

Aus der Klinik und Poliklinik
der Frauenheilkunde und Geburtshilfe Großhadern
der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. S. Mahner

Listeria monocytogenes
Molekulare Grundlagen und klinische Bedeutung
für die Frauenheilkunde

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Kerstin Julia van Schwartzberg
aus
Rosenheim
2023

Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter	Prof. Dr. Dr. Ernst Rainer Weissenbacher
Mitberichterstatter:	PD Dr. Dimitrios Frangoulidis
Mitbetreuung durch den Promovierten Mitarbeiter	PD Dr. I. Soljanik
Dekan:	Prof. Dr. med. Thomas Gudermann
Tag der mündlichen Prüfung:	20.04.2023

Inhaltsverzeichnis

	Inhaltsverzeichnis.....	3
	Zusammenfassung.....	9
	Abbildungsverzeichnis.....	10
	Tabellenverzeichnis.....	13
	Abkürzungsverzeichnis.....	14
1.	Einleitung.....	20
2.	Aufgabenstellung.....	22
3.	Methodik und Material.....	23
3.1	Suchkriterien.....	23
4.	Listeria monocytogenes.....	25
4.1	Der Erreger <i>Listeria monocytogenes</i>	25
4.2	Historischer Hintergrund.....	28
4.3	Nomenklatur.....	31
4.3.1	<i>Phylogenetische Position</i>	31
4.3.2	<i>Taxonomie</i>	32
4.4	Intrazellulärer Infektionszyklus von <i>Listeria monocytogenes</i>	37
4.5	Virulenzfaktoren von <i>Listeria monocytogenes</i>	40
4.5.1	<i>Adhäsion und Invasion in die Wirtszelle</i>	40
4.5.1.1	Internaline.....	40
4.5.1.1.1	Internalin A (InIA).....	44

4.5.1.1.2	Internalin B (InIB).....	46
4.5.1.1.3	Internalin C (InIC).....	48
4.5.1.1.4	Lmo2470 (InIP).....	48
4.5.1.1.5	Weitere Internaline.....	49
4.5.1.1.5.1	Internalin H (InIH)	49
4.5.1.1.5.2	Internalin J (InIJ).....	49
4.5.1.1.5.3	Internalin Lmo2026.....	50
4.5.2	<i>Entkommen aus dem primären und sekundären Phagosom.....</i>	50
4.5.2.1	Listeriolysin O (LLO).....	50
4.5.2.2	Phospholipasen der Klasse C.....	56
4.5.2.2.1	PI-PLC (PlcA).....	57
4.5.2.2.2	PC-PLC (PlcB).....	58
4.5.2.3	Metalloprotease (Mpl).....	59
4.5.2.4	Listeriolysin S (LLS).....	60
4.5.3	<i>Vermehrung und Zell-zu-Zell-Ausbreitung.....</i>	62
4.5.3.1	ActA.....	62
4.5.4	<i>Weitere additive Faktoren im Rahmen des Infektionszyklus von Listeria monocytogenes.....</i>	69
4.5.4.1	Vip.....	69
4.5.4.2	Gallensalzhydrolase (BSH).....	69
4.5.4.3	p60 Protein.....	70
4.5.4.4	Ami.....	71
4.5.4.5	Auto.....	71
4.5.4.6	Katalase und Superoxiddismutase.....	71
4.5.4.7	FbpA.....	72
4.5.4.8	Hexose-Phosphat-Transporter (UhpT).....	72
4.5.4.9	Lap (Oberflächenprotein p104).....	73
4.6	Molekulargenetische Regulation.....	74
4.6.1	<i>Das zentrale Virulenzgencluster.....</i>	74
4.6.2	<i>Internalin-Inseln.....</i>	77
4.6.3	<i>PrfA - der zentrale Regulator der Virulenzgene von Listeria monocytogenes.....</i>	79
4.6.3.1	Der positive Regulationsfaktor A.....	79
4.6.3.2	PrfA - ein Mitglied der Crp/Fnr-Familie.....	80

4.6.3.3	Molekulare Struktur von PrfA.....	81
4.6.3.4	PrfA-abhängige Promotoren.....	83
4.6.3.5	Regulationsmechanismen von PrfA selbst.....	84
4.6.3.5.1	Konzentration von PrfA.....	84
4.6.3.5.2	Aktivität von PrfA.....	86
4.6.3.5.3	Bindungsaffinität von PrfA.....	88
4.6.3.6	Einfluss von Umweltfaktoren auf die PrfA-Aktivität.....	88
4.6.4	<i>Der allgemeine, alternative Stressfaktor Sigma σB.....</i>	89
4.7	Epidemiologie.....	90
4.7.1	<i>Allgemeines.....</i>	90
4.7.2	<i>Die Epidemiologie der Listeriose in Deutschland.....</i>	93
4.8	Pathogenese.....	97
4.9	Das Immunsystem und Listeria monocytogenes.....	104
4.9.1	<i>Allgemeines.....</i>	104
4.9.2	<i>Angeborene Immunität.....</i>	105
4.9.3	<i>Erworbene Immunität.....</i>	107
4.9.4	<i>Spezielle Anpassungsvorgänge des Immunsystems während der Schwangerschaft.....</i>	108
4.9.5	<i>Die Rolle des Trophoblasten im Rahmen der vertikalen Transmission.....</i>	111
4.9.5.1	Direkte Invasion von Trophoblastzellen.....	112
4.9.5.2	Zell-zu-Zell-Ausbreitung im Rahmen der vertikalen Transmission.....	115
4.9.6	<i>Die plazentare Immunantwort in ihrer Gesamtheit.....</i>	116
4.10	Klinik.....	120
4.10.1	<i>Klinische Erscheinungsbilder der Listeria monocytogenes-Infektion.....</i>	120
4.10.2	<i>Infektion während der Schwangerschaft.....</i>	122
4.10.3	<i>Neonatale Infektion.....</i>	124
4.10.3.1	Early-onset Listeriose.....	124
4.10.3.2	Late-onset Listeriose.....	125
4.10.4	<i>ZNS-Infektion.....</i>	122
4.10.4.1	Meningitis.....	127
4.10.4.2	Rhombenzephalitis.....	127

4.10.4.3	Gehirnabszesse.....	128
4.10.5	<i>Bakteriämie</i>	129
4.10.6	<i>Endokarditis</i>	129
4.10.7	<i>Febrile Gastroenteritis</i>	129
4.10.8	<i>Lokalisierte Infektionen</i>	130
4.10.9	<i>Eigene klinische Fallberichte</i>	131
4.10.9.1	Schwangerschafts-assoziierte Listeriose.....	131
4.10.9.2	ZNS-Listeriose eines 70jährigen Patienten.....	132
4.11	Diagnostik	133
4.11.1	<i>Allgemeines</i>	133
4.11.2	<i>Isolation</i>	134
4.11.2.1	Selektive Anreicherung.....	134
4.11.2.2	Selektivnährböden.....	135
4.11.2.2.1	McBride Listeria Agar (MLA).....	135
4.11.2.2.2	LPM-Agar.....	135
4.11.2.2.3	Oxford-Agar und modifizierter Oxford-Agar (MOX).....	136
4.11.2.2.4	PALCAM-Agar.....	136
4.11.2.3	Differenzierung der einzelnen Listerienspezies.....	137
4.11.3	<i>Antikörper basierte Nachweisverfahren</i>	140
4.11.4	<i>Molekulare Methoden</i>	140
4.11.4.1	DNA-Hybridisation.....	141
4.11.4.2	PCR (Polymerase Chain Reaction).....	141
4.11.4.3	FISH (Fluorescence In Situ Hybridization)	142
4.11.5	<i>Epidemiologische Identifikationsmethoden</i>	143
4.11.5.1	Phänotypische Typisierung.....	143
4.11.5.1.1	Serologische Typisierungsmethoden.....	143
4.11.5.1.2	Phagentypisierung.....	144
4.11.5.1.3	Multilokuläre Enzymelektrophorese (MEE).....	144
4.11.5.2	Molekulare Typisierungsverfahren.....	145
4.11.5.2.1	PFGE.....	145
4.11.5.2.2	Ribotyping.....	146
4.11.5.2.3	Restriktionsenzymanalyse (REA).....	146
4.11.5.2.4	PCR-basierte Typisierungsmethoden.....	147
4.11.5.2.4.1	RAPD.....	147

4.11.5.2.4.2	PCR-RFLP.....	148
4.11.5.2.4.3	SSCP.....	148
4.12	Die Therapie der Listeriose.....	149
4.12.1	<i>Allgemeines.....</i>	149
4.12.2	<i>Verschiedene Antibiotika.....</i>	152
4.12.2.1	β -Lactam Antibiotika.....	152
4.12.2.1.1	Penicilline.....	153
4.12.2.1.2	Cephalosporine.....	153
4.12.2.1.3	Carbapeneme.....	154
4.12.2.2	Aminoglycoside.....	154
4.12.2.3	Cotrimoxazol.....	154
4.12.2.4	Makrolide.....	155
4.12.2.5	Lincosamine.....	155
4.12.2.6	Rifampicin.....	155
4.12.2.7	Fluorochinolone.....	156
4.12.2.8	Tetracycline.....	156
4.12.2.9	Glycopeptide.....	156
4.12.2.10	Chloramphenicol.....	157
4.12.3	<i>Krankheitsbezogene Therapieregime.....</i>	157
4.12.3.1	Bakteriämie/Sepsis.....	157
4.12.3.2	Bakteriämie/Sepsis in der Schwangerschaft.....	158
4.12.3.3	Neugeboreneninfektion.....	158
4.12.3.4	Meningitis/Enzephalitis.....	158
4.12.3.5	Gehirnabszess.....	159
4.12.3.6	Endokarditis.....	159
4.12.3.7	Gelenks-/Knocheninfektion.....	159
4.13	Prävention.....	160
4.14	Mögliche Zukunftsperspektiven der Listeriaforschung.....	163
5.	Diskussion.....	167
	Literaturverzeichnis.....	181
	Danksagung.....	251

Affidavit.....	252
-----------------------	------------

Zusammenfassung

Die vorliegende Dissertation befasst sich mit dem Pathogen *Listeria monocytogenes* und dem Krankheitsbild der Listeriose. Hierzu wurde die Aufgabenstellung mit dem Entwurf eines Gesamtbildes und der näheren Betrachtung dieses Bakteriums im Hinblick auf den klinischen Alltag konzipiert. Im Speziellen sollte hier vor allem auf das gynäkologische und geburtshilfliche Fachgebiet eingegangen werden.

In dieser literarischen Übersichtsarbeit wurde selektiv die aktuellere Fachliteratur als auch Literatur der letzten Jahrzehnte berücksichtigt. Nach den bereits angegebenen Suchkriterien wurden zur Materialgewinnung vor allem Artikel der MEDLINE benutzt und zu einem Gesamtbild zusammengefügt.

Es wurde umfassend der Erreger *Listeria monocytogenes* im Hinblick auf Taxonomie, Historie, Epidemiologie und Pathogenese, dargestellt. Im Speziellen wurden aufgrund der Bedeutung für den Infektionszyklus die Virulenzfaktoren, sowie deren molekulargenetische Regulation erörtert. Da *Listeria monocytogenes* seit den 1960er Jahren als Modellpathogen in der Erforschung der angeborenen und zellulären Immunität gilt, wurde hierauf näher eingegangen, wobei vor allem immunmodulatorische Vorgänge in der Schwangerschaft ausführlich dargestellt wurden. Zentral wurden die klinischen Erscheinungsbilder vor allem im Hinblick auf die geburtshilfliche und neonatale Relevanz einer Infektion, sowie die ebenfalls im Vordergrund stehenden ZNS-Infektionen beleuchtet. Des Weiteren wurde umfassend auf die Diagnostik und deren Weiterentwicklungen eingegangen. Abrundend wurden ausführlich die gängigen Therapieregime, sowie grundsätzliche Schwierigkeiten bei der Behandlung der Listeriose erörtert. Abschließend wurden Präventionsstrategien für Menschen mit erhöhtem Risiko für die Aquirierung einer Listerioseinfektion vorgestellt. Zu diesem Risikokollektiv gehören Schwangere, Neugeborene, Menschen über 60 sowie immungeschwächte Personen. Um das Gesamtbild abzurunden wurde ein Ausblick in die *Listeria monocytogenes* Forschung gegeben mit möglichen zukünftigen Einsatzmöglichkeiten, vor allem in der Impfstoffherstellung.

Abschließend erfolgte eine zusammenfassende Darstellung der gewonnenen Erkenntnisse und eine Gegenüberstellung der erhobenen Forschungsergebnisse in der Diskussion. Des Weiteren wurde ein kritischer Ausblick auf gegebene Forschungsziele und Zukunftsperspektiven im Hinblick auf diagnostische und therapeutische Einsatzmöglichkeiten aufgezeigt.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Listeria monocytogenes: Elektronenrastermikroskopaufnahme (https://www.hygiene-in-practice.de/pathogen/listeria-monocytogenes/)	21
Abbildung 2	E.G.D. Murray (Cossart, 2007).	30
Abbildung 3	Verwandtschaft der Listeriaspezies errechnet aus dem Vergleich von 16SrRNA und 23SrRNA, sowie den Genen iap, ldh, vlcB und prs (Schmid, 2005).	35
Abbildung 4	Bekannte Listeriaspezies mit den seit 2009 hinzugekommenen Subgruppen und deren Beziehungen untereinander bis 2015 (modifiziert nach Weller, 2015).	36
Abbildung 5	Invasion und intrazellulärer Lebenszyklus von L. monocytogenes (Radoshevich, 2018)	37
Abbildung 6	Schematische Darstellung des intrazellulären Vermehrungszyklus von L. monocytogenes (Tilney, 1989).	39
Abbildung 7	Internalisation von L. monocytogenes in nicht-phagozytierende Zellen via InIA und InIB (Hamon, 2006)	40
Abbildung 8	Schematische Darstellung der Proteindomänen von InIA und InIB (Braun, 2000b).	42
Abbildung 9	Lokalisation der inl-Gene innerhalb des L. monocytogenes-EGDe-Chromosoms (Glaser, 2001).	44
Abbildung 10	InIA- E-cadherin Pathway (Bonazzi, 2009)	46
Abbildung 11	InIB-Met Pathway (Hamon, 2006)	47
Abbildung 12	Strukturmodell des LLO Monomers (Schnupf, 2007)	52
Abbildung 13	Zentrale Mechanismen von LLO (Seveau, 2014)	55
Abbildung 14	Wirkungsweise von LLS als Virulenzfaktor (Lee, 2020)	61
Abbildung 15	Act A (https://en.wikipedia.org/wiki/Actin_assembly-inducing_protein)	63
Abbildung 16	Ena/VASP Bindungsdomäne für Prolinrepatregion des ActA (Prehoda 1999)	63

Abbildung 17	Schematische Darstellung der Molekularstruktur von ActA mit den unterschiedlichen Bindungsmotiven (Vázquez-Boland, 2001a).	65
Abbildung 18	Ausbildung des Actinschweifs (https://en.wikipedia.org/wiki/Paracytophagy)	66
Abbildung 19	Funktion von Act A (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:ActA_Function.jpg)	67
Abbildung 20	Vergleich der Pathogenitätsinseln LIPI-1 in den drei potentiell pathogenen Listerienspezies: <i>L. monocytogenes</i> , <i>L. ivanovii</i> und <i>L. seeligeri</i> (Schmid, 2005)	75
Abbildung 21	Evolution des zentralen Virulenzgenclusters (LIPI-1) im Genus <i>Listeria</i> (Vázquez-Boland, 1989)	75
Abbildung 22	Genetische Organisation der Pathogenitätsinseln von <i>Listerien</i> (Disson, 2021)	77
Abbildung 23	Transkriptionelle Organisation der PrfA abhängigen Virulenzgene in <i>L. monocytogenes</i> (Scotti, 2007)	80
Abbildung 24	Struktur des wildtypischen PrfA Dimers (PDB-ID: 2BEO) (Eiting, 2005)	81
Abbildung 25	Schematischer Vergleich von Crp aus <i>E. coli</i> und PrfA aus <i>L. monocytogenes</i> (Vázquez-Boland, 2001a)	82
Abbildung 26	Promotorregionen von PrfA (Gray, 2006)	85
Abbildung 27	Modell der PrfA-Aktivität (Vázquez-Boland, 2001a).	87
Abbildung 28	Überschneidungen zwischen den von den σ B- und PrfA kontrollierten Regelkreisen (Gaballa, 2019)	89
Abbildung 29	Totgeburt eines Kindes mit einer generalisierten <i>L. monocytogenes</i> Infektion, früher bekannt als Granulomatosis infantiseptica (Vasquez-Boland, 2001a)	90
Abbildung 30	Übermittelte Listeriosen nach Meldequartal 2015-2020 (Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2020 Datenstand: 1. März 2021)	96
Abbildung 31	Schematische Darstellung der Pathophysiologie der Listerieninfektion (Vazquez-Boland, 2001a).	102

Abbildung 32	Pathophysiologie der <i>Listeria monocytogenes</i> Infektion (Hoelzer, 2012)	103
Abbildung 33	Durchbrechen der Plazentaschranke (Charlier, 2020)	114
Abbildung 34	Die transplazentare Infektion der Placenta über den Blutstrom (Vázquez-Boland, 2017)	116
Abbildung 35	Plazentare Immunantwort im Mausmodell (Barber, 2005).	118
Abbildung 36	Angeborene Immunantwort auf Plazentalevel (Maudet, 2021)	119
Abbildung 37	Die Infektion durch <i>L. monocytogenes</i> in vivo: Durch Überwindung der intestinalen Barriere gelangen die Bakterien über den Blutstrom letztlich in Gehirn und Placenta (Cossart, 2008)	121
Abbildung 38	CAMP-Test (Allerberger, 2003).	137
Abbildung 39	Verwendung des chromogenen Kulturmediums RAPID`L MONO® (Bio-Rad, Marnes la Coquette, Frankreich) (Allerberger, 2003).	139
Abbildung 40	Angeborene und adaptive Immunantwort auf <i>Listeria monocytogenes</i> im Hinblick auf die mögliche zukünftige Perspektive als Tumorstimmulator (Flickinger, 2018)	166

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Suchkriterien/Keywords der PubMed-Suche (Eigenerstellung)	24
Tabelle 2	Phänotypische Charakterisierung der Gattung <i>Listeria</i> (Tabelle modifiziert nach Friese, 2003; Weller 2015; Orsi, 2016)	27
Tabelle 3	Promotorregion PrfA-regulierter Virulenzgene in <i>L. monocytogenes</i> (Kreft, 2001).	83
Tabelle 4	Unterscheidung der einzelnen <i>Listeria</i> spezies anhand ihres Hämolyseverhaltens, sowie der Zuckerfermentation (Gasanov, 2005).	138
Tabelle 5	Auflistung der Serovare von <i>Listeria monocytogenes</i> (Allerberger, 2003).	144
Tabelle 6	Auswahl gebräuchlicher Antibiotika mit Angabe der MIC, sowie des bakteriostatischen und/oder bakteriziden Effekt (eigene Erstellung, angelehnt an Hof 2003b; Hof, 2004).	150

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
µm	Mikrometer
A	Adenin
ACOG	American College of Obstetricians and Gynecologists
ActA	ActA, Virulenzfaktor
actA	ActA-Gen
Ag	Antigen
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
AIS	Amnioninfektionssyndrom
Ala	Alanin
ALO	Anthralysin
Ami	Ami, Virulenzfaktor
ARDS	Acute respiratory distress syndrome
Arp	Actin related protein
AS	Aminosäure
ASS	Aminosäuresequenz
Auto	Auto, Virulenzfaktor
B.	Bacillus
BAM	Bacteriological and Analytical Method
Bc	Bacillus cereus
BE	Base excess
BHI	Brain Heart Infusion
bp	Basenpaar
bsh	Gallensalzhidrolase-Gen
BSH	Gallensalzhidrolase, Virulenzfaktor
Bt	Bacillus thuringiensis
C	Cytosin
C.	Clostridium
Ca	Karzinom

CAMP	Christie, Atkins, Munch-Petersen
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
CC	Clonal Complex
CCT	Cranio Computertomographie
CD	Cluster of Differentiation, Differenzierungsantigen
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CdC	Cholesterin abhängiges Cytolysin
cDNA	Komplementäre Desoxyribonucleinsäure
CFU	Colony Forming Units
cg	core genome
CgMLST	Core genome Multi Locus Sequence Typing
CMV	Cytomegalievirus
CRP	C reaktives Protein
Crp	cAMP-Rezeptor-Protein
CSF	Colony stimulating factor
CT	Computertomographie
CTG	Kardiotokogramm
d	die, Tag
DC	Dendritic cell, dendritische Zelle
DD	Differentialdiagnose
DIC	Disseminated intravascular coagulation, disseminierte intravasale Gerinnung
DNA	Desoxyribonucleinacid, Desoxyribonucleinsäure
E.	Escherichia
EGD/EGDe	Wildtyp-Listeria monocytogenes Stamm
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMSA	Electro mobility shift assay
EVT	Extravillöser Trophoblast
FbpA	FbpA-Protein, Virulenzfaktor
fbpA	FbpA-Gen
FDA	U.S. Food and Drug Administration

FISH	Fluorescence In Situ Hybridization
Fnr	Fumarat-Nitrat-Reduktase
FSIS	Food Safety and Inspection Service
G	Guanin
g	Gramm
G-1-P	Glucose-1-Phosphat
Gly	Glycin
GP	Gravida Para
GPI	Gycosylphosphatidylinositol
H.	Hämophilus
HGF	hepatocyte growth factor, Hepatozytenwachstumsfaktor
HIV	Human Immunodeficiency Virus
hly	Listeriolysin-Gen
HPV	Humanes Papilloma Virus
HTH	Helix-Turn-Helix
i.v.	Intravenous
iap	Invasion-associated-protein-Gen
IDO	Indolamin 2,3-dioxygenase
IFN γ	Interferon Gamma
IL	Interleukin
ILY	Cytolysin von Strept. intermedius
Inl	Internalin, Virulenzfaktor
inl	Internalin-Gen
IR	Inter repeat
ISO	International Organization of Standards
kb	Kilobase
KBMA	Killed but metabolic active
KC	Keratinocyte chemoattractant, Chemokin
kDA	Kilo Dalton
kgKG	Kilogramm Körpergewicht
L.	Listeria

LD	Letalitätsdosis
ldh	Laktatdehydrogenase-Gen
LIPI	Listeria-Pathogenitätsinsel
LLO	Listeriolysin O, Virulenzfaktor
LLS	Listeriolysin S, Virulenzfaktor
LPM	Lithiumchlorid-Phenylethanol-Moxalactam
LRR	Leucin rich repeats
MBC	minimal bactericidal concentration, minimale bakterizide Konzentration
MCP	Monocyte chemoattractant protein, Chemokin
MDH	Minnesota Departement of Health
MEE	Multilokuläre Enzymelektrophorese
mg	Milligramm
MHC	Major Histocompatibility Complex, Hauptkompatibilitätskomplex
MIC	Minimal inhibitory concentration, minimale Hemmkonzentration
MIP	Macrophage inflammatory protein, Chemokin
MLA	McBride Listeria Agar
MLST	Multilokuläre Sequenztypisierung (Multilocus Sequence Typing)
MM	Muttermund
MOX	Modifizierter Oxford Agar
MPL	Metalloprotease, Virulenzfaktor
mpl	Metalloprotease-Gen
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
N.	Nervus
NaCl	Natriumchlorid
NASBA	Nucleinsäuresequenz basierte Amplifikation
NF-κB	Kernfaktor KappaB
NK	Natürliche Killer (-Zellen)
NKDC	Natural killer dendritic cell
orf	Open reading frame, offenes Leseraster
P	Promotor

p60	p60-Protein, Virulenzfaktor
PBP	Penicillin-Bindungs-Protein
PC	Phosphatidylcholin
PCR	Polymerase Chain Reaction, Polymerasekettenreaktion
PE	Phosphatidylethanolamin
PEST	Prolin (P), Glutamat (E), Serin (S), Threonin (T)
PFGE	Pulsed field gel electrophoresis
PFO	Perfringolysin
PI	Phosphatidylinositol
PLC	Phospholipase, Virulenzfaktor
plc	Phospholipase-Gen
PrfA	Positiver Regulationsfaktor A
prfA	PrfA-Gen
prs	Phosphoribosyl-Pyrophosphat-Synthetase-Gen
PS	Phosphatidylserin
R.	Rhodococcus
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
rDNA	Ribosomale DNA
REA	Restriktionsenzymanalyse
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphisms, Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen
RKI	Robert-Koch-Institut
RNA	Ribonucleinacid, Ribonukleinsäure
rRNA	Ribosomale Ribonukleinsäure
RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
S.	Staphylococcus
Ser	Serin
Sig	Sigma
SL	Sublinie
SLO	Streptolysin
SM	Sphingomyelin

SNP	Single Nucleotid Polymorphism
SOD	Superoxiddismutase
spp.	Spezies
SrRNA	Untereinheit deer ribosomalen RNA
SSCP	Single Strand Conformational Polymorphism
SSW	Schwangerschaftswoche
ST	Sequence Type
Strept.	Streptococcus
Subsp.	Subspezies
Syn	Syncytiotrophoblast
T	Tymin
TAA	Tumor associated Antigen
Th	T-Helferzelle
Thr	Threonin
TLR	Toll like receptor
TMH	Tranmembrane β -Hairpin
TNF	Tumornekrosefaktor
TOMMs	Thiazole/Oxazol Modified Microcins
Trp	Thryptophan
UhpT	Hexose-Phosphat-Transporter, Virulenzfaktor
USDA	US Department of Agriculture
Vip	Vip (Virulence protein), Virulenzfaktor
WHO	World Health Organisation
WGS	Whole Genome Sequencing
ZNS	Zentrales Nervensystem

1. Einleitung

Abort, Frühgeburtlichkeit, Totgeburt, schwerste neonatale Infektion, Meningitis, Enzephalitis und Sepsis sind alles Krankheitsbilder, die von einem einzigen Bakterium verursacht werden können, nämlich von *Listeria monocytogenes* (Swaminathan, 2007). Trotz dieser schwerwiegenden Erkrankungen und einer Mortalitätsrate von ca. 30% im Risikokollektiv ist die Kenntnis der Allgemeinbevölkerung und auch von medizinischem Personal über die so genannte Listeriose nur gering (Hof, 2007). Im Allgemeinen verläuft die Erkrankung mit einer grippeähnlichen Symptomatik und ist selbstlimitierend, aber für Personen aus einer Risikogruppe, zu welcher Schwangere, Neugeborene, ältere Menschen, immunsupprimierte Personen und Patienten mit bestimmten Grundkrankheiten, wie Diabetes mellitus oder Lebererkrankungen, gehören, kann eine Infektion mit dem ubiquitär in der Umwelt, im Boden und in Lebensmitteln vorkommenden Keim *Listeria monocytogenes* äußerst schwerwiegend verlaufen. *Listeria monocytogenes* wurde bereits in den 1920er Jahren als Verursacher von ZNS-Infektionen bei Nagetieren erkannt. Bis in die 1970er Jahre galt *Listeria monocytogenes* als Erreger für Zoonosen bei Herdentieren mit resultierenden Fehlgeburten und Enzephalitiden ohne *L. monocytogenes* auch als ernstzunehmende menschliches Pathogen zu identifizieren.

1949 wurde *L. monocytogenes* als ursächlicher Keim für mehrere schwerwiegende neonatale Infektionen in einem deutschen Krankenhaus (Hof, 2007) in Verbindung gebracht, wobei dieser Tatsache keine weitere Bedeutung beigemessen wurde. Erst in den 1980er Jahren rückte *L. monocytogenes* ins Zentrum des Interesses, als klar wurde, dass *Listeria monocytogenes* ein Lebensmittel-assoziiertes Pathogen für den Menschen ist, welches für diverse sporadische und epidemische Ausbrüche von Nahrungsmittel-assoziierten Erkrankungs- und Todesfällen verantwortlich war (Drevets, 2008).

Seit 2001 zählt die Listeriose zu den meldepflichtigen Erkrankungen in Deutschland mit über 500 Erkrankungsfällen/Jahr, wovon die Mehrheit schwangere Frauen betrifft (Hof, 2007). Das Bewusstsein für diese Erkrankung muss im Hinblick auf die Risikogruppen und die möglichen schwerwiegenden Verläufe geschärft werden und vor allem in die Liste der Differentialdiagnosen bei grippeähnlicher Symptomatik bei Schwangeren, bei Totgeburten, bei Frühgeburten und bei neonataler Sepsis oder

Meningitis, als auch bei Meningitis- und Enzephalitisfällen bei älteren Menschen aufgenommen werden, da eine frühzeitige Behandlung entscheidend ist.

Bereits seit den 1960er Jahren diente *Listeria monocytogenes* als bakterielles Forschungsobjekt, in erster Linie im Hinblick auf immunologische Aspekte. Hier fungiert *Listeria monocytogenes* als Modellpathogen vor allem für Beobachtungen und Forschungsansätze bezüglich der angeborenen sowie zellulären Immunantwort. Als Durchbruch konnte im Jahr 2000 das vollständige Genom entschlüsselt werden (Glaser, 2001).

Das Ziel dieser Doktorarbeit ist, die Besonderheiten von *Listeria monocytogenes*, angefangen bei den molekularen Grundlagen, über dessen Diagnostik, die hervorgerufenen Krankheitsbilder und möglichen Therapie mit besonderem Augenmerk auf gynäkologische und geburtshilfliche Aspekte, zu beleuchten.

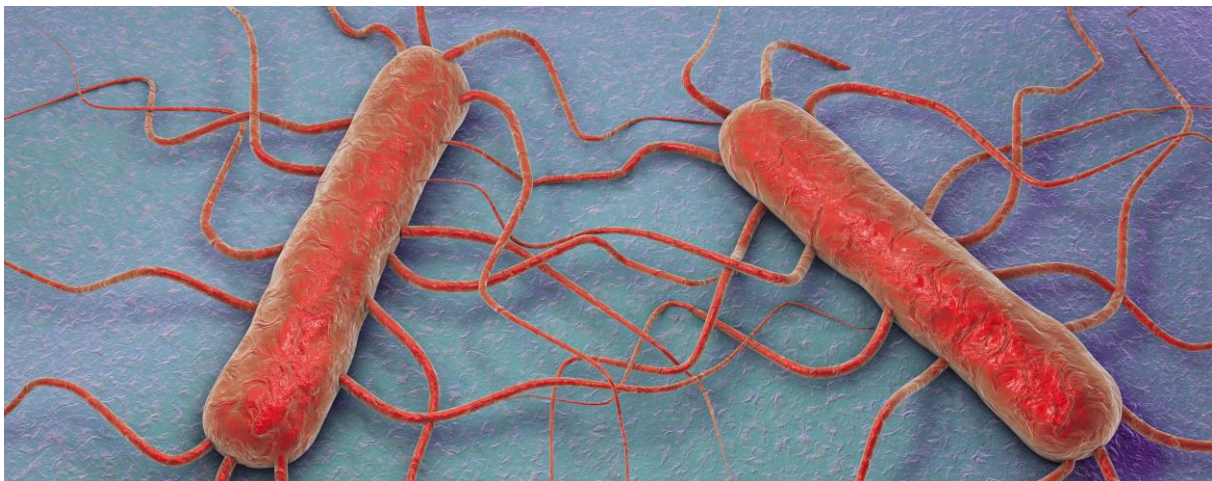


Abbildung 1: *Listeria monocytogenes*: Elektronenrastermikroskopaufnahme (<https://www.hygiene-in-practice.de/pathogen/listeria-monocytogenes/>).

2. Aufgabenstellung

- a) Selektive Literaturrecherche über das Bakterium *Listeria monocytogenes* mit besonderem Augenmerk auf die gynäkologische und geburtshilfliche Bedeutung.
- b) Erstellen einer Gesamtübersicht über das Bakterium inklusive der molekularen und genetischen Grundlagen.
- c) Vergleich der Daten und deren Ergebnissen bezüglich der Thematik dieser Dissertation.
- d) Diskussion

3. Methodik und Material

Bei der vorliegenden Dissertation handelt es sich um eine Doktorarbeit bei der eine systematische Literaturrecherche als zugrundeliegende Methode gewählt wurde. Ziel war es sowohl Primär- als auch Sekundärliteratur zu sammeln, ein Gesamtbild über das Bakterium *Listeria monocytogenes* zu entwerfen mit besonderem Augenmerk auf die klinische Bedeutung in der Frauenheilkunde und molekularer Grundlagen. Die Literaturrecherche fand primär über die medizinische Suchmaschine PubMed statt, die unter anderem auf die Datenbank MEDLINE zurückgreift. In der Übersichtsarbeit sollten vor allem Artikel der letzten 30 Jahre berücksichtigt werden, wobei auch ältere Publikationen verwendet wurden, um dem Konzept eines Gesamtbildes genüge zu leisten. Des Weiteren wurden Artikel und Publikationen herangezogen, die über die Bayerische Staatsbibliothek erhältlich waren. Für die Darstellung von Grundkenntnissen wurden fachspezifische Lehrbücher herangezogen. Hierzu zählen:

Löffler: Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie 3. Auflage 1999; Friese: Infektionskrankheiten in Gynäkologie und Geburtshilfe 2003; Bergey's Manual of systematic bacteriology.

Des Weiteren wurden Zahlen und Fakten, die auf den Internetseiten des Robert-Koch Instituts, der CDC, Eurofins oder PulseNet zur Verfügung stehen, verwendet.

3.1 Suchkriterien

Folgende in einer Tabelle zusammengefasste Keywords dienten als Grundlage bei der PubMed-Suche. Die Suche erfolgte unter Berücksichtigung von Artikeln bis zum Jahr 2021. Um die enorme Anzahl an Treffern in der PubMed-Suche einzugrenzen wurden v.a. Reviews, Systematic reviews und Metaanalysen herangezogen. Des Weiteren wurden nur Artikel, die in Englisch oder Deutsch verfügbar waren, verwendet. Die Themenaspekte wurden mit Booleschen Operatoren verbunden, um die Suche weiter zu präzisieren. Die Suche konzentrierte sich des Weiteren v.a. auf Volltexte und frei verfügbare Volltexte (siehe Tabelle 1). Artikel, die relevant waren, jedoch nicht über PubMed frei verfügbar waren, wurden über die Datenbank bzw. das Archiv der Bayerischen Staatsbibliothek bzw. per Fernausleihe gefunden.

Suche	Keyword	Ergebnis	Filter	1991-2021
1	Listeria	23.297	601	589
2	Listeria monocytogenes	20.086	487	480
3	Listeriosis	8.193	224	212
4	L.m. And pregnancy	679	31	30
5	L.m. And immune response	3.662	99	97
6	Placenta And immune response	3.647	337	329
7	L.m. And virulence determinants	1.770	45	45
8	Granulomatosis infantiseptica	10	3	
9	L.m. And prevention	2.800	56	56
10	L.m. And diagnosis	7.924	47	47
11	L.m. And brain infection	683	23	23
12	L.m. And meningitis	985	41	38
13	L.m. And therapy	4.192	124	122
14	L.m. And neonatal infection	617	30	30
15	L.m. And immunity	4.263	122	119
16	L.m. And placenta	179	10	10
17	L.m. And complications	1.082	44	44
18	Perinatal listeriosis	128	9	8

Tabelle1: Suchkriterien/Keywords der PubMed-Suche (Eigenerstellung)

Insgesamt wurden von den 2282 in Frage kommenden Artikeln letztlich 594 Publikationen für die Erstellung der Dissertation als Quellen verwendet.

4. **Listeria monocytogenes**

4.1 **Der Erreger Listeria monocytogenes**

Listeria monocytogenes ist ein Gram-positives Stäbchenbakterium, welches ubiquitär in der Natur vorkommt. *L. monocytogenes* kann aus Boden, Wasser, verrottenden Pflanzen, Silofutter, Abwasser, Schlachthofabfällen, verschiedenen Lebensmitteln (vor allem Rohmilchprodukten, Geflügelfleisch, Salaten, Räucherfisch und Fertigprodukten, die nicht mehr erhitzt werden müssen), aber auch aus menschlichem und tierischem Kot isoliert werden (Farber, 1991a; Vázquez-Boland 2001a). Das natürliche Habitat dieser Bakterien sind verrottende Pflanzen, wo *L. monocytogenes* als harmloser Saprophyt lebt. Das Bakterium ist zwischen 0,5-2µm lang und weist einen Durchmesser von 0,4 bis 0,5µm auf (Schuchat, 1991). *L. monocytogenes* kann unter fakultativ anaeroben Bedingungen wachsen. Das pH-Optimum liegt bei pH 7, wobei ein Wachstum in einem pH-Bereich von pH 4,5 bis pH 9,2 möglich ist (Parish, 1989; George, 1992). Listerien können in einem Temperaturbereich von -0,4°C bis 45°C wachsen und überleben (Farber, 1991a; Quereda, 2021), so dass auch Kühlschranktemperaturen das Wachstum nicht stoppen können. Das Temperaturoptimum liegt zwischen 30°C und 37°C (Schuchat, 1991). Bei einer Temperatur von 20°C-25°C zeigen Listerien eine charakteristische taumelnde Motilität. Diese als „thumbling motility“ bezeichnete Bewegung der Listerien wird durch die peritriche Begeißelung des Bakteriums bewerkstelligt. Diese Flagellen, in der Regel zwischen 1 und 5 Stück, zeigen sich bei 37°C nur noch schwach beweglich (Galsworthy, 1990; Peel, 1988). Bei kultureller Anzucht im Brühemedium kann diese Taumelbewegung als trübe Verfärbung auch mit bloßem Auge wahrgenommen werden (Allerberger, 2003).

L. monocytogenes ist Katalase-positiv (wobei auch schon Katalase-negative Stämme beobachtet wurden) und Oxidase-negativ. Salzkonzentrationen von 10% NaCl und höher erlauben noch ein Wachstum von *L. monocytogenes* (Rocourt, 2007; Shahamat, 1980). Das Überleben bei niedrigem pH und hohen Salzkonzentrationen ist stark von der Temperatur abhängig. Listerien sind nicht-sporulierend und bilden keine Kapsel (Vázquez-Boland 2001a).

Typischerweise erscheinen *L. monocytogenes*-Kolonien bei der Anzucht auf blutfreien Agarplatten im Schräglicht bei 45°, was als Henry-Illumination bezeichnet wird, bläulich iridisierend (Lorber, 2007).

Listeria monocytogenes ist ein fakultativ intrazellulär lebendes Bakterium, das das facettenreiche Krankheitsbild der Listeriose hervorrufen kann. Damit stellt es ein sehr ernstzunehmendes Pathogen für Nahrungsmittel-assoziierte Krankheitsbilder dar (Quereda, 2021).

Bis zum Jahr 2009 waren insgesamt sechs *Listeria*-Spezies bekannt, nämlich *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri* und *L. grayi*. Bis 2016 sind weitere 11 Spezies hinzugekommen (Orsi, 2016). Diese heißen *L. marthii*, *L. rocourtiae*, *L. weihenstephanensis*, *L. grandensis*, *L. riparia*, *L. booriae*, *L. fleischmannii*, *L. floridensis*, *L. aquatica*, *L. newyorkensis* und *L. cornellensis*.

Der Genus *Listeria* kann grob in zwei Gruppen unterteilt werden: Die erste Gruppe, *L. sensu stricto* genannt, beinhaltet die Spezies *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. marthii*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri*, and *L. innocua*. Zur zweiten Gruppe, als *L. sensu lato* bezeichnet, gehören *L. grayi* und die neuen 11 Subspezies, die seit 2009 hinzugekommen sind (Orsi 2016).

Mittlerweile konnten noch weitere 3 Spezies, die in die Gruppe der *L. sensu lato* subsummiert werden, identifiziert werden nämlich *L. costaricensis* (Nunez-Montero, 2018), *L. goaensis* (Doijad, 2018), *L. thailandensis* (Leclercq, 2019).

Als neue Spezies wurde *Listeria valentina* sp. nov. 2020 im Kot gesunder Schafe und in deren Wassertränken in der Nähe von Valencia, Spanien, nachgewiesen (Quereda, 2020)

Die einzelnen Listerienspezies können anhand verschiedener phänotypischer Eigenschaften, wie Hämolyseverhalten, Motilität, Wachstum bei niedriger Temperatur, das Vorhandensein der Phospholipase C (ein Virulenzfaktor) oder auch aufgrund einer unterschiedlichen Zuckervermentation voneinander unterschieden werden. Tabelle 1 zeigt hierzu eine Auswahl von Differenzierungseigenschaften.

L. species	Motilität	Wachstum bei 4°C	Hämolyse	PI-PLC	Fermentation Xylose	Fermentation Rhamnose	Fermentation Mannitol
L. sensu stricto							
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	+	+	-	+	-
<i>L. marthii</i>	+	+	-	-	-	-	-
<i>L. innocua</i>	+	+	-	-	-	V	-
<i>L. welshimeri</i>	+	+	-	-	+	V	-
<i>L. ivanovii</i>	+	+	+	+	+	-	-
<i>L. seeligeri</i>	+	+	+	-	+	-	-
L. sensu lato (Murraya)							
<i>L. grayi</i>	+	+	-	-	-	-	+
L. sensu lato (Mesolisteria)							
<i>L. fleischmanii</i>	-	-	-	-	+	+	V
<i>L. floridensis</i>	-	-	-	-	+	+	-
<i>L. aquatica</i>	-	-	-	-	+	+	-
L. sensu lato (Paenilisteria)							
<i>L. newyorkensis</i>	-	+	-	-	+	V	+
<i>L. cornellensis</i>	-	+	-	-	+	-	-
<i>L. rocourtiae</i>	-	+	-	-	+	+	+
<i>L. weihenstephanensis</i>	-	+	-	-	+	+	+
<i>L. grandensis</i>	-	+	-	-	+	-	-
<i>L. riparia</i>	-	+	-	-	+	+	V
<i>L. booriae</i>	-	+	-	-	+	+	+

Tabelle 2: Phänotypische Charakterisierung der Gattung *Listeria*

+positiv, - negativ, V variabel; PI-PLC= Phosphatidyl-Inositol-Phospholipase C

(Tabelle modifiziert nach Friese, 2003; Weller 2015; Orsi, 2016).

4.2 Historischer Hintergrund

Obwohl das durch *L. monocytogenes* hervorgerufene Krankheitsbild der Listeriose vermutlich bereits zu Zeiten von Queen Anne beobachtet wurde, schenkte man ihm erst ab den 20er Jahren des 20. Jahrhunderts die ihm gebührende Aufmerksamkeit. Queen Anne übernahm 1702 die Krone von England und trotz 17 Schwangerschaften fehlte der ersehnte Thronfolger. Die Schwangerschaften endeten soweit überliefert in sieben Fehlgeburten, wobei letztlich nicht sicher ist ob es sich hierbei um Spätaborte oder frühe Frühgeburten handelte, in einer Totgeburt, in zwei unmittelbar postpartal verstorbenen Lebendgeburten und in der Geburt eines männlichen Thronfolgers, welcher im Alter von 11 Jahren verstarb. Dieser potentielle Thronfolger Prinz William zeigte insgesamt eine motorische Entwicklungsverzögerung, hatte einen Hydrocephalus und war von normaler Intelligenz. Er verstarb an einer akuten Infektion, vermutlich Scharlach. Über sechs Fehl- bzw. Totgeburten fehlen die Daten.

Betrachtet man nun das fatale, geburtshilfliche Outcome mit wiederholten Fehl- und Totgeburten, sowie die neurologische Symptomatik bei Prinz William drängen sich verschiedene Differentialdiagnosen zur Ursachenfindung auf. Zu den aufgestellten Hypothesen gehören: Fetopelvines Missverhältnis, Syphilis und eine fetale Erythroblastose auf dem Boden einer Rhesusinkompatibilität. Diese DD können jedoch nicht das gesamte Spektrum der beobachteten Symptome wie habituelle Aborte, Totgeburten und letztlich neurologische Auffälligkeiten im Sinne eines Hydrocephalus erklären. Eine Entität vermag aber all diese Manifestationen in sich zu vereinen, nämlich Spontanaborte, Totgeburten, Frühgeburten, perinatale Mortalität und postnatale Enzephalitis mit einem Hydrocephalus als Residuum: Die Listeriose (Saxbe, 1972).

So könnte Queen Anne eine asymptomatische Trägerin von *Listeria monocytogenes* gewesen sein. Aufgrund ihrer Kinderlosigkeit wurde die Krone an das Haus von Hannover weitergereicht und das Parlament nützte die Chance zur Ergreifung der Regierung, so dass sich letztlich die bis heute gültige Regierungsform in Großbritannien durch die Kinderlosigkeit von Queen Anne begründet.

Man kann davon ausgehen, dass bestimmte durch *L. monocytogenes* hervorgerufene Manifestationsformen der Infektion bereits vor dem ersten Weltkrieg als Krankheitsbild erkannt und bekannt waren. 1911 beschreibt Hülphers eine Lebernekrose bei Kaninchen durch ein bis dato unbekanntes Bakterium, dessen Eigenschaften zu

Listeria monocytogenes passen könnten. Da keinerlei Kulturen erhalten wurden, bleibt diese Entdeckung jedoch nur Spekulation (Seeliger, 1988).

1921 wurde der Erreger eines an einer Meningitis erkrankten Patienten konserviert, wobei das Pathogen bis dato noch nicht mit Namen bekannt und auch noch nicht klassifiziert war. Eine Anzucht der damals konservierten Kultur zeigte, dass der Erreger ein *Listeria monocytogenes*-Stamm war. Diese Kultur, welche im Pasteur Institut in Paris deponiert ist, stellt somit den ältesten Stamm der Spezies *Listeria monocytogenes* dar (Dumont, 1921).

Seit 1924 beobachteten Murray und seine Kollegen viele plötzliche Todesfälle bei jungen Laborkaninchen (Rocourt, 2007), wobei das verursachende Bakterium noch keine Genuszuordnung besaß. 1926 erfolgte die offizielle Erstbeschreibung dieses Erregers durch Murray et al. Aufgrund des typischen Bildes einer Monozytose im Blutbild wurde der Erreger als *Bacterium monocytogenes* benannt (Murray, 1926). In den folgenden zwei Dekaden wurde das Krankheitsbild der Listeriose vor allem bei Herdentieren wie Schafen beobachtet.

Obwohl Nyfeldt bereits 1929 detailliert von menschlichen Listeriosefällen, welche er in den Formenkreis der infektiösen Mononukleose subsummierte, berichtete, fand der verursachende Erreger keine nennenswerte Erwähnung in den damaligen Fachbüchern für Bakteriologie (Nyfeldt, 1929).

1934 wurde durch Burn erkannt, dass *Listeria monocytogenes*, welches noch nicht unter diesem Namen bekannt war, den ursächlichen Grund für die Granulomatosis infantiseptica bei Neugeborenen darstellte und für schwere Meningitisfälle bei Erwachsenen verantwortlich zu sein schien (Burn, 1935; Burn, 1936). Trotz allem wurde diesen Beobachtungen zum damaligen Zeitpunkt keine Beachtung geschenkt.

Erst 1940 erfolgte die Namensgebung durch Pirie zu Ehren von Lord Lister, dem Entdecker der Antisepsis (Camejo, 2011). Bis dato wurde das Bakterium als *Bacterium monocytogenes*, als *Listerella hominis*, als *Listerella ovis/bovina/gallinaria/cuniculli* und *Listerella gerbilli* bezeichnet (Rocourt, 2007).

Die Beobachtungen zur Granulomatosis infantiseptica von 1934 wurden erst 16 Jahre später wieder aufgegriffen als eine Neugeborenenepidemie 1949 in Deutschland in 85 Fällen auftrat, wobei der Erreger immer noch nicht in die richtige Gattung zugeordnet wurde und als *Corynebakterium infantisepticum* betitelt wurde (Reiss, 1951; Potel, 1951). Kurze Zeit später wurde die richtige Zugehörigkeit durch Seeliger ermittelt und *Listeria monocytogenes* ursächlich als Erreger der Granulomatosis infan-

tiseptica erkannt (Seeliger, 1952). Diese spezielle Manifestationsform der Listeriose dürfte wohl schon früher beobachtet worden sein, wenn man sich Fallberichte von Georges Hayem 1891 oder von 1923 (Kantschewa, 1923) betrachtet, wo von Pseudotuberkulose bzw. neonataler Septikämie die Rede ist.

In den nächsten Jahren und Jahrzehnten wurde *Listeria monocytogenes* eines der am besten untersuchten und charakterisierten Pathogene. Anfang der 1960er Jahre waren es Mackaness und Kollegen, die mit ihren Untersuchungen am Mausmodell den Grundstein für die heutigen Erkenntnisse bezüglich intrazellulärer Pathogene und die Mechanismen der hervorgerufenen zellvermittelten Immunantwort legten (Mackaness, 1962). In den 1970er konnte durch die Versuche im Meerschweinchenmodell durch Racz die Fähigkeit von *Listeria monocytogenes* nicht-professionell phagozytierende Zellen zu invadieren demonstriert werden (Racz, 1972). Seit Mitte der 1980er Jahre wurden mit molekulargenetischen Methoden die Virulenzfaktoren und deren kodierende Gene zunehmend charakterisiert. Im Jahr 2000 wurde das Genom von *Listeria monocytogenes* und *Listeria innocua* komplett entschlüsselt (Glaser, 2001) und die so genannte „post-genomic“ Ära hat begonnen.

So haben 80 Jahre Forschungsarbeit, begründet durch Murray et al., *Listeria monocytogenes* zu einem der bestuntersuchtsten Pathogene gemacht (Cossart, 2007).

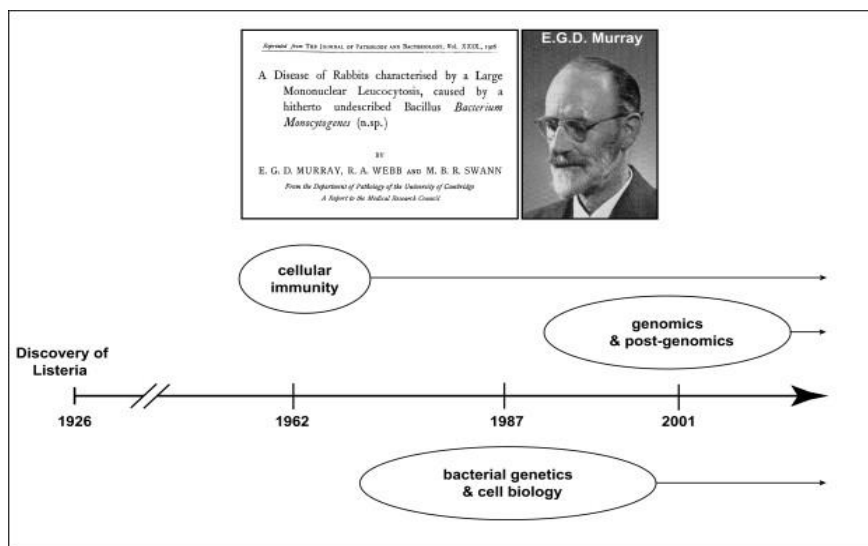


Abbildung 2: E.G.D. Murray (Cossart, 2007).

4.3 Nomenklatur

4.3.1 Phylogenetische Position

Erstmalig in der Literatur erwähnt wurde der Genus *Listeria* 1934 und zusammen mit dem Genus *Kurthia* unter die Familie der Corynebakterien subsummiert. Zuvor fand dieses Bakterium keine Erwähnung in *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 1974 wurde der Genus *Listeria* zusammen mit *Erysipelothrix* und *Caryophanon* in die Familie der Lactobacillaceae eingegliedert um 1986 letztlich mit *Erysipelothrix*, *Brochothrix*, *Renibacterium*, *Kurthia* und *Caryophanon* in die Sparte der „regulären, nicht-sporulierenden, Gram-positiven Stäbchen“ in *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*, in welchem sämtliche Spezies der Prokaryonten zusammengefasst sind, eingeteilt zu werden. Diese bis dato wiederholten Reklassifikationen des Genus *Listeria* und die letztliche phylogenetische Positionsbestimmung konnte erst durch numerische und chemische Taxonomie, durch DNA/DNA-Hybridisierung und letztlich durch rRNA- und DNA-Sequenzierung genauer bestimmt werden (Rocourt, 2007). Durch bestimmte chemotaxonomische Marker wie G+C-Gehalt der DNA oder das Vorhandensein von Lipoteichonsäuren in der cytoplasmatischen Membran von *L. monocytogenes* konnte die zunächst durch numerische Taxonomie angenommene, nahe Verwandtschaft zu den Corynebakterien nicht bestätigt werden. Bei Isolaten von *L. monocytogenes*-Stämmen lag der G+C-Gehalt der DNA zwischen 36-42% (Feresu, 1988; Rocourt, 1982). *Listerien* gehören somit zu der Gruppe der Bakterien mit niedrigem G+C-Gehalt der DNA (<55%, im Mittel 38%) (Camejo, 2011). Vielmehr wurde die nahe Verwandtschaft zu anderen Gram-positiven Bakterien wie *Bacillus*, *Staphylokokkus*, *Streptokokkus*, *Lactobacillus* und vor allem *Brochothrix* herausgestellt. Zu letzt genannten Erreger besteht die engste Verbindung (Rocourt, 1988). Durch Sequenzierung von 16SrRNA, evolutionsgeschichtlich hoch konservierte Genregionen (Jones, 1988) und 23SrRNA konnte die Position der *Listerien* in Bezug auf andere Gram-positive Erreger weiter geklärt werden, wobei sich hier die größte Ähnlichkeit zu *Bacillus* und *Staphylokokkus* zeigte (Sallen, 1996). Als das komplette Genom von *L. monocytogenes* und *L. innocua* sequenziert war (Glaser, 2001), erbrachte der Vergleich dieser beiden Genome eine hohe Stabilität in der Genomorganisation und eine enge phylogenetische Verbundenheit. Zwischen der Gattung *Listeria* im Vergleich mit *Bacillus subtilis* und *Staphylokokkus aureus* konnte ebenfalls eine hohe

Genomstabilität demonstriert werden, was bei *Streptokokkus agalacticae* oder *Lactokokkus lactis* nicht gelang (Buchrieser, 2003).

4.3.2 Taxonomie

Nach der Entdeckung des Genus *Listeria* war dieser für viele Jahre monospezifisch mit *L. monocytogenes* als einzigem Mitglied. 1948 wurde aufgrund seiner Fähigkeit zur Nitratreduktion *L. denitrificans* dem Genus *Listeria* hinzugefügt (Sohier, 1948). 1966 kam *L. grayi* hinzu (Larsen, 1966) und 1971 *L. murrayi* (Welshimer, 1971). *L. innocua* wurde dem Genus 1981 hinzugefügt (Seeliger, 1981). Erst 1985 wurde *L. ivanovii* offiziell als eigenständige Spezies bestätigt (Seeliger, 1984), nachdem Ivanov bereits 1962 einen atypischen Listerienstamm isolieren konnte. Dieser wurde zunächst als Serovar 5 von *L. monocytogenes* geführt. Aufgrund seiner starken hämolytischen Aktivität und seiner neuen antigenetischen Struktur forderte Ivanov bereits damals diesen Stamm, der vor allem für Aborte bei Schafen verantwortlich schien, als neue Spezies unter dem Namen *L. bulgarica* anzuerkennen (Ivanov, 1975). 1983 wurden der Gattung *Listeria* zwei weitere Spezies hinzugefügt, nämlich *L. welshimeri* und *L. seeligeri* (Rocourt, 1983).

Bereits 1939/40 wurde anhand der beginnenden Serotypisierung versucht die infragenetische Struktur des Genus *Listeria* aufzudecken. Das erste antigenetische Schema wurde durch Paterson (Seeliger, 1979b) erarbeitet und die ersten 4 Serovare von *L. monocytogenes* beschrieben. Dieses Schema wurde von Donker-Voet und Seeliger erweitert und neue Serovare wurden entdeckt (Donker-Voet, 1972; Seeliger, 1979b). Zwischen 1965 und 1980 wurden von Seeliger hunderte von *L. monocytogenes*-Stämmen mit Hilfe von neu entwickelten Selektivnährböden serotypisiert. Nicht-hämolysierende Stämme erwiesen sich als apathogen (als Serovare 6a und 6b von *L. monocytogenes* bezeichnet) und Seeliger schlug daher 1981 den Namen *L. innocua* für diese neue Listerienspezies vor (Seeliger, 1981).

Durch DNA/DNA-Hybridisierungen durch Stuart und Welshimer konnte bereits 1974 die Heterogenität von *L. monocytogenes* gezeigt werden (Stuart, 1973). Weitere DNA/DNA-Hybridisierungsstudien führten zur Einteilung der bis dato lediglich unter *L. monocytogenes* zusammengefassten Stämme in fünf verschiedene genomische Gruppen:

- I: Hauptstamm *L. monocytogenes sensu stricto* mit den Serovaren: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b,4c, 4d, 4e, 7
- II: Stark hämolytische Stämme, die unter dem Serovar 5 zusammengefasst wurden. Serovar 5 war bereits damals von Ivanov als neue Spezies *L. bulgarica* bezeichnet worden (Ivanov, 1975). Erst 1985 erfolgte die offizielle Benennung als *L. ivanovii* (Seeliger, 1984). Durch weitere DNA/DNA-Hybridisierungen, multilokuläre Enzymelektrophorese und rRNA-Restriktionsuntersuchungen wurden zwei Subspezies beschrieben:
L. ivanovii subsp. *ivanovii* (Ribose positiv) und *L. ivanovii* subsp. *londoniensis* (Ribose negativ) (Boerlin, 1992).
- III: Nicht-hämolytische und im Mausmodell apathogene Stämme von Serovar 4ab, 6a, 6b und nicht speziell benannten Serovaren. Hierunter waren auch beide Referenzstämme die von Seeliger als *L. innocua* bezeichnet wurden. Offiziell wurde *L. innocua* 1983 bestätigt.
- IV: Nicht-hämolytische und im Mausmodell apathogene Stämme der Serovare 6a und 6b, die D-Xylose verwerten konnten. Diese Stämme wurden 1977 von Groves und Welshimer (Groves, 1977) beschrieben. 1983 wurde diese Gruppe als neue Spezies *L. welshimeri* validiert (Rocourt, 1983).
- V: Hämolytische und apathogene Stämme verschiedener Serovare (1/2b, 4c,4d,6b und unbenannte Serovare). Diese Gruppe wurde 1983 als neue Spezies unter dem Namen *L. seeligeri* geführt (Rocourt, 1983).

Hervorzuheben ist hierbei, dass die Serovare 1/2a, 1/2b und 4b der Gruppe I verantwortlich für 95% der menschlichen Infektionsfälle sind (Camejo, 2011).

Die bis heute 13 bekannten Serovare von *L. monocytogenes* konnten mittels Multi-locus-Enzyme-Elektrophorese in vier evolutionäre Linien unterteilt werden (Schiavano, 2021):

I: Serovare 1/2a, 1/2c, 3a, 3c

II: Serovare 1/2b, 3b, 4b, 4d, 4e, 7

III Serovare 4a, 4c

IV: Serovare 4a, 4c, 4b

Hierbei ist jede Linie durch spezifische, hochkonservierte Gene charakterisiert (Domith, 2004). Linie II steht v.a. Zusammenhang mit Nahrungsmitteln (Disson, 2021), während Linie I vor allen Dingen bei klinischen Fällen gefunden wurde (Disson,

2021). Linie III und IV beinhaltet seltene und hauptsächlich tierpathogene Stämme (Jeffers, 2001; Wiedmann, 1997; Buchrieser, 2007; Disson, 2021).

Seit den DNA/DNA-Hybridisierungsversuchen durch Stuart und Welshimer 1974 herrschte eine lange Kontroverse über die taxonomische Zugehörigkeit von *L. grayi* und *L. murrayi*, da nur eine geringe DNA-Verwandtschaft zu *L. monocytogenes* bestand (Stuart, 1973; Stuart, 1974). Durch 16SrRNA-Oligonukleotid-Katalogisierung zusammen mit der phänotypischen Ähnlichkeit mit *L. monocytogenes* konnte aber die Zugehörigkeit dieser beiden Spezies zur Gattung *Listeria* bestätigt werden und wurde später durch 16SrRNA-Sequenzierung untermauert (Vaneechoutte, 1998). Die enge Verwandtschaft zwischen *L. grayi* und *L. murrayi* konnte durch numerische und chemotaxonomische Untersuchungen, sowie durch DNA/DNA-Hybridisierungsversuche und multilokuläre Enzymelektrophorese gezeigt werden. Der einzige Unterschied bestand in der Nitratreduktion (Welshimer, 1971). Daher sollten diese beiden Spezies zu einer zusammengefasst werden. Diese Forderung wurde durch 16SrRNA- und 23SrRNA-Sequenzierung sowie Proteinelektrophoresemustern bestätigt und seit 1992 sind diese beiden Spezies unter dem Namen *L. grayi* vereint (Rocourt, 1992).

Das seit 1948 in der Gattung *Listeria* geführte Bakterium *L. denitrificans* wies in chemotaxonomischen Studien und DNA/DNA-Hybridisierungsversuchen mehr Ähnlichkeit zu coryneformen Bakterien als zu Mitgliedern des Genus *Listeria* auf (Collins, 1979; Collins, 1983; Fiedler, 1983; Ruhland, 1987). 1987 wurde durch 16SrRNA-Katalogisierung betätigt, dass *L. denitrificans* kein Mitglied des Genus *Listeria* ist und in die Gruppe der coryneformen Bakterien gehört. Es erfolgte die Neubezeichnung als *Jonesia denitrificans*. Als nächste Verwandtschaft dieses Bakteriums gelten *Dermobacter hominis* und *Brachybacterium faecium* (Rainey, 1995).

Heutzutage zählen als zum Genus *Listeria* gehörig 21 Spezies: *L. monocytogenes*, *L. marthii*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri* und *L. grayi*, *L. rocourtiae*, *L. weihenstephanensis*, *L. grandensis*, *L. iparia*, *L. booriae*, *L. fleischmannii*, *L. floridensis*, *L. aquatica*, *L. newyorkensis*, *L. cornellensis*, *L. costaricensis*, *L. goaensis*, *L. thailandensis* und zuletzt *L. valentina* sp. nov..

Durch DNA/DNA-Hybridisierung, 16SrRNA-Katalogisierung, 16SrRNA- und 23SrRNA-Sequenzierung und Proteinmapping konnten zwei verschiedene Ursprungslinien der zum Genus gehörigen Spezies ermittelt werden. Zum einen *L. grayi* und zum anderen die übrigen sechs Spezies, wobei diese sich nochmals in zwei Un-

tergruppen teilen, nämlich auf der einen Seite *L. monocytogenes*, *L. marthii* und *L. innocua* und auf der anderen Seite *L. ivanovii*, *L. welshimeri* und *L. seeligeri* (Collins, 1991; Doumith, 2004; Sallen, 1996, Orsi, 2016, Chiara 2015)

Abbildung 3 zeigt die bis 2005 bekannten Listeriaspezies und Ihre Verwandtschaftsverhältnisse

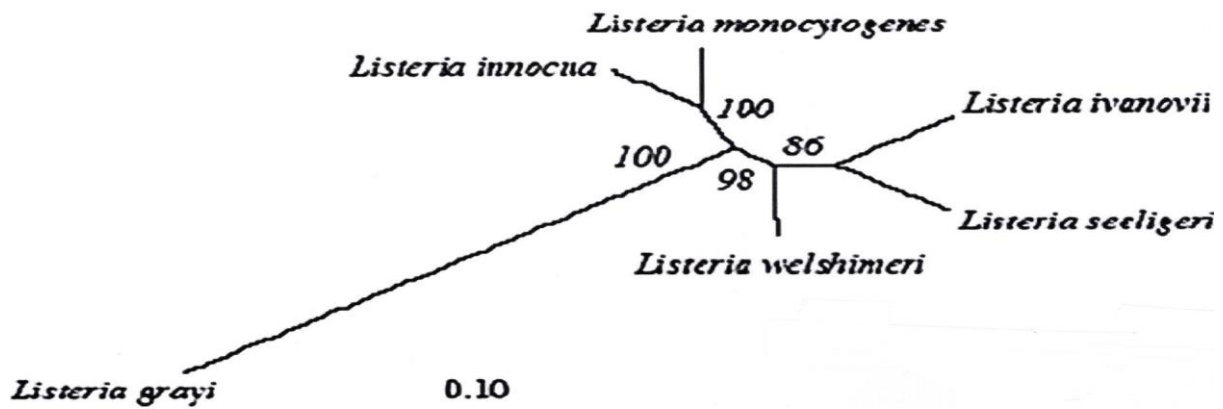


Abbildung 3: Verwandtschaft der Listeriaspezies errechnet aus dem Vergleich von 16SrRNA und 23SrRNA, sowie den Genen *iap*, *ldh*, *vlcB* und *prs*; der Balken unten steht für die Länge von 10% Sequenzdivergenz; Zahlen im Baum stehen für Konsistenz der Daten (Schmid, 2005).

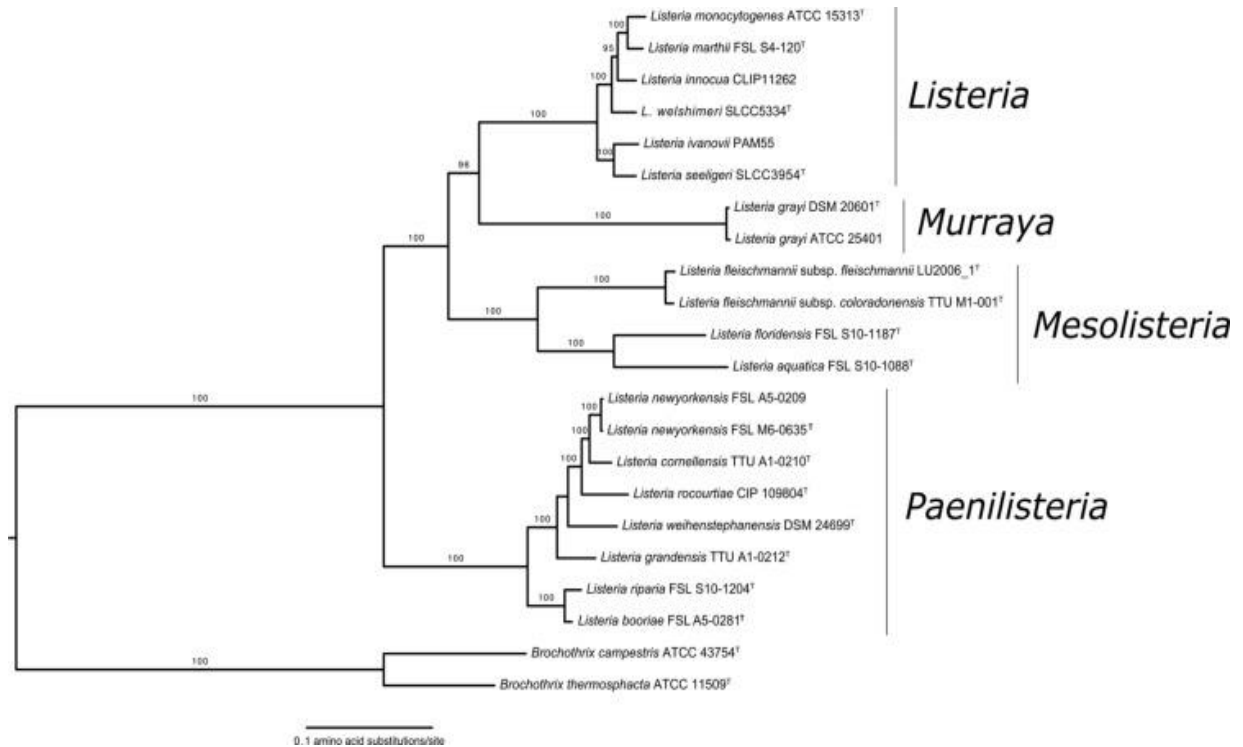


Abbildung 4: Bekannte *Listeria*spezies mit den seit 2009 hinzugekommenen Subgruppen und deren Beziehungen untereinander bis 2015 (Orsi 2016; modifiziert nach Weller, 2015).

Um die Populationsstruktur von *L. monocytogenes* weiter zu bestimmen, werden heutzutage im Rahmen des Whole Genome Sequencing (WGS) mittels Multilocus Sequence Typing (MLST), sogenannte Sequence Typen (ST) erstellt, die es erlauben die Sequenzvielfalt in numerische Profile zu übersetzen (Disson, 2021; Ragon, 2008). Die Sequenztypen wurden auf sieben sog. Housekeeping-Genen aufgebaut. Haben nun Isolate mindestens sechs übereinstimmende Allele unter diesen sieben Genen werden sie als sog. Clonal Complex (CC) zusammengeführt (Disson, 2021). Insgesamt konnten so 170 CC und 300 Sublinien (SL) identifiziert werden (<http://bigsd.bpasteur.fr/listeria>).

In der Linie I spielen die Sublinien SL1 (CC1), SL2 (CC2), SL4 (CC4) und SL6 (CC6) in der westlichen Welt, sowie in Asien SL87 (CC87) eine führende Rolle unter den Isolaten. In der evolutionären Linie II findet man hauptsächlich SL9 (CC9) und SL121 (CC121) (Disson, 2021).

4.4 Intrazellulärer Infektionszyklus von *Listeria monocytogenes*

Neben der Vermehrung in Makrophagen können Listerien ihre eigene Aufnahme in normalerweise nicht professionell phagozytierende Zellen induzieren. Hierzu zählen epitheliale Zellen, Fibroblasten, Hepatozyten, Endothelzellen, Neurone sowie dendritische Zellen (Vázquez-Boland, 2001a). *L. monocytogenes* besitzt einen charakteristischen intrazellulären Lebenszyklus, der im Folgenden beschrieben werden soll¹.

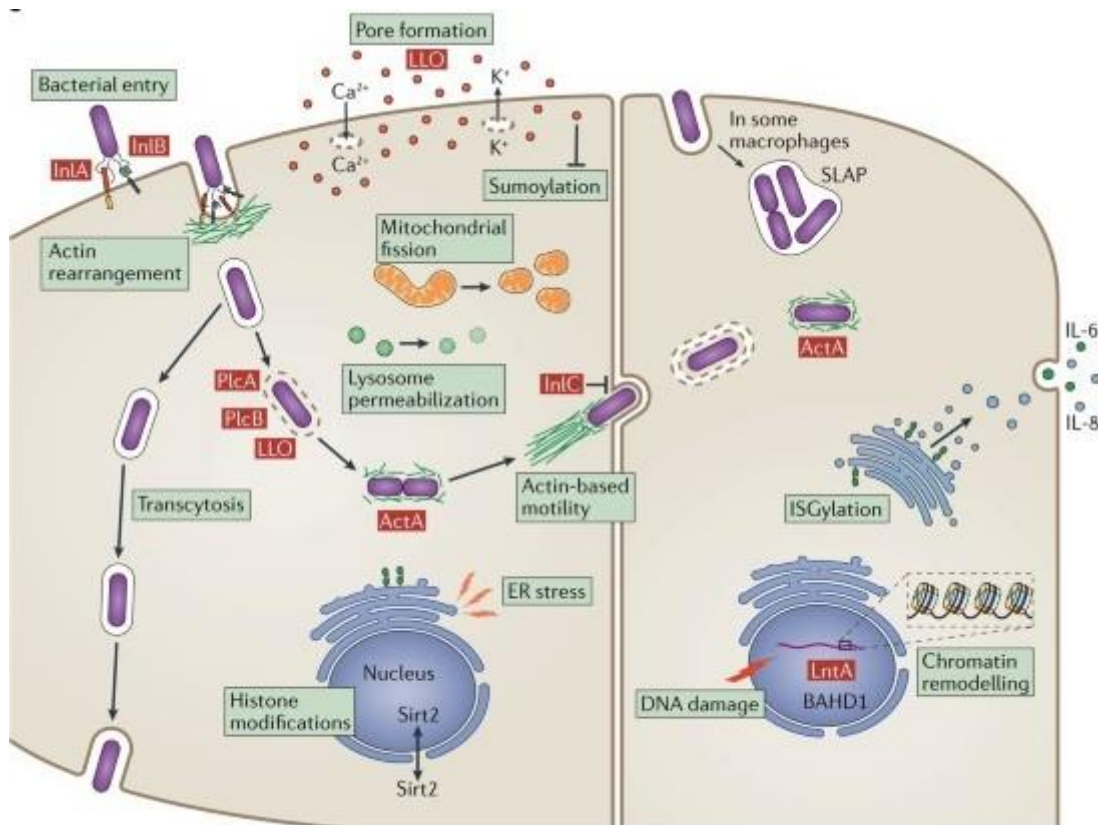


Abbildung 5: Invasion und intrazellulärer Lebenszyklus von *L. monocytogenes* (Radoshevich, 2018)

Nach Anheftung an die Oberfläche der eukaryoten Zielzelle beginnt die Invasion in die nicht-professionell phagozytierende Zelle über eine Art Zipper-Mechanismus. Hierbei formt die Wirtszellmembran eine Art Vakuole um das Bakterium, bis dieses vollständig umgeben ist und so in die Zielzelle aufgenommen wird. Um diese Internalisation zu bewerkstelligen, benutzt *L. monocytogenes* verschiedene Wirtszellrezeptoren. Hierzu zählen als wichtigste Vertreter das transmembrane Glykoprotein E-

¹ Die bereits zur Erwähnung kommenden Virulenzfaktoren werden ab Kapitel 4.5 ausführlich beschrieben.

Cadherin, welches vor allem bei der Aufnahme in intestinale Epithelzellen und beim Überschreiten der maternofetalen Barriere in der Plazenta eine Rolle spielt (Mengaud, 1996), der C1q-Komplement-Rezeptor (Braun, 2000a) und der Met-Rezeptor, dessen physiologischer Ligand normalerweise der Hepatocyten-Wachstumsfaktor (HGF) ist (Shen, 2000). Als wichtigste bakterielle Liganden für die Internalisation gelten die beiden Internaline InIA und InIB. Als additive Faktoren bzw. Liganden für die Internalisation fungieren das ActA-Oberflächenprotein, das p60-Protein, die Autolysine Ami und Auto als auch das Vip-Protein und das FbpA-Protein.

Wie bereits erwähnt wird durch Einstülpung der Wirtzellmembran eine Vakuole gebildet, das so genannte primäre Phagosom. Nach Ansäuerung dieses Phagosoms gelingt es den Listerien ca. 30min nach Bildung des Phagosoms, dessen Zellwand zu lysieren und aus diesem zu entkommen (Gaillard, 1987). Ca. 2h nach Internalisation liegen ca. 50% der intrazellulären Bakterienpopulation frei im Cytoplasma (Tilney, 1989). Die Auflösung der Vakuolenmembran ist ein entscheidender Schritt im intrazellulären Lebenszyklus von *L. monocytogenes* und essentiell für das weitere Überleben und die Vermehrung des Pathogens. Bewerkstelligt wird dieser Schritt durch den Hauptvirulenzfaktor Hämolyisin bzw. Listeriolysin (LLO) unter Mithilfe der beiden Phospholipasen C PlcA und PlcB (Goebel, 1997). Somit gelangt *L. monocytogenes* ins Cytosol der Wirtszelle, wo die Vermehrung mit einer Verdopplungszeit von ca. 1h stattfindet (Portnoy, 1988). Für optimales intrazelluläres Wachstum nutzen die Listerien Hexose-Phosphat als Kohlentoff- und Energiequelle, wobei Glucose-1-Phosphat und Glucose-6-Phosphat die wichtigsten Substrate darstellen (Ripio, 1997b). Ca. 2h nach Aufnahme in die Wirtszelle polymerisieren die Bakterien wirtszelleigenes F-Aktin. Dieser Vorgang wird über das Oberflächenprotein ActA unter Nutzung bestimmter wirtseigener Proteinkomplexe und Signalkaskaden generiert. Hierdurch wird ein ca. 40µm langer Actinschweif an einem Bakterienpol gebildet, worüber die intrazelluläre Motilität des Bakteriums durch das Cytosol mit einer Geschwindigkeit von 0,3µm/sec bewerkstelligt wird (Seveau, 2007). Diese Bewegung geschieht ungerichtet. Gelangt ein Bakterium auf diese Weise an die Wirtzellmembran, kommt es zur Ausbildung so genannter Pseudopodien. An der Spitze dieser Finger-ähnlichen Protrusionen befindet sich ein Bakterium. Diese Pseudopodien penetrieren die Nachbarzelle und werden von dieser phagozytiert. Auf diese Weise können sich die Bakterien von Zelle zu Zelle ausbreiten ohne in Berührung mit der extrazellulären

Matrix zu kommen. Dieser interzelluläre Ausbreitungsprozess findet unter Bildung einer doppelwandigen Membran, bestehend aus der Protrusionsmembran der alten Wirtszelle und der Vakuolenmembran der neuen Wirtszelle, statt. Diese doppelwandige Vakuole wird auch als sekundäres Phagosom bezeichnet. Innerhalb von 5min gelingt es den Bakterien durch Lyse dieser Doppelmembran, hauptsächlich bewerkstelligt durch LLO und PlcB, erneut ins Cytoplasma der Wirtszelle zu gelangen, wo der Replikationszyklus erneut beginnen kann (Vázquez-Boland, 2001a).

