



Νέα είδη λιστέρια

Η σημασία της ανακάλυψής τους

για το διαγνωστικό έλεγχο των τροφίμων

Γράφει: **Δρ. Νικόλαος Δ. Ανδρίτσος***
Αναλυτικά Εργαστήρια Αθηνών Α.Ε.

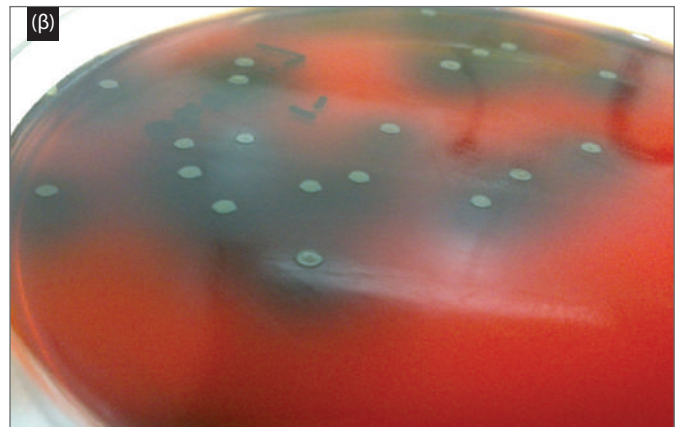
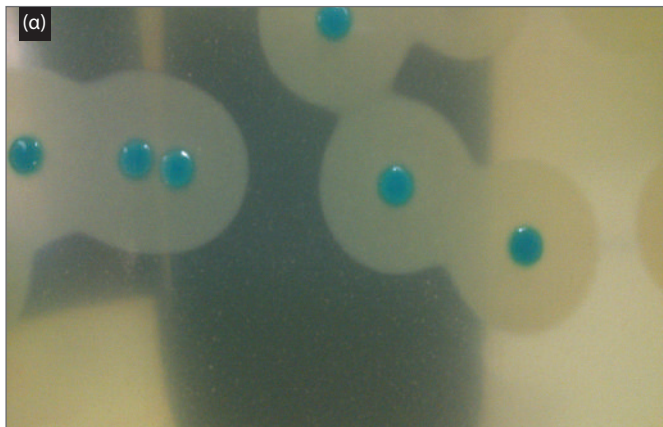
Εχουν συμπληρωθεί σχεδόν 90 χρόνια από τότε που οι Murray, Webb και Swann παρατήρησαν και περιέγραψαν για πρώτη φορά την εκδήλωση μιας σφαιμικής ασθένειας με ταυτόχρονο σχηματισμό ενός μεγάλου αριθμού μονοπύρηνων λευκο-κυττάρων στο αίμα κονίκλων και ινδικών χοιριδίων (Murray και συν., 1926), απομονώνοντας ένα νέο –για την εποχή εκείνη– βακτήριο, το οποίο τελικά μετονομάστηκε σε *Listeria monocytogenes* και εντάχθηκε στο γένος *Listeria* (Pirie, 1940). Από τις παρατηρήσεις εκείνες το 1924 στις εγκαταστάσεις εκτροφής ζώων του Τμήματος Παθολογίας του Πανεπιστημίου του Κέιμπριτζ και μέχρι το 1985, το γένος *Listeria* σταδιακά συμπεριέλαβε και άλλα είδη για να φτάσει τα έξι, τα οποία κατά σειρά χρονολογικής ανακάλυψής τους ήταν τα εξής: *L. monocytogenes*, *L. grayi*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii* (Rocourt & Buchrieser, 2007). Από το 1985 δεν είχε περιγραφεί κανένα νέο είδος *Listeria* sp., τα τελευταία χρόνια ωστόσο, η ραγδαία ανάπτυξη και εφαρμογή σύγχρονων τεχνικών μοριακής βιολογίας για την ανάλυση του μικροβιακού γονιδιώματος (π.χ. υβριδισμός DNA-DNA, ανάλυση αλληλουχίας γονιδίων του 16S rRNA) οδήγησε, μέσω φυλογενετικής συσχέτισης, στην ανακάλυψη νέων ειδών λιστέρια.

