming unit/mililiter (kolonie tvořící jednotky/mililitr)
CNS	centrální nervová soustava
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
ECDC	Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points (Systém analýzy rizika a stanovení kritických kontrolních bodů)
HIV	Human imunodefficiency virus
<i>hly</i>	gen kódující listerolysin O
<i>inlA</i>	insternalin A
<i>inlB</i>	internalin B
<i>inlC</i>	internalin C
ISO	International Organization for Standardization (Mezinárodní organizace pro normalizaci)
JAR	Jihoafrická republika

LLO	Listeriolysin O
LRR	proteiny bohaté na leucinové repetice
MALDI – TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (Hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátozem)
MLA	Modified Lethen Agar (modifikovaný Lethenův agar)
MOX agar	Modified Oxford agar (modifikovaný Oxfordský agar)
MPA	Monocytosis producing agent
<i>mpl</i>	gen kódující metalloproteázu
NaCl	chlorid sodný
NASBA	Nucleic acid sequence based amplification (Amplifikace založená na sekvenování nukleové kyseliny)
NICD	Národní ústav pro přenosné nemoci
N-WASP	protein regulující polymerizaci aktinu
PCR	Polymerázová řetězová reakce
<i>plcA</i>	gen kódující fosfatidylinositol-specifickou fosfolipázu C
<i>plcB</i>	gen kódující fosfatidylcholin-specifickou fosfolipázu C
PrfA	pozitivní regulační faktor
Real – time PCR	kvantitativní polymerázová řetězová reakce
RNA	Ribonukleová kyselina
RTG snímek	rentgenový snímek

RT-PCR	polymerázová řetězová reakce s reverzní transkriptázou
SBA agar	Sheep blood agar (agar s ovčí krví)
SIM médium	Sulfide, indol, motility medium (Sulfid, indol, pohyblivost médium)
SVÚ	Státní veterinární ústav
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce
TMP/SMX	trimethoprim-sulfamethoxazol
TMR	tetramethylrhodamine
USA	Spojené státy americké

13. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Bakterie <i>Listeria monocytogenes</i> (převzato z Bureau of Social Welfare and Public Health).....	11
Obrázek 2 (A) Rozvětvený aktinový mrak a aktin samotný. (B) (C) (D) (E) ocas aktinové komety s rozvětveným aktinem. Měřítka 1 μm .(převzato z: BRIEHER,2004)	25
Obrázek 3 <i>Listeria monocytogenes</i> pohybující se v různě modifikovaném prostředí. Měřítka 10 μm . (převzato z: BRIEHER,2004)	25
Obrázek 4 Deštníková zóna růstu listérie v SIM médiu (převzato z Thistle QA)	36
Obrázek 5 Identifikační schéma <i>Listeria</i> spp pomocí API® <i>Listeria</i> systému (převzato z Bille, 1992).....	38

14. SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Výskyt listeriózy v ČR (absolutně) v letech 2008–2017 (převzato z SZÚ 2019).....	16
Graf 2 Výskyt listeriózy v ČR (relativně na 100 000 obyvatel) v letech 2008–2017 (převzato z SZÚ 2019).....	17

15. SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Incidence listeriózy v určité populaci vystavené riziku (na 100 000 obyvatel) (převzato z HOF, H. History and epidemiology of listeriosis)	15
Tabulka 2 Incidence <i>Listeria</i> spp. v nemyté syrové zelenině pěstované v Minneapolis, Minnesota. Období mezi říjnem 1987 a srpnem 1988 (převzato z BRACKETT, 1999).....	22
Tabulka 3 Charakteristika adnatní listeriózy (převzato z PEUTHERER; 1999)	29

16. POUŽITÁ LITERATURA

16.1 Tištěné zdroje

BEDNÁŘ, M. a kol.: Lékařská mikrobiologie. Marvil, Praha, 1996

BRACKETT Robert E. Incidence and behaviour of *Listeria monocytogenes* in products of plant origin. 1999. In: *Listeria, listeriosis, and food safety*. 2nd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 92. ISBN 0-8247-0235-2. str. 631-655.

BRYCHTA, Josef. Výskyt *Listeria monocytogenes* v potravinách a riziko onemocnění pro člověka. Praha: Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny, 2018. ISBN 978-80-88019-31-2.

DEMNEROVÁ, Kateřina. Laboratoř mikrobiologického zkoumání potravin. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-957-0.