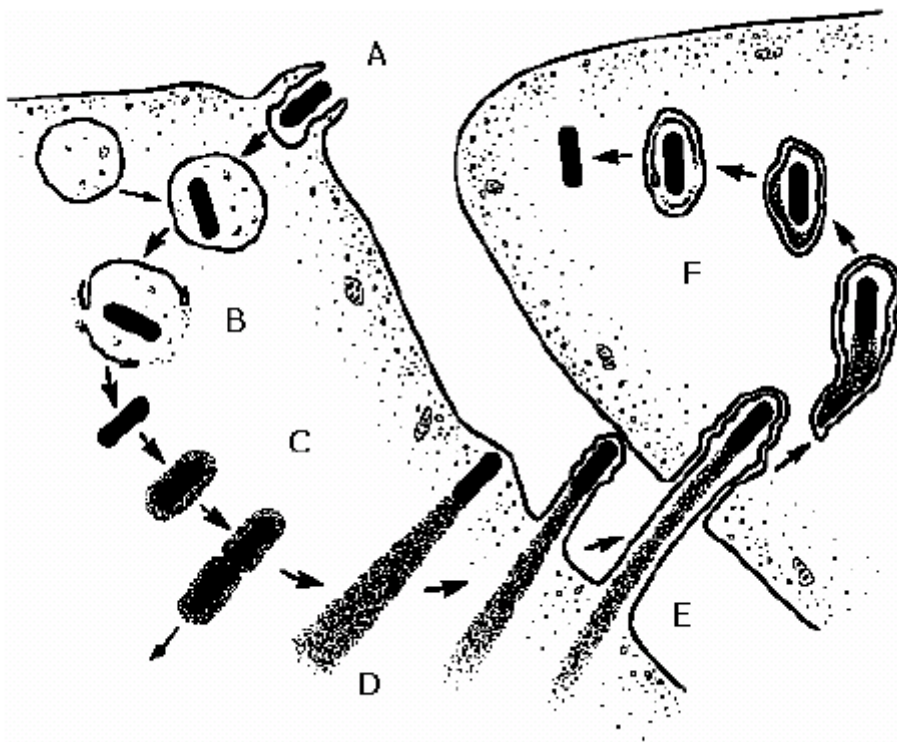


Abbildung 6: Schematische Darstellung des intrazellulären Vermehrungszyklus von *L. monocytogenes*

A: Adhäsion und Invasion; B: Lyse des primären Phagosoms; C: intrazelluläre Vermehrung; D: intrazelluläre Fortbewegung; E: interzelluläre Ausbreitung; F: Lyse des doppelwandigen sekundären Phagosoms (Tilney, 1989).

4.5 Die Virulenzfaktoren von *Listeria monocytogenes*

4.5.1 Adhäsion und Invasion in die Wirtszelle

4.5.1.1 Internaline

Internaline gehören in eine Familie von Oberflächenproteinen, welche zum Teil Virulenzfaktoren in pathogenen *Listerienspezies* darstellen. *L. monocytogenes* gelingt es sowohl die intestinale Barriere, die Blut-Hirnschranke, als auch die maternofetale Grenze zu überschreiten. Um eine Listerioseinfektion zu verursachen ist es im Rahmen des Infektionszyklus essentiell, dass die Bakterien in nicht-professionell phagozytierende Zellen aufgenommen werden. Entscheidend hierbei ist zu verstehen wie *L. monocytogenes* die Aufnahme in die Wirtszelle bewerkstelligt. Die Hauptrolle spielen vor allem zwei Internaline, auch als Invasine bezeichnet, nämlich InIA und InIB.

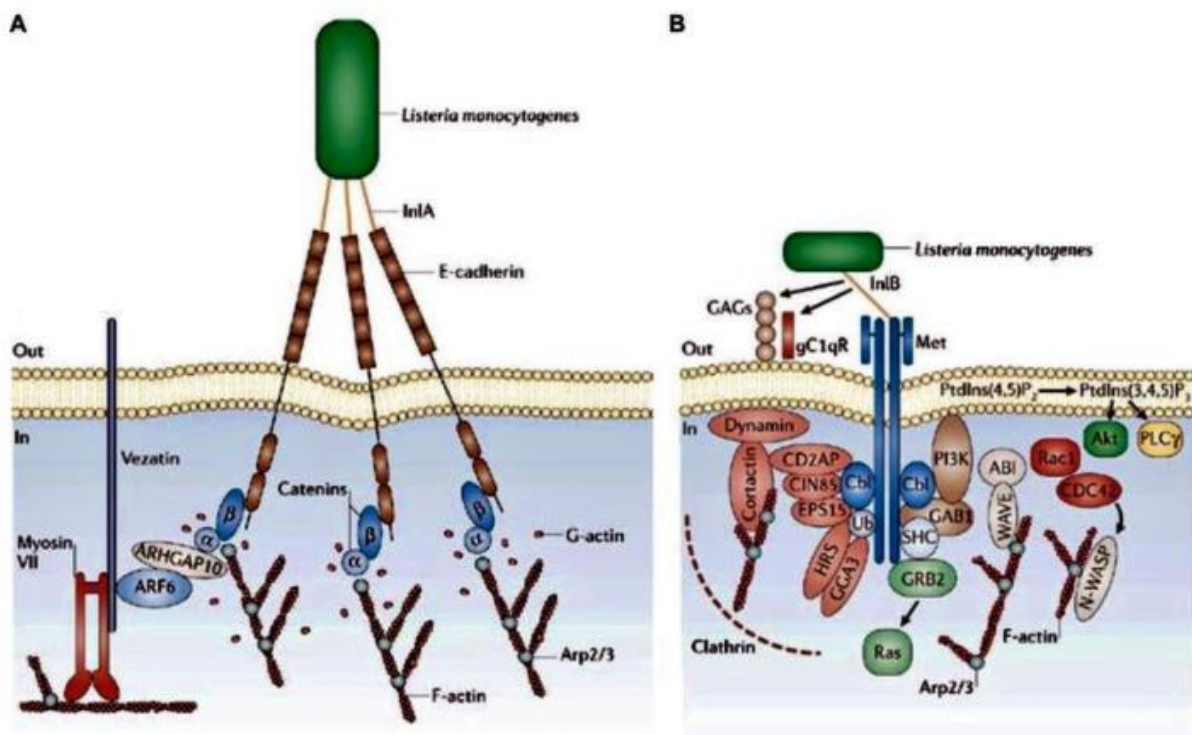


Abbildung 7: Internalisation von *L. monocytogenes* in nicht-phagozytierende Zellen via InIA und InIB (Hamon, 2006)

Diese beiden Internaline wurden als erste genau charakterisiert und letztlich auch sequenziert (Schubert, 2001). Sie stellen die Hauptvirulenzfaktoren bei der Adhäsion und Invasion in die Wirtszelle dar. Neben diesen beiden Virulenzdeterminanten wurden bisher insgesamt 25 Mitglieder der Internalinfamilie innerhalb des *L. monocytogenes* EGDe Genoms gefunden. Innerhalb dieser Proteinfamilie sind neben InIA und InIB vier weitere Internaline im Rahmen des Infektionszyklus involviert, nämlich InIC, InIH, InIJ und Lmo2026 (Bierne, 2007). 2016 gelang es der Forschungsgruppe um Faralla mit InIP (Lmo2470) einen weiteren Virulenzfaktor aus der Internalinfamilie zu identifizieren, der für den plazentaren Tropismus von *L. monocytogenes* verantwortlich erscheint (Faralla, 2016).

Internaline sind Proteine, die verschiedene Domänen aufweisen, welche innerhalb der Gruppe relativ homolog sind. Alle bisher bekannten Internaline weisen eine N-terminale Signalsequenz auf, die für die Rekrutierung an die Cytoplasmamembran und anschließende Translokation aus dem bakteriellen Cytosol verantwortlich ist. Daran anschließend findet sich eine Domäne mit leucinreichen Wiederholungssequenzen, so genannte Leucin-rich-repeats (LRR), die die Bindungsspezifitäten für die jeweiligen Rezeptoren festlegen. Hierbei kann sich eine unterschiedliche Zahl an LRRs zeigen. Die Anzahl variiert zwischen 3 und 28 Repeats, wobei jeder Repeat aus ca. 22 AS besteht (Bierne, 2007; Schubert, 2001). Diese LRRs sind optimal als Bindungsmotive für Protein-Protein-Interaktionen geeignet. Häufig werden diese Proteine bei Eukaryonten gefunden, wo sie für Signaltransduktions- und Zelladhäsionsprozesse verantwortlich sind (Kobe, 2001). LRR-beinhalten Proteine sind nicht spezifisch für das Genus *Listeria*. Bakterien, die Gene besitzen, welche für LRR-Proteine kodieren, gehören meist in den Gram-negativen Bereich und stellen oft Pathogene dar. Unter den Gram-positiven Bakterien scheint die Gattung *Listeria* bezüglich der Anzahl LRR-beinhalten Proteine einzigartig zu sein.

An die Domäne der LRRs schließt sich eine Zwischenwiederholungssequenz, eine so genannte inter-repeat Domäne (IR) an. B-Wiederholungssequenzen, B-repeats, folgen.

Im sich anschließenden C-terminalen Ende befindet sich eine Sortierungssignalsequenz, welche zur Verankerung des Proteins in der bakteriellen Zellwand dient (Garandeau, 2002). Anhand dieser Sequenz bzw. aufgrund des Fehlens derselben, können die Internaline in drei Subtypen untergliedert werden. Es existiert somit die Gruppe der Internaline mit dem Sortierungssignal LPXTG, des Weiteren die Gruppe

mit einem GW-Modul bzw. WxL-Domäne und zuletzt die Gruppe der sekretierten Internaline, denen ein C-terminales Sortierungssignal fehlt.

Das LPXTG-Motiv findet sich in 19 der bisher 25 bekannten Internaline, darunter auch InIA (Bierne, 2002b).

Internaline mit GW-Modulen bzw. einer WxL-Domäne zählen bisher zwei Mitglieder, nämlich InIB und Lmo0549 (Cabanès, 2002).

Als letzte Gruppe bleiben noch die sekretierten Internaline. Diese so genannten kleinen Internaline weisen vier Mitglieder auf: InIC, Lmo2445, Lmo2027 und Lmo2470.

Prototyp ist hier das InIC, dem eine zellverankernde Domäne fehlt und vermutlich ins extrazelluläre Medium sekretiert wird (Bierne, 2007).

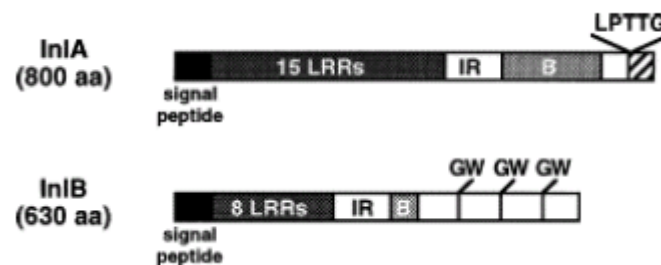


Abbildung 8: Schematische Darstellung der Proteindomänen von InIA und InIB (Braun, 2000b).

Innerhalb der Spezies *L. monocytogenes* mit den 13 Serotypen wurden nicht alle *inl*-Gene in der ursprünglichen Art und Weise konserviert, sondern weisen im Vergleich mit dem EDGe-Genom in manchen Bereichen Punktmutationen oder DNA-Rearrangements auf. Dies ist vermutlich mit ein Grund, dass vor allem bestimmte Serotypen, nämlich 1/2a, 1/2b und 4b, über 90% der menschlichen Listeriosefälle auslösen. Bestimmte *inl*-Gene weisen auch eine Stamm-Spezifität auf. So konnten z.B. Lmo2026 und Lmo2027 nur in *L. monocytogenes*-EGDe gefunden werden (Bierne, 2007).

Internalingenloci konnten aber nicht nur in den pathogenen Listerienspezies *L. monocytogenes* und *L. ivanovii* gefunden werden, sondern ließen sich auch in den apathogenen Spezies *L. innocua* und *L. welshimeri* nachweisen. Somit ist die Präsenz von *inl*-Genen kein absolutes Pathogenitätsmerkmal. Im Genom von *L. innocua* konnten 18 *inl*-Gene sequenziert werden, wovon 14 *inl*-Gene auch in *L. monocytogenes* präsent sind. *inl*-Gene, die den apathogenen Listerienspezies fehlen, wurden vermutlich selektiv in *L. monocytogenes* konserviert und sind wahrscheinlich für die Pathogenität von *L. monocytogenes* mitverantwortlich (Bierne, 2007).

Bestimmte *inl*-Gene wurden bisher nur in *L. monocytogenes* gefunden. Hierzu zählen *inlA*, *inlB*, *inlE*, *inlH*, *inlI*, *inlJ*, *Imo1290* und *Imo2470*. Davon sind vier zumindest im Tiermodell als Virulenz-Faktoren zu werten (Doumith, 2004).

Vergleicht man die Internaline von den beiden pathogenen Spezies *L. monocytogenes* und *L. ivanovii*, so zeigt sich bei *L. ivanovii* eine unterschiedliche Verteilung, genetische Zusammensetzung und Lokalisation der Internaline. *L. ivanovii* besitzt ein spezifisches Gencluster, welches als LIPI-2 bezeichnet wird. Dieses Gencluster beinhaltet insgesamt zehn *inl*-Gene (Dominguez-Bernal, 2006), wobei zwei zur so genannten GW-Internalin-Familie gehören und acht für so genannte kleine, sekretierte Internaline kodieren. LIPI-2 könnte zumindest zum Teil für die spezifischen pathogenen Eigenschaften von *L. ivanovii* verantwortlich sein und trotz der ähnlichen intrazellulären Lebensweise die unterschiedliche Pathogenität sowie den differierenden Wirts- und Organtropismus von *L. ivanovii* im Vergleich zu *L. monocytogenes* erklären (Vázquez-Boland, 2001b).

Betrachtet man die Lokalisation der *inl*-Gene im Genom von *L. monocytogenes*-EGDe, so sind diese nicht willkürlich verteilt. 15 der 25 *inl*-Gene (ca.60%) befinden sich im ersten Viertel des Genoms zusammen mit dem LIPI-1-Gencluster. Hiervon sind 13 als Einzeleinheiten präsentiert, die übrigen Gene sind in fünf so genannten Internalininseln formiert (I: *inlG*-*inlH*-*inlE*; II: *inlA*-*inlB*; III: *Imo0327*-*Imo0331*-*inlI*; IV: *Imo1289*-*Imo1290*; V: *Imo2026*-*Imo2027*) (siehe Abbildung 9) (Glaser, 2001).

Die hohe Sequenzähnlichkeit der *inl*-Gene prädestiniert sie zu Rekombinationsvorgängen, was eventuell ein Grund für deren Diversität sein könnte. Die Internalinengenfamilie könnte möglicherweise von einem einzigen Internalingen eines Listerienurahns abstammen und durch Duplikation, Neukombination, Deletion oder Punktmutationen zur heutigen Vielfalt der Internaline beigetragen haben (Tsai, 2006).

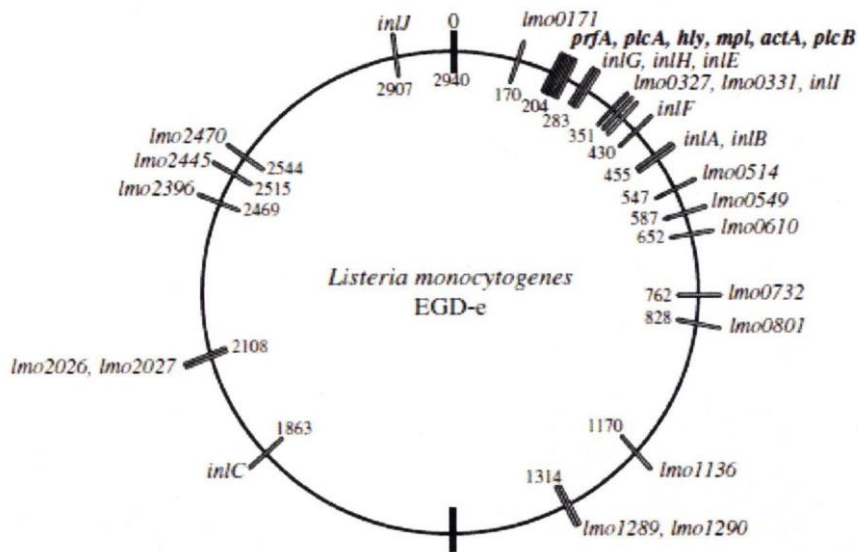


Abbildung 9: Lokalisation der *inl*-Gene innerhalb des *L. monocytogenes*-EGDe-Chromosoms. Die Lokalisation der *inl*-Gene ist in kb angegeben. Gene von LIPI-1 sind fettgedruckt (Glaser, 2001).

4.5.1.1.1 Internalin A (InIA)

Das Internalin A ist ein aus 800 AS bestehendes 88kDa schweres Oberflächenprotein mit 15 LRR-Einheiten und gehört in die Subgruppe der LPXTG-Internaline (Bierne, 2007; Seveau, 2007; Dellafiora, 2020). Über dieses LPXTG-Motiv wird InIA kovalent an die Bakterienoberfläche von *L. monocytogenes* verankert. Diese Verankerung wird durch die Sortase SrtA katalysiert. Hierbei erfolgt die katalytische Spaltung zwischen der AS Threonin und Glycin, wobei Threonin kovalent an die Peptidoglycanschicht der Zellwand von *L. monocytogenes* verknüpft wird. Deletionsmutanten Δ srtA zeigten im Rahmen einer oralen Infektion von Meerschweinchen eine deutliche Virulenzabschwächung (Sabet, 2005; Dramsi, 2005). InIA vermittelt vorwiegend die Invasion in nicht-professionell phagozytierende Epithelzellen, kann aber auch bei der Aufnahme von Makrophagen eine Rolle spielen (Sawyer, 1996). Zellulärer Rezeptor von InIA ist E-Cadherin, ein Ca^{2+} -abhängiges Zelladhäsionsmolekül, welches sich im Bereich der basolateralen Haftverbindungen befindet und durch Homodimerbildung eine korrekte Interaktion zwischen den einzelnen Zellen des Epithelverbands bewerkstelligt (Seveau, 2007; Shapiro, 1995). E-Cadherin besteht aus fünf extrazellulären Do-

mänen und einer zytoplasmatischen Domäne (Geiger, 1992). E-Cadherin wird in den gap-junctions von Intestinalzellen (Dellafiora, 2020; Drolia, 2019), aber auch bei Hepatozyten, dendritischen Zellen, mikrovaskulären Endothelzellen des Gehirns und Syncytiotrophoblast- bzw. Trophoblastzellen der Placenta exprimiert (Lecuit, 2004). InlA interagiert über die LRR-Region mit der ersten extrazellulären Domäne von E-Cadherin. Von entscheidender Bedeutung ist hierbei die AS Prolin an Position 16 des E-Cadherins, denn durch Analyse der Kristallstruktur von InlA konnte gezeigt werden, dass die LRRs eine Tasche ausbilden und speziell mit der AS Prolin 16 des E-Cadherin interagieren (Schubert, 2002; Lecuit, 1997). Diese Bindungsstelle erklärt die Spezies-Spezifität der InlA-E-Cadherin-Interaktion.

Um einen optimalen Bakterieneintritt nach erfolgter Bindung von *L. monocytogenes* an E-Cadherin zu erreichen, muss dieses innerhalb einer Lipid-raft-reichen Domäne positioniert sein. Lipid rafts sind spezielle Wirtsmembranbereiche an denen die Endozytose erfolgt und somit für die Internalisation der Bakterien wichtig sind. An die cytoplasmatische Domäne von E-Cadherin lagern sich die cytosolischen Proteine p120, α - und β -Catenin an. Dieser Komplex bewirkt eine Umlagerung des submembranen Aktgerüsts und führt somit zur Internalisation des Bakteriums durch Einstülpung der Zellmembran und letztlich Bildung des so genannten primären Phagosoms (Seveau, 2007).

Da sich E-Cadherin im Bereich von basolateralen Haftverbindungen befindet, muss man sich die Frage stellen wie das endoluminal im Darm befindliche Bakterium *L. monocytogenes* Zugang zu diesem Bereich bekommt, da der Epithelverbund einen starken Zusammenhalt zeigt. Die Arbeitsgruppe von Pentecost et al. konnte zeigen, dass im Rahmen der Zellerneuerung des Darmepithels einige Epithelzellen teilweise aus dem Zellverband gelöst vorliegen. Hier kommt dann E-Cadherin kurzfristig endoluminal zum liegen, während sich die Zellverbände neu organisieren und *L. monocytogenes* kann über einen Oberflächenrezeptor die intestinale Barriere überwinden (Pentecost, 2006; Lecuit, 2001).

Da E-Cadherin auch an der basalen und apikalen Membran des Syncytiotrophoblasten präsent ist, ist InlA auch bei der Überschreitung der fetoplazentaren Barriere beteiligt (Lecuit, 2004). Da auch bestimmte sensible Neuronen im Gehirn empfänglich für eine InlA-vermittelte Invasion sind, wird auch hier eine InlA-E-Cadherin-Interaktion vermutet (Drevets, 2008).

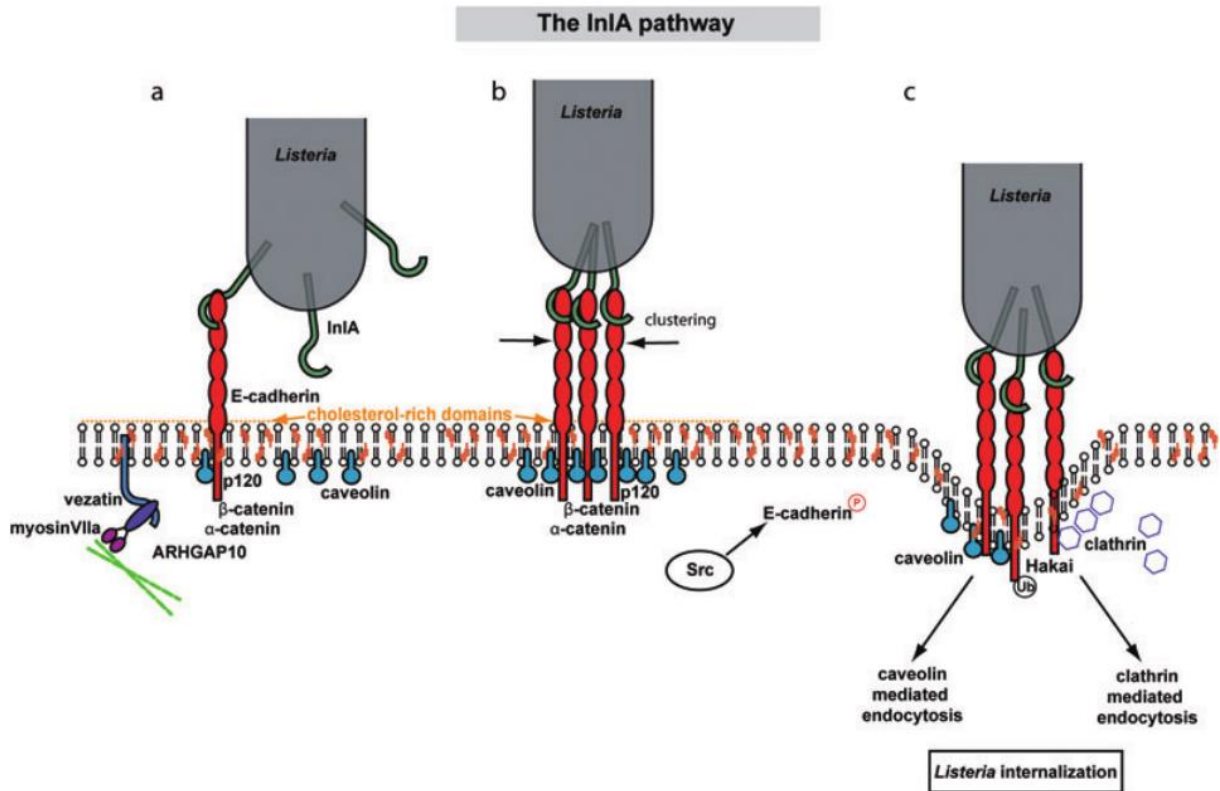


Abbildung 10: InIA- E-cadherin Pathway (Bonazzi, 2009)

4.5.1.1.2 Internalin B (InIB)

Das Internalin B ist ein aus 630 AS bestehendes 65kDa schweres Oberflächenprotein mit acht LRR-Einheiten und gehört in die Subgruppe der GW-Internaline (Bierne, 2007). Diese C-terminal gelegene Region mit drei GW-Modulen zur nicht-kovalenten Verankerung in der bakteriellen Zellwand. InIB induziert die Endozytose von *L. monocytogenes* in verschiedenen Zelltypen, wie Epithel- und Endothelzellen, Hepatozyten oder auch Fibroblasten (Braun, 1998). InIB interagiert mit verschiedenen Liganden. Hauptrezeptor für InIB ist der HGF-Rezeptor (HGF: hepatocyte growth factor) Met. Dieser gehört in die Familie der Tyrosinkinaserzeptoren, eine der größten und wichtigsten Familien unter den transmembranen Signalrezeptoren, welche von einer Vielzahl unterschiedlicher Zellen exprimiert werden (Vázquez-Boland, 2001a).

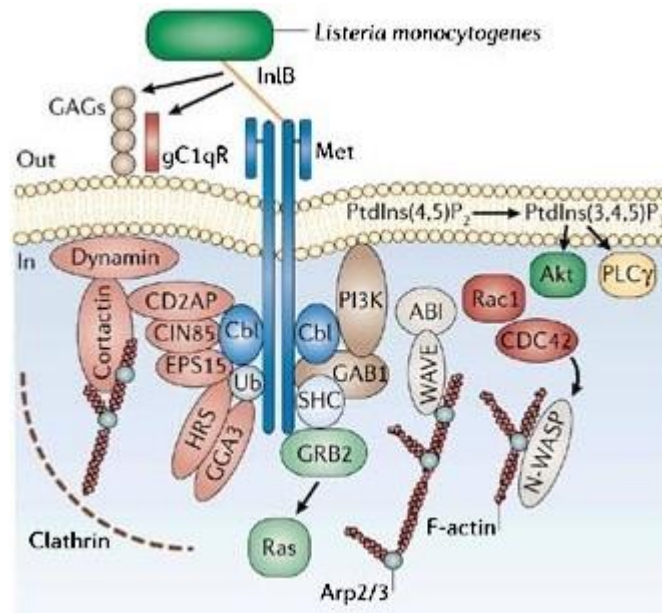


Abbildung 11: InIB-Met Pathway (Hamon, 2006)

Met - defiziente Zelllinien sind zum InIB-vermittelten Zelleintritt nicht fähig, so dass dieser Rezeptor eine entscheidende Rolle für die InIB-assoziierte Invasion bei der *L. monocytogenes*-Infektion spielt. Met ist involviert in die Organogenese, Zellproliferation, Zellmigration und Zelldifferenzierung und spielt eine Rolle im Rahmen der Onkogenese und Tumorprogression (Shen, 2000; Seveau, 2007). Durch die Bindung von InIB an Met werden neben der Zellinvasion auch verschiedene Signalkaskaden stimuliert. Diese führen zu cytoskelettalen Rearrangementprozessen, zur Aktivierung von der Phospholipase C γ (Plc- γ), dem Kernfaktor κ B (NF- κ B) oder auch des Ras-MAP-Kinase-Signalwegs (Bierne, 2002a; Mansell, 2001).

Die Aktivierung von Met durch InIB ist spezie-spezifisch. InIB kann nur mit Met von Menschen und Mäusen interagieren (Khelef, 2006).

Neben Met existieren noch zwei Co-Rezeptoren für InIB, nämlich zum einen gC1qR, Ligand für den Komplementfaktor C1q (Seveau, 2007), zum anderen Glukosaminoglykane. Die Interaktion mit diesen Co-Rezeptoren wird über die GW-Domäne des gelösten InIB bewerkstelligt. Die funktionelle Relevanz der Bindung von InIB an gC1R für die Interaktion mit der Zielzelle konnte bisher noch nicht evaluiert werden. Die Bindung von InIB an Wirtszellglukosaminoglykane spielt eine Rolle bei der Met-Aktivierung (Jonquières, 2001).

InIB scheint eine wesentliche Rolle bei der Kolonisation von Leber und Milz zu spielen, eine eher untergeordnete Rolle nimmt InIB bei der Überwindung der intestinalen Barriere ein (Khelef, 2006). Trotzdem zeigt InIB eine synergistische Wirkung zu InIA

bei der Zellinvasion. Eine Δ inIAB-Mutante ist bezüglich ihrer Invasivität gegenüber ihrer Wirtszelle um das 10fache weniger virulent im Vergleich zu einer Δ inIA-Mutante (Vázquez-Boland, 2001a). InIB mit seinem Hauptrezeptor Met scheint auch in der Überquerung der fetomaternalen Barriere involviert zu sein (Disson, 2008; Querada 2019), da eine InIB-Deletionsmutante eine weniger effiziente InIA-vermittelte Invasion in plazentares Gewebe zeigt, als der Wildtyp (Lecuit, 2004). In-vitro konnte auch eine Beteiligung von InIB im Rahmen einer Infektion von humanen Endothelzellen des Gehirns gezeigt werden, in vivo steht dieser Nachweis sowohl für InIA als auch für InIB noch aus (Greiffenberg, 1998).

4.5.1.1.3 Internalin C (InIC)

Das kleine, sekretierte Internalin C besitzt ein Molekulargewicht von 30kDa (Vázquez-Boland, 2001a). Die Rolle, die InIC bei der Virulenz von *L. monocytogenes* spielt ist nicht klar, da eine inIC-Deletion weder die Internalisation, noch die intrazelluläre Replikation, noch die interzelluläre Ausbreitung beeinträchtigt. Möglicherweise kommt InIC eine InIA-unterstützende Funktion bei der Internalisation von *L. monocytogenes* in nicht-professionell phagozytierenden Zellen zu (Bierne, 2007). InIC verringert die kortikale Spannung des Wirts und erleichtert die Verbreitung von *L. monocytogenes* von Zelle zu Zelle durch Bildung von Protrusionen (Rajabian, 2009). Desweiteren scheint InIC die Ausrichtung der Chromosomen in mitotischen Zellen zu beeinträchtigen und die Zellteilung zu verzögern (Costa, 2020).

Im Mausmodell zeigte sich bei Infektion mit inIC-Deletionsmutanten eine etwas abgeschwächte Virulenz mit konsekutivem Anstieg der LD₅₀. Die Transkription von inIC erfolgt zum einen über einen PrfA-abhängigen Promotor, aber auch PrfA unabhängig. Eine Überexpression des inIC Gens wird vor allem im späten Stadium der Infektion während des interzellulären Ausbreitungsprozesses beobachtet, so dass InIC auch hier eine Rolle spielen könnte (Chatterjee, 2006; Engelbrecht, 1996).

4.5.1.1.4 Internalin Lmo 2470 (InIP)

Das Internalin Gen lmo2470 (inIP) ist ein hochkonserviertes Gen bei virulenten *L. monocytogenes* Stämmen (Faralla, 2016). InIP ist ein 388 Aminosäuren großes Protein mit fünf bis sechs LRR-Einheiten. InIP wird in die Gruppe der sekretierten Inter-

naline eingeordnet, da es keine Zellwandverankerungsmechanismen besitzt (Faralla, 2016). Farallas Untersuchungen legten dar, dass InIP einen starken Tropismus für die Plazenta als Infektionsort zeigt und somit einen weiteren Virulenzfaktor v.a. im Hinblick auf die fetale Listeriose darstellt (Faralla, 2016). Dieser Tropismus konnte sowohl im Maus- bzw. Meerschweinchenmodell als auch bei Infektion menschlicher dezidularer Zellkulturen aufgezeigt werden. Dieser Tropismus gründet sich vermutlich auf Expression organspezifischer Bindungsproteine. Eine weitere Erklärung könnten spezifische regulierende Wirtszellsignale sein, die ebenfalls organspezifisch sind (Faralla, 2016). InIP spielt keine Rolle bei der Wirtszellinvasion, scheint aber bei der Kolonisation der Placenta synergistische Effekte mit InIA aufzuweisen (Faralla, 2016). Bindungspartner für InIP ist Afadin, ein F-Actin bindendes Protein (Faralla, 2018) im Zytoplasma der Wirtszelle, das für Zell-zu-Zell-Verbindungen notwendig ist (Ikeda, 1999).

4.5.1.1.5 Weitere Internaline

4.5.1.1.5.1 Internalin H (InIH)

Das Internalin H besitzt die typische Struktur eines LPXTG-Internalins und stellt ein adäquates Substrat für die an die Bakterienmembran assoziierte Sortase A dar (Pucciarelli, 2005). Die genaue Funktion von InIH während der Infektion mit *L. monocytogenes* bleibt unklar. InIH ist innerhalb eines Genclusters bestehend aus InIG-InIH-InIE platziert. Im Mausmodell zeigte sich bei Deletionsmutanten Δ InIGHE oder auch in-frame Mutanten Δ InIH eine attenuierte Kolonisation der Leber und der Milz durch *L. monocytogenes* (Schubert, 2001). Inaktivierung des InIGHE-Genclusters scheint die InIB-vermittelte Invasion in Endothelzellen zu beeinflussen (Bergmann, 2002), wobei auch hier der genaue Mechanismus nicht klar ist.

4.5.1.1.5.2 Internalin J (InIJ)

InIJ gehört in die Familie der LPXTG-Internaline (Sabet, 2005). Die genaue Virulenzfunktion von InIJ ist unklar. Eine InIJ-Deletionsmutante zeigte sich im Mausmodell sowohl bei i.v-Infektion als auch bei oraler Infektion (transgene Mauslinie mit Expression von humanem E-Cadherin) virulenzattenuiert. Inaktivierung von InIJ nimmt keinen Einfluß auf Invasion, intrazelluläre Replikation oder interzelluläre Ausbreitung.

InlJ konnte bisher in fünf *L. monocytogenes*-Stämmen nachgewiesen werden (Douthett, 2004). InlJ ist in anderen *Listeria*-Spezies nicht vertreten (Bierne, 2007).

4.5.1.1.5.3 Internalin Lmo2026

Lmo2026 ist ein Internalin-ähnliches Protein, welches unter die Subgruppe der LPXTG-Internaline subsummiert wird. Die genaue Funktion im Rahmen der *Listeria*-seinfektion ist unbekannt. Es wird eine Rolle im Rahmen der listeriellen Multiplikation im Gehirn angenommen (Bierne, 2007).

4.5.2 Entkommen aus dem primären und sekundären Phagosom

4.5.2.1 Listeriolysin O (LLO)

Das Hämolyisin von *L. monocytogenes* oder auch Listeriolysin O (LLO) genannt, wurde als erster Virulenzfaktor von *L. monocytogenes* durch Geoffroy et al. 1987 charakterisiert und analysiert (Geoffroy, 1987). Die Sequenzierung des kodierenden Virulenzgens *hly* führte letztlich zur Entdeckung und Lokalisierung des zentralen Virulenzgenclusters, in welchem die meisten Virulenzgene von *L. monocytogenes* kodiert sind (Vázquez-Boland, 2001a). LLO nimmt eine zentrale Stellung bezüglich der Virulenz von *L. monocytogenes* ein. Durch Inaktivierung des *hly*-Gens konnte gezeigt werden, dass LLO für das intrazelluläre Überleben und die Proliferation von *L. monocytogenes* essentiell ist (Kuhn, 1988; Portnoy, 1988). LLO spielt nicht nur eine Schlüsselrolle beim Entkommen von *L. monocytogenes* aus dem primären Phagosom infizierter Zellen, sondern auch beim effizienten Entkommen aus der Doppelmembran-Vakuole, welche im Rahmen der Zell-zu-Zell-Ausbreitung geformt wird (Gedde, 2000).

Es besteht eine starke Korrelation von hämolytischer Aktivität und Pathogenität von *L. monocytogenes* bzw. *L.spp.*, denn der Verlust des Hämolyins führt zur Avirulenz des Bakteriums (Vázquez-Boland, 2001a).

LLO spielt eine zentrale Rolle bei der Aufnahme in Hepatozyten. Dies ist bei der Internalisation in Cytotrophoblastzellen oder endothelialen Zellen nicht der Fall (Phelps, 2018).

Unter den Listerien spp. sind noch *L. ivanovii* mit Produktion von Ivanolysin O (ILO) als auch *L. seeligeri* mit Ausschüttung geringer Mengen an einem dem LLO verwandten CDC (Cholesterin dependent Cytolysin) dem Seeligerilysin (LSO) in der Lage ein Hämolyysin zu generieren (Leimeister-Wächter, 1989).

Gensequenzierung von LLO, ILO und LSO zeigten eine hohe Übereinstimmung sowohl auf Basis des Proteins (86-91%) als auch auf Basis der DNA-Sequenz (76-78%) (Vázquez-Boland, 2001a).

LLO ist Mitglied der so genannten porenformenden Cholesterin abhängigen Cytolysine (CDCs), die mit über 20 Mitgliedern die größte Familie innerhalb der porenformenden Toxine darstellt. Zu dieser Familie zählen neben dem LLO, das Streptolysin O (SLO) von *Strept. pyogenes*, das Perfringolysin O (PFO) von *C. perfringens*, das Anthrolysin O (ALO) von *B. anthracis* oder auch das Pneumolysin von *Strept. pneumoniae* (Alouf, 2001; Schnupf, 2007).

Zunächst wird einen ringähnlicher Präporenkomplex durch Oligomerisation der Toxinmonomere gebildet. Zwei α -Helices der Domäne 3 bilden so genannte transmembrane β -Hairpins (TMHs) aus. Letztlich bildet sich die so genannte β -barrel-Struktur der wässrigen Pore. Hierbei ist die Anwesenheit von Cholesterin, neben seiner Rolle als Rezeptor für CDCs, essentiell, da es wichtig für den Übergang des Präporenkomplexes in den eigentlichen Porenkomplex ist (Schnupf, 2007).

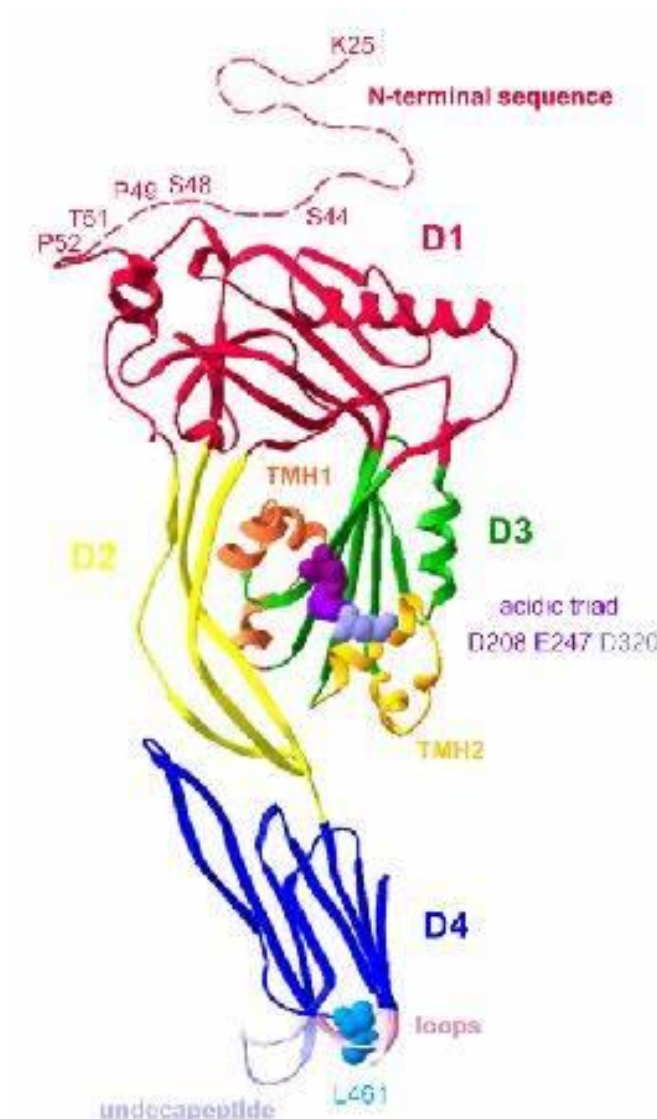


Abbildung 12: Strukturmodell des LLO Monomers (Schnupf, 2007)

Die N-terminale Sequenz der CDCs ist die Region mit der größten Heterogenität. Eine LLO-Mutante mit Deletion dieser N-terminalen Sequenz war des intrazellulären Wachstums unfähig und zeigte einen bis zu 10.000fachen Virulenzdefekt im Mausmodell der Listeriose. Diese einzigartige Region zeigt eine PEST-ähnliche Sequenz. PEST-Sequenzen wurden nach den AS Prolin (P), Glutamat (E), Serin (S) und Threonin (T) benannt (Decatur, 2000).

Mutationen im Bereich der PEST-ähnlichen Sequenz führen zur Wirtszelltoxizität, einem erhöhten Level an intrazellulärem LLO, sowie zur verstärkten LLO-Synthese während der exponentiellen Wachstumsphase im Kulturmedium. Somit ist anzunehmen, dass die N-terminale Domäne von LLO dessen Synthese während des cytosolischen Wachstums kontrolliert (Schnupf, 2006).

Im Bereich des C-Terminus zeigt sich eine in ihrer AS-Sequenz konstante 11er-Peptidkette. Diese konstante Peptidkette scheint eine verantwortliche Rolle für das breite Wirtsspektrum der CDC-positiven Bakterien zu spielen.

Zentrale Aufgabe des LLO ist es, die Flucht aus dem primären Phagosom, welches bei der Aufnahme von *L. monocytogenes* in die Wirtszelle gebildet wird, zu bewerkstelligen. Des Weiteren wird durch LLO das Entkommen aus dem sekundären Phagosom, welches im Rahmen der Zell-zu-Zell-Ausbreitung entsteht, sichergestellt.

Eine durch LLO gebildete Pore löst folgende Signalkaskade aus: Einstrom von extrazellulärem Ca^{2+} , Aktivierung der Ca^{2+} -abhängigen konventionellen Proteinkinase C, die der Rho-GTPase Rac1 vorgeschaltet ist, und Arp2/3-abhängige Bildung von F-Aktin-reichen Membranvorsprüngen, die die Internalisierung des Bakteriums fördern (Phelps, 2018; Vadia, 2011; Vadia, 2014).

Am Entkommen aus dem primären und sekundären Phagosom sind auch noch zwei Phospholipasen C (PlcA und PlcB) beteiligt. Ohne LLO verbleibt *L. monocytogenes* im primären Phagosom und ist somit unfähig sich zu replizieren (Portnoy, 1988; Gedde, 2000).

Um aus dem Phagosom zu entkommen ist ein Reifungsprozess des Phagosoms notwendig, das bedeutet, dass das Phagosom einer Ansäuerung bedarf. Im Phagosom finden sich pH-Werte zwischen pH 4,9 bis pH 6,7 (im Durchschnitt pH5,9). Das pH-Optimum für die LLO-Aktivität liegt bei pH 5,5. Die Ansäuerung des Phagosoms ist also für die optimale Effektivität von LLO notwendig bzw. stellt einen Trigger für dessen Synthese dar. Die genauen Mechanismen, die die Ansäuerung und somit die Reifung des Phagosoms bewerkstelligen, sind noch nicht genau bekannt (Marquis, 2000).

Diese cytolytische Eigenschaft von LLO ist jedoch streng an das phagosomale Kompartiment gebunden. Dies scheint eng mit dem zugrunde liegenden pH-Optimum von LLO verknüpft zu sein. Diese pH-Abhängigkeit ist einzigartig unter den CDCs. Als pH-Sensor fungiert ein Bereich von 3AS, nämlich Glu-247, Asp-320 und Glu-208, in der Domäne 3 (Schuerch, 2005). Wird das saure Milieu des Phagosoms verlassen und *L. monocytogenes* in das pH neutrale Wirtszellzytoplasma entlassen, kommt es zur down-Regulation bzw. Inaktivierung von LLO. Die intrazelluläre HWZ von LLO beträgt <15min (Schnupf, 2006). Die Bindung der LLO-Aktivität an ein pH-Optimum im sauren Bereich stellt einen gewissen Schutzmechanismus für die bakterielle Replikation im Wirtszytoplasma dar. Auf diese Weise wird verhindert, dass LLO die Cyto-

plasmamembran der Wirtszelle lysiert, was gleichbedeutend mit einem frühzeitigen Entlassen des Bakteriums in das extrazelluläre Milieu ist. Somit könnte eine gesicherte bakterielle Replikation in der geschützten intrazellulären Nische nicht mehr gewährleistet werden, was aber essentiell für die Pathogenese und Virulenz von *L. monocytogenes* ist (Decatur, 2000; Glomski, 2003).

Diese posttranslationale Kontrolle durch die pH-Abhängigkeit scheint ein wichtiger Mechanismus zur Regulation von LLO zu sein und zeigt auch eine gewisse Temperaturabhängigkeit (>30°C) (Schnupf, 2007).

Ein weiterer Kontrollmechanismus existiert auf transkriptioneller Ebene. Das für LLO kodierende Gen *hly*, welches im Virulenzgencluster LIPI-1 integriert ist, wird hauptsächlich durch den zentralen Virulenzgenregulator PrfA kontrolliert (Kreft, 2001). *Hly* wird also unter Konditionen, die zur Steigerung der Expression und Aktivität von PrfA führen, verstärkt transkribiert. Hierzu zählt z.B. ein Temperaturshift auf 37°C. Zur down-Regulation von *hly* führen z.B. ein niedriger pH oder auch fermentierbare Zucker wie Glucose (Milenbachs, 1997).

Als so genannter „back-up“-Mechanismus zur Kontrolle der LLO-Aktivität, trägt ein gewisser Abbau von LLO im Wirtszellzytoplasma durch Wirtszellproteasen bei. Allerdings führt eine Blockade der Wirtszellproteasen nicht zu einer erhöhten Wirtszelltoxizität bei einer Wildtyp-*L. monocytogenes*-Infektion, so dass der durch Proteasen gesteuerte Abbau von LLO keinen wesentlichen Kontrollmechanismus für die LLO-Aktivität darstellt (Schnupf, 2006).

LLO fungiert jedoch nicht nur als Porenbildner, sondern erfüllt auch die Aufgabe als Apoptose- bzw. Signalmolekül. LLO kann die Apoptose von Lymphozyten, T-Zellen und dendritischen Zellen induzieren (Carrero, 2004). Es kann zur Degranulation von und Leukotrienausschüttung bei Neutrophilen führen (Sibelius, 1999). Des Weiteren kann eine up-Regulation von Adhäsionsmolekülen und inflammatorischer Cytokine in menschlichen Gefäßendothelzellen ausgelöst werden (Kayal, 1999). Eine Aktivierung des Map-Kinase-Signalwegs in HeLa-Zellen, die IFN- γ Produktion in Milzzellen als auch die IL-1 Produktion in Makrophagen konnte durch LLO-Anwesenheit beobachtet werden (Schnupf, 2007).

LLO agiert als Toll-like-Rezeptor (TLR)-Agonist, wobei vor allem eine TLR-4 abhängige Cytokinproduktion der Wirtszelle für LLO, PFO, SLO und ALO gezeigt werden konnte.

Im Rahmen der zellvermittelten Immunität fungiert LLO als effizientes MHC-I-Epitop, wodurch eine effiziente CD8+-T-Zellantwort hervorgerufen wird (Schnupf, 2006).

In in-vitro Versuchen bewerkstelligt LLO einen Einstrom von extrazellulärem Ca^{2+} in die Wirtszelle, wodurch die Signalgebung der Wirtszelle bezüglich der Phagozytose von *L. monocytogenes* durch Makrophagen reduziert wird. Der Ca^{2+} -Einstrom steht in Zusammenhang mit dem Phosphatidylinositol-Metabolismus von LLO und führt letztlich zum Öffnen von Ca^{2+} -Kanälen in der Plasmamembran (Wadsworth, 2002; Dramsi, 2003).

Neue molekularbiologische Studien konnten zeigen, dass *L. monocytogenes*, analog anderer grampositiver Bakterien, in der Lage ist extrazelluläre Vesikel zu sekretieren. Diese extrazellulären Vesikel beinhalten einen Großteil der Virulenzproteine, so auch LLO und tragen somit zur Zytotoxizität von *L. monocytogenes* bei (Coelho, 2019).

Diese vielfältigen Aufgaben von LLO erklären dessen Rolle als zentraler Virulenzfaktor.

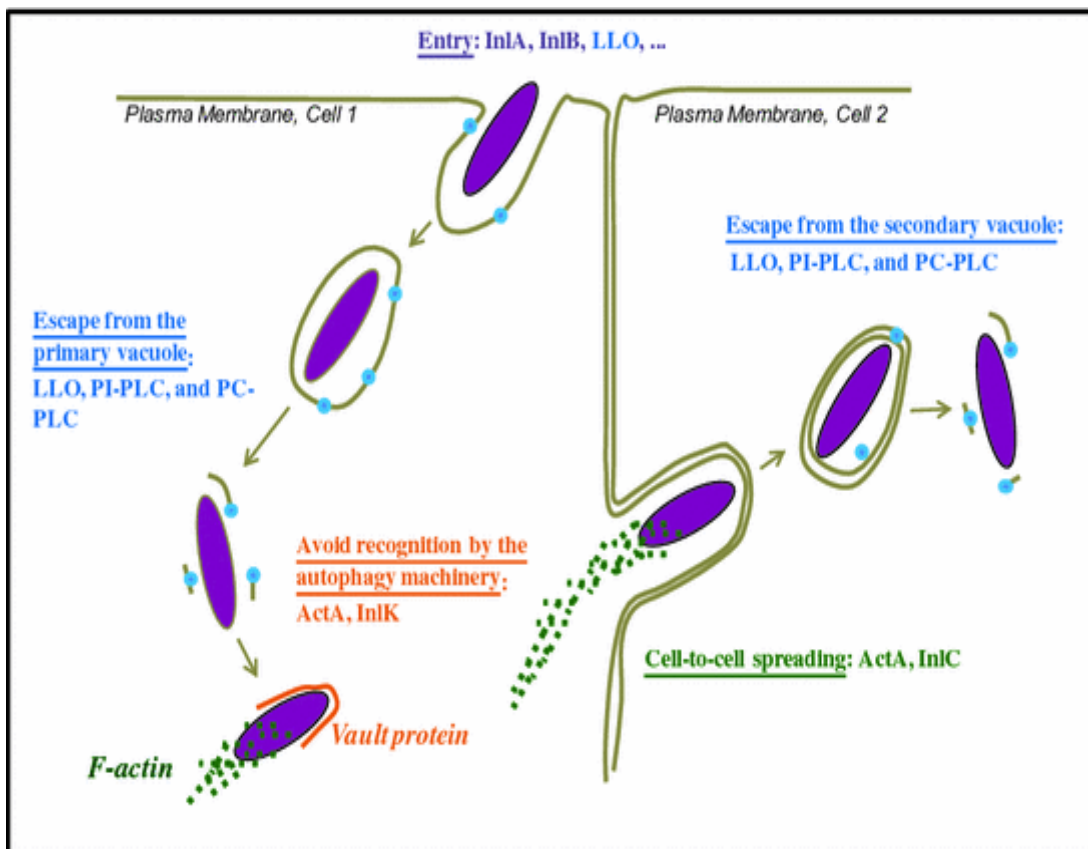


Abbildung 13: Zentrale Mechanismen von LLO (blau). (Seveau, 2014)

4.5.2.2 Phospholipasen der Klasse C

Die Virulenz von *L. monocytogenes* steht in direktem Zusammenhang mit dem Entkommen aus dem primären bzw. sekundären Phagosom, welches beim Eintritt in die Wirtszelle bzw. im Rahmen der Zell-zu-Zell-Ausbreitung gebildet wird. *L. monocytogenes* sekretiert zwei Phospholipasen der Klasse C, PI-PLC und PC-PLC, welche synergistisch agieren und LLO in der Lyse der phagosomalen Vakuolen unterstützen (Gedde, 2000; Smith 1995a; Camargo, 2016). Der Beitrag, den die Phospholipasen zur Lyse der Vakuolenmembran beitragen, differiert in den unterschiedlichen Zelltypen und Wirtsspezies. Ursächlich hierfür könnten Unterschiede in der Phospholipidzusammensetzung oder auch Unterschiede bezüglich des pH in der Vakuole sein. (Vázquez-Boland, 2001a). Der genaue Wirkmechanismus der Phospholipasen ist bis heute noch nicht ausreichend verstanden. Die PLCs könnten die Wirtszellmembran auf direktem Wege abbauen oder über einen anfänglichen Phospholipidabbau eine Kette von Wirtszellmechanismen aktivieren, die zum Abbau der Vakuolenmembran führen (Goldfine, 1998; Wadsworth, 2002).

Bei fast allen Zelllinien, sowohl menschlichen als auch bei Mäusen, ist LLO essentieller Faktor, um ein Entkommen aus der primären, einschichtigen Vakuole, welche beim Eintritt in die Wirtszelle gebildet wird, oder der sekundären Doppelmembran-Vakuole, welche bei der Zell-zu-Zell-Ausbreitung entsteht, zu gewährleisten (Tilney, 1989). Die zwei Phospholipasen C (PLC) sind für das phagosomale Entkommen entbehrlich, erhöhen aber die Effizienz dieses Vorgangs (Smith, 1995a).

Die beiden Phospholipasen PI-PLC (PlcA) und PC-PLC (PlcB) besitzen vermutlich sich überlappende Funktionen, da eine so genannte in-frame Deletion in jeweils einer der beiden PLCs nur zu einer geringen Virulenzminderung im Mausmodell oder auch bei in-vitro Versuchen führt. Eine Doppelmutation mit Verlust beider Phospholipasen führt jedoch zu einer gravierenden Virulenzminderung, zumindest im Mausmodell bezogen auf die LD₅₀, wo sich ein 500facher Abfall im Vergleich zur Wildtypinfektion zeigt (Smith, 1995a).

Während die PI-PLC nur im Entkommen aus der primären Vakuole eine Rolle spielt, nimmt die PC-PLC ein breiteres Wirkungsspektrum ein. Sie ist zumindest beteiligt bei der Lyse des primären Phagosoms, die Hauptaufgabe besteht jedoch in der Lyse der doppelschichtigen sekundären Vakuole. Somit ist die PC-PLC eine wichtige Virulenzdeterminante bei der Zell-zu-Zell-Ausbreitung.

Die beiden Phospholipasen von *L. monocytogenes* können auch eine Veränderung der Signaltransduktion der Zelle bewirken. Bei der Phospholipidhydrolyse entstehen sogenannte Secondmessenger, wie Diacylglycerol (DAG), Ceramid oder auch Inositolphosphat. Diese Spaltprodukte spielen eine Rolle beim Zellwachstum, bei der Zelldifferenzierung, bei der Apoptose, wie auch bei der Cytokin- und Chemokinproduktion (Smith, 1995a)

4.5.2.2.1 PI-PLC (PlcA)

PI-PLC, auch PlcA genannt, wird vom *plcA*-Gen kodiert. Dieses Gen findet sich in der Pathogenitätsinsel LIPI-1 und wird PrfA-abhängig transkribiert (Querdea, 2018). Das *plcA*-Gen ist eine hochkonservierte Region in allen pathogenen *L. monocytogenes* Stämmen. Dies legt nahe, dass PlcA bei der Virulenz von *L. monocytogenes* eine wichtigere Rolle zu spielen scheint als bisher angenommen (Quereda, 2018). Der genaue Virulenzbeitrag von PlcA bleibt weiter Gegenstand der Forschung (Quereda, 2018)

PI-PLC ist eine hochspezifische Phospholipase, die speziell das Phospholipid (PI) spaltet. PI-PLC ist ein 33kDa großes Polypeptid. In ihrer Wirkungsweise ist sie mit anderen PI-PLCs vergleichbar, wie z.B. von *Bacillus thuringiensis* (BtPI-PLC), von *Bacillus cereus* (BcPI-PLC), von *Bacillus anthracis*, von *S. aureus* oder auch *L. ivanovii* (Wei, 2005b). In Mutationsversuchen, bei denen die *L. monocytogenes* PI-PLC durch die BcPI-PLC ersetzt wurde, war ein intrazelluläres Wachstum von *L. monocytogenes* nicht möglich und der Keim war in seiner Virulenz gehemmt (Wei, 2005b).

Hauptaufgabe von PI-PLC scheint im Bereich der Lyse des primären Phagosoms zu liegen. Das Wirkungsoptimum der PI-PLC liegt in einem pH-Bereich von pH 5,5 bis pH 6,5. Fehlt PI-PLC zeigt sich ein weniger effizientes Entkommen aus der Primär-
vakuole. Bezüglich der Virulenz zeigt sich bei einer $\Delta plcA$ -Mutante im Mausmodell ein ca. 3facher Abfall bezogen auf die LD₅₀ im Vergleich zur Wildtyp-Infektion (Yeung, 2007).

4.5.2.2.2 PC-PLC (PlcB)

PC-PLC oder auch PlcB ist eine Phospholipase C mit breitem Wirkungsspektrum und einer großen Substratbreite. Neben Phosphatidylcholin (PC), kann PC-PLC auch Phosphatidylethanolamin (PE), Phosphatidylserin (PS) oder auch Sphingomyelin (SM) spalten (Gründling, 2003). *plcB* ist mit den Virulenzgenen *actA* und *mpl* in dem gemeinsamen Lecithinoperon zusammengefasst, was wiederum Bestandteil der Pathogenitätsinsel LIPI-1 ist (Quereda, 2018). Die Transkription erfolgt entweder gesteuert über den *mpl*-Promotor mit Transkription aller drei Gene oder über den *actA*-Promotor, wobei hierbei *actA* und *plcB* cotranskribiert werden (Gründling, 2003). Die Transkription erfolgt *PrfA* reguliert. PC-PLC wird als inaktives Proenzym sekretiert. Das Proenzym besteht aus 264 AS und hat eine Größe von 33kDa. Durch Abspaltung des Propeptids am N-terminalen Ende, welches aus 26 AS besteht (2,9kDa), entsteht das 29-30kDa große, aktive Enzym (Marquis, 2000). PlcB muss als inaktives Proenzym ausgeschüttet werden, um die Bakterienmembran vor dem Abbau der eigenen Phospholipide zu schützen (Marquis, 2000; Vázquez-Boland, 2001a; Gründling, 2003).

Um eine Aktivierung von proPC-PLC zu PC-PLC hervorzurufen, ist eine Grundvoraussetzung, dass sich das Bakterium innerhalb einer Vakuole befindet (Marquis, 2000). Ist das Bakterium im Cytosol der Wirtszelle, wird nur das inaktive Proenzym in geringen Mengen sekretiert, bei fehlendem Aktivationsstimulus, also fehlender Zell-zu-Zell-Ausbreitung, wird dieses Proenzym durch das Wirtszellproteasom in kurzer Zeit abgebaut (HWZ<15min). Sind die Wirtszellproteasen nicht aktiv, verharrt proPC-PLC auf einem stabilen Level ohne aktiviert zu werden (Marquis, 2000). Weitere zwingende Grundvoraussetzung für die Aktivierung des inaktiven Proenzym ist, dass die Vakuole bereits gereift ist, d.h. angesäuert. Nur im Rahmen der Zell-zu-Zell-Ausbreitung mit Ausbildung der Doppelmembranvakuole und einem pH-Abfall wird die Ausschüttung der aktiven PC-PLC getriggert. Innerhalb von 5min. nach erfolgtem pH-Abfall kann eine verstärkte Ausschüttung von PlcB beobachtet werden (Marquis, 2000; Marquis, 1997).

Für die Abspaltung des Propeptids wird die Metalloprotease *Mpl* benötigt. Des Weiteren existiert auch noch ein MPL-unabhängiger Aktivierungsweg, wobei hier eine wirtseigene Cysteinprotease benötigt wird. Somit wird die Freisetzung von PlcB über

den pH und die Anwesenheit der Metalloprotease Mpl bzw. der wirtseigenen Cysteineprotease reguliert (Marquis, 1995; Marquis, 1997).

Die Hauptaufgabe von PC-PLC liegt in der Lyse der Doppelmembranvakuole im Rahmen der Zell-zu-Zell-Ausbreitung. In LLO-defizienten Mutanten konnte sowohl die Lyse des primären Phagosoms durch PC-PLC bewerkstelligt werden, als auch die Lyse des sekundären Phagosoms, wobei in beiden Fällen hohe Level an PlcB vorhanden sein mussten. Eine Insertionsmutante $\Delta plcB$ zeigte bei in-vitro Versuchen eine geringere Plaquebildung in Zahl und Größe, des Weiteren konnte eine Akkumulation der Bakterien innerhalb der Doppelmembranvakuole beobachtet werden. Bezüglich der Virulenz zeigte sich bei $\Delta plcB$ -Mutanten ein 20facher Abfall im Mausmodell in Bezug auf die LD_{50} verglichen mit einer Wildtypinfektion (Vázquez-Boland, 1992; Marquis, 1995). Somit scheint PlcB eine Schlüsselrolle bei der Zell-zu-Zell-Ausbreitung zu spielen (Vázquez-Boland, 2001a).

4.5.2.3 Metalloprotease (Mpl)

Die Metalloprotease Mpl ist ein 55kDa große Protein, welches aus einem 20kDa großem Propeptid und einer 35kDa großen, katalytischen Domäne besteht. Mpl gehört in die Superfamilie der Zink-abhängigen Metalloproteasen und besitzt ein hierfür charakteristisches HEXXH-Motiv. Innerhalb dieser Familie besteht eine enge Verwandtschaft zwischen Mpl und Thermolysin, dem Prototyp der M4-Familie der Metalloproteasen (Bitar, 2008). Thermolysin und verwandte Metalloproteasen werden als Präproenzyme sekretiert. Die Mpl-Reifung und letztlich Aktivierung durch Abspaltung des Propeptids basiert auf dem Mechanismus der intramolekularen Autokatalyse (Bitar, 2008). Das noch inaktive Präproenzym besteht aus 510AS, die Abspaltung des N-terminalen Propeptids erfolgt zwischen den AS Glu-200 und Val-201 (Bitar, 2008; Yeung, 2005).

Das aktive Mpl agiert in einem breiten pH-Bereich von pH 5 bis pH 9 reichend (Coffey, 2000).

Die Transkription von Mpl erfolgt über den PrfA-abhängigen mpl-Promotor. Das mpl-Gen ist Teil des Lecithinaseoperons (Vázquez-Boland, 2001a).

Mpl erfüllt eine Doppelfunktion, nämlich reguliert es zum einen die Aktivierung der PlcB, zum anderen die Zellwandtranslokation von PlcB. Beide Aufgaben sind pH-abhängig (Coffey, 2000).

Grundvoraussetzung, damit Mpl beide Aufgaben bewerkstelligen kann, ist, dass PlcB als komplettes Proenzym vorliegt. In Versuchen, in denen das Propeptid von PlcB bereits abgespalten wurde, unterlag die Translokation und Aktivierung von PlcB nicht länger Mpl und dem pH (Yeung, 2005). Abschließend lässt sich sagen, dass Mpl durch die Beteiligung in der PlcB-Aktivierung zur Virulenz von *L. monocytogenes* beiträgt (Poyart, 1993).

4.5.2.4 Listeriolysin S (LLS)

LLS ist ein Bacteriocin, welches in eine Subgruppe der Familie der sog. Thiazole/Oxazole-Modified Microcins (TOMMs) gehört (Lee, 2020). Bacteriocine sind bakteriell synthetisierte proteinhaltige Substanzen, die das Wachstum eng verwandter Bakterien gezielt hemmen (Querda 2016; Cavera, 2015). Diese TOMMs findet man häufig in Gram-positiven Bakterien, wie z.B. *Streptococcus pyogenes* (SLS), *Staphylococcus aureus* (Staphylolysin S; STS) oder auch *Clostridium botulinum* (Botulylin S oder Clostridiolysin S; BTS) (Lee, 2020; Cotter, 2008). Hierbei zeigt LLS die größte Ähnlichkeit bezügl. der Anordnung von Genclustern und der dazugehörigen Proteine, wenn man deren ASS betrachtet. Die Übereinstimmung beträgt zwischen 28,2%-53,8% (Cotter, 2008).

Das LLS-Operon liegt in der Pathogenitätsinsel LIPI-3 lokalisiert, welche nur bei Stämmen der Linie I gefunden wurde. Diese Linie I ist bei menschlichen Listeriosefällen überrepräsentiert und konnte ursächlich in vielen großen Listerienausbrüchen nachgewiesen werden (Cotter, 2008; Orsi, 2011; Lee 2020).

LLS trägt v.a. zur Virulenz von *Listeria monocytogenes* bei der Überwindung und Persistenz im Intestinum bei. Bei i.v. infizierten Mäusen oder in Versuchen mit Hühnerembryos konnte gezeigt werden, dass das Infektionsgeschehen bei i.v. Übertragung nicht beeinflusst wird (Querada, 2018; Querada, 2017). LLS ist nicht zytotoxisch noch notwendig für eine erfolgreiche Infektion, was eine Erklärung wäre, dass die Infektion von Organen wie Leber und Milz nicht von der Aktivität von LLS abhängig sind (Querada 2017; Querada 2018).

LLS stellt einen zusätzlichen Virulenzfaktor dar, der häufig in Isolaten zu finden ist, die mit einem epidemischen Ausbruch und Hypervirulenz vergesellschaftet sind (Lee, 2020). Allerdings muss erwähnt werden, dass LLS auch in nicht-pathogenen *L. innocua* Stämmen nachgewiesen werden konnte (Cotter, 2008; Clayton, 2014). Dies

scheint auf einen gemeinsamen Listerien-Vorfahr von *L. monocytogenes* und *L. innocua* zurückzuführen zu sein. Diese atypischen *L. innocua* Stämme können dann auch einen hämolytischen Phänotyp aufweisen, wenn diese Gene konstitutiv exprimiert werden (Clayton, 2014).

LLS führt über seine antimikrobielle Aktivität zur Veränderung des intestinalen Mikrobioms (Quereda, 2016). Daher ist die Pathogenität von LLS auf das Intestinum beschränkt und spielt daher bei Infektionsmodellen, die das Intestinum umgehen keine Rolle (Quereda 2017; Quereda 2018). LLS stellt somit einen intestinal-spezifischen Virulenzfaktor dar (Lee, 2020).

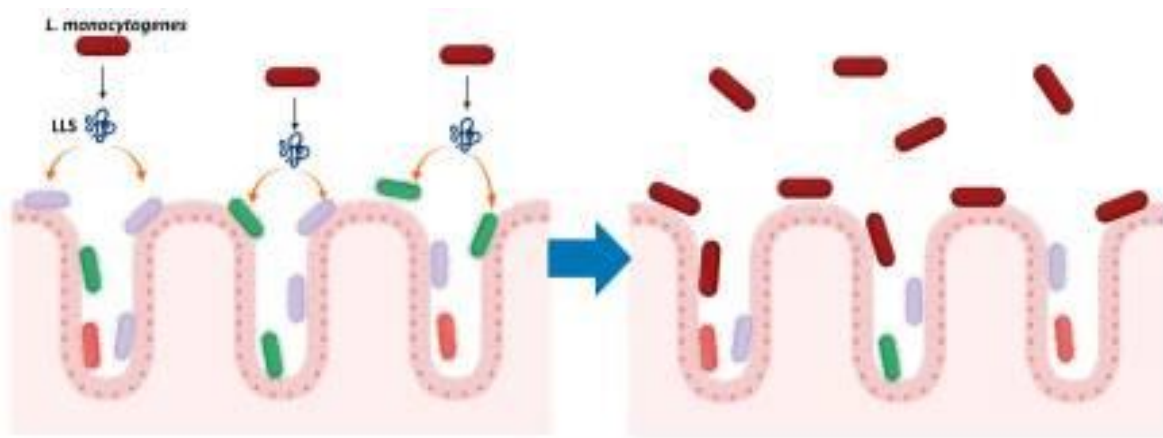


Abbildung 14: Wirkungsweise von LLS als Virulenzfaktor. LLS ist nicht zytotoxisch für die intestinalen Zellen, sondern entfaltet seine antimikrobielle Wirkungsweise als Bakteriocin. (Lee, 2020)

4.5.3 Vermehrung und Zell-zu-Zellausbreitung

4.5.3.1 ActA

Nach erfolgreicher Invasion und Entkommen aus dem primären Phagosom beginnt der cytoplasmatische Lebensabschnitt der Bakterien. Hier findet die Vermehrung von *L. monocytogenes* statt (Vázquez-Boland, 2001a). Nach erfolgter Replikation ist es für *L. monocytogenes* essentiell sich im Cytoplasma in Richtung Wirtszellmembran zu bewegen, um dort pseudopodienartige Ausstülpungen zu bilden. In diesen Zellwandprotrusionen befinden sich die Bakterien und gelangen per Invagination der Nachbarzellwand unter Bildung des sekundären Phagosoms in die Nachbarzelle. So erfolgt die Zell-zu-Zell-Ausbreitung ohne Berührungspunkt mit dem extrazellulären Milieu. Nach Auflösung des sekundären Phagosoms beginnt der Infektionszyklus erneut. Um die Bewegung der Bakterien in Richtung Wirtszellmembran zu bewerkstelligen, ist ActA als essentieller Virulenzfaktor nötig (Vázquez-Boland, 2001a). Unterbleibt die ActA-Bildung sind die im Cytoplasma des Wirts befindlichen Bakterien bewegungsunfähig und akkumulieren in so genannten Mikrokolonien in der perinukleären Region des Wirts (Vázquez-Boland, 2001a).

Die Zell-zu-Zell-Ausbreitung konnte erstmals bei intestinalen und cornealen Epithelzellen des Meerschweinchens elektronenmikroskopisch Anfang der 1970er durch Racz dargestellt werden (Racz, 1970; Racz, 1972). Tilney und Portnoy konnten 1989 den gesamten Infektionsprozess von *L. monocytogenes* elektronenmikroskopisch aufzeigen (Tilney, 1989). Im Rahmen der interzellulären Ausbreitung ist die Nutzung des Actincytoskeletts des Wirts entscheidend.

Darüber hinaus haben neuere Untersuchungen weitere Fähigkeiten von ActA gezeigt (Pillich, 2017). Dazu gehören die extrazellulären Eigenschaften der Aggregation und Biofilmbildung zur Besiedlung des Darmlumens, die Förderung und Verstärkung des Eindringens der bakteriellen Wirtszellen, die Umgehung der Autophagie, der vakuoläre Austritt sowie die Aktivierung des Nuclear Factor of Kappa Light Polypeptide Gene Enhancer in B-Cells (NF- κ B) (Pillich, 2017). Diese neuartigen Eigenschaften eröffnen eine neue Sichtweise auf ActA und helfen, seine Rolle als wesentlichem Virulenzfaktor von *L. monocytogenes* weiter zu unterstreichen (Pillich, 2017).

ActA ist ein Oberflächenprotein von *L. monocytogenes* bestehend aus 639AS und mit einem Molekulargewicht von 92kDA (Vázquez-Boland, 1992; Vázquez-Boland,

2001a). ActA ist nötig um Actin zu polymerisieren und die Motilität von *L. monocytogenes* im Cytoplasma zu bewerkstelligen (Travier, 2013).

Die Expression von actA wird induziert, sobald die Bakterien im Cytosol vorliegen (Moors, 1999; Shetron-Rama, 2002). Die Level von ActA zeigen eine bis zu 200fache Steigerung bei der Infektion im Vergleich zu den Leveln, die im Kulturmedium vorliegen (Bohne, 1994; Moors, 1999).

Die präzise Kontrolle der actA-Expression ist wichtig, da eine zu geringe Expression zu reduzierter Actinpolymerisation und zu reduzierter interzellulärer Ausbreitung führt (Wong, 2004).

ActA besteht aus drei Domänen: Einer N-terminalen Region (AS 1-234), einer Zentralregion mit Prolin-reichen Wiederholungen (AS 235-394) und einer C-terminalen Region (AS 395-610) (Vázquez-Boland, 2001a). Eine aus 29 AS bestehende Signalsequenz am N-terminalen Ende wird nach Sekretion des Proteins abgespalten, so dass das mature Protein nur noch aus 610 AS besteht (Welch, 2007).

Im Bereich der C-terminalen Region befindet sich eine 22AS lange Domäne, die mit einem aus weiteren vier AS bestehenden cytoplasmatischen Schwanz als Membrananker dient und zur Bindung des Proteins an die Bakterienoberfläche nötig ist (Welch, 2007). Verlust der C-terminalen Domäne beeinflusst die Actinpolymerisation nicht (Lasa, 1995).

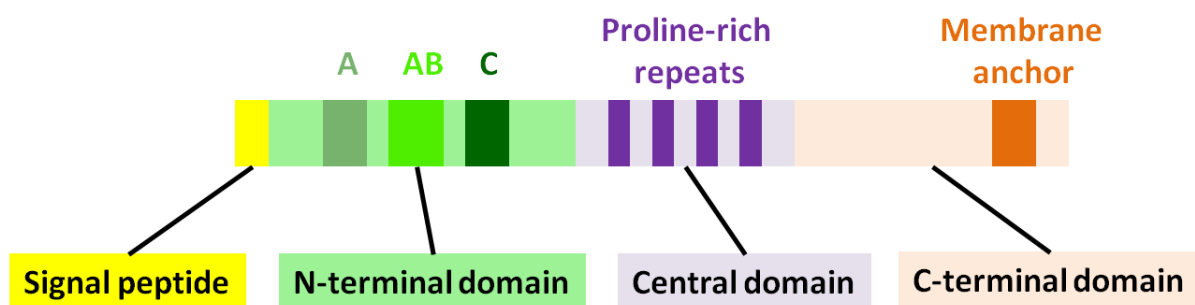


Abbildung 15: Act A (https://en.wikipedia.org/wiki/Actin_assembly-inducing_protein)

Die zentrale Region besteht aus drei bis vier Prolin-reichen Wiederholungssequenzen (prolin rich repeats), welche durch längere Repeatsequenzen voneinander getrennt sind (Welch, 2007). Die Prolinrepeats besitzen eine Konsensussequenz (D/E)FPPPP(P/T)(D/E). Die Prolinrepeats stellen die Bindungsdomäne für Wirtsproteine der Ena/VASP-Familie dar (Prehoda, 1999).

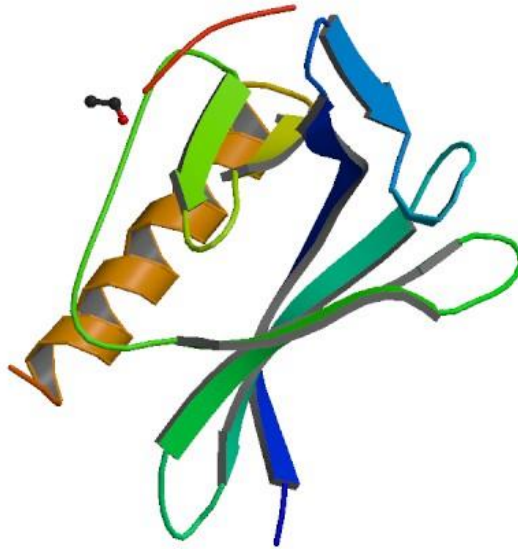


Abbildung 16: Ena/VASP Bindungsdomäne für Prolinrepeatregion des ActA (Prehoda 1999)

Die zentrale Region trägt zur bakteriellen Beweglichkeit bei, ein Verlust dieser Region reduziert die Motilitätsgeschwindigkeit ohne die Actinpolymerisation im Wesentlichen zu beeinflussen (Lasa, 1995).

Die N-terminale Domäne ist die essentielle Region für die Actin-vermittelte Motilität. In diesem Bereich befinden sich Schlüsselsequenzen zur Bindung des wirtseigenen Arp2/3-Komplex, als auch zur Actinbindung (Welch, 1998; Skoble, 2000; Zalevsky, 2001). Bestimmte N-terminale Sequenzen ähneln Wirtsproteinen der WASP- (Wiskott-Aldrich-Syndrome Protein) Familie (Welch, 2007). Verlust der N-terminalen Region des ActA-Proteins führt ähnlich wie eine actA-Deletion zur Unfähigkeit Actin zu polymerisieren, zum Beweglichkeitsverlust und zu fehlender Zell-zu-Zell-Ausbreitung (Lasa, 1995; Skoble, 2000).

