

LİSTERİOZİSİN TANIMINDA, LISTERİA MONOCYTOGENES «O» AGLUTİNİNLERİNİN DEĞERİ

A. Tefvik Cengiz*

R. Muhlis Özsan**

Üst solunum sistemi enfeksiyonları, anjin, konjonktivitis, sepsisemi, endokarditis ve menenjitis gibi değişik klinik şekilleri izlenen listeriosis, bir zoonoz olarak tanımlanmıştır. Sepsisemi şeklinde izlenen genel enfeksiyonlarında, plasenta yoluyla fötusa geçebilen etken öldürücü ansefalitlere, abortus ve ölü doğumlara neden olabilmektedir (1,5,6,7,13,14,16).

İlk kez 1911 senesinde Hulpers (19), tarafından tanımlanan listeriosis etkeni 1926 senesinde Murray, Webb ve Swann tarafından tavşanlardan elde edilmiştir (14,19). 1936 senesinde insanlarda da saptanan etkene Pirie (14), *Listeria monocytogenes* isminin verilmesini teklif etmiştir. Ülkemizde enfeksiyonu ilk kez 1945 senesinde Özcebe ve Doğuer (3), göstermişlerdir.

Peritrich kirpikli, kapsüllü, gram pozitif, aerop veya fakültatif anaerop bir mikroorganizma olan *Listeria monocytogenes* 1-3 mikron uzunluğunda, 0.2-0.5 mikron genişliğinde, uçları hafif yuvarlak ve eğri durumda olan çomakcıklardır. Başlıca enfeksiyon kaynağının fare ve diğer kemiriciler olduğu ve etkenin insanlara, enfeksiyon kaynağından direk ve indirekt temas yoluyla bulaştığı sanılmaktadır. Konjenital şekil dışında insandan insana bulaşma gösterilememiştir (5,10,14,18). Listeriosis tanısında, hastalık materyelinden bakterinin izolasyonu ve aglutinasyon, kompleman fiksasyonu, presipitasyon, indirekt hemaglutinasyon gibi yöntemlerden yararlanılır (8,9,10).

Yedi seneyi içeren bu araştırmamızda (1972-1978), değişik sağlık sorunlarıyla enstitümüze ve fakültemizin diğer kliniklerine başvuran 6156 hastanın serumunda *Listeria monocytogenes* «O» aglutininlerini araştırdık. Ayrıca elde edilen sonuçların düşük, ölü doğum, prematürite gibi değişik obstetrik sorunlarındaki önemini açıklamayı amaçlamış bulunuyoruz.

* A. Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Parazitoloji Kürsüsü Doçenti

** A. Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Parazitoloji Kürsüsü Profesörü

MATERYEL VE YÖNTEM

Patolojik gebelikleri ve çeşitli obstetrik sorunları nedeniyle Enstitümüze gelen 6156 hastanın yaşı, mesleği, yaşadığı kenti ve klinik şikayetleri protokol kartlarına yazıldı. Hasta serumları ayrıldı ve enstitümüzün seroloji laboratuvarında *Listeria* tip I,III,4a ve 4b aglutininleri araştırıldı.

Bu amaçla önce *Listeria* tip I,III,4a ve 4b antijenleri hazırlandı. Bu antijenleri kullanarak tüpte aglutinasyon yöntemi uygulandı ve hasta serumlarındaki *Listeria monocytogenes* «O» aglutinin titreleri saptandı.

Listeria monocytogenes «O» antijenlerinin hazırlanması (3,8,9).