DONNELLY Catherine W. Conventional methods to detect and isolate *Listeria monocytogenes*. 1999. In: *Listeria, listeriosis, and food safety*. 2nd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 92. ISBN 0-8247-0235-2. str.225-260

FENLON, David R. *Listeria monocytogenes* in the Natural Environment, 1999. In: *Listeria, listeriosis, and food safety*. 2nd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 92. ISBN 0-8247-0235-2. str. 21-37.

GRAVES Lewis M, SWAMINATHAN Bala, HUNTER Susan B., Subtyping *Listeria monocytogenes*. 1999. In: *Listeria, listeriosis, and food safety*. 2nd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 92. ISBN 0-8247-0235-2. str.279-297.

GREENWOOD, David, Richard C. B. SLACK, John F. PEUTHERER a Mike BARER. *Medical microbiology : A guide to microbial infections: Pathogenesis, immunity, laboratory diagnosis and control*. 17th ed. Edinburgh Churchill Livingstone: Churchill Livingstone, 2007, 738 s. ISBN 978-0-443-10209-7.

HAMPLOVÁ, Lidmila. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena pro bakalářské studium a všechny typy zdravotnických škol*. V Praze: Stanislav Juhaňák - Triton, 2015. ISBN 978-80-7387-934-1.

JULÁK, Jaroslav. Úvod do lékařské bakteriologie. Praha: Karolinum, 2006. ISBN 80-246-1270-4.

KUHN Michael, GOEBEL Werner. Pathogenesis of *Listeria monocytogenes*. 1999. In: *Listeria, listeriosis, and food safety*. 2nd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 92. ISBN 0-8247-0235-2. str. 97-130

KUHN Michael, SCORTTI Mariela, VÁZQUEZ-BOLAND A. José. Pathogenesis. 2008. In: *Handbook of Listeria monocytogenes*. Boca Raton: Taylor & Francis, c2008. ISBN 978-1-4200-5140-7. str. 97-136

PEUTHERER, John Forrest, Richard C. B. SLACK a David GREENWOOD. Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie. Vyd. 1., čes. Praha: Grada, 1999. ISBN 80-7169-365-0.

PROCOP, Gary W. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Seventh edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health, [2017]. ISBN 9781451116595.

ROCOURT Jocelyne. The genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: Phylogenetic position, taxonomy, and identification. 1999. In: *Listeria, listeriosis, and food safety*. 2nd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 92. ISBN 0-8247-0235-2. str.1-20.

RYSER Elliot T. Foodborne Listeriosis. 1999. In: *Listeria, listeriosis, and food safety*. 2nd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 92. ISBN 0-8247-0235-2. str.299-388

SLUTSKER Laurence, SCHUCHAT Anne. Listeriosis in humans. 1999. In: *Listeria, listeriosis, and food safety*. 2nd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 92. ISBN 0-8247-0235-2. str. 75-96

VOTAVA, M., 2005. Lékařská mikrobiologie obecná. Brno: NEPTUN. ISBN 80-86850-00-5.

VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie – vyšetřovací metody. Brno: Neptun, c2010. ISBN 978-80-86850-04-8.

VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie speciální. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

WAGNER M, MCLAUHLIN Jim., Biology. 2008. In: Handbook of Listeria monocytogenes. Boca Raton: Taylor & Francis, c2008. ISBN 978-1-4200-5140-7. str. 3-25.

16.2 Elektronické zdroje

ANONYM. Aktuální informace k počtu onemocnění listeriózou. Ministerstvo zdravotnictví České republiky [online]. Copyright © 2010 [cit. 28.02.2019]. Dostupné z: http://www.mzcr.cz/dokumenty/aktualni-informace-k-poctu-onemocneni-listeriozou_863_871_1.html

ANONYM. Aktuální informace o listerióze ke dni 10. ledna 2007. Ministerstvo zdravotnictví České republiky [online]. Copyright © 2010 [cit. 28.02.2019]. Dostupné z: http://www.mzcr.cz/dokumenty/aktualni-informace-o-listerioze-ke-dni-ledna_859_871_1.html

ANONYM. API® | bioMérieux Česká republika. *bioMérieux Česká republika* [online]. Dostupné z: <https://www.biomerieux.cz/produkty/apir>