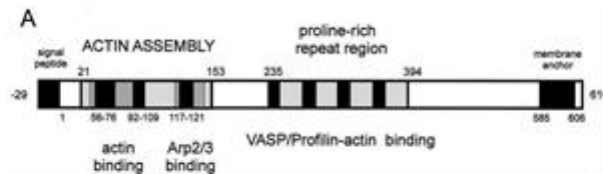


Abbildung 17: Schematische Darstellung der Molekularstruktur von ActA mit den unterschiedlichen Bindungsmotiven. In Zahlen angegeben finden sich die AS (Vázquez-Boland, 2001a).

ActA ist an der Bakterienoberfläche lokalisiert und ist das einzige bakterielle Protein, welches für die Actin-vermittelte Motilität von *L. monocytogenes* nötig ist (Pillich, 2017). ActA liegt polarisiert an der Bakterienoberfläche vor, was wichtig ist für die unidirektionale Bewegung von *L. monocytogenes* in Richtung Zellwandmembran. Dies liegt in der Teilung der Bakterien begründet. Hier findet sich nur wenig ActA in der Teilungszone, sondern es liegt lokalisiert am gegenüberliegenden Pol (Rafelski, 2005; Smith, 1995b). Dies ist der Bereich an dem die Actinpolymerisation unter Bildung eines kometenähnlichen Actinschweifs stattfindet, wobei Actin an die N-terminalen Domäne von ActA gebunden wird (Welch, 2007). Die Beweglichkeit von *L. monocytogenes* ist an die Actinschweifbildung gekoppelt (Dabiri, 1990). Actin ist ein ATP-bindendes Protein, welches in der Wirtszelle in zwei Formen vorliegen kann: Zum einen als Actin-Monomer (G-Actin), zum anderen als Actin-Filament (F-Actin). Die natürliche Polymerisation der Actinmonomere bewirkt die Filamentbildung unter ATP-Hydrolyse und ist ein reversibler Prozess (Welch, 2007; Pollard, 2003). Actin besitzt zwei Enden, zum einen als „barbed end“ bezeichnet, zum anderen ein so genanntes „pointed end“. Die Polymerisation der Actinfilamente findet an den „barbed ends“ statt und bewirkt die Ausbildung von Zellwandprotrusionen (Welch, 2007; Pollard, 2003).

Die initiale Actinakkumulation findet sich zunächst an den Seitenwänden der Bakterienoberfläche und nicht an dem ActA-reichen Pol. Durch die Seitenlagerung des Actins bewirken hieraus resultierende Kompressionskräfte eine Vorwärtsbewegung des Bakteriums. Dadurch ergibt sich eine Actinanlagerung am ActA-reichen Polbereich und es wird eine so genannte polare Actinwolke gebildet. Durch weitere Actinanlage-

nung erfolgt die weitere Vorwärtsbewegung und Ausbildung des Actinschweifs (Rafelski, 2005). Die Actinfilamente liegen innerhalb des Schweifs mit den „barbed ends“ in Richtung bakterieller Zellwand orientiert (Tilney, 1992a; Tilney, 1992b). Die Filamente sind innerhalb des Schweifs in einer stereotypen, geometrischen Art und Weise miteinander verbunden. In der Außenschale des Schweifs finden sich längere Filamente, welche gebündelt in Richtung der Schweifachse liegen. Im Kernbereich des Schweifs, nahe der Bakterienoberfläche, liegen kürzere Actinfilamente, die in einem y-artigen Netzwerk organisiert sind (Tilney, 1989; Zhukarev, 1995). Diese strikte Organisation der Filamente innerhalb des kometenartigen Schweifs scheint für die Kopplung der Actinpolymerisation an die Bakterienmotilität wichtig (Plastino, 2005). Entscheidend für die kontinuierliche Bewegung von *L. monocytogenes* ist ein Gleichgewicht zwischen Polymerisation und Depolymerisation der Actinfilamente, da sich hierdurch der Pool an Actinmonomeren nicht erschöpft (Sanger, 1995).

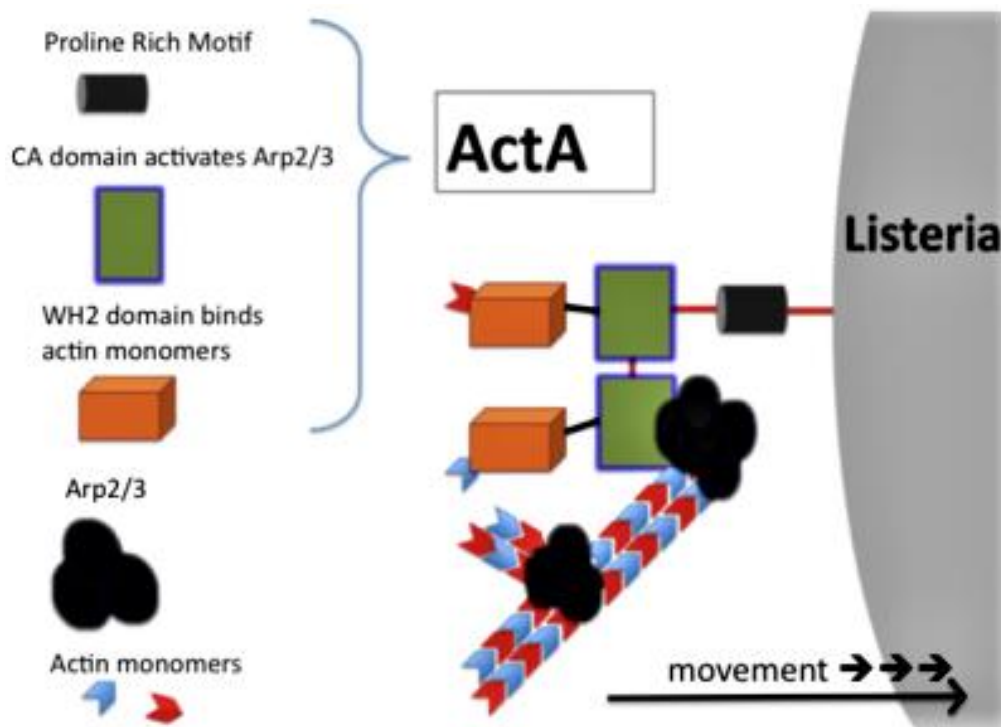


Abbildung 18: Ausbildung des Actinschweifs
(<https://en.wikipedia.org/wiki/Paracytophagy>)

Für die Motilität und die hierfür nötige Actinpolymerisation nutzt *L. monocytogenes* verschiedene Wirtszellproteine, die in die dynamischen Prozesse des Actincytoskellts involviert sind (Kuhn, 2007).

Hier spielen vor allem der so genannte Arp2/3-Komplex (Actin related protein), die Ena/VASP-Proteinfamilie, Profilin, CapZ (capping protein), ADF/Cofilin und α -Actinin eine Rolle (Chakraborty, 1995; Gertler, 1996; Kuhn, 2007).

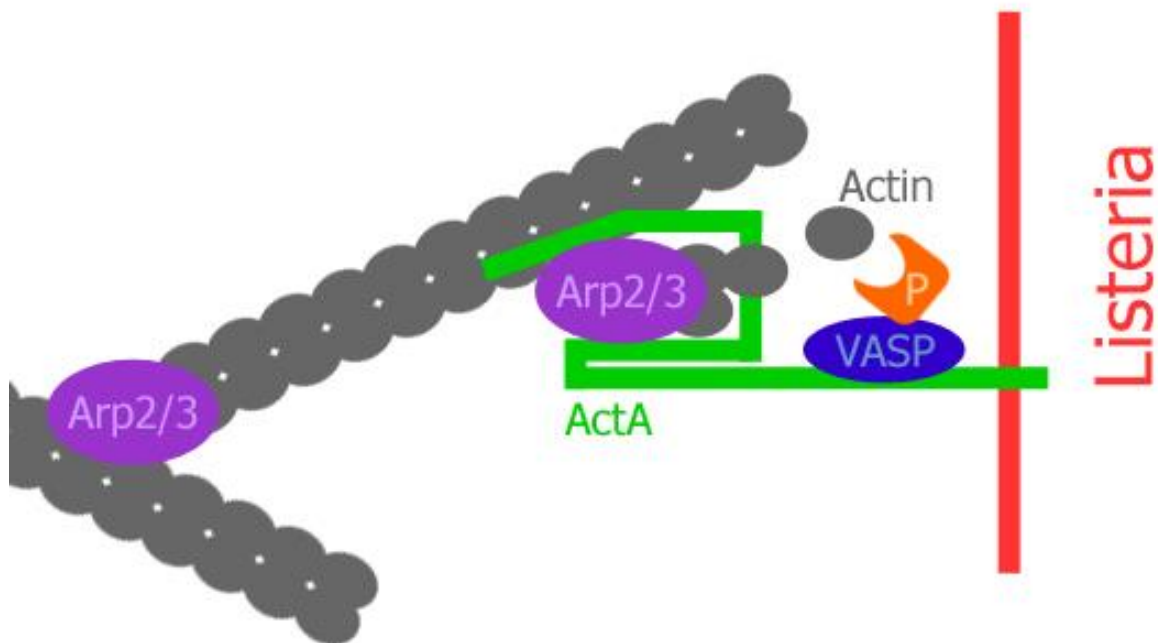


Abbildung 19: Funktion von Act A

(https://commons.wikimedia.org/wiki/File:ActA_Function.jpg)

Arp2/3 ist ein essentieller Wirtszellfaktor für die Actin-vermittelte Motilität von *L. monocytogenes*. ActA besitzt eine N-terminale Bindungsstelle für den Arp2/3-Komplex und bewirkt vermutlich die Komplexaktivierung als auch Regulation. Hieraus resultiert eine Actinnukelation und eine y-artige Vernetzung der Actinfilamente (Skoble, 2001). Der Arp2/3-Komplex besitzt somit zwei Bindungsdomänen, zumeinen für ActA und zum anderen für Actin. Als normaler Wirtszellligand und Wirtszellaktivator für den Arp2/3-Komplex dienen Mitglieder der VASP-Familie, die von ActA dementsprechend imitiert werden (Boujemaa-Paterski, 2001).

Neben dem Arp2/3-Komplex spielt vor allem die Ena/VASP-Proteinfamilie eine wichtige Rolle für die bakterielle Motilität. Ena/VASP-Proteine agieren zusammen mit Profilin, einem G-Actin-Bindungsprotein (Welch, 2007).

Während der Infektion mit *L. monocytogenes* werden Ena/VASP-Proteine sowie Profilin an die Bakterienoberfläche rekrutiert (Chakraborty, 1995). Ena/VASP-Proteine modulieren die Organisation der Actinfilamente innerhalb der Kometschweife, indem die γ -artigen Vernetzungen, welche durch den Arp2/3-Komplex generiert wurden, reduziert werden und somit eine verstärkte Motilität der Bakterien möglich ist (Plastino, 2004). Profilin fördert die Actinpolymerisation und wird durch Ena/VASP an die Bakterienoberfläche rekrutiert. Nur in Anwesenheit von Profilin ist eine schnelle Beweglichkeit der Bakterien gegeben. ActA-Mutanten, welche keine Bindungsstelle für Ena/VASP besitzen können auch kein Profilin rekrutieren und es zeigt sich eine insgesamt reduzierte Bewegung der Bakterien (Auerbuch, 2003). Somit sind Ena/VASP-Proteine funktionell wichtig, für die bakterielle Motilität, jedoch nicht essentiell.

Die Initiation der Actinpolymerisation muss räumlich getrennt von der bakteriellen Oberfläche stattfinden, damit eine effiziente Kopplung der Polymerisation und der Motilität erfolgen kann. Diese Aufgabe wird von einem so genannten „capping“-Protein, nämlich CapZ, bewerkstelligt. Das heterodimere Protein, welches mit hoher Affinität an die „barbed ends“ der Actinfilamente bindet, kann sowohl die Polymerisation als auch die Depolymerisation verhindern (Wear, 2004). CapZ, welches über den gesamten Actinschweif verteilt ist (David, 1998), muss in einer Funktionsweise moduliert werden, damit eine Anlagerung neuer Actinfilamente möglich ist, eine ungebremste Polymerisation verhindert wird und sich der Pool an Actinmonomeren nicht erschöpft. Der genaue Mechanismus, der hinter der CapZ-Regulation steht, ist noch unklar (Welch, 2007).

Für die kontinuierliche Bewegung der Bakterien in Richtung Wirtszellmembran ist die Dissoziation der Actinfilamente wichtig, so dass Actinmonomere recycelt werden können. Hierfür steht ADF/Cofilin zur Verfügung, welches innerhalb des Kometschweifs lokalisiert ist (David, 1998). Ohne ADF/Cofilin ändert sich die Polymerisationsrate oder Bewegungsgeschwindigkeit nicht, jedoch ist die Actindissoziation stark gehemmt, so dass extrem lange Actinschweife entstehen (Welch, 2007).

Innerhalb des Actinnetzwerks finden sich noch eine Reihe weiterer Wirtsproteine, wie z.B. α -Actinin, Fimbrin, Filamin oder auch Fascin. Für die Schweifbildung scheint jedoch nur α -Actinin eine Rolle zu spielen, die Funktion der anderen Bindungsproteine ist noch unklar (Welch, 2007; Dold, 1994).

4.5.4 Weitere additive Faktoren im Rahmen des Infektionszyklus von *Listeria monocytogenes*

4.5.4.1 Vip

Vip (virulence protein), oder auch Imo320 genannt, gehört zu den insgesamt 41 Mitgliedern der LPXTG-Proteine, welche bei *L. monocytogenes* zu finden sind (Cabanès, 2005). Über die Sortase A wird es kovalent an die Bakterienoberfläche verankert (Bierne, 2002b). Vip besitzt keine LRR-Region und wird daher nicht in die Internalinmultigenfamilie subsummiert, allerdings besitzt dieses Oberflächenprotein eine prolinreiche Domäne, die vermutlich für Protein-Protein-Interaktionen verantwortlich ist (Kay, 2000). Vip ist bei apathogenen Listerienspezies nicht zu finden, bei *L. monocytogenes* ist es bis auf die seltenen Serovare 4a und 4c in allen anderen Serovaren nachzuweisen (Doumith, 2004). Vip wird positiv durch PrfA reguliert (Cabanès, 2005).

Als zellulärer Ligand wurde Gp96, ein Chaperon des Endoplasmatischen Retikulums identifiziert, wobei die Bindungsdomäne bei Vip hierfür noch unklar ist (Cabanès, 2005). Gp96 findet sich auch an der Oberfläche bestimmter Zelltypen, so z.B. an der Plasmamembran von Kupferzellen oder Hepatozyten (deCrom, 1999). Gp96 ist zur Antigenpräsentation fähig und induziert eine spezifische T-Zellantwort, aktiviert dendritische Zellen, genauso wie Neutrophile und Monozyten (Radsak, 2003). Somit kann *L. monocytogenes* über die Vip-Gp96-Interaktion den Eintritt in bestimmte Wirtszellen bewerkstelligen wie auch durch Bindung an Gp96 die Immunantwort des Wirts modulieren (Cabanès, 2005).

4.5.4.2 Gallenzhydrolase (BSH)

Durch Genomvergleich zwischen *L. monocytogenes* und *L. innocua* konnte bei ersterem ein Gen gefunden werden, nämlich *bsh*, welches für eine Gallenzhydrolase BSH (bile salt hydrolase) kodiert (Kuhn, 2007). BSH wird nur in pathogenen Listerienspezies gefunden. Nach oraler Aufnahme von *L. monocytogenes* ist das Bakterium im Dünndarm Gallensalzen ausgesetzt, die neben ihrer Verdauungsfunktion auch eine antimikrobielle Aktivität besitzen. Die Expression von *bsh* wird zum einen positiv reguliert durch PrfA (Dussurget, 2002), zum anderen durch den alternativen Stress-

faktor SigmaB kontrolliert (Begley, 2005). Bei dieser Coregulation scheint jedoch SigmaB die wichtigere Rolle zuzufallen. Bei ΔsigB -Mutanten konnte in vitro keine bsh-Transkription oder BSH-Aktivität nachgewiesen werden und diese Mutanten zeigten sich gegenüber Gallensalzen hochsensibel (Dussurget, 2002). bsh-Deletion führt in-vitro zu reduzierter Widerstandsfähigkeit gegenüber Gallensalzen (Pombinho, 2020), es fanden sich weniger Bakterien im Kot von Meerschweinchen und es zeigte sich eine reduzierte Virulenz und eine geringere Leberkolonisation nach i.v.-Inokulation im Mausmodell (Dussurget, 2002). Somit scheint BSH ein wichtiger Faktor für die intestinale und hepatische Infektionsphase zu sein (Kuhn, 2007).

4.5.4.3 p60 Protein

1989 entdeckten Kuhn und Goebel (Kuhn, 1989) per SDS-Page ein 60kDa großes extrazelluläres Protein von *L. monocytogenes*, welches im Rahmen der Invasion nicht-professionell phagozytischer Zellen beteiligt ist, aber auch im Rahmen einer Listerioseinfektion beim Menschen exprimiert wird, da im Serum dieser Patienten Antikörper gegen dieses Protein gefunden wurden (Kolb-Mäurer, 2001). Das sekretierte Autolysin p60 reguliert, neben dem Autolysin NamA, die Programmierung und Differenzierung CD8+ T-Zellen und fördert die Bildung von CD8+ Memory T-Zellen (Chandrabos, 2015). Somit stellt das p60-Protein ein wichtiges Antigen im Rahmen der Immunantwort gegenüber *L. monocytogenes* dar. p60 besteht aus 484 AS (Vázquez-Boland, 2001a; Harty, 1995b). Das p60-Protein wird vom so genannten iap-Gen (invasion-associated protein) kodiert und PrfA-unabhängig exprimiert. p60 homologe Proteine konnten in allen sechs Listerienspezies nachgewiesen werden (Bubert, 1992b; Pilgrim, 2003). p60 besitzt vermutlich eine Murein-Hydrolase-Aktivität, da eine Überexpression des iap-Gens zur bakteriolytischen Aktivität führt (Wuenscher, 1993). Δiap -Mutanten zeigten sich in ihrer Virulenz attenuiert mit verminderter intrazellulärer Motilität und reduzierter interzellulärer Ausbreitung. Vermutlich führt die iap-Deletion zu einer nicht mehr polaren Verteilung von ActA an der bakteriellen Zelloberfläche und somit wird eine geordnete Actinschweifbildung verhindert (Pilgrim, 2003).

4.5.4.4 Ami

Ami ist ein 102kDa schwere, autolytische Amidase (Milohanic, 2001). Bezüglich der Sequenz dieses Autolysins zeigt sich eine Zweiteilung der Serovare von *L. monocytogenes*, zum einen in die Gruppe I (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c und 7), zum anderen in die Gruppe II (4a, 4ab, 4b, 4c, 4d und 4e) (Milohanic, 2004). Ami besitzt zwischen 917AS (Serovar 1/2a) und 770 AS (Serovar 4b). Ami trägt zur Zellwandadhäsion bei (Camejo, 2011), wobei sich ein Verlust von Ami nur bei Deletionsdoppelmutanten Δ inIAB in einer Virulenzattenuierung im Mausmodell bemerkbar macht (Milohanic, 2001; Milohanic, 2004).

4.5.4.5 Auto

Auto ist ein aus 572 AS bestehendes Autolysin, das aus einer Signalsequenz, einer N-terminalen Autolysindomäne und einem C-terminalen Zellwandanker, bestehend aus vier GW-Modulen, zusammengesetzt ist (Camejo, 2011). Das aut-Gen wird PrfA-unabhängig transkribiert und kodiert für ein autolytisches Oberflächenprotein (Milohanic, 2001). Die Sekretion dieses Protein geschieht autoinhibitorisch und erst durch proteolytische Spaltung wird das Autolysin aktiviert. Das ph-Optimum liegt im sauren Bereich (Cabanes, 2004). Auto spielt vor allem bei der Feinregulation der Adhäsion eine Rolle und ist vermutlich bei der Invasion in die Wirtszelle beteiligt (Seveau, 2007). Auto könnte auch bei der koordinierten Freisetzung von Virulenzfaktoren im Rahmen der Infektion eine Rolle spielen (Cabanes, 2004).

4.5.4.6 Katalase und Superoxiddismutase

Nach Aufnahme von *L. monocytogenes* in das Phagosom sind die Bakterien einer Vielzahl von wirtseigenen Abwehrmechanismen ausgesetzt, hierzu zählen vor allem die Radikalenbildung, wie O_2^- , H_2O_2 oder auch OH (Brehm, 1992) Die Enzyme Superoxiddismutase (SOD) und Katalase, die bei pathogenen *Listerienspezies* zu finden sind, können diese toxischen Sauerstoffradikale in unschädliche Endprodukte umwandeln (Dallmier, 1990). Ein Verlust beider Enzyme führte im Mausmodell zur Virulenzminderung (Brehm, 1992), jedoch spielen SOD und Katalase keine entschei-

denden Rollen als Virulenzfaktoren, was lange Zeit angenommen wurde (Welch, 1987).

4.5.4.7 FbpA

FbpA ist ein aus 570 AS bestehendes Polypeptid, welches vom fbpA-Gen kodiert wird und große Homologie zu Fibronectinbindeproteinen anderer Bakterien, wie z.B. PavA (*Streptococcus pneumoniae*) (Holmes, 2001) oder Fbp54 (*Strept. pyogenes*) (Courtney, 1996) aufweist. FbpA wird an der Bakterienoberfläche exprimiert.

Die FbpA-Expression beeinflusst die Proteinlevel von zwei Virulenzfaktoren, nämlich LLO und InlB, so dass die Vermutung nahe liegt, dass FbpA als Chaperon für diese zwei Virulenzfaktoren fungiert (Dramsi, 2004).

4.5.4.8 Hexose-Phosphat-Transporter (UhpT)

Glucose-1-Phosphat (G-1-P), ein Abbauprodukt von Glycogen, kann von den beiden pathogenen *Listeria*-Spezies *L. monocytogenes* und *L. ivanovii* verwertet werden (Gaillard, 1996). G-1-P steht im Zellcytoplasma ständig zur Verfügung und findet sich besonders reichlich in Hepatozyten, also denjenigen Zellen, die im Rahmen einer *L. monocytogenes*-Infektion eine Schlüsselrolle in der Pathogenese spielen (Gaillard, 1996). Für die G-1-P Utilisation steht ein bestimmter Transporter, der Hexose-Phosphat-Transporter UhpT, zur Verfügung, welcher vom hpt-Gen kodiert wird. Die G-1-P Utilisation wird positiv durch PrfA kontrolliert und mit anderen Virulenzfaktoren coexprimiert (Chico-Chalero, 2002). Im Gegensatz zu anderen Zuckern, wie z.B. Glucose oder Cellobiose, bewirkt G-1-P keine PrfA-abhängige Downregulation der Virulenzgenexpression (Ripio, 1997b). Der G-1-P-Metabolismus fördert das intrazelluläre Wachstum von *L. monocytogenes*, ein Verlust der G-1-P-Verwertung führt zu einer etwas verringerten Replikationsrate, so dass im Wirtszellcytoplasma vermutlich noch andere Kohlenstoffquellen für das bakterielle Wachstum zur Verfügung gestellt werden, wie z.B. Glucose-6-Phosphat (Chico-Chalero, 2002).

4.5.4.9 Lap (Oberflächenprotein p104)

Lap ist ein 104kDa großes Adhäsionsprotein, das bis auf *L. grayii* in allen Listerien-spezies vorkommt (Camejo, 2011). Vermittelt über den wirtszelleigenen Rezeptor Hsp60 erfolgt die Adhäsion an Endothelzellen des Darms (Camejo, 2011). Lap wird unter anaeroben Bedingungen vermehrt sekretiert (Burkholder, 2009). Durch Deletionsmutanten im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass Lap für die volle Virulenz von Listerien unerlässlich ist (Camejo, 2011; Burkholder, 2009).

4.6 Molekulargenetische Regulation

4.6.1 Das zentrale Virulenzgencluster

Um erfolgreich eine potentielle Wirtszelle zu invadieren, sich in ihr zu vermehren und sich von dort aus im Wirtsorganismus zu verbreiten, benötigt *L. monocytogenes* bestimmte Virulenzfaktoren, die in die unterschiedlichen Schritte des Infektionszyklus involviert sind. Sechs dieser Virulenzfaktoren, welche für Schlüsselschritte im Rahmen des intrazellulären Parasitismus von *L. monocytogenes* verantwortlich sind, werden in einem zentralen, 9,6-kb großen Virulenzgencluster zusammengefasst, welches vormals als *hly*- oder *PrfA*-abhängiges Virulenzgencluster bezeichnet wurde (Chakraborty, 2000; Kreft, 1999) und heute unter dem Namen LIPI-1 (*Listeria*-Pathogenitätsinsel-1) bekannt ist (Vázquez-Boland, 2001b; Chakraborty, 1992; Kreft, 2002). Das zentrale Virulenzgencluster besteht aus den Genen *hly*, dem *plcA-prfA*-Operon und dem 5,7kb großen Lecithinaseoperon, das die Gene *mpl*, *actA* und *plcB* sowie zwei offene Leseraster (*orf X* und *orf Z*) unbekannter Funktion enthält (Vázquez-Boland, 1992). LIPI-1 ist zwischen den beiden Genen *prs* und *ldh* lokalisiert (kodieren zum einen für eine Phosphoribosyl-Pyrophosphat-Synthetase und zum anderen für eine Laktatdehydrogenase). Das *hly*-Monocistron nimmt eine zentrale Position in diesem Cluster ein. Direkt unterhalb, in derselben Richtung wie *hly* gelegen, befindet sich das Lecithinase-Operon. Das *plcA-prfA*-Operon ist oberhalb von *hly* gelegen und wird in die entgegengesetzte Richtung transskribiert, entweder als bicistronische mRNA oder als monocistronische Transkripte (Freitag, 1993).

Das zentrale Virulenzgencluster findet sich sowohl in den pathogenen *Listeria*arten *L. monocytogenes* und *L. ivanovii* als auch in der apathogenen Art *L. seeligeri* (Vázquez-Boland, 2001b; Kreft, 1999; Kreft, 2002, Schmid, 2005). Die genetischen Strukturen von LIPI-1 bei *L. monocytogenes* und *L. ivanovii* sind identisch, jedoch gleichen sich die dazugehörigen DNA-Sequenzen nur zu 73-78%, was vor allem mit dem längeren *actA*-Gen bei *L. ivanovii* zu tun hat (Vázquez-Boland, 2001b; Kreft, 1999; Gouin, 1994). Bei *L. seeligeri* liegen die Gene von LIPI-1 in einer genetisch intakten Form vor, werden jedoch durch Insertionen zusätzlicher offener Leseraster (z.B. *orfE*) nicht korrekt exprimiert (Gouin, 1994; Chakraborty, 2000; Kreft, 1999; Vázquez-Boland, 2001b).

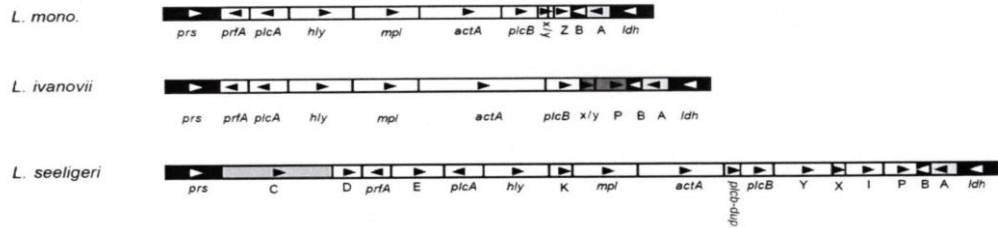


Abbildung 20: Vergleich der Pathogenitätsinseln LIPI-1 in den drei potentiell pathogenen Listerienspezies: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* und *L. seeligeri*. Weiße Boxen kennzeichnen PrfA-abhängig transkribierte Gene (Schmid, 2005).

Betrachtet man den Genus *Listeria* evolutionsgeschichtlich bezüglich der Aquirierung von Virulenzfaktoren, vor allem derer, die in LIPI-1 zusammengefasst sind, muss man davon ausgehen, dass ein Klon eines listerialen Vorläufers LIPI-1 evtl. durch Phagen assoziierte Transduktion (Chakraborty, 2000; Vázquez-Boland, 2001b) erworben hat und sich zwei, bezüglich der Lebensweise verschiedene Listerienspezies entwickelten, nämlich zum einen die saprophytische Spezies *L. grayi* und zum anderen die intrazellulär, parasitisch lebenden Spezies. Hierbei führte die Stabilisierung des Virulenzgenclusters innerhalb des Genoms sowie dessen Funktionsfähigkeit zur weiteren Aufspaltung der parasitären Lebensform. Es resultierten die pathogenen Arten *L. monocytogenes* und *L. ivanovii*, sowie die apathogenen Arten *L. innocua* und *L. welshimeri*, die LIPI-1 deletierten, und *L. seeligeri*, welche ein aufgrund verschiedener Insertionen nicht funktionsfähiges zentrales Virulenzgencluster besitzt (Vázquez-Boland, 2001a; Vázquez-Boland, 2001b).

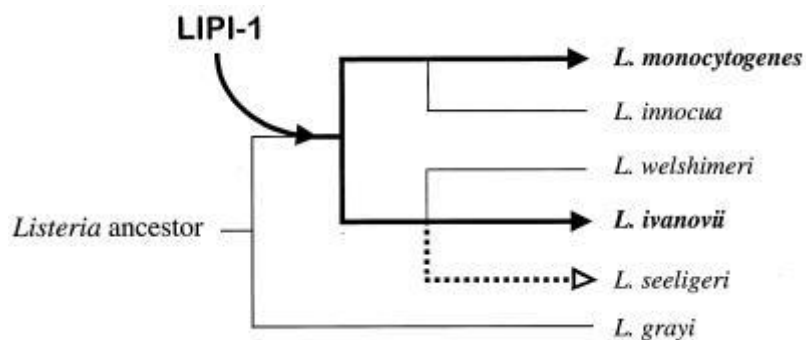


Abbildung 21: Evolution des zentralen Virulenzgenclusters (LIPI-1) im Genus *Listeria* (Vázquez-Boland, 1989).

Mittlerweile sind vier Virulenzgencluster bekannt. Neben LIPI-1, auch LIPI-2, LIPI-3 und LIPI-4.

LIPI-2:

LIPI-2 ist eine Genregion, die speziell bei *L. ivanovii* nachgewiesen wurde (Guillet, 2010). LIPI-2 kodiert für 11 Gene. Ein Gen kodiert für eine Sphingomyelinase, 10 weitere Gene für verschiedene Internaline (Dominguez-Bernal, 2006).

Eine neue Sublinie der Linie II von *L. monocytogenes* SL626/CC33 (Serovar 4h) zeigte eine Hypervirulenz. Die genaue Rolle des hier nachgewiesenen zusätzlichen LIPI-2 Genclusters in Bezug auf die beobachtete Hypervirulenz muss noch weiter beleuchtet werden (Yin, 2019).

LIPI-3:

LIPI-3 entspricht dem LLS-Operon (Lee, 2020). Das LLS-Operon selbst besteht aus acht Genen (llsAXGHBYDP) (Lee, 2020). IIsA kodiert für Listeriolysin selbst, IIsX für eine bisher unbekannt Funktion, IIsGH für einen ABC-Transporter mit einer ATP-bindenden Kassette sowie IIsBYD für die posttranslationale Modifikation von LLS und IIsP für eine LLS-assoziierte Metalloprotease (Lee, 2020). LIPI-3 findet sich v.a. in der evolutionären Linie I, speziell in den Sublinien SL1 (CC1), SL4 (CC4) und SL6 (CC6) (Disson, 2021).

LIPI-4:

LIPI-4 kodiert für Phosphotransferase-System (PTS), welches in der Sublinie SL4 (CC4) der Linie I nachgewiesen werden konnte. Diese ist speziell mit ZNS und Plazentainfektionen vergesellschaftet. Der genaue Pathomechanismus ist bisher noch unklar (Maury, 2016). Unklar ist auch die Rolle von LIPI-4 in avirulenten Stämmen von *L. innocua* und *L. monocytogenes* SL 87 (v.a. in Asien vorkommend) (Moura, 2019; Wang 2019).

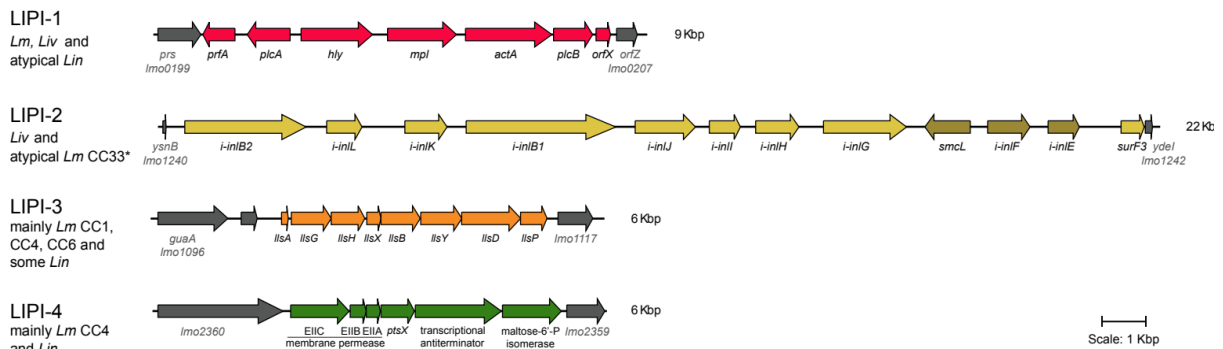


Abbildung 22: Genetische Organisation der Pathogenitätsinseln von Listerien. Flankierende Gene sind in grau dargestellt (Disson, 2021).

4.6.2 Internalin-Inseln

Internaline gehören einer so genannten Multigenfamilie an und sind nur bei der Gattung *Listeria* zu finden, hier bei den Spezies *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* und bei *L. innocua* und *L. welshimeri* (Bierne, 2007). Mit Ausnahme der *inlC*- und *inlF*-Gene von *L. monocytogenes* finden sich die Internalingene in Genclustern, wobei alle Gene in derselben Richtung orientiert liegen. Hierbei ist das größte bekannte Internalingencluster, entsprechend einer Internalin-Insel, das so genannte LIPI- 2, welches ausschließlich bei *L. ivanovii* zu finden ist. Allen *inl*-Genen gemeinsam sind ähnliche DNA-Sequenzen, welche für sehr homologe Proteine kodieren. Charakteristisch für diese Proteine ist eine Region mit leucinreichen Repeats (leucine rich repeats, LRR). Diese repetitiven DNA-Sequenzen stellen eine Quelle für Rekombinationen dar und lassen somit den Schluss zu, dass die Fülle der *inl*-Gene ein Produkt aus intra- und intergenetischen Neuarrangements ist (Vázquez-Boland, 2001a; Marino 2000).

Evolutionsgeschichtlich betrachtet wurden die verschiedenen *inl*-Gene nicht nur vertikal übermittelt, sondern auch horizontal innerhalb des Genus *Listeria*, vermutlich bewerkstelligt durch Phagen (Vázquez-Boland, 2001a).

Diese LRR-Motive spielen eine wichtige Rolle für eine Vielzahl von Protein-Protein-Wechselwirkungen (Marino, 2000). Hierbei konnte für die großen Internaline *InlA* und *InlB* von *L. monocytogenes* eine direkte Beteiligung der LRR-Domäne bei der Invasion einer geeigneten Wirtszelle gezeigt werden, sowie ein im Zusammenhang mit der LRR-Domäne resultierender Wirtszelltropismus festgestellt werden (Lecuit, 1997; Lecuit, 1999).

Bei *L. monocytogenes* kodieren alle Gene bis auf das Gen *inlC* für große Oberflächen-assoziierte Internaline. Bisher wurden die Internaline InIA, B, C2, D, E, F, G, H und P (Raffelsbauer, 1998, Dramsi, 1997; Faralla, 2018) in den verschiedenen Stämmen von *L. monocytogenes* gefunden, wobei nur InIC zu den so genannten kleinen Internalinen gezählt wird. InII und InIJ zählen zu den so genannten großen Internalinen, wobei InIJ einer neuen Unterklasse der Internaline, bezüglich einer anderen Konsensussequenz für dessen LRR, zugeordnet werden muss (Sabet, 2005).

Typisch für die großen Internaline, mit Ausnahme von Internalin B, ist ein am C-Terminus gelegenes LPXTG-Motiv, welches vom Enzym Sortase katalysiert eine kovalente Verankerung des Internalins mit der bakteriellen Zellwand erzeugt (Cossart, 2005; Dramsi, 1993; Gaillard, 1991). Bei InIB liegt am C-Terminus ein GW-Modul, welches eine nicht-kovalente Verbindung des Proteins an Lipoteichonsäuren der Zellwand bewerkstelligt. Das kleine Internalin InIC weist keine Domäne für die Zellwandverankerung auf und wird in die extrazelluläre Matrix sekretiert.

Die ersten bekannten Internaline waren InIA und InIB, welche von einem Operon, das außerhalb des zentralen Virulenzgenclusters liegt, kodiert werden. Ihre Transkription erfolgt zum einen als monocistronische *inlA*-mRNA oder als bicistronische *inlA-inlB*-mRNA über mehrere Promotoren, die nur zum Teil PrfA-abhängig sind (Dramsi, 1993, Lingnau, 1995; Sheehan, 1995).

Der Stressfaktor SigmaB wirkt bei der Regulation der *inlA*-Transkription mit, da *inlA* zum Teil über SigB-abhängige Promotoren zur Expression gelangt. So spielt SigB eine Rolle bei der frühen gastrointestinalen Infektionsphase bei *L. monocytogenes*, im Rahmen der systemischen Infektion wird der alternative Sigmafaktor B nicht benötigt (Garner, 2006).

Das kleine, sekretierte InIC wird zum einen von einem PrfA-abhängigen als auch zum anderen von einem PrfA-unabhängigen Promotor als monocistronische mRNA transkribiert (Luo, 2004).

InIA und InIB gelten als Haupteffektoren für die Aufnahme in nicht-professionell-phagozytierende Wirtszellen. Die Funktion der anderen Internaline ist nicht klar belegt, wahrscheinlich wirken sie bei der InIA/InIB-gesteuerten Invasion einer Wirtszelle unterstützend mit (Bergmann, 2002; Domann, 1997; Dramsi, 1997; Raffelsbauer, 1998).

4.6.3 PrfA - der zentrale Regulator der Virulenzgene von *Listeria monocytogenes*

4.6.3.1 Der positive Regulationsfaktor A

Um eine effektive Antwort auf sich verändernde Umweltbedingungen zu erzielen ist eine koordinierte und differenzierte Regulation der Virulenzgene von *L. monocytogenes* notwendig. Als zentrales Steuerungselement bei *L. monocytogenes* gilt der positive Regulationsfaktor A (PrfA) und spielt dabei bei der Pathogenese eine entscheidende Rolle (Gray, 2006). Neben PrfA als zentraler Regulationsfaktor der Virulenzgene von *L. monocytogenes* wurde VirR als weiterer Regulationsfaktor entdeckt, scheint aber eine weit weniger bedeutende Rolle zu spielen (Kreft, 2001, Mandin, 2005).

PrfA kontrolliert ca. 10-15 Protein kodierende Gene (Gaballa, 2019). Neben den Genen des zentralen Virulenzgenclusters LIPI-1 (*prfA*, *plcA*, *hly*, *mpl*, *actA* und *plcB*) gehören noch weitere listerielle Virulenzgene dazu (Chakraborty, 1992; Vázquez-Boland, 2001a). Hierzu zählen *inIA* und *inIB*, wobei bei diesen beiden Internalinen die Regulation nur partiell PrfA-abhängig ist (Dramsi, 1993; Kreft, 1999; Lingnau, 1995), sowie *inIC*, *uhpT* und *bsh*. Für das *bsh*-Gen, welches für eine Gallensalzhydrolase kodiert, konnte eine PrfA-Bindungsstelle noch nicht sicher verifiziert werden (Scotti, 2007).

Andere wohl weniger essentielle Virulenzgene wie *inIG*, *inIH* und *inIE* werden PrfA unabhängig transkribiert (Raffelsbauer, 1998).

Neben dieser positiven Regulation von PrfA, kontrolliert PrfA auch in negativer Art und Weise, so z.B. bei *clpC*, einem stress-response-Mediator-Gen als auch bei den Motilitäts-assoziierten Genen *motA* und *flaA*. Dies lässt auf eine mehr global regulatorische Funktion von PrfA bei *L. monocytogenes* schließen (Ripio, 1997a; Ripio, 1998; Michel, 1998).

PrfA reguliert seine eigene Expression positiv, wird aber auch durch eine negative autoregulatorische Rückkopplungsschleife über einen unbekanntenen Mechanismus kontrolliert (Gaballa, 2019).

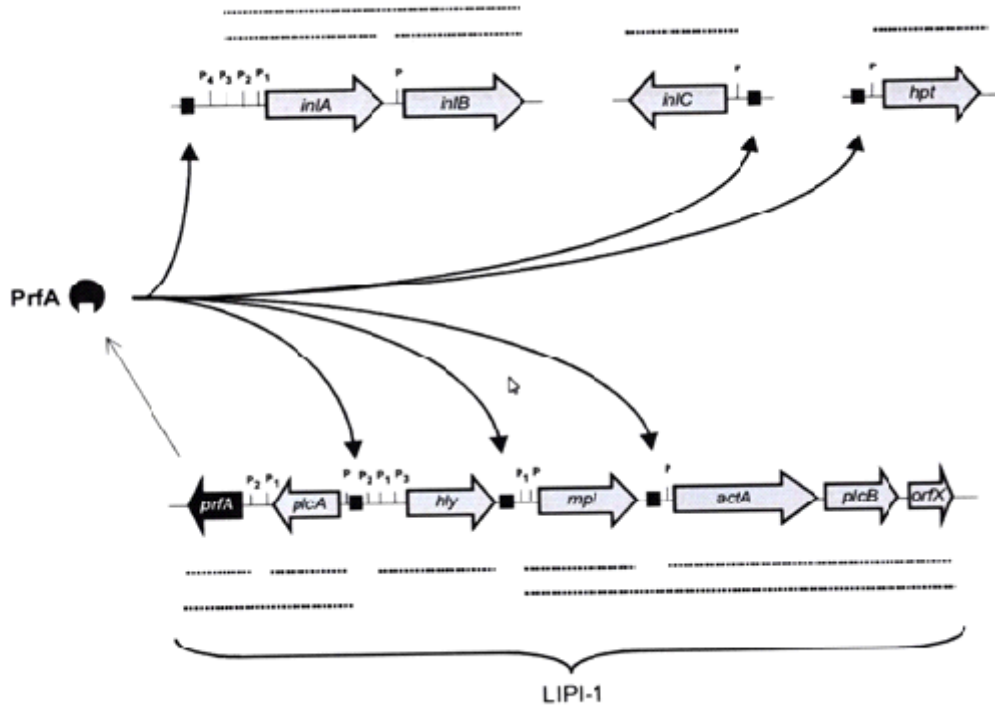


Abbildung 23: Transkriptionelle Organisation der PrfA abhängigen Virulenzgene in *L. monocytogenes*. Die dicken Pfeile stellen die Virulenzgene dar. Über den jeweiligen Genen sind die zugehörigen Transkripte als dünne Striche gezeigt; ■ beschreibt die transkriptionelle Induktion durch PrfA und P alle bekannten Promotoren (Scotti, 2007).

4.6.3.2 PrfA- ein Mitglied der Crp/Fnr-Familie

Sowohl in Funktion als auch in Struktur zeigt PrfA große Ähnlichkeit mit Transkriptions-Regulatoren der Crp/Fnr-Familie (Lampidis, 1994; Korner, 2003; Hansen, 2020). Namensgeber dieser Proteinfamilie sind zum einen das cAMP-Rezeptor-Protein von *E. coli* (Crp), sowie zum anderen die Fumarat-Nitrat-Reduktase (Fnr). Crp ist der zentrale Regulator der Katabolitrepression und fungiert als cAMP-Rezeptor (Kolb, 1993), während Fnr für eine optimale Anpassung an anaerobe Umweltbedingungen zuständig ist (Spiro, 1990).

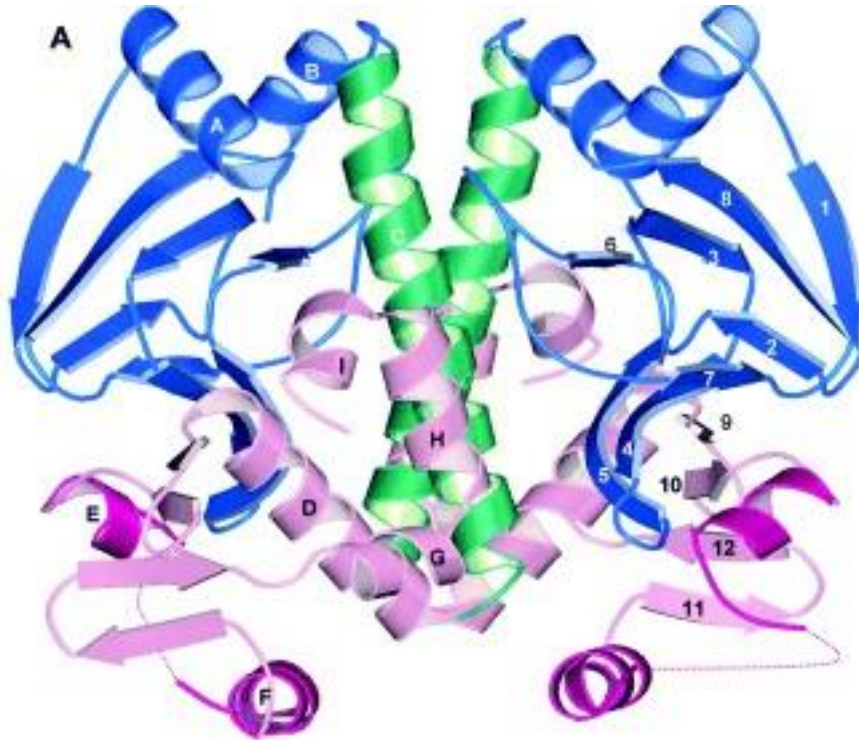


Abbildung 24: Struktur des wildtypischen PrfA Dimers (PDB-ID: 2BEO). Die N-terminale Domäne ist blau, Dimerisierungshelices grün, C-terminale Domäne rosa gefärbt. Das C-terminale HTH-Motiv ist violett gefärbt (Eiting, 2005).

4.6.3.3 Molekulare Struktur von PrfA

PrfA ist ein 27kDa schweres DNA-Bindeprotein (Gaballa, 2019), welches aus 237 Aminosäuren besteht. In der C-terminalen Domäne befindet sich ein so genanntes HTH-Motiv (helix-turn-helix motif), wie bei dem Transkriptionsregulator Crp (Lampidis, 1994). Dieses HTH-Motiv ist für die Bindung des Homodimers PrfA an bestimmte palindromisch angeordnete DNA-Zielsequenzen verantwortlich. Diese Palindrome werden als PrfA-Boxen bezeichnet (Sheehan, 1996). Die PrfA-Box ist 14bp lang und besitzt eine typische Konsensussequenz:

TTAACA NN TGTTAA (N entspricht normalerweise A oder T), welche sich an Position -41,5 befindet und sich mit der -35-Region überschneidet. Für die PrfA-Bindung an diese Zielsequenz sind keine zusätzlichen Faktoren nötig (Dickneite, 1998).

Im N-terminalen Bereich besitzt PrfA, wie Crp, β -Faltblattstrukturen mit Glycinresten. Im Unterschied zu Crp existiert in diesem Bereich jedoch keine Bindungsstelle für cAMP (Kolb, 1993). cAMP als intrazellulärer Messenger wird in Gram-positiven Bakterien nicht gefunden, so dass cAMP bei *L. monocytogenes* keine PrfA assoziierte

transkriptionale Aktivierung auslöst (Vega, 1998). Es konnte jedoch eine tunnelähnliche Struktur bei PrfA, welche der cAMP-Bindungsregion bei Crp gleicht, gefunden werden, so dass davon auszugehen ist, dass ein kleiner, bisher noch unbekannter Cofaktor, der für die PrfA-Regulation nötig ist, existiert (Scotti, 2007).

Im Vergleich zu Crp besitzt PrfA in der C-terminalen Domäne eine 25 AS lange sogenannte Leucin-Zipper-Region. Mutationen in diesem Bereich führen zur Inaktivierung des Proteins. Die Leucin-Zipper-Region ist normalerweise für Protein-Protein-Interaktionen verantwortlich und könnte der Dimerisierung von PrfA dienen (Herler, 2001). Als weiterer Unterschied besitzt PrfA ein zusätzliches HTH-Motiv im N-terminalen Bereich, wobei dessen genaue Funktion nicht bekannt ist. Mutationen im Bereich dieser beiden im Vergleich zu Crp unterschiedlichen Domänen führen dazu, dass PrfA nicht mehr in der Lage ist an die Ziel-DNA zu binden.

Zwei weitere wichtige Crp-Domänen finden sich bei PrfA, nämlich zum einen die sogenannte D-Region, eine α -Helix, die für die allosterische Konformationsänderung des Proteins zuständig ist, zum anderen die Aktivierungsregion 1 (AR-1), welche für die RNA-Polymerase-Interaktion nötig ist (Vázquez-Boland, 2001a).

Trotz der funktionellen und strukturellen Ähnlichkeiten weisen Crp und PrfA im Aminosäuresequenzvergleich nur 20% Übereinstimmung auf (Lampidis, 1994), im Vergleich der DNA-Sequenz zeigt sich eine zu 35% gleiche Basenfolge (Kreft, 2001).

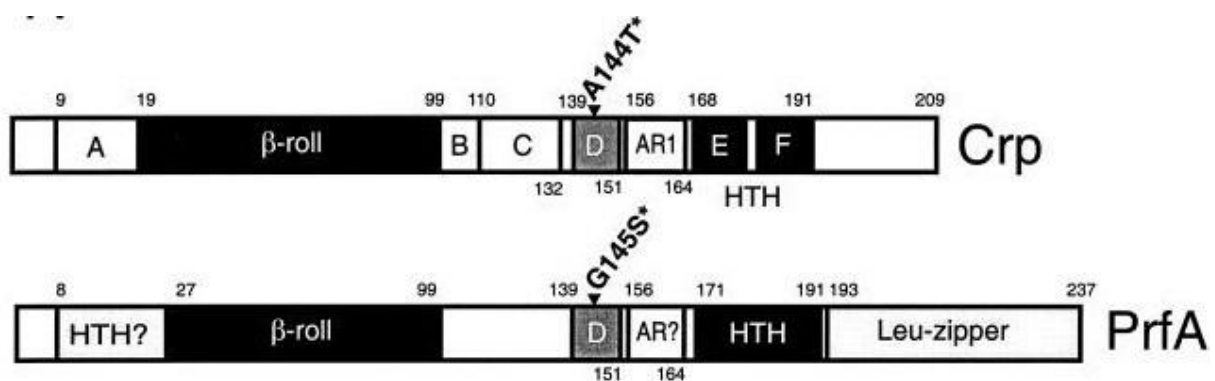


Abbildung 25: Schematischer Vergleich von Crp aus *E. coli* und PrfA aus *L. monocytogenes*. Die Zahlen geben die Aminosäure an, mit der eine Domäne beginnt und endet. HTH: Helix-Turn-Helix Motiv; A-D: α -Helices; β -roll: beta-Faltblattstrukturen; AR: Aktivierungsregion in Crp; AR?: Bereich in PrfA mit Homologie zur AR in Crp; Leu-zipper: Leucinzipper. Die Gly-Ser-Basensubstitution in PrfA bzw. Ala-Thr-Substitution in Crp, die zu einem konstitutiv aktiven PrfA bzw. Crp führen sind ebenfalls aufgeführt (Vázquez-Boland, 2001a).

4.6.3.4 PrfA-abhängige Promotoren

Alle PrfA-abhängigen Promotoren besitzen eine palindromische Sequenz aus 14bp, welche bei Position -41,5 liegt und sich mit der -35-Region überlappt. Eine PrfA-abhängige Aktivierung der Virulenzgene erfordert die Bindung von PrfA mittels seines HTH-Motivs an die PrfA-Box (Sheehan, 1996; Freitag, 1993). Mittels in-vitro Transkriptionsstudien konnten weitere wichtige Merkmale eines PrfA-Promotors festgelegt werden. Hierbei scheint der Abstand der PrfA-Box zur -10-Box eine entscheidende Rolle zu spielen. Im Idealfall beträgt der Abstand 22bp, und trägt wesentlich zur Funktionalität des Promotors bei (Luo, 2004; Luo, 2005). Des Weiteren spielt die Übereinstimmung der DNA-Sequenz des Promotors mit der palindromischen Konsensussequenz eine wichtige Rolle. Die PrfA-Promotoren von *hly* und *plcA* stimmen perfekt mit der Konsensussequenz überein, wohingegen die PrfA-Boxen der anderen Virulenzgene bis zu drei Basenaustausche zeigen (Kreft 2001).

Gen	PrfA-Box	Basenaustausche	Spacer	-10-Box
<i>prfA</i>	a TAACA AT TGTT gt	3	21 bp	TATTTT
<i>plcA</i>	TTAACA AA TGTTAA	0	22 bp	TAAGAT
<i>hly</i>	TTAACA TT TGTTAA	0	23 bp	TAGAAT
<i>mpl</i>	TTAACA AA TG T AA	1	22 bp	TATAAT
<i>actA</i>	TTAACA AA TGTT ag	1	21 bp	GATAAT
<i>plcB</i>	-		-	-
<i>inlA</i>	a TAACA TA ag TTAA	2	22 bp	TATTAT
<i>inlC</i>	TTAAC g CT TGTTAA	1	22 bp	TAACAT
<i>uhpT</i>	a TAACA AG TGTTAA	1	23 bp	TATATT
<i>bsh</i>	TTAA aa AT T t TTAA	2	30 bp	TATGAG

Tabelle 3: Promotorregion PrfA-regulierter Virulenzgene in *L. monocytogenes*. Abweichungen von der Konsensussequenz der PrfA-Box sind mit kleinen Buchstaben fett dargestellt (Kreft, 2001).

4.6.3.5 Regulationsmechanismen von PrfA selbst

Die Regulation des PrfA-Proteins und damit auch die Regulation der PrfA-abhängigen Transkription werden hauptsächlich über drei Elemente gesteuert:

1. über die Konzentration an PrfA
2. über die Aktivität von PrfA
3. über die Bindungsaffinität von PrfA

4.6.3.5.1 Konzentration von PrfA

Die Expression des prfA-Gens steht unter der Kontrolle von drei Promotoren:

P1: Hierbei handelt es sich um einen SigA-abhängigen Promotor, welcher in der intergenischen Region zwischen plcA und prfA lokalisiert ist. P1 fungiert als Thermosensor durch Bildung einer inhibitorischen Sekundärstruktur am 5`-Ende der mRNA, welche die Ribosomenbindungsstelle maskiert und erst bei Temperaturen über 30°C schmilzt, so dass eine Translation möglich wird (Johansson, 2002; Mauder, 2006). P1 besitzt keine PrfA-Box. Die Transkription erfolgt monocistronisch.

P2: Dies ist ein sowohl durch SigA als auch durch den alternativen Stressfaktor SigB kontrollierter Promotor, der downstream von P1 in der intergenischen Region von plcA und prfA lokalisiert ist. Die -35-Region von P2 beinhaltet eine degenerierte PrfA-Box mit drei Basenaustausche, so dass davon auszugehen ist, dass diese degenerierte Box in der negativen Autoregulation des prfA-Gens involviert ist. Auch hier handelt es sich wie bei P1 um eine monocistronische Transkription (Freitag, 1993; Greene, 2003; Rauch, 2005).

P3: Dieser Promotor entspricht dem plcA-Promotor, welcher unmittelbar vor dem plcA-Gen lokalisiert ist. Dieser Promotor initiiert die Trankription von prfA in eine bicistronische plcA-prfA-mRNA. Dieser Promotor ist selbst PrfA kontrolliert und somit Teil der positiven Autoregulation der prfA-Transkription (Mauder, 2006).

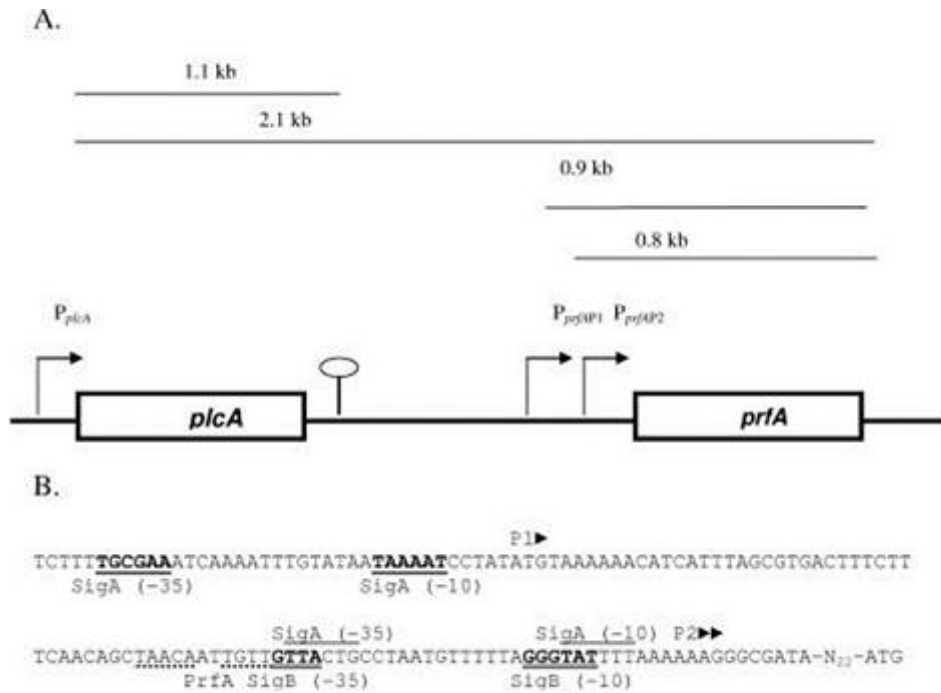


Abbildung 26: Promotorregionen von PrfA

A: Die schmalen Linien sollen mögliche mRNA Transkripte darstellen, die dicke Linie repräsentiert die DNA-Sequenz, die codierenden Genregionen sind als Boxen dargestellt.

B: prfA-Genregion mit den drei Promotoren
(Gray, 2006)

P1 und weitestgehend auch P2 erzeugen ein basales Level an prfA-Transkripten, so dass sichergestellt ist, dass eine Minimalmenge an PrfA-Protein im bakteriellen Cytosol vorhanden ist (Scotti, 2007). Bei niedrigen Temperaturen (20°C) wird aufgrund der Thermoregulierung kein PrfA gebildet, so dass eine unnötige Expression von Virulenzgenen verhindert wird (Leimeister-Wächter, 1992; Renzoni, 1997). Bei Temperaturen über 30°C wird aber eine geringe Menge an PrfA gebildet, die ausreicht um an die PrfA-Boxen zu binden, die der Konsensussequenz gleichen. Dies führt zur Transkription des hly- und plcA-Gens. Hierbei werden die Virulenzfaktoren Hämolyisin (respektive Listeriolysin LLO) und Phospholipase C (PlcA) gebildet. Da die Transkription von plcA ein bicistronisches Transkript von plcA-prfA-mRNA erzeugt und somit auch PrfA gebildet wird, kommt es über die positive Autoregulationsschleife von PrfA zur weiteren Aktivierung von prfA (Chakraborty, 1992; Mengaud, 1991a; Vega, 1998). Erst durch höhere PrfA-Konzentrationen wird die Transkription der Virulenz-

gene veranlasst, die für die Zell-zu-Zell-Ausbreitung benötigt sind (Freitag, 1993; Freitag, 1994).

Diese positive Autoregulationsschleife scheint den kritischen Schritt im Rahmen der PrfA-abhängigen Expression von Virulenzfaktoren darzustellen. Nur hierdurch werden ausreichend hohe Mengen an PrfA produziert, damit letztlich eine Infektion durch *L. monocytogenes* erfolgreich ist. Eine Insertion innerhalb des *plcA-prfA*-Promotors erzeugt einen komplett avirulenten PrfA⁻ Phänotyp, obwohl die monocistronischen Transkription durch P1 und P2 nicht betroffen ist (Mengaud, 1991a; Camilli, 1993).

4.6.3.5.2 Aktivität von PrfA

Die Aktivität von PrfA wird den gegebenen Umweltbedingungen angepasst. Man geht heutzutage davon aus, dass per allosterischer Kontrolle der DNA-Bindungsaktivität durch Interaktion mit einem Cofaktor die Aktivität von PrfA reguliert wird (Vega, 1998; Vega, 2004). Es konnte gezeigt werden, dass wirtseigenes, aber auch bakterielles Glutathion für die Aktivierung von PrfA benötigt wird und somit als essentieller virulenter Cofaktor fungiert (Reniere, 2015). Es existieren zwei Grundbausteine für die Modellvorstellung der Aktivitätskontrolle von PrfA. Zum einen ist davon auszugehen, da PrfA in zwei Funktionszuständen vorliegen kann, nämlich in einer aktiven und in einer inaktiven Form. Durch Bindung des o.g. Cofaktors der ein niedriges Molekulargewicht besitzt, erfolgt ein Zustandswechsel (Tran, 2022). Dieser Cofaktor scheint Umweltsignale zu übermitteln und auf diese Weise die PrfA-Transkriptionsmaschinerie zu beeinflussen (Vega, 2004).

Zum anderen liegt eine Minimalmenge an PrfA ständig im bakteriellen Cytosol vor. Liegen für *L. monocytogenes* nun geeignete Umweltbedingungen vor (z.B. Temperatur von 37°C) so steigt die intrazelluläre Konzentration des Cofaktors an. Das PrfA-Protein wird nun in seinen aktiven Zustand versetzt und bindet nun mit erhöhter Affinität an die PrfA-Boxen von PrfA regulierten Promotoren. Über die positiv regulierte Autoregulationsschleife, generiert durch das PrfA-abhängige bicistronische *plcA-prfA*-Transkript, kommt es zur weiteren Transkription der PrfA-abhängigen Virulenzgene. PrfA bleibt in seiner aktiven Konformation, so lange der Cofaktor im Cytoplasma vorliegt. Sinkt dessen Konzentration aufgrund von fehlenden Umweltreizen wechselt PrfA in seinen inaktiven Zustand (Ripio, 1997a; Vega, 1998).

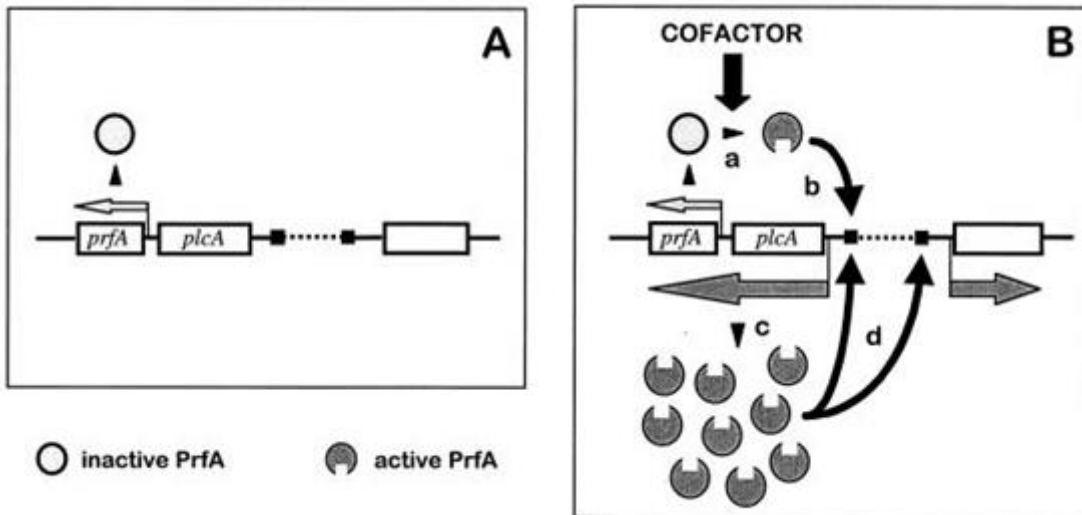


Abbildung 27: Modell der PrfA-Aktivität

A: Ruhendes PrfA-System

B: Aktiviertes PrfA-System: a: Wechsel vom inaktiven in aktiven Zustand durch Bindung des Cofaktors; b: PrfA bindet an abhängige PrfA-Boxen (schwarze Quadrate); c: Synthese von mehr PrfA über *plcA*-*prfA*-Promotor; d: verstärkte Transkription der Virulenzgene (dunkelgraue Pfeile) durch positive Autoregulation (Vázquez-Boland, 2001a).

4.6.3.5.3 Bindungsaffinität von PrfA

Die Promotorarchitektur und somit die Bindungsaffinität von PrfA stellt neben der Konzentrations- und Aktivitätskontrolle die dritte Säule der Regulationsmechanismen von PrfA dar. Promotoren, die der Konsensussequenz der PrfA-Box perfekt gleichen, wie dies der Fall bei den Promotoren von *hly* und *plcA* ist, werden weit effizienter durch PrfA aktiviert als dies der Fall bei Promotoren mit Basenaustauschen ist. Für deren Aktivierung werden aufgrund einer geringeren PrfA-Affinität höhere Mengen an PrfA benötigt und rufen daher eine weniger lineare Antwort hervor (Sheehan, 1995; Sheehan, 1996; Vega, 2004; Ripio, 1997a).

4.6.3.6 Einfluss von Umweltfaktoren auf PrfA-Aktivität

Verschiedene Umweltfaktoren und -reize beeinflussen die *prfA*-Transkription und somit die Expression von den PrfA-abhängigen Virulenzgenen.

Bei Temperaturen unter 30°C werden nur monocistronische *prfA*-Transkripte gebildet ohne eine Translation derselben zu induzieren. Kommt es zu einem Temperaturshift auf 37°C (z.B. Wechsel von saprophytischer Lebensweise in die parasitäre) resultiert dies in einem Anstieg des bicistronischen *plcA-prfA*-Transkript und konsekutiv zu einer Virulenzgenexpression (Chakraborty, 1992; Johansson, 2002; Renzoni, 1997).

Als Marker der PrfA-Aktivität gilt LLO. Eine Senkung des pH-Wertes auf 5 bis 6 führt zu einer Verringerung der LLO-Produktion (Datta, 1993). Dagegen bewirkt Eisenmangel, oxidativer Stress oder hohe Osmolarität genau das Gegenteil, woraus ein Anstieg der LLO-Produktion bzw. gesteigerte Virulenzgenexpression resultiert (Kreft, 2001; Myers, 1993; Sokolovic, 1989; Sokolovic, 1990; Böckmann, 1996).

4.6.4 Der allgemeine, alternative Stressfaktor Sigma σ B

Neben dem positiven Regulationsfaktor A (PrfA) scheint der Stressfaktor σ B eine wichtige Rolle für die Infektion und das Überleben von *Listeria monocytogenes* zu spielen (Gaballa, 2019). σ B ist für die Transkription von Genen verantwortlich, die für das Überleben in der Umwelt, d.h. außerhalb des Wirtscytosols, notwendig sind. Hierbei zeigt sich ein Überschneiden und Austausch in der Regulation zwischen σ B und PrfA. Dieses ausgeklügelte Zusammenspiel sorgt dafür, dass bestimmte Gene, die für die Virulenz zuständig sind, verstärkt exprimiert werden, wenn L.m. sich im Wirtscytoplasma befindet. Außerhalb des Wirts werden Gene aktiviert, die für die optimale Anpassung an bestimmte Umweltbedingungen notwendig sind (Chaturongakul, 2008). Die Überschneidung von σ B und PrfA erfolgt nicht nur durch direkte Regulierung, sondern auch durch vielfältige transkriptionelle und posttranskriptionelle Regulierungsebenen, die räumlich und zeitlich variieren (Begley, 2015).

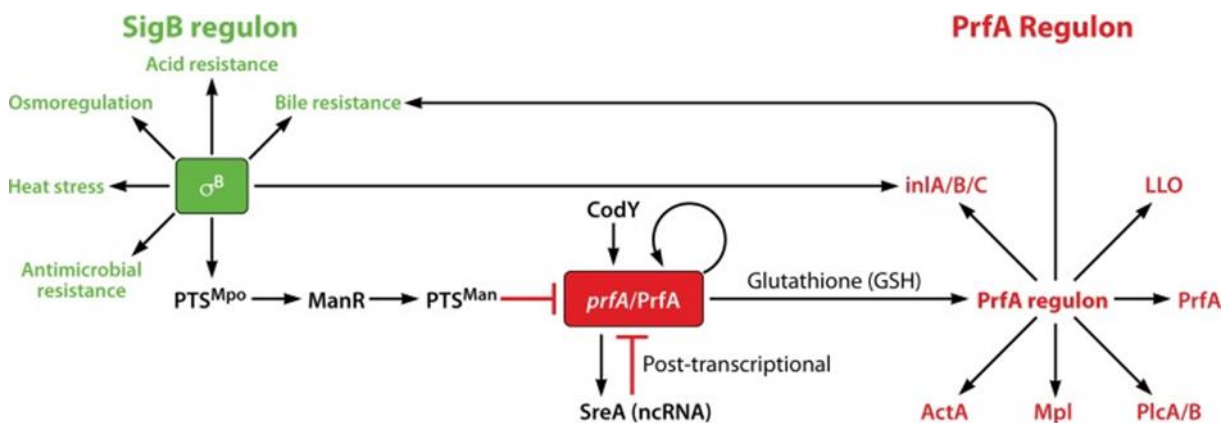


Abbildung 28: Überschneidungen zwischen den von den σ B- und PrfA kontrollierten Regelkreisen. Obwohl σ B und PrfA einige Gene koregulieren, moduliert σ B die PrfA-Aktivität durch direkte transkriptionelle Aktivierung vom prfA P2-Promotor und durch indirekte posttranskriptionelle Repression unter bestimmten Umweltbedingungen, z.B. wenn Glukose durch das PTSMAN-System in die Zelle übertragen wird. Die prfA-Expression wird durch einen autoregulatorischen Mechanismus und durch den Sensor CodY aktiviert; die prfA-Translation wird durch die nichtcodierende RNA SreA unterdrückt (Gaballa, 2019).

4.7 Epidemiologie

4.7.1 Allgemeines

Listeria monocytogenes wurde erstmals 1926 durch Murray et al. als ursächliches Pathogen einer Monocytose bei Hasen und Meerschweinchen beschrieben. Das durch *L. monocytogenes* hervorgerufene Krankheitsbild der Listeriose zeigt sich als wichtige Zoonose bei Säugetieren, vor allem bei Herdentieren wie Schafen und Kühen, und tritt oft als so genannte "circling disease", einer Form der Meningoencephalitis mit ständigen Kreisbewegungen oder durch spontane Aborte in Erscheinung (Posfay-Barbe, 2004). Der Erreger konnte bei einer Vielzahl domestizierter Tiere nachgewiesen werden, wie z.B. bei Schweinen, Rindern, Schafen oder verschiedenem Geflügel. Als Primärwirt galt das Tier und sporadisch auftretende menschliche Infektionen wie Konjunktivitis bei Geflügelzüchtern oder Hautläsionen bei Veterinären oder Bauern wurde dem Kontakt mit Tieren zugeschrieben (Schuchat, 1991).

Bis 1949 schenkte man dem Erreger als ernsthaftem humanen Pathogen wenig Beachtung. Dies änderte sich als eine Neugeborenenepidemie in Halle ausbrach und bei 85 Neugeborenen bzw. Totgeburten das bis dato unbekannte Krankheitsbild der Granulomatosis infantiseptica mit Nachweis von *L. monocytogenes* beobachtet wurde. In den nächsten Jahren und Jahrzehnten wurde vor allem durch Seeliger et al. große Forschungs- und Aufklärungsarbeit geleistet, den man als Pionier der Listerienforschung bezeichnen kann (Hof, 2003a).



Abbildung 29: Totgeburt eines Kindes mit einer generalisierten *L. monocytogenes* Infektion, früher bekannt als Granulomatosis infantiseptica (Vasquez-Boland, 2001a)

Trotz des Auftretens sporadischer Erkrankungsfälle beim Menschen dauerte es bis in die frühen 1980er Jahre bis *L. monocytogenes* als Nahrungsmittel-assoziiertes, humaner Krankheitserreger Beachtung fand (Swaminathan, 2007). Die menschliche Listerioseerkrankung tritt als lebensbedrohliches Krankheitsbild vor allem bei immunsupprimierten Personen, Schwangeren, Neugeborenen und älteren Menschen auf. Klinisch kann sich die Listeriose über eine anfängliche grippeähnliche Erkrankung bis hin zur so genannten invasiven Listeriose mit Meningitis, Meningoenzephalitis, Sepsis oder auch Aborten, Frühgeburten, Totgeburten und schweren neonatalen Infektionen manifestieren (Swaminathan, 2007; Lecuit, 2007). Die Listeriose kann sich auch als selbstlimitierende Gastroenteritis bei gesunden Erwachsenen zeigen (Drevets, 2008).

Hauptübertragungsweg ist die Aufnahme von kontaminierten Nahrungsmitteln. Hier ist zu erwähnen, dass v.a. ready-to-eat-Produkte aufgrund der möglichen Biofilm-Bildung von *L. monocytogenes*, als Infektionsquellen zu erwähnen sind (Wilking, 2021) daneben ist bei den Schwangerschafts-assoziierten Fällen bzw. perinatalen Fällen eine transplazentare Übertragung auf den Fetus bzw. die Infektion des Neugeborenen über einen infizierten Geburtskanal oder eine so genannte Cross-Infektion auf Neugeborenenstationen zu nennen (Swaminathan, 2007). Ca. 5% der gesunden Erwachsenen scheiden *L. monocytogenes* im Stuhl aus, trotzdem gibt es keinen Fallbericht, der eine direkte Infektion von Mensch zu Mensch erwähnt (Posfay-Barbe, 2004).

Der erste Beweis, dass die menschliche Listerioseerkrankung durch kontaminierte Nahrungsmittel übertragen wird, erfolgte 1981. In diesem Jahr kam es in Nova Scotia, Kanada, zu einem Ausbruch der invasiven Listerioseerkrankung in 41 Fällen, davon sieben bei Erwachsenen und 34 perinatale Fälle. Die Schwangerschafts-assoziierten Fälle endeten in fünf Fehlgeburten und vier Totgeburten, wobei die case-fatality-Rate der lebendgeborenen Neugeborenen bei 27% lag. Als ursächliche Quelle konnte der Verzehr von kontaminierten Krautsalat ausgemacht werden. Bei der Kultivierung der Krautköpfe wurde zum Düngen Kot von mit *L. monocytogenes* infizierten Schafen benutzt. Nach Lagerung über die Wintersaison wurde das Produkt verarbeitet und geriet so in die Nahrungsmittelregale. Beim Verarbeitungsprozess konnte keine andere Kontaminationsquelle festgestellt werden. Zugrunde liegender Serotyp war Serovar 4b (Schlech, 1983).

Der größte Listeriose-Ausbruch Nordamerikas war im Jahr 1985. Während einer acht Monate andauernden Periode erkrankten 142 Personen, davon waren 93 Personen schwanger. Von den restlichen 49 Personen lag bei 48 Patienten mindestens ein prädisponierender Faktor vor. Die case-fatality Rate lag zwischen 32 und 37%. Als kontaminiertes Lebensmittel konnte ein mexikanischer Weichkäse ausgemacht werden. Ursächlich waren eine inadäquate Pasteurisierung und das Mischen von pasteurisierter mit nicht-pasteurisierter Milch. Auch hier war der verursachende Serotyp das Serovar 4b (Linnan, 1988).

In Frankreich kam es 1992 zu einem großen Listeriose-Ausbruch. Insgesamt erkrankten 279 Personen, darunter waren 92 Schwangere (33%). 39% der Erkrankten hatten keine prädisponierenden Risiken. Als Kontaminationsquelle konnte Schweinezunge in Aspik identifiziert werden (Jean, 1991).

2002 erfolgte die größte Fleischrückrufaktion der USA. 15 Millionen Kilo mit *L. monocytogenes* kontaminiertem Truthahnfleisch wurde aus dem Handel gezogen, nachdem insgesamt 54 Patienten in neun Bundesstaaten an einer Listerioseinfektion erkrankten (Gottlieb, 2006).

