proLékaře.cz | 14.2.2026

Molekulárně epidemiologická charakteristika a diverzita *Listeria monocytogenes* v humánní populaci České republiky v letech 2013–2016

Gelbíčová T.[1], Tomáštíková Z.[1, 2], Karpíšková R.[1]

[1]Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno
[2]Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno

SOUHRN

Listeria monocytogenes je původcem závažného alimentárního onemocnění s vysokou mírou mortality. Cílem této práce bylo posoudit pomocí molekulárně biologických metod diverzitu humánních izolátů *L. monocytogenes* v České republice v letech 2013–2016. Většina listerióz byla vyvolána kmeny sérotypu 1/2a (58 %) klonálního komplexu CC8 (28 %) a sérotypu 4b (28 %) komplexu CC6 (16 %). Výsledky makrorestrikční analýzy potvrdily výskyt zejména sporadických případů listerióz. Zvýšený počet případů listerióz v Moravskoslezském kraji byl způsoben epidemií lokálního charakteru. Pro šetření epidemií listerióz se osvědčilo použití molekulárních subtypizačních metod v reálném čase.

KLÍČOVÁ SLOVA:

listerióza – sérotyp – klonální komplex – pulzotyp – molekulární epidemiologie

ABSTRACT

Gelbíčová T., Tomáštíková Z., Karpíšková R.: Molecular-epidemiological characteristics and diversity of *Listeria monocytogenes* in the human population in the Czech Republic in 2013–2016

Listeria monocytogenes is the cause of a serious foodborne infection with a high fatality rate. The aim of this study was to assess the diversity of human isolates of *L. monocytogenes* recovered in the Czech Republic from 2013 to 2016 by molecular biological methods. Most cases of listeriosis were caused by strains of serotype 1/2a (58 %) from clonal complex CC8 (28 %) and serotype 4b (28 %) from CC6 (16 %). The results of macrorestriction analysis confirmed primarily the occurrence of sporadic cases of listeriosis. A local outbreak of listeriosis was reported in the Moravian-Silesian Region. Real-time molecular subtyping methods have proved helpful in the investigation of *Listeria* outbreaks.

KEYWORDS:

listeriosis – serotype – clonal complex – pulsotype – molecular epidemiology

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 66, 2017, č. 3, s. 146–148

ÚVOD

V současnosti je v členských státech Evropské unie (EU), včetně České republiky (ČR), zaznamenáván stoupající trend ve výskytu humánních listerióz. V zemích EU v roce 2015 bylo hlášeno 2 206 případů listerióz (0,46 případu na 100 000 obyvatel), v České republice byla incidence 0,34 případu na 100 000 obyvatel. Nejvyšší počet hlášených případů listerióz v tomto roce byl zaznamenán ve Španělsku, na Maltě, ve Švédsku, Estonsku a Finsku (0,99; 0,93; 0,90; 0,84 a 0,84 případů na 100 000 obyvatel) [1]. Listerióza je onemocnění s převážně alimentární cestou přenosu postihující zejména rizikové skupiny populace (osoby imunokompromitované, seniory a těhotné ženy).

Kmeny *L. monocytogenes* lze v současnosti rozdělit do čtyř evolučních linií. Do linie I patří kmeny sérotypu 1/2b, 3b, 4b, 4d, 4e, do linie II kmeny sérotypů 1/2a, 3a, 1/2c a 3c. Linie III a IV zahrnuje nejen kmeny sérotypu 4a a 4c, ale také kmeny sérotypu 4b, které jsou typicky spojovány s linií I. Většina humánních listerióz je vyvolána sérotypy 1/2a, 4b a 1/2b [2]. Kromě sérotypizace je k typizaci *L. monocytogenes* standardně používána makrorestrikční analýza s využitím pulzní gelové elektroforézy. Stále častěji je však možné se setkat s hodnocením epidemiologických souvislostí u listerióz na základě sekvenačních technik jako MLST (multilocus sequence typing) či WGS (whole-genome sequencing). Klasická MLST umožňuje na základě sekvenace sedmi provozních genů zařazení kmenů *L. monocytogenes* do sekvenačních typů (ST) a klonálních komplexů (CC). Technika cgMLST (core genome multilocus sequence typing) vycházející z WGS analýzy je založena na srovnání 1 701 genů *L. monocytogenes* [3]. Pro rychlou a ekonomicky dostupnou identifikaci hlavních klonálních komplexů v rámci séroskupiny IIa/IIc (CC7, CC8, CC121, CC151 a CC9), séroskupiny IVb (CC1, CC2, CC4 a CC6) a seroskupiny IIb (CC3 a CC5) byla navržena metoda multiplex PCR [4].