ANONYM. Frozen corn likely source of ongoing Listeria monocytogenes outbreak. *Redirecting to http://ecdc.europa.eu/en/home* [online]. Copyright © European Centre for Disease Prevention and Control [cit. 19.04.2019]. Dostupné z: <https://ecdc.europa.eu/en/news-events/frozen-corn-likely-source-ongoing-listeria-monocytogenes-outbreak>

ANONYM. Internetový portál bezpečnosti potravin – Slanina od slovenského výrobce obsahovala listerie. *Internetový portál bezpečnosti potravin -* [online]. Copyright © 2018 [cit. 19.04.2019]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/slanina-od-slovenskeho-vyrobce-obsahovala-listerie.aspx>

ANONYM. Kontrola potravin a krmiv (Potraviny, eAGRI). [online]. Copyright © 2009 [cit. 22.04.2019]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/bezpecnost-potravin/kontrola-potravin-a-krmiv/>

GASANOV, Uta, Denise HUGHES a Philip M. HANSBRO. Methods for the isolation and identification of Listeria spp. and Listeria monocytogenes: a review. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 2005, **29**(5), 851-875 [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.1016/j.femsre.2004.12.002. ISSN 1574-6976. Dostupné z: <https://academic.oup.com/femsre/article-lookup/doi/10.1016/j.femsre.2004.12.002>

ANONYM. Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* infections linked to consumption of salmon products. Redirecting to <http://ecdc.europa.eu/en/home> [online]. Copyright © European Centre for Disease Prevention and Control [cit. 19.04.2019]. Dostupné z: <https://ecdc.europa.eu/en/news-events/multi-country-outbreak-listeria-monocytogenes-infections-linked-consumption-salmon>

BERANOVÁ E. Listerióza – co všechno bychom o ní měli vědět [online]. [cit. 28.02.2019]. Dostupné z: <https://www.khshk.cz/khsdata/epi/clanky/listerioza.pdf>

BEUCHAT, Larry R. *Listeria monocytogenes*: incidence on vegetables. *Food Control* [online]. 1996, 7(4-5), 223-228 [cit. 2019-04-19]. DOI: 10.1016/S0956-7135(96)00039-4. ISSN 09567135. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713596000394>

Bille J, Catimel B, Bannerman E, et al. API® *Listeria*, a new and promising one-day system to identify *Listeria* isolates. *Appl Environ Microbiol* [online]. 1992;58(6):1857–1860. 3923 [cit. 2019-04-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC195695/>

BRIEHER, William M., Margaret COUGHLIN a Timothy J. MITCHISON. Fascin-mediated propulsion of *Listeria monocytogenes* independent of frequent nucleation by the Arp2/3 complex. *The Journal of Cell Biology* [online]. 2004, 165(2), 233-242 [cit. 2019-03-(Brychta, 2018)]. DOI: 10.1083/jcb.200311040. ISSN 0021-9525. Dostupné z: <http://www.jcb.org/lookup/doi/10.1083/jcb.200311040>

CARPENTIER, Brigitte a Olivier CERF. Review — Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2011, 145(1), 1-8 [cit. 2019-04-19]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.005. ISSN 01681605. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160511000122>

CLAUSS, Heather E. a Bennett LORBER. Central nervous system infection with *Listeria monocytogenes*. *Current Infectious Disease Reports* [online]. 2008, 10(4), 300-306 [cit. 2019-03-25]. DOI: 10.1007/s11908-008-0049-0. ISSN 1523-3847. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11908-008-0049-0>

DALTON, Craig B., Constance C. AUSTIN, Jeremy SOBEL, et al. An Outbreak of Gastroenteritis and Fever Due to *Listeria monocytogenes* in Milk. *New England Journal of Medicine* [online]. 1997, 336(2), 100-106 [cit. 2019-04-19]. DOI:

10.1056/NEJM199701093360204. ISSN 0028-4793. Dostupné z:
<http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199701093360204>

DE LAS HERAS, Aitor, Robert J CAIN, Magdalena K BIELECKA a José A VÁZQUEZ-BOLAND. Regulation of *Listeria* virulence: PrfA master and commander. *Current Opinion in Microbiology* [online]. 2011, **14**(2), 118-127 [cit.22.3.1019]. DOI: 10.1016/j.mib.2011.01.005. ISSN 13695274. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369527411000178>