Seit den frühen 1980er Jahren zählt die menschliche Listeriose zu den durch Lebensmittel übertragenen Krankheiten (Hof, 2007). In den USA ist die Listeriose die dritthäufigste, Nahrungsmittel-assoziierte Infektionskrankheit mit tödlichem Ausgang und macht hier 19% aus (Scallan, 2011). Die Tatsache, dass die Erkrankung Nahrungsmittel assoziiert ist und die Kenntnis über die häufig zugrunde liegenden Risikofaktoren für die Entwicklung einer invasiven Listeriose, führten durch Auswertung epidemischer und sporadischer Krankheitsausbrüche in den letzten 25 Jahren zu einem besseren Verständnis der Erkrankung. Die Listeriose hat eine relativ lange Inkubationszeit, welche zwischen 10 und 70 Tagen liegt (Goulet, 1996). Die durchschnittliche, weltweite Inzidenz für eine invasive Listeriose in der Normalbevölkerung liegt bei 0,1-1,1 Fälle/100.000 Einwohnern. Personen, die einer Risikogruppe angehören, haben eine weit höhere Inzidenz. Zu diesen Personen zählen Individuen einer höheren Altersgruppe (>60 Jahre), Schwangere, Neugeborene (<1Monat), Patienten mit immunsuppressiven Zuständen (z.B. Malignompatienten, Transplantierte, Patienten mit Autoimmunerkrankungen oder auch Patienten unter Kortikoidtherapie), HIV bzw. AIDS-Patienten, Patienten unter Einnahme von Antazida und Patienten mit zugrunde liegenden Grunderkrankungen, wie Diabetes mellitus, Lebererkrankungen oder Nierenerkrankungen. Bei Schwangeren liegt die Inzidenz 12-20fach höher (My-

lonakis, 2002). Bis zu zwei Monate nach Listerieninfektion in der Schwangerschaft, welche meist unbemerkt verläuft, kann diese noch zu Fehl- und Totgeburten führen (Wilking, 2021). Bei HIV-Patienten liegt ein bis zu 500fach erhöhtes Risiko vor, eine invasive Listerioseinfektion zu entwickeln (Jurado, 1993; Lecuit, 2007).

L. monocytogenes kommt ubiquitär in der Umwelt vor und toleriert auch extreme Lebensbedingungen. Auch in Nahrungsmitteln können Listerien oft nachgewiesen werden. Schätzungen ergaben, dass ca. 15-70% der Hotdogs in den USA mit *L. monocytogenes* kontaminiert sind (McLauchlin, 1992). Zu den Lebensmitteln, die eine hohe Kontaminationsrate aufweisen, zählen bestimmte Wurstsorten, wie z.B. Salami, rohes Fleisch vor allem Truthahn- und Hühnerfleisch, Rohmilchprodukte, Salat, Pilze, bestimmte Weichkäsesorten, wie z.B. Camembert, Brie oder Roquefort (vor allem die Rinde), Frischkäseprodukte wie Ricotta und Feta oder Meeresfrüchte und Fisch, wie z.B. Muscheln und Lachs (Hof, 2003a). Außerdem weisen alle gekochten Speisen, die im Kühlschrank aufbewahrt und nicht mehr ausreichend erhitzt werden, oder bereits länger geöffnete Lebensmittel eine höhere Kontaminationswahrscheinlichkeit mit *L. monocytogenes* auf. Zu den *L. monocytogenes* freien Lebensmitteln zählen alle ausreichend erhitzten Speisen, pasteurisierte Milch, industriell hergestellter Joghurt, Hartkäse, Schokolade, Marmelade, Kekse, rohe Karotten, Äpfel oder Tomaten (Hof, 2003a). Die Infektionsdosis, welche für die Entwicklung einer Nahrungsmittelbedingten Listeriose nötig wäre, ist unbekannt. Angenommen wird eine mittlere Inokulationsdosis von 10^4 - 10^6 Bakterien/Gramm Produkt, wobei bei immunsupprimierten Personen oder Antazidaeeinnahme vermutlich geringere Inokulationsdosen ausreichen (Schlech, 1997; Posfay-Barbe, 2004). Trotz der Tatsache, dass eine Ingestion von durch *L. monocytogenes* kontaminierten Lebensmitteln relativ wahrscheinlich ist, ist die Inzidenz eine schwere Listerioseinfektion zu entwickeln relativ gering und die Erkrankung bleibt eine seltene menschliche Infektionskrankheit.

4.7.2 Die Epidemiologie der Listeriose in Deutschland

Seit 2001 ist die Listeriose nach dem Infektionsschutzgesetz eine meldepflichtige Erkrankung (Hof, 2007; IfSG 2000). Alle Fälle in denen *L. monocytogenes* aus eigentlich sterilen Flüssigkeiten oder Geweben, wie Blut, Liquor oder Fruchtwasser kultiviert werden kann (Wilking, 2021), müssen den lokalen Gesundheitsämtern gemeldet werden. Die Diagnose wird in den zuständigen Laboren verifiziert und letztlich an die

staatliche Gesundheitsbehörde und das Robert-Koch-Institut (RKI) gemeldet. Hier werden Labordaten, klinische Symptome und das Outcome der Patienten gespeichert. Bis 2001 mussten nur kongenitale Listerioseinfektionen gemeldet werden (Koch, 2006).

Zwischen 2001-2009 wurden insgesamt 3092 Listeriosefälle gemeldet (RKI, 2010). Dies entspricht einer durchschnittlichen jährlichen Inzidenz von 0,4 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner (RKI, 2010). Davon entfielen 235 Fälle auf Neugeborene (8%) und 183 Fälle bei Schwangeren (6%) (RKI, 2010). 1.332 Listeriose-Fälle (50 % aller nicht schwangerschaftsassozierten Listeriosen) entfielen auf Personen ≥ 70 Jahre (durchschnittliche jährliche Inzidenz von 1,3 Erkr. pro 100.000 Einw. ≥ 70 Jahre). Seit 2001 hat die jährliche Inzidenz v. a. bei Personen ≥ 70 Jahre zugenommen (RKI, 2010). In der Altersgruppe 20-39 Jahre entfielen 80% der Listeriosefälle auf Frauen, meistens assoziiert mit einer Schwangerschaft (RKI, 2010). Ansonsten betrifft die Erkrankung mehrheitlich Männer: *57 % der Neugeborenen, 62 % der 40- bis 69-Jährigen und 58 % der Personen ≥ 70 Jahre* (RKI, 2010). *Die Listeriose-Inzidenz ist bei den Männern ≥ 70 Jahre mehr als doppelt so hoch wie bei den Frauen der gleichen Altersgruppe* (RKI, 2010).

Bis zum Jahr 2010 gab es in Deutschland vier größere Listerioseausbrüche (RKI, 2010):

- 1966 in Halle mit 279 Schwangeren wobei hier ein gemeinsam verursachendes Lebensmittel nicht gefunden werden konnte (Ortel, 1968)
- 2006/2007 gab es einen *Listeriose-Ausbruch im Zusammenhang mit dem Verzehr eines Sauermilchkäses aus pasteurisierter Milch* mit 189 erkrankten Patienten (Koch, 2010; RKI, 2006)
- 2006/2007 wurden insgesamt 16 Fälle in Baden-Württemberg registriert, die auf den Konsum von bereits geschnittener Lyoner-Wurst zurückzuführen waren. Darunter waren vier Personen als Patienten im gleichen Kinikum (Winter, 2009; RKI, 2010)
- 2009/2010 wurden insgesamt 8 Patienten in Deutschland (ein weiterer Patient in Tschechien und 25 Patienten in Österreich) registriert, wobei als gemeinsam verursachendes Lebensmittel ein Harzer Käse identifiziert werden konnte (Fretz, 2010; RKI, 2010(8))

Der Gipfel der Inzidenz lag hier in den Jahren 2005/2006 v.a. bei den nicht Schwangerschafts- assoziierten Erkrankungsfällen. Hierbei betraf die Listeriose in mehr als

der Hälfte über 70jährige (RKI, 2010). Hiervon lag bei über Hälfte der Patienten eine prädisponierende Grunderkrankung wie Tumor oder Diabetes mellitus vor (RKI, 2010).

In den Jahren 2010-2019 wurden insgesamt 5576 Listeriosefälle in Deutschland registriert, wobei 91% nicht Schwangerschaftsassoziert waren (Wilking, 2021). Unter den 486 Schwangerschafts-assoziierten Fällen entfielen 241 auf schwangere Frauen und 245 auf Neugeborene (Wilking, 2021). Die durchschnittliche Inzidenz in dieser Zeit lag bei 0,69/100.000 Einwohner (Wilking, 2021). 40% der Patienten war weiblich und 76% aller Patienten war ≥ 65 Jahre (Wilking, 2021). Die case-fatality Rate unter den Schwangerschafts-assoziierten Listeriosefällen lag bei 19% (Wilking, 2021).

In Deutschland kam es 2018/2019 zum größten Listerioseausbruch der letzten 25 Jahre in Europa. Ursächlich hierfür war der Verzehr von Blutwurst (Halbedel, 2020). Insgesamt wurden 112 Patienten mit Listeriose erfasst (Halbedel, 2020). Der sogenannte Epsilon1a -Ausbruch wurde durch das Serovar IVb mit dem Stamm ST6 verursacht (Halbedel, 2020).

Die ursächliche Aufklärung dieses Listeriosausbruchs ist das Ergebnis einer effizienten Zusammenarbeit zwischen den Behörden für öffentliche Gesundheit und Lebensmittelsicherheit in Deutschland. Die Implementierung eines effizienten und umfassenden Meldesystems mit systematischer Patientenbefragung anhand strukturierter Fragebögen um mögliche Hypothesen für mögliche Ursprungsquellen aufstellen zu können, genauso wie die Nutzung des Whole Genome Sequencing (WGS) um Subtypisierungen und Cluster eines Ausbruchsgeschehens aufzudecken, trugen und tragen zur erfolgreichen Ausbruchsauflklärung bei (Halbedel, 2020).

In den USA existieren bereits seit 1993 strenge Auflagen und Kontrollen in der Nahrungsmittel-verarbeitenden Industrie, was zu einem deutlichen Inzidenzrückgang führte (Tappero, 1995). Durch eine so genannte „zero“-Toleranz bei Fertigprodukten kam es zu einem Rückgang der invasiven Listeriosefälle von 24% und bei den Schwangerschafts-assoziierten Fällen von 37% seit 1996 in den USA (Voetsch, 2007). Die CDC (Centers for Disease Control and Prevention) etablierte PulseNet, ein Netzwerk der öffentlichen Gesundheitsbehörden und der Lebensmittellaboratorien. Unter Nutzung der Pulsfeldgelelektrophorese können Nahrungsmittelpathogene schnell identifiziert und typisiert werden und Krankheitsmuster, die eine mögliche gemeinsame Infektionsquelle besitzen, aufgedeckt werden. Dies stellt also ein effektives System für die Aufdeckung von Listerioseausbrüchen dar (Swaminathan, 2001).

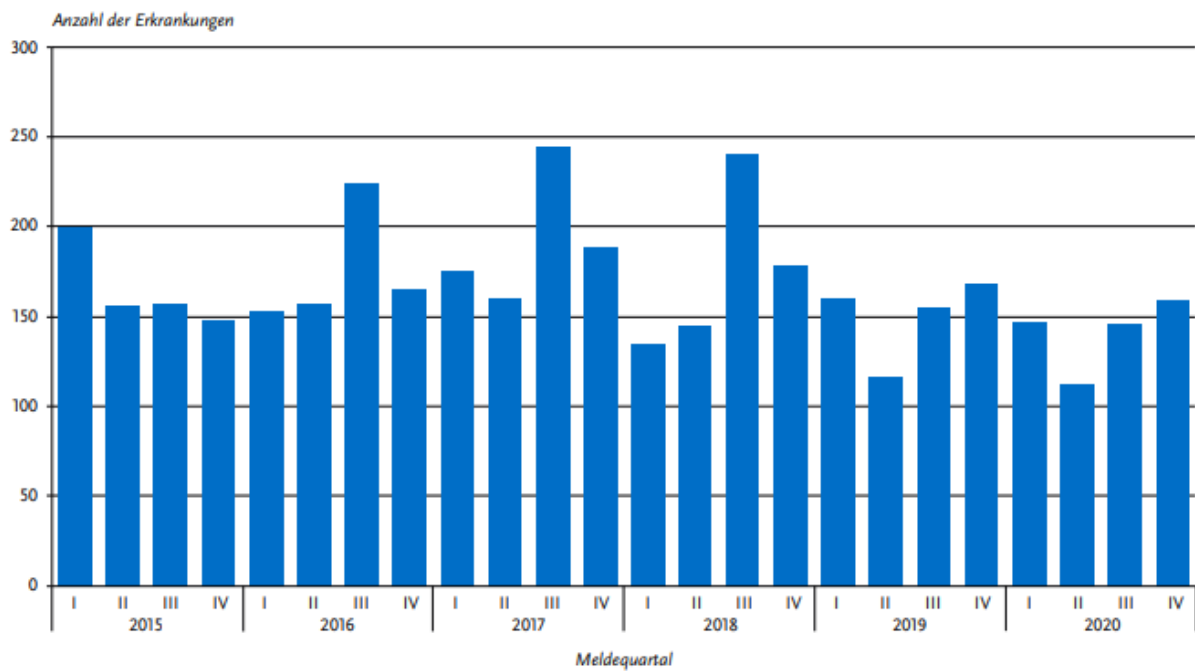


Abbildung 30: Übermittelte Listeriosen nach Meldequartal 2015-2020

(Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2020 Datenstand: 1. März 2021).

4.8 Pathogenese

L. monocytogenes ist ein ubiquitär in der Umwelt vorkommendes Bakterium und seit Anfang der 1980er Jahre als wichtiges Nahrungsmittel-assoziiertes Pathogen bekannt (Painter, 2007). Bis auf die vertikale Transmission von der Mutter auf den Fetus und seltene Fälle einer Cross-Kontamination auf Neugeborenenstationen (Farber, 1991b) konnte eine Übertragung des Erregers von Mensch zu Mensch bisher nicht beobachtet werden. Der Hauptinfektionsweg erfolgt durch Aufnahme kontaminierter Lebensmittel. Die zur Auslösung einer Infektion nötige Inokulationsdosis ist unbekannt. Man geht von Ingestionsdosen zwischen 10^4 - 10^6 /Gramm Produkt (Posfay-Barbe, 2004; Miller, 1967; Schlech, 1997) bis zu 10^9 /Gramm Produkt (Farber, 1991a) aus. Vermutlich liegen die Inokulationsdosen von Risikopatienten und Patienten unter Antazida-, Protonenpumpeninhibitoren- und H₂-Blocker-Einnahme oder Patienten nach Ulcus-Chirurgie (Ho, 1986; Schlech, 1993; Schuchat, 1992) niedriger. Bei gesunden Individuen führt die Infektion innerhalb von ca. 20h zu einer febrilen, selbstlimitierenden Gastroenteritis (Dalton, 1997). Bei Personen mit prädisponierenden Risikofaktoren zeigt sich ein ernsthaftes Krankheitsbild, welches als invasive Listeriose bezeichnet wird. Zu dem Personenkreis mit erhöhtem Risiko zählen Schwangere, Neugeborene, ältere Menschen (>60 Jahre), immunsupprimierte Personen bzw. Menschen mit einer eingeschränkten zellvermittelten Immunität (vor allem Individuen mit hämatologischen Malignomen, Organ-transplantierte Personen, Patienten unter Kortikoideinnahme, HIV-Infizierte bzw. AIDS-Patienten), Patienten mit chronischen Lebererkrankungen (vor allem Zirrhose- oder Alkohol-bedingt), mit Nierenerkrankungen, mit Diabetes mellitus oder mit Kollagenosen (z.B. Lupus) (Farber, 1991a; McLauchlin, 1990; Rocourt, 1996; Schuchat, 1991, Charlier, 2017).

Klinisch manifestiert sich die invasive Listeriose am häufigsten als ZNS-Infektion mit Meningitis, Meningoencephalitis oder Hirnabszessen, als Bakteriämie und als schwere neonatale Infektion (Lorber, 2007). Die Inkubationszeit für dieses Krankheitsbild liegt im Mittel bei 30 Tagen, wobei verschiedene Fallberichte eine Inkubationszeit zwischen 11 und 70 Tagen angeben (Lorber, 2007; Linnan, 1988; Riedo, 1994).

Gesunde Individuen überstehen die Listerieninfektion ohne größere Probleme oder Defizite, Patienten mit bestehenden Risiken oder Grunderkrankungen weisen eine Mortalitätsrate von 30-40% auf (Skogberg, 1992; Vazquez-Boland, 2001a) und zeigen häufig bleibende, ernsthafte, vor allem neurologische Residualläsionen. Diese

Beobachtung konnte in der MONALISA Kohortenstudie bestätigt werden (Charlier, 2017). Nur 33% der Patienten mit Neurolisteriose haben diese ohne bleibende Residuen überlebt. 44% der Patienten haben bleibende neurologische Defizite (Charlier, 2017).

Die Ingestion von *L. monocytogenes* ist ein im Allgemeinen häufig vorkommendes Ereignis, das mit dem ubiquitären Vorkommen des Bakteriums in der Umwelt wie auch mit der hohen Kontaminationsfrequenz von rohen und industriell verarbeiteten Lebensmitteln zu tun hat. (Vazquez-Boland, 2001a, Lecuit 2020). Nach oraler Aufnahme muss das Bakterium zunächst die widrigen Bedingungen in Mundhöhle und Magen überstehen. Im Intestinum angelangt, werden die Bakterien per aktiver Endozytose der apikalen Epithelzellen der Darmmukosa aufgenommen und überwinden somit die Mukosabarriere. Dies wird durch die Interaktion des bakteriellen Virulenzfaktors Internalin A mit dem Wirtsliganden E-Cadherin bewerkstelligt und der intrazelluläre Lebenszyklus der Listerien kann beginnen (Lorber, 2007; Farber 1991a; Cossart, 2004). *L. monocytogenes* kann also die eigene Phagozytose in primär nicht-professionell phagozytierenden Zellen induzieren. Mäuse-E-Cadherin unterscheidet sich in einer einzigen Aminosäure vom menschlichen Liganden; dadurch ist eine effiziente Invasion über InIA-E-Cadherin nicht gegeben, so dass eine effektive orale Infektion und Invasion der intestinalen Mukosa bei der Maus nicht beobachtet werden kann. Allerdings ist eine Besiedelung der Peyer'schen Plaque zu finden, so dass *L. monocytogenes* vermutlich auch die M-Zellen als Eintrittspforte benutzt (Jensen, 1998; Marco, 1997). Die intestinale Invasion geht ohne Bildung makroskopisch oder histologisch sichtbarer Läsionen von statten. Dies lässt vermuten, dass für die weitere Ausbreitung des Organismus im Wirt eine ausgedehnte bakterielle Multiplikation in der Darmmukosa nicht nötig ist (Marco, 1992). Eine Replikation konnte jedoch in den Peyer'schen Plaques nachgewiesen werden und führte hier zur Bildung einer granulomatösen Entzündungsreaktion im Rahmen derer auch ortsständige Makrophagen und dendritische Zellen involviert werden (Pron, 2001). Um das klinische Bild einer febrilen Gastroenteritis auszulösen, müssen sowohl in Tiermodellen mit Meerschweinchen, die ein dem humanen E-Cadherin vergleichbaren InIA-Liganden aufweisen, als auch in menschlichen Caco-2-Zelllinien sehr hohe Ingestionsdosen (geschätzt ca. $2,9 \times 10^{11}$, entsprechend Beobachtungen eines Listerioseausbruchs nach Verzehr von kontaminierter Schokoladenmilch) aufgenommen werden (Dalton, 1997). *L. monocytogenes* kann eine Infektion ohne weitere Promotororganismen

hervorrufen, interkurierende gastrointestinale Infekte könnten jedoch die Invasion von *L. monocytogenes* fördern (Schwartz, 1989). Über den Lymph- bzw. Blutweg gelangen die Listerien in die mesenterialen Lymphknoten, sowie in Leber und Milz. Die Kolonisation dieser Organsysteme geschieht innerhalb weniger Minuten. Diese schnelle Organbesiedelung steht im Gegensatz zur relativ langen Inkubationszeit bei Ausbildung einer invasiven Listerieninfektion. Vermutlich folgt der primären Invasion der Wirtsgewebe eine stille, subklinische Phase, wobei die zugrunde liegenden Ereignisse und Mechanismen weitgehend unbekannt sind. 90% der Bakterienlast akkumuliert in der Leber und wird durch ortsständige Makrophagen, den so genannten Kupfferzellen, bereits innerhalb der ersten 6h nach Inokulation vernichtet (Vazquez-Boland, 2001a). Die überlebenden Bakterien invadieren als Hauptwirtszellen die Hepatozyten und entziehen sich somit dem weiteren Abbau durch Makrophagen und anderer Immunzellen. Die Ausbreitung im Leberparenchym erfolgt durch Zell-zu-Zell-Ausbreitung, über Kupfferzellen oder direkte Invasion. Im Mausmodell zeigte sich innerhalb weniger Tage ein zunehmendes Wachstum der intrazellulären Bakterien (Vazquez-Boland, 2001a). Am Anfang der Infektionsphase in der Leber werden Neutrophile, durch Ausschüttung bestimmter Chemokine der Hepatozyten, zu den Infektionsfoci gelockt und bilden kleine Mikroabszesse (Rogers, 1996; Rogers, 1993). Nach zwei bis vier Tagen werden die Neutrophilen durch Monozyten und Lymphozyten zur weiteren Infektabwehr abgelöst, was zur Bildung charakteristischer Granulome führt (Heymer, 1988). Diese Granulombildung soll die weitere Dissemination der Bakterien möglichst verhindern. Durch weitere Aktivierung der angeborenen und erworbenen Immunabwehr, kann bei immunkompetenten Individuen *L. monocytogenes* aus dem Organismus eliminiert werden. Dies stellt den vermutlich häufigsten Verlauf der Infektion dar, betrachtet man sich die Allgegenwärtigkeit des Pathogens und die relativ seltene Erkrankung (Vazquez-Boland, 2001a; Portnoy, 1992a).

Kann die Infektion nicht durch eine adäquate Immunantwort des Wirts kontrolliert werden, kann es zur unbeschränkten Proliferation von *L. monocytogenes* im Leberparenchym kommen und von hier ausgehend zur weiteren Freisetzung der Bakterien in die Zirkulation. *L. monocytogenes* ist als Multisystem-Pathogen in der Lage über den Weg der Septikämie verschiedenste Organsysteme zu besiedeln. Im Gegensatz zum Mausmodell zeigt sich bei der menschlichen Listeriose ein spezieller Organotropismus für den schwangeren Uterus und das ZNS als primäre Zielorgane (Vazquez-Boland, 2001a).

Maternale Listeriosen sind meist mit dem zweiten und dritten Trimester der Schwangerschaft assoziiert (Charlier, 2020). Bei Schwangeren zeigt sich vor allem im dritten Trimenon eine verminderte zellvermittelte Immunität, was ursächlich in der Verhinderung der Abstoßung des semiallogenen Transplantat Fetus begründet ist. Hierdurch erhöht sich aber die Empfänglichkeit Schwangerer für eine Listerieninfektion und eine Invasion von Trophoblastzellen durch *L. monocytogenes* wird möglich (Redline 1987; Redline, 1988; Lu, 1989). Die Infektion der Placenta führt zur Ausbildung von zahlreichen Mikroabszessen und einer fokal nekrotisierenden Villitis (Sarrut, 1967). Nach Überwinden der fetomaternalen Grenzfläche, was ebenfalls ein InIA-E-Cadherin vermittelter Vorgang ist (Lecuit, 2004), können die Bakterien in den fetalen Blutkreislauf gelangen und so zu schwerwiegenden neonatalen Infektionen, zur Frühgeburtlichkeit oder zu Totgeburten führen.

Neben dem plazentaren Tropismus von *L. monocytogenes* ist das ZNS ein weiterer Prädilektionsort der invasiven Listerieninfektion. Klinisch zeigt sich die listerielle ZNS-Infektion am häufigsten als Meningitis, des Weiteren als Meningoenzephalitis oder auch in Form von subkortikalen Abszessen (Lorber, 1997). Vermutlich existieren drei verschiedene Infektionswege, die eine Besiedelung des ZNS ermöglichen. Zum einen geht man davon aus, dass die Bluthirnschranke via infizierter Leukozyten passiert wird und zur Invasion des ZNS führt, des Weiteren kommt es zur direkten Invasion der Endothelzellen durch extrazellulär im Blut transportierte Bakterien und zum anderen vermutet man eine retrograde, also centripetale Migration von Bakterien ins Gehirn via Axone von Hirnnerven (Drevets, 2008; Drevets, 2004a).

Die systemische Infektion ist gekennzeichnet durch eine Vermehrung der Bakterien hauptsächlich in der Leber und der Milz, später auch im Knochenmark (deBruijn, 1998; Join-Lambert, 2005). Während der sekundären Bakteriämie, die als Dissemination der Bakterien zu werten ist, kommt es zur Infektion des ZNS (Berche, 1995; Join-Lambert, 2005). 90% der infizierten Phagozyten sind mononuklear und stammen vermutlich aus dem Knochenmark (Drevets, 2008; Drevets, 2004b; Drevets, 2004a; Join-Lambert, 2005). Die über die infizierten Monozyten im ZNS ankommenden Bakterien können via Zell-zu-Zellausbreitung Parenchymzellen, wie Endothelzellen und Neurone, invadieren oder über Mikroglia phagozytiert werden (Drevets, 2008; Drevets, 1995; Dramsi, 1998).

In in-vitro Versuchen konnte eine direkte Invasion von mikrovaskulären Endothelzellen des Gehirns über eine InIB-vermittelte Aufnahme von *L. monocytogenes* gezeigt

werden (Greiffenberg, 2000; Parida, 1998). InlB ist ebenfalls ein listeriales Oberflächenprotein der Internalinfamilie. *L. monocytogenes* kann sich lange Zeit innerhalb dieser mikrovaskulären Zellen replizieren ohne erkennbare Läsionen hervorzurufen, so dass schwer infizierte Foci entstehen von denen aus sich die Bakterien interzellulär ausbreiten (Greiffenberg, 1998). InlA scheint für die Überwindung der Blut-Hirnschranke keine Rolle zu spielen (Drevets, 2008).

L. monocytogenes besitzt die Fähigkeit parenchymale Gehirnzellen wie Astrozyten, Oligodendrozyten oder Mikroglia zu infizieren, was in in-vitro Versuchen gezeigt werden konnte. Hierbei scheinen Mikroglia, die am leichtesten zu invadierenden Zellen zu sein. Neurone hingegen erschweren Listerien die Infektion (Dramsı, 1998; Dons, 1999). Trotzdem konnte eine periphere neuronale Infektion des N. trigeminus durch *L. monocytogenes* bei Schafen und Ziegen nachgewiesen werden (Charlton, 1977). Otter und Blakemore injizierten *L. monocytogenes* in den N. ischiadicus bei Mäusen. Dies führte nach 7-12 Tagen zur Paralyse des Beins. Untersuchung des Rückenmarks dieser Tiere zeigte Läsionen mit Infektion von Axonen und Neutrophilen (Otter, 1989). So können Listerien über die periphere Infektion von axonalen Neuronen centripetal ins Gehirn migrieren (Drevets, 2008).

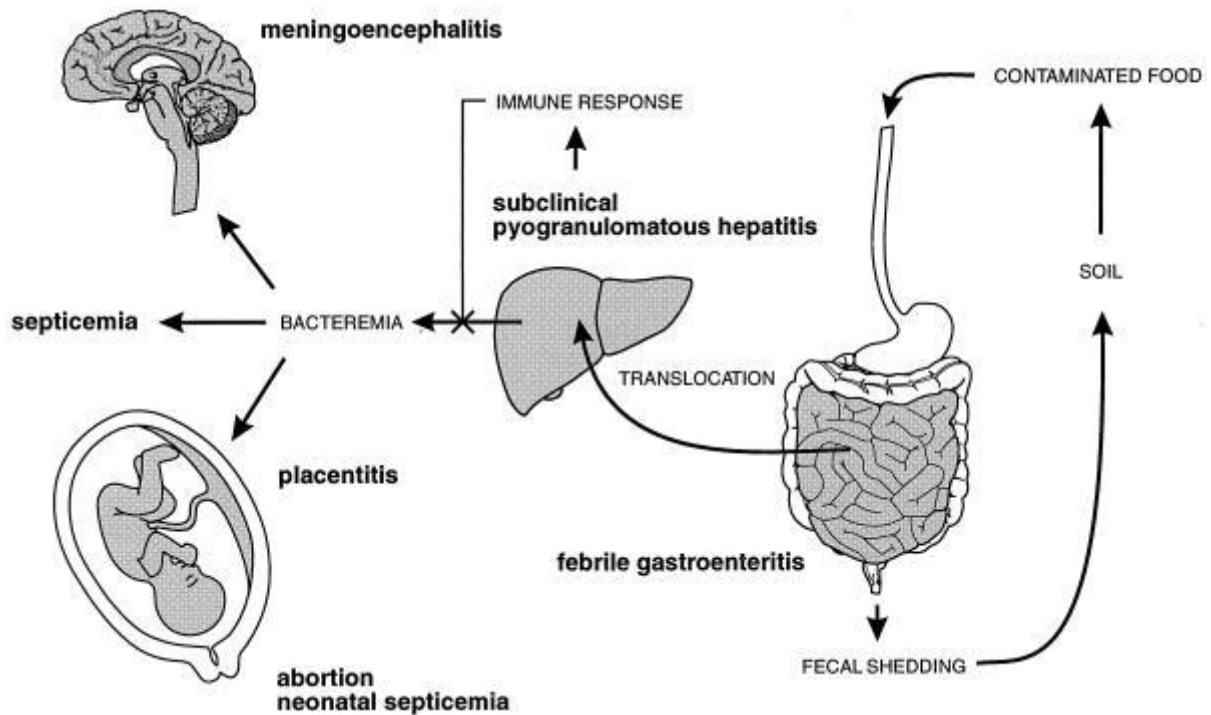


Abbildung 31: Schematische Darstellung der Pathophysiologie der Listerieninfektion. Über die fäkale Ausscheidung gelangt *L. monocytogenes* in den Boden. Über die kontaminierten Nahrungsmittel kommt es zur oralen Aufnahme der Listerien. Nach intestinaler Aufnahme kann es zum Bild der febrilen Gastroenteritis kommen oder zur Ausbildung einer invasiven Listerioseerkrankung mit Translokation der Bakterien zunächst vor allem in die Leber. Bei inadäquater Immunantwort kommt es zur Bakteriämie. Hieraus resultieren die drei häufigsten Krankheitsverläufe, nämlich Septikämie, Infektion des ZNS oder Infektion der Plazenta mit konsekutiver Infektion des Fetus (Vazquez-Boland, 2001a).

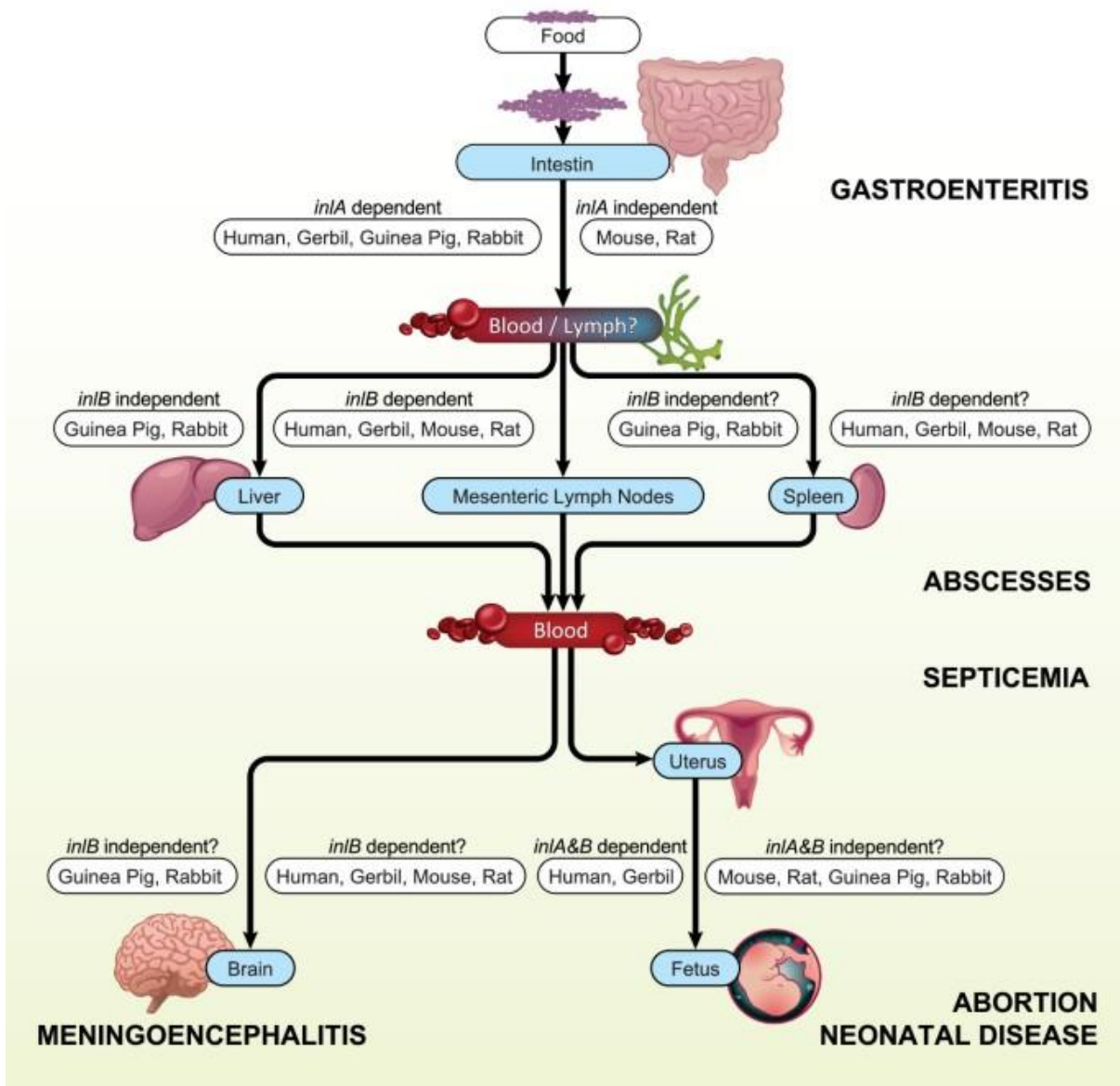


Abbildung 32: Pathophysiologie der *Listeria monocytogenes* Infektion (Hoelzer,2012).

4.9. Das Immunsystem und *Listeria monocytogenes*

4.9.1 Allgemeines

Die angeborene Immunantwort gegenüber *L. monocytogenes* stellt ein komplexes Netzwerk dar, in welchem Cytokine, bakterizide Effektormechanismen und verschiedene Zelltypen wie Neutrophile, Makrophagen und NK-Zellen involviert sind (Portnoy, 1992a; Unanue, 1997b).

Als Effektoren der erworbenen Immunität, welche bei einer *L. monocytogenes*-Infektion komplett zellvermittelt ist (Bakardjiev, 2004), sind vor allem cytotoxische CD8⁺-T-Zellen, als auch CD4⁺-T-Zellen zu nennen. Bei den CD4⁺-T-Zellen muss zwischen einer Th1 und einer Th2-Immunantwort unterschieden werden. Zur Clearance einer *L. monocytogenes*-Infektion ist eine Th1-T-Zell-vermittelte Immunantwort nötig (Pamer, 2004; Scholz, 2009). In der Schwangerschaft herrscht jedoch eine vor allem Th2-T-Zell-Immunantwort vor. Diese Wandlung von einer Th1-T-Zellantwort zu einer vorherrschenden Th2-T-Zellantwort ist wichtig, damit eine Abstoßung des Feten verhindert wird (LeMonnier, 2006; LeMonnier, 2007; Mor, 2017; Maudet, 2021). Somit scheint es nicht verwunderlich, dass auch eine hohe Zahl an Th2-Cytokinen, nämlich IL-10 und IL-4 in der Plazenta anzutreffen sind. Trotz der auf zellulärer Ebene vorherrschenden Th2-T-Zellantwort, sind vor allem die Th1-Cytokine dominierender Bestandteil des Botenstoffpools bei der plazentaren Immunantwort (Barber, 2005).

Die Th1-Antwort ist gekennzeichnet durch eine frühe IFN γ -Produktion, eine erhöhte Phagozytenaktivität, die Elimination des Antigens durch Makrophagen und durch Aktivierung von cytotoxischen T-Zellen (Zinkernagel, 1998). Zwischen Th1- und Th2-T-Zellen besteht eine reziproke Hemmung (Scholz, 2009).

Ein Großteil des heutigen Kenntnisstandes über die Mechanismen und Funktionen der angeborenen als auch der erworbenen Immunantwort konnten durch experimentelle *L. monocytogenes*-Infektionen am Mausmodell in den letzten Jahrzehnten gewonnen werden, beginnend mit den Versuchen von Mackaness (Mackaness, 1962) in den frühen 1960er Jahren.

Listeria monocytogenes ist ein häufig benutztes Bakterium um immunologische Prozesse bei Säugetieren zu beobachten und nachzuvollziehen, da es relativ einfach zu kultivieren ist. Des Weiteren stellt die Arbeit mit diesem Bakterium kein hohes

Sicherheitsrisiko dar und gewährleistet eine hohe Vorhersehbarkeit in Bezug auf die Infektion bei Labormäusen (Pamer, 2004).

Das Mausmodell hat eine hohe Attraktivität aufgrund der einfachen Reproduzierbarkeit der Ergebnisse als auch der großen Verfügbarkeit von Versuchstieren inklusive von so genannten Knock-out-Mäusen (Zenewicz, 2007).

Auch andere Versuchstiere, allen voran Meerschweinchen tragen und trugen zum besseren Verständnis der immunologischen Abläufe im Rahmen einer *L. monocytogenes*-Infektion bei, vor allem im Hinblick auf immunologische Prozesse im Rahmen einer Schwangerschaft (Bakardjiev, 2004). Meerschweinchen eignen sich v.a um die Abläufe der plazentaren Infektion durch *L. monocytogenes* zu verstehen, da diese Nagetiere ebenfalls einen hämochozialen Aufbau der Placenta aufweisen, ähnlich wie bei Menschen (Bakardjiev, 2006).

4.9.2 Angeborene Immunität

Die angeborene Immunantwort ist essentiell für eine frühe Kontrolle und Beherrschbarkeit einer Infektion durch *Listeria monocytogenes*. Hierbei spielen vor allem Makrophagen eine zentrale Rolle zum einen als Wirtszellen von als auch als Effektorzellen gegen *L. monocytogenes* (Guleria, 2000).

Da als eine Hauptzielzelle der listerialen Vermehrung Makrophagen gelten, also diejenigen Zellen die sich diesem Pathogen als erstes in den Weg stellen, sind primäre Infektionsorte makrophagenreiche Organe wie Leber und Milz (Mackler, 2003).

Neben den Makrophagen spielen auch Neutrophile eine wichtige Rolle bei der initialen Kontrolle der Listerieninfektion. Neben der sofortigen Abtötung der Bakterien schütten diese Zellen Chemokine wie CSF-1 und MCP-1 aus (Guleria, 2001), diese wiederum lösen eine Rekrutierung von weiteren Makrophagen an den Infektionsherd aus. So werden bis zu 95% der Erreger bereits durch die initialen Effektorzellen, Makrophagen und Neutrophile, eliminiert (Unanue, 1996; Unanue, 1997a).

Die aktivierten Makrophagen sezernieren IL-12 und IL-18. Diese Immunmediatoren bewirken eine INF γ - Ausschüttung von korrespondierenden Immunzellen. Hierbei wären zu nennen: NK-Zellen, Makrophagen, B-Zellen, dendritische Zellen, CD8+-T-Zellen als auch CD4+-T-Zellen mit Th1-Differenzierung. Auch andere Chemokine neben IL-12 und IL-18 wie IL-21, IL-23 oder IL-27 könnten eine Nebenrolle bei der IFN γ -Ausschüttung spielen (Berg, 2005).

Als wichtigste IFN γ -sezernierende Zellen in der Frühphase der *L. monocytogenes* – Infektion sind T-Zellen, insbesondere CD8 $^{+}$ -T-Zellen, zu nennen und nicht NK-Zellen wie bisher angenommen (Berg, 2005). Neben den NK-Zellen und den T-Zellen wurden erst kürzlich die so genannte NKDC-Zellen, Zellen welche als multifunktionale Zellen auftreten, ausgestattet mit den Attributen von NK-Zellen und dendritischen Zellen, als Immunzellen bei Mäusen beschrieben, welche große Mengen an IFN γ produzieren. Ein menschliches Korrelat zu den NKDC-Zellen konnte bisher noch nicht entdeckt werden, allerdings übernehmen menschliche NK-Zellen die Aufgabe einer up-Regulation dendritischer Zellen, sowie die Proliferationsstimulation von CD4 $^{+}$ - und CD8 $^{+}$ -T-Zellen. Die NKDC-Zellen scheinen am frühesten IFN γ auszuschütten, also noch vor NK-Zellen oder T-Zellen. NKDC-Zellen können klassische NK-Zielzellen lysieren, Ag aufnehmen und prozessieren als auch naive T-Zellen stimulieren (Plitas, 2007).

Die Rolle der uterinen NK-Zellen muss jedoch kritisch betrachtet werden, da auch IL-15 defiziente Mäuse, ein Cytokin welches für Wachstum und Maturation der NK-Zellen entscheidend ist, eine adäquate Immunantwort gegenüber *L. monocytogenes* aufbauen (Barber, 2003).

Die IFN γ -Sekretion spielt eine entscheidende Rolle sowohl bei der angeborenen als auch bei der erworbenen Immunantwort gegenüber intrazellulären Bakterien. Zum einen kommt es zur Steigerung der Th1-Immunantwort, zum anderen zur weiteren Makrophagenaktivierung, des Weiteren wird die Antigenpräsentation durch MHC I- und MHC II- Expression erhöht und eine Proliferation von Th2-Zellen gehemmt (Shtrichman, 2001; Berg, 2005).

IFN γ -defiziente Mäuse zeigen eine hohe Empfänglichkeit gegenüber einer *L. monocytogenes*-Primärinfektion. IFN γ spielt wohl eine untergeordnete Rolle bei der Reinfektion mit *L. monocytogenes* (Harty, 1995a; Zenewicz, 2007). Bei genetisch bedingten Rezeptordefekten als auch Autoantikörpern gegenüber IFN γ besteht ebenfalls eine erhöhte Empfänglichkeit gegenüber einer *L. monocytogenes*-Infektion (Plitas, 2007).

Ein weiteres Standbein der angeborenen Immunantwort scheint die TLR (toll-like-receptor) - Erkennung zu sein. Im Mausmodell konnten bisher elf verschiedene TLR's identifiziert werden. TLR's werden durch viele verschiedene Immunzellen exprimiert, darunter auch Makrophagen. Es existiert eine Vielzahl bakterieller und viraler Liganden für die verschiedenen TLR's. Die Erkennung eines Liganden über einen

TLR führt zur Aktivierung von Immunzellen und zur gesteigerten Ausschüttung verschiedener inflammatorischer Zytokine (Zenewicz, 2007).

Prototyp der TLR-Liganden sind Lipopolysaccharide, welche von *L. monocytogenes* jedoch nicht exprimiert werden. Dafür zeigen sich bei *L. monocytogenes* eine Vielzahl anderer TLR-Liganden, wie Peptidoglycan, Flagellin oder auch bakterielle DNA. Aufgrund der Vielzahl von TLR-Liganden spielt eine mangelnde bzw. fehlende Erkennung eines einzelnen Liganden keine wesentliche Rolle.

Die TLR-Erkennung führt zur Initiation einer Signalkaskade mit Transkriptionsaktivierung des Kernfaktors κB (NF- κB), was letztlich in einer weiteren Cytokinausschüttung und einer gesteigerten Antigenpräsentation resultiert. Wichtigster TLR bei der *L. monocytogenes*-Infektion ist der TLR2. TLR2-defiziente Makrophagen sekretieren signifikant weniger $\text{TNF}\alpha$, $\text{IFN}\gamma$ und IL-12. Bei TLR2-defizienten Mäusen konnte nur eine geringe Steigerung der bakteriellen Last im Vergleich zum Wildtyp beobachtet werden. Allerdings zeigen Mäuse, denen das Schlüssel-Adaptor-Molekül MyD88, welches für die Signalkaskade verschiedener TLR's wichtig ist, fehlt, eine deutlich erhöhte Empfänglichkeit bezüglich einer *L. monocytogenes*-Infektion (Seki, 2002; Edelson, 2002). Somit trägt die TLR-Erkennung bei der angeborenen Immunabwehr gegenüber dem Pathogen *L. monocytogenes* bei.

4.9.3 Erworbene Immunität

Die für *L. monocytogenes* spezifische erworbene Immunantwort folgt der angeborenen Immunantwort. Hierbei spielen vor allem dendritische Zellen als Bindeglied zwischen angeborener und erworbener Immunantwort eine wichtige Rolle. Dendritische Zellen (DC) induzieren die T-Zell-vermittelte Immunantwort. DC-defiziente Mäuse sind unfähig eine CD8+-T-Zell Antwort gegenüber einer Infektion zu generieren (Medzhitov, 2001).

Zur initialen Kontrolle einer *L. monocytogenes* Infektion ist die angeborene Immunantwort zwingend erforderlich, die letztendliche Säuberung des Organismus von diesem Bakterium bleibt jedoch der erworbenen T-Zell-Antwort vorbehalten.

Wichtigster Schritt ist zunächst das Erkennen einer Infektion durch das Immunsystem, wobei die spezifische erworbene Immunantwort durch die Antigenpräsentation via MHC I an CD8+-T-Zellen bzw. MHC II an CD4+-T-Zellen gewährleistet wird.

Die CD8+-cytotoxischen T-Zellen scheinen hierbei eine Hauptrolle zu spielen (Bakardjiev, 2004). Zum einen lysieren sie die infizierte Zielzelle durch Ausschüttung von Perforinen und Granzymen und zum anderen kommt es durch Sekretion von IFN γ zur weiteren Makrophagenaktivierung (Harty, 2002).

Die Wirkungsweise der CD4+-T-Zellen ist weniger gut verstanden. Man nimmt an, dass L.m. eine starke Th1-Antwort hervorruft und dass diese L. monocytogenes-spezifischen CD4+-T-Zellen ebenfalls durch IFN γ -Ausschüttung zur weiteren Makrophagenaktivierung beitragen.

Die Infektion mit L. monocytogenes führt zur Bildung von CD8+-Memory-Zellen. Bei erneuter L. monocytogenes Infektion kommt es zur schnellen Gedächtnis-T-Zell-Aktivierung an den Infektionsort, so dass durch Ausschüttung von IFN γ und durch direkte Toxizität durch Sekretion von Perforin die Infektion schnell kontrolliert und die Bakterien eliminiert werden können (Daugelat, 1994).

Bereits seit den 1960er Jahren durch die Versuche von Mackaness war klar, dass die humorale Immunantwort in der Bekämpfung der Listerioseinfektion keine große Rolle spielt.

Dieses alte Paradigma wurde durch Versuche von Edelson et al. (Edelson, 1999) in Frage gestellt, denn es konnte gezeigt werden, dass im Mausmodell ein monoklonaler Antikörper gegen Listeriolysin O (LLO), die Resistenz des Wirts gegenüber einer Listerieninfektion erhöht. Möglicherweise trägt der humorale Arm der Immunantwort zum Schutz gegen eine Listerieninfektion bei, wobei dem LLO eine Schlüsselrolle zuzukommen scheint.

Des Weiteren scheinen B-Zellen für den Erhalt von CD8+-Gedächtniszellen, die während einer Infektion gebildet wurden, wichtig zu sein (Shen, 2003).

Abschließend lässt sich festhalten, dass die erworbene Immunantwort gegenüber dem Pathogen *Listeria monocytogenes* eine fast ausschließlich zellvermittelte ist.

4.9.4 Spezielle Anpassungsvorgänge des Immunsystems während der Schwangerschaft

Die menschliche Reproduktion stellt eigentlich ein immunologisches Paradoxon dar. Aufgrund der väterlicherseits begründeten Alloantigene des Fetus müsste diese Tatsache zur Aktivierung der zellvermittelten Immunantwort bei der Mutter führen (Bakardjiev, 2004). Bereit seit 1953 wird die Schwangerschaft als Stadium der

Immunuppression betrachtet (Wegmann, 1993; Raghupathy, 2001; Bakardjiev, 2006). Zentrales immunologisches Problem in der Schwangerschaft ist, einen Weg zu finden eine plazentare Infektion zu bekämpfen ohne gleichzeitig eine Abstoßungsreaktion des Feten zu induzieren (Mackler, 2003). Im Mausmodell lässt sich dieses Problem teilweise durch die Abwesenheit von Makrophagen und T-Zellen im Bereich der fetomaternalen Grenzfläche erklären, so dass keine aggressive, lokale Immunantwort ausgelöst wird (Redline, 1989). Diese Immunzellen sind jedoch essentielle Bestandteile der systemischen Immunität gegenüber intrazellulären Pathogenen wie *L. monocytogenes* (Edelson, 2000). Zu den wichtigsten Vertretern von intrazellulären Organismen neben *L. monocytogenes*, welche eine fetoplazentare Infektion verursachen können, zählen unter den Viren CMV, ParvoVirus B19, Röteln-Virus und HIV (Bakardjiev, 2004), unter den parasitären Erregern *Toxoplasma gondii* und *Plasmodium falciparum*, sowie unter den Bakterien *Chlamydia psittaci* und *Coxiella burnetti* (LeMonnier, 2007).

Beim Menschen spielen als Haupteffektorzellen der Immunabwehr gegenüber *L. monocytogenes* Neutrophile im Bereich der fetomaternalen Grenzfläche eine entscheidende Rolle, des Weiteren scheint den Trophoblastzellen ebenfalls eine wichtige Rolle zuzukommen, um eine fetale Infektion abzuwehren (Guleria, 2000).

Das maternale Immunsystem erfüllt in der Schwangerschaft eine Doppelaufgabe, nämlich zum einen das semiallogene Transplantat Fetus nicht abzustößen und zum anderen Mutter und Fetus vor einer Infektion zu schützen (Bakardjiev, 2005). Dies erfolgt zum einen durch eine effiziente angeborene Immunantwort, zum anderen durch Suppression der T-Zell-vermittelten Immunität (Sacks, 1999; Raghupathy, 2001; Wegmann, 1993). Diese Tatsache scheint ein Grund für die erhöhte Inzidenz an Listerioserkrankungen in der Schwangerschaft zu sein. Außerdem kommt in der Schwangerschaft auch die Verschiebung der Th1-T-Zellantwort hin zu einer Th2-T-Zellantwort mit einer konsekutiv schlechteren bakteriellen Clearance zum tragen. Der Höhepunkt der Downregulation der zellulären Immunität findet sich zwischen der 26.-30. Schwangerschaftswoche (Lorber, 1997). Schwangere weisen eine ca. 17fach (Southwick, 1996) bis 20fach (Lecuit, 2004) höhere Inzidenz bezüglich einer Listerieninfektion auf und stellen ca. 60% aller Listeriosefälle bei unter 40jährigen dar (Wing, 2002).

Über den Weg der intestinalen Aufnahme des Pathogens kommt es zunächst zur Besiedlung von makrophagenreichen Organen wie Leber und Milz als Prädilektions-

orte der Listerieninfektion, wobei kein Unterschied bezüglich des bakteriellen Wachstums in diesen Organen bei schwangeren bzw. nicht-schwangeren Mäusen gezeigt werden konnte (LeMonnier, 2006). Über einen sekundären Infektionsweg kann es zur Besiedelung des Gehirns kommen infizierte Monozyten können die Blut-Hirnschranke überwinden (Drevets, 2004a) und dort eine ZNS-Infektion auslösen, wobei dieses Phänomen nur bei immunkompromittierten bzw. alten Individuen zu beobachten ist. Ähnliche Mechanismen der ZNS-Infektion finden sich auch bei *Salmonella typhimurium* oder *Toxoplasma gondii* (Bakardjiev, 2005).

Nicht-schwangere Meerschweinchen konnten die Infektion innerhalb von 3 Tagen beherrschen ohne Nachweis einer Bakteriämie (Bakardjiev, 2006). Bei schwangeren Meerschweinchen kam es über den Weg der initialen Bakteriämie zur schnellen Besiedelung der Plazenta (Southwick, 1996; Siegmann-Igra, 2002). Der Tropismus des Bakteriums für eine Besiedelung der Plazenta konnte im Meerschweinchenmodell nachvollzogen werden, wohingegen dieser Tropismus im Mausmodell nicht evident war, was vermutlich mit dem unterschiedlichen placentaren Aufbau zu tun hat (Bakardjiev, 2005; Bakardjiev 2006). Beim Menschen hat dieser Tropismus neben dem ZNS aber weiterhin Bestand (Lecuit, 2005, Charlier, 2020). Klar ist jedoch, dass falls sich das Bakterium in der Plazenta ansiedeln kann, und hierfür genügt ein einziges (Redline, 1987; Hamrick, 2003), es zur raschen placentaren Infektion mit möglicher konsekutiver Infektion des Fetus kommt.

Die Plazenta, ein an sich vor Infektionen geschütztes Organ, stellt für das Wachstum der Listerien eine relativ sichere Nische dar. Hierbei kommt es zu einem im Vergleich zu anderen mütterlichen Organen unverhältnismäßig hohem Anstieg der Bakterienzahl. Diesbezüglich müssen verschiedene Möglichkeiten in Betracht gezogen werden. Zum einen könnte ursächlich hierfür eine gesteigerte bakterielle Replikation verantwortlich sein, zum anderen eine verminderte bakterielle Clearance oder auch die Einschwemmung neuer Listerien aus anderen Organen (Bakardjiev, 2006). Durch Experimente an Meerschweinchen konnte allerdings gezeigt werden, dass weniger als 10 Bakterien die Plazenta ausgehend von anderen Organen innerhalb der ersten 24-48h post infectionem besiedeln, so dass dieser Mechanismus für den unverhältnismäßig hohen Anstieg der Listerien in der Plazenta nicht in Frage kommt (Bakardjiev, 2006). Die Kolonisation und Replikation in der Plazenta scheint ein sehr ineffektiver Mechanismus zu sein, wenn man sich die Zahl der CFU's (colony forming

units) in den ersten Stunden der Infektion ansieht, so dass eine erhöhte Replikationsrate nicht hauptsächlich für das exponentielle Wachstum in der Plazenta ist. Hauptverantwortlich für den Listerienanstieg in der Plazenta ist die mangelnde bakterielle Clearancefunktion derselben, so dass die Plazenta als schwelender Entzündungsherd anzusehen ist. Ausgehend von der infizierten Plazenta kommt es zur bakteriellen Aussaat zurück in die mütterlichen Organe in relativ hoher Zahl ($> 10^5$), so dass die infizierte Plazenta der Hauptfaktor für die Aussaat der Listerien zurück in die mütterlichen Organe ist. Solange die Infektionsdosis niedrig ist bzw. gehalten werden kann, ist eine Fortsetzung der Schwangerschaft und die Niederkunft eines gesunden Fetus möglich. Sollte dies jedoch nicht möglich sein, stellt die Ausstoßung der Plazenta die einzige Möglichkeit dar, eine bakterielle Aussaat in mütterliche Organe zu verhindern. So gesehen stellen, überspitzt formuliert, Spontanaborte oder auch die Frühgeburtlichkeit einen Überlebensmechanismus für die Mutter dar (Bakardjiev, 2004; Maudet, 2021). Um die Infektionsmechanismen zu verstehen, welche nötig sind um eine plazentare Besiedlung und letztlich über den Weg der vertikalen Transmission eine fetale Infektion hervorzurufen, wurden zum einen Versuche mit Meerschweinchen, als auch Versuche am Mausmodell durchgeführt. Da es sich bei einer Listerioseerkrankung meist um eine Infektion, welche via gastrointestinaler Aufnahme des Pathogens erworben wird, handelt (Parkash, 1998; Schuchat, 1992) und dieser Infektionsweg experimentell nur schwer reproduzierbar ist, erfolgten die Infektionen per i.v.-Inokulation mit exakt festgelegten Infektionsdosen.

4.9.5 Die Rolle des Trophoblasten im Rahmen der vertikalen Transmission

Die Plazenta von Mensch und Meerschweinchen hat einen ähnlichen Aufbau. Es handelt sich um eine hämochoriale Plazenta, wobei die fetomaternale Grenzschicht aus einem einschichtigen Trophoblastzellüberzug gebildet wird (Leiser, 1994). Bei Mäusen besteht diese Grenzzone aus drei Schichten von Trophoblastzellen. Dies könnte der Grund sein, warum bei Mäusen höhere i.v.-Inokulationsdosen nötig sind, um eine plazentare Infektion hervorzurufen als beim Meerschweinchen (Hamrick, 2003), spekulativ könnte dies auch für die humane Plazenta angenommen werden. Diese Trennschicht welche aus fetalen Trophoblastzellen gebildet wird und als physiologische Barriere zwischen mütterlichen und fetalen Kreislauf fungiert (LeMonnier,

2006), spielt eine zentrale Rolle bei der vertikalen Transmission von Pathogenen, also der transplazentaren Infektionsübertragung auf den Feten. Der Trophoblast agiert als eine schwangerschaftsspezifische Komponente des angeborenen Immunsystems. Gleichzeitig stellt er eine der ersten Targetzellen für intrazelluläre Pathogene wie *L. monocytogenes* dar (LeMonnier, 2006; Guleria, 2000). Als Zielzellen sind zum einen der Syncytiotrophoblast als auch extravillöse Trophoblastzellen zu nennen (Robbins, 2010, Lecuit 2004, Charlier, 2020). Vermutlich stellen die EVT's die Zielzellen der Listerioseinfektion in der Frühschwangerschaft dar (Charlier, 2020). Die Eintrittspforte für eine maternale Listerieninfektion ist spezies-spezifisch, was in der Interaktion von InlA mit dem E-Cadherinrezeptor gezeigt werden konnte. Diese Interaktion, die sowohl in menschlichen Zelllinien, als auch bei Meerschweinchen gezeigt werden konnte, existiert nicht für das E-Cadherin im Mausmodell. Durch einen einzigen Basenaustausch in Position 16 (beim Mensch Prolin, bei der Maus Glutamat) funktioniert dieser Rezeptormechanismus nicht (Lecuit, 1999; Charlier, 2020). Ähnliches konnte bei der InlB-cMet Rezeptorbindung in Hepatocyten aufgezeigt werden (Khelef, 2006).

Trophoblastzellen erfüllen ähnliche Aufgaben wie Makrophagen und regulieren die lokale Immunantwort. Sie sind in der Lage zu phagozytieren, zu syncytialisieren, verschiedenen Cytokine und Proteine zu synthetisieren als auch hierfür verschiedene Rezeptoren zu exprimieren. Trophoblastzellen reagieren auf CSF-1 und sezernieren MIP-2 und KC und führen somit zur Stimulation einer Neutrophilenrekrutierung (Amarante-Paffaro, 2004; Rossant, 2001).

Die Infektion des Trophoblasten stellt einen kritischen Schritt bei der Listerieninfektion dar. Zum einen kann die Infektion durch direkte Invasion des Erregers in die Trophoblastzelle erfolgen, zum anderen durch Zell-zu-Zell-Ausbreitung ausgehend von mütterlichen Makrophagen bzw. anderer phagozytotisch aktiver Zellen, wie Neutrophile (Rossant, 2001).

4.9.5.1 Direkte Invasion von Trophoblastzellen

Internaline, hier v.a. Inl A und InlB, ermöglichen die bakterielle Adhäsion und letztlich Internalisation des Pathogens in eine nicht-phagozytierende Wirtszelle. InlA besitzt eine hohe Affinität zu E-Cadherin (Lecuit, 2004). Am wichtigsten ist dieser Mechanismus bei der intestinalen Aufnahme von *Listeria monocytogenes*, scheint aber

auch eine gewisse Rolle bei der plazentaren Invasion des Erregers zu spielen, wo E-Cadherin im Bereich der fetomaternalen Grenzfläche nachgewiesen werden konnte. Durch Versuche mit InIA-defizienten *L. monocytogenes*-Stämmen wurde belegt, dass die Infektion mit der InIA-Mutante zu einer 10fach geringeren Invasion von Trophoblastzellen führte als eine Infektion mit einem Wildtyp-*L. monocytogenes*-Stamm (Bakardjiev, 2004; Lecuit, 2004).

Im Rahmen der direkten Invasion von *L. monocytogenes* scheint vor allem InIA die entscheidende Rolle zu spielen, da bei InIB-defizienten *L. monocytogenes*-Stämmen kein Unterschied bezüglich des plazentaren Wachstumsmusters zum Wildtyp besteht. Dies wurde durch Versuche mit menschlichen BeWo-Zelllinien (Chorion-CA-Zelllinie) als auch in Infektionsmodellen mit primären menschlichen Trophoblastzellen bestätigt.

Im Gegensatz zum Mausmodell konnten an BeWo-Zellen als auch an Knock-in Mäusen K1E16P (Austausch von Glutamat gegen Prolin an Position 16 des inIA) gezeigt werden, dass sowohl InIA als auch InIB an der Invasion in Syncytiotrophoblastzellen als auch bei der Infektion des Fetus involviert sind und zur massiven fetalen Letalität bei oraler Infektion beitragen (Disson, 2008). InIA und InIB mit ihren Rezeptoren E-Cad bzw. c-Met agieren in einer eng verbundenen und voneinander abhängigen Art und Weise. InIA führt zur Bindung von *L.m.* an E-Cadherin an die Wirtszellwandmembran. Die InIA getriggerte Internalisation in die Wirtszelle ist abhängig von PI3-K. PI3-K wird durch die Bindung von InIB und c-Met aktiviert. Im Gegensatz zu Intestinalzellen liegt PI3-K in einer inaktiven Form in Syncytiotrophoblastzellen vor, so dass die Aktivierung von PI3-K von entscheidender Bedeutung für die Durchbrechung der Plazentbarriere ist (Charlier, 2020; Gessain, 2015).

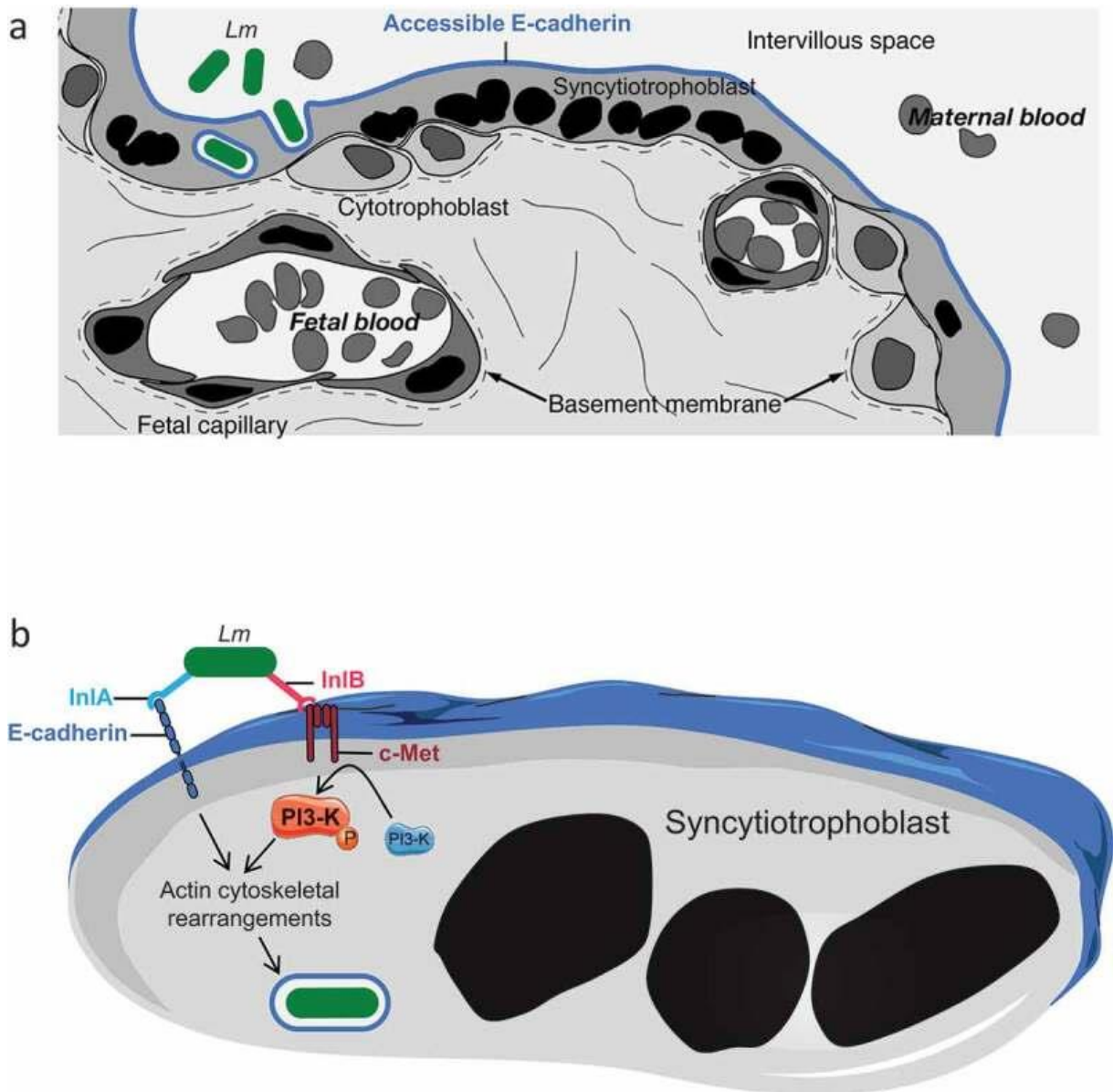


Abbildung 33: Durchbrechen der Plazentabarriere

A: Plazentaschranke (Syncytiotrophoblast) zwischen mütterl. Blut und Fetus

B: *Listeria monocytogenes* Anheftung über InlA an E-cadherin und Inl-B -cMet vermittelte Aktivierung von PI3-K

(Charlier, 2020)

4.9.5.2. Zell-zu-Zell-Ausbreitung im Rahmen der vertikalen Transmission

Die direkte Zell-zu-Zell-Ausbreitung scheint der wichtigste Mechanismus für die transplazentare und letztlich dann mögliche fetale Infektion zu sein. Nach Aufnahme von *L. monocytogenes* in die Wirtszelle und Entkommen des Erregers aus der Phagozytose-Vakuole per Bildung von Listeriolysin (LLO), einem Poren-formenden Cytolysin (Alouf, 2001), wird durch das bakterielle Oberflächenprotein ActA die Polymerisation von Aktinfilamenten des Wirts im Cytoplasma induziert (Charlier, 2020). Hierdurch bilden sich so genannte Pseudopodien, also Zellprotrusionen, in denen sich die replizierten Bakterien sammeln und auf diese Weise unter Bildung einer doppelwandigen Vakuole von der Nachbarzelle aufgenommen werden. Hier beginnt dann der Lebenszyklus erneut (Welch, 2002).

Um die Zell-zu-Zell-Ausbreitung zu gewährleisten, steht zunächst das bakterielle Wachstum in der Plazenta im Vordergrund. Durch Vergleichsbeobachtungen mit LLO-defizienten-Mutanten im Vergleich mit Wildtyp-Stämmen von *L. monocytogenes* im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass in Abwesenheit von LLO nur 10% der Plazenten eine Infektion nach dreitägiger Beobachtung aufwiesen und es nie zu einer fetalen Infektion kam. Ein fortschreitendes plazentares Wachstum blieb ebenfalls aus, dem vermutlich liegt das mangelnde Entkommen der Bakterien aus dem Phagosom zugrunde (LeMonnier, 2007).

L. monocytogenes-Stämme, welche eine ActA-Defizienz aufwiesen, zeigten im Vergleich zu Wildtyp-Stämmen eine um bis zu 50% geringere plazentare Infektion nach zwei Tagen Beobachtungszeit. Eine fetale Infektion trat mit einer Verzögerungszeit von zwei-drei Tagen im Vergleich zur Wildtyp-Infektion auf. ActA gewährleistet die effektive Zell-zu-Zell-Ausbreitung, die den Hauptmechanismus im Hinblick auf die plazentare Infektion darstellt. Nur in Anwesenheit von ActA konnte eine effektive fetale Infektion nachgewiesen werden, so dass diesem Virulenzfaktor die Schlüsselrolle in der vertikalen Transmission zukommt (LeMonnier, 2007).

Ein weiterer Virulenzfaktor, nämlich InIP, spielt bei der Besiedelung und Infektion der Plazenta eine Rolle (Faralla, 2016). Es interagiert mit Afadin, einem zytoplasmatischen Protein, das für Zellverbindungen wichtig ist (Faralla, 2018). InIP Deletionsmutanten zeigten eine abnehmende Infektion in Leber, Milz und Uterus bei i.v. Inokulation von Mäusen, was zu dem Schluss führt, dass es nicht nur einen Placentatropismus zeigt (Faralla, 2016).

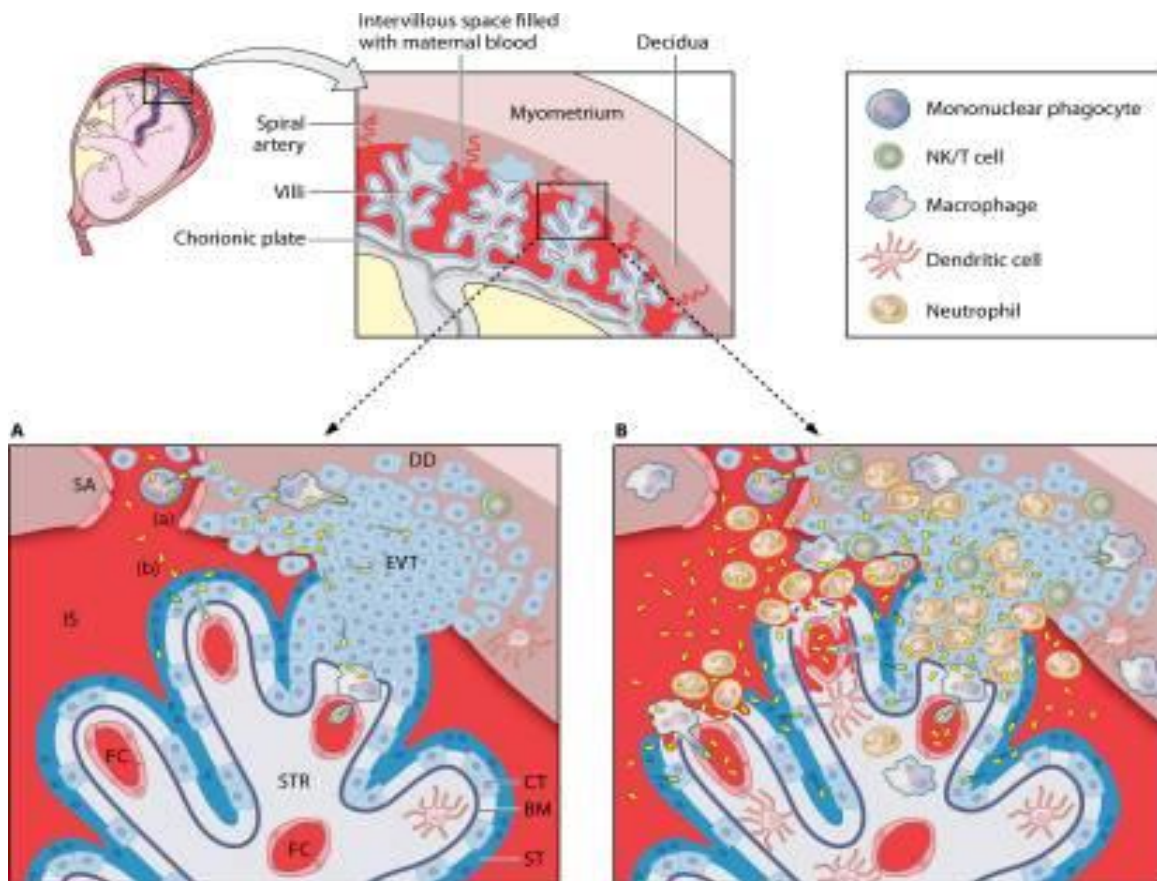


Abbildung 34: Die transplazentare Infektion der Plazenta über den Blutstrom
 EVT extravillöser Trophoblast, Ct Cytotrophoblast, ST Syncytiotrophoblast, BM Basalmembran, FC fetale Kapillaren, DD Decidua, IS Intervillöser Raum, STR Villöses Stroma, gelb dargestellt *L. monocytogenes* (Vázquez-Boland, 2017).

4.9.6. Die plazentare Immunantwort in ihrer Gesamtheit

Die uteroplazentare Einheit stellt ein immunologisch privilegiertes Organsystem im menschlichen Körper dar, da fetales Gewebe, welches an anderer Stelle im Körper transplantiert wird, von diesem abgestoßen wird (Barber, 2005). Großenteils kann das Phänomen des fetalen Überlebens durch Abwesenheit cytotoxischer T-Zellen in der Plazenta bzw. deren Aktivitätssuppression erklärt werden. Trotzdem muss eine effektive erworbene lokale Immunität gewährleistet werden, um eine wirkungsvolle Clearance des Erregers zu bewerkstelligen.

Eine früh greifende angeborene Immunantwort ist Voraussetzung zur effektiven Bekämpfung von *L. monocytogenes*. Frühe Effektorzellen sind hierbei Neutrophile, welche durch Ausschüttung bestimmter Cytokine an den Infektionsfokus gelockt werden.

Neben infizierten Makrophagen wird diese Chemokin-Ausschüttung durch Trophoblastzellen übernommen (Maudet, 2021).

Durch die Bildung von CSF-1, welches in hoher Konzentration durch das Uterusepithel im Bereich der fetomaternalen Grenzfläche unter dem Einfluss von Östrogen und Progesteron gebildet wird, kommt es zum Wachstumsstimulus für Makrophagen (Mackler, 2003; Pollard, 1987), zur Neutrophilenrekrutierung und zur Ausschüttung von KC und MIP-2 (Homologe von IL-8) durch den aktivierten Trophoblasten, welcher CSF-Rezeptoren besitzt. KC und MIP-2 führen zur Neutrophilenrekrutierung innerhalb der ersten 24h post infectionem, wodurch bis zu 95% der Infektionsherde eliminiert werden können (Barber, 2005). CSF-1 sensible Trophoblasten sind demzufolge Mitorganisatoren der angeborenen Immunantwort im Bereich der fetomaternalen Grenzfläche (Guleria, 2000).

In Abwesenheit von CSF-1 zeigten sich schwangere Mäuse sehr empfänglich für eine Listerieninfektion, d.h. die Immunantwort gegen *L. monocytogenes* im mütterlichen Gewebe ist abhängig von der Anwesenheit von CSF-1 (Qiu, 2009).

Während der Schwangerschaft expandieren CD4⁺CD25⁺-T-Zell-Populationen, welche regulatorische Funktionen besitzen. Diese Zellen sind erforderlich um eine cytotoxische T-Zellantwort gegenüber dem Allotransplantat Fetus zu verhindern (Sasaki, 2004). Wichtiger Schritt hierbei ist eine prädominante Th1-Cytokinausschüttung (Barber, 2005; Barber, 2006; Unanue, 1996). Durch Th1-Zellen werden IL-12, IL-18 sowie TNF α in großer Menge im Bereich der fetoplazentaren Grenzfläche in der Frühphase der Infektion ausgeschüttet (Guleria, 2000). 24h nach der IL-12, IL-18 und der TNF α -Ausschüttung, welche ihren Gipfel 24h post infectionem erreicht, kommt es zu einem Anstieg von IFN γ . TNF α und IFN γ werden für eine adäquate plazentare Immunantwort gegenüber *L. monocytogenes* benötigt. In Abwesenheit dieser beiden Cytokine zeigten sich 48h post infectionem signifikant höhere Bakterientiter und infizierte Plazenten. IFN γ wird durch verschiedene Immunzellen synthetisiert, wobei als Hauptproduzenten T-Zellen und NK-Zellen gelten (Berg, 2005; Maudet 2021). NK-Zellen können *L.m.* auch über ein direktes Einbringen von Granulysin, einem antimikrobiellen Peptid, abtöten (Maudet, 2021). Durch IFN γ wird die Th1-Immunantwort gesteigert, die Aktivierung der Makrophagen erhöht sowie die Proliferation von Th2-Zellen gehemmt (Berg, 2005; Shtrichman, 2001). Makrophagen und dendritische Zellen steigern unter dem Einfluss von IFN γ die Antigenexpression gegenüber spezifi-

schen cytotoxischen T-Zellen (Guleria, 2001). Diese T-Zellen werden aber nicht in Richtung Dezidua rekrutiert (Redline, 1987; Guleria, 2000).