Η αρχή έγινε το 2010, με τη σχεδόν ταυτόχρονη περιγραφή από μια αμερικανική και μια γαλλική ερευνητική ομάδα δύο νέων ειδών λιστέρια, τα οποία παρ' όλο που εντάσσονταν στο γένος *Listeria* δεν ήταν δυνατό να ταξινομηθούν σε κάποιο από τα ήδη υπάρχοντα και γνωστά είδη. Στελέχη των δύο νέων ειδών απομονώθηκαν από το φυσικό περιβάλλον (χώμα, λιμνάζοντα και ρέ-

οντα ύδατα) ενός εθνικού δρυμού στη Νέα Υόρκη των Η.Π.Α. και από δείγμα προ-τεμαχισμένου και συσκευασμένου μαρουλιού το οποίο ελέγχθηκε το 2002 στο Ομοσπονδιακό Εργαστήριο Μικροβιολογικής Ασφάλειας Τροφίμων στο Σάλτσμπουργκ της Αυστρίας (Graves και συν., 2010· Leclercq και συν., 2010). Για τα δύο είδη προτάθηκαν τα ονόματα *L. marthii* και *L. rocourtiae*, προς τιμήν του Αμερικανού καθηγητή Elmer H. Marth και της Γαλλίδας βακτηριολόγου Jocelyn Rocourt για τη συνεισφορά τους στην έρευνα επί του παθογόνου *L. monocytogenes* και στην ταξινόμηση του γένους *Listeria* αντίστοιχα.

Το έτος 2013, μια άλλη ερευνητική ομάδα, αποτελούμενη κυρίως από Ελβετούς επιστήμονες, περιέγραψε ένα νέο είδος λιστέρια προσαρμοσμένο στο περιβάλλον του χώρου ωρίμανσης ενός τυροκομείου κατά τη διάρκεια έρευνας πεδίου η οποία διεξήχθη το 2006 στην Ελβετία. Στελέχη αυτού του νέου είδους λιστέρια απομονώθηκαν από δείγματα ελβετικού σκληρού τυριού, ενώ υπήρξε στέλεχος του είδους το οποίο απομονώθηκε μετά από μια πενταετία (Σεπτέμβριος 2011) από τον ίδιο τύπο ελβετικού τυριού που πωλήθηκε στη Γερμανία (Bertsch και συν., 2013). Το είδος ονομάστηκε *L. fleischmannii* προς τιμήν του Γερμανού γεωπόνου Wilhelm Fleischmann, ο οποίος διεξήγαγε σημαντική έρευνα επί του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων και θεωρείται ο θεμελιωτής της επιστήμης και τεχνολογίας του γάλακτος. Εξάλλου, πανομοιότυπα στελέχη του μικροοργανισμού που είχαν απομονωθεί από περιβαλλοντικά δείγματα (π.χ. κόπρανα, χώμα, νερό) τα οποία συλλέχθηκαν μεταξύ των ετών 2009-

* Ο Νικόλαος Ανδρίτσος είναι Διδάκτωρ Μικροβιολογίας και Υγιεινής Τροφίμων του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και υπεύθυνος μικροβιολογικού εργαστηρίου και μικροβιολογικής έρευνας της εταιρείας Αναλυτικά Εργαστήρια Αθηνών Α.Ε.