Dorozynski A. (2000). Seven die in French listeria outbreak. *BMJ (Clinical research ed.)*, 320(7235), 601. [cit. 2019-04-19]. Dostupné z:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1117648/>

Drams S, Cossart P. Listeriolysin O: a genuine cytolysin optimized for an intracellular parasite. *J Cell Biol.* 2002;156(6):943-6. [cit. 21.03.2019]. Dostupné z:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2173465/>

DZUPOVA, Olga, Hanus ROZSYPAL, Dita SMISKOVA a Jiri BENES. *Listeria monocytogenes* Meningitis in Adults: The Czech Republic Experience. *BioMed Research International* [online]. 2013, **2013**, 1-4 [cit. 2019-03-25]. DOI: 10.1155/2013/846186. ISSN 2314-6133. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/846186/>

EUR-Lex — Access to European Union law — choose your language (2005) [online]. Copyright © [cit. 29.04.2019]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R2073&from=CS>

Farber J, Harwig J, Carter A. Prevention of foodborne listeriosis. *Can J Infect Dis.* 1991;2(3):116-20. [cit.23.3.1019]. Dostupné z:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3328001/>

Gedde, M. M., Higgins, D. E., Tilney, L. G., & Portnoy, D. A. (2000). Role of listeriolysin O in cell-to-cell spread of *Listeria monocytogenes*. *Infection and immunity*, 68(2), 999-1003. [cit. 21.03.2019]. Dostupné z:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC97240/pdf/ii000999.pdf>

GELBÍČOVÁ, T., M. ZOBANÍKOVÁ, Z. TOMÁŠTIKOVÁ, I. VAN WALLE, W. RUPPITSCH a R. KARPÍŠKOVÁ. An outbreak of listeriosis linked to turkey meat products in the Czech Republic, 2012–2016. *Epidemiology and Infection*. 2018, 146(11), 1407-1412.

DOI: 10.1017/S0950268818001565. ISSN 0950-2688. Dostupné také z: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0950268818001565/type/journal_article

GILBERT, R. J., J. MCLAUCHLIN a S. K. VELANI. The contamination of paté by *Listeria monocytogenes* in England and Wales in 1989 and 1990. *Epidemiology and Infection* [online]. 1993, **110**(03), 543-551 [cit. 2019-04-19]. DOI: 10.1017/S0950268800050962. ISSN 0950-2688. Dostupné z: http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0950268800050962

HOF, H. History and epidemiology of listeriosis. 2003, 35(3), 199-202. DOI: 10.1016/S0928-8244(02)00471-6. ISSN 09288244. Dostupné také z: [https://academic.oup.com/femspd/article-lookup/doi/10.1016/S0928-8244\(02\)00471-6](https://academic.oup.com/femspd/article-lookup/doi/10.1016/S0928-8244(02)00471-6)

Holder IA, Sword CP. Characterization and biological activity of the monocytosis-producing agent of *Listeria monocytogenes*. *J Bacteriol.* 1969;97(2):603-11. [cit.22.3.1019]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC249734/>

Home - NICD [online]. Copyright © [cit. 26.04.2019]. Dostupné z: http://www.nicd.ac.za/wp-content/uploads/2018/04/NICD-Situation-update-on-listeriosis-outbreak-South-Africa_06-April-2018.pdf

Janakiraman V. Listeriosis in pregnancy: diagnosis, treatment, and prevention. *Rev Obstet Gynecol.* 2008;1(4):179-85. [cit.23.3.1019]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2621056/>

Jasnin M, Asano S, Gouin E, et al. Three-dimensional architecture of actin filaments in *Listeria monocytogenes* comet tails. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(51):20521-6. [cit. 21.03.2019]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3870744/>

JURINKE, Christian, Paul OETH a Dirk VAN DEN BOOM. MALDI-TOF Mass Spectrometry: A Versatile Tool for High-Performance DNA Analysis. *Molecular Biotechnology* [online]. 2004, **26**(2), 147-164 [cit. 2019-05-03]. DOI: 10.1385/MB:26:2:147. ISSN 1073-6085. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1385/MB:26:2:147>

KLEBBA, Phillip E., Alain CHARBIT, Qiaobin XIAO, Xiaoxu JIANG a Salette M. NEWTON. Mechanisms of iron and haem transport by *Listeria monocytogenes*. *Molecular Membrane Biology* [online]. 2012, **29**(3-4), 69-86 [cit.22.3.2019]. DOI: 10.3109/09687688.2012.694485. ISSN 0968-7688. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/09687688.2012.694485>