proLékaře.cz | 14.2.2026

MATERIÁL A METODIKA

Testované izoláty *L. monocytogenes*

Typizováno bylo 116 humánních izolátů *L. monocytogenes* pocházejících z různých lokalit ČR zasílaných do laboratoře Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v letech 2013–2016. Kmeny byly uchovávány v BHI mediu s 20% glycerolem při -75 °C. Před typizací byly kmeny kultivovány na krevním agaru (LabMediaServis, s. r. o., ČR) aerobně 24 hodin při 37 °C.

Sérotypizace

Sérotyp byl určen metodou sklíčkové aglutinace za použití komerčně dostupných antisér (Denka Seiken, Japonsko) v kombinaci s metodou multiplex PCR [5] s použitím PPP polymerázy (Top-Bio, ČR) a primerů syntetizovaných firmou Generi Biotech (ČR).

Zařazení *L. monocytogenes* do klonálních komplexů

Testované kmeny sérotypu 1/2a a 4b byly zařazeny metodou multiplex PCR do klonálních komplexů [4] s využitím Qiagen Multiplex PCR Kit (Dynex, ČR) a primerů syntetizovaných firmou Generi Biotech (ČR).

Makrorestrikční analýza

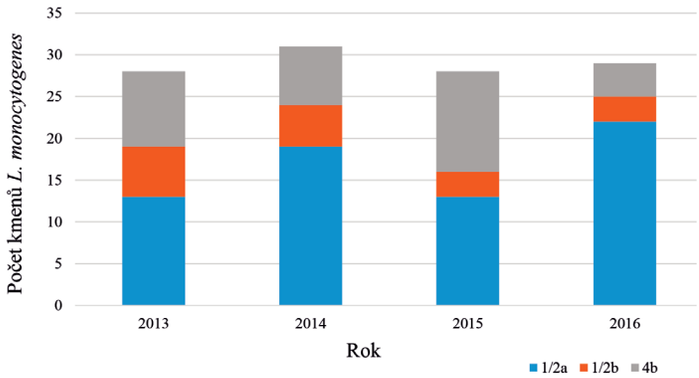
Makrorestrikční analýza s využitím endonukleáz *Asc*I a *Apa*I (New England BioLabs, USA) byla provedena podle protokolu EU RL (Reference Laboratory) Anses, Francie [6]. Restrikční štěpení enzymem *Apa*I bylo provedeno pouze u kmenů dvou nejčastěji detekovaných *Asc*I profilů označených 798/810 a 203.

VÝSLEDKY

Při srovnání s hlášenými případy listerióz v Epidatu (SZÚ) bylo k typizaci každoročně zasláno 67–85 % kmenů *L. monocytogenes*. V letech 2013–2016 bylo z celkového počtu 116 testovaných kmenů *L. monocytogenes* 72 (62 %) izolováno z listeriových infekcí u mužů a 44 (38 %) u žen. Nejčastěji kmeny pocházely od pacientů věkové kategorie 65 let a více (62 %). Nejvíce testovaných kmenů pocházelo z Moravskoslezského kraje (36), Prahy (15) a Plzeňského kraje (14), následovaných krajem Královehradeckým (11), Jihočeským (10), Olomouckým (8), Jihomoravským (7), Zlínským (6), Libereckým (4), Středočeským (2), Karlovarským (1), Ústeckým (1) a Vysočinou (1). Největší podíl kmenů *L. monocytogenes* byl izolován z hemokultur (61 %) a z likvoru (17 %). 15 % kmenů pocházelo z neonatálních případů listerióz. Ojediněle byly kmeny izolovány také z ascitu (1 kmen), peritoneálního výpotku (1), punktátu z jaterního abscesu (1), či punktátu z kolene (1). U čtyř kmenů nebyl uveden materiál, ze kterého byla provedena izolace.

Největší podíl na vzniku humánních listerióz v ČR měly v období let 2013–2016 kmeny sérotypu 1/2a (58 %). Listeriózy vyvolané kmeny sérotypu 4b tvořily 28 % případů. Kmeny sérotypu 1/2b se podílely na vzniku onemocnění jen ojediněle (15 %). Počty testovaných kmenů *L. monocytogenes* a zastoupení sérotypů v jednotlivých letech uvádí graf 1.