Antijenler, standart *Listeria monocytogenes* tip 1,111,4a ve 4b suşları ile hazırlanmıştır. Bu amaçla liyofilize *Listeria* suşları, steril koşullarda, bilinen yöntemlerle açılmış ve kanlı jeloza pasajları yapılmıştır. Besiyerinde üreyen bakterinin S kolonileri seçilerek, % 1'lik tryptose buyyona ekilmiştir. Tüpler 24-48 saat 37°C sinde bekletildikten sonra üreme ve saflık kontrolü yapılmıştır. Roux şişelerindeki % 1'lik tryptose jeloz üzerine aktarılan bu bakteriler, 24-48 saat 37°C sinde üretilmişlerdir. Bakteriler fizyolojik tuzlu su ile Roux şişelerinden toplanmış ve 2 saat süre ile 80°C sinde öldürülmüşlerdir. Saflık ve sterilite kontrolü yapıldıktan sonra, Sorensen tamponu ile yıkanan bakteri suspansiyonları, 1 cc de 2 milyar jerme ayarlanarak, aglutinasyon deneyinde kullanılmışlardır. *Listeria* tip 1,111,4a ve 4b antijenleri hazırlandıktan sonra + 4°C sinde buz dolabında saklanmıştır.

Aglutinasyon deneyi :

Hasta serumları 56°C sinde yarım saat süre ile inaktive edildi. *Listeria* tip 1,111,4a ve 4b antijenleri için 1/40-1/640 serum sulandırılmaları kullanıldı. Tüpleri 2 saat 37°C sinde etüvde ve bir gece oda derecesinde bırakarak, aglutinasyon deneyi sonuçları okundu.

BULGULAR

Yedi seneyi içeren sürede memleketimizin değişik bölgelerinden gelen 6156 hastanın serumunda *Listeria monocytogenes* «O» aglutininleri araştırılmıştır. İncelenen hasta serumlarının ve > 1/320 titrelerin senelere dağılımı Tablo1'de açıklanmıştır.

Obstetrik sorunları bulunan kadınlara ait 6156 serumun yaş gruplarına dağılımı Tablo-2'de gösterilmiştir. Hastaların yaşadığı kentlere göre dağılımını belirtmek üzere Tablo-3 düzenlenmiştir.

1972-1978 seneleri arasında *Listeria* tip 1,111,4a ve 4b serolojik tipleri ile 6156 hasta serumunda, «O» aglutininleri araştırılmış ve $> 1/320$ titrelerin sayısı ve % oranları toplu bir şekilde Tablo-4'de açıklanmıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Listeriosis tanısında, bakteri izolmanın güçlüğü nedeniyle, serolojik yöntemler, özellikle aglutinasyon kullanılmaktadır. Normal bireylerin % 59'unda $1/200$ titreye kadar antikor saptanabildiği ve bu aglutininlerin büyük oranda kros reaksiyon veren bakterilerden ileri geldiği açıklanmıştır (3,4,11). Çünkü bu basilin *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* ve bazı *Corynebacterium*'larla müsterek antijenik faktörleri olduğu gözlenmiştir (15,18). Araştırmacılar ancak $1/320$ ve daha yüksek serum sulandırımını özgül olarak kabul etmeyi ileri sürmektedirler (3,4,15). Bizim çalışmamızda > 320 titrede aglutinasyon, *Listeria* tp 1 için % 15.02, tip 111 için % 10.74, 4a için % 7.15, ve 4b için % 12.65 oranlarında bulunmuştur. Aglutinin titrelerine dayanarak *Listeria monocytogenes* tip dağılımı açıklanmak istenmiş ve bulgularımıza göre *Listeria monocytogenes* tip 1'in en yüksek düzeyde bulunduğu anlaşılmıştır. Bunu *Listeria monocytogenes* tip 4b izlemektedir. Ülkemizde bu konu üzerinde yapılan bir çalışmada da benzer sonuçların elde edildiği açıklanmıştır (3).

Isıya duyarlı H ve ısıya dirençli O antijenik bünyesine göre serolojik tiplerine ayrılan *Listeria monocytogenes*'in 4. tipinin 4a ve 4b alt tipleri saptanmıştır. Bu

TABLO 1 : 6156 hastanın ve $> 1/320$ aglutinasyon sonuçlarının senelere göre dağılımı