LAMONT, Ronald F., Jack SOBEL, Shali MAZAKI-TOVI, Juan Pedro KUSANOVIC, Edi VAISBUCH, Sun Kwon KIM, Niels ULDBJERG a Roberto ROMERO. Listeriosis in human pregnancy: a systematic review. *Journal of Perinatal Medicine* [online]. 2011, **39**(3) [cit. 2019-03-24]. DOI: 10.1515/jpm.2011.035. ISSN 1619-3997. Dostupné z: <https://www.degruyter.com/view/j/jpme.2011.39.issue-3/jpm.2011.035/jpm.2011.035.xml>

LE MONNIER, Alban, Eric ABACHIN, Jean-Luc BERETTI, Patrick BERCHE a Samer KAYAL. Diagnosis of *Listeria monocytogenes* Meningoencephalitis by Real-Time PCR for the hly Gene. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. 2011, **49**(11), 3917-3923 [cit. 2019-04-19]. DOI: 10.1128/JCM.01072-11. ISSN 0095-1137. Dostupné z: <http://jcm.asm.org/lookup/doi/10.1128/JCM.01072-11>

MATEUS, Teresa, Joana SILVA, Rui L. MAIA a Paula TEIXEIRA. Listeriosis during Pregnancy: A Public Health Concern. *ISRN Obstetrics and Gynecology* [online]. 2013, **2013**, 1-6 [cit. 2019-03-24]. DOI: 10.1155/2013/851712. ISSN 2090-4444. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/archive/2013/851712/>

MEHMOOD, Hassan, Asghar Dil Jan Khan MARWAT a Noman Ahmed Jang KHAN. Invasive *Listeria monocytogenes* Gastroenteritis Leading to Stupor, Bacteremia, Fever, and Diarrhea: A Rare Life-Threatening Condition. *Journal of Investigative Medicine High Impact Case Reports* [online]. 2017, **5**(2) [cit. 2019-03-25]. DOI: 10.1177/2324709617707978. ISSN 2324-7096. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2324709617707978>

OOI, S. T. a B. LORBER. Gastroenteritis Due to *Listeria monocytogenes*. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 2005, **40**(9), 1327-1332 [cit. 2019-03-25]. DOI: 10.1086/429324. ISSN 1058-4838. Dostupné z: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/429324>(Sobel, 1997) DALTON, Craig B., Constance C. AUSTIN, Jeremy

ORSI, Renato H. a Martin WIEDMANN. Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2016, **100**(12), 5273-5287. DOI: 10.1007/s00253-016-7552-2. ISSN 0175-7598. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-016-7552-2>

PATEL, R. MALDI-TOF MS for the Diagnosis of Infectious Diseases. *Clinical Chemistry* [online]. 2014, **61**(1), 100-111 [cit. 2019-05-03]. DOI:

10.1373/clinchem.2014.221770. ISSN 0009-9147. Dostupné z:
<http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2014.221770>

PORTMAN, Jonathan L., Samuel B. DUBENSKY, Bret N. PETERSON, Aaron T. WHITELEY, Daniel A. PORTNOY a Jeff F. MILLER. Activation of the *Listeria monocytogenes* Virulence Program by a Reducing Environment. *MBio* [online]. 2017, **8**(5), e01595-17 [cit. 2019-03-22]. DOI: 10.1128/mBio.01595-17. ISSN 2150-7511. Dostupné z: <http://mbio.asm.org/lookup/doi/10.1128/mBio.01595-17>

POULSEN, Keith P. a Charles J. CZUPRYNSKI. Pathogenesis of listeriosis during pregnancy. *Animal Health Research Reviews*[online]. 2013, **14**(01), 30-39 [cit. 2019-03-24]. DOI: 10.1017/S1466252312000242. ISSN 1466-2523. Dostupné z: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1466252312000242/type/journal_article

SCHNUPF, Pamela a Daniel A. PORTNOY. Listeriolysin O: a phagosome-specific lysin. *Microbes and Infection* [online]. 2007, **9**(10), 1176-1187 [cit.22.3.2019]. DOI: 10.1016/j.micinf.2007.05.005. ISSN 12864579. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1286457907001815>