V naší studii byly humánní kmeny nejčastěji zařazeny do klonálního komplexu CC8 (28 %) a CC6 (16 %). Velkou heterogenitu v rámci sérotypu 1/2a prokázaly nejen výsledky pulzní gelové elektroforézy, ale také skutečnost, že 22 % kmenů tohoto sérotypu nebylo možné pomocí použité PCR zařadit do žádného ze sledovaných klonálních kom-



Graf 1. Počet testovaných kmenů a zastoupení sérotypů *L. monocytogenes* v letech 2013 – 2016

Figure 1. The number of strains tested and serotype distribution of *L. monocytogenes* in 2013–2016

Tabulka 1. Zastoupení sérotypů a klonálních komplexů u humánních kmenů *L. monocytogenes* dle zdroje izolace

Table 1. Serotype and clonal complex distribution of human strains of *L. monocytogenes* by isolate source

Sérotyp	Klonální komplex	Počet kmenů		Počet kmenů podle druhu materiálu			
			Počet AscI profilů	hemokultura	likvor	neonatální listerióza	ostatní zdroje
1/2a	CC7	6	4	3	3	0	0
	CC8	32	4	20	7	2	3
	CC121	3	2	2	0	0	1
	CC155	1	1	1	0	0	0
	ostatní	25	14	13	2	8	2
4b	CC1	8	3	8	0	0	0
	CC2	4	2	3	1	0	0
	CC4	1	1	1	0	0	0
	CC6	19	2	6	5	6	2
1/2b	netestováno	-	11	14	2	1	0

proLékaře.cz | 14.2.2026

plexů. Kmeny patřící do CC8 se podílely na 35 % infekcích CNS, kmeny zařazené do CC6 vyvolaly 25 % infekcí CNS. Neonatální listeriózy vyvolaly zejména kmeny sérotypu 1/2a nezařazené pomocí PCR do klonálního komplexu (47 %) nebo kmeny patřící do CC8 (12 %), a v menší míře (35 %) kmeny sérotypu 4b komplexu CC6 (tabulka 1).

Celkem bylo detekováno 44 různých pulzních profilů. Nejvíce pulzotypů bylo zjištěno u kmenů sérotypu 1/2a (25), následovaném sérotypem 1/2b (11) a 4b [8]. Na základě výsledků makrorestrikční analýzy bylo potvrzeno, že většina kmenů byla izolována ze sporadických případů listerióz. Od roku 2013 byl zaznamenán zvýšený počet případů (21) listerióz v Moravskoslezském kraji vyvolaných kmeny sérotypu 1/2a, *Asc*I pulzotypu 798/810. V jednom případě byl identický klon detekován u pacienta z Jihočeského kraje. U kmenů pulzotypu 798/810 byla potvrzena souvislost s kmeny izolovanými z masných výrobků pocházející z výrobního podniku ze stejné lokality jako humánní kmeny. Klonální shoda těchto kmenů byla potvrzena také na základě restrikčního štěpení endonukleázou *Apa*I (pulzotyp 12). Druhým nejčastějším *Asc*I profilem byl ve sledovaném období pulzotyp označený 203 u kmenů sérotypu 4b. Listeriózy vyvolané kmeny pulzotypu 203 byly zaznamenány v celé ČR (čtyři případy v Jihočeském kraji, dva v Plzeňském, jeden ve Středočeském, jeden v Praze, jeden v Karlovarském, dva v Jihomoravském a sedm v Moravskoslezském). S ohledem na rozdílné lokality a vzácné nálezy v potravinách v ČR (data nejsou uvedena) nebylo možné v tomto případě dohledat zdroj infekce. Podobně pulzotypy 717, 816/709, 722/784, 735, 211 a 500, které byly detekovány v letech 2013–2016 u čtyř až osmi humánních kmenů *L. monocytogenes* nevykazovaly místní ani časovou souvislost.

DISKUSE

V poslední době jsou listeriové epidemie, zejména v Evropě a Severní Americe, nejčastěji spojovány s kmeny *L. monocytogenes* sérotypu 1/2a [2]. Podobně v naší studii zaujímal sérotyp 1/2a dominantní postavení.

Nejčastěji detekovaným klonálním komplexem v humánní populaci ČR byl CC8, podobně jako v Dánsku [7] či Kanadě [8]. Podle francouzské studie mají kmeny *L. monocytogenes* sérotypu 4b, klonálních komplexů CC1, CC2, CC4 a CC6 klinický původ, zatímco kmeny klonálních komplexů CC121 (sérotyp 1/2a) a CC9 (sérotyp 1/2c) je možné izolovat především z potravin a potravinářských podniků [9]. Ve sledovaném období nebyl u žádného z humánních kmenů detekován sérotyp 1/2c a pouze 2,6 % kmenů sérotypu 1/2a patřilo do komplexu CC121. Přesto je nutné i kmeny *L. monocytogenes* těchto klonálních komplexů považovat za potenciálně nebezpečné pro humánní populaci. To dokazuje schopnost kmenů zařazených do klonálních skupin CC9 [10] i CC121 (viz tabulka 1) vyvolat onemocnění u člověka. Ve Francii byly kmeny patřící do komplexů CC1, CC2, CC4 a CC6 častěji spojovány s neonatálními případy listerióz a infekcemi CNS. Kmeny komplexů CC8 až CC16, CC9 a CC121 byly spojovány především s bakteriémiemi [9]. Souvislost mezi výskytem určitých klonálních komplexů ve vztahu k typu listeriové infekce výsledky této studie nepotvrdily (viz tabulka 1).

ZÁVĚR

Listeriózy jsou obvykle hlášeny jako sporadické případy. Šetření epidemických případů listerióz je s ohledem na dlouhou inkubační dobu a nízkou incidenci onemocnění obtížnější. Problematický je také častý výskyt geograficky vzdálených případů. Molekulárně epidemiologický přístup představuje účinný nástroj při šetření listerióz, má však svá specifická pravidla a klíčovým bodem je správná interpretace epidemiologických i molekulárně biologických dat.

LITERATURA

1. EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) 2016. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA Journal*, 2016;14(12): 231pp.
2. Lomonaco S, Nucera D, Filipello V. The evolution and epidemiology of *Listeria monocytogenes* in Europe and the United States. *Infect Gen Evol*, 2015;35: 172–183.
3. Ruppitsch W, Pietzka A, Prior K, et al. Defining and evaluation a core genome multilocus sequence typing scheme for whole-genome sequence-based typing of *Listeria monocytogenes*. *J Clin Microbiol*, 2015;53(9): 2869–2876.
4. Chenal–Francisque V, Maury MM, Lavina M, et al. Clonogrouping, a rapid multiplex PCR method for identification of major clones of *Listeria monocytogenes*. *J Clin Microbiol*, 2015; 53(10): 3355–3358.
5. Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, et al. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *J Clin Microbiol*, 2004;42(8): 3819–3822.
6. Roussel S, Michelon D, Lombard B, et al. Molecular typing of *Listeria monocytogenes* strains isolated from food, feed and animals: state of play and standard operating procedures for pulsed field gel electrophoresis (PFGE) typing, profile interpretation and curation. *EFSA supporting publication*, 2014; EN-702, 81 pp. ISSN 2397-8325.
7. Jensen AK, Björkman JT, Ethelberg S, et al. Molecular typing and epidemiology of human listeriosis cases, Denmark, 2002–2012. *Emerg Infect Dis*, 2016;22(4): 625–633.
8. Knabel SJ, Reimer A, Verghese B, et al. Sequence typing confirm that a predominat *Listeria monocytogenes* clone caused human listeriosis cases and outbreaks in Canada from 1988 to 2010. *J Clin Microbiol*, 2012;50(5): 1748–1751.
9. Maury M, Tsai YH, Charlier C, et al. Uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity. *Nat Genet*, 2016;43(3): 308–313.
10. Gelbíčová T, Koláčková I, Pantůček R, et al. A novel mutation leading to a premature stop codon in *inlA* of *Listeria monocytogenes* isolated from neonatal listeriosis. *New Microbiol*, 2015;38(2): 293–296.

Poděkování

Práce vznikla za finanční podpory projektu AZV 16-31488A.

Do redakce došlo dne 13. 2. 2017.

Adresa pro korespondenci:

Mgr. Tereza Gelbíčová

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.
Hudcova 70
621 00 Brno
e-mail: gelbicova@vri.cz