S E N E L E R														
Listeria sero- lojik tipleri	1972		1973		1974		1975		1976		1977		1978	
	sayı	$\frac{1}{320}$ ^	sayı	$\frac{1}{320}$ ^	sayı	$\frac{1}{320}$ ^	sayı	$\frac{1}{320}$ ^	sayı	$\frac{1}{320}$ ^	sayı	$\frac{1}{320}$ ^	sayı	$\frac{1}{320}$ ^
Tip 1	92	4	184	7	277	16	133	27	1093	180	1677	251	2700	440
Tip 111	92	—	184	2	277	24	133	13	1093	121	1677	232	2700	270
Tip 4a	92	2	184	2	277	9	133	12	1093	93	1677	137	2700	185
Tip 4b	92	2	184	6	277	26	133	22	1093	158	1677	205	2700	360

TABLO II : 6156 hastanın incelendiği senelere ve yaş gruplarına dağılımı

Yaş grupları	S E N E L E R							Toplam
	1972	1973	1974	1975	1976	1977	1978	
15 - 19	5	21	23	12	117	166	263	607
20 - 24	23	62	123	45	130	675	970	2028
25 - 29	40	50	54	43	484	446	682	1819
30 - 34	14	29	45	17	277	267	517	1166
35 - 39	8	15	22	10	63	89	140	347
40 - 44	2	7	7	2	17	22	96	153
> 45	—	—	3	4	5	12	32	56

TABLO III : 6156 hastanın yaşadığı kentin bulunduğu bölgelere ve başvuru senelerine göre dağılımı

Listeria
aglutinin araştırması
yapılan hastaların
yaşadığı bölgeler

	S E N E L E R							
	1972	1973	1974	1975	1976	1977	1978	
Güney doğu Anadolu	2	5	12	6	47	30	30	132
Doğu Anadolu	—	7	17	11	99	46	45	225
Batı Karadeniz	3	10	15	17	80	60	75	260
Orta Karadeniz	7	8	25	8	65	30	100	243
Doğu Karadeniz	9	—	8	4	37	30	40	128
Marmara	6	10	37	7	81	30	65	237
Ege	1	5	19	8	94	20	70	217
İç Anadolu	58	129	50	51	479	1376	2150	4293
Batı Akdeniz	3	5	50	17	74	15	55	219
Doğu Akdeniz	3	5	43	4	37	40	70	202
Toplam	92	184	277	133	1093	1677	2700	6156

TABLO IV : *Listeria monocytogenes* «O» aglutinasyonu pozitif sonuçlarının dağılımı ve % oranları

Listeria serolojik tipleri	1972 - 1978 senelerinde L.M* aglutinasyonu		
	Toplam olgu	Pozitif olgu	Pozitif olgu%
Tip 1	6156	925	15.02
Tip 111	6156	662	10.74
Tip 4a	6156	255	7.15
Tip 4b	6156	779	12.65

* L.M aglutinasyonu : *Listeria monocytogenes* «O» aglutinasyonu.

mikroorganizmanın dekstroz, maltoz ve salisini fermente ettiği gösterilmiş, indol ve sitratı etkilemediği, katalaz ve üreaz reaksiyonlarının negatif olduğu bulunmuştur (1,4,8,14). Bunların ve diğer özelliklerinin bilinmesine karşın etkenin izolmanı ve bakteriyolojik tanı her zaman yapılamamaktadır. Bu nedenle düşük, ölü doğum ve neonatal ölüm olgularında önemi açıklanan listeriozisin tanımı için, *Listeria* aglutinasyon yöntemi kullanılmaktadır. Mikroorganizmanın izolmanı kadar kesin sonuçlar vermemesine karşın aglutinasyon yöntemi ile, yararlı bilgiler elde ederek koruyucu önlemler alınabilmektedir (11,12). Büke, M (2) tarafından Ege bölgesinde *Listeria* enfeksiyonlarının obstetrik değeri yönünde bir çalışma yapılmış ve aşağıdaki sonuçlara ulaşıldığı açıklanmıştır :

a — Normal doğum yapan 20 kadında ve prematüre doğum yapan 30 kadında, ölü doğum yapanlarda ve 7 plasenta dokusunda *Listeria* üretilmemiştir.

b — Prematüre çocukların mekonyum, burun- boğaz salgılarında *Listeria* üretilmemiştir.

c — Kan kültürlerinde *Listeria* üretilmemiştir.

d — Sık sık düşük yapan 17 kadından birisinin serviko-vaginal salgısından, bir diğerinin feçesinden *Listeria* izolmanı yapılmıştır.

e — Normal doğum yapmış kadınlarda % 15, sık düşük yapmış kadınlarda % 58,82, ölü doğum yapanlarda % 50, prematüre doğum yapmış kadınlarda % 23.33 oranlarında antikor saptanmıştır. Bu bulgu serolojik çalışmalarla daha yüksek oranlarda *Listeria* enfeksiyonunun saptanabileceğini göstermektedir.