IFN γ induziert die Bildung vonIDO (Indolamin 2,3-dioxygenase), einem Enzym des Tryptophankatabolismus, in der Dezidua (Mackler, 2003). IDO ist notwendig für die Suppression der T-Zellantwort gegenüber dem Allotransplantat Fetus. Eine Inhibition dieses Enzyms bewirkt die T-Zell vermittelte Abstoßung des Feten, teilweise geschieht dies komplementvermittelt (Mellor, 2001a; Mellor, 2001b). IDO spielt vermutlich auch eine Rolle im Rahmen der angeborenen Immunantwort wie z.B. durch Bildung von toxischen Metaboliten oder Tryptophanentzug, was im Rahmen einer Chlamydieninfektion zum Absterben dieses Pathogens führt. Im Rahmen der *L. monocytogenes* Infektion nützt die Plazenta die toxischen Metaboliten zur Abwehr von *L. monocytogenes* (keine Tryptophan auxotrophie bei *L. monocytogenes*) (Barber, 2005). Ein basaler Level von placentarer IDO-Produktion reicht vermutlich aus um eine effektive T-Zellbarriere zu errichten. Neben der placentaren IDO-Produktion durch Deziduazellen wird IDO auch durch CSF-1 stimulierte Makrophagen, dendritische Zellen und Trophoblastzellen expremiert. Hierdurch übt IDO eine immunregulatorische Funktion aus (Mackler, 2003).

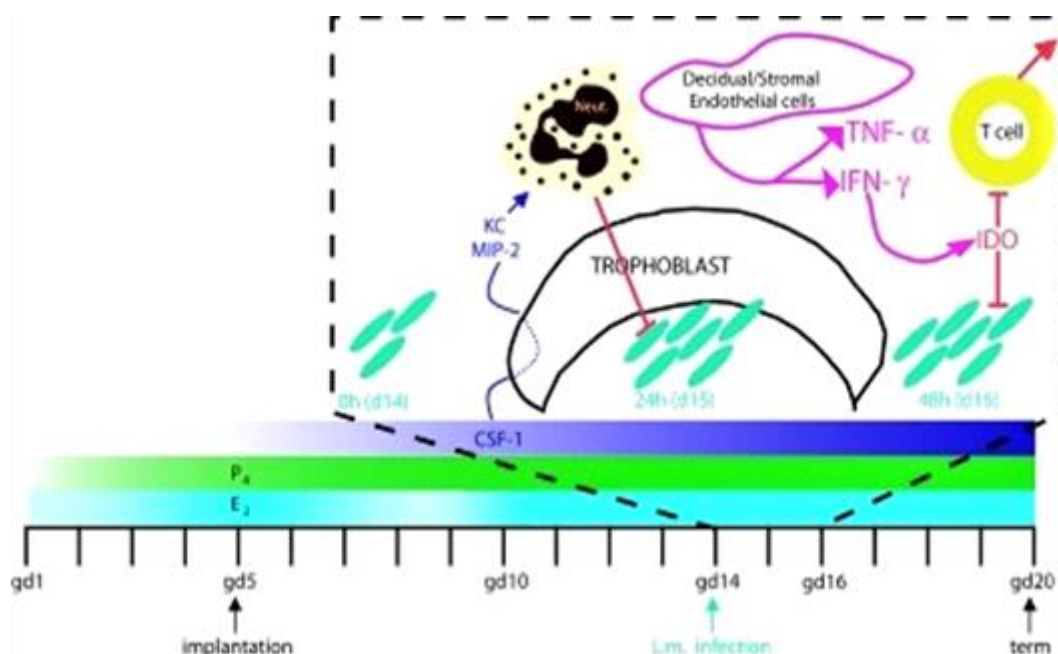


Abbildung 35: Placentare Immunantwort im Mausmodell (Barber, 2005)

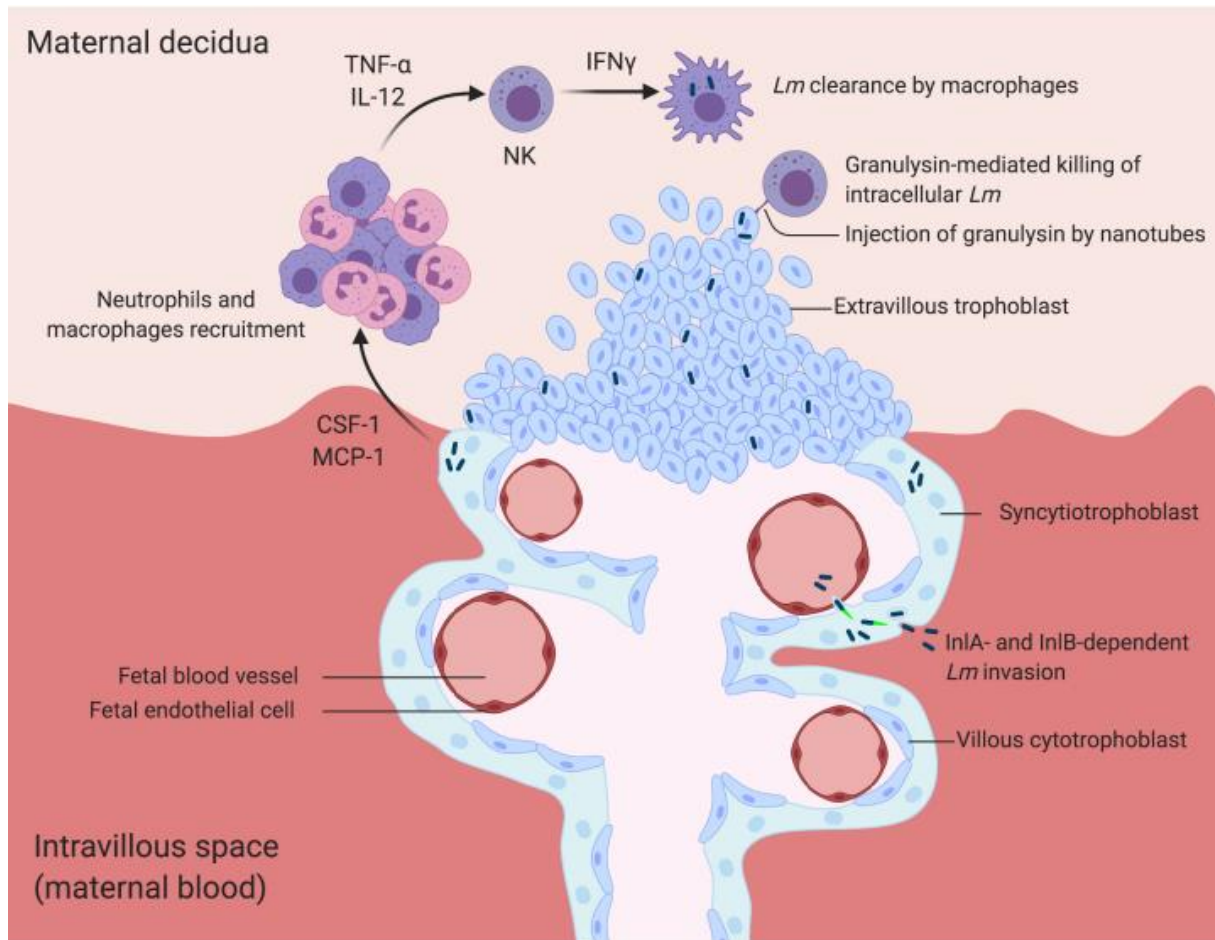


Abbildung 36: Angeborene Immunantwort auf Plazentalevel (Maudet, 2021).

4.10 Klinik

4.10.1 Klinische Erscheinungsbilder der Listeriose

Die menschliche Listerioseerkrankung ist im Vergleich mit der häufigen Konfrontation des Organismus mit dem Pathogen ein seltenes Ereignis. *L. monocytogenes* kann zwei völlig unterschiedliche Krankheitsverläufe verursachen.

Bei gesunden Erwachsenen kann die Aufnahme hochkontaminierter Lebensmittel eine febrile, selbstlimitierende Gastroenteritis hervorrufen.

Bei Menschen mit einer reduzierten zellvermittelten Immunität, wie z.B. Schwangere, oder immunsupprimierten Personen, wie Patienten mit vor allem hämatologischen Malignomen, Organtransplantierte oder Personen unter Kortikoideinnahme, genauso wie HIV- bzw. AIDS-Patienten, Menschen, die einer bestimmten Altersgruppe angehören, nämlich Neugeborene und ältere Menschen (>55-60Jahre) und Personen mit Grunderkrankungen wie Lebererkrankungen, Nierenerkrankungen, Diabetes mellitus oder Kollagenosen, kann eine Listerieninfektion zu einer schwerwiegenden, lebensbedrohlichen Erkrankung führen. Klinisch findet man am häufigsten ZNS-Infektionen, eine Bakteriämie oder schwerwiegende Mutter-Kind-Infektionen (Lecuit, 2005; Lorber, 1997).

Da die Listeriose eine seltene Erkrankung ist, die jedoch ein schwerwiegendes Krankheitsbild mit einer case-fatality Rate von bis zu 30% verursachen kann, ist es wichtig bei folgenden Konstellationen die Listeriose als Differentialdiagnose in Erwägung zu ziehen, um eine frühzeitige Behandlung gewährleisten zu können (Lorber, 2007):

- bei einer Septikämie oder Meningitis bei Kindern, die jünger als zwei Monate sind
- bei einer Meningitis oder einer parenchymalen Gehirninfection bei Erwachsenen
 - (a) mit hämatologischen Malignomen, AIDS, Organtransplantation, immunsuppressiver Therapie mit Kortikosteroiden oder Anti-TNF-Präparaten
 - (b) mit subakuter Symptompräsentation
 - (c) >50 Jahren
 - (d) mit Gram-positiven Bakterien im Liquor
- bei einer simultanen Infektion von Meningen und Gehirnparenchym

- bei subkortikalen Gehirnabszessen
- bei Fieber in der Schwangerschaft
- bei in der Gram-Färbung oder Kultur „diphtheroid“ erscheinenden Bakterien aus Blut, Liquor oder anderen primär sterilen Flüssigkeiten oder Geweben
- bei Nahrungsmittel-assoziierten Ausbrüchen mit febriler Gastroenteritis, bei denen die üblichen Routinekulturen kein Pathogen liefern

Als schwerwiegende Komplikationen der Listerioseerkrankung können ein ARDS (Acute respiratory distress syndrome), eine DIC (disseminierte intravasale Gerinnung) oder auch eine Rhabdomyolyse mit Nierenversagen beobachtet werden (Lorber, 2007).

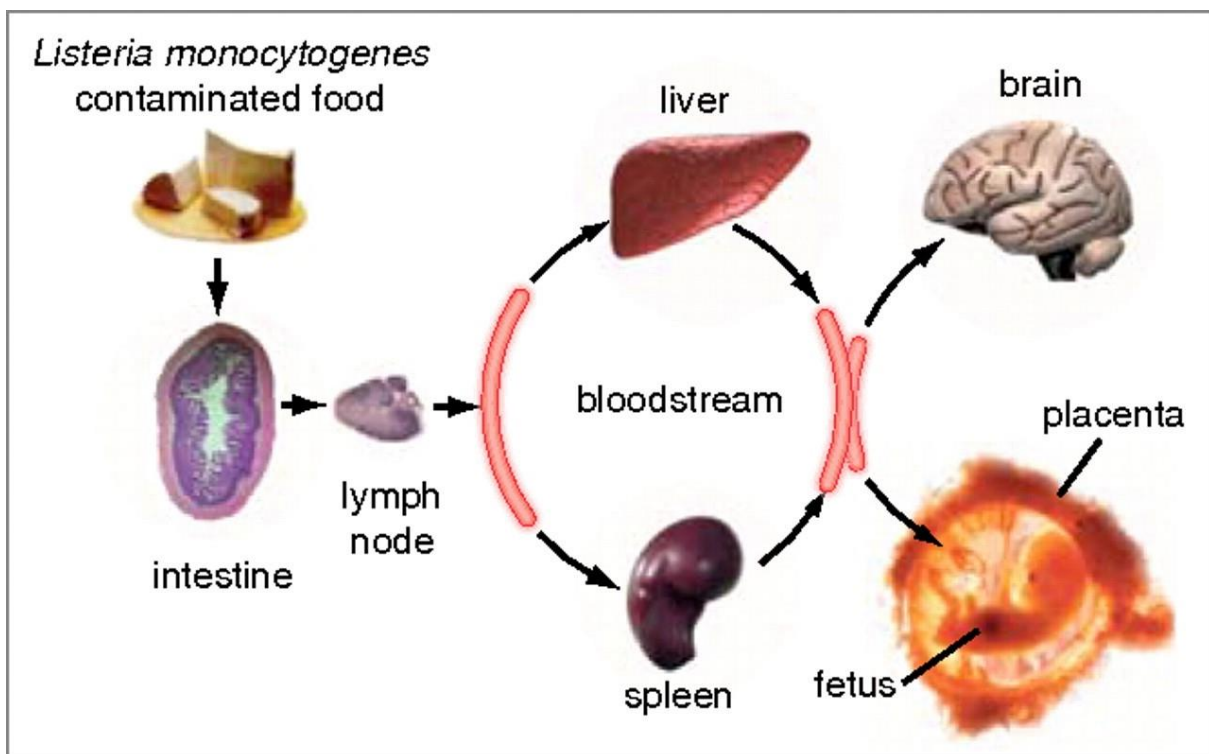


Abbildung 37: Die Infektion durch *L. monocytogenes* in vivo: Durch Überwindung der intestinalen Barriere gelangen die Bakterien über den Blutstrom letztlich in Gehirn und Plazenta (Cossart, 2008).

4.10.2 Infektion während der Schwangerschaft

Durch eine reduzierte zellvermittelte Immunitätslage, vor allem im dritten Trimenon der Schwangerschaft, haben Schwangere ein 10-100fach höheres Risiko eine Listerioseinfektion zu erwerben als die Normalbevölkerung. Die Inzidenz der maternalen/neonatalen Listeriose, definiert durch einen maternalen, fetalen oder neonatalen Probennachweis, liegt aktuell bei 4-10/100.000 schwangere Frauen in Europa bzw. Nordamerika (Charlier, 2020). Zwischen der 26.-30. Schwangerschaftswoche (SSW) findet sich der Hauptabfall der zellvermittelten Immunantwort (Janakiraman, 2008; Mylonakis, 2002). Schwangere machen ca. 30% aller Listeriosefälle aus und bilden mit einem Anteil von 60% die größte Fallgruppe in der Altersklasse der 10-40jährigen (Lorber, 2007). Es scheint einen gewissen Zusammenhang mit der Ethnizität der Schwangeren zu geben, da u.a. bei Hispanics in den USA oder auch afrikanischen Frauen in Frankreich eine höhere Inzidenz bezügl. einer schwangerschaftsassozierten Listeriose gefunden werden konnte (Charlier, 2017; Pouillot 2012). Eine Listerioseinfektion verläuft bei Schwangeren häufig asymptomatisch, jedoch berichten Schwangere auch über ein 6-7 Tage andauerndes grippeähnliches Krankheitsgefühl. Unspezifische Symptome wie uterine Kontraktionen oder auch eine Tachykardie im CTG können beobachtet werden. Fieber mit Temperaturen meistens zwischen 38°C-39°C (Wang, 2021) wird mit einer breiten Schwankung von 12-85% als Symptom wahrgenommen (Charlier, 2020, Charlier, 2017). Die mittlere Inkubationszeit beträgt in der Schwangerschaft ca. 19-27,5 Tage (Charlier, 2020). Die häufigsten Symptome sind Fieber, Schüttelfrost, Kopf- und Gliederschmerzen. Laborchemisch zeigt sich häufig eine Leukozytose (McLauchlin, 1990; Mylonakis, 2002). Eine listerielle ZNS-Infektion in der Schwangerschaft ist aus bisher noch ungeklärten Gründen extrem selten und nur bei Vorliegen anderer prädisponierender Risikofaktoren zu beobachten. Bei nachgewiesener perinataler Listeriose berichten $\frac{2}{3}$ der Mütter über ein vorangegangenes grippeähnliches Krankheitsbild, selten wird eine gastrointestinale Symptomatik mit Diarrhoe oder abdominalen Krämpfen beschrieben. Diese von den Schwangeren oft nicht als ernsthaftes oder bedrohliches Krankheitsbild wahrgenommene Symptomatik entspricht der bakteriämischen Phase der Listerioseerkrankung, welche auch zur Besiedelung des Uterus führt (Posfay-Barbe, 2004; Gellin, 1989; Boucher, 1986). Für die Schwangere selbst stellt die Listeriose in der Regel eine sich selbstlimitierende Erkrankung dar (Lorber, 2007), allerdings ist die mütterliche Infek-

tion Ausgangspunkt zur Entwicklung einer fetalen bzw. perinatalen Listeriose. Diese kann in einer Frühgeburt, einer Totgeburt, in einem Abort und in bis zu 20% der Fälle in der Ausbildung einer schweren neonatalen Infektion enden. Bis zu $\frac{2}{3}$ der Neugeborenen von Müttern mit nachgewiesener Listerioseinfektion entwickeln eine neonatale Infektion entweder durch transplazentare Infektion im Rahmen der mütterlichen Bakteriämie oder durch Aquisition des Erregers im Geburtskanal von asymptomatischen Trägerinnen (Drevets, 2008). Bei Schwangeren mit einer gesicherten Listeriose beträgt die Rate der fetalen Mortalität insgesamt zwischen 16% und 45% (Gray, 1993; Painter, 2007).

Die chronische Trägerschaft von *L. monocytogenes* fäkal, cervikovaginal oder auch oropharyngeal könnte einen möglichen Zusatzfaktor für die Entwicklung einer perinatalen Listeriose darstellen. Nicht bestätigt werden konnte ein Zusammenhang zwischen chronischer Trägerschaft und rezidivierenden Aborten, welcher in früheren Studien postuliert wurde. In der diesbezüglich größten prospektiv durchgeführten Studie wurden zwischen 1979-1989 insgesamt 86 Patientinnen mit zwei oder mehr Fehlgeburten eingeschlossen. In keinem Fall konnte *L. monocytogenes* aus Cervix oder Endometrium isoliert werden (Manganiello, 1991; Ansbacher, 1966; Macnaughton, 1962).

Die wirkliche Inzidenz der Listeriose im Zusammenhang mit Fehlgeburten oder Totgeburten lässt sich nur schwer einschätzen, da eine routinemäßige Entnahme bakterieller Kulturen nicht erfolgt. Eine Studie, die Anfang der 1970er Jahre durchgeführt wurde, geht von einer Inzidenz von 1,6% bei Spontanaborten aus (Giraud, 1973).

Die Listerioserkrankung entwickelt sich am häufigsten bei gesunden Schwangeren, lediglich bei 4% der Schwangeren bestand nach einer Auswertung von insgesamt 222 Schwangerschafts-assoziierten Infektionen eine prädisponierende Grunderkrankung wie Diabetes mellitus, systemischer Lupus erythematodes, eine Kortikoidbehandlung oder eine HIV-Infektion. Die Auswertung dieser 222 maternalen Listerioseinfektionen ergab eine Infektion bei 94 aller Neugeborenen. 59 (62,8%) der Kinder erholten sich vollständig, 23 (24,5%) der Säuglinge starben und 12 (12,7%) Neugeborene behielten neurologische Defizite oder andere Langzeitkomplikationen zurück (Mylonakis, 2002).

Aufgrund der möglichen schwerwiegenden fetalen bzw. perinatalen Infektion sollte bei Schwangeren mit Fieber und grippeähnlichen Symptomen oder bei einer gastrointestinalen Symptomatik an eine Listerioseinfektion gedacht werden. Aufgrund der

schwierigen Diagnostik sollte eine Blutkultur entnommen und bei dringendem Verdacht auf eine Listerioseinfektion noch vor Erhalt des Ergebnisses mit einer entsprechenden antibiotischen Behandlung begonnen werden (Silver, 1998). Ein vaginaler Abstrich bleibt oft negativ, was wiederum für die hämatogene Besiedelung der Placenta spricht (Charlier, 2017). Eine frühzeitige Diagnose und Behandlung können in der Geburt eines völlig gesunden Kindes resultieren (Evans, 1985; Kalstone, 1991). Die Daten des MONALISA Trials zeigen, dass mit einer Komplikationsrate von 82% zu rechnen ist. Dazu zählen Abort (25%), Frühgeburtlichkeit (19%) und die Geburt eines Kindes, welches eine early- oder late onset Listeriose entwickelt (Charlier, 2017).

4.10.3 Neonatale Infektion

Im Gegensatz zur oft milden Erkrankung der Mutter steht die ernsthafte und in bis zu 50% tödlich endende neonatale Infektion mit *L. monocytogenes*. Weltweit gehört *L. monocytogenes* zu den drei häufigsten Erregern einer bakteriellen Meningitis bei Neugeborenen. Auch bei gezielter antibiotischer Behandlung verbleibt eine Neugeborenenletalität von bis zu 30% (Posfay-Barbe, 2004; Friese, 2003, Wang 2021). Mit einem schlechten Outcome assoziierte Faktoren sind ein niedriges Geburtsgewicht, Frühgeburtlichkeit und eine zeitliche Verzögerung zwischen Symptompräsentation und anschließend zielgerichteter antibiotischer Therapie (Bucher, 1989). Aufgrund der unspezifischen Symptome bzw. dem asymptomatischen Verlauf bei der Schwangeren und den unspezifischen Symptomen beim Kind kommt es häufig zu einer Diagnoseverzögerung (Albritton, 1984).

Grundsätzlich werden ähnlich der B-Streptokokken-Infektion zwei Verlaufsformen der neonatalen Listeriose unterschieden, nämlich die so genannte early-onset Form und die late-onset Form. Ca. 45-70% der neonatalen Listerieninfektionen gehören der early-onset Form an (Frederiksen, 1992).

4.10.3.1 Early-onset Listeriose

Die so genannte early-onset Form der neonatalen *L. monocytogenes*-Infektion wird meist bereits in utero erworben und histologisch zeigen sich Zeichen der Chorionamnionitis, sowie möglicherweise Granulome und Mikroabszesse der Plazenta (Posfay-

Barbe, 2004). Die early-onset Listeriose entwickelt sich innerhalb der ersten sechs Lebenstage und ist mit einer Mortalitätsrate von ca. 20% vergesellschaftet. Ca 40% der überlebenden Neugeborenen tragen neurologische Residuen davon (Wang, 2021; Lamont, 2011). Bereits bei Geburt bzw. innerhalb der ersten Lebenswoche zeigen die Kinder ein sepsisähnliches Krankheitsbild, wobei die ersten Symptome im Mittel ca. 1,5 Tage nach Geburt erscheinen. Andere Manifestationsformen stellen eine Pneumonie oder auch ein Respiratory distress-Syndrom dar, selten zeigt sich eine Meningitis oder Myokarditis (Lamont, 2011). Die schwerste Ausprägungsform äußert sich im klinischen Krankheitsbild der Granulomatosis infantiseptica. Hierbei zeigen sich disseminierte Granulome vor allem in der Leber, der Haut und der Plazenta, können aber auch in der Milz, im Gehirn, in der Nebenniere, in der Lunge oder auch im Gastrointestinaltrakt gefunden werden. Das Fruchtwasser ist oft mekoniumhaltig und es zeigt sich das Bild einer Amnionitis. Dieses Krankheitsbild wird häufig durch eine Pneumonie, ein Respiratory distress Syndrom oder auch eine Kreislaufinsuffizienz verkompliziert (Painter, 2007).

Der early-onset Form geht häufig ein mütterliches, grippeähnliches Krankheitsbild 2- 14 Tage vor der Entbindung voraus (Vázquez-Boland, 2001a). Die Neugeborenen sind häufig Frühgeborene.

Der bakterielle Nachweis kann aus Blut, Liquor, oropharyngealem Sekret, Fruchtwasser oder Urin, sowie durch Abstriche von Plazenta, Konjunktiven, Ohr, Nase oder Rachen gelingen (Mylonakis, 2002). Die höchsten Konzentrationen an *L. monocytogenes* finden sich in Lunge und Darm, so dass neben dem hämatogenen Infektionsweg, die Aquisition der Bakterien durch Inhalation und Ingestion von infiziertem Fruchtwasser gegeben scheint (Becroft, 1971).

4.10.3.2 Late-onset Listeriose

Diese Form der neonatalen Listeriose tritt weit weniger häufig (ca. 10-15%) auf. Die late-onset Form entwickelt sich innerhalb von 7-28 Tagen nach Geburt (Wang, 2021). Die ersten Symptome treten ca. 14 Tage nach Entbindung bei einem bis dato gesunden, termingerecht geborenen Neugeborenen auf. Allerdings können die Symptome bereits nach einer Woche bzw. bis acht Wochen postpartum in Erscheinung treten. Eine vorausgehende mütterliche Krankheitssymptomatik fehlt meist und der Schwangerschaftsverlauf wird als insgesamt unauffällig beschrieben. Vorherrschend ist hier

das Bild einer Meningitis. Begleitend finden sich Symptome wie Fieber, Schreckhaftigkeit, Trinkunlust, Lethargie oder auch Diarrhoe (Vázquez-Boland, 2001a; Posfay-Barbe, 2004). Hier wird eine Infektion während der Geburt (bei mit *L. monocytogenes* besiedeltem Geburtskanal) angenommen, aber auch eine nosokomiale Infektion steht zur Debatte, da auch Fälle nach primärer Sectio beschrieben wurden und auch die Möglichkeit einer Cross-Kontamination auf Neugeborenenstationen muss in Betracht gezogen werden (Facinelli, 1988; Larsson, 1978; Simmons, 1986). Als ursächlicher *L. monocytogenes*-Serotyp findet sich am häufigsten Serovar 4b bei der late-onset Infektion (Albritton, 1976). Die Mortalität liegt bei 10-20% (Wang, 2021). Häufig verbleiben neurologische Defizite wie z.B. Hydrozephalus oder psychomotorische Retardiertheit (Evans, 1984).

4.10.4 ZNS-Infektion

55-70% der Listerioserkrankungen bei Nicht-Schwangeren oder Neugeborenen äußern sich in Form von ZNS-Infektionen (Vázquez-Boland, 2001a). Die Infektion erfolgt über die Blutbahn. Manifestationsformen sind eine Meningitis, eine Meningoenzephalitis oder auch Hirnabszesse. Die mittlere Inkubationszeit der Neurolisteriose beträgt ca. 9 Tage, die Sterblichkeit einer Neurolisteriose liegt bei 30% (Charlier, 2020).

Im Liquor zeigen sich häufig Leukozyten, wovon bis zu 70% polymorphkernig sind. Die Gram-Färbung liefert nur in < 40% ein positives Testergebnis. Es zeigen sich erhöhte Eiweißlevel, wobei die Höhe mit einer schlechteren Prognose korreliert. Die Glucosekonzentration ist in ca. 60% normal. Bei 60-75% der ZNS-Infektionen zeigen sich die Blutkulturen positiv (Lorber, 1997).

Bakterien, die häufig eine bakterielle Meningitis verursachen, hierzu zählen *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* oder *Haemophilus influenzae*, verursachen nur selten eine parenchymale Gehirninfection. Im Gegensatz hierzu zeigt sich bei einer Infektion von *L. monocytogenes* häufig eine meningoenzephalale Entzündung mit spezifischem Tropismus von *L. monocytogenes* für den Hirnstamm und die Meningen (Nieman, 1980, Lorber, 1997).

4.10.4.1 Meningitis

1990 veröffentlichte das CDC die fünf häufigsten Erreger einer bakteriellen Meningitis. Hierbei steht an erster Stelle *Strept. pneumoniae*, gefolgt von *H. influenzae*, *Neisseria meningitidis*, B-Streptokokken und *L. monocytogenes*. Hierbei zeigte sich bei *L. monocytogenes* die höchste Mortalität mit bis zu 22% (Wenger, 1990). Nach Einführung der *H. influenzae*-Impfung 1995 rangiert *L. monocytogenes* unter den häufigsten vier Erregern und verursacht ca. 20% aller Meningitiden bei >60jährigen und Neugeborenen (Schuchat, 1997). Weltweit ist *L. monocytogenes* der zweithäufigste bakterielle Meningitiserreger bei >50jährigen Personen. 50% der überlebenden Patienten zeigen bleibende neurologische Defizite (Maudet, 2021).

L. monocytogenes ist unter den drei häufigsten bakteriellen Pathogenen, die eine Meningitiserkrankung bei Neugeborenen hervorrufen. *L. monocytogenes* ist der häufigste bakterielle Meningitiserreger bei Lymphompatienten, Organ-transplantierten Patienten oder Patienten unter Kortikoidtherapie (Mylonakis, 1998; Lorber, 2007; Siegman-Igra, 2002; Safdar, 2002).

Zwischen 30-55% der Patienten mit einer invasiven Listerioseerkrankung zeigen klinisch eine Meningitis (Nieman, 1980). Die durch *L. monocytogenes* ausgelöste Meningitis zeigt sich in ca. 10% subakut, in 15-20% lässt sich eine Nackensteifigkeit beobachten. Bewegungsstörungen wie Ataxie, Tremor oder ein Myoklonus präsentieren sich in 15-20%. 25% der Patienten zeigen eine Anfallssymptomatik und in 75 % lässt sich ein wechselnder Mentalstatus feststellen. Laborchemisch zeigen sich die Blutkulturen in 75% positiv. Im Liquor fällt eine Gramfärbung nur in 40% positiv aus, die Liquorglukose ist in 60% normal und es zeigt sich in 30% eine mononukleare Prädominanz der Leukozyten. Grundsätzlich ähnelt die Listerien-assoziierte Meningitis dem klinischen Erscheinungsbild anderer Meningitiserreger (Lorber, 2007).

4.10.4.2 Rhombenzephalitis

Die Entzündung des Hirnstamms stellt eine ungewöhnliche Erscheinungsform einer Enzephalitis dar und macht ca. 10% aller listeriellen ZNS-Infektionen aus (Drevets, 2008). In ihrem klinischen Bild ähnelt sie der tierischen Enzephalitis, die als „circling disease“ bei Schafen bekannt ist (Armstrong, 1993). Im Gegensatz zu anderen ZNS-Manifestationen findet sich diese Enzephalitisform vor allem bei gesunden Erwach-

senen und älteren Kindern. Typisch ist ein biphasischer Krankheitsverlauf. Zunächst zeigen sich Prodromi, wie Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen und Fieber. Diese Krankheitsphase dauert ca. vier bis fünf Tage. Hierauf folgend findet sich ein abrupter Beginn mit Hirnstamm- und Kleinhirndysfunktion (Uldry, 1993; Armstrong, 1993; Antal, 2005a; Antal, 2005b).

Als Zeichen der pontomedullären Mitbeteiligung kommt es typischerweise zu asymmetrischen Ausfällen der Hirnnerven, vor allem der Hirnnerven V, VI, VII, IX, X (Armstrong, 1993). Als zerebelläre Zeichen finden sich eine Ataxie und eine Dysmetrie. Hemiparese und hemisensorische Defizite zeigen die Mitbeteiligung der Medulla oblongata und des Rückenmarks. Nur in 50% der Fälle kann eine begleitende Nackensteifigkeit beobachtet werden. Blutkulturen liefern in 60% ein positives Testergebnis als Ausdruck der begleitenden Bakteriämie, Liquorkulturen lediglich in 40% der Fälle (Armstrong, 1993). In 58% der Fälle findet sich im Liquor eine mononukleäre Pleozytose mit unterschiedlichem Protein und Glucosegehalt (Bartt, 2000). Entscheidendes bildgebendes Verfahren ist das MRT der hinteren Schädelgrube. Die Infektion weist eine hohe Mortalität auf und Überlebende zeigen häufig ernsthafte, bleibende neurologische Defizite.

4.10.4.3 Gehirnabszesse

10% aller listeriellen ZNS-Infektionen manifestieren sich als Gehirnabszess. Dieses klinische Erscheinungsbild betrifft vor allem immunsupprimierte Patienten bzw. Personen mit entsprechenden Komorbiditäten (Mylonakis, 1998). Dieses Krankheitsbild geht fast immer mit einer begleitenden Bakteriämie einher, in 25% der Fälle findet sich eine Begleitmeningitis. Typischerweise liegen die Abszesse subkortikal im Bereich des Thalamus, der Pons und der Medulla oblongata. Diese Lokalisationen sind für andere bakterielle Keime ungewöhnlich und sind daher wegweisend für eine Infektion mit *L. monocytogenes* (Lorber, 2007). Klinisch finden sich typischerweise Symptome wie Fieber, Kopfschmerz und fokale neurologische Defizite. Ein Meningismus tritt selten in Erscheinung (Drevets, 2008). Die Blutkulturen sind entsprechend der Begleitbakteriämie meist positiv, nur in <50% kann *L. monocytogenes* aus dem Liquor nachgewiesen werden (Bartt, 2000). Als bildgebende Verfahren kommen sowohl CT als auch MRT zum Einsatz. Die Mortalität ist hoch und Überlebende weisen schwerwiegende neurologische Defizite auf (Cone, 2003).

4.10.5 Bakteriämie

Die Bakteriämie ohne evidenten Fokus stellt mit die häufigste Manifestationsform der invasiven Listeriose dar (Gellin, 1991). Angaben bezüglich der Häufigkeit schwanken zwischen 15-50% (Vázquez-Boland, 2001a). Typische klinische Symptome sind Fieber und Myalgien. Gelegentlich gehen Prodromi wie Übelkeit und Diarrhoe voraus. Die mittlere Inkubationszeit beträgt ca. zwei Tage (Charlier, 2020). Die Mortalität kann bei entsprechender Grunderkrankung zwischen 46- 70% betragen (Lorber, 2007, Charlier, 2020).

4.10.6 Endokarditis

7,5 % der Listerioseinfektionen äußern sich in Form einer Endokarditis (Nieman, 1980). Diese Manifestation betrifft vor allem Patienten mit vorbestehender kardialer Problematik, wie z.n. Klappeneratz. Klinisch lässt sich eine durch *L. monocytogenes* hervorgerufene Endokarditis nicht von einer durch andere Erreger verursachten Endokarditis unterscheiden (Painter, 2007). Allerdings kann die Listerienendokarditis ein Indikator für zugrunde liegende Pathologien des Gastrointestinaltrakts sein, so z.B. für ein Colon-Ca (Lorber, 1997). Die durch *L. monocytogenes* hervorgerufene Endokarditis hat eine hohe Rate an Komplikationen und weist eine Mortalität von bis zu 48% auf (Carvajal, 1988).

4.10.7 Febrile Gastroenteritis

Die febrile Gastroenteritis ist eine in der Regel selbstlimitierende Erkrankung und betrifft meist gesunde Individuen ohne prädisponierende Risikofaktoren. Ursächlich für die Entwicklung einer febrilen Gastroenteritis ist der Verzehr von hochkontaminierten Nahrungsmitteln, wobei die geschätzte Inokulationsdosis ca. 10^5 /Gramm Produkt beträgt (Painter, 2007).

Der erste gesicherte Ausbruch einer durch *L. monocytogenes* induzierten febrilen Gastroenteritis wurde 1997 in England beschrieben. Der Verzehr von infizierter Schokoladenmilch führte zur Erkrankung von 58 Personen. Hierbei zeigte sich bei 79% eine Diarrhoe und bei 72% Fieber. *L. monocytogenes* konnte bei den erkrankten Personen im Stuhl nachgewiesen werden (Dalton, 1997). Ähnliche Ausbrüche

konnten dem Verzehr von Käse, von geräuchertem Fisch oder Reissalat zugeschrieben werden.

Die mittlere Inkubationszeit beträgt 24h (6h-10d). Der klinische Symptomenkomplex aus zum Teil wässrigen, nicht-blutigen Durchfällen mit einer Frequenz von bis zu 12/Tag und Fieber sind typisch für dieses Krankheitsbild. Im Vergleich zu anderen Gastroenteritiserregern berichten die Patienten in > 50% der Fälle über eine begleitende Somnolenz und in 75% über eine Fatigue (Painter, 2007). Die Erkrankungsdauer beträgt im Mittel ein bis drei Tage (Lorber, 2007).

Die Faktoren, die zur Entwicklung einer febrilen Gastroenteritis und nicht zu einer invasiven Listerioseerkrankung führen sind unklar, wobei Personen aus einem Risikokollektiv eher eine invasive Listeriose entwickeln. Man geht davon aus, dass es bei einer febrilen Gastroenteritis nur zu einer limitierten Invasion der Erreger in die Darmmukosa kommt. Die genaue Inzidenz dieser Infektion lässt sich nur schwer abschätzen, da der Stuhl dieser Patienten selten auf *L. monocytogenes* getestet wird. Allerdings muss an eine *L. monocytogenes*-Infektion gedacht werden, wenn kein anderes übliches Pathogen nachgewiesen werden kann (Painter, 2007).

4.10.8 Lokalisierte Infektionen

Es existieren seltene Berichte über lokalisierte Infektionen mit *L. monocytogenes*. Häufig betreffen diese seltenen Infektionsfoci Patienten mit erhöhtem Risiko eine Listerioseinfektion zu entwickeln. Seltene Manifestationsformen sind:

- Konjunktivitis (Schwartz, 1989)
- Hautinfektionen (Cain, 1986)
- Lymphadenitis (Niemann, 1980)
- Hepatische Infektion (Braun, 1993)
- Cholezystitis (Gordon, 1986)
- Peritonitis (Myers, 1983; Winslow, 1984)
- Milzabszess (Nieman, 1980)
- Pleuropulmonale Infektionen (Domingo, 1992)
- Septische Arthritis (Curosh, 1989)
- Osteomyelitis (Chirgwin, 1989)
- Perikarditis (Holoshitz, 1984)
- Myokarditis (Stamm, 1990)

- Arteriitis (Gauto, 1992)
- Endophthalmitis (Nieman, 1980).

4.10.9 Eigene klinische Fallberichte

4.10.9.1 Schwangerschafts-assoziierte Listeriose

Auch wenn die Listeriose eine eher seltene Infektionskrankheit darstellt, soll der folgende Fallbericht aus der eigenen Klinik die Präsenz des Erregers in der Frauenheilkunde darstellen.

In den Kreissaal wird eine 28jährige IGOP in der rechnerisch 36+0 SSW aufgenommen. Die Patientin stellt sich mit vorzeitiger Wehentätigkeit und Fieber (38,7°C) mit begleitendem grippalem Infekt vor. Der vaginale Untersuchungsbefund ergibt einen unreifen Muttermunds-Befund, kein Hinweis auf vorzeitigen Blasensprung, ein bakterieller Abstrich wird entnommen. Laborchemisch zeigen sich eine Leukozytose, sowie eine CRP-Erhöhung. Das Aufnahme-CTG ist tachykard mit eingeschränkter Oszillation und variablen Dezelerationen. Es wird unmittelbar mit einer i.v.-Antibiose mit Cefuroxim begonnen. Bei zunehmender Wehentätigkeit und pathologischem CTG wird bei Verdacht auf Amnioninfektionsyndrom (AIS) die Sectio indiziert und durchgeführt. Das Fruchtwasser war grün und übelriechend. Entwickelt wird ein schlappes Mädchen, welches sofort intubiert werden muss. APGAR 1-4-7, pH 7,24, BE-5. Das Neugeborene wird auf die Intensivstation verlegt. Es werden eine Blutkultur, sowie ein Ohr- und Endotrachealabstrich entnommen. Das Kind erhält eine Antibiose mit Cefuroxim und Ampicillin. Das Neugeborene zeigte unmittelbar postpartal vier krampfverdächtige Episoden, wies Gerinnungs- und Blutdruckprobleme auf und blieb bis zum siebten postpartalen Tag intubiert. Die Blutkulturen und die Abstrichergebnisse ergaben eine Besiedelung mit *Listeria monocytogenes*. Die Antibiose wurde auf Ampicillin und Tobramycin umgestellt. Am 26.postpartalen Tag konnte ein unauffälliges, gesundes Neugeborenes entlassen werden.

Die Mutter zeigte bis zum siebten postpartalen Tag immer wieder Fieberzacken bis 39,4°C. Im Vaginalabstrich konnte ebenfalls *Listeria monocytogenes* nachgewiesen werden. Die Antibiose wurde angepasst und die Patientin erhielt Ampicillin und Gentamicin i.v., wobei bei Ampicillinunverträglichkeit auf Erythromycin umgestellt wurde. Die Antibiose wurde bis zum 15. postpartalen Tag fortgeführt. Die Placenta-

histologie zeigte umschriebene chorale Entzündungen, passend zum klinischen Bild eines AIS.

Insgesamt muss man von einer early-onset-Neugeborenenlisteriose, sowie von einer Listerieninfektion der Mutter ausgehen.

Eine Nahrungsmittel-bedingte Infektionsquelle konnte nicht detektiert werden, so dass unklar bleibt, ob es sich um eine Nahrungsmittel-assoziierte Infektion der Mutter oder eine ascendierende Infektion bei mit *Listeria monocytogenes* besiedeltem Vaginalsekret handelt.

4.10.9.2 ZNS-Listeriose eines 70jährigen Patienten

Ein weiterer Fallbericht aus dem eigenen Krankenhaus soll den Verlauf einer invasiven Listerioseerkrankung bei einem älteren Patienten demonstrieren und die Schwere eines Infektionsverlaufs verdeutlichen.

Zuverlegt aus einem peripheren Krankenhaus wird ein 70jähriger Patient auf die operative Intensivstation aufgenommen. Der Patient steht unter Betreuung, ein Alkoholabusus ist bekannt. Acht Tage zuvor wurde der Patient per Wohnungsöffnung in einem septischen Zustand vorgefunden und in ein Kreiskrankenhaus verlegt. Der Patient zeigte sich zunehmend vigilanzgemindert. Entnommene Blut- und Liquorkulturen ergaben eine Besiedelung mit *Listeria monocytogenes*. Eine Antibiose mit Ampicillin und Gentamicin i.v. wurde bereits begonnen. Bei zunehmenden Hydrocephalus internus war eine Intubation bereits nötig geworden und die Verlegung des Patienten erfolgte zur neurochirurgischen Intervention im Sinne einer Drainage. Insgesamt werden zwei Drainagen in beide Seitenventrikel gelegt. Die Förderleistung war bei sehr eiweißreichem Liquor nur gering und im CCT zeigte sich eine weitere Progredienz des Hydrocephalus. Die Antibiose wurde um Cotrimoxazol i.v. erweitert, auch hierunter zeigte sich keine Besserungstendenz der Symptomatik. Der Patient war stets tief komatös, zeigte Strecksynergismen auf starke Schmerzreize sowie zunehmend erlöschende Hirnstammreflexe. Letztlich verstarb der Patient wenige Tage später.

Eine Infektionsquelle dieser letal verlaufenden Listerienmeningitis konnte nicht eruiert werden.

4.11 Diagnostik

4.11.1 Allgemeines

L. monocytogenes ist ein wichtiges Lebensmittel-assoziiertes Pathogen und Verursacher des Krankheitsbildes der Listeriose. Daher ist eine möglichst schnelle Rückverfolgung eines klinischen Falls auf ein kontaminiertes Lebensmittel der Schlüssel für die Verhinderung eines größeren Listerioseausbruchs (Lüth, 2021). Die Serotypen 1/2a, 1/2b und 4b verursachen hierbei etwa 90% der klinischen Listeriosefälle. Daher wird vor allem in der Lebensmittelindustrie breit nach *Listeria* spp., insbesondere *L. monocytogenes*, gefahndet. Da in vielen Ländern eine so genannte „zero tolerance“ von *Listeria* spp. in Lebensmitteln besteht, wurden in den letzten 50 Jahren verschiedene Testverfahren entwickelt, angefangen von der kulturellen Anzucht des Bakteriums und der nachfolgenden Isolation über Antikörper-basierte Nachweisverfahren und molekulare Methoden, die heutzutage den Goldstandard darstellen (Gasanov, 2005; Pietzka, 2019). Die verschiedenen Testverfahren sollen eine möglichst hohe Sensitivität und Spezifität besitzen, einen hohen Probendurchlauf gewährleisten und kosteneffektiv sein. Traditionell involviert in die Identifikation von *Listeria* spp. und *L. monocytogenes* sind kulturelle Nachweisverfahren basierend auf der selektiven Anreicherung und Beimpfung bestimmter Nährmedien. Diesem Schritt folgt die Charakterisierung von *Listeria* spp. anhand des Aussehens der Kolonien, der Zuckerverwertung und der hämolytischen Eigenschaften. Die kulturellen Methoden stellten lange Zeit den Goldstandard unter den Detektions- und Isolationsverfahren dar, sind aber langwierig und zum schnellen Nachweis von *L. monocytogenes* nicht geeignet. Daher wurden die kulturellen Methoden mit Antikörper-assoziierten oder molekularen Verfahren kombiniert bzw. durch diese ersetzt (Gasanov, 2005, Nadon 2017). Da vor allem bei klinischen Listeriosefällen die schnelle Identifikation der Infektionsquelle entscheidend ist, um zum einen epidemische Ausbrüche der Krankheit zu verhindern und zum anderen eine adäquate Therapie einzuleiten sind heutzutage vor allem molekulare Nachweisverfahren maßgebend in der Aufarbeitung klinischer Proben (Liu, 2006).

Im Folgenden sollen die verschiedenen Detektions-, Isolations- und Identifikationsmethoden aufgezeigt werden.

4.11.2 Isolation

Die Isolation von *L. monocytogenes* aus Lebensmittelproben oder klinischen Proben benötigt eine selektive Anreicherung mit anschließender Beimpfung von Selektivnährböden (Schuchat, 1991). Typische Anreicherungsmedien sind die Tryptosebouillon oder auch die BHI (Brain Heart Infusion) - bouillon (Donnelly, 2007). Als früheste Anreicherungsart wurde 1948 von Gray et al., das Verfahren der kalten Anreicherung entwickelt. Diese Methode beruht auf der Eigenschaft von *L. monocytogenes* sich bei einer Temperatur von 4°C zu vermehren und zu wachsen. In einem Ansatz von Tryptosebouillon werden zu untersuchende Proben bei 4°C angereichert. Hierdurch kann ein Großteil von mikrobieller Begleitflora bereits eliminiert werden. Der Nachweis von *L. monocytogenes* mittels dieser Methode kann mehrere Wochen dauern, in einem Fall wurde eine Nachweisdauer von sechs Monaten beschrieben (Gray, 1948).

Nach erfolgter Anreicherung, wobei Tryptosebouillon das bevorzugte Medium darstellt, erfolgt das Aufbringen auf einen Tryptose-Soja-Nährboden. Die wachsenden Kolonien werden zur Identifikation von *Listeria* im Schräglicht bei 45° betrachtet, was als Henry Illumination bekannt ist (Henry, 1933). *Listeria*-Kolonien erscheinen hierbei bläulich-grünlich (Welshimer, 1981).

4.11.2.1 Selektive Anreicherung

Auch andere Bakterien wie *Proteus*, *Hafnia*, *Pseudomonas*, Enterokokken und einige Milchsäurebakterien können bei Temperaturen von 4°C auf nicht-selektiven Nährböden überleben (Albritton, 1980). Daher wurden bestimmte Selektivzusätze entwickelt, um das Wachstum von diesen Begleitorganismen zu hemmen. Als Selektivzusätze dienen Kaliumtellurit (Gray, 1950), Lithiumchlorid (Hao, 1989; Lovett, 1988), Phenylethanol (McBride, 1960), Nalidixinsäure (Khan 1972; Ortel, 1972; Seeliger, 1970), Trypaflavin/Acriflavin (Ralovich, 1972), Kaliumthiocyanat (Hao, 1989; Slade, 1987), Polymyxin B (Rodriguez, 1984), Moxalactam (Lee, 1986) oder Ceftazidim (Bannerman, 1988).

Bestimmte selektive Anreicherungsbouillons wurden entwickelt. Ein Beispiel hierfür ist die Fraser-Bouillon. In Anwesenheit von *Listeria* spp. zeigt sich eine Schwarzfärbung nach 48h Inkubationszeit. Dies wird durch eine Hydrolyse von Esculin bewirkt

(USDA/FSIS, 2002). Des Weiteren finden Anwendung die so genannte FDA (U.S. Food and Drug Administration) - BAM (Bacteriological and Analytical Method) - Bouillon (Hitchins, 2001) und die ISO (International Organization of Standards) 11290-Methode. Um ein Listeriabakterium in 25g Probenmaterial nachzuweisen ist die vorherige Anreicherung nötig um eine detektierbare Listerienanzahl von 10^4 - 10^5 CFU/ml zu erreichen (Gasanov, 2005). Dies wird sowohl bei der FDA BAM - Methode für 48h als auch bei der ISO 11290 - Methode für 24h durchgeführt bevor die jeweilige Anreicherungsbouillon auf bestimmte Selektiv-Agar (z.B. Oxford, PALCAM, MOX oder LPM) aufgetragen wird. Diese werden dann im Schnitt für fünf bis sechs Tage kultiviert, um dann durch Identifikation typischer Kolonien Listeria zu detektieren und letztlich zu isolieren.

4.11.2.2 Selektivnährböden

Seit den 1960ern wurden diverse, selektive Isolationsnährböden zur Detektion von *L. monocytogenes* entwickelt.

4.11.2.2.1 McBride Listeria Agar (MLA)

1960 konzipierten McBride und Girard (McBride,1960) den so genannten McBride Listeria Agar, kurz MLA. MLA war das erste, weit verbreitet benutzte Beimpfungsmedium zur Isolation von *L. monocytogenes* und beinhaltete verschiedene Selektivzusätze wie Phenylethanol und Lithiumchlorid. Von MLA existieren mindestens sieben Abwandlungen in Bezug auf die Originalzusammensetzung des Agars, wie z.B. MLA2. Zur Koloniebeurteilung ist die 45°-Schrägllichtbetrachtung nötig.

4.11.2.2.2 LPM-Agar

1986 entwickelten Lee und McClain (Lee,1986) einen modifizierten MLA2 Agar. Dieser Lithiumchlorid-Phenylethanol-Moxalactam-Nährboden, kurz LPM-Agar, wird vor allem zur Detektion von Listerien in Fleisch und Geflügel benutzt. Dieser Agar ist hochselektiv und besonders nützlich zur Isolation von *L. monocytogenes* in stark kontaminierten Proben (Schuchat, 1991). Zur Identifikation von Listerienkolonien ist die Henry Illumination nötig.

4.11.2.2.3 Oxford-Agar und modifizierter Oxford-Agar (MOX)

1989 wurde von Curtis et al. (Curtis, 1989) ein Nährboden entwickelt, bei dem die 45° Schräglichtbetrachtung überflüssig war. Dieser wurde als Oxford-Agar bekannt. McClain und Lee modifizierten diesen Nährboden durch Zusatz von Moxalactam; dieses Medium wurde als modifizierter Oxford Agar, kurz MOX (Donnelly, 2007), bezeichnet. *Listeria monocytogenes*-Kolonien sind auf Oxford-Agar schwarz. Nach 24h sind sie 1mm im Durchmesser groß, nach 48h erreichen sie eine Größe von 3mm und sind von einem schwarzen Halo umgeben.

4.11.2.2.4 PALCAM-Agar

Ein weiterer Selektivagar ist der so genannte PALCAM-Agar, der 1988 von van Netten et al. (Van Netten, 1988a; Van Netten 1988b; Van Netten 1989) entwickelt wurde. Proben sollten hier 40h bis 48h bei 30°C unter mikroaeroben Bedingungen (5% O₂, 7,5% CO₂, 7,5% Wasserstoff, 80% Stickstoff) inkubiert werden. Die Listerienkolonien erscheinen grau-grün, 2mm im Durchmesser und besitzen schwarze, eingesunkene Zentren. Außerdem zeigt sich ein schwarzer Halo vor kirschrotem Hintergrund. Eine Schräglichtillumination ist nicht nötig.

Die am häufigsten verwendeten Selektivnährböden sind Oxford-, PALCAM und MOX (Gasnov, 2005) und basieren auf der Esculinase-reaktion. Hierdurch erscheinen die Kolonien schwarz mit schwarzem Halo. Da aber auch Enterokokkus oder *Bacillus* spp. Esculin verwerten können und ähnliche Kolonien bilden, muss ein Bestätigungstest zum Nachweis von *Listeria* spp. durchgeführt werden. Suspekte Kolonien werden auf Tryptose-Soja-Agar aufgebracht und im 45° Schräglicht betrachtet (Welshimer, 1981). Kann der Nachweis einer Listeriabesiedelung durch diese kulturellen Verfahren erbracht werden, so muss noch zwischen den einzelnen Listeriaspezies unterschieden werden, wobei das Augenmerk speziell auf dem humanpathogenen *Listeria monocytogenes* liegt.

4.11.2.3 Differenzierung der einzelnen Listerienpezies

Hierzu dient unter anderem der CAMP (Christie, Atkins, Munch-Petersen) -Test (Groves, 1977), der eine Differenzierung der hämolytischen Listerienspezies, also *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* und *L. seeligeri*, zulässt. Hierzu werden auf einer Agarplatte ein Streifen eines β -hämolyzierenden *S. aureus*-Stammes sowie parallel dazu ein Streifen eines *Rhodococcus equi* - Stammes aufgebracht. Im rechten Winkel werden die suspekten Kulturen aufgetragen ohne die rechtwinklig verlaufenden Streifen zu berühren. In der Nähe des *S. aureus*-Streifens zeigt sich bei Anwesenheit von *L. monocytogenes* eine Hämolysezone, in schwächerer Ausprägung ist dies auch bei *L. seeligeri* der Fall. Bei Besiedelung durch *L. ivanovii* ist die Hämolysezone in der Nähe des *R. equi*-Streifens zu finden. Trotz allem muss bei diesem Test berücksichtigt werden, dass eine genaue Unterscheidung zwischen *L. monocytogenes* und *L. ivanovii* möglich ist (Vázquez-Boland, 1990).

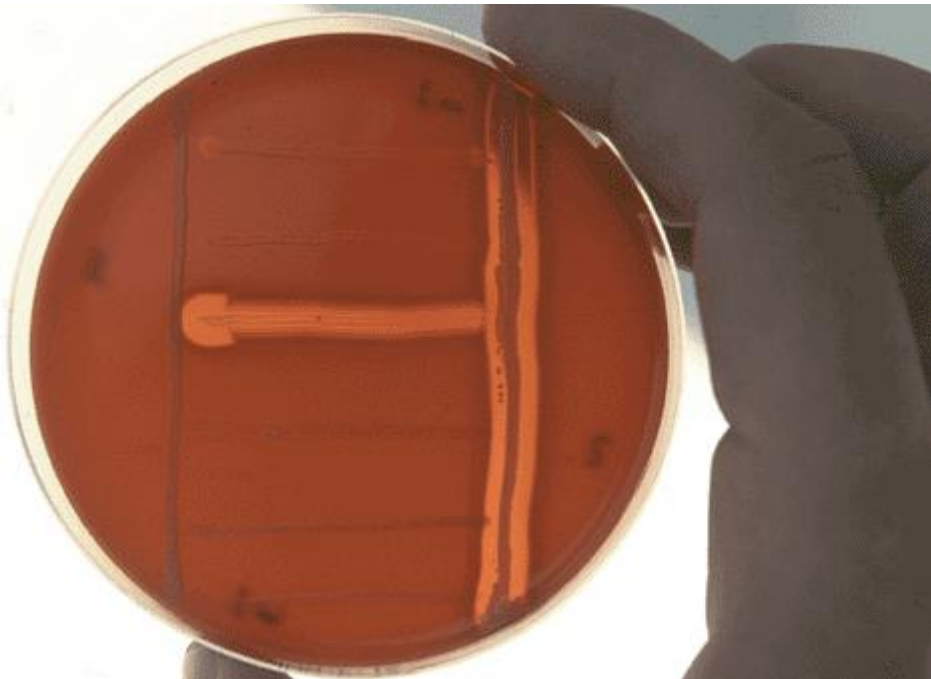


Abbildung 38: CAMP-Test: Links vertikaler Streifen: *R. equi*. Rechts vertikaler Streifen: *S. aureus*. Horizontale Streifen von oben nach unten: *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. grayi*, *L. welshimeri* (Allerberger, 2003).

Zur weiteren Unterscheidung der sechs am längsten bekannten Listerienspezies wird deren Zuckerfermentation betrachtet (siehe hierzu Tabelle 3):

		<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. welshimeri</i>	<i>L. grayi</i>
Hemolysin		+	-	+	+	-	-
Catalase		+	+	+	+	+	+
Oxidase		-	-	-	-	-	-
Fermentation of:	L-Rhamnose	+	+/-	-	-	+/-	+/-
	D-Mannitol	-	-	-	-	-	+
	D-Xylose	-	-	+	+	+	-
	α -Methyl-Mannoside	+	+	-	-	+	+

Tabelle 4: Unterscheidung der einzelnen Listerienspezies anhand ihres Hämolyseverhaltens, sowie der Zuckerfermentation (Gasanov, 2005).

Durch Einbringung chromogener Substrate in die Beimpfungsmedien kann eine direkte Identifikation der Kolonien durch eine spezifische Färbung durchgeführt werden. Dieses Färbeverhalten spiegelt die Aktivität bestimmter bakterieller Enzyme wider. Zum Beispiel kann somit die Aktivität der Phospholipase C, ein Enzym, das sich nur bei *L. monocytogenes* und *L. ivanovii* findet, gemessen werden (Notermans, 1991; Coffey, 1996). Ein anderes Enzym, welches zur Unterscheidung der einzelnen Listerienspezies dient, ist die Alanylpeptidase, welche bei *L. monocytogenes* nicht anzutreffen ist (Clark, 1997).

Ein Beispiel für ein kommerzielles chromogenes Diskriminationsmedium zeigt das nachfolgende Bild.



Abbildung 39: Verwendung des chromogenen Kulturmediums RAPID`L MONO® (Bio-Rad, Marnes la Coquette, Frankreich).

Unterscheidung zwischen *L. monocytogenes* (oben, blaue Kolonien ohne Halo), *L. ivanovii* (rechts, blaue Kolonien mit gelbem Halo) und anderer *Listerien* spp., hier *L. innocua* (unten, weiße Kolonien) und *L. seeligeri* (links, gelbe Kolonien) (Allerberger, 2003).

4.11.3 Antikörper-basierte Nachweisverfahren

Als weitere Isolationsmethode haben sich Antikörper-basierte Testverfahren, die auch mit konventionellen kulturellen Methoden kombiniert werden, etabliert. Die Tests können direkt aus der Anreicherungsbouillon erfolgen ohne eine vorherige Kolonieanzucht auf Selektivnährböden zu erfordern. Die am weitesten verbreitete Methode ist der ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Diese quantitative Nachweismethode für Antigene und Antikörper beruht auf der Koppelung mit einem Enzym und resultiert in einem Farbniederschlag. Dieser Test ist aufgrund der einfachen Handhabung und Schnelligkeit des Nachweisverfahrens in der Lebensmittelindustrie und zur Aufarbeitung klinischer Proben sehr beliebt (Gasanov, 2005).

4.11.4 Molekulare Methoden

Die molekularen Nachweisverfahren sind sehr genau, sensitiv und spezifisch und gewinnen aufgrund der Automatisierung der Tests, der breiteren Verfügbarkeit und der zunehmenden Kosteneffizienz an Bedeutung (Gasanov, 2005). Heutzutage stellt das Whole Genome Sequencing (WGS) den Goldstandard für die Typisierung und Zuordnung verschiedener *Listerien*-Stämme dar und hat die früher verwandte Pulsed Gel Elektrophorese als gängigste Methode abgelöst, da die WGS über eine höhere Genauigkeit und Diskreminierungskraft verfügt (Pietzka, 2019). Für *L. monocytogenes* bedeutet dies, dass dessen Genom mit 2,88 Millionen Einzelbasen komplett registriert wird (Eurofins, 2019).

Die derzeit verfügbaren Verfahren für die WGS-basierte Typisierung sind unterschiedlich und noch nicht vollständig harmonisiert. Der ideale Weg für die Zukunft ist die Harmonisierung der Methoden zwischen den verschiedenen Laboratorien, um einen nahtlosen Datenaustausch zu ermöglichen (Lüth, 2021).

Prinzipiell gibt es zwei Ansätze für die WGS-Typisierung. Der erste Ansatz ist ein Gen-für-Gen-Vergleich, bei dem sich die Analyse auf Allelunterschiede konzentriert (Lüth, 2021). Hier ist v.a. die cgMLST (core genome Multilocus Sequence Typing) zu nennen, die die Weiterentwicklung der MLST darstellt (Lüth, 2021).

Das zur Charakterisierung von *Listeria*-Stämmen verwendete MLST-Schema basiert auf der Sequenzanalyse der folgenden sieben Housekeeping-Gene: *acbZ* (ABC-Transporter), *bgIA* (Beta-Glucosidase), *cat* (Katalase), *dapE* (Succinyl-

Diaminopimelat-Desuccinylase), dat (D-Aminosäure-Aminotransferase), Idh (Lactat-Dehydrogenase) und IhkA (Histidin-Kinase) (Ragon, 2008; Salcedo, 2003). Als Resultat der MLST erhält man sogenannte Sequenztypen (ST), die sich nochmals in sog. Clonale Komplexe (CC) untergliedern (Ragon, 2008).

Aktuell werden hier zu Lande v.a. zwei cgMLST Sequenzprogramme verwendet, nämlich zum einen Ridom SeqSphere+ von der Arbeitsgruppe um Ruppitsch (Ruppitsch, 2015) mit 1701 Genloci, zum anderen BioNumerics (Moura, 2016), das 1748 Genloci enthält.

Vor der breiten Anwendung der MLST-Typisierung stellte die Sequenzierung von 16S RNA-Gen oder 23 S RNA-Gen ein genaues Verfahren dar. (Wiedmann, 1997; Aznar, 2002; Sallen, 1996; Thompson, 1992).

Der zweite WGS-Typisierungsansatz ist die sog. Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Analyse. In diesem Fall werden einzelne Nukleotidvariationen als Abstandsmaß zwischen bakteriellen Sequenzen verwendet. Die SNP-Analyse basiert in der Regel auf einem Vergleich mit einem ausgewählten Referenzgenom (Lüth, 2021)

4.11.4.1 DNA-Hybridisation

Bei diesem Verfahren, das die einfachste Methode zur Detektion von *Listeria* spp. und *L. monocytogenes* in Lebensmitteln darstellt, wird zu einer bestimmten Zielsequenz eine komplementäre Oligonucleotidsequenz zugesetzt. Diese Oligonucleotidsequenzen wurden früher mit radioaktiven Isotopen markiert, heutzutage geschieht dies mit Fluoreszenzfarbstoffen. Kommerziell erhältliche Hybridisierungstests werden routinemäßig in der Überprüfung von Lebensmitteln eingesetzt und intensiv bezüglich ihrer Sensitivität und Spezifität untersucht (Feng, 2001). Zielgene für die DNA-Hybridisierung von *Listeria* spp. und im Speziellen *L. monocytogenes* sind z.B. hly-Gen, iap-Gen, inl-Gene, actA-Gen, rRNA-Gene oder auch plcA-Gen oder plcB-Gen.

4.11.4.2 PCR (Polymerase Chain Reaction)

Ein sehr etabliertes Verfahren stellt heutzutage die PCR dar. Hierbei werden DNA-Sequenzen amplifiziert unter Zuhilfenahme einer hitzestabilen DNA-Polymerase und zweier spezifischer Primer. Die amplifizierten DNA-Fragmente werden dann per Agarose-Gelelektrophorese detektiert (Gasanov, 2005). Durch Zusätze wie z.B. Mg²⁺ als

enzymatischer Cofaktor kann die Spezifität der Reaktion erhöht werden (Brehm-Stecher, 2007).

Die PCR vollzieht sich in drei Schritten (Löffler, 1999):

1. Denaturierung der Doppelstrang-DNA durch Temperaturerhöhung auf 90°C
2. Abkühlung auf 50°C und Zugeben der Oligonucleotidprimer, die den 5`-Enden der beiden Einzelstränge komplementär sind
3. Komplementierung der beiden Einzelstränge zu zwei DNA-Doppelsträngen durch Zugabe der DNA-Polymerase

Die zu amplifizierende Probe wird zuvor für 24-48h selektiv angereichert, da die direkte Durchführung der PCR ohne vorherige Anreicherung unzuverlässige Ergebnisse liefert (Aznar, 2003; Allerberger, 2003). Gebräuchliche Zielgene bei *L. monocytogenes* sind das *hly*-Gen und das *iap*-Gen (Brehm-Stecher, 2007; Koo, 2002; Bubert, 1997). Als weitere Zielgene fungieren ribosomale Gene, die für 16S RNA (Wang, 1992; Somer, 2003; Koo, 2002) und 23S RNA (Paillard, 2003; Sallen, 1996) kodieren, das *actA*-Gen, das *plcA*-Gen und *plcB*-Gen, das *inlA*-Gen und *inlB*-Gen (Jaradat, 2002; Liu 2003) oder auch das *prfA*-Gen (Liu, 2003).

Eine Weiterentwicklung der herkömmlichen PCR stellt die so genannte Multiplex-PCR dar. Hierbei wird unter Nutzung multipler Primer-Sets die Detektion verschiedener bakterieller Organismen innerhalb der gleichen, zu untersuchenden Probe gewährleistet. So können z.B. *Listerienspezies* und *Salmonellen* gleichzeitig identifiziert werden (Hsih, 2001) oder auch eine gleichzeitige Unterscheidung von *L. monocytogenes* und anderen *Listerienspezies* durchgeführt werden. Die Multiplex-PCR stellt ein attraktives Analyseverfahren in der Lebensmittelindustrie dar, da die Testzeiten und die Laborkosten gesenkt werden können (Hudson, 2001; Wesley, 2002).

4.11.4.3 FISH (Fluorescence In Situ Hybridization)

Diese Methode wurde erstmal zur Detektion von Bakterien 1989 beschrieben (De-Long, 1989). Hierbei werden mit einem Fluoreszenzfarbstoff markierte Nukleinsäureproben mit komplementären rRNA-Sequenzen, welche in den Ribosomen der Zellen lokalisiert sind, hybridisiert. Diese Technik besteht aus vier Schritten, nämlich der Fixierung, der Hybridisierung, der Entfernung von unspezifisch gebundenen Proben und letztlich der Detektion. Vor dem Schritt der Hybridisierung muss die dicke Zellwand der *Listerien* durch enzymatische oder chemische Verdauungsprozesse aufge-

löst werden. Aufgrund der besseren Charakterisierung von 16S rRNA wird diese häufig mit der FISH-Technik detektiert, möglich ist aber auch die Detektion von 23S rRNA. Die Isolationsergebnisse sind dem kulturellen Nachweis äquivalent und liegen zudem 48h früher vor (Amann, 2001; Amann, 2000).

4.11.5 Epidemiologische Identifikationsmethoden von *Listeria monocytogenes*

Für epidemiologische Untersuchungen werden Nachweistechiken benötigt, die auch die Unterscheidung eng verwandter *L. monocytogenes*-Stämme zulässt, damit die Quelle eines Listerioseausbruch und das zugrunde liegende Transmissionsmuster bestimmt werden kann. Die Typisierungsmethoden teilen sich grundsätzlich in zwei Zweige, zum einen phänotypische Nachweisverfahren, zum anderen molekulare Techniken (Gasanov, 2005).

4.11.5.1 Phänotypische Typisierung

Die phänotypische Typisierung wird in drei Arme unterteilt. Zum einen die serologische Typisierung, zum anderen die Phagentypisierung und des Weiteren die enzymatische Typisierung (Gasanov, 2005).

4.11.5.1.1 Serologische Typisierungsmethoden

Dieses Nachweisverfahren basiert auf einer Antigen-Antikörperreaktion. Spezifische Antikörper reagieren zum einen mit somatischen Antigenen (O-Antigene), zum anderen mit flagellaren Antigenen (H-Antigene). Unter den *Listeria*spezies werden 15 (I-VX) somatische O-Antigene unterschieden, bei den flagellaren H-Antigenen existieren die Typen A-D (Liu, 2006; Seeliger, 1979a; Seeliger, 1986) bzw. A-E (Allerberger, 2003). Anhand der Kombination der O- und H-Antigene können die *L. monocytogenes*-Stämme und die anderen *Listeria*spezies voneinander unterschieden werden (Liu, 2006).

Diese Methode wird vor allem benutzt um die Prävalenz spezieller Serotypen von *Listeria* in epidemiologischen Untersuchungen aufzudecken. Außerdem ist dieses Verfahren ein nützliches Werkzeug zur weiteren Subtypisierung von *L. monocytogenes*.

nes, dessen Serotypen 1/2a, 1/2b und 4b bis zu 98% aller klinischen Listeriosefälle verursachen (Liu, 2006).

Serovars of <i>Listeria</i>														
Serovar	O-antigens										H-antigens			
1/2a	I	II	(III)									A B		
1/2b	I	II	(III)									A B C		
1/2c	I	II	(III)									B D		
3a		II	(III)	IV								A B		
3b		II	(III)	IV				(XII)	(XIII)			A B C		
3c		II	(III)	IV				(XII)	(XIII)			B D		
4a		(III)		(V)		VII		IX				A B C		
4ab		(III)		V	VI	VII		IX	X			A B C		
4b		(III)		V	VI							A B C		
4c		(III)		V		VII						A B C		
4d		(III)		(V)	VI		VIII					A B C		
4e		(III)		V	VI		(VIII)	(IX)				A B C		
5 ^a		(III)		(V)	VI		(VIII)		X			A B C		
6a ^a		(III)		V	(VI)	(VII)		(IX)			XV	A B C		
6b ^a		(III)		(V)	(VI)	(VII)		IX	X	XI		A B C		
7		(III)									XII	A B C		
<i>L. grayi</i>		(III)									XII	XIII	XIV	E

Tabelle 5: Auflistung der Serovare von *Listeria monocytogenes* (Allerberger, 2003).

4.11.5.1.2 Phagentypisierung

Diese Methode basiert auf der spezifischen Bakteriophageninteraktion mit dem dementsprechenden Listerienwirtszellorganismus. Durch den Bakteriophagen wird der Listerienwirt lysiert. Seit 1985 stellt diese Nachweisteknik ein etabliertes Verfahren in der phänotypischen Listeriencharakterisierung dar (Rocourt, 1985). Ein Nachteil ist jedoch, dass nicht alle *L. monocytogenes*-Stämme mit Phagen typisierbar sind, vor allem die *L. monocytogenes*-Stämme des Serotyps 1/2 (McLauchlin, 1986). Auch Stämme des Serovars 3 sowie von *L. grayi* können auf diese Weise nicht typisiert werden, so dass man insgesamt ca. 105 der Listerienstämme mit dieser Technik nicht erfassen kann (Liu, 2006).

Durch ein international verwendetes Set an spezifischen Bakteriophagen konnte aufgezeigt werden, dass die Typisierbarkeit der einzelnen Stämme geographische Unterschiede erkennen lässt, so dass diese Methode für epidemiologische Untersuchungen nur bedingt geeignet ist (McLauchlin, 1986)

4.11.5.1.3 Multilokuläre Enzymelektrophorese (MEE)

Die multilokuläre Enzymelektrophorese stellt eine gut etablierte Typisierungstechnik dar, die vor allem in den frühen 1990er Jahren für epidemiologische Untersuchungen bei Listerioseausbrüchen in den USA als auch in Europa angewendet wurde (Bibb,

1990; Graves, 1994; Norrung, 1992). Die Technik basiert auf der Beobachtung, dass Unterschiede in der Aminosäuresequenz Unterschiede in der elektrostatischen Ladung der Proteine bedingen und letztlich zu einer unterschiedlichen elektrophoretischen Mobilität führen. Die differierende Mobilität spiegelt also direkt eine Allelvariation der Gene wider, die für diese Proteine kodieren. Die MEE wurde auch zur Analyse von Taxonomie- und Genus-Charakteristika von Listerien benutzt (Boerlin, 1991). Die MEE stellt eine laborintensive Methode dar und findet daher nur bei bestimmten epidemiologischen Fragestellungen Anwendung (Graves, 2007).

4.11.5.2 Molekulare Typisierung

4.11.5.2.1 Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE)

Die PFGE stellt eine gut reproduzierbare und hoch diskriminative molekulare Typisierungstechnik dar. Das Verfahren wurde 1984 durch Schwartz et al. als Variation der normalen Gelelektrophorese entwickelt. Die Methode basiert auf den Restriktionsfragmentlängenpolymorphismen (RFLP) bakterieller DNA. Die PFGE erlaubt die Analyse von großen DNA-Fragmenten. Hierbei werden unter Zuhilfenahme von Restriktionsenzymen DNA-Fragmente mit einer Größe von 40-600kb erzeugt. Durch eine wechselnde, so genannte gepulste Spannung, welche am Agarosegel angelegt wird, kommt es zur Auftrennung der DNA-Fragmente anhand ihrer Größe. Dies resultiert in der Regel in 8-25 verschiedenen Banden innerhalb des Gels (Schwartz, 1984; Liu, 2006). Die PFGE benötigt zwischen 30h-50h. Anhand der verschiedenen Bandenmustern kann *L. monocytogenes* in Subtypen bzw. so genannte Pulsotypen klassifiziert werden (Brosch, 1996; Graves, 1994). Damit ist die PFGE sehr zeitintensiv, teuer und schwer zu standardisieren, so dass die PGFE nur spezialisierten Referenzlaboren vorbehalten war (Ruppitsch, 2015, Liu, 2006).

Die PFGE war vor allem für die Subtypisierung des Serovars 4b, das durch andere Typisierungsverfahren oft nicht ausreichend typisiert werden konnte, ein wichtiges Tool (Brosch, 1996). In den USA wurde von der CDC (Centers for Disease Control and Prevention) ein Netzwerk von speziellen Laboratorien etabliert, damit Lebensmittel assoziierte Pathogene möglichst schnell typisiert und Ausbreitungsmuster einer bestimmten Quelle zugeordnet werden können. Dieses so genannte PulseNet ermöglicht den Vergleich von PFGE-Bandenmustern, auch via Internet, und teilneh-

mende Laboratorien können somit Listerioseausbrüche schnell erkennen und untersuchen (Centers for Disease Control and Prevention 2000,2001, 2002; Nadon, 2017). Die PGFE wurde vor der Zeit des Next Generation Sequencing sogar als Platinium - Standard bezeichnet (Graves, 2007).

4.11.5.2.2 Ribotyping

Die Methode basiert auf Unterschieden in ribosomalen Genen und Proteinen. Hierbei wird chromosomale DNA mit Hilfe von Restriktionsenzymen verdaut und anschließend unter Nutzung von rRNA hybridisiert. Die daraus resultierenden Bandenmustern unterteilen die Listeriaisolate in so genannte Ribotypen, wodurch die Verwandtschaftsbeziehungen der Isolate dargestellt werden kann (Boerlin, 1995). Häufig benutzte Restriktionsenzyme sind EcoRI, PvuII oder XhoI. Diese Enzyme spalten die DNA in viele Fragmente (>300-500) mit einer Größe von 1-30kb (Liu, 2006). Diese DNA-Fragmente werden dann per Agarosegelelektrophorese getrennt, per Southern blot auf eine Membran transferiert und mittels einer Sonde, welche von E. coli stammt und für rRNA kodiert, detektiert.

Das Ribotyping stellt eine konstante und reproduzierbare Typisierungstechnik dar, deren Diskriminationskraft mit der der PFGE vergleichbar ist. Da hierfür kein spezielles Equipment benötigt wird, ist das Ribotyping eine häufig benutzte Technik zur Subtypisierung von *L. monocytogenes*. Ein kommerziell erhältlicher Ribotyping-Test (RiboPrinter®) macht das Ribotyping für epidemiologische Untersuchungen von Erkrankungen, die durch *L. monocytogenes* ausgelöst werden, interessant (Liu, 2006). Die Diskriminationskraft der Methode kann durch Kombination mit anderen molekularen Verfahren wie der PFGE oder der PCR erhöht werden (Graves, 2007).

4.11.5.2.3 Restriktionsenzymanalyse (REA)

Restriktionsenzyme erkennen und schneiden bestimmte Sequenzen innerhalb der DNA, wodurch sich spezifische Bandenmuster der unterschiedlich großen DNA-Fragmenten ergeben. Die genetische Verwandtschaft lässt sich dann anhand eines Anzahl- und Größenvergleichs der Fragmente, die per Gelelektrophorese getrennt werden, ermitteln. Die Anzahl und Größe der Fragmente richten sich nach dem G+C-Gehalt bzw. A+T-Gehalt der zu untersuchenden Organismen (Graves, 2007). Die

REA entspricht einer Makrorestriktionsanalyse bakterieller DNA. Die Kombination mit der PFGE erhöht die Aussagekraft dieser Technik. Vorteile zum Nachweis von *L. monocytogenes* bei dieser Technik sind, dass sie universell einsetzbar, sensitiv, kosteneffektiv und relativ leicht durchführbar ist. Trotzdem lassen sich mit der REA nur schwer Vergleiche zwischen einzelnen Stämmen ziehen, da die Bandenmuster sehr komplex sind und aus hunderten von Banden bestehen können. Daher ist die REA nicht geeignet um eine große vergleichbare, dynamische Datenbank zu etablieren (Graves, 2007). Die REA kann für die Typisierung der Serotypen 1/2 und 4 von *L. monocytogenes* durchaus geeignet sein (Sauders, 2003; Bille, 1996).

