

Pécsi Orvostudományi Egyetem, Közegészségügyi és Járványtani Intézete, Laboratoire de Microbiologie, Faculté de Médecine, Tours, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Epidemiologie, Martin Luther-Universität Halle—Wittenberg, Pécsi Városi Rendelőintézet Központi Laboratóriuma és Baranya megyei Állategészségügyi Állomás Laboratóriuma, Pécs

LISTERIA TÖRZSEK FÁGTÍPIZÁLÁSA SORÁN SZERZETT TANULSÁGOK

RALOVICH BÉLA, a biológiai tudományok kandidátusa,
AG. A. AUDURIER, SIEGFRID ORTEL, az orvostudományok doktora, ANGYAL TIBOR
és PROKSZA ÁRPÁD

Közlésre érkezett: 1982. V. 21.

A *Listeria* törzsek fágtypizálásának problémájával régóta foglalkoznak (*Sword és Pickett* 1961; *Tubylewicz* 1963; *Guillet és McClaskey* 1963; *Scheglova*, 1968; *Scheglova és Neidbailik* 1968; *Grant* 1975; *Chiron és mtsai* 1975). Ennek ellenére ma sincs egy általánosan elfogadott és az egész világon használt módszer. *Audurier és mtsai* 1979-ben közöltek egy eljárást, mely 15 lysogén *Listeria* törzsből izolált fág használatán alapul. Ugyancsak ők közöltek egy ún. *octal code* rendszert, mely lehetővé tette az eredmények könnyű értékelését és megteremtette a computer használatának a lehetőségét is (*Audurier és mtsai* 1979a). Szintén e francia szerzők vizsgálták meg 823 franciaországi törzset 20 fág segítségével (*Audurier és mtsai* 1979b). Értesülve eredményeikről együttműködést alakítottunk ki. E közös munka első tapasztalatairól adtunk számot Madridban 1981-ben (*Ralovich és mtsai* 1981) rámutatva a módszer használhatóságára és javasoltuk az ICSB — Subcommittee on *Listeria* ülésén az eljárás elterjesztését. Jelen dolgozatunkban az eddig végzett vizsgálataink összesített tapasztalatait tesszük közzé.

Anyagok és módszerek

Beteg emberekből és állatokból valamint egészséges hordozó személyekből és állatokból továbbá felszíni vízmintákból izolált *Listeria* törzseket vizsgáltunk. Az egészséges hordozók székletéből és a vízmintákból a *Listeriát* 4 °C-on végzett dúsítás után TNSA táptalajra oltás segítségével tenyésztettük ki (*Ralovich és mtsai* 1971). A törzsek azonosítása korábbi munkánkban leírtak szerint történt (*Ralovich* 1981). A szerotipizálást faktorsavók segítségével tárgylemez agglutináció formájában végeztük. A törzsek fágtypusát korábban közölt eljárás szerint határoztuk meg (*Audurier és mtsai* 1979b), annyi eltéréssel, hogy jelen vizsgálatainknál 27 fagot használtunk és ennek megfelelően új *octal code*-ot is alkalmaztunk. A vizsgálatoknál a következő fagokat használtuk fel: 1967, 2685, 4477, 575, 1652, 12029, 1806, 2671, 1444, 2425, 3551, 3552, 1317, 2389, 3274, 1090, 1807, 184, 16, 4277, 5337, 4211, 4295, 4207, 4276, 4292, 4286.

Eredmények

Vizsgálataink során emberekből, állatokból és felszíni vizekből izolált *Listeria* törzseket tanulmányoztunk. A törzsek fágokkal való tipizálhatóságát az első táblázatban mutatjuk be.