Başka bir çalışma 1000 yeni doğan mekonyumu incelenmiş, ancak üç olguda *Listeria monocytogenes* saptandığı açıklanmıştır (17). A. Ü. Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları - Doğum Kliniğinde Tezcan, S ve Esenal, A (19), tarafından

yürütülen bir çalışmada 76 mekonyum örneği incelenmiş, fakat *Listeria monocytogenes* üretilmemiştir. Serter, F ve Serter, D (18), 1971 yılında *Listeria*'nın neden olduğu bir menengo-ansefalit olgusunu yayınlamışlardır. Ekmen (3), ise düşük ve ölü doğum yapmış 91 kadında *Listeria* «O» aglutininlerini araştırmış ve bir olguda 1/400,2 olguda 1/800 titrelerinde pozitif aglutinasyon saptadığını açıklamıştır. Rost ve arkadaşları (3), düşük, ölü doğum ve neonatal ölüm olgularında listeriozin önemli bir etken olduğunu bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda incelenen 6156 olgunun çeşitli obstetrik sorunları bulunmaktadır. Bu sorunlar tek veya tekrarlıyan düşük, ölü doğum yapma, prematüre çocuk doğumu, neonatal çocuk ölümü veya doğumsal anomalisi bulunan çocuk doğumu şeklinde özetlenebilir. Bu olguların serumlarında *Listeria monocytogenes* «O» aglutinin titreleri 1/320 ve üzerinde pozitif olarak değerlendirilmiştir. Tablo 4'de görüldüğü üzere tip I için % 15.02, tip III için % 10.74 ve tip 4a için % 7.15, tip 4b için % 12.65 pozitif aglutinasyon izlenmiştir.

Çalışmamızda incelenen 6156 hastanın yaş gruplarına dağılımı Tablo 2'de açıklanmış bulunmaktadır. Olgularımızın büyük bölümü 20-24 yaş grubunda toplanmıştır (2028 olgu). 25-29 yaş grubunda 1819 hasta, 30-34 yaş grubunda ise 1166 hasta bulunmaktadır. Hastalarımızın büyük çoğunluğu (428 kişi), Ankara'dan ve İç Anadolu bölgesinin diğer kentlerinden gelmektedir. Eşit hasta inceleme olanağı bulamadığımız için ülkemizin çeşitli bölgeleri arasında *Listeria* enfeksiyonlarının karşılaştırılmasını ve değerlendirmesi yapamadık. İleri çalışmalarımızda *Listeria* serotiplerinin ülkemizdeki dağılımı ve sıklığı konusundaki sonuçlarımızı açıklamayı düşünüyoruz. Araştırmacılar *Listeria* enfeksiyonlarının taşra halkında, büyük kent halkına göre daha yüksek düzeyde bulunduğunu bildirmektedir (2). Tablo 3'de incelediğimiz 6156 olgunun, yaşadığı kentin bulunduğu bölgelere göre, dağılımı görülmektedir.

İç Anadolu bölgesinde *Listeria* tip 1 için 710 hastada, tip 111 için 490 hastada, 4a için 200 hastada ve tip 4b için 560 hastada pozitif aglutinasyon saptanmıştır. Bu bulgumuz, bir ölçüde, *Listeria* tip 1 ve tip 4b'nin İç Anadolu bölgesinde daha yüksek düzeylerde bulunduğuna işaret etmektedir.

ÖZET

Value of *Listeria monocytogenes* «O» agglutinins in the diagnosis of listeriosis

1972 - 1978 yılları arasında, 6156 hastanın serumunda *Listeria monocytogenes* «O» aglutininleri araştırıldı. Düşük, ölü doğum, prematürite gibi değişik sağlık sorunları bulunan bu hastalarda 1/320 ve üzerinde saptanan aglutinasyon titreleri pozitif kabul edildi.