4.11.5.2.4 PCR-basierte Typisierungsmethoden

Hierbei lassen sich grundsätzlich zwei verschiedene Methoden voneinander unterscheiden. Zum einen die so genannte RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) bei der unspezifische Primer eine zufällige Amplifizierung von DNA-Fragmenten bewirken, zum anderen werden spezifische Zielsequenzen amplifiziert und die resultierenden PCR-Produkte werden per Restriktionsenzymen verdaut und dann bezüglich der Länge der DNA-Fragmente (RFLP = Restriction Fragment Length Polymorphisms) oder bezüglich deren Konformationsänderungen (SSCP = Single Strand Conformational Polymorphism) analysiert (Gasanov, 2005).

4.11.5.2.4.1 RAPD

Durch Nutzung eines einzelnen unspezifischen Primers oder eines Universalprimers wird die DNA anhand der Anzahl und Größe der erzeugten Fragmente charakterisiert. Die Primer sind typischerweise zwischen 8-10bp lang und die Kenntnis der zu amplifizierenden Zielsequenz ist nicht nötig. Die gleichen Primer können für die unterschiedlichen *Listeria*spezies benutzt werden. Die Anwendbarkeit dieser Technik zur Typisierung von *L. spp.* und zur Subtypisierung von *L. monocytogenes* wurde in verschiedenen Studien belegt (Boerlin, 1995; Mazurier, 1992a; Mazurier, 1992b). Die RAPD hat sich vor allem bei epidemiologischen Untersuchungen bei Listerioseausbrüchen bewährt. Dieses Typisierungsverfahren lässt sich einfach anwenden, *Listeria spp.* können relativ schnell bis zum Subspezieslevel typisiert werden und es kann eine hohe Probenanzahl gescreent werden (Gasanov, 2005).

4.11.5.2.4.2 PCR-RFLP

Hierbei wird per PCR ein bestimmtes Zielgen amplifiziert und das resultierende PCR-Produkt wird per Restriktionsenzym verdaut. Die Restriktionsfragmente werden anhand ihrer Länge per Elektrophorese getrennt. Die genetische Verwandtschaft zeigt sich durch Anzahl und Größenvergleich. Zielgene zur Detektion von *L. monocytogenes* sind zum einen ribosomale Gene und zum anderen Gene von Virulenzfaktoren, wie *hly*, *iap* oder *inlA/inlB*. Bei dieser Technik kann eine große Probenanzahl in relativ kurzer Zeit untersucht werden. Allerdings ist die Diskriminationskraft der Methode nicht hoch, so dass sie für epidemiologische Untersuchungen nur bedingt einsetzbar ist (Gasanov, 2007).

4.11.5.2.4.3 SSCP

Diese konformationale Polymorphismusanalyse (Einzelstrang Konformations Polymorphismus) basiert auf der Annahme, dass eine Veränderung in der Nukleotidsequenz eines PCR-Produkts, eine Konformationsänderung im Endprodukt bewirkt. Diese Konformationsänderung kann per Gelelektrophorese detektiert werden. Am häufigsten wird hierbei die so genannte „Capillary Electrophoresis“(CE) angewendet, da so Sequenzunterschiede von nur einem Nukleotid dargestellt werden können, was ansonsten nur durch die kostenintensive direkte DNA-Sequenzierung bewerkstelligt werden kann. *L. monocytogenes* wurde durch SSCP von 16S rDNA und der Virulenzgene *hly* und *iap* typisiert (Andersen, 2003; Vaneechoutte, 1998; Wagner, 2000).

4.12 Die Therapie der Listeriose

4.12.1 Allgemeines

Trotz des hohen Expositionsrisikos, welches im ubiquitären Vorkommen von *L. monocytogenes* begründet liegt, ist die Entwicklung einer Listerioseinfektion ein eher seltenes Ereignis, welches vor allem immungeschwächte Personen betrifft (Gellin, 1989). Auf den ersten Blick erscheint es unverständlich warum die Listeriose mit einer Mortalität von 30% verknüpft ist, obwohl *L. monocytogenes* sich auf fast alle gebräuchlichen Antibiotika sensibel zeigt. Dieses Therapieversagen liegt zum einen in der fakultativ intrazellulären Lage der Bakterien begründet, weil diese sich somit in eine therapeutisch schwer erreichbare Nische flüchten, zum anderen wird die Diagnose der Listerioseerkrankung aufgrund der Seltenheit und der zunächst unspezifischen Symptome oft verkannt und die Therapie damit verzögert. Ein weiterer Grund ist sicher, dass die Listerioseinfektion hauptsächlich Menschen mit geschwächten Immunsystem betrifft und die körpereigenen Abwehrkräfte, welche für die endgültige Clearance des Organismus von *L. monocytogenes* nötig sind, nicht ausreichen und es daher auch zu einem Therapieversagen der eingesetzten Antibiotika kommen kann.

L. monocytogenes zeigt sich einer Bandbreite von gebräuchlichen Antibiotika gegenüber sensibel. Erwähnenswert ist die grundsätzliche Resistenz gegenüber neueren Cephalosporinen, sowie gegenüber Fosfomycin und Nalidixinsäure (Hof, 1997; Jones, 1995; Slade, 1990). Unter natürlichen Bedingungen konnte eine Resistenz gegenüber Penicillinantibiotika noch nie beobachtet werden (Hof, 1997; Hof, 2004; Jones, 1995).

In der nachfolgenden Tabelle ist eine breite Auswahl an Antibiotika aufgelistet. Angegeben ist die minimale Hemmkonzentration (MIC = minimal inhibitory concentration), sowie der bakterio-statische und/oder auch bakterizide Effekt der einzelnen Antibiotika (Hof, 2003b; Hof, 2004).

Antibiotikum	MIC(mg/l)	Bakteriostatisch			Bakterizid		
		Sensibel	Intermediär	Resistent	Ja	Schwach	Nein
Penicillin	0,12-1	+				+	
Ampicillin/ Amoxicillin	0,12-1	+				+	
Cefalothin	0,25-16		+				+
Cefotaxim/ Cefuroxim	4-128			+			+
Imipenem	0,03-0,12	+				+	
Gentamicin	<0,25-0,5	+			+		
Rifampicin	<0,008- 0,6	+					+
Chloramphenicol	<2-16	+					+
Tetracycline	0,12-0,32	+					+
Cotrimoxazol	<0,03- 0,06	+			+		+
Erythromycin	0,06-0,25	+					+
Ciprofloxacin	0,5-2	+			+		
Moxifloxacin	0,12-1	+			+		
Nalidixinsäure	>128			+			+
Vancomycin	1-2	+			+		
Fosfomycin	4-2048			+			+
Clindamycin	0,25-4		+				+

Tabelle 6: Auswahl gebräuchlicher Antibiotika mit Angabe der MIC, sowie des bakteriostatischen und/oder bakteriziden Effekt (eigene Erstellung, angelehnt an Hof 2003b; Hof 2004).

Resistenzen gegenüber bestimmten Antibiotika, wie z.B. Makroliden oder Trimethoprim (Hof, 2003b), können Plasmid kodiert sein, wohingegen Resistenzen gegenüber bestimmten Tetracyclinen auch chromosomal bedingt sein könnten (Slade, 1990). Da sich in-vitro Plasmidübertragungen mit bestimmten Resistenzeigenschaften leicht von Enterokokken auf *L. monocytogenes* durchführen lassen, ist es leicht

vorstellbar, dass ein solcher Plasmidtransfer auch unter natürlichen Bedingungen kein seltenes Ereignis darstellt, z.B. im Stuhl von Tier und Mensch (Hof, 1997).

Die generelle Empfindlichkeit gegenüber einem Antibiotikum kann sich aufgrund eines sich ändernden Selektionsdrucks, wie es z.B. beim unkritischen Einsatz von Antibiotika in der Tierzucht vorkommt, wandeln.

Für die Wirksamkeit eines Antibiotikums gegenüber *L. monocytogenes* ist nicht nur der direkte bakteriostatische bzw. bakterizide Effekt auf extrazellulär liegende Bakterien von entscheidender Bedeutung, sondern auch der intrazelluläre Effekt. Hierzu muss der Wirkstoff in die Zelle aufgenommen werden, entweder durch passive Diffusion oder durch aktiven Transport. Diese Aufnahme differiert von Zelltyp zu Zelltyp. Bestimmte Zellen verfügen über spezielle Membrantransportsysteme, die aufgenommene Antibiotika sofort wieder exportieren (Nichterlein, 1995). Auch könnte die Höhe der Bakterienlast einer Zelle die Aufnahme eines medikamentösen Wirkstoffs verhindern bzw. hemmen. Wichtig ist auch, dass das Medikament intrazellulär verbleibt und nicht aufgrund einer sinkenden extrazellulären Konzentration wieder nach außen diffundiert, was z.B. bei Fluorochinolonen beobachtet werden kann (Hof, 1991). Der therapeutische Erfolg hängt auch nicht von der bloßen intrazellulären Präsenz des Antibiotikums ab, sondern entscheidend ist auch, dass das Medikament Zugang zu den intrazellulären Kompartimenten erlangt, in denen sich die Pathogene befinden, so dass eine Interaktion überhaupt möglich ist. β -Lactam-Antibiotika können nur in geringen Mengen die Wirtszellmembran überwinden und verbleiben dann hauptsächlich im Cytosol. Vancomycin hat zwar eine gute Penetrationsfähigkeit, bleibt aber an der Zellmembran verhaftet. Gentamicin wird exklusiv in Lysosomen transportiert und gelangt folglich nur mit intrazellulären Bakterien in Kontakt, wenn ein Lysosom mit einem Phagosom, welches *L. monocytogenes* enthält, verschmilzt (Hof, 2004). Auch die intrazellulären Bedingungen wie pH oder Proteinbindung beeinflussen die Aktivität des jeweiligen Antibiotikums. Gentamicin liegt bei einem niedrigen pH-Wert nur in seiner inaktiven, protonischen Form vor. Andere Medikamente ohne antimikrobielle Eigenschaften können ebenfalls die Wirksamkeit des verabreichten Antibiotikums beeinflussen, sei es durch Akkumulation, Aktivitätsänderung oder anderer Verteilung (Hof, 1997; Hof, 2004).

4.12.2 Verschiedene Antibiotika

Da sich *Listeria monocytogenes* einer ganzen Bandbreite von Antibiotika gegenüber sensibel zeigt, wurden diverse Antibiotika in in-vitro Versuchen, in Zellkulturen und im Tierexperiment untersucht. Hierbei zeigten sich durchaus Diskrepanzen zwischen den in-vitro Versuchen und den klinischen Ergebnissen (Hof, 1997).

Als klinische Therapie der ersten Wahl gilt nach wie vor die Kombinationstherapie von Ampicillin und Gentamicin.

Als adäquater Ersatz bei Penicillinallergie kommt Cotrimoxazol zum Einsatz. Auch eine Reihe weiterer Antibiotika wurden im klinischen Einsatz erprobt, wobei deren Applikation nur bei Versagen der Standardtherapie oder speziellen Indikationen zum Tragen kommt. Andere Antibiotika wiederum wurden nur experimentell eingesetzt, wobei eine wirkliche Erweiterung der Therapie bisher nicht erreicht werden konnte (Hof, 2004).

4.12.2.1 β -Lactam-Antibiotika

Zu den β -Lactamantibiotika gehören Penicilline, Cephalosporine, Carbapeneme und des Weiteren Monobactame und Clavulansäurederivate (Lang-Roth, 2004). In der Therapie der Listeriose kommen jedoch nur Penicilline und Carbapeneme zum Einsatz, da bezüglich der Cephalosporine und Monobactame bis auf wenige Ausnahmen eine generelle Resistenz der Listerien besteht (Hof, 2003b). Diese Resistenz der Cephalosporine hängt mit der niedrigen Bindungsaffinität gegenüber den so genannten Penicillin-Bindungs-Proteinen (PBP) der Listerien zusammen. Listerien besitzen fünf verschiedene PBPs in unterschiedlicher Anzahl und mit charakteristischer molekularer Masse. Die PBPs dienen der Synthese der Bakterienzellwand (Lang-Roth, 2004). Die jeweilige Ausstattung mit PBP's ist für jede Listerienspezies unterschiedlich, allen gemeinsam ist nur PBP3 (Hakenbeck, 1991). Penicillinantibiotika binden mit hoher Affinität an PBP3 und PBP5; durch Blockade dieses Proteins kann die bakterielle Zellwand nicht synthetisiert werden und führt letztlich zum Absterben der Bakterien (Vicente, 1990). Die Bindungsaffinität der verschiedenen β -Lactam-Antibiotika ist variabel, so dass die Blockade dieser Proteine nicht zwingend zum Abtöten der Bakterien führt. Nur durch Blockade mehrerer PBP's und Sättigung eines

Großteils jedes einzelnen PBPs bezüglich der Anzahl führt zu einem effektiven Abtöten der Bakterien (Hof, 1997).

β -Lactam-Antibiotika zeigen gegenüber den meisten Isolaten von Listerien einen bakteriostatischen Effekt, wobei ein bakterizider Effekt nach längerer Exposition des Erregers gegenüber dem verabreichten Antibiotikum erreicht werden kann. Bei den meisten Stämmen kann der so genannte „Eagle-Effect“ beobachtet werden: Eine steigende β -Lactam-Konzentration führt zum Anstieg der MBC (minimal bactericidal concentration), wobei der zugrunde liegende Mechanismus noch unklar ist (Hof, 1997). Dies bedeutet, dass eine breite Kluft zwischen der MIC und der MBC klafft, vor allem wenn der Empfindlichkeitstest bereits nach 24h abgelesen wird (Hof, 2003b).

Aufgrund der hauptssächlich bakteriostatischen Aktivität der β -Lactam-Antibiotika werden, um einen effektiveren Therapieansatz zu erreichen, diese für gewöhnlich mit einem Aminoglycosid kombiniert, welches bakterizid wirkt (Hof, 1997). Außerdem erhöht der Einsatz der Aminoglycoside den nur geringen bakteriziden Effekt der β -Lactam-Antibiotika (Hof, 2003b).

β -Lactam-Antibiotika können in Schwangerschaft und Neugeborenenperiode eingesetzt werden.

4.12.2.1.1 Penicilline

Penicillinantibiotika sind generell wirksam gegenüber *L. monocytogenes*. Für die Therapie der Listeriose haben sich Aminopenicillene als am besten geeignet erwiesen und stellen das Mittel der Wahl in der Behandlung dar. Hierbei lässt sich ein leichter Vorteil von Amoxicillin gegenüber Ampicillin feststellen (Marklein, 1981; Hof, 2003b). Acylureidopenicilline sind weniger effektiv als Aminopenicilline (Espaze, 1988; Hof, 1997). Auch in subinhibitorischer Konzentration führt Ampicillin zu einer reduzierten Listeriolysin-Produktion, wobei das Wachstum der Bakterien nicht wesentlich beeinflusst wird.

4.12.2.1.2 Cephalosporine

Diese Antibiotikagruppe hat sich in der Therapie der Listeriose aufgrund der generellen Resistenz, vor allem gegenüber Cephalosporinen der 3. Generation, als völlig in-

effektiv erwiesen (Niemann, 1980; Troxler, 2000). Über die Entwicklung einer Listerienmeningitis unter laufender Cephalosporintherapie wurde mehrfach berichtet (Lorber, 1997; Lorber, 1975; Espaze, 1988).

4.12.2.1.3 Carbapeneme

Diese Substanzgruppe zeigt gute antimikrobielle Eigenschaften, auch intrazellulär, was sowohl in Zellkulturen als auch im Tierversuch betätigt werden konnte (Carryn, 2002). Da Imipenem einen gewissen konvulsiven Effekt besitzt, sollte der Einsatz von Meronem bevorzugt werden. Allerdings zeigten sich hierunter auch Therapieversager, so dass ein routinemäßiger Einsatz dieser Substanzen nicht erfolgt, da sie sich auch der Therapie mit Aminopenicillinen unterlegen zeigen (Hof, 2004; Stepanovic, 2004).

4.12.2.2 Aminoglycoside

Aminoglycoside wirken bakterizid und stellen in der Kombination mit Aminopenicillinen die Therapiestrategie der ersten Wahl in der Behandlung der Listeriose dar (Hof, 2004). Der bakterizide Effekt zeigt sich bereits nach 1-2h (Hof, 1997). Vor allem Gentamicin hat sich zum Standardpräparat in der Listeriosetherapie entwickelt. Grundsätzlich muss bei der Therapie mit Aminoglycosiden die Nierenfunktion engmaschig überwacht werden und sollte vor allem wenn auch andere nephrotoxische Medikamente zum Einsatz kommen eine Therapiedauer von 14 Tagen nicht übersteigen (Hof, 2004). Aminoglycoside sind in der Schwangerschaft aufgrund der Oto- und Nephrotoxizität kontraindiziert (Lang-Roth, 2004).

4.12.2.3 Cotrimoxazol

Das Kombinationspräparat Cotrimoxazol, bestehend aus Trimethoprim und Sulfamethoxazol, wird als Mittel der zweiten Wahl bei der Listeriosetherapie eingesetzt (Hof, 1997; Winslow, 1982). Cotrimoxazol wird vor allem bei Penicillinallergie verwendet (Lorber, 2007). In einer unkontrollierten Studie von 1996 (Merle-Melet, 1996) zeigte die Kombinationstherapie von Cotrimoxazol und Ampicillin eine geringere Versagerquote und weniger neurologische Residuen als die Standardkombinationstherapie

Ampicillin und Gentamicin. Cotrimoxazol besitzt einen bakteriziden Wirkmechanismus, der Effekt kann nach 6-24h beobachtet werden (Winslow, 1982). Über eine Resistenz gegenüber der Hauptwirksubstanz Trimethoprim wurde erst einmal berichtet (Charpentier, 1995), denn eine Resistenz pathogener Listerien gegenüber Antifolaten ist eher selten und eher mit einer Resistenz gegenüber Sulfamethoxazol verknüpft. Cotrimoxazol scheint auch eine gute Aktivität im ZNS zu besitzen und zeigte sich im Tierexperiment bei der Enzephalitisbehandlung Ampicillin bzw. Amoxicillin äquieffektiv (Michelet, 1999; Blanot, 1999). Des Weiteren kann Cotrimoxazol in infizierte Wirtszellen penetrieren (Michelet, 1997). Cotrimoxazol sollte in der Schwangerschaft, vor allem Frühschwangerschaft wegen des Anti-Folat-Effekts (Janakiraman, 2008), und Stillzeit vermieden werden. Auch für Früh- und Neugeborene besteht wegen der möglichen Entwicklung eines Kernikterus eine Kontraindikation (Lang-Roth, 2004).

4.12.2.4 Makrolide

Makrolide sind bakteriostatisch wirkende Antibiotika, die vor allem bei Penicillinallergie in der Schwangerschaft zum Einsatz kommen. Hierbei zeigt sich eine gewisse Überlegenheit von Clarithromycin gegenüber Erythromycin, Azithromycin ist weniger effektiv im Vergleich zu Erythromycin (Hof, 1997; Bauer, 1993). In Untersuchungen wurden in Fruchtwasser und fetalem Serum nur subtherapeutische Konzentrationen erreicht, ohne dass mit einem gewissen Konzentrationsverlust bei Überschreiten der maternofetalen Barriere zu rechnen ist (Temple, 2000; Mylonakis, 1998).

4.12.2.5 Lincosamine

Hier zeigte sich vor allem Clindamycin hocheffektiv gegenüber Listerien spp. Routinemäßig wird es in der Behandlung der Listeriose jedoch nicht eingesetzt (Hof, 1997). Es besteht eine Kontraindikation für Schwangerschaft, Stillzeit und Neonatalperiode (Lang-Roth, 2004).

4.12.2.6 Rifampicin

Rifampicin zeigt in-vitro eine gute Aktivität gegenüber Listerien. Es wirkt hauptsächlich bakteriostatisch, kann aber auch gegenüber intrazellulären Bakterien einen ge-

wissen bakteriziden Effekt aufweisen (Hof, 1997). Da Rifampicin die Blut-Liquor-Schranke passieren kann und auch effektiv gegen intrazelluläre Bakterien wirkt, könnte die Hinzunahme in der Behandlung von ZNS-Infektionen vor allem bei immungeschwächten Personen in Erwägung gezogen werden (Hof, 2003b). Die tierexperimentellen Daten bezüglich einer triple-Therapie mit Ampicillin, Gentamicin und Rifampicin zeigten hohe Heilungsraten, wobei die Daten im klinischen Einsatz bisher nicht überzeugen konnten (Hof, 2004; Scheld, 1983). Rifampicin ist vor allem im ersten Trimenon der Schwangerschaft kontraindiziert (Lang-Roth, 2004).

4.12.2.7 Fluorochinolone

Chinolone spielen in der Listeriosetherapie keine wesentliche Rolle, da der Hauptaktivitätsbereich eher im Gram-negativen Bereich liegt, als bei Gram-positiven Erregern (Michelet, 1994). In in-vitro Versuchen konnten Listerien mit einer hohen Resistenz gegenüber Chinolonen isoliert werden (Boisivon, 1990). Vielversprechend zeigen sich aber die Chinolone der 4. Generation wie z.B. Moxifloxacin (Hof, 2004; Nichterlein, 1998), wobei noch kein routinemäßiger klinischer Einsatz dieser Antibiotika existiert. Chinolone können in Schwangerschaft und bei Kindern nicht eingesetzt werden (Lang-Roth, 2004).

4.12.2.8 Tetracycline

Tetracycline sind bakteriotatisch wirkende Antibiotika. Aufgrund der hohen Rate an Spontanresistenzen als auch per Plasmiden erworbenen Resistenzen (Hof, 1997; Charpentier, 1995; Poyart-Salmeron, 1990) gegenüber den Tetracyclinen werden diese in der Therapie der Listeriose nicht eingesetzt, obwohl sie eine gute Aktivität in in-vitro Versuchen und Zellkulturen gezeigt haben (Hof, 2004).

4.12.2.9 Glycopeptide

Bisher zeigten sich alle in Versuchsreihen getesteten *L. monocytogenes*-Isolate Glycopeptiden wie Vancomycin oder Teicoplanin gegenüber sensibel (Hof, 1997; Berner, 1988). Vancomycin wird vor allem bei der Listerienendokarditis eingesetzt (Fernandez Guerrero, 2004). Es wirkt bakterizid hauptsächlich gegenüber extrazellu-

lären Bakterien, intrazellulär liegende Listerien werden von Vancomycin nicht erreicht, da es nach Penetration der infizierten Wirtszelle an der Zellmembran haften bleibt. Die Aussagen bezüglich des Einsatzes von Vancomycin bleiben jedoch widersprüchlich. Nachdem es als adäquate Alternative zu Ampicillin oder Cotrimoxazol bei allergischen Patienten eingesetzt wurde (Bonacorsi, 1993), wurde aber auch die Entwicklung einer Meningitis unter dieser Behandlung beschrieben (Baldassarre, 1991). Möglicherweise hängt dies mit der schlechten Liquorpenetration der Glycopeptide zusammen.

4.12.2.10 Chloramphenicol

Chloramphenicol ein bakteriostatisch wirkendes Medikament galt früher als Medikament der Wahl bei vorliegender Penicillinallergie. Aufgrund hoher Versager- und Rückfallquoten kommt es heutzutage nicht mehr zum Einsatz (Lorber, 2007; Cherubin, 1991).

4.12.3 Krankheitsbezogene Therapieregime

4.12.3.1 Bakteriämie/Sepsis

Antibiotikum der ersten Wahl ist Ampicillin bzw. Amoxicillin. Wichtig ist die Dosierung hoch genug zu wählen. Empfohlen werden $\geq 6\text{g/d}$ i.v. in 3-4 Einzeldosen. Ist der Patient über 50 Jahre oder liegen zusätzliche Risikofaktoren vor sollte die Therapie mit Gentamicin, 1x 360mg i.v./d über 1h, ergänzt werden. Als zweite Wahl käme Cotrimoxazol zum Einsatz. Hier sollten 200-320mg/d (Trimethoprim-Anteil) gegeben werden. Bei guter oraler Bioverfügbarkeit kann dieses Medikament auch oral appliziert werden. Als weitere Alternativen kämen auch Erythromycin 4g/d oder auch Vancomycin 3x1g/d in Betracht. Die Therapiedauer beträgt mindestens 14 Tage, bei immunsupprimierten Personen kann die Therapiedauer durchaus verlängert werden müssen (Janakiraman, 2008; Hof, 2004).

4.12.3.2 Bakteriämie/Sepsis in der Schwangerschaft

Hierbei ist ebenfalls Ampicillin das Mittel der ersten Wahl. Eine Dosierung von $\geq 6\text{g/d}$ i.v. in 3-4 Einzeldosen sollte auch hier nicht unterschritten werden. Bei Penicillinallergie kommt nur Erythromycin 4g/d als Alternative in Frage. Die Erfahrung mit anderen Antibiotika wie Meronem oder Linezolid sind begrenzt. Eine generelle Empfehlung bezüglich der Therapiedauer fehlt. Die antibiotische Therapie sollte mindestens 7-14 Tage durchgeführt werden, wobei auch von Behandlungszeiträumen von mindestens 3-4 Wochen oder auch bis zur Entbindung berichtet wird (Janakiraman, 2008; Mylonakis, 2002; Silver, 1998).

4.12.3.3 Neugeboreneninfektion

Sowohl bei der early-onset-Listeriose als auch bei der late-onset-Listeriose ist die Kombination von Ampicillin und Gentamicin die Therapie der Wahl. Die Therapiedauer sollte mindestens 14-21 Tage betragen (Hof, 2004; Temple 2000). Die Prognose der late-onset-Listeriose ist deutlich besser als die der early-onset-Listeriose und kann bei frühzeitiger Diagnose und Therapie bis zu 80% betragen (Hof, 2004).

4.12.3.4 Meningitis/Enzephalitis

Die Kombinationstherapie aus einem Aminopenicillin (entweder Ampicillin oder Amoxicillin) und einem Aminoglycosid bleibt auch bei einer ZNS-Infektion die Medikation der ersten Wahl. Bei Einsatz von Ampicillin sollte die Dosierung $\geq 6\text{g/d}$ i.v. in 3-4 Einzeldosen sowie Gentamicin $1 \times 360\text{mg/d}$, wobei die Infusionsdauer 1h sein sollte, betragen. Je nach klinischem Bild können aber auch weit höhere Dosierungen nötig sein, so berichtet bei einer ZNS-Infektion einer Schwangeren mit einer Tagesdosis Ampicillin von 18g/d (Kalstone, 1991). Bei Symptompersistenz kann die Hinzunahme von Rifampicin oder Cotrimoxazol in Erwägung gezogen werden. Bei Penicillinallergie ist Cotrimoxazol $200\text{-}320\text{mg/d}$ (Trimethoprim-Anteil) Mittel der zweiten Wahl. Die Behandlungsdauer beträgt mindestens drei Wochen (Temple, 2000). Die Therapie sollte in jedem Fall bis zur vollständigen Eradikation des Erregers fortgeführt werden, so dass ein Rückfall verhindert wird. Behandlungsdauern von bis zu 3 Monaten sind in der Literatur beschrieben (Skogberg, 1992).

4.12.3.5 Gehirnbrunn

Hier kommt Ampicillin hochdosiert zum Einsatz mit einer Tagesdosis von 14g/d sowie Gentamicin 2,5mg/kgKG/d. Bei Penicillinallergie steht als Alternative Cotrimoxazol mit 200-320mg/d (Trimethoprim-Anteil) zur Verfügung. Die Therapiedauer beträgt mindestens 4-6 Wochen (Temple, 2000).

4.12.3.6 Endokarditis

Medikation der ersten Wahl ist Ampicillin ≥ 6 g/d in 3-4 Einzeldosen i.v.. Bei Patienten >50 Jahre oder mit zusätzlichen Risikofaktoren sollte Gentamicin hinzugefügt werden. Bei Penicillinallergie ist die Kombinationstherapie von Vancomycin 3x 1g/d und Gentamicin 2,5mg/kgKG/d die Behandlungsalternative. Für natürliche Herzklappen sollte die Therapie mindestens 6 Wochen betragen, für Kunstklappen mindestens 8 Wochen (Temple, 2000).

4.12.3.7 Gelenks-/Knocheninfektion

Antibiotikum der ersten Wahl ist auch hier Ampicillin ≥ 6 g/d i.v. Bei zusätzlichen Risiken oder einem Alter >50 Jahre sollte Gentamicin kombiniert werden. Die Therapie beträgt mindestens 6 Wochen, wobei Patienten mit Gelenksprothesen hiervon mindestens 14 Tage intravenös behandelt werden sollten. Eine lebenslange Einnahme von Amoxicillin oder Cotrimoxazol oral wird empfohlen (Temple, 2000).

4.13 Prävention

Das durch *L. monocytogenes* verursachte Krankheitsbild der Listeriose ist eine insgesamt seltene Erkrankung, die jedoch zu 30-40 gemeldeten neonatalen Listeriosefällen pro Jahr führt und für 3-6% aller bakteriellen ZNS-Infektionen in Deutschland verantwortlich ist (Handrick, 2005). In den USA geht man von ca. 2500 Listeriosefällen jährlich aus, wobei hier ca. 500 tödlich enden. Somit stellt die Infektion mit *Listeria monocytogenes* die zweithäufigste, ernstzunehmende Nahrungsmittel-assoziierte Erkrankung hinter der Salmonelleninfektion in den USA dar (Mead, 1999). Mit einer Mortalitätsrate von ca. 30% ist es daher umso wichtiger präventive Aufklärungsarbeit bezüglich des Erregers, der Erkrankung und möglicher Vermeidungsstrategien vor allem im Risikokollektiv zu leisten. Hierzu zählen Schwangere und Neugeborene, ältere Menschen jenseits der 60, immunsupprimierte Personen, Malignompatienten, Patienten mit HIV und AIDS, Patienten mit Grunderkrankungen wie Diabetes mellitus, dialysepflichtigen Niereninsuffizienz, Lupus erythematodes, Leberzirrhose, Eisenüberladung oder Alkoholismus (Handrick, 2005). Schwangere haben hierbei ein 20fach höheres Infektionsrisiko als die Normalbevölkerung und machen ca. 27% der Listeriosefälle aus (Lorber, 1997). Da also ca. $\frac{1}{3}$ der Fälle Schwangere sind, startete die CDC (Center of Disease Control and Prevention) zusammen mit der ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists) sowie das MDH (Minnesota Department of Health) 2002 eine Befragung bezüglich der Transmission, Symptome und Prävention der Listeriose unter Frauen im Alter zwischen 12-49 Jahren in den USA. Diese Befragung zeigte, dass nur 15-18% der Teilnehmerinnen vom Krankheitsbild der Listeriose gehört oder gelesen haben. Unter den Befragten, die diese Erkrankung kannten, hatten die meisten Frauen ihre Informationen von Ärzten (50-86%) oder aus Büchern über Schwangerschaft und Geburt (Ogunmodede, 2005). Somit lässt sich festhalten, dass Frauen im gebärfähigen Alter generell eine nur mangelnde Kenntnis bezüglich der Infektion mit *L. monocytogenes* und der damit verbundenen ernsthaften Erkrankung für das ungeborene Kind bzw. das Neugeborene haben. Daher ist es von entscheidender Bedeutung Schwangere von ärztlicher Seite auf die mögliche Infektion und Präventionsmaßnahmen hinzuweisen. Die Wichtigkeit der ärztlichen Aufklärung konnte an einer Aufklärungskampagne der CDC/ACOG bezüglich der Listeriose, die zwischen 1989-1993 durchgeführt wurde, gezeigt werden. Es kam zu einem Rückgang der perinatalen Listeriosefälle um 44%

(Tappero, 1995). Trotz weiterer Aufklärungsarbeit in den Jahren 1999, 2001 und nach staatenübergreifenden Listerioseausbrüchen in den USA haben 82-85% der Schwangeren noch nie von *L. monocytogenes* und dem dazugehörigen Krankheitsbild gehört (Ogunmodede, 2005).

Weniger als 30% des Repräsentivkollektivs wussten, dass eine Infektion durch Vermeidung von Lebensmitteln wie bestimmte Feinkostprodukte, so genannte „ready-to-eat“-Produkte, Weichkäse oder Produkte, die aus unpasteurisierter Milch hergestellt wurden, nahezu vollständig verhindert werden kann. Vor allem die „ready-to-eat“-Produkte sind bis zu 4,7% mit *L. monocytogenes* kontaminiert (Gombas, 2003). Eine 1999 in Australien durchgeführte Befragung schwangerer Frauen ergab, dass vor allem Jüngere, Erstgebärende oder Frauen mit geringem Bildungsstand ein geringes Wissen über die mögliche Erkrankung der Listeriose haben und somit ein höheres Expositionsrisiko aufweisen (Ogunmodede, 2005).

Schwangere und Personen mit erhöhtem Risiko für eine Listerieninfektion können sich durch einfache Präventionsmaßnahmen schützen (Janakiraman, 2008; Ogunmodede, 2005; Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008):

- rohes Fleisch ausreichend erhitzen (Kerntemperatur mind. 70°C)
- rohes Fleisch von gekochtem Essen und „ready-to-eat“ Produkten separieren
- keine unpasteurisierten Milchprodukte verzehren; Rohmilch vor dem Verzehr abkochen
- Wiederaufwärmen von Speisen vermeiden; beim Aufwärmen mind. +70°C Kerntemperatur für mind. zwei Minuten; beim Aufwärmen in der Mikrowelle auf gleichmäßiges Erwärmen achten, d.h. ab und zu umrühren
- Vermeidung von Räucherfisch, vor allem Graved Lachs
- Vermeidung von Weichkäsen
- Abtrennen der Käserinde
- Vermeidung von Feinkostsalaten
- Vermeidung von „ready-to-eat“-Produkten
- Frisches Obst und Gemüse sorgfältig waschen
- beim Aufwischen von Lebensmittelrückständen Einmal-Küchenpapier verwenden
- Lappen und Handtücher nach Gebrauch zum Trocknen ausbreiten und regelmäßig wechseln, sowie waschen bei mind.60°C.
- Spülbürsten regelmäßig reinigen bzw. austauschen

- auf persönliche Hygiene achten, insbesondere auf saubere Hände und Fingernägel
- Abfallbehälter regelmäßig leeren und reinigen
- keine Verwendung derselben Küchenutensilien beim Umgang mit rohen und gegarten Lebensmitteln
- sorgfältiges Händewaschen nach Zubereitung von ungekochten Lebensmitteln
- sorgfältige Reinigung von Arbeitsflächen nach der Zubereitung von ungekochten Produkten
- Haustiere von Lebensmitteln fernhalten, kein Streicheln während der Speisenzubereitung
- Temperaturempfehlungen auf den Lebensmittelpackungen, sowie deren Haltbarkeit beachten
- Kühlschranktemperatur unter +7°C halten, am besten unter +5°C
- Kühlschrank regelmäßig reinigen
- Reste gegarter Speisen im Kühlschrank aufbewahren und möglichst innerhalb von zwei Tagen verzehren

Bei onkologischen Patienten und AIDS-Erkrankten kann eine Cotrimoxazol-Prophylaxe einen gewissen Schutz vor einer Listerieninfektion gewähren.

Durch die zuvor genannten Maßnahmen kann eine Infektion nicht immer verhindert werden, das Risiko für eine Listerioseerkrankung kann aber hierdurch entscheidend gesenkt werden (Janakiraman, 2008).

4.14 Mögliche Zukunftsperspektiven der Listeriaforschung

Grundsätzlich besitzen lebende Bakterien eine immunstimulierende Natur, so dass es nahe liegt sie als mögliche antigenpräsentierende Vektoren zu benutzen. *L. monocytogenes* besitzt einige einzigartige biologische und immunologische Eigenschaften, die es zu einem idealen Vakzinvektor machen. Zum einen triggert *L. monocytogenes* in potenter Art und Weise die natürliche und erworbene Immunantwort bei infizierten Wirtszellen. Durch die Fähigkeit sowohl phagosomale als auch cytoplasmatische Kompartimente der Wirtszelle zu besetzen und aufgrund der immunstimulatorischen Eigenschaften von *L. monocytogenes*, kommt es außerdem zu einer gesteigerten Antigenpräsentation und Stimulation von Effektor-T-Zellen und Gedächtnis-T-Zellen. *L. monocytogenes* kann unter standardisierten Laborbedingungen angezüchtet werden, es existieren Protokolle zur genetischen Manipulation und Lebenszyklus, genetische und immunologische Charakteristika sind weitgehend bekannt, so dass *L. monocytogenes* die besten Voraussetzungen erfüllt, um als sicherer Vakzinvektor in Zukunft zum Einsatz zu gelangen (Flickinger, 2018). Neben *L. monocytogenes* werden aber auch andere virale und bakterielle Spezies als antigenpräsentierende Vektoren eingesetzt, wie z.B. Vakziniavirus, *Salmonella*, *Shigella*, oder auch *Legionella* (Bruhn, 2007).

Aufgrund des intrazellulären Lebenszyklus von *L. monocytogenes* und der damit verbundenen Fähigkeit das Cytoplasma von antigenpräsentierenden Zellen zu besetzen, führten bereits relativ früh zu der Überlegung *L. monocytogenes* als Vektor zu benutzen. Die Antigenpräsentation erfolgt hierbei via MHC I und MHC II zu CD8+ und CD4+ - T-Zellen. Die durch *L. monocytogenes* hervorgerufene effektive T-Zell-Induktion lässt *L. monocytogenes* als idealen rekombinanten Vakzinvektor erscheinen mit dem Ziel auf diese Weise gegen heterologe Pathogene und Tumorantigene vorzugehen.

Hierbei spielt die durch eine *L. monocytogenes* Infektion hervorgerufene Maturation von dendritischen Zellen eine entscheidende Rolle, da moderne Immuntherapien in der Onkologie auf eine Manipulation von dendritischen Zellen im Sinne einer Typ1-Immunantwort abzielen.

Yoshimura und Kollegen konnten bei Lebermetastasen zeigen, dass eine Infektion mit virulenzattenuierten *L. monocytogenes*-Stämmen ein proinflammatorisches Cytokinmilieu in der Leber induziert, welches bereits alleine einen Anti-Tumor-Effekt auf-

grund der Amplifizierung und Rekrutierung von NK-Zellen in das Metastasengebiet zeigt. Zusammen mit einer zellulären Krebsvakzine wird die Aktivität und Effektivität von Anti-Tumor-T-Zellen gesteigert. *L. monocytogenes* generiert also eine antigenspezifische, adaptive Immunantwort und induziert einen zielgerichteten Effekt auf Krebszellen auch in Abwesenheit eines spezifischen Antigens. Zukünftige Bemühungen richten sich auf die Entwicklung und den Einsatz virulenzattenuierter *L. monocytogenes*-Stämme, die als therapeutische Immunmodulatoren für Patienten mit Lebermetastasen einsetzbar sind (Yoshimura, 2006).

Ein weiterer möglicher Einsatzbereich für *L. monocytogenes* als Vakzine besteht im Bereich von Tumoren, welche durch eine virale Transformation verursacht werden. So werden durch verschiedene HP-Viren ca. 90% der Zervixkarzinome, ca. 95% der anogenitalen Karzinome und ca. 25% von Kopf- und Halstumoren verursacht. Das E7-Protein von HPV-16 wird stark durch viral transformierte Tumorzellen expremiert. In präklinischen Studien mit rekombinanten *Listeria*-Stämmen, welche HPV-16-E7 expremieren, konnte sowohl ein prophylaktischer als auch therapeutischer Effekt gezeigt werden (Bruhn, 2007).

In Vakzinierungsversuchen mit Ratten mit intrakraniellen Gliomen konnten ähnliche, vielversprechende Erfolge beim Einsatz von rekombinanten *Listeria*stämmen gezeigt werden. Neben der Regression der Tumore konnte auch ein schützender Effekt vor parenteralen Gliomen beobachtet werden. Dabei spricht man von so genannten „epitope spreading“.

Des Weiteren wurden rekombinante *Listeria*-Stämme im Mausmodell bezüglich der Induktion cytotoxischer T-Zellantworten gegenüber spezifischer Tumorantigene untersucht. Der Nachweis einer effektiven cytotoxischen T-Zellantwort gelang z.B. für das Her2/neu-Antigen, welches bei 20-40% aller Mammakarzinome expremiert wird. Auch für das TRP-2-Antigen, welches mit Melanomen assoziiert ist, konnte ein rekombinanter *Listeria*vektor eine antigen-spezifische T-Zellantwort generieren. Eine signifikante Steigerung der *Listeria*vakzinierung gelang hierbei durch Hinzugabe von Imiquimod, einem TLR-7-Agonisten, als Adjuvans.

Auch andere Tumor-assoziierte Antigene wie Mesothelin, EphA2, PSA oder NY-ESO-1 werden derzeit bezüglich der möglichen Vakzinierung mit rekombinanten *Listeria*stämmen untersucht. Zur Effektivitätstestung einer jeglichen *Listeria* basierten Anti-Tumor-Vakzine bleiben als Goldstandard präklinische Tiermodelle (Bruhn, 2007).

Neben dem in Zukunft erhofften Einsatz von Listeria-Vakzinen in der Tumorthherapie scheint auch ein Einsatz in der HIV-Therapie denkbar. Die durch eine Listeriainfektion bzw. eine Listeriavakzinierung beobachtete, gesteigerte CD8+-T-Zellantwort lassen vermuten, dass eben diese einen gewissen Schutz vor einer HIV-Infektion bietet bzw. eine Progression der HIV-Infektion verhindert (Bruhn, 2007).

Grundlegend für die Entwicklung von Listeria basierten Vakzinen ist die Entkopplung von Immunogenität und Pathogenität. Hierzu ist die genaue Kenntnis der Virulenzgene von *Listeria monocytogenes* entscheidend, da sich exakte genetische Manipulationen induzieren lassen, um den Lebenszyklus und damit letztlich die Virulenz des Erregers zu stören. Brockstedt et al. entwickelte beispielsweise eine $\Delta actA/inlB$ -Mutante mit signifikant reduzierter Toxizität *in vivo*, aber weiter bestehender Fähigkeit eine antigen-spezifische T-Zellantwort zu induzieren. Die Deletion mehrerer Virulenzgene soll den Erreger soweit in seiner Virulenz schwächen, dass eine gefahrlose Vakzinierung möglich und eine Rückgewinnung der Virulenz für den attenuierten Keim nahezu unmöglich ist (Brockstedt, 2004). Neben der Deletion von Virulenzgenen ist die Verwendung von auxotrophen Mutanten, die für ihr Überleben *in vivo* bestimmte exogene Faktoren benötigen, ein weiterer Weg die Immunogenität des Erregers zu nutzen ohne dessen Pathogenität fürchten zu müssen. Ein weiterer Ansatz die Toxizität von *L. monocytogenes* zu umgehen, stellt die Entwicklung von so genannten KBMA (Killed But Metabolic Active)-*Listeria*-Stämmen dar (Flickinger, 2018). Diese Stämme haben die Fähigkeit zur Replikation verloren, sind aber fähig Zellen zu invadieren und eine funktionelle CD8+- und CD4+-T-Zellantwort zu induzieren. Diese KBMA-*Listeria*-Stämme haben einen Defekt in bestimmten DNA-Reparationsgenen, so dass z.B. durch UV-Licht eine kovalente DNA-Quervernetzung entsteht (Bruhn, 2007).

Somit könnte *L. monocytogenes* eine mögliche Plattform für die Entwicklung spezifischer, rekombinanter Vakzine in Zukunft darstellen, da die bis dato in präklinischen Studien erworbenen Ergebnisse aus den Tiermodellen vielversprechend erscheinen.

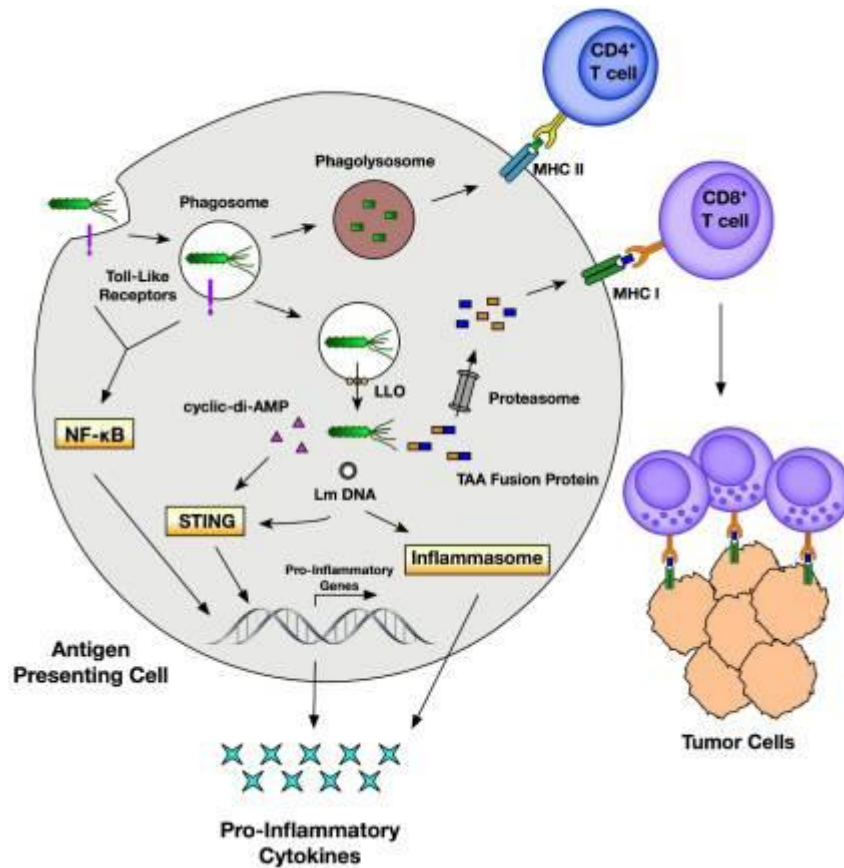


Abbildung 40: Angeborene und adaptive Immunantwort auf *Listeria monocytogenes* im Hinblick auf die mögliche zukünftige Perspektive als Tumorzellvaksinvektor (Flickinger, 2018)

5. Diskussion

L. monocytogenes ist ein weltweit und ubiquitär in der Umwelt vorkommendes gram-positives Bakterium. Es kann aus Boden, Wasser, Schlachthausabfällen, Lebensmitteln und aus dem Stuhl von Mensch und Tier isoliert werden. Als natürliches Habitat sind verrottende Pflanzenreste anzusehen, in welchen *Listeria monocytogenes* als Saprophyt lebt (Vázquez-Boland, 2001a).

Die offizielle Entdeckung des Bakteriums datiert auf das Jahr 1926 zurück als *L. monocytogenes* als verursachendes Pathogen einer Mononukleose bei Nagetieren erkannt wurde (Murray, 1926). Lange Zeit wurde angenommen, dass *L. monocytogenes* nur ein für Herden- und Nutztiere ernstzunehmendes Pathogen darstellt. Erst in den 1980er Jahren erkannte man, dass *L. monocytogenes* ein durch Nahrungsmittel übertragener, für den Menschen potentiell lebensgefährlicher Keim ist. *L. monocytogenes* ist der Verursacher der so genannten Listeriose. Dieses heterogene Krankheitsbild reicht von einer einfachen Gastroenteritis, über lokalisierte Infektionen, wie z.B. Haut oder Gelenke, bis hin zu schwerwiegenden Krankheitsverläufen mit Sepsis, Meningitis, Enzephalitis sowie geburtshilflichen Komplikationen wie Abort, Frühgeburtlichkeit, Totgeburt und schweren neonatalen Infektionen (Vázquez-Boland, 2001a; Posfay-Barbe, 2004). Diese lebensbedrohlichen und schwerwiegenden Krankheitsverläufe werden vor allem bei Menschen mit reduzierter zellulärer Immunitätslage gefunden, wohingegen bei immunkompetenten Personen die Erkrankung unter dem Bild einer meist milden, selbstlimitierenden Gastroenteritis verläuft. Zum Risikokollektiv für einen schweren Listerioseverlauf zählen Schwangere, Feten und Neugeborene, Menschen, die älter als 60 Jahre sind, sowie Personen mit HIV-Infektion, Krebspatienten unter laufender Chemotherapie, Patienten unter Glukokortikoidtherapie, hier sind vor allem transplantierte Personen aufzuführen, sowie Patienten mit bestimmten Grunderkrankungen wie Diabetes mellitus oder Lebererkrankungen. In diesem so genannten „high risk“-Kollektiv kann die Mortalität der invasiven Listeriose bis zu 30% betragen (Hof, 2007). Somit stellt *L. monocytogenes* einen oft unterschätzten, aber ernstzunehmenden Krankheitserreger dar, der vor allem in der Lebensmittelindustrie eine Bedrohung ist (Vázquez-Boland, 2001a).

Lange bevor *L. monocytogenes* als Risikokeim für die menschliche Gesundheit erkannt wurde, rückte dieses Bakterium ins Zentrum des Interesses in der Immunitätsforschung. Seit der Pionierarbeit von Mackaness in den frühen 1960er Jahren bezüg-

lich der zellulären Immunität, wurde *L. monocytogenes* als Prototyp für intrazelluläre Pathogene in der Immunitätsforschung untersucht und benutzt. Durch die jahrzehntelange Forschungsarbeit am Mausmodell, stellt *L. monocytogenes* bis heute das Modellpathogen für Untersuchungen und Entwicklungen zur zellulären Immunität dar (Mackaness, 1962; Vázquez-Boland, 2001a).

Neben seiner immensen Wichtigkeit für die Immunitätsforschung ist *Listeria monocytogenes* auch ein Modellpathogen zur Analyse der molekularen Mechanismen des intrazellulären Parasitismus geworden. Studien in den späten 1980er Jahren führten zur Entdeckung des Hämolyisins *hly* bei *L. monocytogenes*, welches eine Schlüsselrolle in der Virulenz des Erregers spielt. Dieser Virulenzfaktor von *Listeria monocytogenes* war das erste bakterielle Genprodukt, dem eine entscheidende Rolle im Hinblick auf das intrazelluläre Überleben des Pathogens zugeschrieben wurde. Im Jahr 2000 konnte das gesamte Genom von *L. monocytogenes* entschlüsselt werden (Glaser, 2001). Die Kenntnis über die molekularen Mechanismen, die sich hinter dem intrazellulären Parasitismus von *L. monocytogenes* verbergen, trägt wesentlich zum Verständnis der Pathogenese dieses Erregers bei. Durch das Wissen über die genetische Organisation der Virulenzfaktoren, deren Expression und durch Versuche mit Deletionsmutanten der einzelnen Virulenzfaktoren konnten die Zusammenhänge zwischen reduzierter zellvermittelter Immunitätslage und der damit verbundenen unterschiedlichen Ausprägungsformen der Krankheit Listeriose verdeutlicht werden.

L. monocytogenes kann eine Vielzahl von Krankheitsbildern hervorrufen. Die Erscheinungsformen der Listeriose reichen von einer meist selbstlimitierenden Gastroenteritis bis hin zur Sepsis, Meningitis und Enzephalitis, sowie zu Aborten, Totgeburten, Frühgeburten und schwersten neonatalen Infektionen. Das Immunsystem gesunder Kinder und Erwachsener kann den meist durch kontaminierte Lebensmittel aquirierten Keim in der Regel problemlos eliminieren. Unter dem Bild einer selbstlimitierenden Gastroenteritis verläuft eine Infektion mit *Listeria monocytogenes* bei immunkompetenten Personen. Schwere Verläufe werden bei Menschen mit geschwächter Immunitätslage, wie Schwangeren, Neugeborenen, über 60jährigen Personen, Patienten mit immunsuppressiven Therapien, z.B. Krebspatienten oder Transplantierte, HIV-Infizierten und Patienten mit Grunderkrankungen wie Diabetes mellitus oder Lebererkrankungen, beobachtet. In diesem Risikokollektiv beträgt die Mortalität bis zu 30% (Vázquez-Boland, 2001a). Teilweise werden auch höhere Mor-

talitätsraten von 50% (Janakiraman, 2008) und bei Neugeborenen bis zu 63% (Schuchat, 1991) angegeben.

Trotz dieser schweren geburtshilflichen und neonatalen Verläufe wird *L. monocytogenes* als differentialdiagnostische Überlegung oft nicht in Erwägung gezogen, da das Bewusstsein für dieses Pathogen sowohl bei Ärzten und Pflegekräften als auch bei Schwangeren nicht geschärft ist (Ogunmodede, 2005). Dies liegt auch an der eher unspezifischen Symptomatik der Listeriose in der Schwangerschaft. Oft wird eine Infektion nicht bemerkt oder äußert sich allenfalls in einer grippeähnlichen Symptomatik. Kommt es zur Infektion des Feten ist der Ausgang der Schwangerschaft vom Gestationsalter abhängig (Charlier, 2020). Bei Infektion im ersten und frühen zweiten Trimenon kann es zu Früh- und Spätaborten kommen, was unstrittig ist. Uneinigkeit herrscht bei der Frage ob *L. monocytogenes* für rezidivierende bzw. habituelle Aborte verantwortlich ist (Charlier, 2020). Winkhaus-Schindl et al. postulierte bereits 1966 anhand zweier Fallberichte *L. monocytogenes* als gesicherte Ursache für habituelle Aborte (Winkhaus-Schindl, 1966). Zu ähnlichen Ergebnissen mit signifikant erhöhter Abortrate kamen auch Abram et al., die auch eine erhöhte Rate an schweren maternalen Krankheitsverläufen mit nekrotisierender Hepatitis beobachteten (Abram, 2002). Kein Zusammenhang zwischen rezidivierenden Aborten und *L. monocytogenes* wurde in einer prospektiven Studie, welche über zehn Jahre geführt wurde, gesehen (Manganiello, 1991). Unklar bleibt auch die Gewichtung der asymptomatischen Trägerschaft von *L. monocytogenes* im Genitaltrakt. In einer Langzeit-Beobachtungsstudie wurden 958 Frauen eingeschlossen und bezüglich einer vaginalen Trägerschaft von *L. monocytogenes* untersucht. 799 Frauen hatten anamnestisch zumindest einen Spontanabort. Lediglich bei 0,1% dieser Patientinnen konnte *L. monocytogenes* in der Vagina nachgewiesen werden (Stepanović, 2007). Somit erscheint ein generelles Screening bei asymptomatischen Patientinnen mit Kinderwunsch bzw. stattgehabtem Abort nicht zweckmäßig und kosteneffektiv für die tägliche Praxis. Auch ist eine generelle prophylaktische Gabe von Antibiotika im Hinblick auf den nicht gesicherten Zusammenhang zwischen *L. monocytogenes*-Infektion und habituellen Aborten bei Patientinnen mit stattgehabtem Abort nicht gerechtfertigt (Manganiello, 1991).

Klar erscheint der Zusammenhang zwischen Frühgeburtlichkeit, sowie möglicher Totgeburt (Vázquez-Boland, 2001a; Janakiraman, 2008). Entscheidend bei der fetalen Infektion ist hierbei die Infektion der Plazenta, die immunologisch eine Sonderrolle

le einnimmt und eine sichere Nische für die Replikation und Persistenz von *Listeria monocytogenes* darstellt und somit ein Prädilektionsort der Infektion dieses Erregers ist (Bakardjiev, 2004; Bakardjiev, 2005, Charlier, 2020).

Bei der neonatalen Infektion mit *L. monocytogenes* werden zwei Krankheitsverläufe unterschieden. Zum einen die bereits in utero erworbene, so genannte early-onset Listeriose und die intra- oder postpartal erworbene late-onset Listeriose. Im Vordergrund der early-onset Listeriose steht die generalisierte Infektion des Neugeborenen mit dem Vollbild der Granulomatosis infantiseptica. Typisch für die late-onset Listeriose ist die im Vordergrund stehende ZNS-Infektion mit Meningitis und Enzephalitis. Die Letalität der neonatalen Listeriose liegt insgesamt bei bis zu 63% (Schuchat, 1991), wobei auch deutlich niedrigere Zahlen von 30% angegeben werden (Hellenschmidt, 2008).

Eindrucksvoll konnte der Zusammenhang zwischen einer Listerieninfektion einer Schwangeren, der konsekutiven Frühgeburtlichkeit und der early-onset Listeriose beim Neugeborenen in einem Fall in der eigenen Klinik beobachtet werden. Eine Infektionsquelle konnte nicht ermittelt werden. Unter adäquater Antibiotikatherapie unter den üblichen Therapieregimen konnten Mutter und Säugling bei Wohlbefinden entlassen werden.

In Deutschland werden jährlich 20-40 Kinder mit Listeriose geboren (Hellenschmidt, 2008). Insgesamt beträgt die Zahl der Schwangerschafts-assoziierten Listeriosefälle in Deutschland ca. 15% (Koch, 2006). Die Wahrscheinlichkeit eine Listerioseinfektion in der Schwangerschaft zu aquirieren, ist 12-20fach höher gegenüber der Normalbevölkerung (Hof, 2007; Janakiraman, 2008). Insgesamt bleibt festzuhalten, dass eine Infektion mit *L. monocytogenes* trotz des ubiquitären Vorkommens des Erregers ein insgesamt seltenes Ereignis darstellt.

Den Hauptinfektionsweg stellt die orale Aufnahme des Erregers dar. Via Aufnahme in Enterozyten gelangt *L. monocytogenes* über den Blutweg in die verschiedenen Organsysteme und letztlich auch in die Plazenta. Als Übertragungsmodell auf den Feten hat sich das Modell der vertikalen Transmission durchgesetzt (Bakardjiev, 2004). Hierbei ist das Zusammenspiel des Virulenzfaktors InlA von *L. monocytogenes* und des Oberflächenproteins E-Cadherin von Syncytiotrophoblastzellen von entscheidender Bedeutung (Lecuit, 2005). Daneben kann der Fet aber auch unter der Geburt bei vaginaler Trägerschaft von *Listeria monocytogenes* infiziert werden. Auch existie-

ren Fallberichte von nosokomialen Infektionen von Neugeborenen durch mangelnde Händedesinfektion beim Krankenhauspersonal.

Neben Schwangeren und Neugeborenen stellen vor allem ältere Menschen und immunsupprimierte Personen ein weiteres Risikokollektiv dar, in welchem die klinischen Erscheinungsbilder der Meningitis und Enzephalitis im Vordergrund stehen.

L. monocytogenes gehört zu den fünf häufigsten Meningitiserregern. Die Letalität wird zwischen 30% und 60% angegeben (Lorber, 1997; Vázquez-Boland, 2001a). Im Gegensatz zur Schwangerschafts-assoziierten Listeriose, deren Infektionsweg InIA-E-Cadherin-vermittelt abläuft, ist der Übertragungsweg bei der ZNS-Infektion nicht so eindeutig. Diskutiert werden drei verschiedene Infektionswege. Zum einen die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke via infizierter Leukozyten, zum anderen die direkte Invasion von Endothelzellen via extrazellulärer mit dem Blutstrom eingeschwemmter Listerien und des weiteren die retrograde, sprich zentripetale Migration ins ZNS über Axone (Drevets, 2004a). Lecuit favorisiert als wahrscheinlichsten Infektionsweg den der axonalen Übertragung und vermutet ähnlich wie bei der enteralen Aufnahme des Erregers oder auch bei der plazentaren Infektion einen InIA-E-Cadherin-vermittelten Infektionsweg (Lecuit, 2005). Im Gegensatz hierzu legt sich die Arbeitsgruppe um Drevets weniger auf nur einen Übertragungsweg fest. Auch spielt nach Ansicht von Drevets InIA keine Rolle bei der ZNS-Invasion. Vielmehr scheint hier InIB die tragende Rolle zu spielen (Drevets, 2008). Welcher Infektionsweg der entscheidende bei einer ZNS-Infektion durch *Listeria monocytogenes* ist, bleibt noch zu klären.

L. monocytogenes stellt seit langem das Modelpathogen für Untersuchungen bezüglich der Abläufe der angeborenen und erworbenen Immunantwort dar (Guleria, 2000). Bei der systemischen Infektion mit *Listeria monocytogenes* stehen vor allem Makrophagen als Haupteffektorzellen der angeborenen Immunantwort an vorderster Front. Des Weiteren werden Neutrophile und cytotoxische T-Zellen rekrutiert. Nach der initialen Bakteriämie stellen Leber und Milz, als Makrophagen-reiche Organe, die Prädilektionsorte der Infektion mit *Listeria monocytogenes* dar. Bei gesunden Individuen kann der Erreger binnen drei Tagen aus dem Körper eliminiert werden und ist auch in Leber und Milz nicht mehr nachweisbar, was im Mausmodell mehrfach bestätigt werden konnte (LeMonnier, 2006; Bakardjiev, 2006). Die Bekämpfung von intrazellulären Pathogenen, zu denen auch *Listeria monocytogenes* zählt, ist eine Domäne der zellulären Immunantwort. Der humorale Schenkel der Immunabwehr spielt in der Eliminierung des Erregers keine wesentliche Rolle (Bakardjiev, 2004). Dem ge-

genüber stehen die Ergebnisse aus Versuchen von Edelson et al. (Edelson, 1999). Hierbei konnte gezeigt werden, dass monoklonale Antikörper gegen Listeriolysin O die Resistenz des Wirts gegenüber einer *Listeria monocytogenes*- Infektion erhöhen können. Des Weiteren scheinen B-Zellen für den Erhalt von CD8+-T-Gedächtniszellen, die bei einer Listerieninfektion gebildet werden, wichtig zu sein. In der Schwangerschaft müssen sich immunologische Anpassungsvorgänge vollziehen. Grundsätzlich stellt die Schwangerschaft an sich ein immunologisches Paradoxon dar, denn zum einen muss das semiallogene Transplantat Fetus vor einer Abstoßung bewahrt werden, zum anderen muss eine funktionierende zelluläre Immunität gewährleistet werden. Daher ist von entscheidender Bedeutung, dass vor allem cytotoxische T-Zellen, welche zu den frühesten Effektoren der angeborenen Immunantwort zählen, von der Plazenta ferngehalten werden, was wiederum problematisch bei der bakteriellen Clearance eines Pathogens ist. Entscheidend scheint hierbei die Verschiebung von einer Th1-dominierten Immunantwort, welche bei der Infektabwehr außerhalb der Schwangerschaft vorherrscht, zu einer vorwiegend Th2-geprägten Immunantwort zu sein (LeMonnier, 2006; Guleria, 2000). Prädominierende Cytokine der Th2-gerichteten Immunantwort sind IL-10 und IL-4, welche in großer Zahl in der Plazenta gefunden werden können. Demgegenüber stehen aber Ergebnisse der Arbeitsgruppe um Barber (Barber, 2005). Hier konnte gezeigt werden, dass trotz einer prädominierenden Th2-Immunantwort, Th1-Cytokine in großer Zahl in der Plazenta synthetisiert werden, ohne dass es zur Abstoßung des Fetus kommt. Es bleibt somit festzuhalten, dass es auf zellulärer Ebene zu einer Th2-Verschiebung kommt, auf Ebene der Cytokine eine Prädominanz der Th1-Cytokine auch in der Schwangerschaft bestehen bleibt (Barber, 2005).

Unklar bleibt die Rolle der NK-Zellen in der Abwehr von *L. monocytogenes*. Die Arbeitsgruppe um Plitas konnte eine Untergruppe von NK-Zellen bei Mäusen nachweisen, so genannte NKDC-Zellen. Diese Untergruppe weist Eigenschaften von NK-Zellen und dendritischen Zellen auf, d.h. diese Zellen sind sowohl mit lytischen als auch mit Ag-präsentierenden Funktionen ausgestattet und produzieren darüber hinaus IFN- γ . Diese Zellen scheinen die frühesten IFN- γ -Produzenten bei der angeborenen Immunantwort zu sein. Die IFN- γ -Ausschüttung der cytotoxischen T-Zellen zählen Plitas und Kollegen eher zur erworbenen Immunität. Ob diese Beobachtungen auf dem Menschen übertragbar sind, bleibt abzuwarten. Bisher konnte kein Korrelat zu den Mäuse-NKDC-Zellen beim Menschen nachgewiesen werden (Plitas,

2007). Im Gegensatz hierzu betrachten Berg und Kollegen CD8⁺-T-Zellen als Haupteffektoren der angeborenen Immunantwort und sehen auch in ihnen die Hauptproduzenten von IFN- γ . Hierbei scheinen vor allem CD8⁺-T-Gedächtniszellen eine entscheidende Rolle zu spielen (Berg, 2005). Die Rolle der NK-Zellen wird von Barber et al. sogar noch kritischer betrachtet. Es wird postuliert, dass NK-Zellen für eine adäquate Immunantwort auf eine Infektion mit *L. monocytogenes* nicht benötigt werden. Dies scheint auch in der Schwangerschaft zu gelten. Bei Versuchen mit schwangeren Mäusen konnte zunächst gezeigt werden, dass uterine NK-Zellen IL-15 als Wachstumsstimulus benötigen. IL-15-defiziente Mäuse zeigten keine Abweichungen bezüglich der plazentaren Immunabwehr im Vergleich zum Normalkollektiv. Somit scheinen uterine NK-Zellen für eine erfolgreiche Schwangerschaft nicht nötig zu sein (Barber, 2003).

Unter einem völlig anderen Licht wird die Rolle der NK-Zellen in der Arbeitsgruppe um Thäle gesehen. Es wird klar hervorgehoben, dass sowohl T-Zellen als auch NK-Zellen die relevanten IFN- γ -Produzenten der angeborenen Immunantwort sind. Außerdem sind auch Makrophagen und dendritische Zellen unter bestimmten Voraussetzungen in der Lage IFN- γ zu synthetisieren. In Versuchen mit immunkompetenten und T-/B-Zell-defizienten Mäusen konnte gezeigt werden, dass vor allen anderen Zellen NK-Zellen in der Frühphase der Infektion mit *Listeria monocytogenes* IFN- γ ausschütten (Thäle, 2005). Diese These wird unterstützt von Shegarfi et al., die ähnliche Beobachtungen in einem Versuchsmodell mit Ratten machen konnten. Hier konnte bei T-Zell-defizienten Ratten eine Listerieninfektion bei intakter NK-Zellpopulation innerhalb von drei Tagen bekämpft werden. Bei nicht intakter NK-Zellpopulation konnte ein signifikant höherer Anstieg der bakteriellen Last in der Milz der infizierten Ratten festgestellt werden (Shegarfi, 2009). Dass NK-Zellen allem Anschein nach einen wichtigen Part in der angeborenen Immunantwort gegenüber einer *Listeria monocytogenes* Infektion spielen wird auch durch Krebs et al. bestätigt. NK-Zellen induzieren durch Abtöten bestimmter Antigen-exprimierender Zielzellen zu einer Antigen-spezifischen CD8⁺-T-Zellantwort und stimulieren des Weiteren eine CD4⁺-T-Zellantwort und darüber hinaus noch eine humorale Immunantwort vom IgG-Typ (Krebs, 2009). Insgesamt muss festgehalten werden, dass NK-Zellen einen Beitrag zur angeborenen Immunantwort gegenüber einer Listerieninfektion leisten. Ob ihnen hierbei eine Schlüsselrolle zukommt oder ob auf sie als IFN- γ -Produzenten verzichtet werden kann, bleibt letztlich zu klären.

Listeria monocytogenes ist auch auf molekularer Ebene eines der bestuntersuchtesten intrazellulären Pathogene. Die Kenntnis der Virulenzfaktoren und ihrer kodierenden Gene, sowie deren Regulation trugen und tragen zum besseren Verständnis des Infektionszyklus wesentlich bei. Durch Analyse der Virulenzfaktoren und deren Gene konnte auch die evolutionäre Entwicklung von *Listeria* spp. und deren Verwandtschaft untereinander aufgeschlüsselt werden (Camejo, 2009; Vázquez-Boland, 2001a).

Listeria monocytogenes induziert die intrazelluläre Aufnahme via Phagozytose auch in primär-nicht-phagozytierende Zellen. Dieser Mechanismus wird vor allem durch zwei Internaline, nämlich InlA und InlB, bewerkstelligt. Um sich replizieren zu können, müssen Listerien frei im Zytoplasma der Wirtszelle vorliegen. Das Phagosom wird durch das so genannte Listeriolysin O lysiert unter Mithilfe weiterer Virulenzfaktoren wie zweier Phospholipasen C und der Metalloprotease Mpl. Nach erfolgter Replikation nutzt *Listeria monocytogenes* das Aktinskelett der Wirtszelle und induziert eine Neuformation der Aktinfilamente. Durch diesen Mechanismus werden so genannte Pseudopodien ausgebildet, in denen sich die Listerien sammeln. Diese Zellprotrusionen werden dann von der Nachbarzelle umschlossen und unter Ausbildung eines doppelwandigen Phagosoms gelangen die Listerien im Sinne einer direkten Zell-zu-Zell-Ausbreitung in die Nachbarzelle. Hier kann dann der Lebenszyklus von *Listeria monocytogenes* von Neuem beginnen (Vázquez-Boland, 2001a).

Listeriolysin O (LLO) wurde als erster Virulenzfaktor identifiziert und sequenziert. Die Kenntnis des Genlokus führte letztlich zur Entdeckung des zentralen Virulenzgenclusters von *Listeria monocytogenes* in dem die meisten Virulenzdeterminanten verschlüsselt sind. Bereits 1941 konnte ein lösliches Hämolysin *Listeria monocytogenes* zugeordnet werden und es kristallisierte sich heraus, dass LLO der zentrale Virulenzfaktor in der Pathogenität von *Listeria monocytogenes* ist (Vázquez-Boland, 2001a; Schnupf, 2007). 1987 gelang die Identifikation und Charakterisierung des zugehörigen Gens *hly* (Mengaud, 1988), dessen Inaktivierung zur Avirulenz führt. LLO ermöglicht *Listeria monocytogenes* die Flucht aus dem Phagosom und ist somit entscheidender Schritt für die Replikation des Pathogens. Diese porenformende Aktivität des LLO wird aber durch weitere Virulenzfaktoren unterstützt. Hierzu zählen zwei Phospholipasen C, nämlich PlcA und PlcB, sowie die Metalloprotease Mpl. Die Gene dieser Virulenzdeterminanten sind in unmittelbarer Nachbarschaft von *hly* im zentralen Virulenzgencluster LIPI-1 lokalisiert. In diesem Gencluster ist auch das *actA*-Gen lo-

kalisiert, welches für einen weiteren zentralen Virulenzfaktor kodiert, nämlich dem so genannten ActA. ActA bewerkstelligt die intrazelluläre Beweglichkeit der Listerien, welche entscheidend in der Zell-zu-Zell-Ausbreitung ist. Bereits Anfang der 1970er Jahre konnten elektronenmikroskopische Beobachtungen dieses Phänomen von *Listeria monocytogenes* zeigen (Racz, 1970). Den Zusammenhang zwischen Virulenz und ActA konnten durch verschieden Studien am Mausmodell demonstriert werden. So konnte klar gezeigt werden, dass ActA eine Hauptrolle in der vertikalen Transmission von *Listeria monocytogenes* auf den Fetus spielt. Δ ActA-Deletionsmutanten konnten keine ausgedehnte plazentare Infektion hervorrufen und eine Bakteriämie fehlte. Im Vergleich zu Wildtyp-*Listeria monocytogenes*-Stämmen musste die Infektionsdosis um zwei log-Einheiten höher liegen, um eine plazentare Infektion zu erzeugen (LeMonnier, 2007).

Neben LLO, ActA, den beiden Phospholipasen C und Mpl werden zu den Schlüsselvirulenzfaktoren auch noch die so genannten Internaline gerechnet, die die Aufnahme der Listerien in die Wirtszelle bewerkstelligen. Anders als die zuvor angesprochenen Virulenzfaktoren, werden die Internalingene nicht im zentralen Virulenzgencluster LIPI-1 repräsentiert, sondern befinden sich an einer anderen Stelle. Die Internaline stellen eine Familie von Oberflächenproteinen bei *Listeria monocytogenes* dar, wobei vor allem zwei Mitglieder eine entscheidende Rolle im Infektionszyklus von *Listeria monocytogenes* spielen, nämlich InIA und InIB. Diese beiden Internaline unterscheiden sich sowohl in ihren Zielrezeptoren als auch in der Auswahl ihrer Zielzellen. InIA spielt eine entscheidende Rolle bei der Überwindung der intestinalen Barriere wie auch bei Überschreitung der fetoplazentaren Barriere. Im Gegensatz dazu scheint die Hauptdomäne von InIB die Invasion von Hepatozyten und Milzzellen zu sein. Des Weiteren spielt InIB vermutlich eine Rolle bei der zerebralen Infektion, wobei hier noch keine endgültige Klarheit besteht (Drevets, 2008).

Die Gene, welche im zentralen Virulenzgencluster LIPI-1 repräsentiert sind, werden durch einen zentralen Promotor, nämlich PrfA, reguliert. Im Gegensatz dazu sind die Internalingene, welche sich auch an einem anderen Genlokus befinden nur teilweise PrfA-kontrolliert.

PrfA koordiniert und bewerkstelligt eine adäquate Aktivierung der Virulenzgene an die geforderten Umweltbedingungen. Die molekulare Struktur und Zugehörigkeit von PrfA ist genauestens bekannt. Bezüglich der Regulation von PrfA herrscht noch eine gewisse Unsicherheit. Es ist davon auszugehen, dass PrfA in einer aktiven und in ei-

ner inaktiven Form vorliegt. Für die PrfA-Aktivierung wird vermutlich ein Kofaktor benötigt, welcher bis heute unbekannt und noch nicht analysiert ist (Vega, 1998). PrfA als zentraler Virulenzregulator von *Listeria monocytogenes* könnte sich zukünftig als interessantes Ziel für neue Therapieregime etablieren. Es konnte gezeigt werden, dass die Aufnahme von Fosfomycin über einen PrfA-gesteuerten Mechanismus erfolgt. Somit ist die Wirksamkeit dieses Antibiotikums zumindest unter in vitro-Bedingungen abhängig vom Aktivitätszustand des PrfA. Hier ist unter in-vivo-Bedingungen noch der Beweis zu erbringen (Scotti, 2006).

Unter Kenntnis der Genloci der verschiedenen Virulenzfaktoren und deren Funktion im Lebens- und Infektionszyklus von *Listeria monocytogenes* ist es heutzutage gängige Praxis Deletionsmutanten anzuzüchten. Somit gelingt es *Listeria monocytogenes* in seiner Virulenz soweit zu schwächen, dass die immunogenen Eigenschaften dieses intrazellulären Pathogens unter anderem für die Entwicklung von Vakzinen in der Immuntherapie bestimmter Infektionskrankheiten, wie z.B. bei einer HIV-Infektion, oder auch in der Krebstherapie in Zukunft genutzt werden könnten. Neben den starken immunogenen Eigenschaften von *Listeria monocytogenes* macht man sich die Fähigkeit dieses Pathogens, antigenpräsentierende Zellen zu invadieren, zu Nutze. Hierzu werden virulenzattenuierte *Listeria monocytogenes*-Stämme mit ausgesuchten Fremdanthigenen rekombiniert, so dass diese Zielantigene via MHC I und MHC II präsentiert werden, um eine antigenspezifische T-Zellantwort hervorzurufen. Entscheidend hierbei ist, dass vor allem cytotoxische, CD8+-T-Zellen und auch antigenspezifische CD8+-T-Gedächtniszellen generiert werden. Daneben werden auch CD4+-T-Zellen stimuliert, die aber grundsätzlich in der Bekämpfung von *Listeria monocytogenes* eine untergeordnete Rolle spielen (Wood, 2008).