2010 από μια φάρμα εκτροφής βοοειδών στο Κολοράντο των Η.Π.Α., ταξινομήθηκαν τελικά ως υποείδη του *L. fleischmannii* (*L. fleischmannii* subsp. *fleischmannii* και *L. fleischmannii* subsp. *coloradonensis*). Για τα δύο αυτά υποείδη προτάθηκε η πιθανή προσαρμογή των στελεχών τους, μέσω ενός συμβιούντα τρόπου ζωής, με ένα έντομο ξενιστή, υπόθεση όμως που χρήζει μελλοντικής διερεύνησης (den Bakker και συν., 2013). Επιπλέον, την ίδια χρονιά (2013), ομάδα Γερμανών ερευνητών προχώρησε στην περιγραφή του είδους *L. weihenstephanensis*, μετά τη σχετική απομόνωση δύο βακτηριακών στελεχών από το υδροχαρές φυτό *Lemma trisulca* κατά τη διεξαγωγή δειγματοληψίας σε λίμνη της ομώνυμης περιοχής (Weihenstephan) στη Βαυαρία της Γερμανίας (Halter και συν., 2013).

Τον Μάρτιο του 2014 η αμερικανική επιστημονική

ομάδα του Δρ. Wiedmann, η έρευνα της οποίας είχε οδηγήσει στην ταυτοποίηση των δύο υποειδών του *L. fleishmannii* την αμέσως προηγούμενη χρονιά, δημοσίευσε την ανακάλυψη των ακόλουθων πέντε νέων ειδών λιστέρια: *L. floridensis*, *L. aquatica*, *L. cornellensis*, *L. riparia* και *L. grandensis*. Τα είδη προέρχονταν από το γεωργικό και φυσικό (κυρίως υδατικό) περιβάλλον των πολιτειών της Φλόριντα και του Κολοράντο στις Η.Π.Α (den Bakker και συν., 2014). Τον Οκτώβριο του ίδιου έτους, προτείνονται οι ονομασίες *L. booriae* (για τη συνεισφορά της Αμερικανίδας Kathryn Boor στην κατανόηση της βιολογίας της λιστέρια) και *L. newyorkensis* για ακόμη δύο νέα είδη λιστέρια, στελέχη των οποίων απομονώθηκαν από μονάδες επεξεργασίας ιχθυηρών και γαλακτοκομικών προϊόντων στη ΒΑ ακτή των Η.Π.Α. (Weller και συν., 2015).

Αποικίες του παθογόνου *L. monocytogenes* επί των εκλεκτικών θρεπτικών υποστρωμάτων α) ALOA και β) PAL-CAM που χρησιμοποιούνται κατά ISO 11290 για την ανίχνευση/καταμέτρηση του μικροοργανισμού στα τρόφιμα

Πίνακας 1: Ανακάλυψη νέων ειδών *Listeria* spp. τα τελευταία 30 χρόνια

Είδος λιστέρια	Απομόνωση	Χώρα	Έτος	Βιβλιογραφία
<i>L. marthii</i>	Χύμα, λιμνάζοντα και ρέοντα ύδατα	Η.Π.Α.	1997-1998	Graves και συν., 2010
<i>L. rocourtiae</i>	Προ-τεμαχισμένο μαρούλι	Αυστρία	2002	Leclercq και συν., 2010
<i>L. fleischmannii</i>	Ελβετικό σκληρό τυρί	Ελβετία	2006 & 2011	Bertsch και συν., 2013
<i>L. fleischmannii</i> subsp. <i>fleischmannii</i>	Περιβαλλοντικά δείγματα (π.χ. κόπρανα, χύμα, νερό)	Η.Π.Α.	2009-2010	den Bakker και συν., 2013
<i>L. fleischmannii</i> subsp. <i>coloradonensis</i>	Περιβαλλοντικά δείγματα (π.χ. κόπρανα, χύμα, νερό)	Η.Π.Α.	2009-2010	den Bakker και συν., 2013
<i>L. weihenstephanensis</i>	Υδροχαρές φυτό λίμνης (<i>Lemma trisulca</i>)	Γερμανία	?	Halter και συν., 2013
<i>L. floridensis</i>	Γεωργικό και φυσικό περιβάλλον	Η.Π.Α.	?	den Bakker και συν., 2014
<i>L. aquatica</i>	Υδατικό περιβάλλον	Η.Π.Α.	?	den Bakker και συν., 2014
<i>L. cornellensis</i>	Γεωργικό και φυσικό περιβάλλον	Η.Π.Α.	?	den Bakker και συν., 2014
<i>L. riparia</i>	Υδατικό περιβάλλον	Η.Π.Α.	?	den Bakker και συν., 2014
<i>L. grandensis</i>	Γεωργικό και φυσικό περιβάλλον	Η.Π.Α.	?	den Bakker και συν., 2014
<i>L. booriae</i>	Μονάδες επεξεργασίας τροφίμων	Η.Π.Α.	?	Weller και συν., 2015
<i>L. newyorkensis</i>	Μονάδες επεξεργασίας τροφίμων	Η.Π.Α.	?	Weller και συν., 2015