Listeria tip 1 için % 15.02, tip 111 için % 10.74, tip 4a için % 7.15 ve tip 4b için % 12.65 oranında pozitif aglutinasyon izlendi. Aglutinasyon sonuçlarına göre, Listeria tip 1 ve tip 4b nin daha yüksek düzeylerde bulunduğu düşünüldü.

Listeriosis'in değişik klinik şekilleri izlenmektedir. Abortus ve ölü doğumların nedeni olabilmesi, toplum sağlığı yönünden önemini yansıtmaktadır.

SUMMARY

Between 1972 - 1978, 6156 patients sera were investigated for «O» agglutinins. All these patents had story of abortion, still birth and premature birth, agglutination titer of 1/320 and above regarded as positive.

Positive agglutination was seen % 15.02 with Listeria tip 1, % 10.74 with type 111, % 7.15 with type 4a, % 12.65 with type 4b. According to these results Listeria type 1 and 4b were most prominent.

Listeriosis causing abortion and still birth is very important for mother and child care and public health.

LİTERATÜR

1. Busch LA : Listeriosis in the United States 1967-1969, J. Infect. Dis. 123 : 328, 1971
2. Büke M : Ege bölgesinde listeria enfeksiyonlarının obstetrik yönünden değeri, Ege Ü. Tıp Fak. 3 : 293, 1974
3. Ekmen H : Normal kabul edilen şahıslarda ve habutuel abortus vak'alarında Listeria monocytogenes «O» aglutininleri, A. Ü. Tıp Fak. Mec. 3 : 424, 1967
4. Gray ML, Killinger AH : Listeria monocytogenes and listeric infections, Bacteriol. Rew. 30 : 309, 1966
5. Gray ML : Listeriosis as a cause of repeated abortion, Lancet 2 : 315, 1960
6. Gray, ML : Listeriosis a round table discussion, Health Lab. Sci. 1 : 261, 1964
7. Hood M : Listeriosis : Report of cases, Amer. J. Clin. Path. 28 : 18, 1957
8. Larsen SA, Wiggins GL, Albritton WL : Immune response to listeria, manual of Clinical Immunology : 318, 1976, Washington
9. Larsen SA, Jones WL : Evaluation and standardization of an agglutination test for human listeriosis, App. Microbiol. 24 : 101, 1972

10. Medoff G, Kunz LÜ, Weinberg AN : Listeriosis in humans an evaluaition, J. Infect. Dis 123 : 247, 1971
11. Osebol JW, Aalund O : Interpretation of serum agglutinating antibodies to listeria monocytogenes by immunoglobulin differentiation, J. Infect. Dis. 118 : 139, 1968
12. Osebold JW, Sawyer MT : Agglutinating antibodies for listeria monocytogenes in human serum, J. Bacteriol. 70 : 350, 1955
13. Owen CR, Meis A, Jackson CW, Stoenner HG : A case of primary Cutaneous Listeriosis, New Eng. J. Med. 262 : 1026, 1960
14. Özsan K. : Listeria monocytogenes, Sağlık Hizmetinde Mikrobiyoloji-Özel Mikrobiyoloji, 874, 1968
15. Özsan K, Ekmen H, Fazlı A : Citellus citellus gelengius'larda Listeria monocytogenes «O» aglutininleri, Mikrobiyoloji Bülteni 1 : 71, 1972
16. Rappaport F, Rabinovitz M, Toaff R, Krochik N : Genital listeriosis a cause of repeated abortion, Lancet 1 : 1273, 1960
17. Seguy B : Complications foetales de la listeriose maternelle, Gynec. Obs. 22 : 5, 1970
18. Serter F. Serter D : Listeria enfeksiyonları ve listeriosis'e bağlı menengo-ensefalit vak'ası, Mikrobiyoloji Bülteni 2 : 146, 1971
19. Tezcan S, Esendal A : Listeria monocytogenes, A. Ü. Tıp Fak. Mec. 1-2 : 147, 1974