1. táblázat

Listeria törzsek eredet és tipizálhatóság szerinti megoszlása

Származás helye	Izolált törzsek száma	Tipizált törzsek száma	Nem tipizálható törzsek száma
Beteg ember	17	8	9
Egészséges hordozó	80	23	57
Beteg szarvasmarha	3	3	—
Egészséges szarvasmarha	67	31	36
Beteg juh	21	12	9
Egészséges juh	53	18	35
Egyéb beteg állat	2	2	—
Felszíni víz	4	1	3
Összesen:	247	98	149

Megállapítható, hogy eddig összesen 247 *Listeria* törzs fágtypusát próbáltuk meghatározni. Mindössze 98 törzset (39,6%) sikerült tipizálni. 149 esetben a törzseket a felsorolt 27 fág közül egy sem oldotta a kívánt mértékben. Ez az arány magas. A 247 törzs közül 17 beteg emberből, 80 egészséges, különböző korú hordozóból, 3 beteg szarvasmarhából, 67 egészséges tehén székletéből, 21 beteg juhból, 53 egészséges jerekéből és anyaállatból, 2 más beteg állatból és 4 pedig felszíni vízből származott.

A második táblázatból megtudhatjuk a 98 tipizált törzs eredet és fágtypus szerinti megoszlását.

Megállapítható, hogy a beteg emberekből származó 8 törzs 6 fágtypusba tartozik, az egészségesekből izolált 23 *Listeria* 11 fágtypust képvisel, a 3 beteg szarvasmarhából kitenyészett törzs 3 eltérő fágtypusba tartozik, az egészséges tehenekből származó 31 *Listeria* a lysis kép alapján 13 típusba sorolható, a beteg juhból izolált 12 törzs 7 fágtypust reprezentál, az egészséges jerekéből és anya-állatokból kitenyészett 18 törzs 10 fágtypusba tartozik. Ezek mellett a két egyéb állatból származó két törzset 2 fágtypusba tudtuk beosztani, míg a vizekből izolált 4 törzs közül csak egynek a fágtypusát sikerült meghatározni.

A második táblázat adatai alapján az is megállapítható, hogy a 31 emberből származó *Listeria* közül 28-nak olyan fágtypusa volt, mely csak emberből izolált törzsek esetében volt megfigyelhető és csak három volt olyan, mely különböző más forrásból származó törzsekre is jellemző volt. A 66 különböző

2. táblázat

98 *Listeria* törzs eredet és fágtípus szerinti megoszlása

Beteg emberekből izolált törzsek		Σ	Beteg juhokból izolált törzsek		Σ
fágtípusa (Octal code)	száma		fágtípusa	száma	
00 400 0004	1	8	74 000 0000	1	12
00 211 0000	1		73 100 0000	1	
00 201 0000	3		41 000 0000	2	
00 200 0000	1		40 000 0000	4	
00 001 0004	1		34 000 0000	1	
00 001 0000	1		02 000 0000	2	
			00 253 0000	1	
Egészséges emberekből izolált törzsek		Σ	Egészséges juhokból izolált törzsek		
fágtípusa	száma		fágtípusa	száma	
40 000 0000	2	23	40 000 0000	3	18
20 000 0000	2		10 000 0000	3	
13 000 0000	7		04 000 0000	1	
02 000 0000	1		02 000 0000	1	
00 201 4000	1		00 000 3737	2	
00 201 0000	1		00 000 2707	1	
00 200 0000	1		00 000 2004	1	
00 060 0004	1		00 000 0200	1	
00 000 0420	3		00 000 0040	1	
00 000 0400	1		00 000 0004	4	
00 000 0010	3				
Beteg szarvasmarhákból izolált törzsek			Σ	Egyéb beteg állatból izolált törzsek	
fágtípusa	száma	fágtípusa		száma	
74 000 0000	1	3	01 000 0000	1	2
02 000 0000	1		00 605 0040	1	
00 253 0000	1				
Egészséges tehenekből izolált törzsek		Σ	Felszíni vízből izolált törzsek		Σ
fágtípusa	száma		fágtípusa	száma	
54 000 0000	1	31	40 000 0000	1	1
40 000 0000	2				
34 000 0000	1				
24 000 0000	1				
10 000 0000	1				
04 000 0000	3				
02 000 0000	4				
01 000 0000	3				
00 000 3232	1				
00 000 2737	2				
00 000 1012	1				
00 000 0040	5				
00 000 0004	6				

Dőltszámokkal a gazdaspecifikus fágtípusokat jelöltük.

állatból izolált törzs között viszont csak 15-nek volt olyan fágtípusa, mely csak egy-egy állatfajra volt karakterisztikus. A maradék 51 törzs fágtípusa olyan volt mely különböző eredetű *Listeria*knál egyaránt előfordult.

3. táblázat

Azonos fágtípusú törzsek előfordulása

Emberből, szarvasmarhából, juhból és felszíni vízből izolált				
azonos fágtípus	törzsek száma			
	emberben	szarvasmarhában	juhban	vízben
40 000 0000	2	2	7	1

Emberből, szarvasmarhából és juhból izolált			
azonos fágtípusú	törzsek száma		
	emberben	szarvasmarhában	juhban
02 000 0000	1	5	3

Szarvasmarhából és juhból izolált		
azonos fágtípusú	törzsek száma	
	szarvasmarhában	juhban
74 000 0000	1	1
34 000 0000	1	1
10 000 0000	1	3
04 000 0000	3	1
00 253 0000	1	1
00 000 0040	5	1
00 000 0004	6	4

Szarvasmarhából és egyéb állatokból izolált		
azonos fágtípusú	törzsek száma	
	szarvasmarhában	egyéb állatban
01 000 0000	3	1

A 3. táblázatban a különböző forrásokból származó, de azonos fágtípusú törzsek előfordulását mutatjuk be. Eddig egyetlen olyan fágtípust — 40 000 000 — találtunk, mely emberből, szarvasmarhából, juhból és felszíni vízből izolált Listeriának egyaránt sajátja volt. Az emberekből izolált 97 törzs között csak kettő ilyen fordult elő. A többi tíz állatokból és vízből tenyésztett ki. A 70 szarvasmarhából izolált törzs között 2-nek, a 74 juh törzs között 7-nek és a 4 felszíni vízből származó törzs között 1-nek volt ilyen fágtípusa. Ugyancsak találtunk egy olyan fágtípust — 02 000 0000 — is, mely emberből és állatból származó törzsekre volt jellemző. Emberekből ilyen törzset csak egy alkalommal sikerült kitenyésztetni, állatokból viszont 8 ilyen törzs került kezünkbe. Ezekon kívül a különböző állatokból 34 olyan Listeria törzset is izoláltunk, melyeket 8 fágtípusba tudtunk besorolni és mind a szarvasmarhák mind pedig a juhek között eltérő számban de előfordultak. Ezen adatok alapján, egyelőre úgy tűnik, hogy egészséges személyekből ritkán, de izolálhatók olyan fágtípusú törzsek, melyek az állatokból és a felszíni vízből származó Listeriák között is előfordulnak. Beteg emberekből ilyen törzset eddig nem tudtunk izolálni.

4. táblázat

Listeria törzsek szerotípusa (szerovarians) és fágítípusa közötti kapcsolat

Szerotípus (szerovarians)	Fágtípus	Törzsek száma
1/2 a I, II, (III)	77 100 0000	1
	74 000 0000	2
	73 100 0000	1
	54 000 0000	1
	41 000 0000	2
	40 000 0000	8
	34 000 0000	1
	33 000 0000	1
	20 000 0000	2
	13 000 0000	6
	10 000 0000	3
	04 000 0000	1
	02 000 0000	3
	01 000 0000	4
nem tipizálható	52	
4 ab (III), V, VI, VII, IX	00 000 0400	1
4 b (III), V, VI	00 605 0040	1
	00 400 0004	1
	00 253 0000	2
	00 211 0000	1
	00 201 4000	1
	00 201 0000	4
	00 200 0000	1
	00 001 0004	1
	00 001 0000	1
	nem tipizálható	2
4 d (III), (V), VI, VII	nem tipizálható	2
5 (III), (V), VI, VIII, X	00 000 3737	2
	00 000 3714	1
6a*	00 060 0004	1
	00 000 3232	1
	00 000 2737	1
	00 000 2707	1
	00 000 0040	2
	00 000 0004	3
	nem tipizálható	7
6b*	00 000 2737	1
	00 000 2004	2
	00 000 0420	2
	00 000 0200	1
	00 000 0010	3
	00 000 0004	2
	nem tipizálható	9

4. táblázat folytatása

Szerotípus (szerovarians)	Fágtípus	Törzsek száma
V, VI, XIV, XV**	00 000 0040	2
	00 000 0004	2
	nem tipizálható	10
V, VI, IX, XIV, XV**	00 000 0040	1
V, XIV, XV**	nem tipizálható	1
V, VI, IX, X**	00 000 0420	1
V, VI, X, XIV**	00 000 0004	1

* Megjegyzés: a 6a és 6b szerovariansok közé a *Seeliger és Schoofs* (1979) által javasolt antigénszerkezetű törzseket soroltuk.

** -gal jelölt törzsek nem rendszerezettek.

Ugyanakkor állatok esetében több olyan fágtípusú törzssel is találkoztunk, melyek nemcsak egy állatfaj egyedeiben fordultak elő.

Megvizsgáltuk a törzsek szerotípusa és fágtípusa közötti kapcsolatot is.

Megállapítható, hogy a 88 $\frac{1}{2}$ a szerotípusú *Listeria* törzs közül 36 (40,9%) volt tipizálható és ezek a törzsek 14 fágtípust képviselnek. A 18, 4-es szerotípusú törzs nagyobb részének, 14-nek a fágtípusát tudtuk meghatározni. Ezek a törzsek 10 fágtípust reprezentálnak. A megvizsgált három 5-ös szerotípusú *L. monocytogenes* két fágtípusba volt osztható. A két azonos fágtípusú törzset Magyarországon, a harmadik törzset, eltérő fágtípussal, pedig Bulgáriában izolálták. A 6a és a 6b szerovariánsok közé 36 törzsünk tartozik. Közülük 20-nak a fágtípusát sikerült meghatározni, 16 nem volt tipizálható. A 20 törzset 10 fágtípusba sikerült besorolnunk. A felsoroltakon kívül 21 eddig még pontosan nem osztályozott szerovariánst is tanulmányoztunk a fág-oldás szempontjából. Közülük 7-nek sikerült a fágtípusát meghatározni. Ezek a fágtípusok megtalálhatók a 6a, vagy 6b szerovariánsok fágtípusai között. Ha figyelembe vesszük e törzsek 0 antigén komponenseit és fágtípusukat, akkor feltételezhető, hogy e törzsek is a 6a és/vagy 6b szerovariánsok közé sorolhatók.

Az eddigi tapasztalatok azt a gondolatot támogatják, hogy az egyes szerotípusok (szerovariánsok) fágtípusa meglehetősen jellegzetes.

Megbeszélés

Minden fertőző betegség lényegi megismeréséhez hozzátartozik a betegséggel kapcsolatos járványtani kérdések tisztázása is. A járványtani problémák megválaszolása elképzelhetetlen a fertőzésért felelős agens megfelelő nyomon-

követése nélkül. Ehhez az szükséges, hogy ismerjük a kórokozó néhány stabil és specifikus tulajdonságát, markerét, mely könnyen meghatározható és segítségével a kérdéses törzs megbízhatóan azonosítható.

A listeriosis járványtana még az alapkérdések tekintetében is jórészt tisztázatlan (*Ralovich*, megjelenés alatt). Ugyancsak nem megoldott a *Listeria* törzsek nyomkövetésének problémája sem. Bár már 1972-ben leírtuk, hogy a szénhidrátbontó tulajdonság különbözősége alapján e törzsek biotípusokba sorolhatók, megfigyelésünk visszhang nélkül maradt (*Emödy és Ralovich*, 1972). Ezért is kaptunk az első alkalmon és alakítottunk ki együttműködést a francia munkatársunkkal azonnal, amikor a munkák alapján úgy tűnt, hogy használható fágtipizálási eljárást dolgoztak ki.

Eddigi együttműködésünk eredményei biztatóak. A fágtipizálási módszer használhatónak tűnik, de továbbfejlesztésre szorul, mert a nem tipizálható tör-

5. táblázat

A magyarországi és a franciaországi Listeria törzsek fágtipizálhatóságának összehasonlítása

	1/2 a szerotípus		4-es szerotípus		5-ös szerotípus		Egyéb	
	magyar	francia	magyar	francia	magyar	francia	magyar	francia
Tipizálható (arányszám)	36 (0,40)	131 (0,57)	14 (0,77)	499 (0,88)	2	5	27 (0,47)	10 (0,41)
Nem tipizálható	52	96	4	68	—	—	30	14
Összesen	88	227	18	567	2	5	57	24

zsek aránya túl magas, a megvizsgált 247 törzs vonatkozásában 60,4%-ot tesz ki.

Érdeemes összehasonlítani a hazai törzsek tipizálhatóságát a franciaországi törzsek esetében megfigyelt tipizálási arányokkal. Annak ellenére, hogy a 823 francia törzset csak 20 fággal tipizálták, a 247 magyar törzset pedig már 27-tel, mégis azt kell tapasztalnunk, hogy a magyarországi 1/2 és 4-es szerotípusú törzsek tipizálhatósága elmarad a francia törzsek tipizálhatósága mögött. Ebből óvatosan arra következtethetünk, hogy bár biokémiai és szerológiai tulajdonságaikat tekintve a két országban izolált *Listeria* látszólag azonosak, mégis különbségek tételezhetők fel közöttük. Ez a különbség jelenthet pathogenetikai és virulenciabeli eltéréseket is. Márpedig ha ezek az eltérések fennállnak, akkor magyarázhatják a két országban észlelt eltérő epidemiológiai jelenségeket.

Mivel a módszer standardizálása a jövő szempontjából elengedhetetlen, javasoljuk, hogy az ICSB — Subcommittee on *Listeria* által a biokémiai és szerológiai kontroll vizsgálatok céljából szétküldött 10 standard törzset használjuk fel a fágtipizálás módszerének ellenőrzésére is. A törzsek közül eddig hetet

6. táblázat

ICSB — Subcommittee on *Listeria* standard törzseinek jellemzése

Szám	Antigénszerkezet	Fágtípus	Elnevezés	Egyéb jelzés
C ₅₂	I, II	nem tipizálható	<i>L. monocytogenes</i>	NCTC 7973
C ₂₀₁	I, II	04 000 0000	<i>L. monocytogenes</i>	NCTC 10357
C ₂₁₂	—	*	<i>L. denitrificans</i>	Prevot 55134
C ₂₁₄	V, XII, XIV	nem tipizálható	<i>L. grayi</i>	Seeliger L 332/64
C ₆₄₄	V, VI, VII, XV	nem tipizálható	<i>L. innocua</i> 6a	Seeliger
C ₆₄₅	V, VI, VII, IX, X, XI	00 000 2004	<i>L. innocua</i> 6b	Seeliger
C ₆₆₃	VIII, IX, X	00 000 3714	<i>L. monocytogenes</i> 5	Ivanov (L72)
C ₆₆₄	V, VI, X	*	<i>L. monocytogenes</i> 5	Ivanov (L173)
C ₆₇₀	—	*	<i>L. denitrificans</i>	ATCC 14870
G ₄₄	V, XII, XIV	nem tipizálható	<i>L. murrayi</i>	ATCC 25401

* = nem vizsgálva.

vizsgáltunk meg. A megvizsgáltak közül háromnak sikerült a fágtípusát megállapítani, négy törzs nem volt tipizálható. Elképzelhetőnek tartjuk, hogy 1—2 speciális szempontok alapján kiválasztott törzset még a kontroll törzsek gyűjteményébe lehetne iktatni és ezzel hatékonyabbá lehetne tenni a fágtipizálás azonosságának ellenőrzését.

Végül megemlítjük, hogy az általunk használt fágtipizálási eljárás használhatóságát támogatja *Taylor és mtsa-inak* 1981-ben megjelent rövid közleménye is.

Összefoglalás

A szerzők 247 *L. monocytogenes* törzs fágtípusát határozták meg. A törzsek származási helyét, szerotípusát és fágtípusát egybevetve értékelték az eredményeket. A használt 27 fág segítségével 98 törzs (39,6%) fágtípusát tudták meghatározni. Megállapították, hogy az emberekből izolált 97 törzs közül csak kettőnek volt olyan fágtípusa, mely a szarvasmarhákból, juhokból és a felszíni vízből izolált listeriák között is előfordult, egynek pedig olyan, mely a szarvasmarhákból és a juhokból származó törzsek fágtípusával volt azonos. Az említett 3 törzs egészséges hordozókból és nem beteg emberekből lett izolálva. A magyarországi és a franciaországi törzsek tipizálhatósága eltérő. A *Listeria* törzsek szerotípusa és fágtípusa között szoros kapcsolatot figyeltek meg. Úgy vélik a módszer használható az epidemiológiai nyomkövetésre, de a felhasznált fágok számát növelni kell, hogy a tipizálhatóság arányát emelni lehessen. Javaslatot tesznek a fágtipizálási módszer standardizálására illetően.

IRODALOM

- Audurier, A., Chalons, F. és Toucas, M.*: Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) **130A**, 345 (1979)*a*
- Audurier, A., Chatelain, R., Chalons, F. és Piéchaud, M.*: Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)
- Audurier, A., Chatelain, R., Chalons, F. és Piéchaud, M.*: Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) **130B**, 179 (1979)*b*
- Audurier, A., Rocourt, J. és Courtieu, A.* In: Proceedings of the Seventh International Symposium, Varna, 1977; (Ed.: Ivanov, I.) Sofia, pp. 108—121 (1979).
- Chiron, J. P., Maupas, Ph. és Bind, J. L.*: In: Problems of Listeriosis, Proceedings of the Sixth International Symposium, University of Nottingham, 1974; (Ed.: Woodbine, M.) Leicester University Press, pp. 271—279. (1975).
- Emödy, L. és Ralovich, B.*: Acta microbiol. Acad. Sci. hung. **19**, 331 (1972).
- Grant, J.*: In: Problems of Listeriosis, Proceedings of the Sixth International Symposium, University of Nottingham, 1974; (Ed.: Woodbine, M.) Leicester University Press, pp. 280—285. (1975).
- Guillet, E. P. és McClaskey, C. S.*: Bact. Proc. 1963, p. 139, V42.
- Ralovich, B.*: Orvostudomány **32**, 15 (1981).
- Ralovich, B.*: Listeriosis Research: Present Situation and Perspective, Akadémiai Kiadó, Budapest, megjelenés alatt.
- Ralovich, B., Audurier, A., Rocourt, J., Ortel, S., Angyal, T., Forray, D., Proksza, A. és Szemerédi Gy.*: In: Abstracts Book of VIIIth International Symposium on the Problems of Listeriosis, Madrid, 1981; (Ed.: Baquero, F.) ISOPOL Madrid, p. 37. (1981).
- Ralovich, B., Forray, A., Mérő, E., Málóvics, I. és Százados, I.*: Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. **216**, 88 (1971).
- Scheglova, M. K.*: Veterinariya **45**, 22 (1968).
- Scheglova, M. K. és Neidbailik, I. N.*: Veterinariya **45**, 102 (1968).
- Seeliger, H. P. R. és Schoofs, M.*: In: Proceedings of the Seventh International Symposium, Varna, 1977; (Ed.: Ivanov, I.) Sofia, pp. 24—32. (1979).
- Sword, C. P. és Pickett, M. J.*: J. gen. Microbiol. **25**, 241 (1961).
- Taylor, A. G., McLauchlin, J., Green, H. T., Macaulay, M. B. és Audurier, A.*: The Lancet **II**, 1106 (1981).
- Tubylewicz, H.*: Bull. Acad. pol. Sci. Cl. II. **11**, 515 (1963).