SOBEL, et al. An Outbreak of Gastroenteritis and Fever Due to *Listeria monocytogenes* in Milk. *New England Journal of Medicine* [online]. 1997, **336**(2), 100-106 [cit. 2019-04-16]. DOI: 10.1056/NEJM199701093360204. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199701093360204>

Státní zemědělská a potravinářská inspekce | Potraviny určené k přímé spotřebě z hlediska požadavků mikrobiologických kritérií stanovených pro bakterii *Listeria monocytogenes*. (2017) *Státní zemědělská a potravinářská inspekce | Hlavní stránka* [online]. Copyright © Státní zemědělská a potravinářská inspekce 2019. [cit. 29.04.2019]. Dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/clanek/potraviny-urcene-k-prime-spotrebe-z-hlediska-pozadavku-mikrobiologickykh-kriterii-stanovenych-pro-bakterii-listeria-monocytogenes.aspx>

SVÚ, Státní veterinární ústav Jihlava | Oddělení bakteriologie | Diagnostické metody | MALDI-TOF. *Státní veterinární ústav Jihlava | Úvod*[online]. Copyright © 2003 [cit. 03.05.2019]. Dostupné z: <https://www.svujihlava.cz/229-maldi-tof.html>

SZÚ. Internetový portál bezpečnosti potravin – Epidemie listeriózy v Jižní Africe 2017-2018. Mezinárodní epidemie listeriózy v Evropě 2015-2017. Internetový portál bezpečnosti potravin - [online]. Copyright © 2018 [cit. 28.02.2019]. Dostupné z:

<https://www.bezpecnostpotravin.cz/epidemie-listeriozy-v-jizni-africe-2017-2018-mezinarodni-epidemie-listeriozy-v-evrope-2015-2017.aspx>

SZÚ. Nemoci z povolání v České republice, SZÚ. SZÚ [online]. Copyright © 2007 [cit. 28.02.2019]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/publikace/data/nemoci-z-povolani-a-ohrozeni-nemoci-z-povolani-v-ceske-republice>

SZÚ. Vybrané infekční nemoci v ČR v letech 2008-2017 - absolutně, SZÚ. SZÚ [online]. Copyright © 2007 [cit. 28.02.2019]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/publikace/data/vybrane-infekcni-nemoci-v-cr-v-letech-2008-2017-absolutne>

SZÚ. Vybrané infekční nemoci v ČR v letech 2008-2017 - relativně, SZÚ. SZÚ [online]. Copyright © 2007 [cit. 28.02.2019]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/publikace/data/vybrane-infekcni-nemoci-v-cr-v-letech-2008-2017-relativne>

ŠPAČKOVÁ M. Epidemie listeriózy v Jihoafrické republice, situace ke dni 4. března 2018, SZÚ. SZÚ [online]. Copyright © 2007 [cit. 28.02.2019]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/epidemie-listeriozy-v-jihoafricke-republice-situace-ke-dni-4?highlightWords=Listeria+monocytogenes>

Temple, M. E., & Nahata, M. C. (2000). *Treatment of Listeriosis*. *Annals of Pharmacotherapy*, 34(5), 656–661. doi:10.1345/aph.19315 [cit.22.3.1019]. Dostupné z: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1345/aph.19315>

Wang J, King JE, Goldrick M, Lowe M, Gertler FB, Roberts IS. Lamellipodin Is Important for Cell-to-Cell Spread and Actin-Based Motility in *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun*. 2015;83(9):3740-8. [cit. 21.03.2019]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4534642/>

16.3 Zdroje obrázků

Home | Full Service Laboratory Quality Testing | Thistle QA [online]. Copyright ©h [cit. 29.04.2019]. Dostupné z: http://www.thistle.co.za/pdf_files/education/microbiology/microbiology_legends/Cycle_32/Cycle%2032%20Organism%204%20-%20Listeriosis.pdf

Listeria monocytogenes | Tokyo Food Safety Information Center | Bureau of Social Welfare and Public Health, Tokyo Metropolitan Government. 東京都福祉保健局 [online]. Copyright

© Bureau of Social Welfare and Public Health, Tokyo Metropolitan Government. All rights reserved. [cit. 29.04.2019]. Dostupné z: <http://www.fukushihoken.metro.tokyo.jp/shokuhin/eng/micro/listeria.html>