Από το 1940 έως το 1985 λοιπόν είχαν περιγραφεί μόλις έξι είδη λιστέρια, ενώ μέσα σε χρονικό διάστημα 30 ετών (1985-2015), ειδικότερα δε την τελευταία πενταετία με τη συνεχή δημοσίευση νέων στοιχείων, όπως είδαμε, ο αριθμός τους έχει υπερδιπλασιαστεί καθώς έχουν προστεθεί στο γένος *Listeria* 11 νέα είδη (Πίνακας 1), φτάνοντας συνολικά τα 17 είδη λιστέρια.

Το είδος *L. monocytogenes* θεωρείται σημαντικό παθογόνο του ανθρώπου και των ζώων, υπεύθυνο για την πρόκληση μιας ιδιαίτερα επικίνδυνης ασθένειας γνωστής ως λιστερίωση, ενώ το είδος *L. ivanovii* σχετίζεται σχεδόν αποκλειστικά με προσβολές σε ζώα όπου προκαλεί αποβολές, αν και έχουν αναφερθεί σποραδικές περιπτώσεις ανθρώπινης μόλυνσης από *L. ivanovii*. Με εξαίρεση λοιπόν τα *L. monocytogenes* και *L. ivanovii* τα οποία είναι παθογόνα (Vázquez-Boland και συν., 2001), τα υπόλοιπα “παλιά” και νέα είδη λιστέρια που προηγούμενα αναφέρθηκαν δεν παρουσιάζουν παθογονικότητα (pathogenicity) και ως εκ τούτου δεν αποτελούν άμεσο κίνδυνο για τη Δημόσια Υγεία. Από την άλλη μεριά ωστόσο, προκύπτει το ερώτημα: «Μπορούν τα προσφάτως ανακαλυφθέντα μη παθογόνα είδη λιστέρια να “πυροδοτήσουν” θετικές αντιδράσεις κατά τις δοκιμές ανίχνευσης/καταμέτρησης του παθογόνου μικροοργανισμού-στόχου *L. monocytogenes* στα τρόφιμα;». Ενδεχόμενη θετική απάντηση στο προηγούμενο ερώτημα