Grundsätzlich sind T-Zellen die Hauptmediatoren einer effektiven Anti-Tumor-Antwort. Ziel von Vakzinen gegen Krebs ist eine wirkungsvolle Tumor-spezifische T-Zellantwort zu generieren. Die durch *Listeria monocytogenes* induzierte, starke angeborene und zelluläre Immunantwort macht dieses Bakterium zum idealen Vektor, um die nur gering immunogenen Tumor-spezifischen Antigene via Antigen präsentierender Zellen per MHC I und MHC II naiven T-Zellen zu präsentieren. So gelingt es in in-vitro Versuchen als auch im Mausmodell cytotoxische T-Zellen zu aktivieren, T-Gedächtniszellen zu generieren und letztlich auch das Th1-Cytokinnetzwerk zu aktivieren. Die Induktion der Th1-Cytokine scheint ein wesentlicher Punkt im Rahmen der Tumorprotektion von *Listeria monocytogenes* zu sein. So konnte im Tiermodell

gezeigt werden, dass eine Depletion von Th1-Cytokinen zur Unfähigkeit von *Listeria monocytogenes* führte eine Tumorprotektion zu gewährleisten (Weiskirch, 2001). Dies konnte auch bei HPV-16 induzierten Tumoren bestätigt werden. Nur in Anwesenheit von IFN- γ , als Vertreter von Th1-Cytokinen, kann eine auf attenuierten *Listeria monocytogenes* basierte Vakzine effektiv zur Tumorregression führen (Dominiacki, 2005). In Zusammenhang mit HPV-16 induzierten Tumoren konnte im Mausmodell demonstriert werden, dass die Kopplung von E7, einem spezifischen Genprodukt von HPV-16, an LLO unter Bildung eines Fusionsproteins mit einem verkürztem LLO (Lm-LLO-E7), an dessen C-terminalen Ende E7 angebunden ist, zu einer effektiveren Anti-Tumor-Antwort führt als wenn E7 nicht gebunden unter Kontrolle des hly-Promotors transkribiert wird (Lm-E7). Diese Tatsache scheint mit PEST-Sequenzen am aminoterminalen Ende von LLO zusammenzuhängen, d.h. dass Vakzinen, welche mit PEST-Sequenzen ausgestattet sind, eine stärkere cytotoxische T-Zellantwort induzieren. Der gleiche Effekt konnte auch unter Bildung von ActA-E7-Fusionsproteinen beobachtet werden, da ActA ebenfalls PEST-Sequenzen besitzt. Die Lm-LLO-E7 basierte Vakzine führte außerdem zu einer gesteigerten Maturation von Antigen-präsentierenden Zellen und zu einer höheren IL-2-Ausschüttung, was wiederum zu einer gesteigerten Aktivierung von naiven T-Zellen führt. Letztlich konnte unter Verwendung der Lm-LLO-E7-Vakzine in bis zu 75% Tumorfreiheit erreicht werden im Gegensatz zu 37,5% bei der Lm-E7-Vakzine (Gunn, 2001). Ähnliche Ergebnisse konnten auch für das Her2neu-Antigen, welches in 20-40% aller Mammakarzinome expremiert wird, demonstriert werden. Unter Verwendung einer Vakzine mit rekombinanten *Listeria monocytogenes*-Stämmen, bei denen Her2neu an LLO gekoppelt wurde, konnte eine deutliche Tumorregression erreicht werden aufgrund der verstärkten Aktivierung cytotoxischer T-Zellen (Wood, 2008; Bruhn, 2007). Der erfolgreiche Einsatz von *Listeria monocytogenes* als Vakzinvektor konnte unter Laborbedingungen auch bei Melanomen oder B-Zell-Lymphomen demonstriert werden.

Ein weiteres Einsatzgebiet von *Listeria monocytogenes* könnte in der Neonatologie liegen. Hier konnte im Mausmodell gezeigt werden, dass der Einsatz von rekombinanten, virulenzattenuierten *Listeria monocytogenes* Stämmen eine spezifische Immunität induzieren können, auch wenn eine mütterliche, präexistente Immunität gegenüber dem Pathogen bestand. Somit könnte *Listeria monocytogenes* als idealer Vektor für neonatale Vakzinierungen erscheinen. Weiterhin konnte gezeigt werden,

dass die bereits einmalige Immunisierung mit attenuierten *Listeria monocytogenes* Stämmen zu einer robusten und anhaltenden CD4⁺- und CD8⁺-T-Zellaktivierung unter Bildung spezifischer Gedächtniszellen bei neonatalen Mäusen führte (Kollmann, 2007).

Hoffnung auf *Listeria monocytogenes* basierten Vakzinen macht man sich auch in der HIV-Therapie. Die durch eine Listeriainfektion bzw. eine Listeriavakzinierung beobachtete, gesteigerte CD8⁺-T-Zellantwort lassen vermuten, dass eben diese einen gewissen Schutz vor einer HIV-Infektion bietet bzw. eine Progression der HIV-Infektion verhindern kann (Bruhn, 2007). Ob *Listeria monocytogenes* je zum Einsatz in der Krebsimmuntherapie, in der Neonatologie oder in der HIV-Therapie kommt, wird die Zukunft zeigen müssen.

Da *Listeria monocytogenes* ein wichtiges Lebensmittel-assoziiertes Pathogen mit durchaus schwerwiegenden Krankheitsverläufen beim Menschen darstellt, existieren viele verschiedene Nachweismethoden. Als Goldstandard werden bis heute nach wie vor die kulturellen Anreicherungsverfahren angesehen. Als früheste Form der selektiven Anreicherungsverfahren ist das so genannte „cold enrichment“ bei 4°C anzusehen, welches durch Gray et al. entwickelt wurde. Weiterentwicklungen der kulturellen Anzuchtverfahren benutzen Selektivnährböden bzw. Selektivzusätze, was die Anreicherungszeit von mehreren Wochen nun im Schnitt auf 5-6 Tage verkürzt. Um aber bei Listerioseausbrüchen schnell handeln zu können, setzen sich heutzutage mehr und mehr molekulare Nachweisverfahren durch, da sie sehr genau, sensitiv und spezifisch sind und die Verfahren mehr und mehr zur Verfügung stehen und eine zunehmende Kosteneffizienz aufweisen (Gasanov, 2005). Unter diesen Verfahren stellen die PCR und die PFGE gängige molekulare Verfahren dar. Vor allem der PFGE kommt eine große Bedeutung zu, da große Datenbanken in den USA und in Finnland bestehen, in denen die genetischen Muster von *Listeria monocytogenes*-Isolaten aus unterschiedlichen Quellen registriert sind. Auf diese Datenbanken können die verschiedenen Laboratorien zurückgreifen, so dass PFGE-Muster verschiedener Stämme innerhalb kürzester Zeit verglichen werden und somit Listerioseausbrüche schnell erkannt und die erforderlichen Maßnahmen eingeleitet werden können. Im Hinblick auf steigende Listerioseerkrankungen in Deutschland wäre der Aufbau einer nationalen Datenbank wünschenswert (Hof, 2007).

Ziel in der Diagnostik ist es immer schnellere, dabei aber sehr sensitive und spezifische Ergebnisse bezüglich des Nachweises von *Listeria monocytogenes* aus Le-

bensmitteln oder auch klinische Proben zuliefern. Dabei sollen die neu entwickelten Nachweisverfahren standardisiert sein, breit zur Verfügung stehen und möglichst kosteneffizient sein. Da dies für die meisten neu entwickelten Verfahren, wie z.B. die RT-PCR, die Real-time-PCR, die NABA, Microarrays oder WGS noch nicht zutrifft, bleiben diese diagnostischen Werkzeuge Spezial- bzw. Forschungslaboratorien vorbehalten.

Trotz der Tatsache, dass *L. monocytogenes* sich auf fast alle gängigen Antibiotika sensibel zeigt, liegt die Heilungsrate der Listeriose insgesamt bei nur 70% (Hof, 2004). Es existiert bis heute kein optimales Therapieregime, welches alle drei Barrieren, welche *Listeria monocytogenes* überschreiten kann, nämlich die intestinale Grenze, die Blut-Hirnschranke und die fetomaternale Barriere, erreicht. Hinzu kommt noch die intrazelluläre Lage des Bakteriums, die ein zusätzliches Hindernis für die antibiotische Zugänglichkeit darstellt. Das optimale Antibiotikum muss also in der Lage sein in die unterschiedlichsten Zellen einzudringen, dort zu verbleiben und in die verschiedenen Kompartimente der Zielzelle vorzudringen. Ob dies gelingt lässt sich unter in-vitro Bedingungen nicht optimal abbilden. So ist z.B. völlig unklar, ob der Zellkern, der eine potentiell sichere Nische für die listeriale Replikation darstellt, von den verschiedenen Antibiotika überhaupt erreicht werden kann. Somit kann die Empfänglichkeit von *Listeria monocytogenes* gegenüber bestimmten Antibiotika aus in-vitro Versuchen nicht unbedingt in vivo übertragen werden. So konnte Carryn et al. zeigen, dass intrazellulär liegende Listerien durch eine Behandlung mit Ampicillin abgetötet wurden, wohingegen dieser Nachweis unter in vitro-Bedingungen nicht zu erbringen war (Carryn, 2002).

Da prospektive Studien zu einzelnen Therapieregimen fehlen, basieren die heute gängigen Antibiosen auf mehr oder weniger zufälligen Beobachtungen, die während verschiedener Listeriosebehandlungen gewonnen wurden. Grundsätzlich als wirksam haben sich Penicilline herausgestellt. Hierbei scheint ein gewisser Vorteil bei den Aminopenicillinen gegenüber Penicillin G zu liegen (Lavetter, 1971). Dies konnte in einer groß angelegten Studie jedoch nicht bestätigt werden (Niemann, 1980), trotzdem hat sich der Einsatz von Ampicillin als Therapie der ersten Wahl etabliert. Aus in-vitro Versuchen und Tiermodellen hat sich gezeigt, dass die Hinzunahme von Gentamicin den therapeutischen Effekt von Ampicillin verstärkt. Trotz fehlender vergleichender Studien hat sich diese Kombination als Therapie der Wahl herausgestellt (Hof, 1997). Berücksichtigt werden muss allerdings, dass sowohl Aminopenicilline als

auch Aminoglycoside nur schwerlich die Blut-Hirn-Schranke passieren und somit nur in geringer Dosierung im Liquor vorliegen. Dies macht eine lange und hochdosierte Behandlungsdauer nötig. Bei Penicillinallergie ist als Mittel der zweiten Wahl Cotrimoxazol anzusehen. Die Behandlung mit Cotrimoxazol bei Enzephalitis zeigte sich in Tierexperimenten äquieffektiv zu einer Ampicillin/Amoxillin-Therapie. Trotz dieser Tatsache etablierte sich Cotrimoxazol nicht als Mittel der Wahl (Michelet, 1999; Hof, 2004).

Schwieriger wird die Therapie bei Schwangeren und Neugeborenen, da sowohl Aminoglycoside als auch Cotrimoxazol relativ kontraindiziert sind. Da *Listeria monocytogenes* resistent gegenüber Cephalosporinen ist, kommen auch diese nicht zum Einsatz. Somit verbleiben im Wesentlichen nur Makrolide, um eine auf Aminopenicillinen basierende Therapie in der Schwangerschaft bei Bedarf zu unterstützen (Janakiraman, 2008).

Strittig bleibt der Einsatz von Fosfomycin. Hier existieren völlig konträre Meinungen bezüglich der Wirksamkeit dieses Antibiotikums. Hof postuliert eine natürliche Resistenz praktisch aller Stämme von *Listeria monocytogenes* gegenüber Fosfomycin (Hof, 2003b), währenddessen Scotti et al. der Meinung sind, dass Fosfomycin durchaus effektiv in der Therapie der Listeriose eingesetzt werden kann. Scotti sieht dies in der unterschiedlichen Expression bestimmter Virulenzfaktoren im in-vitro- und im in-vivo Modell begründet. Der Hexose-Phosphat-Transporter von *Listeria monocytogenes* wird unter in-vitro Bedingungen nicht expremiert. Dieser Virulenzfaktor wird PrfA-reguliert und bewerkstelligt die Aufnahme von Fosfomycin. Somit scheint *Listeria monocytogenes* unter in-vitro Bedingungen resistent gegenüber diesem Antibiotikum, obwohl es unter in-vivo Bedingungen durchaus empfänglich gegenüber Fosfomycin ist. Ob Fosfomycin in Zukunft eine weitere Therapiemöglichkeit in der Behandlung der Listeriose darstellen kann und sich als Standardmedikament etablieren kann, bleibt Gegenstand der Forschung. Bisher wird Fosfomycin aufgrund dieser konträren Ansichten nicht im klinischen Alltag eingesetzt (Scotti 2006).

Literaturverzeichnis

[1]	Abram M, Schlüter D, Vuckovic D, Waber B, Doric M, Deckert M. Effects of pregnancy-associated <i>Listeria monocytogenes</i> infection: necrotizing hepatitis due to impaired maternal immune response and significantly increased abortion rate. Virchows Arch. 2002; 441: 368-379
[2]	Albritton WL, Wiggins GL, Feeley JC. Neonatal listeriosis: distribution of serotypes in relation to age at onset of disease. J Pediatr 1976; 88: 481-483
[3]	Albritton WL, Williams GL, DeWitt WE, Feeley JC. <i>Listeria monocytogenes</i> In: Lennette EH, Balows A, Hausler WJ Jr., Truant JP editors Manual of Clinical Microbiology 3rd ed. American Society for Microbiology Washington D.C. 1980: 139-142
[4]	Albritton WL, Cochi SL, Feeley JC. Overview of neonatal listeriosis. Clin Invest Med 1984; 7: 311-314
[5]	Allerberger F. <i>Listeria</i> : growth, phenotypic differentiation and molecular microbiology. FEMS Immunol Med Microbiol 2003; 35: 183-189
[6]	Alouf JE. Pore-forming bacterial protein toxins: an overview. Curr Top Microbiol Immunol 2001; 257: 1-14
[7]	Amann R, Ludwig W. Ribosomal RNA-targeted nucleic acid probes for studies in microbial ecology. FEMS Microbiol Rev 2000; 24: 555-565
[8]	Amann R, Fuchs BM, Behrens S. The identification of microorganisms by fluorescence in situ hybridization. Curr Opin Biotechnol 2001; 12: 231-236
[9]	Amarante-Paffaro A, Queiroz GS, Corrêa ST, Spira B, Bevilacqua E. Phagocytosis as a potential mechanism for microbial defense of mouse placental trophoblast cells. Reproduction 2004; 128: 207-218

[10]	Andersen PS, Jespersgaard C, Vuust J, Christiansen M, Larsen LA. Capillary electrophoresis-based single strand DNA conformation analysis in high-throughput mutation screening. Hum Mutat 2003; 21: 455-465
[11]	Ansbacher R, Borchardt KA, Hannegan MW, Boyson WA. Clinical investigation of <i>Listeria monocytogenes</i> as a possible cause of human fetal wastage. Am J Obstet Gynecol 1966; 94: 386-390
[12]	Antal EA, Dietrichs E, Løberg EM, Melby KK, Maehlen J. Brain stem encephalitis in listeriosis. Scand J Infect Dis. 2005a;37(3):190-4.
[13]	Antal EA, Løberg EM, Dietrichs E, Maehlen J. Neuropathological findings in 9 cases of <i>Listeria monocytogenes</i> brain stem encephalitis. Brain Pathol. 2005 Jul;15(3):187-91
[14]	Armstrong RW, Fung PC. Brainstem encephalitis (rhombencephalitis) due to <i>Listeria monocytogenes</i> : Case report and review. Clin Infect Dis 1993; 16: 689-702
[15]	Auerbuch V, Loureiro JJ, Gertler FB, Theriot JA, Portnoy DA. Ena/VASP proteins contribute to <i>Listeria monocytogenes</i> pathogenesis by controlling temporal and spatial persistence of bacterial actin-based motility. Mol Microbiol 2003; 49: 1361-1375
[16]	Aznar R, Alarcón B. On the specificity of PCR detection of <i>Listeria monocytogenes</i> in food: a comparison of published primers. Syst Appl Microbiol 2002; 25:109-119
[17]	Aznar R, Alarcón B. PCR detection of <i>Listeria monocytogenes</i> : a study of multiple factors affecting sensitivity. J Appl Microbiol 2003; 95: 958-966
[18]	Bakardjiev AI, Stacy BA, Fisher SJ, Portnoy DA. Listeriosis in the pregnant guinea pig: a model of vertical transmission. Infect Immun 2004; 72: 489-497

[19]	<p>Bakardjiev AI, Stacy BA, Portnoy DA. Growth of <i>Listeria monocytogenes</i> in the guinea pig placenta and role of cell-to-cell spread in fetal infection. <i>J Infect Dis</i> 2005; 191: 1889-1897</p>
[20]	<p>Bakardjiev AI, Theriot JA, Portnoy DA. <i>Listeria monocytogenes</i> traffics from maternal organs to the placenta and back. <i>PLoS Pathog.</i> 2006; 2: 623-631</p>
[21]	<p>Baldassarre JS, Ingerman MJ, Nansteel J, Santoro J. Development of <i>Listeria meningitis</i> during vancomycin therapy: a case report. <i>J Infect Dis</i> 1991; 164: 221-222</p>
[22]	<p>Bannerman ES, Bille J. A selective medium for isolating <i>Listeria</i> spp. from heavily contaminated material. <i>Appl Environ Microbiol</i> 1988; 54: 165-167</p>
[23]	<p>Barber EM, Pollard JW. The uterine NK cell population requires IL-15 but these cells are not required for pregnancy nor the resolution of a <i>Listeria monocytogenes</i> infection. <i>J Immunol</i> 2003; 171: 37-46</p>
[24]	<p>Barber EM, Fazzari M, Pollard JW. Th1 cytokines are essential for placental immunity to <i>Listeria monocytogenes</i>. <i>Infect Immun</i> 2005; 73: 6322-6331</p>
[25]	<p>Barber EM, Guleria I, Pollard JW. Infection with <i>Listeria monocytogenes</i> as a probe for placental immunological function. <i>Methods Mol Med</i> 2006; 122: 435-442</p>
[26]	<p>Bartt R. <i>Listeria</i> and atypical presentations of <i>Listeria</i> in the central nervous system. <i>Semin Neurol</i> 2000; 20: 361-373</p>
[27]	<p>Bauer J, Hof H, Nichterlein T, Wuenscher M. Comparative activities of macrolide derivatives on murine listeriosis. <i>Zentralbl Bakteriologie</i> 1993; 278: 112-119</p>
[28]	<p>Becroft DM, Farmer K, Seddon RJ, Sowden R, Stewart JH, Vines A, Wattie DA. Epidemic listeriosis in the newborn. <i>Br Med J</i> 1971; 3: 747-751</p>

[29]	<p>Begley M, Sleator RD, Gahan CG, Hill C. Contribution of three bile-associated loci, bsh, pva, and btlB, to gastrointestinal persistence and bile tolerance of <i>Listeria monocytogenes</i>. <i>Infect Immun</i> 2005; 73: 894-904</p>
[30]	<p>Begley M, Hill C. Stress adaptation in foodborne pathogens. <i>Annu Rev Food Sci Technol.</i> 2015; 6:191-210.</p>
[31]	<p>Berche P. Bacteremia is required for invasion of the murine central nervous system by <i>Listeria monocytogenes</i>. <i>Microb Pathog</i> 1995; 18: 323-336</p>
[32]	<p>Berg RE, Crossley E, Murray S, Forman J. Relative contributions of NK and CD8 T cells to IFN-gamma mediated innate immune protection against <i>Listeria monocytogenes</i>. <i>J Immunol</i> 2005; 175: 1751-1757</p>
[33]	<p>Bergmann B, Raffelsbauer D, Kuhn M, Götz M, Hom S, Goebel W. InlA- but not InlB-mediated internalization of <i>Listeria monocytogenes</i> by non-phagocytic mammalian cells needs the support of other internalins. <i>Mol Microbiol</i> 2002; 43: 557-570</p>
[34]	<p>Berner R, Hof H. Therapeutic activity of teicoplanin on experimental listeriosis compared with that of vancomycin and ampicillin. <i>Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A</i> 1988; 268: 50-56</p>
[35]	<p>Bibb WF, Gellin BG, Weaver R, Schwartz B, Plikaytis BD, Reeves MW, Pinner RW, Broome CV. Analysis of clinical and food-borne isolates of <i>Listeria monocytogenes</i> in the United States by multilocus enzyme electrophoresis and application of the method to epidemiologic investigations. <i>Appl Environ Microbiol</i> 1990; 56: 2133-2141</p>
[36]	<p>Bierne H, Cossart P. InlB, a surface protein of <i>Listeria monocytogenes</i> that behaves as an invasin and a growth factor. <i>J Cell Sci</i> 2002a; 115: 3357-3367</p>

[37]	<p>Bierne H, Mazmanian SK, Trost M, Pucciarelli MG, Liu G, Dehoux P, Jänsch L, Garcia-del Portillo F, Schneewind O, Cossart P.</p> <p>Inactivation of the <i>srtA</i> gene in <i>Listeria monocytogenes</i> inhibits anchoring of surface proteins and affects virulence.</p> <p>Mol Microbiol 2002b; 43: 869-881</p>
[38]	<p>Bierne H, Sabet C, Personnic N, Cossart P.</p> <p>Internalins: a complex family of leucine-rich repeat-containing proteins in <i>Listeria monocytogenes</i>.</p> <p>Microbes Infect 2007; 9: 1156-1166</p>
[39]	<p>Bille J, Rocourt J.</p> <p>WHO International Multicenter <i>Listeria monocytogenes</i> Subtyping Study – rationale and set up of the study.</p> <p>Int J Food Microbiol 1996; 32: 251-262</p>
[40]	<p>Bitar AP, Cao M, Marquis H.</p> <p>The metalloprotease of <i>Listeria monocytogenes</i> is activated by intramolecular autocatalysis.</p> <p>J Bacteriol 2008; 190: 107-111</p>
[41]	<p>Blanot S, Boumaila C, Berche P.</p> <p>Intracerebral activity of antibiotics against <i>Listeria monocytogenes</i> during experimental rhombencephalitis.</p> <p>J Antimicrob Chemother 1999; 44: 565-568</p>
[42]	<p>Böckmann R, Dickneite C, Middendorf B, Goebel W, Sokolovic Z.</p> <p>Specific binding of the <i>Listeria monocytogenes</i> transcriptional regulator PrfA to target sequences requires additional factor(s) and is influenced by iron.</p> <p>Mol Microbiol 1996; 22: 643-653</p>
[43]	<p>Boerlin P, Rocourt J, Grimont F, Grimont PAD, Jacquet C, Piffaretti JC.</p> <p><i>Listeria ivanovii</i> subsp. <i>londoniensis</i> subsp.nov.</p> <p>Int J Syst Bacteriol 1992; 42: 69-73</p>
[44]	<p>Boerlin P, Bannerman E, Ischer F, Rocourt J, Bille J.</p> <p>Typing <i>Listeria monocytogenes</i>: a comparison of random amplification of polymorphic DNA with 5 other methods.</p> <p>Res Microbiol 1995; 146: 35-49</p>

[45]	Bohne J, Sokolovic Z, Goebel W. Transcriptional regulation of prfA and PrfA-regulated virulence genes in <i>Listeria monocytogenes</i> . Mol Microbiol 1994; 11: 1141-1150
[46]	Boisivon A, Guiomar C, Carbon C. In vitro bactericidal activity of amoxicillin, gentamicin, rifampicin, ciprofloxacin and trimethoprim-sulfamethoxazole alone or in combination against <i>Listeria monocytogenes</i> . Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1990; 9: 206-209
[47]	Bonacorsi S, Doit C, Aujard Y, Blot P, Bingen E. Successful antepartum treatment of listeriosis with vancomycin plus netilmicin. Clin Infect Dis 1993; 17: 139-140
[48]	Bonazzi, M., Lecuit, M. and Cossart, P <i>Listeria monocytogenes</i> internalin and E-cadherin: from structure to pathogenesis. Cellular Microbiology, 2009, 11: 693-702.
[49]	Boucher M, Yonekura ML. Perinatal listeriosis (early onset): correlation of antenatal manifestations and neonatal outcome. Obstet Gynecol 1986; 68: 593-597
[50]	Boujemaa-Paterski R, Gouin E, Hansen G, Samarin S, Le Clainche C, Didry D, Dehoux P, Cossart P, Kocks C, Carlier MF, Pantaloni D. <i>Listeria</i> protein ActA mimics WASp family proteins: it activates filament barbed end branching by Arp2/3 complex. Biochemistry 2001; 40: 11390-11404
[51]	Braun L, Ohayon H, Cossart P. The InIB protein of <i>Listeria monocytogenes</i> is sufficient to promote entry into mammalian cells. Mol Microbiol 1998; 27: 1077-1087
[52]	Braun L, Ghebrehiwet B, Cossart P. gC1q-R/p32, a C1q-binding protein, is a receptor for the InIB invasion protein of <i>Listeria monocytogenes</i> . EMBO J 2000a; 19: 1458-1466

[53]	Braun L, Cossart P. Interactions between <i>Listeria monocytogenes</i> and host mammalian cells. <i>Microbes Infect</i> 2000b; 2: 803-811
[54]	Braun TI, Travis D, Dee RR, Nieman RE. Liver abscess due to <i>Listeria monocytogenes</i> : case report and review. <i>Clin Infect Dis</i> 1993; 17: 267-269
[55]	Brehm K, Haas A, Goebel W, Kreft J. A gene encoding a superoxide dismutase of the facultative intracellular bacterium <i>Listeria monocytogenes</i> . <i>Gene</i> 1992; 118: 121-125
[56]	Brehm-Stecher BF, Johnson EA. Rapid methods for detection of <i>Listeria</i> In: Ryser ET, Marth EH. editors <i>Listeria, Listeriosis and Food Safety</i> 3 rd ed. CRC Press Florida 2007: 257-282
[57]	Brockstedt DG, Giedlin MA, Leong ML, Bahjat KS, Gao Y, Lockett W, Liu W, Cook DN, Portnoy DA, Dubensky TW Jr. <i>Listeria</i> -based cancer vaccines that segregate immunogenicity from toxicity. <i>Proc Natl Acad Sci U S A</i> 2004; 101: 13832-13837
[58]	Brosch R, Brett M, Catimel B, Luchansky JB, Ojeniyi B, Rocourt J. Genomic fingerprinting of 80 strains from the WHO multicenter international typing study of <i>Listeria monocytogenes</i> via pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). <i>Int J Food Microbiol.</i> 1996 Oct;32(3):343-55.
[59]	Bruhn KW, Craft N, Miller JF. <i>Listeria</i> as a vaccine vector. <i>Microbes Infect</i> 2007; 9: 1226-1235
[60]	Bubert A, Kuhn M, Goebel W, Köhler S. Structural and functional properties of the p60 proteins from different <i>Listeria</i> species. <i>J Bacteriol</i> 1992b; 174: 8166-8171
[61]	Bubert A, Riebe J, Schnitzler N, Schönberg A, Goebel W, Schubert W. Isolation of catalase-negative <i>Listeria monocytogenes</i> strains from listeriosis patients and their rapid identification by anti-p60 antibodies and/or PCR. <i>J Clin Microbiol</i> 1997; 35: 179-183

[62]	Bucher HU, Nadal D, Mieth D. Listeriosis in the neonate: improved outcome due to early detection. Monatsschr Kinderheilkd 1989; 137: 321-325
[63]	Buchrieser C, Rusniok C, the Listeria Consortium, Kunst F, Cossart P, Glaser P. Comparison of the genome sequences of Listeria monocytogenes und Listeria innocua: Clues for evolution and pathogenicity. FEMS Immunol Med Microbiol 2003; 35: 207-213
[64]	Buchrieser C. Biodiversity of the species Listeria monocytogenes and the genus Listeria. Microbes Infect 2007; 9: 1147-1155
[65]	Bundesinstitut für Risikobewertung Berlin Verbrauchertipps: Schutz vor lebensmittelbedingten Infektionen mit Listerien 2008 Verfügbar unter:URL: http://www.bfr.bund.de/cm/238/verbrauchertipps_schutz_vor_lebensmittelbedingt_en_infektionen_mit_listerien.pdf
[66]	Burkholder KM, Kim KP, Mishra KK, Medina S, Hahm BK, Kim H, et al. Expression of LAP, a SecA2-dependent secretory protein, is induced under anaerobic environment. Microbes Infect 2009; 11:859- 67
[67]	Burn CG. Characteristics of a new species of the genus Listerella obtained from human sources. J Bacteriol 1935; 30: 373
[68]	Burn CG. Clinical and pathological features of an infection caused by a new pathogen of the genus Listerella. Am J Pathol 1936; 12: 341
[69]	Cabanes D, Dehoux P, Dussurget O, Frangeul L, Cossart P. Surface proteins and the pathogenic potential of Listeria monocytogenes. Trends Microbiol 2002; 10: 238-245
[70]	Cabanes D, Dussurget O, Dehoux P, Cossart P. Auto, a surface associated autolysin of Listeria monocytogenes required for entry into eukaryotic cells and virulence. Mol Microbiol 2004; 51: 1601-1614

[71]	Cabanes D, Sousa S, Cebriá A, Lecuit M, García-del Portillo F, Cossart P. Gp96 is a receptor for a novel <i>Listeria monocytogenes</i> virulence factor, Vip, a surface protein. <i>EMBO J</i> 2005; 24: 2827-2838
[72]	Cain DB, McCann VL. An unusual case of cutaneous listeriosis. <i>J Clin Microbiol</i> 1986; 23: 976-977
[73]	Camargo AC, Woodward JJ, Nero LA. The Continuous Challenge of Characterizing the Foodborne Pathogen <i>Listeria monocytogenes</i> . <i>Foodborne Pathog Dis.</i> 2016 Aug;13(8):405-16
[74]	Camejo A, Buchrieser C, Couvé E, Carvalho F, Reis O, Ferreira P, Sousa S, Cossart P, Cabanes D. In vivo transcriptional profiling of <i>Listeria monocytogenes</i> and mutagenesis identify new virulence factors involved in infection. <i>PLoS Pathog</i> 2009; 5: e1000449
[75]	Camejo A, Carvalho F, Reis O, Leitão E, Sousa S, Cabanes D The arsenal of virulence factors deployed by <i>Listeria monocytogenes</i> to promote its cell infection cycle, <i>Virulence</i> , 2011, 2:5, 379-394
[76]	Camilli A, Tilney LG, Portnoy DA. Dual roles of plcA in <i>Listeria monocytogenes</i> pathogenesis. <i>Mol Microbiol</i> 1993; 8: 143-157
[77]	Carryn S, Van Bambeke F, Mingeot-Leclercq MP, Tulkens PM. Comparative intracellular (THP-1 macrophage) and extracellular activities of beta-lactams, azithromycin, gentamicin, and fluoroquinolones against <i>Listeria monocytogenes</i> at clinically relevant concentrations. <i>Antimicrob Agents Chemother.</i> 2002; 46: 2095-2103
[78]	Carvajal A, Frederiksen W. Fatal endocarditis due to <i>Listeria monocytogenes</i> . <i>Rev Infect Dis</i> 1988; 10: 616-623
[79]	Centers for Disease Control and Prevention Update: multistate outbreak of listeriosis – United States. <i>Morb Mortal Wkly Rep</i> 2000; 49: 129

[80]	Centers for Disease Control and Prevention Outbreak of listeriosis associated with homemade Mexican-style cheese-North Carolina October 2000-January 2001. Morb MortalWkly Rep 2001; 50: 560-562
[81]	Centers for Disease Control and Prevention Public Health Dispatch: outbreak of Listeriosis – Northeastern United States. Morb MortalWkly Rep 2002; 51: 950-951
[82]	Centers for Disease Control and Prevention (Suche vom: 15.12.2021) https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/index.html
[83]	Chakraborty T, Leimeister-Wächter M, Domann E, Hartl M, Goebel W, Nichterlein T, Notermans S. Coordinate regulation of virulence genes in <i>Listeria monocytogenes</i> requires the product of the <i>prfA</i> gene. J Bacteriol 1992; 174: 568-574
[84]	Chakraborty T, Ebel F, Domann E, Niebuhr K, Gerstel B, Pistor S, Temm-Grove CJ, Jockusch BM, Reinhard M, Walter U. A focal adhesion factor directly linking intracellularly motile <i>Listeria monocytogenes</i> and <i>Listeria ivanovii</i> to the actin-based cytoskeleton of mammalian cells. EMBO J 1995; 14: 1314-1321
[85]	Chakraborty T, Hain T, Domann E. Genome organization and the evolution of the virulence gene locus in <i>Listeria</i> species. Int J Med Microbiol 2000; 290: 167-174
[86]	Chandrabos C, M'Homa Soudja S, Weinrick B, et al. The p60 and NamA autolysins from <i>Listeria monocytogenes</i> contribute to host colonization and induction of protective memory. Cell Microbiol. 2015;17(2):147-163.
[87]	Charlier C, Perrodeau É, Leclercq A, Cazenave B, Pilmis B, Henry B, Lopes A, Maury MM, Moura A, Goffinet F, Dieye HB, Thouvenot P, Ungeheuer MN, Tourdjman M, Goulet V, de Valk H, Lortholary O, Ravaud P, Lecuit M; MONALISA study group. Clinical features and prognostic factors of listeriosis: the MONALISA national prospective cohort study. Lancet Infect Dis. 2017 May;17(5):510-519

[88]	Charlier C, Disson O, Lecuit M. Maternal-neonatal listeriosis. Virulence. 2020;11(1):391-397
[89]	Charlton KM, Garcia MM. Spontaneous listeric encephalitis and neuritis in sheep. Light microscopic studies. Vet Pathol. 1977; 14: 297-313
[90]	Charpentier E, Gerbaud G, Jacquet C, Rocourt J, Courvalin P. Incidence of antibiotic resistance in Listeria species. J Infect Dis 1995; 172: 277-281
[91]	Chatterjee SS, Hossain H, Otten S, Kuenne C, Kuchmina K, Machata S, Domann E, Chakraborty T, Hain T. Intracellular gene expression profile of Listeria monocytogenes. Infect Immun 2006; 74: 1323-1338
[92]	Cherubin CE, Appleman MD, Heseltine PN, Khayr W, Stratton CW. Epidemiological spectrum and current treatment of listeriosis. Rev Infect Dis 1991; 13: 1108-1114
[93]	Chiara M, Caruso M, D'Erchia AM, et al. Comparative Genomics of Listeria Sensu Lato: Genus-Wide Differences in Evolutionary Dynamics and the Progressive Gain of Complex, Potentially Pathogenicity-Related Traits through Lateral Gene Transfer. Genome Biol Evol. 2015;7(8):2154-2172
[94]	Chico-Calero I, Suárez M, González-Zorn B, Scortti M, Slaghuis J, Goebel W, Vázquez-Boland JA. Hpt, a bacterial homolog of the microsomal glucose- 6-phosphate translocase, mediates rapid intracellular proliferation in Listeria. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99: 431-436
[95]	Chirgwin K, Gleich S. Listeria monocytogenes osteomyelitis. Arch Intern Med 1989; 149: 931-932
[96]	Clark AG, McLauchlin J. Simple color tests based on an alanyl peptidase reaction which differentiate Listeria monocytogenes from other Listeria species. J Clin Microbiol 1997; 35: 2155-2156

[97]	Clayton EM, Daly KM, Guinane CM, Hill C, Cotter PD, Ross PR. Atypical <i>Listeria innocua</i> strains possess an intact LIPI-3. BMC Microbiol. 2014 Mar 8;14:58
[98]	Coelho C, Brown L, Maryam M, et al. <i>Listeria monocytogenes</i> virulence factors, including listeriolysin O, are secreted in biologically active extracellular vesicles. J Biol Chem. 2019;294(4):1202-1217
[99]	Coffey A, Rombouts FM, Abee T. Influence of environmental parameters on phosphatidylcholine phospholipase C production in <i>Listeria monocytogenes</i> : a convenient method to differentiate <i>Listeria monocytogenes</i> from other <i>Listeria</i> species. Appl Environ Microbiol 1996; 62: 1252-1256
[100]	Coffey A, van den Burg B, Veltman R, Abee T. Characteristics of the biologically active 35-kDa metalloprotease virulence factor from <i>Listeria monocytogenes</i> . J Appl Microbiol 2000; 88: 132-141
[101]	Collins MD, Jones D, Goodfellow M, Minnikin D.E. Isoprenoid quinone composition as a guide to the classification of <i>Listeria</i> , <i>Brochothrix</i> , <i>Erysipelothrix</i> and <i>Caryophanon</i> . J Gen Microbiol 1979; 111: 453-457
[102]	Collins MD, Feresu S, Jones D. Cell wall, DNA base composition and lipid studies on <i>Listeria denitrificans</i> (Prevot). FEMS Microbiol Lett 1983; 18: 131-134
[103]	Collins MD, Wallbanks S, Lane DJ, Shah J, Nietupski R, Smida J, Dorsch M, Stackebrandt E. Phylogenetic analysis of the genus <i>Listeria</i> based on reverse transcriptase sequencing of 16SrRNA. Int J Syst Bacteriol 1991; 41: 240-246
[104]	Cone LA, Leung MM, Byrd RG, Annunziata GM., Lam RY, Herman BK. Multiple cerebral abscesses because of <i>Listeria monocytogenes</i> : three case reports and a literature review of supratentorial listerial brain abscess(es). Surg Neurol 2003; 59: 320-328

[105]	Cossart P, Sansonetti PJ. Bacterial invasion: the paradigms of enteroinvasive pathogens. Science 2004; 304: 242-248
[106]	Cossart P, Jonquières R. Sortase, a universal target for therapeutic agents against gram-positive bacteria? Proc Natl Acad Sci U S A 2005; 97: 5013-5015
[107]	Cossart P. Listeriology (1926-2007): the rise of a model pathogen. Microbes Infect 2007; 9: 1143-1146
[108]	Cossart P, Toledo-Arana A: <i>Listeria monocytogenes</i> , a unique model in infection biology: An overview. <i>Microbes Infect</i> 2008; 10:1041–1050
[109]	Costa AC, Pinheiro J, Reis SA, Cabanes D, Sousa S. <i>Listeria monocytogenes</i> Interferes with Host Cell Mitosis through Its Virulence Factors InlC and ActA. <i>Toxins (Basel)</i> . 2020 Jun 20;12(6):411
[110]	Cotter PD, Draper LA, Lawton EM, et al. Listeriolysin S, a novel peptide haemolysin associated with a subset of lineage I <i>Listeria monocytogenes</i> . <i>PLoS Pathog</i> . 2008;4(9)
[111]	Courtney HS, Dale JB, Hasty DI. Differential effects of the streptococcal fibronectin-binding protein, FBP54, on adhesion of group A streptococci to human buccal cells and HEp-2 tissue culture cells. <i>Infect Immun</i> . 1996 Jul;64(7):2415-9
[112]	Curosh NA, Perednia DA. <i>Listeria monocytogenes</i> septic arthritis. A case report and review of literature. <i>Arch Intern Med</i> 1989; 149: 1207-1208
[113]	Curtis GDW, Mitchell RG, King AF, Griffen EJ. A selective differential medium for the isolation of <i>Listeria monocytogenes</i> . <i>Lett Appl Microbiol</i> 1989; 8: 95-98
[114]	Dabiri G, Sanger J, Portnoy DA, Southwick F. <i>Listeria monocytogenes</i> moves rapidly through the host-cell cytoplasm by inducing directional actin assembly. <i>Proc Natl Acad Sci U S A</i> 1990; 87: 6068-6072

[115]	Dallmier AW, Martin SE. Catalase, superoxide dismutase, and hemolysin activities and heat susceptibility of <i>Listeria monocytogenes</i> after growth in media containing sodium chloride. <i>Appl Environ Microbiol</i> 1990; 56: 2807-2810
[116]	Dalton CB, Austin CC, Sobel J, Hayes PS, Bibb WF, Graves LM, Swaminathan B, Proctor ME, Griffin PM. An outbreak of gastroenteritis and fever due to <i>Listeria monocytogenes</i> in milk. <i>N Engl J Med.</i> 1997; 336: 100-105.
[117]	Datta AR, Kothary MH. Effects of glucose, growth temperature, and pH on listeriolysin O production in <i>Listeria monocytogenes</i> . <i>Appl Environ Microbiol</i> 1993; 59: 3495-3497
[118]	Daugelat S, Ladel CH, Schoel B, Kaufmann SH. Antigen-specific T-cell responses during primary and secondary <i>Listeria monocytogenes</i> infection. <i>Infect Immun</i> 1994; 62: 1881-1888
[119]	David V, Gouin E, Troys MV, Grogan A, Segal AW, Ampe C, Cossart P. Identification of cofilin, coronin, Rac and capZ in actin tails using a <i>Listeria</i> affinity approach. <i>J Cell Sci</i> 1998; 111: 2877-2884
[120]	de Bruijn MF, van Vianen W, Ploemacher RE, Bakker-Woudenberg IA, Campbell PA, van Ewijk W, Leenen PJ. Bone marrow cellular composition in <i>Listeria monocytogenes</i> infected mice detected using ER-MP12 and ER-MP20 antibodies: a flow cytometric alternative to differential counting. <i>J Immunol Methods</i> 1998; 217: 27-39
[121]	de Crom R, van Haperen R, Janssens R, Visser P, Willemsen R, Grosveld F, van der Kamp A. Gp96/GRP94 is a putative high density lipoprotein-binding protein in liver. <i>Biochim Biophys Acta</i> 1999; 1437: 378-392
[122]	Decatur AL, Portnoy DA. A PEST-like sequence in listeriolysin O essential for <i>Listeria monocytogenes</i> pathogenicity <i>Science</i> 2000; 290: 992-995

[123]	Dellafiora L, Filipello V, Dall'Asta C, Finazzi G, Galaverna G, Losio MN. A Structural Study on the <i>Listeria monocytogenes</i> Internalin A-Human E-cadherin Interaction: A Molecular Tool to Investigate the Effects of Missense Mutations. <i>Toxins (Basel)</i> . 2020 Jan 20;12(1):60.
[124]	DeLong EF, Wickham GS, Pace NR. Phylogenetic strains: ribosomal RNA-based probes for the identification of single microbial cells. <i>Science</i> 1989; 243: 1360-1363
[125]	Dickneite C, Böckmann R, Spory A, Goebel W, Sokolovic Z. Differential interaction of the transcription factor PrfA and the PrfA-activating factor (Paf) of <i>Listeria monocytogenes</i> with target sequences. <i>Mol Microbiol</i> 1998; 27: 915-928
[126]	Disson O, Grayo S, Huillet E, et al. Conjugated action of two species-specific invasion proteins for fetoplacental listeriosis. <i>Nature</i> . 2008;455(7216):1114–1118
[127]	Disson O, Moura A, Lecuit M. Making Sense of the Biodiversity and Virulence of <i>Listeria monocytogenes</i> . <i>Trends Microbiol</i> . 2021 Sep;29(9):811-822
[128]	Doijad SP, Poharkar KV, Kale SB, Kerkar S, Kalorey DR et al. <i>Listeria goaensis</i> sp. nov. <i>Int J Syst Evol Microbiol</i> 2018;68:3285-3291.
[129]	Dold FG, Sanger JM, Sanger JW. Intact alpha-actinin molecules are needed for both the assembly of actin into the tails and the locomotion of <i>Listeria monocytogenes</i> inside infected cells. <i>Cell Motil Cytoskeleton</i> 1994; 28: 97-107
[130]	Domann E, Zechel S, Lingnau A, Hain T, Darji A, Nichterlein T, Wehland J, Chakraborty T. Identification and characterization of a novel PrfA-regulated gene in <i>Listeria monocytogenes</i> whose product, IrpA, is highly homologous to internalin proteins, which contain leucine-rich repeats. <i>Infect Immun</i> . 1997 Jan;65(1):101-9
[131]	Domingo P, Serra J, Sambeat MA, Ausina V. Pneumonia due to <i>Listeria monocytogenes</i> . <i>Clin Infect Dis</i> 1992; 14: 787-789

[132]	<p>Domínguez-Bernal G, Müller-Altrock S, González-Zorn B, Scotti M, Herrmann P, Monzó HJ, Lacharme L, Kreft J, Vázquez-Boland JA.</p> <p>A spontaneous genomic deletion in <i>Listeria ivanovii</i> identifies LIPI-2, a species-specific pathogenicity island encoding sphingomyelinase and numerous internalins.</p> <p>Mol Microbiol 2006; 59: 415-432</p>
[133]	<p>Dominiecki ME, Beatty GL, Pan ZK, Neeson P, Paterson Y.</p> <p>Tumor sensitivity to IFN-gamma is required for successful antigen-specific immunotherapy of a transplantable mouse tumor model for HPV-transformed tumors.</p> <p>Cancer Immunol Immunother 2005; 54: 477-488</p>
[134]	<p>Donker-Voet J.</p> <p><i>Listeria monocytogenes</i>: Some biochemical and serological aspects.</p> <p>Acta Microbiol Acad Sci Hung 1972; 19: 287-291</p>
[135]	<p>Donnelly CW, Nyachuba DG.</p> <p>Conventional methods to detect and isolate <i>Listeria monocytogenes</i></p> <p>In: Ryser ET, Marth EH. editors</p> <p><i>Listeria, Listeriosis and Food Safety</i> 3rd ed.</p> <p>CRC Press Florida 2007: 216-256</p>
[136]	<p>Dons L, Weclawicz K, Jin Y, Bindseil E, Olsen JE, Kristensson K.</p> <p>Rat dorsal root ganglia neurons as a model for <i>Listeria monocytogenes</i> infections in culture.</p> <p>Med Microbiol Immunol. 1999 Aug;188(1):15-21.</p>
[137]	<p>Doumith M, Cazalet C, Simoes N, Frangeul L, Jacquet C, Kunst F, Martin P, Cossart P, Glaser P, Buchrieser C.</p> <p>New aspects regarding evolution and virulence of <i>Listeria monocytogenes</i> revealed by comparative genomics and DNA arrays.</p> <p>Infect Immun 2004; 72: 1072-1083</p>
[138]	<p>Drolia R, Bhunia AK.</p> <p>Crossing the Intestinal Barrier via <i>Listeria</i> Adhesion Protein and Internalin A.</p> <p>Trends Microbiol. 2019 May;27(5):408-425.</p>
[139]	<p>Dramsí S, Kocks C, Forestier C, Cossart P.</p> <p>Internalin-mediated invasion of epithelial cells by <i>Listeria monocytogenes</i> is regulated by the bacterial growth state, temperature and the pleiotropic activator prfA.</p> <p>Mol Microbiol 1993; 9: 931-941</p>

[140]	<p>Dramsi S, Dehoux P, Lebrun M, Goossens PL, Cossart P.</p> <p>Identification of four new members of the internalin multigene family of <i>Listeria monocytogenes</i> EGD.</p> <p>Infect Immun 1997; 65: 1615-1625</p>
[141]	<p>Dramsi S, Lévi S, Triller A, Cossart P.</p> <p>Entry of <i>Listeria monocytogenes</i> into neurons occurs by cell-to-cell spread: an in vitro study.</p> <p>Infect Immun 1998; 66: 4461-4468</p>
[142]	<p>Dramsi S, Cossart P.</p> <p>Listeriolysin O-mediated calcium influx potentiates entry of <i>Listeria monocytogenes</i> into the human Hep-2 epithelial cell line.</p> <p>Infect Immun 2003; 71: 3614-3618</p>
[143]	<p>Dramsi S, Bourdichon F, Cabanes D, Lecuit M, Fsihi H, Cossart P.</p> <p>FbpA, a novel multifunctional <i>Listeria monocytogenes</i> virulence factor.</p> <p>Mol Microbiol 2004; 53: 639-649</p>
[144]	<p>Dramsi S, Trieu-Cuot P, Bierne H.</p> <p>Sorting sortases: a nomenclature proposal for the various sortases of Gram-positive bacteria.</p> <p>Res Microbiol 2005; 156: 289-297</p>
[145]	<p>Drevets DA, Sawyer RT, Potter TA, Campbell PA.</p> <p><i>Listeria monocytogenes</i> infects human endothelial cells by two distinct mechanisms.</p> <p>Infect Immun 1995; 63: 4268-4276</p>
[146]	<p>Drevets DA, Leenen PJ, Greenfield RA.</p> <p>Invasion of the central nervous system by intracellular bacteria.</p> <p>Clin Microbiol Rev 2004a; 17: 323-347</p>
[147]	<p>Drevets DA, Dillon MJ, Schawang JS, Van Rooijen N, Ehrchen J, Sunderkötter C, Leenen PJ.</p> <p>The Ly-6Chigh monocyte subpopulation transports <i>Listeria monocytogenes</i> into the brain during systemic infection of mice.</p> <p>J Immunol 2004b; 172: 4418-4424</p>

[148]	Drevets DA, Bronze M.S. Listeria monocytogenes: epidemiology, human disease, and mechanisms of brain invasion FEMS Immunol Med Microbiol 2008; 53: 151-165
[149]	Dumont J, Cotoni L. Bacille semblable à celui du rouget de porc rencontré dans le L.C.R. d'un méningitique. Ann Inst Past 1921; 35 :625-633
[150]	Dussurget O, Cabanes D, Dehoux P, Lecuit M, Buchrieser C, Glaser P, Cossart P. Listeria monocytogenes bile salt hydrolase is a PrfA-regulated virulence factor involved in the intestinal and hepatic phases of listeriosis. Mol Microbiol 2002; 45: 1095-1106
[151]	Edelson BT, Cossart P, Unanue ER. Cutting edge: paradigm revisited: antibody provides resistance to Listeria infection. J Immunol 1999; 163: 4087-4090
[152]	Edelson BT, Unanue ER. Immunity to Listeria infection. Curr Opin Immunol 2000; 12: 425-431
[153]	Edelson BT, Unanue ER. MyD88-dependent but Toll-like receptor 2-independent innate immunity to Listeria: no role for either in macrophage listericidal activity. J Immunol 2002; 169: 3869-3875
[154]	Eiting M, Hagelucken G, Schubert WD, Heinz DW. The mutation G145S in PrfA, a key virulence regulator of Listeria monocytogenes, increases DNA-binding affinity by stabilizing the HTH motif. Mol Microbiol 2005; 56: 433-446
[155]	Engelbrecht F, Chun SK, Ochs C, Hess J, Lottspeich F, Goebel W, Sokolovic Z. A new PrfA-regulated gene of Listeria monocytogenes encoding a small, secreted protein which belongs to the family of internalins. Mol Microbiol 1996; 21: 823-837

[156]	Espaze EP, Reynaud AE. Antibiotic susceptibilities of Listeria: in vitro studies. Infection 1988; 16 Suppl 2: S160-164
[157]	Eurofins Deutschland, 2019 (Suche vom 25.11.2021)
[158]	Evans JR, Allen AC, Bortolussi R, Issekutz TB, Stinson DA. Follow-up study of survivors of fetal and early onset neonatal listeriosis. Clin Investig Med 1984; 7: 329-334
[159]	Evans JR, Allen AC, Stinson DA, Bortolussi R, Peddle LJ. Perinatal listeriosis: Report of an outbreak. Pediatr Infect Dis J 1985; 4: 237-241
[160]	Facinelli B, Varaldo PE, Casolari C, Fabio U. Cross-infection with Listeria monocytogenes confirmed by DNA fingerprinting. Lancet 1988; 2: 1247-1248
[161]	Faralla C, Rizzuto GA, Lowe DE, et al. InIP, a New Virulence Factor with Strong Placental Tropism. Infect Immun. 2016;84(12):3584-3596.
[162]	Faralla C, Bastounis EE, Ortega FE, et al. Listeria monocytogenes InIP interacts with afadin and facilitates basement membrane crossing. PLoS Pathog. 2018;14(5):e1007094
[163]	Farber JM, Peterkin PI. Listeria monocytogenes, a foodborne pathogen. Microbiol Rev 1991a; 55: 476-511
[164]	Farber JM, Peterkin PI, Carter AO, Varughese PV, Ashton FE, Ewan EP. Neonatal listeriosis due to cross-infection confirmed by isoenzyme typing and DNA fingerprinting. J Infect Dis 1991b; 163: 927-928
[165]	Feng P. Appendix 1: Rapid Methods for detecting food-borne pathogens US Food and Drug Administration's Bacteriological Analytical Manual (online) 2001

[166]	<p>Feresu SB, Jones D. Taxonomic studies on Brochothrix, Erysipelothrix, Listeria and atypical lactobacilli. J Gen Microbiol 1988; 134: 1165-1183</p>
[167]	<p>Fernández Guerrero ML, Rivas P, Rábago R, Núñez A, de Górgolas M, Martinell J. Prosthetic valve endocarditis due to Listeria monocytogenes. Report of two cases and reviews. Int J Infect Dis 2004; 8: 97-102</p>
[168]	<p>Fiedler F, Seger J The murein types of Listeria grayi, Listeria murrayi, and Listeria denitrificans. Syst Appl Microbiol 1983; 4: 444-450</p>
[169]	<p>Flickinger JC Jr, Rodeck U, Snook AE. Listeria monocytogenes as a Vector for Cancer Immunotherapy: Current Understanding and Progress. Vaccines (Basel). 2018;6(3):48</p>
[170]	<p>Frederiksen B. Feto-maternal Listeriosis in Denmark 1981-1988. J Infect 1992; 24: 277-287</p>
[171]	<p>Freitag NE, Rong L, Portnoy DA. Regulation of the prfA transcriptional activator of Listeria monocytogenes: multiple promoter elements contribute to intracellular growth and cell-to-cell spread. Infect Immun 1993; 61: 2537-2544</p>
[172]	<p>Freitag NE, Portnoy DA. Dual promoters of the Listeria monocytogenes prfA transcriptional activator appear essential in vitro but are redundant in vivo. Mol Microbiol 1994; 12: 845-53</p>
[173]	<p>Fretz R, Pichler J, Sagel U et al.: Update: Multinational listeriosis outbreak due to 'Quargel', a sour milk curd cheese, caused by two different L. monocytogenes serotype 1/2a strains, 2009–2010. Eurosurveillance 2010; 15(16): 19543 22</p>

[174]	<p>Friese K, Schäfer A, Hof H. Listerien In: Friese K, Schäfer A, Hof H. Hrsg. Infektionkrankheiten in Gynäkologie und Geburtshilfe Springer Berlin 2003: 470-480</p>
[175]	<p>Gaballa A, Guariglia-Oropeza V, Wiedmann M, Boor KJ. Cross Talk between SigB and PrfA in <i>Listeria monocytogenes</i> Facilitates Transitions between Extra- and Intracellular Environments. Microbiol Mol Biol Rev. 2019;83(4): e00034-19.</p>
[176]	<p>Gaillard JL, Berche P, Mounier J, Richard S, Sansonetti P. In vitro model of penetration and intracellular growth of <i>Listeria monocytogenes</i> in the human enterocyte-like cell line Caco-2. Infect Immun 1987; 55: 2822-2829</p>
[177]	<p>Gaillard JL, Berche P, Frehel C, Gouin E, Cossart P Entry of <i>L. monocytogenes</i> into cells is mediated by internalin, a repeat protein reminiscent of surface antigens from gram-positive cocci. Cell 1991; 65:1127-1141</p>
[178]	<p>Gaillard JL, Jaubert F, Berche P. The inIAB locus mediates the entry of <i>Listeria monocytogenes</i> into hepatocytes in vivo. J Exp Med 1996; 183: 359-369</p>
[179]	<p>Galsworthy SB, Girdler S, Koval SF. Chemotaxis in <i>Listeria monocytogenes</i>. Acta Microbiol Hung 1990; 37: 81-85</p>
[180]	<p>Garandeau C, Reglier-Poupet H, Dubail I, Beretti JL, Berche P, Charbit A. The sortase SrtA of <i>Listeria monocytogenes</i> is involved in processing of internalin and in virulence. Infect Immun 2002; 70: 1382-1390</p>
[181]	<p>Garner MR, Njaa BL, Wiedmann M, Boor KJ. Sigma B contributes to <i>Listeria monocytogenes</i> gastrointestinal infection but not to systemic spread in the guinea pig infection model. Infect Immun 2006; 74: 876-886</p>

[182]	Gasanov U, Hughes D, Hansbro PM. Methods for the isolation and identification of <i>Listeria</i> spp. and <i>Listeria monocytogenes</i> : a review. FEMS Microbiol Rev 2005; 29: 851-875
[183]	Gauto AR, Cone LA, Woodard DR, Mahler RJ, Lynch RD, Stoltzman DH. Arterial infections due to <i>Listeria monocytogenes</i> : report of four cases and review of world literature. Clin Infect Dis 1992; 14: 23-28
[184]	Gedde MM, Higgins DE, Tilney LG, Portnoy DA. Role of listeriolysin O in cell-to-cell spread of <i>Listeria monocytogenes</i> Infect Immun 2000; 68: 999-1003
[185]	Geiger B, Ayalon O. Cadherins. Annu Rev Cell Biol 1992; 8: 307-332
[186]	Gellin BG, Broome CV. Listeriosis. JAMA 1989; 261: 1313-1320
[187]	Gellin BG, Broome CV, Bibb WF, Weaver RE, Gaventa S, Mascola L. The epidemiology of listeriosis in the United States-1986. Am J Epidemiol 1991; 133: 392-401
[188]	Geoffroy C, Gaillard JL, Alouf JE, Berche P. Purification, characterization, and toxicity of the sulfhydryl-activated hemolysin listeriolysin O from <i>Listeria monocytogenes</i> . Infect Immun 1987; 55: 1641-1646
[189]	George SM, Lund BM. The effect of culture medium and aeration on growth of <i>Listeria monocytogenes</i> at pH 4.5. Lett Appl Microbiol 1992; 15: 49-52
[190]	Gerstel B, Gröbe L, Pistor S, Chakraborty T, Wehland J. The ActA polypeptides of <i>Listeria ivanovii</i> and <i>Listeria monocytogenes</i> harbor related binding sites for host microfilament proteins. Infect Immun 1996; 64: 1929-1936

[191]	<p>Gertler FB, Niebuhr K, Reinhard M, Wehland J, Soriano P. Mena, a relative of VASP and Drosophila Enabled, is implicated in the control of microfilament dynamics. Cell 1996; 87: 227-239</p>
[192]	<p>Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz – IfSG). 2000</p>
[193]	<p>Gessain G, Tsai YH, Travier L, et al. PI3-kinase activation is critical for host barrier permissiveness to <i>Listeria monocytogenes</i>. J Exp Med. 2015;212(2):165–183</p>
[194]	<p>Giard JC, Riboulet E, Verneuil N, Sanguinetti M, Auffray Y, Hartke A. Characterization of Ers, a PrfA-like regulator of <i>Enterococcus faecalis</i>. FEMS Immunol Med Microbiol 2006; 46: 410-418</p>
[195]	<p>Gilbreth SE, Benson AK, Hutkins RW. Catabolite repression and virulence gene expression in <i>Listeria monocytogenes</i>. Curr Microbiol 2004; 49: 95-98</p>
[196]	<p>Giraud JR, Denis F, Gargot F, Fizazi T, Babin P, Rautlin RY, Hoppeler A, Brisou J, de Tourris H. La listeriose: Incidence dans les interruptions spontanées de la grossesse. Nouv Presse Med 1973; 2:215-218</p>
[197]	<p>Glaser P, Frangeul L, Buchrieser C, Rusniok C, Baquerd F, Berce P, Bloecker H, Brandt P, Chakraborty T, Charbit A, Cetouani F, Couve E, de Daruvar A, Dehoux P, Domann E, Dominguez-Bernal G, Duchaud E, Durant L, Dussurget O, Entian KD, Fsihi H, Portillo FG, Gerrido P, Gautier L, Goebel W, Gomez-Lopez N, Hain T, Hauf J, Jackson D, Jones LM, Kaerst U, Kreft J, Kuhn M, Kunst F, Kurapkat G, Madueno E, Maitournam A, Vicente JM, Ng E, Nedjari H, Nordsiek G, Novella S, de Pablos B, Perez-Diaz JC, Purcell R, Remmel B, Rose M, Schlueter T, Simoes N, Tierrez A, Vázquez-Boland JA, Voss H, Wehland J, Cossart P. Comparative genetics of <i>Listeria</i> species. Science 2001; 294: 849-852</p>
[198]	<p>Glomski IJ, Decatur AL, Portnoy DA. <i>Listeria monocytogenes</i> mutants that fail to compartmentalize listerolysin O activity are cytotoxic, avirulent, and unable to evade host extracellular defenses. Infect Immun 2003; 71: 6754-6765</p>

[199]	Goebel W, Kreft J. Cytolysins and the intracellular life of bacteria. Trends Microbiol 1997; 5: 86-88
[200]	Goldfine H, Bannam T, Johnston NC, Zückert WR. Bacterial phospholipases and intracellular growth: the two distinct phospholipases C of <i>Listeria monocytogenes</i> . Symp Ser Soc Appl Microbiol 1998; 27: 7S-14S
[201]	Gombas DE, Chen Y, Clavero RS, Scott VN. Survey of <i>Listeria monocytogenes</i> in ready-to-eat foods. J Food Prot 2003; 66: 559-569
[202]	Gordon S, Singer C. <i>Listeria monocytogenes</i> cholecystitis. J Infect Dis 1986; 154: 918-919
[203]	Gottlieb SL, Newbern EC, Griffin PM, Graves LM, Hoekstra RM, Baker NL, Hunter SB, Holt KG, Ramsey F, Head M, Levine P, Johnson G, Schoonmaker-Bopp D, Reddy V, Kornstein L, Gerwel M, Nsubuga J, Edwards L, Stonecipher S, Hurd S, Austin D, Jefferson MA, Young SD, Hise K, Chernak ED, Sobel J; Listeriosis Outbreak Working Group. Multistate outbreak of Listeriosis linked to turkey deli meat and subsequent changes in US regulatory policy. Clin Infect Dis. 2006 Jan 1;42(1):29-36.
[204]	Gouin E, Mengaud J, Cossart P. The virulence gene cluster of <i>Listeria monocytogenes</i> is also present in <i>Listeria ivanovii</i> , an animal pathogen, and <i>Listeria seeligeri</i> , a nonpathogenic species. Infect Immun 1994; 62: 3550-3553
[205]	Graves LM, Swaminathan B, Reeves MW, Hunter SB, Weaver RE, Plikaytis BD, Schuchat A. Comparison of ribotyping and multilocus enzyme electrophoresis for subtyping of <i>Listeria monocytogenes</i> isolates. J Clin Microbiol 1994; 32: 2936-2943
[206]	Graves LM, Swaminathan B, Hunter SB. Subtyping <i>Listeria monocytogenes</i> In: Ryser ET, Marth EH. editors <i>Listeria, Listeriosis and Food Safety</i> 3 rd ed. CRC Press Florida 2007: 283-304

[207]	<p>Gray JW, Barrett JF, Pedler SJ, Lind T. Faecal carriage of Listeria during pregnancy. Br J Obstet Gynecol 1993; 100: 873-874</p>
[208]	<p>Gray MJ, Freitag NE, Boor KJ. How the bacterial pathogen Listeria monocytogenes mediates the switch from environmental Dr. Jekyll to pathogenic Mr. Hyde. Infect Immun 2006; 74: 2505-2512</p>
[209]	<p>Gray ML, Stafseth HJ, Thorp F Jr, Sholl LB, Riley WF Jr. A new technique for isolating Listerellae from the bovine brain. J Bacteriol 1948; 55; 471-476</p>
[210]	<p>Gray ML, Staseth HJ, Thorp F Jr. The use of potassium tellurite, sodium azide, and acetic acid in a selective medium for the isolation of Listeria monocytogenes. J Bacteriol. 1950 Mar;59(3):443-4.</p>
[211]	<p>Greene SL, Freitag NE. Negative regulation of PrfA, the key activator of Listeria monocytogenes virulence gene expression, is dispensable for bacterial pathogenesis. Microbiology 2003; 149: 111-120</p>
[212]	<p>Greiffenberg L, Goebel W, Kim KS, Weiglein I, Bubert A, Engelbrecht F, Stins M, Kuhn M. Interaction of Listeria monocytogenes with human brain microvascular endothelial cells: InIB-dependent invasion, long-term intracellular growth, and spread from macrophages to endothelial cells. Infect Immun 1998; 66: 5260-5267</p>
[213]	<p>Greiffenberg L, Goebel W, Kim KS, Daniels J, Kuhn M. Interaction of Listeria monocytogenes with human brain microvascular endothelial cells: an electron microscopic study. Infect Immun 2000; 68: 3275-3279</p>
[214]	<p>Groves RD, Welshimer J. Separation of pathogenic from apathogenic Listeria monocytogenes by three in vitro reactions. J Clin Microbiol 1977; 5: 559-563</p>

[215]	Gründling A, Gonzalez MD, Higgins DE. Requirement of the <i>Listeria monocytogenes</i> broad-range phospholipase PC-PLC during infection of human epithelial cells. J Bacteriol 2003; 185: 6295-6307
[216]	Guleria I, Pollard JW. The trophoblast is a component of the innate immunsystem during pregnancy Nat Med 2000; 6: 589-593
[217]	Guleria I, Pollard JW. Aberrant macrophage and neutrophil population dynamics and impaired Th1 response to <i>Listeria monocytogenes</i> in colony-stimulating factor 1-deficient mice. Infect Immun 2001; 69: 1795-1807
[218]	Guillet, C. et al. Human listeriosis caused by <i>Listeria ivanovii</i> . Emerg Infect Dis (2010) 16 (1), 136-8
[219]	Gunn GR, Zubair A, Peters C, Pan ZK, Wu TC, Paterson Y. Two <i>Listeria monocytogenes</i> vaccine vectors that express different molecular forms of human papilloma virus-16 (HPV-16) E7 induce qualitatively different T cell immunity that correlates with their ability to induce regression of established tumors immortalized by HPV-16. J Immunol 2001; 167: 6471-6479
[220]	Halbedel S, Wilking H, Holzer A, et al. Large Nationwide Outbreak of Invasive Listeriosis Associated with Blood Sausage, Germany, 2018-2019. Emerg Infect Dis. 2020;26(7):1456-1464
[221]	Hakenbeck R, Hof H. Relatedness of penicillin-binding proteins from various <i>Listeria</i> species. FEMS Microbiol Lett 1991; 68: 191-195
[222]	Hamon, M., Bierne, H. & Cossart, P. <i>Listeria monocytogenes</i> : a multifaceted model. Nat Rev Microbiol 4, 423–434 (2006).
[223]	Hamrick TS, Horton JR, Spears PA, Havell EA, Smoak IW, Orndorff PE. Influence of pregnancy on the pathogenesis of listeriosis in mice inoculated intragastrically. Infect Immun 2003; 71: 5202-5209

[224]	Handrick W, Schwede I, Berthold F. Die Listeriose – eine Übersicht Brandenburgisches Ärzteblatt 2005; 3: 86-87
[225]	Hao DYY, Beuchat LR, Brackett RE. Comparison of media and methods for detecting and enumerating <i>Listeria monocytogenes</i> in refrigerated cabbage. Appl Environ Microbiol 1989; 53: 955-957
[226]	Harty JT, Bevan MJ. Specific immunity to <i>Listeria monocytogenes</i> in the absence of IFN gamma. Immunity 1995a; 3: 109-117
[227]	Harty JT, Pamer EG. CD8 T lymphocytes specific for the secreted p60 antigen protect against <i>Listeria monocytogenes</i> infection. J Immunol 1995b;154: 4642-4650
[228]	Harty JT, Badovinac VP. Influence of effector molecules on the CD8(+) T cell response to infection. Curr Opin Immunol 2002; 14: 360-365
[229]	Hellenschmidt A, Schnelke A, Fiedler A. Pustulöses Exanthem, Hepatomegalie und Thrombozytopenie bei einem Frühgeborenen. Monatsschr Kinderheilkd 2008; 156: 842-846
[230]	Henry BS. Dissociation in the genus <i>Brucella</i> . J Infect Dis 1933; 52: 374-402
[231]	Herler M, Bubert A, Goetz M, Vega Y, Vázquez-Boland JA, Goebel W. Positive selection of mutations leading to loss or reduction of transcriptional activity of PrfA, the central regulator of <i>Listeria monocytogenes</i> virulence. J Bacteriol 2001; 183: 5562-5570
[232]	Heymer B, Wirsing von König CH, Finger H, Hof H, Emmerling P. Histomorphology of experimental listeriosis. Infection 1988; 16 Suppl 2: S106-111

[233]	<p>Hitchins AD. Chapter 10: Listeria monocytogenes. US Food and Drug Administration´s Bacteriological Analytical Manual (online) 2001</p>
[234]	<p>Ho JL, Shands KN, Friedland G, Eckind P, Fraser DW. An outbreak of type 4b Listeria monocytogenes infection involving patients from eight Boston hospitals. Arch Intern Med 1986; 146: 520-524</p>
[235]	<p>Hoelzer, K., Pouillot, R. & Dennis, S. Animal models of listeriosis: a comparative review of the current state of the art and lessons learned. Vet Res 43, 18 (2012). https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-18</p>
[236]	<p>Hof H. Intracellular microorganisms: a particular problem for chemotherapy. Introduction. Infection 1991; 19 Suppl 4: S193-194</p>
[237]	<p>Hof H, Nichterlein T, Kretschmar M. Management of listeriosis. Clin Microbiol Rev 1997; 10: 345-357</p>
[238]	<p>Hof H. History and epidemiology of listeriosis. FEMS Immunol Med Microbiol 2003a; 35: 199-202</p>
[239]	<p>Hof H. Listeriosis: therapeutic options. FEMS Immunol Med Microbiol. 2003b Apr 1;35(3):203-5.</p>
[240]	<p>Hof H. An update on the medical management of listeriosis Expert Opin Pharmacother 2004; 5: 1727-1735</p>
[241]	<p>Hof H, Szabo K, Becker B. Epidemiologie der Listeriose in Deutschland – im Wandel und dennoch nicht beachtet. Dtsch Med Wochenschr 2007; 132: 1343-1348</p>

[242]	Holmes, A.R., McNab, R., Millsap, K.W., Rohde, M., Hammerschmidt, S., Mawdsley, J.L., and Jenkinson, H.F. The pavA gene of Streptococcus pneumoniae encodes a fibronectin-binding protein that is essential for virulence. Mol Microbiol (2001)41: 1395–1408
[243]	Holoshitz J, Schneider M, Yaretzky A, Bernheim J, Klajman A. Listeria monocytogenes pericarditis in a chronically hemodialyzed patient. Am J Med Sci 1984; 288: 34-37
[244]	Hsieh HY, Tsen HY. Combination of immunomagnetic separation and polymerase chain reaction for the simultaneous detection of Listeria monocytogenes and Salmonella spp. in food samples. J Food Protect 2001; 64: 1744-1750
[245]	Hudson JA, Lake RJ, Savill MG, Scholes P, McCormick RE. Rapid detection of Listeria monocytogenes in ham samples using immunomagnetic separation followed by polymerase chain reaction. J Appl Microbiol 2001; 90: 614-621
[246]	Hygiene in Practice (https://www.hygiene-in-practice.de/pathogen/listeria-monocytogenes/)
[247]	Ikeda W, Nakanishi H, Miyoshi J, et al. Afadin: A key molecule essential for structural organization of cell-cell junctions of polarized epithelia during embryogenesis. J Cell Biol. 1999;146(5):1117-1132
[248]	Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2020 Datenstand: 1. März 2021
[249]	Infektionsschutzgesetz IfSG 2000
[250]	Iretton K, Payrastra B, Chap H, Ogawa W, Sakaue H, Kasuga M, Cossart P. A role for phosphoinositide 3-kinase in bacterial invasion. Science 1996; 274: 780-782
[251]	Institut Pasteur MLST databases and software (http://bigsdbs.pasteur.fr/listeria)

[252]	Ivanov I. Establishment of non-motile strains of <i>Listeria monocytogenes</i> type 5 In: Woodbine M. editor Problems of listeriosis Leicester: University of Leicester 1975: 18-29
[253]	Janakiraman V. Listeriosis in pregnancy: diagnosis, treatment, and prevention Rev Obstet Gynecol 2008; 1: 179-185
[254]	Jaradat ZW, Schutze GE, Bhunia AK. Genetic homogeneity among <i>Listeria monocytogenes</i> strains from infected patients and meat products from two geographic locations determined by phenotyping, ribotyping and PCR analysis of virulence genes Int J Food Microbiol 2002; 76: 1-10
[255]	Jean D, Croize J, Hirtz P, Legeais C, Pelloux I, Favier M, Mallaret MR, Le Noc P, Rambaud P. Infection nosocomiale à <i>Listeria monocytogenes</i> en maternité. Arch Fr Pediatr 1991; 48: 419-422
[256]	Jeffers GT, Bruce JL, McDonough PL, Scarlett J, Boor KJ, Wiedmann M. Comparative genetic characterization of <i>Listeria monocytogenes</i> isolates from human and animal listeriosis cases. Microbiology 2001; 147: 1095-1104
[257]	Jensen VB, Harty JT, Jones BD. Interactions of the invasive pathogens <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , and <i>Shigella flexneri</i> with M cells and murine Peyer's patches. Infect Immun 1998;66: 3758-3766
[258]	Johansson J, Mandin P, Renzoni A, Chiaruttini C, Springer M, Cossart P. An RNA thermosensor controls expression of virulence genes in <i>Listeria monocytogenes</i> . Cell 2002; 110: 551-561
[259]	Join-Lambert OF, Ezine S, LeMonnier A, Jaubert F, Okabe M, Berche P, Kayal S. <i>Listeria monocytogenes</i> -infected bone marrow myeloid cells promote bacterial invasion of the central nervous system. Cell Microbiol 2005; 7: 167-180

[260]	Jones D. The place of <i>Listeria</i> among gram-positive bacteria. <i>Infection</i> 1988; 16, Suppl 2: 85-88
[261]	Jones EM, MacGowan AP. Antimicrobial chemotherapy of human infection due to <i>Listeria monocytogenes</i> . <i>Eur J Clin Microbiol Infect Dis</i> 1995; 14: 165-175
[262]	Jonquières R, Pizarro-Cerdá J, Cossart P. Synergy between the N- and C-terminal domains of InlB for efficient invasion of non-phagocytic cells by <i>Listeria monocytogenes</i> . <i>Mol Microbiol</i> 2001; 42: 955-965
[263]	Jurado RL, Farley MM, Pereira E, Harvey RC, Schuchat A, Wengler JD, Stephens DS. Increased risk of meningitis and bacteremia due to <i>Listeria monocytogenes</i> in patients with human immunodeficiency virus infection. <i>Clin Infect Dis</i> 1993;17: 224-227
[264]	Kalstone C. Successful antepartum treatment of listeriosis. <i>Am J Obstet Gynecol</i> 1991; 164: 57-58
[265]	Kantschewa W. Über multiple miliare Lebernekrosen durch spirochätenähnliche Bakterien. <i>Z Kinderheilk</i> 1923; 34: 169
[266]	Kay BK, Williamson MP, Sudol M. The importance of being proline: the interaction of proline-rich motifs in signaling proteins with their cognate domains. <i>FASEB J</i> 2000; 14: 231-241
[267]	Khan MA, Seaman A, Woodbine M. Differential media for the isolation of <i>Listeria monocytogenes</i> . <i>Acta Microbiol Acad Sci Hung</i> 1972; 19: 371-372
[268]	Khelef N, Lecuit M, Bierne H, Cossart P. Species specificity of the <i>Listeria monocytogenes</i> InlB protein. <i>Cell Microbiol</i> 2006; 8: 457-470
[269]	Kobe B, Kajava AV. The leucine-rich repeat as a protein recognition motif. <i>Curr Opin Struct Biol</i> 2001; 11: 725-732

[270]	<p>Koch J, Stark K.</p> <p>Significant increase of listeriosis in Germany--epidemiological patterns 2001-2005.</p> <p>Euro Surveill 2006; 11: 85-88</p>
[271]	<p>Koch J, Dworak R, Prager R et al.:</p> <p>Large listeriosis outbreak linked to cheese made from pasteurized milk, Germany, 2006–2007.</p> <p>FPD 2010</p>
[272]	<p>Kolb A, Busby S, Buc H, Garges S, Adhya S.</p> <p>Transcriptional regulation by cAMP and its receptor protein.</p> <p>Annu Rev Biochem 1993; 62: 749-795</p>
[273]	<p>Kolb-Mäurer A, Pilgrim S, Kämpgen E, McLellan AD, Bröcker EB, Goebel W, Gentschev I.</p> <p>Antibodies against listerial protein 60 act as an opsonin for phagocytosis of <i>Listeria monocytogenes</i> by human dendritic cells.</p> <p>Infect Immun 2001; 69: 3100-3109</p>
[274]	<p>Kollmann TR, Reikie B, Blimkie D, Way SS, Hajjar AM, Arispe K, Shaulov A, Wilson CB.</p> <p>Induction of protective immunity to <i>Listeria monocytogenes</i> in neonates.</p> <p>J Immunol 2007; 178: 3695-3701</p>
[275]	<p>Koo K, Jaykus LA.</p> <p>Detection of single nucleotide polymorphisms within the <i>Listeria</i> genus using an “asymmetric” fluorogenic probe set and fluorescence resonance energy transfer based-PCR.</p> <p>Lett Appl Microbiol 2002; 35: 513-517</p>
[276]	<p>Korner H, Sofia HJ, Zumft WG.</p> <p>Phylogeny of the bacterial superfamily of Crp-Fnr transcription regulators: exploiting the metabolic spectrum by controlling alternative gene programs.</p> <p>FEMS Microbiol Rev 2003; 27: 559-592</p>
[277]	<p>Krebs P, Barnes MJ, Lampe K, Whitley K, Bahjat KS, Beutler B, Janssen E, Hoebe K.</p> <p>NK-cell-mediated killing of target cells triggers robust antigen-specific T-cell-mediated and humoral responses</p> <p>Blood 2009; 113: 6593-6602</p>