θα μπορούσε να οδηγήσει σε λανθασμένη εκτίμηση της μικροβιολογικής ασφάλειας και σε άσκοπη απόσυρση ή και απόρριψη των παρτίδων των εξεταζόμενων προϊόντων κατά το διαγνωστικό έλεγχο των τροφίμων. Κάτι τέτοιο συνεπάγεται έναν βαρύ οικονομικό αντίκτυπο, άρα απαιτείται η βελτίωση των ήδη υπαρχόντων μεθόδων και δοκιμών, συμπεριλαμβανομένου των χρησιμοποιούμενων μικροβιολογικών υποστρωμάτων (π.χ. ALOA και PALCAM) για την απομόνωση του μικροοργανισμού *L. monocytogenes* (Εικόνα 1), ώστε να περιοριστεί κατά το δυνατόν η πιθανότητα εμφάνισης ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων κατά τον εργαστηριακό έλεγχο του παθογόνου *L. monocytogenes* σε δείγματα τροφίμων. Με δεδομένο επίσης ότι η αρχική παρουσία *Listeria* spp. θα πρέπει να θεωρείται ως ένδειξη πιθανής μίανσης ενός προϊόντος με *L. monocytogenes* (Greenwood και συν., 2005), οι δοκιμές οφείλουν να προσαρμοστούν κατάλληλα σε εκείνα τα είδη λιστέρια τα οποία ομοιάζουν και σχετίζονται περισσότερο με το παθογόνο *L. monocytogenes*. Ως συνέπεια των ανωτέρω, η αναθεώρηση των σχετικών προτύπων του Διεθνούς Οργανισμού Τυποποίησης (ISO) για την ανίχνευση/καταμέτρηση του μικροοργανισμού *L. monocytogenes* στα τρόφιμα (ISO 11290-1 και ISO 11290-2), με την ενσωμάτωση σε αυτά αποτελεσμάτων μελετών και έρευνας για τα νέα είδη λιστέρια, θα πρέπει να θεωρείται δεδομένη. ●

Σχετική βιβλιογραφία

- Bertsch, D., Rau, J., Eugster, M.R., Haug, M.C., Lawson, P.A., Lacroix, C., & Meile, L. (2013). *Listeria fleischmannii* sp. nov., isolated from cheese. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63, 526-532.
- den Bakker, H.C., Manuel, C.S., Fortes, E.D., Wiedmann, M., & Nightingale, K.K. (2013). Genome sequencing identifies *Listeria fleischmannii* subsp. *coloradonensis* subsp. nov., isolated from a ranch. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63, 3257-3268.
- den Bakker, H.C., Warchocki, S., Wright, E.M., Allred, A.F., Ahlstrom, C., Manuel, C.S., Stasiwicz, M.J., Burrell, A., Roof, S., Strawn, L.K., Fortes, E., Nightingale, K.K., Kephart, D., & Wiedmann, M. (2014). *Listeria floridensis* sp. nov., *Listeria aquatic* sp. nov., *Listeria cornellensis* sp. nov., *Listeria riparia* sp. nov. and *Listeria grandensis* sp. nov., from agricultural and natural environments. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64, 1882-1889.
- Graves, L.M., Helsen L.O., Steigerwalt, A.G., Morey, R.E., Daneshvar, M.I., Roof, S.E., Orsi, R.H., Fortes, E.D., Millilo, S.R., den Bakker, H.C., Wiedmann, M., Swaminathan, B., & Saunders, B.D. (2010). *Listeria marthii* sp. nov, isolated from the natural environment, Finger Lakes Natural Forest. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 1280-1288.
- Greenwood, M., Willis, C., Doswell, P., Allen, G., & Pathak, K. (2005). Evaluation of chromogenic media for the detection of *Listeria* species in food. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 1340-1345.
- Halter, E.L., Neuhaus, K., & Scherer, S. (2013). *Listeria weihenstephanensis* sp. nov., isolated from the water plant *Lemna trisulca* taken from a freshwater pond. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63, 641-647.
- ISO. (1996). *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes – Part 1: Detection method*. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization 11290-1.
- ISO. (1998). *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes – Part 2: Enumeration method*. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization 11290-2.
- Leclercq, A., Clermont, D., Bizet, C., Grimont, P.A.D., Le Flèche-Matéos A., Roche, S.M., Buchrieser, C., Cadet-Daniel, V., Le Monnier, A., Lecuit, M., & Allerberger, F. (2010). *Listeria rocourtiae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 2210-2214.
- Murray, E. G. D., Webb, R. A., & Swann, M. B. R. (1926). A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes*. *Journal of Pathology and Bacteriology*, 28, 407-439.
- Pirie, J. H. H. (1940). *Listeria*: Change of name for a genus of bacteria. *Nature*, 145, 264.
- Rocourt, J., & Buchrieser, C. (2007). The genus *Listeria* and *Lister*