[278]	<p>Kreft J, Vázquez-Boland JA, Ng E, Goebel W. Virulence gene clusters and putative pathogenicity islands in <i>Listeria</i>. In: Kaper J, Hacker J. editors Pathogenicity islands and other mobile genetic elements American Society for Microbiology 1999, Washington D.C.</p>
[279]	<p>Kreft J, Vázquez-Boland JA. Regulation of virulence genes in <i>Listeria</i> . Int J Med Microbiol 2001; 291:145-157</p>
[280]	<p>Kreft J, Vázquez-Boland JA, Altrock S, Domínguez-Bernal G, Goebel W. Pathogenicity islands and other virulence elements in <i>Listeria</i>. Curr Top Microbiol Immunol 2002; 264: 109-125</p>
[281]	<p>Kuhn M, Kathariou S, Goebel W. Hemolysin supports survival but not entry of the intracellular bacterium <i>Listeria monocytogenes</i>. Infect Immun. 1988; 56: 79-82</p>
[282]	<p>Kuhn M, Goebel W. Identification of an extracellular protein of <i>Listeria monocytogenes</i> possibly involved in intracellular uptake by mammalian cells. Infect Immun 1989; 57: 55-61</p>
[283]	<p>Kuhn M, Goebel W. Molecular virulence determinants of <i>Listeria monocytogenes</i>. In: Ryser ET, Marth EH. editors <i>Listeria, Listeriosis and Food Safety</i> 3rd ed. CRC Press Florida 2007: 111-155</p>
[284]	<p>Lampidis R, Gross R, Sokolovic Z, Goebel W, Kreft J. The virulence regulator protein of <i>Listeria ivanovii</i> is highly homologous to PrfA from <i>Listeria monocytogenes</i> and both belong to the Crp-Fnr family of transcription regulators. Mol Microbiol 1994; 13: 141-151</p>
[285]	<p>Lamont RF, Sobel J, Mazaki-Tovi S, et al. Listeriosis in human pregnancy: a systematic review. J Perinat Med. 2011;39(3):227-236</p>

[286]	Lang-Roth R, Karow T. Chemotherapeutika/Zytostatika/Antibiotika In: Karow T, Lang-Roth R. Hrsg. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie 2004: 681-738
[287]	Larsen HE, Seeliger HPR. A mannitol fermenting Listeria: <i>Listeria grayi</i> sp. In: Proceedings of the third international symposium on listeriosis Bilthoven, The Netherlands 1966
[288]	Larsson S, Cederberg A, Ivarsson S, Svanberg L, Cronberg S. <i>Listeria monocytogenes</i> causing hospital-acquired enterocolitis and meningitis in newborn infants. Br Med J 1978; 2: 473-474
[289]	Lasa I, David V, Gouin E, Marchand JB, Cossart P. The amino-terminal part of ActA is critical for the actin-based motility of <i>Listeria monocytogenes</i> ; the central proline-rich region acts as a stimulator. Mol Microbiol 1995; 18: 425-436
[290]	Lavetter A, Leedom JM, Mathies AW Jr, Ivler D, Wehrle PF. Meningitis due to <i>Listeria monocytogenes</i> . A review of 25 cases. N Engl J Med 1971; 285: 598-603
[291]	Leclercq A, Moura A, Vales G, Tessaud-Rita N, Aguilhon C et al. <i>Listeria thailandensis</i> sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 2019;69(1):74-81.
[292]	Lecuit M, Ohayon H, Braun L, Mengaud J, Cossart P. Internalin of <i>Listeria monocytogenes</i> with an intact leucine-rich repeat region is sufficient to promote internalization. Infect Immun 1997; 65: 5309-5319
[293]	Lecuit M, Dramsi S, Gottardi C, Fedor-Chaiken M, Gumbiner B, Cossart P. A single amino acid in E-cadherin responsible for host specificity towards the human pathogen <i>Listeria monocytogenes</i> . EMBO J 1999; 18: 3956-3963

[294]	<p>Lecuit M, Vandormael-Pournin S, Lefort J, Huerre M, Gounon P, Dupuy C, Babinet C, Cossart P.</p> <p>A transgenic model for listeriosis: role of internalin in crossing the intestinal barrier.</p> <p>Science 2001; 292: 1722-1725</p>
[295]	<p>Lecuit M, Nelson DM, Smith SD, Khun H, Huerre M, Vacher-Lavenu MC, Gordon JI, Cossart P.</p> <p>Targeting and crossing of the human maternofetal barrier by <i>Listeria monocytogenes</i>: role of internalin interaction with trophoblast E-cadherin.</p> <p>Proc Natl Acad Sci U S A. 2004; 101: 6152-6157</p>
[296]	<p>Lecuit M.</p> <p>Understanding how <i>Listeria monocytogenes</i> targets and crosses host barriers</p> <p>Clin Microbiol Infect 2005; 11: 430-436</p>
[297]	<p>Lecuit M.</p> <p>Human listeriosis and animal models</p> <p>Microbes Infect 2007; 9: 1216-1225</p>
[298]	<p>Lecuit M..</p> <p><i>Listeria monocytogenes</i>, a model in infection biology.</p> <p>Cellular Microbiology, Wiley, 2020, 22 (4)</p>
[299]	<p>Lee S. Bacteriocins of <i>Listeria monocytogenes</i> and Their Potential as a Virulence Factor. <i>Toxins</i> (Basel). 2020;12(2):103</p>
[300]	<p>Lee WH, McClain D.</p> <p>Improved <i>Listeria monocytogenes</i> selective agar.</p> <p>Appl Environ Microbiol 1986; 52: 1215-1217</p>
[301]	<p>Leimeister-Wächter M, Chakraborty T.</p> <p>Detection of listeriolysin, the thiol-dependent hemolysin in <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Listeria ivanovii</i>, and <i>Listeria seeligeri</i>.</p> <p>Infect Immun 1989; 57: 2350-2357</p>
[302]	<p>Leimeister-Wächter M, Domann E, Chakraborty T.</p> <p>The expression of virulence genes in <i>Listeria monocytogenes</i> is thermoregulated.</p> <p>J Bacteriol 1992; 174: 947-952</p>
[303]	<p>Leiser R, Kaufmann P.</p> <p>Placental structure: in a comparative aspect.</p> <p>Exp Clin Endocrinol 1994; 102:122-134</p>

[304]	LeMonnier A, Join-Lambert OF, Jaubert F, Berche P, Kayal S. Invasion of the placenta during murine listeriosis. Infect Immun 2006 ; 74: 663-672
[305]	LeMonnier A, Autret N, Join-Lambert OF, Jaubert F, Charbit A, Berche P, Kayal S. ActA is required for crossing of the fetoplacental barrier by <i>Listeria monocytogenes</i> . Infect Immun 2007; 75: 950-957
[306]	Lingnau A, Domann E, Hudel M, Bock M, Nichterlein T, Wehland J, Chakraborty T. Expression of the <i>Listeria monocytogenes</i> EGD inIA and inIB genes, whose products mediate bacterial entry into tissue culture cell lines, by PrfA-dependent and -independent mechanisms. Infect Immun 1995; 63: 3896-3903
[307]	Linnan MJ, Mascola L, Lou XD, Goulet V, May S, Salminen C, Hird DW, Yonekura ML, Hayes P, Weaver R, Audurier A, Plikaytis D, Fannin SL, Kleks A, Broome CV. Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. N Engl J Med 1988; 319: 823-828
[308]	Liu D, Ainsworth AJ, Austin FW, Lawrence ML. Characterization of virulent and avirulent <i>Listeria monocytogenes</i> strains by PCR amplification of putative transcriptional regulator and internalin genes. J Med Microbiol 2003; 52: 1065-1070
[309]	Liu D. Identification, subtyping and virulence determination of <i>Listeria monocytogenes</i> , an important foodborne pathogen. J Med Microbiol 2006; 55: 645-659
[310]	Löffler G. DNA und Gentechnik In: Löffler G. Hrsg Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie 3.Auflage Springer Berlin 1999: 333-370

[311]	Lorber B, Santoro J, Swenson RM. Letter: Listeria meningitis during cefazolin therapy. Ann Intern Med 1975; 82: 226
[312]	Lorber B. Listeriosis Clin Infect Dis 1997; 24: 1-11
[313]	Lorber B. Listeriosis In: Goldfine H, Shen H. editors Listeria monocytogenes: Pathogenesis and Host Response Springer New York 2007: 13-33
[314]	Lovett J. Isolation and enumeration of Listeria monocytogenes. Food Technol 1988; 42: 172-175
[315]	Lu CY, Redline RW, Shea CM, Dustin LB, McKay DB. Pregnancy as a natural model of allograft tolerance. Interactions between adherent macrophages and trophoblast populations. Transplantation 1989; 48: 848-855
[316]	Luo Q, Rauch M, Marr AK, Müller-Altrock S, Goebel W. In vitro transcription of the Listeria monocytogenes virulence genes inlC and mpl reveal overlapping PrfA-dependent and -independent promoters that are differentially activated by GTP. Mol Microbiol 2004; 52: 39-52
[317]	Luo Q, Herler M, Müller-Altrock S, Goebel W. Supportive and inhibitory elements of a putative PrfA-dependent promoter in Listeria monocytogenes. Mol Microbiol 2005; 55: 986-997
[318]	Lüth S, Deneke C, Kleta S, Al Dahouk S. Translatability of WGS typing results can simplify data exchange for surveillance and control of Listeria monocytogenes. Microb Genom. 2021;7(1)
[319]	Mackaness GB. Cellular resistance to infection J Exp Med 1962; 116: 381-406

[320]	Mackler AM, Barber EM, Takikawa O, Pollard JW. Indoleamine 2,3-dioxygenase is regulated by IFN-gamma in the mouse placenta during <i>Listeria monocytogenes</i> infection. J Immunol 2003;170:823-830
[321]	Macnaughton M. <i>Listeria monocytogenes</i> in abortion. Lancet 1962; 2: 482-483
[322]	Malorny B, Tassios PT, Rådström P, Cook N, Wagner M, Hoorfar J. Standardization of diagnostic PCR for the detection of foodborne pathogens. Int J Food Microbiol 2003; 83: 39-48
[323]	Mandin P, Fsihi H, Dussurget O, Vergassola M, Milohanic E, Toledo-Arana A, Lasa I, Johansson J, Cossart P. VirR, a response regulator critical for <i>Listeria monocytogenes</i> virulence. Mol Microbiol 2005; 57: 1367-1380
[324]	Manganiello PD, Yearke RR. A 10-year prospective study of women with a history of recurrent fetal losses fails to identify <i>Listeria monocytogenes</i> in the genital tract. Fertil Steril 1991; 56: 781-782
[325]	Mansell A, Khelef N, Cossart P, O'Neill LA. Internalin B activates nuclear factor-kappa B via Ras, Phosphoinositide 3-Kinase, and Akt. J Biol Chem 2001; 276: 43597-43603
[326]	Marco AJ, Prats N, Ramos JA, Briones V, Blanco M, Dominguez L, Domingo M. A microbiological, histopathological and immunohistological study of the intragastric inoculation of <i>Listeria monocytogenes</i> in mice. J Comp Pathol 1992; 107:1-9
[327]	Marco AJ, Altimira J, Prats N, López S, Dominguez L, Domingo M, Briones V. Penetration of <i>Listeria monocytogenes</i> in mice infected by the oral route. Microb Pathog 1997; 23: 255-263
[328]	Marino M, Braun L, Cossart P, Ghosh P. A framework for interpreting the leucine-rich repeats of the <i>Listeria</i> internalins. Proc Natl Acad Sci U S A 2000; 97: 8784-8788

[329]	<p>Marklein G, Häfelein J.</p> <p>Zur Empfindlichkeit in vitro von <i>Listeria monocytogenes</i> unter besonderer Berücksichtigung neuerer Beta-Lactamantibiotika.</p> <p>Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A 1981; 251: 40-53</p>
[330]	<p>Marquis H, Doshi V, Portnoy DA.</p> <p>The broad-range phospholipase C and a metalloprotease mediate listeriolysin O-independent escape of <i>Listeria monocytogenes</i> from a primary vacuole in human epithelial cells.</p> <p>Infect Immun 1995; 63: 4531-4534</p>
[331]	<p>Marquis H, Goldfine H, Portnoy DA.</p> <p>Proteolytic pathways of activation and degradation of a bacterial phospholipase C during intracellular infection by <i>Listeria monocytogenes</i>.</p> <p>J Cell Biol 1997; 137: 1381-1392</p>
[332]	<p>Marquis H, Hager EJ.</p> <p>pH-regulated activation and release of a bacteria-associated phospholipase C during intracellular infection by <i>Listeria monocytogenes</i>.</p> <p>Mol Microbiol 2000; 35: 289-298</p>
[333]	<p>Mauder N, Ecke R, Mertins S, Loeffler DI, Seidel G, Sprehe M, Hillen W, Goebel W, Müller-Altrock S.</p> <p>Species-specific differences in the activity of PrfA, the key regulator of listerial virulence genes.</p> <p>J Bacteriol 2006; 188: 7941-7956</p>
[334]	<p>Maudet Claire, Sylvain Levallois, Olivier Disson, Marc Lecuit.</p> <p>Innate immune responses to <i>Listeria</i> in vivo.</p> <p>Current Opinion in Microbiology, Elsevier, 2021, 59, pp.95-101</p>
[335]	<p>Maury, M.M. et al.</p> <p>Uncovering <i>Listeria monocytogenes</i> hypervirulence by harnessing its biodiversity.</p> <p>Nat Genet (2016)48 (3), 308-313</p>
[336]	<p>Mazurier S, van de Giessen A, Heuvelman K, Wernars K.</p> <p>RAPD analysis of <i>Campylobacter</i> isolates: DNA fingerprinting without the need to purify DNA.</p> <p>Lett Appl Microbiol. 1992a Jun;14(6):260-2.</p>

[337]	Mazurier SI, Wernars K. Typing of <i>Listeria</i> strains by random amplification of polymorphic DNA. <i>Res Microbiol</i> . 1992b Jun;143(5):499-505.
[338]	McBride ME, Girard KF. A selective method for the isolation of <i>Listeria monocytogenes</i> from mixed bacterial populations. <i>J Lab Clin Med</i> 1960; 55: 153-157
[339]	McLauchlin J, Audurier A, Taylor AG. Aspects of the epidemiology of human <i>Listeria monocytogenes</i> infections in Britain 1967-1984; the use of serotyping and phage typing. <i>J Med Microbiol</i> 1986; 22: 367-377
[340]	McLauchlin J. Human listeriosis in Britain, 1967-85, a summary of 722 cases. 1. Listeriosis during pregnancy and in the newborn. <i>Epidemiol Infect</i> 1990; 104: 181-189
[341]	McLauchlin J. Listeriosis. <i>BMJ</i> 1992; 304: 1583-1584
[342]	Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. <i>Emerg Infect Dis</i> 1999; 5: 607-625
[343]	Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. <i>Nat Rev Immunol</i> 2001; 1: 135-145
[344]	Mellor AL, Munn DH. Tryptophan catabolism prevents maternal T cells from activating lethal anti-fetal immune responses. <i>J Reprod Immunol</i> 2001a; 52: 5-13
[345]	Mellor AL, Sivakumar J, Chandler P, Smith K, Molina H, Mao D, Munn DH. Prevention of T cell-driven complement activation and inflammation by tryptophan catabolism during pregnancy. <i>Nat Immunol</i> 2001b; 2: 64-68

[346]	<p>Mengaud J, Vicente MF, Chenevert J, Pereira JM, Geoffroy C, Gicquel-Sanzey B, Baquero F, Perez-Diaz JC, Cossart P.</p> <p>Expression in <i>Escherichia coli</i> and sequence analysis of the listeriolysin O determinant of <i>Listeria monocytogenes</i>.</p> <p>Infect Immun 1988; 56: 766-772</p>
[347]	<p>Mengaud J, Dramsi S, Gouin E, Vázquez-Boland JA, Milon G, Cossart P.</p> <p>Pleiotropic control of <i>Listeria monocytogenes</i> virulence factors by a gene that is autoregulated.</p> <p>Mol Microbiol 1991a; 5: 2273-2283</p>
[348]	<p>Mengaud J, Ohayon H, Gounon P, Mege RM, Cossart P.</p> <p>E-cadherin is the receptor for internalin, a surface protein required for entry of <i>L. monocytogenes</i> into epithelial cells.</p> <p>Cell 1996; 84: 923-932</p>
[349]	<p>Merle-Melet M, Dossou-Gbete L, Maurer P, Meyer P, Lozniewski A, Kuntzburger O, Wéber M, Gérard A.</p> <p>Is amoxicillin-cotrimoxazole the most appropriate antibiotic regimen for <i>Listeria meningoenzephalitis</i>? Review of 22 cases and the literature.</p> <p>J Infect 1996; 33: 79-85</p>
[350]	<p>Michel E, Mengaud J, Galsworthy S, Cossart P.</p> <p>Characterization of a large motility gene cluster containing the <i>cheR</i>, <i>motAB</i> genes of <i>Listeria monocytogenes</i> and evidence that <i>PrfA</i> downregulates motility gene.</p> <p>FEMS Microbiol Lett 1998; 169: 341-347</p>
[351]	<p>Michelet C, Avril JL, Cartier F, Berche P.</p> <p>Inhibition of intracellular growth of <i>Listeria monocytogenes</i> by antibiotics.</p> <p>Antimicrob Agents Chemother 1994; 38: 438-446</p>
[352]	<p>Michelet C, Avril JL, Arvieux C, Jacquelinet C, Vu N, Cartier F.</p> <p>Comparative activities of new fluoroquinolones, alone or in combination with amoxicillin, trimethoprim-sulfamethoxazole, or rifampin, against intracellular <i>Listeria monocytogenes</i>.</p> <p>Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 60-65</p>

[353]	<p>Michelet C, Leib SL, Bentue-Ferrer D, Täuber MG. Comparative efficacies of antibiotics in a rat model of meningoencephalitis due to <i>Listeria monocytogenes</i>. <i>Antimicrob Agents Chemother</i> 1999; 43: 1651-1656</p>
[354]	<p>Milenbachs AA, Brown DP, Moors M, Youngman P. Carbon-source regulation of virulence gene expression in <i>Listeria monocytogenes</i>. <i>Mol Microbiol</i> 1997; 23: 1075-1085</p>
[355]	<p>Miller JK. Listeriosis in man. <i>Med Times</i> 1967; 95: 754-758</p>
[356]	<p>Milohanic E, Jonquières R, Cossart P, Berche P, Gaillard JL. The autolysin Ami contributes to the adhesion of <i>Listeria monocytogenes</i> to eukaryotic cells via its cell wall anchor. <i>Mol Microbiol</i> 2001; 39: 1212-1224</p>
[357]	<p>Milohanic E, Jonquières R, Glaser P, Dehoux P, Jacquet C, Berche P, Cossart P, Gaillard JL. Sequence and binding activity of the autolysin-adhesin Ami from epidemic <i>Listeria monocytogenes</i> 4b. <i>Infect Immun</i> 2004; 72: 4401-4409</p>
[358]	<p>Moors MA, Levitt B, Youngman P, Portnoy DA. Expression of listeriolysin O and ActA by intracellular and extracellular <i>Listeria monocytogenes</i>. <i>Infect Immun</i> 1999; 67: 131-139</p>
[359]	<p>Mor G, Aldo P, Alvero AB: The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. <i>Nature Reviews Immunology</i> 2017, 17:469-482</p>

[360]	<p>Moura A, Criscuolo A, Pouseele H, Maury MM, Leclercq A, Tarr C, Björkman JT, Dallman T, Reimer A, Enouf V, Larssonneur E, Carleton H, Bracq-Dieye H, Katz LS, Jones L, Touchon M, Tourdjman M, Walker M, Stroika S, Cantinelli T, Chenal-Francisque V, Kucerova Z, Rocha EP, Nadon C, Grant K, Nielsen EM, Pot B, Gerner-Smidt P, Lecuit M, Brisse S.</p> <p>Whole genome-based population biology and epidemiological surveillance of <i>Listeria monocytogenes</i>.</p> <p>Nat Microbiol. 2016 Oct 10;2:16185</p>
[361]	<p>Murray EGD, Webb RE, Swann MBR.</p> <p>A disease of rabbits characterised by a large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus <i>Bacterium monocytogenes</i> (n.sp.).</p> <p>J Pathol Bacteriol 1926; 29: 407-439</p>
[362]	<p>Myers ER, Dallmier AW, Martin SE.</p> <p>Sodium chloride, potassium chloride, and virulence in <i>Listeria monocytogenes</i>.</p> <p>Appl Environ Microbiol 1993; 59: 2082-2086</p>
[363]	<p>Myers JP, Peterson G, Rashid A.</p> <p>Peritonitis due to <i>Listeria monocytogenes</i> complicating continuous ambulatory peritoneal dialysis.</p> <p>J Infect Dis 1983; 148: 1130</p>
[364]	<p>Mylonakis E, Hohmann EL, Calderwood SB.</p> <p>Central nervous system infection with <i>Listeria monocytogenes</i>. 33 years' experience at a general hospital and review of 776 episodes from literature.</p> <p>Medicine 1998; 77: 313-336</p>
[365]	<p>Mylonakis E, Paliou M, Hohmann EL, Calderwood SB, Wing EJ.</p> <p>Listeriosis during pregnancy: A case series and review of 222 cases.</p> <p>Medicine 2002; 81: 260-269</p>
[366]	<p>Nadon C, Van Walle I, Gerner-Smidt P, et al.</p> <p>PulseNet International: Vision for the implementation of whole genome sequencing (WGS) for global food-borne disease surveillance.</p> <p>Euro Surveill. 2017;22(23):30544</p>
[367]	<p>Nichterlein T, Kretschmar M, Siegsmund M, Hof H.</p> <p>Erythromycin is ineffective against <i>Listeria monocytogenes</i> in multidrug resistant cells.</p> <p>J Chemother 1995; 7: 184-188</p>

[368]	Nichterlein T, Bornitz F, Kretschmar M, Hof H. Successful treatment of murine listeriosis and salmonellosis with levofloxacin. J Chemother 1998; 10: 313-319
[369]	Nieman RE, Lorber B. Listeriosis in adults: A changing pattern. Report of eight cases and review of the literature 1968-1978. Rev Infect Dis 1980; 2: 207-227
[370]	Norrung B. Characterization of Danish isolates of <i>Listeria monocytogenes</i> by multilocus enzyme electrophoresis. Int J Food Microbiol 1992; 15: 51-59
[371]	Notermans SH, Dufrenne J, Leimeister-Wachter M, Domann E, Chakraborty T. Phosphatidylinositol-specific phospholipase C activity as a marker to distinguish between pathogenic and nonpathogenic <i>Listeria</i> species. Environ Microbiol 1991; 57: 2666-2670
[372]	Nunez-Montero K, Leclercq A, Moura A, Vales G, Peraza J et al. <i>Listeria costaricensis</i> sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 2018;68(3):844-850.
[373]	Nyfeldt A. Etiologie de la mononucléose infectieuse. C R Seances Soc Biol Fil 1929; 101: 590
[374]	Ogunmodede F, Jones JL, Scheftel J, Kirkland E, Schulkin J, Lynfield R. Listeriosis prevention knowledge among pregnant women in the USA. Infect Dis Obstet Gynecol 2005; 13: 11-15
[375]	Orsi RH, den Bakker HC, Wiedmann M. <i>Listeria monocytogenes</i> lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. Int J Med Microbiol. 2011 Feb;301(2):79-96
[376]	Orsi RH, Wiedmann M. Characteristics and distribution of <i>Listeria</i> spp., including <i>Listeria</i> species newly described since 2009. Appl Microbiol Biotechnol. 2016;100(12):5273-5287

[377]	<p>Ortel S: Bakteriologische, serologische und epidemiologische Untersuchungen während einer Listeriose-Epidemie (Bacteriological, serological and epidemiological studies during an outbreak of listeriosis). Dtsch Gesundheitswesen 1968; 23(16): 753–759</p>
[378]	<p>Ortel S. Experience with nalidixic acid-trypaflavine agar. Acta Microbiol Acad Sci Hung 1972; 19: 363-365</p>
[379]	<p>Otter A., Blakemore W.F. Observation on the presence of <i>Listeria monocytogenes</i> in axons. Acta Microbiol Hung 1989; 36: 125-131</p>
[380]	<p>Paillard D, Dubois V, Duran R, Nathier F, Guittet C, Caumette P, Quentin C. Rapid identification of <i>Listeria</i> species by using restriction fragment length polymorphism of PCR-amplified 23SrRNA gene fragments. Appl Environ Microbiol 2003; 69: 6386-6392</p>
[381]	<p>Painter J., Slutsker L. Listeriosis in humans In: Ryser ET, Marth EH. editors <i>Listeria, Listeriosis and Food Safety</i> 3rd ed. CRC Press Florida 2007: 85-109</p>
[382]	<p>Pamer EG. Immune responses to <i>Listeria monocytogenes</i>. Nat Rev Immunol 2004; 4: 812-823</p>
[383]	<p>Parida SK, Domann E, Rohde M, Müller, Darji A, Hain T, Wehland J, Chakraborty T. Internalin B is essential for adhesion and mediates the invasion of <i>Listeria monocytogenes</i> into human endothelial cells. Mol Microbiol 1998; 28: 81-93</p>
[384]	<p>Parish ME, Higgins DP. Survival of <i>Listeria monocytogenes</i> in low pH model broth systems. J Food Prot 1989; 52: 144-147</p>

[385]	<p>Parkash V, Morotti RA, Joshi V, Cartun R, Rauch CA, West AB. Immunohistochemical detection of Listeria antigens in the placenta in perinatal listeriosis. Int J Gynecol Pathol 1998; 17: 343-350</p>
[386]	<p>Peel M, Donachie W, Shaw A. Temperature-dependent expression of flagella of Listeria monocytogenes studied by electron microscopy, SDS-PAGE and western blotting. J Gen Microbiol 1988; 134: 2171-2178</p>
[387]	<p>Pentecost MOG, Theriot JA, Amieva MR. Listeria monocytogenes invades the epithelial junctions at sites of cell extrusion. PLoS Pathog 2006; 2: e3</p>
[388]	<p>Phelps CC, Vadia S, Arnett E, et al. Relative Roles of Listeriolysin O, InIA, and InIB in Listeria monocytogenes Uptake by Host Cells. Infect Immun. 2018;86(10):e00555-18</p>
[389]	<p>Pietzka A, Allerberger F, Murer A, et al. Whole Genome Sequencing Based Surveillance of L. monocytogenes for Early Detection and Investigations of Listeriosis Outbreaks. Front Public Health. 2019;7:139.</p>
[390]	<p>Pilgrim S, Kolb-Mäurer A, Gentschev I, Goebel W, Kuhn M. Deletion of the gene encoding p60 in Listeria monocytogenes leads to abnormal cell division and loss of actin-based motility. Infect Immun 2003; 71: 3473-3484</p>
[391]	<p>Pillich H, Puri M, Chakraborty T. ActA of Listeria monocytogenes and Its Manifold Activities as an Important Listerial Virulence Factor. Curr Top Microbiol Immunol. 2017;399:113-132</p>
[392]	<p>Plastino J, Olivier S, Sykes C. Actin filaments align into hollow comets for rapid VASP-mediated propulsion. Curr Biol 2004; 14: 1766-1771</p>
[393]	<p>Plastino J, Sykes C. The actin slingshot. Curr Opin Cell Biol 2005; 17: 62-66</p>

[394]	Plitas G, Chaudhry UI, Kingham TP, Raab JR, DeMatteo RP. NK dendritic cells are innate immune responders to <i>Listeria monocytogenes</i> infection. J Immunol 2007;178: 4411-4416
[395]	Pollard JW, Bartocci A, Arceci R, Orlofsky A, Ladner MB, Stanley ER. Apparent role of the macrophage growth factor, CSF-1, in placental development. Nature 1987; 330: 484-486
[396]	Pollard TD, Borisy GG. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. Cell 2003; 112: 453-465
[397]	Pombinho R, Vieira A, Camejo A, et al. Virulence gene repression promotes <i>Listeria monocytogenes</i> systemic infection. Gut Microbes. 2020;11(4):868-881.
[398]	Portnoy DA, Jacks DS, Hinrichs DJ. Role of hemolysin for the intracellular growth of <i>Listeria monocytogenes</i> . J Exp Med 1988; 167: 1459-1471
[399]	Portnoy DA. Innate immunity to a facultative intracellular bacterial pathogen. Curr Opin Immunol 1992a; 4: 20-24
[400]	Posfay-Barbe KM, Wald ER. Listeriosis. Pediatr Rev 2004; 25: 151-159
[401]	Potel J. Die Morphologie, Kultur und Tierpathogenität des <i>Corynebacterium infantisepticum</i> . Zentralbl Bakteriolog Orig 1951; 156: 140
[402]	Pouillot R, Hoelzer K, Jackson KA, et al. Relative risk of listeriosis in Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet) sites according to age, pregnancy, and ethnicity. Clin Infect Dis. 2012;54(Suppl 5): S405–10

[403]	<p>Poyart C, Abachin E, Razafimanantsoa I, Berche P.</p> <p>The zinc metalloprotease of <i>Listeria monocytogenes</i> is required for maturation of phosphatidylcholine phospholipase C: direct evidence obtained by gene complementation.</p> <p>Infect Immun 1993; 61: 1576-1580</p>
[404]	<p>Poyart-Salmeron C, Carlier C, Trieu-Cuot P, Courtieu AL, Courvalin P.</p> <p>Transferable plasmid-mediated antibiotic resistance in <i>Listeria monocytogenes</i>.</p> <p>Lancet 1990; 335: 1422-1426</p>
[405]	<p>Prehoda KE, Lee DJ, Lim WA.</p> <p>Structure of the enabled/VASP homology 1 domain-peptide complex: a key component in the spatial control of actin assembly.</p> <p>Cell 1999; 97: 471-480</p>
[406]	<p>Pron B, Boumaila C, Jaubert F, Berche P, Milon G, Geissmann F, Gaillard JL.</p> <p>Dendritic cells are early cellular targets of <i>Listeria monocytogenes</i> after intestinal delivery and are involved in bacterial spread in the host.</p> <p>Cell Microbiol 2001; 3: 331-340</p>
[407]	<p>Pucciarelli MG, Calvo E, Sabet C, Bierne H, Cossart P, García-del Portillo F.</p> <p>Identification of substrates of the <i>Listeria monocytogenes</i> sortases A and B by a non-gel proteomic analysis.</p> <p>Proteomics 2005; 5: 4808-4817</p>
[408]	<p>Qiu X, Zhu L, Pollard JW.</p> <p>Colony-stimulating factor-1-dependent macrophage functions regulate the maternal decidua immune responses against <i>Listeria monocytogenes</i> infections during early gestation in mice.</p> <p>Infect Immun 2009; 77: 85-97</p>
[409]	<p>Quereda JJ, Dussurget O, Nahori MA, et al.</p> <p>Bacteriocin from epidemic <i>Listeria</i> strains alters the host intestinal microbiota to favor infection.</p> <p>Proc Natl Acad Sci U S A. 2016;113(20):5706-5711</p>
[410]	<p>Quereda JJ, Nahori MA, Meza-Torres J, et al.</p> <p>Listeriolysin S Is a Streptolysin S-Like Virulence Factor That Targets Exclusively Prokaryotic Cells In Vivo.</p> <p>mBio. 2017;8(2)</p>

[411]	<p>Quereda JJ, Andersson C, Cossart P, Johansson J, Pizarro-Cerdá J. Role in virulence of phospholipases, listeriolysin O and listeriolysin S from epidemic <i>Listeria monocytogenes</i> using the chicken embryo infection model. Vet Res. 2018;49(1):13</p>
[412]	<p>Quereda JJ, Rodríguez-Gómez IM, Meza-Torres J, Gómez-Laguna J, Nahori MA, Dussurget O, Carrasco L, Cossart P, Pizarro-Cerdá J. Reassessing the role of internalin B in <i>Listeria monocytogenes</i> virulence using the epidemic strain F2365. Clin Microbiol Infect. 2019 Feb;25(2):252.e1-252.e4.</p>
[413]	<p>Quereda J, Leclercq A., Moura A., Vales G., Gómez-Martín Á., et al.. <i>Listeria valentina</i> sp. nov., isolated from a water trough and the faeces of healthy sheep. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, Microbiology Society, 2020,ff10.1099/ijsem.0.004494ff. ffpasteur-02982350</p>
[414]	<p>Quereda JJ, Morón-García A, Palacios-Gorba C, et al. Pathogenicity and virulence of <i>Listeria monocytogenes</i>: A trip from environmental to medical microbiology. Virulence. 2021;12(1):2509-2545</p>
[415]	<p>Racz P, Tenner K, Szivessy K. Electron microscopic studies in experimental keratoconjunctivitis listeriosa. I. Penetration of <i>Listeria monocytogenes</i> into corneal epithelial cells. Acta Microbiol Acad Sci Hung 1970; 17: 221-236</p>
[416]	<p>Racz P, Tenner K, Mero E. Experimental <i>Listeria</i> enteritis. I. An electron microscopic study of the epithelial phase in experimental <i>Listeria</i> infection. Lab Invest 1972; 26: 694-700</p>
[417]	<p>Radoshevich, L., Cossart, P. <i>Listeria monocytogenes</i>: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. Nat Rev Microbiol 16, 32–46 (2018).</p>

[418]	<p>Radsak MP, Hilf N, Singh-Jasuja H, Braedel S, Brossart P, Rammensee HG, Schild H.</p> <p>The heat shock protein Gp96 binds to human neutrophils and monocytes and stimulates effector functions.</p> <p>Blood 2003; 101: 2810-2815</p>
[419]	<p>Rafelski SM, Theriot JA.</p> <p>Bacterial shape and ActA distribution affect initiation of <i>Listeria monocytogenes</i> actin-based motility</p> <p>Biophys J 2005; 89: 2146-2158</p>
[420]	<p>Raffelsbauer D, Bubert A, Engelbrecht F, Scheinpflug J, Simm A, Hess J, Kaufmann SH, Goebel W.</p> <p>The gene cluster inIC2DE of <i>Listeria monocytogenes</i> contains additional new internalin genes and is important for virulence in mice.</p> <p>Mol Gen Genet 1998; 260:144-158</p>
[421]	<p>Raghupathy R.</p> <p>Pregnancy: success and failure within the Th1/Th2/Th3 paradigm.</p> <p>Semin Immunol 2001; 13: 219-227</p>
[422]	<p>Ragon M, Wirth T, Hollandt F, et al.</p> <p>A new perspective on <i>Listeria monocytogenes</i> evolution.</p> <p>PLoS Pathog. 2008;4(9):e1000146</p>
[423]	<p>Rainey A, Weiss N, Stackebrandt E.</p> <p>Phylogenetic analysis of the genera <i>Cellulomonas</i>, <i>Promicrospora</i>, and <i>Jonesia</i> and proposal to exclude the genus <i>Jonesia</i> from the family <i>Cellulomonadaceae</i>.</p> <p>Int J Syst Bacteriol 1995; 45: 649-652</p>
[424]	<p>Rajabian T, Gavicherla B, Heisig M, Müller-Altrock S, Goebel W, Gray-Owen SD, Ireton K.</p> <p>The bacterial virulence factor InIC perturbs apical cell junctions and promotes cell-to-cell spread of <i>Listeria</i>.</p> <p>Nat Cell Biol. 2009 Oct;11(10):1212-8.</p>
[425]	<p>Ralovich B, Emody L, Malovics I, Mero E, Forray A.</p> <p>Methods to isolate <i>Listeria monocytogenes</i> from different materials.</p> <p>Acta Microbiol Acad Sci Hung 1972; 19: 367-369</p>

[426]	<p>Rauch M, Luo Q, Müller-Altrock S, Goebel W. SigB-dependent in vitro transcription of prfA and some newly identified genes of <i>Listeria monocytogenes</i> whose expression is affected by PrfA in vivo. <i>J Bacteriol</i> 2005; 187: 800-804</p>
[427]	<p>Redline RW, Lu CY. Role of local immunosuppression in murine fetoplacental listeriosis. <i>J Clin Invest</i> 1987; 79: 1234-1241</p>
[428]	<p>Redline RW, Lu CY. Specific defects in the anti-listerial immune response in discrete regions of the murine uterus and placenta account for susceptibility to infection. <i>J Immunol</i> 1988; 140: 3947-3955</p>
[429]	<p>Redline RW, Lu CY. Localization of fetal major histocompatibility complex antigens and maternal leukocytes in murine placenta. Implications for maternal-fetal immunological relationship. <i>Lab Invest</i> 1989; 61: 27-36</p>
[430]	<p>Reiss HJ, Potel J, Krebs A. Granulomatosis infantiseptica. <i>Z Gesamte Inn Med</i> 1951; 6: 1-7</p>
[431]	<p>Reniere ML, Whiteley AT, Hamilton KL, et al. Glutathione activates virulence gene expression of an intracellular pathogen. <i>Nature</i>. 2015;517(7533):170-173</p>
[432]	<p>Renzoni A, Klarsfeld A, Dramsi S, Cossart P. Evidence that PrfA, the pleiotropic activator of virulence genes in <i>Listeria monocytogenes</i>, can be present but inactive. <i>Infect Immun</i> 1997; 65: 1515-1518</p>
[433]	<p>Riedo FX, Pinner RW, Tosca ML, Cartter ML, Graves LM, Reeves MW, Weaver RE, Plikaytis BD, Broome CV. A point-source foodborne listeriosis outbreak: documented incubation period and possible mild illness. <i>J Infect Dis</i> 1994; 170: 693-696</p>

[434]	Ripio MT, Domínguez-Bernal G, Lara M, Suárez M, Vázquez-Boland JA. A Gly145Ser substitution in the transcriptional activator PrfA causes constitutive overexpression of virulence factors in <i>Listeria monocytogenes</i> . J Bacteriol 1997a;179: 1533-1540
[435]	Ripio MT, Brehm K, Lara M, Suárez M, Vázquez-Boland JA. Glucose-1-phosphate utilization by <i>Listeria monocytogenes</i> is PrfA dependent and coordinately expressed with virulence factors. J Bacteriol 1997b; 179: 7174-7180
[436]	Ripio MT, Vázquez-Boland JA, Vega Y, Nair S, Berche P. Evidence for expressional crosstalk between the central virulence regulator PrfA and the stress response mediator ClpC in <i>Listeria monocytogenes</i> . FEMS Microbiol Lett 1998; 158: 45-50
[437]	Robbins JR, Skrzypczynska KM, Zeldovich VB, Kapidzic M, Bakardjiev AI. Placental syncytiotrophoblast constitutes a major barrier to vertical transmission of <i>Listeria monocytogenes</i> . PLoS Pathog. 2010;6(1)
[438]	Robert Koch-Institut: Listeriose – Zur Situation bei wichtigen Infektionskrankheiten in Deutschland. Epid Bull 2006; 2006(49): 435–442
[439]	Robert Koch Institut: Epid Bulletin 30. August 2010 / Nr. 34, 341-346
[440]	Robert Koch-Institut: Listeriose-Ausbruch in Deutschland und Österreich – Update. Epid Bull 2010; 2010(8): 78
[441]	Rocourt J, Grimont F, Grionot PAD, Seeliger HPR. DNA relatedness among serovars of <i>Listeria monocytogenes</i> sensu lato. Curr Microbiol 1982; 7: 383-388
[442]	Rocourt J, Grimont PAD. <i>Listeria welshimeri</i> sp. nov. and <i>Listeria seeligeri</i> sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1983; 33: 866-869
[443]	Rocourt J, Audurier A, Courtieu AL, Durst J, Ortel S, Schrettenbrunner A, Taylor AG. A multi-centre study on the phage typing of <i>Listeria monocytogenes</i> . Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg 1985; [A] 259: 489-497
[444]	Rocourt J. Taxonomy of the genus <i>Listeria</i> . Infection 1988; 16, Suppl 2: 89-91

[445]	<p>Rocourt J, Boerlin P, Grimont F, Jacquet C, Piffaretti JC. Assignment of <i>Listeria grayi</i> and <i>Listeria murrayi</i> to a single species, <i>Listeria grayi</i>, with a revised description of <i>Listeria grayi</i>. Int J Syst Bacteriol 1992; 42: 171-174</p>
[446]	<p>Rocourt J. Risk factors for listeriosis. Food Control 1996; 7: 195-202</p>
[447]	<p>Rocourt J, Buchrieser C. The genus <i>Listeria</i> and <i>Listeria monocytogenes</i>: phylogenetic position, taxonomy, and identification In: Ryser ET, Marth EH. editors <i>Listeria, Listeriosis and Food Safety</i> 3rd ed. CRC Press Florida 2007: 1- 20</p>
[448]	<p>Rodriguez DL, Fernandez GS, Garayzabal JFF, Ferri ER. New methodology for the isolation of <i>Listeria</i> microorganisms from heavily contaminated environments. Appl Environ Microbiol 1984; 47: 1188-1190</p>
[449]	<p>Rogers HW, Unanue ER. Neutrophils are involved in acute, nonspecific resistance to <i>Listeria monocytogenes</i> in mice. Infect Immun 1993; 61: 5090-5096</p>
[450]	<p>Rogers HW, Callery MP, Deck B, Unanue ER. <i>Listeria monocytogenes</i> induces apoptosis of infected hepatocytes. J Immunol 1996;156: 679-684</p>
[451]	<p>Rossant J, Cross JC. Placental development: lessons from mouse mutants. Nat Rev Genet 2001; 2: 538-548</p>
[452]	<p>Ruhland GJ, Fiedler F. Occurrence and biochemistry of lipoteichoic acids in the genus <i>Listeria</i>. Syst Appl Microbiol 1987; 9: 40-46</p>

[453]	Ruppitsch W, Pietzka A, Prior K, Bletz S, Fernandez HL, Allerberger F, Harmsen D, Mellmann A Defining and Evaluating a Core Genome Multilocus Sequence Typing Scheme for Whole-Genome Sequence-Based Typing of <i>Listeria monocytogenes</i> . J Clin Microbiol. 2015 Sep; 53(9):2869-76.
[454]	Sabet C, Lecuit M, Cabanes D, Cossart P, Bierne H. LPXTG protein InlJ, a newly identified internalin involved in <i>Listeria monocytogenes</i> virulence. Infect Immun 2005; 73: 6912-6922
[455]	Sacks G, Sargent I, Redman C. An innate view of human pregnancy. Immunol Today 1999; 20: 114-118
[456]	Salcedo C, Arreaza L, Alcalá B, de la Fuente L, Vázquez JA. Development of a multilocus sequence typing method for analysis of <i>Listeria monocytogenes</i> clones. J Clin Microbiol. 2003;41(2):757-762.
[457]	Sallen B, Rajoharison A, Desvarenne S, Quinn F, Mabilat C. Comparative analysis of 16S and 23SrRNA sequences of <i>Listeria</i> species. Int J Syst Bacteriol 1996; 46: 669-674
[458]	Sanger JM, Mittal B, Southwick FS, Sanger JW. <i>Listeria monocytogenes</i> intracellular migration: inhibition by profilin, vitamin D-binding protein and DNase I. Cell Motil Cytoskeleton 1995; 30: 38-49
[459]	Sarrut S, Alison F. Etude du placenta dans 21 cas de listériose congénital. Arch Fr Pediatr 1967; 24: 285-302
[460]	Sasaki Y, Sakai M, Miyazaki S, Higuma S, Shiozaki A, Saito S. Decidual and peripheral blood CD4+CD25+ regulatory T cells in early pregnancy subjects and spontaneous abortion cases. Mol Hum Reprod 2004; 10: 347-353
[461]	Sauders BD, Fortes ED, Morse DL, Dumas N, Kiehlbauch JA, Schukken Y, Hibbs JR, Wiedmann M. Molecular subtyping to detect human listeriosis clusters. Emerg Infect Dis 2003; 9: 672-680

[462]	Sawyer RT, Drevets DA, Campbell PA, Potter TA. Internalin A can mediate phagocytosis of <i>Listeria monocytogenes</i> by mouse macrophage cell lines. J Leukoc Biol 1996; 60: 603-610
[463]	Saxbe WB Jr. <i>Listeria monocytogenes</i> and Queen Anne. Pediatrics 1972; 49: 97-101
[464]	Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. Foodborne illness acquired in the United States--major pathogens. Emerg Infect Dis. 2011 Jan;17(1):7-15
[465]	Scheld WM. Evaluation of rifampin and other antibiotics against <i>Listeria monocytogenes</i> in vitro and in vivo. Rev Infect Dis 1983; 5 Suppl 3: S593-599
[466]	Schiavano GF, Ateba CN, Petruzzelli A, et al. Whole-Genome Sequencing Characterization of Virulence Profiles of <i>Listeria monocytogenes</i> Food and Human Isolates and In Vitro Adhesion/Invasion Assessment. Microorganisms. 2021;10(1):62
[467]	Schlech WF 3rd, Lavigne PM, Bortolussi RA, Allen AC, Haldane EV, Wort AJ, Hightower AW, Johnson SE, King SH, Nicholls ES, Broome CV. Epidemic listeriosis--evidence for transmission by food. N Engl J Med 1983; 308: 203-206
[468]	Schlech WF 3rd, Chase DP, Badley A. A model of food-borne <i>Listeria monocytogenes</i> infection in the Sprague-Dawley rat using gastric inoculation: development and effect of gastric acidity on infective dose Int J Food Microbiol 1993; 18: 15-24
[469]	Schlech WF 3rd. <i>Listeria gastroenteritis</i> --old syndrome, new pathogen. N Engl J Med 1997; 336: 130-132

[470]	Schmid MW, Ng EY, Lampidis R, Emmerth M, Walcher M, Kreft J, GoebelW, Wagner M, Schleifer KH. Evolutionary history of the genus <i>Listeria</i> and its virulence genes. <i>Syst Appl Microbiol</i> 2005; 28: 1-18
[471]	Schnupf P, Portnoy DA, Decatur AL. Phosphorylation, ubiquitination and degradation of listeriolysin O in mammalian cells: role of the PEST-like sequence. <i>Cell Microbiol</i> 2006; 8: 353-364
[472]	Schnupf P, Portnoy DA. Listeriolysin O: a phagosome-specific lysin. <i>Microbes Infect</i> 2007; 9: 1176-1187
[473]	Scholz C, Rogenhofer N, Jeschke U, Thaler CJ, Toth B. Schwangerschaft und maternales Immunsystem. <i>Gynäkologe</i> 2009; 42: 25-30
[474]	Schubert WD, Göbel G, Diepholz M, Darji A, Kloer D, Hain T, Chakraborty T, Wehland J, Domann E, Heinz DW. Internalins from the human pathogen <i>Listeria monocytogenes</i> combine three distinct folds into a contiguous internalin domain. <i>J Mol Biol</i> 2001; 312: 783-794
[475]	Schubert WD, Urbanke C, Ziehm T, Beier V, Machner MP, Domann E, Wehland J, Chakraborty T, Heinz DW. Structure of internalin, a major invasion protein of <i>Listeria monocytogenes</i> , in complex with its human receptor E-cadherin. <i>Cell</i> 2002; 111: 825-836
[476]	Schuchat A, Swaminathan B, Broome CV. Epidemiology of Human Listeriosis. <i>Clin Microbiol Rev</i> 1991; 4: 169-183
[477]	Schuchat A, Deaver KA, Wenger JD, Plikaytis BD, Mascola L, Pinner RW, Reingold AL, Broome CV. Role of foods in sporadic listeriosis. I. Case-control study of dietary risk factors. <i>JAMA</i> 1992; 267: 2041-2045

[478]	Schuchat A, Robinson K, Wenger JD, Harrison LH, Farley M, Reingold AL, Lefkowitz L, Perkins BA. Bacterial meningitis in the United States in 1995. Active Surveillance Team. N Engl J Med 1997; 337: 970-976
[479]	Schuerch DW, Wilson-Kubalek EM, Tweten RK. Molecular basis of listeriolysin O pH dependence. Proc Natl Acad Sci U S A 2005; 102: 12537-12542
[480]	Schwartz B, Hexter D, Broome CV, Hightower AW, Hirschhorn RB, Porter JD, Hayes PS, Bibb WF, Lorber B, Faris DG. Investigation of an outbreak of listeriosis: new hypotheses for the etiology of epidemic <i>Listeria monocytogenes</i> infections. J Infect Dis 1989; 159: 680-685
[481]	Schwartz DC, Cantor CR. Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed-field gradient gel electrophoresis Cell 1984; 37: 67-75
[482]	Scortti M, Lacharme-Lora L, Wagner M, Chico-Calero I, Losito P, Vázquez-Boland JA. Coexpression of virulence and fosfomycin susceptibility in <i>Listeria</i> : molecular basis of an antimicrobial in vitro-in vivo paradox. Nat Med 2006; 12: 515-517
[483]	Scortti M, Monzó HJ, Lacharme-Lora L, Lewis DA, Vázquez-Boland JA. The PrfA virulence regulon. Microbes Infect 2007; 9: 1196-1207
[484]	Seeliger HPR. Zur Ätiologie der Granulomatosis infeantiseptica und pseudotuberkulöser Erkrankungen. Dtsch Med Wochenschr 1952; 77: 587
[485]	Seeliger HPR, Sander F, Bockemühl J. Zum kulturellen Nachweis von <i>Listeria monocytogenes</i> . Z Med Mikrobiol Immunol 1970; 155: 352-368
[486]	Seeliger HPR., Höhne K. Serotyping of <i>Listeria monocytogenes</i> and related species. Methods Microbiol 1979a; 13: 31-49

[487]	<p>Seeliger HPR, Höhne K. Serotyping of and related species In: Bergan T, Norris J. editors Academic Press, New York 1979b: 33-48</p>
[488]	<p>Seeliger HPR. Apathogene Listerien: <i>L. innocua</i> sp.n. (Seeliger et Schoofs 1977). Zentralbl Bakteriolog Orig 1981; 249: 487-493</p>
[489]	<p>Seeliger HPR, Rocourt J, Schrettenbrunner A, Grimont PAD, Jones D. <i>Listeria ivanovii</i> sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1984; 34: 336-337</p>
[490]	<p>Seeliger HPR, Jones D. <i>Listeria</i> In: Sneath PHA, Nair NS, Sharpe NE, Holt JG. editors Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol.2 Williams and Wilkins Baltimore 1986: 1235-1245</p>
[491]	<p>Seeliger HPR. Listeriosis – History and actual developments. Infection 1988; 16, Suppl. 2: 80-84</p>
[492]	<p>Seki E, Tsutsui H, Tsuji NM, Hayashi N, Adachi K, Nakano H, Futatsugi-Yumikura S, Takeuchi O, Hoshino K, Akira S, Fujimoto J, Nakanishi K. Critical roles of myeloid differentiation factor 88-dependent proinflammatory cytokine release in early phase clearance of <i>Listeria monocytogenes</i> in mice. J Immunol 2002; 169: 3863-3868</p>
[493]	<p>Seveau S, Pizarro-Cerda J, Cossart P. Molecular mechanisms exploited by <i>Listeria monocytogenes</i> during host cell invasion. Microbes Infect 2007; 9: 1167-1175</p>
[494]	<p>Seveau S. Multifaceted Activity of Listeriolysin O, the Cholesterol-Dependent Cytolysin of <i>Listeria monocytogenes</i>. In: Anderluh G., Gilbert R. (eds) MACPF/CDC Proteins - Agents of Defence, Attack and Invasion. Subcellular Biochemistry, 2014, vol 80. Springer, Dordrecht.</p>

[495]	Shahamat M, Seaman A, Woodbine M. Survival of <i>Listeria monocytogenes</i> in high salt concentrations. Zentralbl Bakteriologie A 1980; 246: 506-511
[496]	Shapiro L, Fannon AM, Kwong PD, Thompson A, Lehmann MS, Grubel G, Legrand JF, Als-Nielsen J, Colman DR, Hendrickson WA. Structural basis of cell-cell adhesion by cadherins . Nature 1995; 374: 327-337
[497]	Sheehan B, Klarsfeld A, Msadek T, Cossart P. Differential activation of virulence gene expression by PrfA, the <i>Listeria monocytogenes</i> virulence regulator. J Bacteriol 1995; 177: 6469-6476
[498]	Sheehan B, Klarsfeld A, Ebright R, Cossart P. A single substitution in the putative helix-turn-helix motif of the pleiotropic activator PrfA attenuates <i>Listeria monocytogenes</i> virulence. Mol Microbiol 1996; 20: 785-797
[499]	Shegarfi H, Sydnes K, Løvik M, Inngjerdingen M, Rolstad B, Naper C. The role of natural killer cells in resistance to the intracellular bacterium <i>Listeria monocytogenes</i> in rats. Scand J Immunol 2009; 70: 238-244
[500]	Shen H, Whitmire JK, Fan X, Shedlock DJ, Kaech SM, Ahmed R. A specific role for B cells in the generation of CD8 T cell memory by recombinant <i>Listeria monocytogenes</i> . J Immunol 2003; 170: 1443-1451
[501]	Shen Y, Naujokas M, Park M, Ireton K. InIB-dependent internalization of <i>Listeria</i> is mediated by the Met receptor tyrosine kinase. Cell 2000;103: 501-510
[502]	Shetron-Rama LM, Marquis H, Bouwer HG, Freitag NE. Intracellular induction of <i>Listeria monocytogenes</i> actA expression. Infect Immun 2002; 70: 1087-1096
[503]	Shtrichman R, Samuel CE. The role of gamma interferon in antimicrobial immunity. Curr Opin Microbiol 2001; 4: 251-259

[504]	Siegman-Igra Y, Levin R, Weinberger M, Golan Y, Schwartz D, Samra Z, Konigsberger H, Yinnon A, Rahav G, Keller N, Bisharat N, Karpuch J, Finkelstein R, Alkan M, Landau Z, Novikov J, Hassin D, Rudnicki C, Kitzes R, Ovadia S, Shimoni Z, Lang R, Shohat T. Listeria monocytogenes infection in Israel and review of cases worldwide. Emerg Infect Dis 2002; 8: 305-310
[505]	Silver HM. Listeriosis during pregnancy. Obstet Gynecol Surv 1998; 53: 737-740
[506]	Simmons MD, Cockcroft PM, Okubadejo OA. Neonatal listeriosis due to cross-infection in an obstetric theatre. J Infect 1986; 13: 235-239
[507]	Skoble J, Portnoy DA, Welch MD. Three regions within ActA promote Arp2/3 complex-mediated actin nucleation and Listeria monocytogenes motility. J Cell Biol 2000; 150: 527-538
[508]	Skoble J, Auerbuch V, Goley ED, Welch MD, Portnoy DA. Pivotal role of VASP in Arp2/3 complex-mediated actin nucleation, actin branch-formation, and Listeria monocytogenes motility. J Cell Biol 2001; 155: 89-100
[509]	Skogberg K, Syrjänen J, Jahkola M, Renkonen OV, Paavonen J, Ahonen J, Kontiainen S, Ruutu P, Valtonen V. Clinical presentation and outcome of listeriosis in patients with and without immunosuppressive therapy. Clin Infect Dis 1992; 14: 815-821
[510]	Slade PJ, Collins-Thomson DL. Two-stage enrichment procedures for isolating Listeria monocytogenes from raw milk. J Food Prot 1987; 50: 904-908
[511]	Slade PJ, Collins-Thompson DL. Listeria, plasmids, antibiotic resistance, and food. Lancet 1990; 336: 1004

[512]	<p>Smith GA, Marquis H, Jones S, Johnston NC, Portnoy DA, Goldfine H. The two distinct phospholipases C of <i>Listeria monocytogenes</i> have overlapping roles in escape from a vacuole and cell-to-cell spread. <i>Infect Immun</i> 1995a; 63: 4231-4237</p>
[513]	<p>Smith GA, Portnoy DA, Theriot JA. Asymmetric distribution of the <i>Listeria monocytogenes</i> ActA protein is required and sufficient to direct actin-based motility. <i>Mol Microbiol</i> 1995b; 17: 945-951</p>
[514]	<p>Sohier R, Benazet F, Piechaud M. Sur un germe du genre <i>Listeria</i> apparemment non pathogene. <i>Ann Inst Pasteur</i> 1948 ; 74: 54-57</p>
[515]	<p>Sokolovic Z, Goebel W. Synthesis of listeriolysin in <i>Listeria monocytogenes</i> under heat shock conditions. <i>Infect Immun</i> 1989; 57: 295-298</p>
[516]	<p>Sokolovic Z, Fuchs A, Goebel W. Synthesis of species-specific stress proteins by virulent strains of <i>Listeria monocytogenes</i>. <i>Infect Immun</i> 1990; 58: 3582-3587</p>
[517]	<p>Somer L, Kashi Y. A PCR method based on 16SrRNA sequence for simultaneous detection of the genus <i>Listeria</i> and the species <i>Listeria monocytogenes</i> in food products. <i>J Food Protect</i> 2003; 66: 1658-1665</p>
[518]	<p>Southwick FS, Purich DL. Intracellular pathogenesis of listeriosis. <i>N Engl J Med</i> 1996; 334: 770-776</p>
[519]	<p>Stamm AM, Smith SH, Kirklin JK, McGiffin DC. Listerial myocarditis in cardiac transplantation. <i>Rev infect Dis</i> 1990; 12: 820-823</p>
[520]	<p>Stepanović S, Lazarević G, Jesić M, Kos R. Meropenem therapy failure in <i>Listeria monocytogenes</i> infection. <i>Eur J Clin Microbiol Infect Dis</i> 2004; 23: 484-486</p>

[521]	<p>Stepanović S, Vuković D, Djukić S, Cirković I, Svabić-Vlahović M. Long-term analysis of <i>Listeria monocytogenes</i> vaginal carriage frequency in Belgrade, Serbia (short communication). Acta Microbiol Immunol Hung 2007; 54:195-199</p>
[522]	<p>Stuart SE, Welshimer HJ. Intragenetic relatedness of <i>Listeria pirie</i>. Int J Syst Bacteriol 1973; 23: 8-14</p>
[523]	<p>Stuart SE, Welshimer HJ. Taxonomic reexamination of <i>Listeria pirie</i> and transfer of <i>Listeria grayi</i> and <i>Listeria murrayi</i> to a new genus <i>Murraya</i>. Int J Syst Bacteriol 1974; 24: 177-185</p>
[524]	<p>Swaminathan B, Barrett TJ, Hunter SB, Tauxe RV; CDC PulseNet Task Force. PulseNet: the molecular subtyping network for foodborne bacterial disease surveillance, United States. Emerg Infect Dis 2001; 7: 382-389</p>
[525]	<p>Swaminathan B, Gerner-Smidt P. The epidemiology of human Listeriosis. MicroBes Infect 2007; 9: 1236-1243</p>
[526]	<p>Tappero JW, Schuchat A, Deaver KA, Mascola L, Wenger JD. Reduction the incidence of human listdriosis in the United States. Effectiveness of prevention efforts? JAMA 1995; 272: 1118-1122</p>
[527]	<p>Temple ME,242Nahata MC. Treatment242oF listeriosis. Ann Pharmacother 2000; 34: 656-661</p>
[528]	<p>Thäle C, Kiderlen AF. Sources of interferon-gamma (IFN-gamma) in early immune response to <i>Listeria monocytogenes</i>. Immunobiology 2005; 210: 673-683</p>
[529]	<p>Thompson DE, Balsdon JT, Cai J, Collins MD. Studies on the ribosomal RNA operons of <i>Listeria monocytogenes</i>. FEMS Microbiol Lett 1992; 75: 219-224</p>

[530]	<p>Tilney LG, Portnoy DA.</p> <p>Actin filaments and the growth, movement, and spread of the intracellular bacterial parasite, <i>Listeria monocytogenes</i>.</p> <p>J Cell Biol 1989; 109: 1597-1608</p>
[531]	<p>Tilney LG, DeRosier DJ, Tilney MS.</p> <p>How <i>Listeria</i> exploits host cell actin to form its own cytoskeleton. I. Formation of a tail and how that tail might be involved in movement.</p> <p>J Cell Biol 1992a; 118: 71-81</p>
[532]	<p>Tilney LG, DeRosier DJ, Weber A, Tilney MS.</p> <p>How <i>Listeria</i> exploits host cell actin to form its own cytoskeleton. II. Nucleation, actin filament polarity, filament assembly, and evidence for a pointed end capper.</p> <p>J Cell Biol 1992b; 118: 83-93</p>
[533]	<p>Tran TT, Mathmann CD, Gatica-Andrades M, et al.</p> <p>Inhibition of the master regulator of <i>Listeria monocytogenes</i> virulence enables bacterial clearance from spacious replication vacuoles in infected macrophages.</p> <p>PLoS Pathog. 2022;18(1):e1010166.</p>
[534]	<p>Travier L, Guadagnini S, Gouin E, et al.</p> <p>ActA promotes <i>Listeria monocytogenes</i> aggregation, intestinal colonization and carriage.</p> <p>PLoS Pathog. 2013;9(1):e1003131</p>
[535]	<p>Troxler R, von Graevenitz A, Funke G, Wiedemann B, Stock I.</p> <p>Natural antibiotic susceptibility of <i>Listeria</i> species: <i>L. grayi</i>, <i>L. innocua</i>, <i>L. ivanovii</i>, <i>L. monocytogenes</i>, <i>L. seeligeri</i> and <i>L. welshimeri</i> strains.</p> <p>Clin Microbiol Infect 2000; 6: 525-535</p>
[536]	<p>Tsai YH, Orsi RH, Nightangale KK, Wiedmann M.</p> <p><i>Listeria monocytogenes</i> internalins are highly diverse and evolved by recombination and positive selection.</p> <p>Infect Genet Evol 2006; 6: 378-389</p>
[537]	<p>Uldry PA, Kuntzer T, Bogousslavsky J, Regli F, Miklossy J, Bille J, Francioli P, Janzer R.</p> <p>Early symptoms and outcome of <i>Listeria monocytogenes</i> rhombencephalitis: 14 adult cases.</p> <p>J Neurol. 1993;240(4):235-42.</p>

[538]	Unanue ER. Macrophages, NK cells and neutrophils in the cytokine loop of listeria resistance Res Immunol 1996, 147: 499-505
[539]	Unanue ER. Inter-relationship among macrophages, natural killer cells and neutrophils in early stages of Listeria resistance. Curr Opin Immunol 1997a; 9: 35-43
[540]	Unanue ER. Studies in listeriosis show the strong symbiosis between the innate cellular system and the T-cell response* Immunol Rev 1997b; 158: 11-25
[541]	USDA/FSIS Isolation and identification of <i>Listeria monocytogenes</i> from red meat, Poultry, egg and environmental samples In: Microbiology laboratory guidebook 3 rd ed., revision 3, Chapter 8, 2002
[542]	Vadia S, Arnett E, Haghghat AC, Wilson-Kubalek EM, Tweten RK, Seveau S. The pore-forming toxin listeriolysin O mediates a novel entry pathway of <i>L. monocytogenes</i> into human hepatocytes. PLoS Pathog. 2011 Nov;7(11):e1002356
[543]	Vadia S, Seveau S. Fluxes of Ca ²⁺ and K ⁺ are required for the listeriolysin O-dependent internalization pathway of <i>Listeria monocytogenes</i> . Infect Immun. 2014 Mar;82(3):1084-91
[544]	Van Netten P, Perales I, Mossel DAA. An improved diagnostic and selective medium for isolation and counting <i>Listeria</i> spp. in heavily contaminated food. Lett Appl Microbiol 1988a; 7:17-21
[545]	Van Netten P, Van de Ven A, Perales I, Mossel DAA. A selective and diagnostic medium for the use in the enumeration of <i>Listeria</i> spp. in food . Int J Food Microbiol 1988b; 6: 187-198
[546]	Van Netten P, Perales I, Van de Moosdijk A, Curtis GDW, Mossel DAA. Liquid and solid selective differential media for the detection and enumeration of <i>L. monocytogenes</i> and other <i>Listeria</i> spp. Int J Food Microbiol 1989; 8: 299-316

[547]	<p>Vaneechoutte M, Boerlin P, Tichy HV, Bannerman E, Jager B, Bille J. Comparison of PCR-based DNA fingerprinting techniques for the identification of <i>Listeria</i> species and their use for atypical <i>Listeria</i> isolates. <i>Int J Syst Bacteriol</i> 1998; 48: 127-139</p>
[548]	<p>Vázquez-Boland JA, Dominguez L, Rodriguez-Ferri EF, Fernandez-Garayzabal JF, Suarez G. Preliminary evidence that different domains are involved in cytolytic activity and receptor (cholesterol) binding in listeriolysin O, the <i>Listeria monocytogenes</i> thiol-activated toxin. <i>FEMS Microbiol Lett</i> 1989; 53: 95-99</p>
[549]	<p>Vázquez-Boland JA, Dominguez L, Fernandez JF, Rodriguez-Ferri EF, Briones V, Blanco M, Suarez G. Revision of the validity of CAMP tests for <i>Listeria</i> identification. Proposal of an alternative method for the determination of haemolytic activity by <i>Listeria</i> strains. <i>Acta Microbiol Hung</i> 1990; 37: 201-206</p>
[550]	<p>Vázquez-Boland JA, Kocks C, Dramsi S, Ohayon H, Geoffroy C, Mengaud J, Cossart P. Nucleotide sequence of the lecithinase operon of <i>Listeria monocytogenes</i> and possible role of lecithinase in cell-to-cell spread. <i>Infect Immun</i> 1992; 60: 219-230</p>
[551]	<p>Vázquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Domínguez-Bernal G, Goebel W, González-Zorn B, Wehland J, Kreft J. <i>Listeria</i> pathogenesis and virulence determinants. <i>Clin Microbiol Rev</i> 2001a; 14: 584-640</p>
[552]	<p>Vázquez-Boland JA, Domínguez-Bernal G, González-Zorn B, Kreft J, Goebel W. Pathogenicity islands and virulence evolution in <i>Listeria</i> <i>Microbes Infect</i> 2001b; 3: 571-584</p>
[553]	<p>Vázquez-Boland JA, Kryptou E, Scotti M. <i>Listeria</i> Placental Infection. <i>mBio</i>. 2017;8(3):</p>

[554]	<p>Vega Y, Dickneite C, Ripio MT, Böckmann R, González-Zorn B, Novella S, Domínguez-Bernal G, Goebel W, Vázquez-Boland JA.</p> <p>Functional similarities between the <i>Listeria monocytogenes</i> virulence regulator PrfA and cyclic AMP receptor protein: the PrfA* (Gly145Ser) mutation increases binding affinity for target DNA.</p> <p>J Bacteriol 1998; 180: 6655-6660</p>
[555]	<p>Vega Y, Rauch M, Banfield MJ, Ermolaeva S, Scotti M, Goebel W, Vázquez-Boland JA.</p> <p>New <i>Listeria monocytogenes</i> prfA* mutants, transcriptional properties of PrfA* proteins and structure-function of the virulence regulator PrfA.</p> <p>Mo, Microbiol 2004; 52: 153-1565</p>
[556]	<p>Vicente MF, Pérez-Dáz JC, Baquero F, Angel de Pedro M, Berenguer J.</p> <p>Penicillin-binding protein 3 of <i>Listeria monocytogenes</i> as the primary lethal target for beta-lactams.</p> <p>Antimicrob Agents Chemother 1990; 34: 539-542</p>
[557]	<p>Voetsch AC, Angulo FJ, Jones TF, Moore MR, Nadmn C, McCarthy P, Shiferaw B, Megginson MB, Hurd S, Anddrson BJ, Cronquist A, Vugaa DJ, Medus C Segler S, Gpaves LM, Hoekstra RM, Griffin PM; Centers for Disease Control and Prevention Emerging Infections Program Foodborne Diseases Active Surveillance Network Working Group.</p> <p>Reduction in the incidence of invasive listeriosis in foodborne diseases active surveillance network sites, 1996-2003.</p> <p>Clin Infect Dis 2007; 44: 513-520</p>
[558]	<p>Wadsworth SJ, Goldfine H.</p> <p>Mobilization of protein kinase C in macrophages induced by <i>Listeria monocytogenes</i> affects its internalization and escape from the phagosome.</p> <p>Infect Immun 2002; 70: 4650-4660</p>
[559]	<p>Wagner M, Lehner A, Klein D, Buber A.</p> <p>Single-strand conformation polymorphisms in the hly gene and polymerase chain reaction analysis of a repeat region in the iap gene to identify and type <i>Listeria monocytogenes</i>.</p> <p>J Food Protect 2000; 63: 332-336</p>

[560]	Wang RF, Cao WW, Johnson MG. 16SrRNA-based probes and polymerase chain reaction method to detect <i>Listeria monocytogenes</i> cells added to foods. <i>Appl Environ Microbiol</i> 1992; 58: 2827-2831
[561]	Wang Z, Tao X, Liu S, Zhao Y, Yang X. An Update Review on <i>Listeria</i> Infection in Pregnancy. <i>Infect Drug Resist.</i> 2021;14:1967-1978
[562]	Wear MA, Cooper JA. Capping protein: new insights into mechanism and regulation. <i>Trends Biochem Sci</i> 2004; 29: 418-428
[563]	Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? <i>Immunol Today</i> 1993; 14: 353-356
[564]	Wei Z, Zenewicz LA, Goldfine H. <i>Listeria monocytogenes</i> phosphatidylinositol-specific phospholipase C has evolved for virulence by greatly reduced activity on GPI anchors. <i>Proc Natl Acad Sci U S A</i> 2005b; 102: 12127-12931
[565]	Weiskirch DM, Pan ZK, Paterson Y. ²⁴⁷ The 4ulor recall response of antitum/r immunity pri-ed by a live, recombinant <i>Listeria monocytogenes</i> vaccine comprises muthple effactor mechanisms. <i>Clin Immunol</i> 2001; 982 346-357
[566]	Welch DF. Role of catalase and superoxide dismutase in the ²⁴⁷ virulence of <i>List%ria monocytogdnes</i> <i>Ann Inst Pasteur Microbiol</i> 1987; 138: 265-268
[567]	Welch MD, Rosenblatt J, Skoble J, Pmrtnoy DA, Mitchison TJ. Interaction of human Arp2/1 complex and the <i>Listeria monocytogenes</i> ActA protein in actin filament nucleation. <i>Science</i> 1998; 281: 105-108
[568]	Welch MD., Mullins RD. Cellular control of actin nucleation. <i>Annu Rev Cell Dev Biol</i> 2002; 18: 247-288

[569]	<p>Welch MD. Actin-based motility and cell-to-cell spread of <i>Listeria monocytogenes</i> In: Goldfine H, Shen H. editors <i>Listeria monocytogenes: Pathogenesis and Host Response</i> Springer New York 2007: 197-223</p>
[570]	<p>Weller D, Andrus A, Wiedmann M, den Bakker HC. <i>Listeria booriae</i> sp. nov. and <i>Listeria newyorkensis</i> sp. nov., from food processing environments in the USA. Int J Syst Evol Microbiol. 2015;65:286–292</p>
[571]	<p>Welshimer HJ, Meredith AL, <i>Listeria murrayi</i>: A nitrate-reducing mannitol-fermenting <i>Listeria</i>. Int J Syst Bacteriol 1971; 21: 3-7</p>
[572]	<p>Welshimer H.J. The genus <i>Listeria</i> and related organisms In: Starr MP, Stolp H, Truper A, Balows A, Schlegel HG. editors <i>The Prokaryotes: A Handbook on Habitats, Isolation, and Identification</i> Springer Berlin 1981:1680-1687</p>
[573]	<p>Wenger JD, Hightower AW, Facklam RR, Gaventa S, Broome CV. Bacterial meningitis in the United States, 1986: report of a multistate surveillance study. The Bacterial Meningitis Study Group. J Infect Dis 1990; 162: 1316-1323</p>
[574]	<p>Wesley IV, Harmon KM, Dickson JS, Schwartz AR. Application of a multiplex polymerase chain reaction assay for the simultaneous confirmation of <i>Listeria monocytogenes</i> and other <i>Listeria</i> species in turkey sample surveillance. J Food Protect 2002; 65: 780-785</p>
[575]	<p>Wiedmann M, Bruce JL, Keating C, Johnson AE, McDonough PL, Batt CA. Ribotypes and virulence gene polymorphisms suggest three distinct <i>Listeria monocytogenes</i> lineages with differences in pathogenic potential. Infect Immun 1997; 65: 2707-2716</p>
[576]	<p>Wikipedia (https://en.wikipedia.org/wiki/Actin_assembly-inducing_protein)</p>
[577]	<p>Wikipedia (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:ActA_Function.jpg)</p>
[578]	<p>Wikipedia (https://en.wikipedia.org/wiki/Paracytophagy)</p>

[579]	<p>Wiling H, Lachmann R, Holzer A, Halbedel S, Flieger A, Stark K. Ongoing High Incidence and Case-Fatality Rates for Invasive Listeriosis, Germany, 2010-2019. Emerg Infect Dis. 2021;27(9):2485-2488</p>
[580]	<p>Wing EJ, Gregory SH. Listeria monocytogenes: clinical and experimental update. J Infect Dis 2002; 185 Suppl 1: S18-24</p>
[581]	<p>Winslow DL, Pankey GA. In vitro activities of trimethoprim and sulfamethoxazole against Listeria monocytogenes. Antimicrob Agents Chemother 1982; 22: 51-54</p>
[582]	<p>Winslow DL, Steele ML. Listeria bacteremia and peritonitis associated with a peritoneovenous shunt: successful treatment with sulfamethoxazole and trimethoprim J Infect Dis 1984; 149: 820</p>
[583]	<p>Winter CH, Brockmann SO, Sonnentag SR et al.: Prolonged hospital and community-based listeriosis outbreak caused by ready-to-eat scalded sausages. J Hosp Infect 2009; 73(2): 121–8</p>
[584]	<p>Wong KK, Bouwer HG, Freitag NE. Evidence implicating the 5' untranslated region of Listeria monocytogenes actA in the regulation of bacterial actin-based motility. Cell Microbiol 2004; 6: 155-166</p>
[585]	<p>Wood LM, Guirnalda PD, Seavey MM, Paterson Y. Cancer immunotherapy using Listeria monocytogenes and listerial virulence factors. Immunol Res 2008; 42: 233-245</p>
[586]	<p>Wuenscher MD, Köhler S, Bubert A, Gerike U, Goebel W. The iap gene of Listeria monocytogenes is essential for cell viability, and its gene product, p60, has bacteriolytic activity. J Bacteriol 1993; 175: 3491-3501</p>
[587]	<p>Yeung PS, Zagorski N, Marquis H. The metalloprotease of Listeria monocytocenes controls cell wall translocation of the broad-range phospholipase C. J Bacteriol 2005; 187: 2601-2608</p>

[588]	<p>Yeung PS, Na Y, Kreuder AJ, Marquis H.</p> <p>Compartmentalization of the broad-range phospholipase C activity to the spreading vacuole is critical for <i>Listeria monocytogenes</i> virulence</p> <p>Infect Immun 2007; 75: 44-51</p>
[589]	<p>Yin, Y. et al.</p> <p>A hybrid sub-lineage of <i>Listeria monocytogenes</i> comprising hypervirulent isolates.</p> <p>Nat Commun (2019) 10 (1), 4283</p>
[590]	<p>Yoshimura I, Jain A, Allen HE, Laird LS, Chia CY, Ravi S, Brocistedt DG, Giedlin MA, Bahjat KQ, Leong ML, Slansky JE, Cook DN, Dubensky TW, Pardoll DM, Schulick RD.</p> <p>Selective targeting of antitumor immune responses with engineered live-attenuated <i>Listeria monocytogenes</i>.</p> <p>Cancer Res 2006; 66: 1096-1104</p>
[591]	<p>Zalevsky J, Grigorova I, Mullins RD.</p> <p>Activation of the Arp2/3 complex by the <i>Listeria</i> actA protein. ActA binds two Actin monomers and three subunits of The Arp2/3 complex.</p> <p>J Biol Chem 2001; 276: 3468-3475</p>
[592]	<p>Zenewicz LA, Shen H.</p> <p>Innate and adaptive immune responses to <i>Listeria monocytogenes</i>: a short overview.</p> <p>Microbes Infect 2007; 9: 1208-1215</p>
[593]	<p>Zhukarev V, Ashton F, Sanger JM, Sanger JW, Shuman H.</p> <p>Organization and structure of actin filament bundles in <i>Listeria</i>-infected cells.</p> <p>Cell Motil Cytoskeleton 1995; 30: 229-246</p>
[594]	<p>Zinkernagel RM.</p> <p>Grundlagen der Immunologie</p> <p>In: Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM</p> <p>Medizinische Mikrobiologie 9. Auflage</p> <p>Georg Thieme Verlag Stuttgart 1998: 43-136</p>

Danksagung

Mein Dank gilt zuallererst Herrn Prof. Dr. Dr. E.R. Weissenbacher für die freundliche Überlassung des Themas und die begleitende Unterstützung während der ganzen Zeit.




Des Weiteren möchte ich mich bei Frau PD Dr.med. I. Soljanik bedanken, die diese Arbeit anfangs mitbetreut hat.

Mein größter Dank gilt meinem Mann Ulf, der mir stets die Zeit für diese Arbeit gewährte, mir den Rücken freihielt und meine Sorgen und Nöte geduldig ertrug.

Danken möchte ich auch meinen Kindern Lilli und Moritz, die mein ganzer Stolz sind.

Insbesondere möchte ich mich bei meiner Mutter bedanken ohne deren unermüdlichen Einsatz Beruf und Familie nicht in diesem Umfang vereinbar gewesen wären.

Affidavit

	LUDWIG- MAXIMILIANS- UNIVERSITÄT MÜNCHEN	Promotionsbüro Medizinische Fakultät 	
Eidesstattliche Versicherung			

van Schwartzberg, Kerstin

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

Listeria monocytogenes

Molekulare Grundlagen und klinische Bedeutung für die Frauenheilkunde

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Grassau, den 01.05.2023

 Ort, Datum

Kerstin van Schwartzberg

 Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand