

Listeria monocytogenes – patogen, który wie, jak przetrwać

Ewa Wałęcka-Zacharska, Jacek Bania

z Katedry Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta Wydziału Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu

Listeria monocytogenes jest względnie beztlenową, nie wytwarzającą przetrwalników Gram-dodatnią pałeczką (1). Jej naturalnym środowiskiem jest gnijąca roślinność, gdzie żyje jako saprofit (2). Ze względu na niewielkie wymagania pokarmowe, zdolność do wzrostu w szerokim zakresie temperatur (3–45°C) i pH (5–9,6) oraz w środowisku zawierającym do 10% soli (3), bakteria ta jest szeroko rozpowszechniona w środowisku, w tym: w glebie, wodzie, ściekach oraz odchodach ludzkich i zwierzęcych. Gatunek obejmuje 13 serotypów, które można zaklasyfikować do czterech grup genetycznych (4). Grupa I obejmuje serotypy 1/2b, 3b, 4b, 4d oraz 4e, natomiast serotypy 1/2a, 1/2c, 3a oraz 3c należą do grupy II. Pozostałe serotypy, tj. 4a i 4c, należą do grupy III i rzadko są izolowane od ludzi (5). Za ponad 90% przypadków listeriozy u ludzi odpowiedzialne są serotypy 1/2a, 1/2b oraz 4b, spośród których 1/2a i 1/2b są najczęściej izolowane z żywności, a 4b z przypadków klinicznych (6).

Listeria monocytogenes po raz pierwszy opisana została przez E. G. D. Murraya w 1926 r. jako przyczyna monocytozy u gryzoni, a następnie jako przyczyna zapalenia opon mózgowych i mózgu oraz ronień u przeżuwaczy, uchodziła początkowo za patogen zwierząt, który może być przenoszony na ludzi. U ludzi, głównie pacjentów z upośledzonym układem immunologicznym, listeriozę diagnozowano sporadycznie. Przypadki zbiorowych listerioz zanotowane w Ameryce Północnej i Europie pod koniec lat 70. XX w. spowodowały, że bakteria została oficjalnie uznana za patogen ludzi (7). Dekadę później zaliczono ją do patogenów przenoszonych przez żywność (8, 9). Ponad 99% przypadków listeriozy ludzi spowodowanych jest konsumpcją zanieczyszczonej przez patogen żywności, najczęściej produktów mlecznych, serów miękkich, wędzonych ryb, owoców morza oraz żywności gotowej do spożycia (2). Dawka zakaźna *L. monocytogenes* nie została określona, gdyż uzależniona jest od wrażliwości osobniczej i właściwości patogennych szczepu. Kliniczne objawy listeriozy są także zróżnicowane. Patogen ten może wywoływać zakażenia o łagodnym przebiegu, takie jak *gastroenteritis*, ale także prowadzić do poważnych zakażeń, m.in. poronień oraz zapalenia opon mózgowych i mózgu oraz posocznicy

u osób z obniżoną odpornością, jak: osoby starsze, noworodki, nosiciele HIV i osoby z chorobą nowotworową (10). U niemal 47% pacjentów zakażonych *L. monocytogenes* dochodzi do zakażenia ośrodkowego układu nerwowego. Patogen ten jest jedną z najczęstszych przyczyn zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych w Ameryce Północnej i Europie Zachodniej (11). Mimo zwiększonego nadzoru nad produkcją żywności *L. monocytogenes* wciąż pozostaje poważnym zagrożeniem. Częstość występowania listeriozy kształtuje się na poziomie 0,1 do 11,3 przypadków na milion ludzi w różnych krajach (6, 11). W Stanach Zjednoczonych zakażenia ludzi *L. monocytogenes* stanowią trzecią pod względem liczby przypadków przyczynę zatruc pokarmowych o skutku śmiertelnym (12). W Kanadzie w 2008 r. opisano zbiorowe zachorowanie na listeriozę. Dotknęło ono 57 pacjentów, z których 22 zmarło. W latach 2009 i 2010 w Austrii i w Niemczech miało miejsce zachorowanie, w wyniku którego spośród 33 hospitalizowanych pacjentów 8 zmarło (13). Z kolei w Stanach Zjednoczonych w 2011 r. zanotowano 33 śmiertelne przypadki listeriozy (<http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/index.html>). W Polsce, zgodnie z danymi Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego, w 2013 r. zanotowano 52 przypadki zachorowań na listeriozę.

L. monocytogenes jest patogenem wewnątrzkomórkowym zdolnym do przekraczania bariery jelitowej, bariery łożyskowej oraz bariery krew–mózg (2). Potrafi ona przeżywać wewnątrz makrofagów (14), wnikać do różnego typu komórek niefagocytujących, a także rozprzestrzeniać się w tkankach, przenikając z komórki do komórki. Zakażenie zapoczątkowuje adhezja do powierzchni komórek eukariotycznych (2). Następnie, poprzez interakcję powierzchniowych ligandów komórki bakteryjnej z receptorami komórkowymi, patogen wnika na zasadzie fagocytozy do komórki gospodarza (15). Do najważniejszych powierzchniowych ligandów bakteryjnych należą internaliny: InlA i InlB. Kluczowym czynnikiem wirulencji, umożliwiającym bakterii liżę fagosomu, jest zależna od cholesterolu hemolizyna, listeriolizyna O (LLO). W procesie ucieczki *L. monocytogenes* z wakuoli listeriolizynę wspomagają dwie fosfolipazy: fosfolipaza PI-PLC, wykazująca wysoką

Listeria monocytogenes – the pathogen that knows how to survive

Wałęcka-Zacharska E., Bania J., Department of Food Hygiene and Consumer Health, Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Sciences

This paper aims at the presentation of *Listeria monocytogenes* surviving strategies. *L. monocytogenes* is a Gram-positive small rod and dangerous pathogen. Over 99% of infections result from contaminated food. The pathogen is widespread in the environment and is resistant to environmental factors such as low temperature, acidic pH and high salt concentration. These features help bacteria to endure adverse conditions encountered in the food environment and also within the host and finally result in the multi-symptom disease. *L. monocytogenes* has developed several strategies allowing its survival under stress conditions. Here we described the factors and mechanisms involved in these strategies. Such knowledge may be helpful in designing new preservative procedures allowing effective reduction of *L. monocytogenes* organisms number in foods.

Keywords: *L. monocytogenes*, survival strategies, food, listeriosis.

specyficzność dla fosfatydyloinozytolu, oraz fosfolipaza PC-PLC (lecytynaza), specyficzna dla fosfatydylocholine (16, 17). Aktywacja lecytynazy odbywa się za pośrednictwem specyficznej metaloproteinazy wytwarzanej przez *L. monocytogenes* (18). Po przeniknięciu do cytozolu *L. monocytogenes* dostosowuje swój metabolizm do warunków otoczenia, w czym istotną rolę odgrywa zwiększona ekspresja transportera heksozy (Hpt; 9). Przemieszczenie się w cytozolu w kierunku sąsiednich komórek zapewnia bakterii ekspresja białka ActA na jednym z biegunów komórki. W trakcie inwazji przewodu pokarmowego *L. monocytogenes*, wykorzystując kępkę Peyera, atakuje nabłonek jelita, a następnie rozprzestrzenia się w organizmie naczyniami limfatycznymi oraz krwionośnymi. Pierwszymi narządami zajętymi przez patogen są zwykle wątroba i śledziona (2). Aby jednak patogen mógł wywołać zakażenie, musi poradzić sobie z działaniem niekorzystnych dla swojego wzrostu warunków napotkanych w środowisku zewnętrznym oraz w kolonizowanych organizmach. Podczas produkcji żywności, jej utrwalania oraz przechowywania, *L. monocytogenes* narażona jest na działanie czynników fizycznych, takich jak: ogrzewanie, promieniowanie, wysokie ciśnienie, pulsujące pole elektryczne, fale ultradźwiękowe, a także chemicznych, jak: sole, kwasy i utleniacze (19). Kolejnym wyzwaniem dla bakterii jest działanie środowiska przewodu pokarmowego człowieka. Istotnym czynnikiem stresowym jest niskie pH żołądka.

Bakterie, które przetrwają warunki panujące w żołądku mogą przedostawać się do dwunastnicy, gdzie muszą zmierzyć się z obecnością lotnych kwasów tłuszczowych, niskim stężeniem tlenu, stresem osmotycznym oraz florą jelitową. W świetle jelita bakteria musi także przetrwać stres związany z obecnością soli żółciowych (20, 21, 22). Aby przezwyciężyć szkodliwe warunki, bakteria musi być zdolna do wystarczająco szybkiej zmiany swojego metabolizmu. Główny mechanizm pozwalający *L. monocytogenes* przetrwać w niekorzystnych warunkach środowiskowych oparty jest na działaniu alternatywnych czynników transkrypcyjnych sigma [23]. Czynniki te rozpoznają inne promotory niż standardowe czynniki, działające w optymalnych warunkach wzrostu. Indukują one transkrypcję genów nieekspresjonowanych w normalnych warunkach, co prowadzi do wytworzenia białek umożliwiających bakterii eliminację czynników stresowych bądź przeciwdziałanie skutkom stresu, w efekcie prowadząc do przywrócenia homeostazy (24). Najlepiej poznanym alternatywnym czynnikiem sigma u *L. monocytogenes* jest σ^B (*sigB*), aktywowany w odpowiedzi na niedobór składników odżywczych i stres środowiskowy, taki jak: wysoka osmolarność, obniżona bądź podwyższona temperatura, niskie pH, wysokie ciśnienie hydrostatyczne, wysokie stężenie etanolu czy stres oksydacyjny [23, 25, 26].

Siła osmotyczna środowiska jest jednym z istotnych czynników oddziałujących na wzrost bakterii (27). Nagła zmiana jej wartości, określana mianem wstrząsu osmotycznego, wywołuje gwałtowny przepływ wody przez błonę cytoplazmatyczną w kierunku zdefiniowanym przez osmolarność środowiska zewnętrznego (28). Z takim stresem *L. monocytogenes* spotyka się w środowisku żywności oraz w trakcie kolonizacji przewodu pokarmowego. Aby zapobiec niekorzystnemu działaniu soli, patogen aktywnie reguluje przepływ specyficznych substancji poprzez błonę. Zdolność bakterii do kumulacji tych substancji decyduje o możliwości przetrwania w warunkach zwiększonej siły osmotycznej (29). Odpowiedź na taki rodzaj stresu przebiega u *L. monocytogenes* dwuetapowo. W pierwszej fazie gromadzone są jony potasu i glutaminian, natomiast w fazie drugiej działają substancje organiczne, takie jak: glicynobetaina czy karnityna (30, 31). *L. monocytogenes* nie potrafi syntetyzować tych substancji i musi je transportować z otoczenia (32). Najpowszechniejszą substancją regulującą ciśnienie osmotyczne cytoplazmy bakterii jest glicynobetaina, obecna w dużych ilościach w roślinach, np. w burakach cukrowych (31). Zapobiega ona agregacji białek, stabilizując ich rozpuszczalność, a także zmienia właściwości fizyczne błony, pełniąc funkcję osmo- oraz krioprotektanta (33). Transport glicynobetainy

z otoczenia umożliwiają *L. monocytogenes* dwa transportery: BetL oraz Gbu. Karnityna syntetyzowana jest przez ssaki i mikroorganizmy eukariotyczne z lizyny, gdzie służy jako przenośnik kwasów tłuszczowych. Jej transport zapewnia listerii głównie OpuC, uaktywniany w warunkach zwiększonej osmolarności oraz w niskich temperaturach.

Procesy obróbki cieplnej stanowią jedną z najpowszechniejszych metod redukcji liczby drobnoustrojów w trakcie utrwalania żywności. Wzrost temperatury może być generowany za pomocą różnego rodzaju energii, jak: światło, fale ultradźwiękowe lub energia mikrofalowa. Wiele struktur komórkowych, a także rybosomy, kwasy nukleinowe, niektóre enzymy i białka w pewnych zakresach temperatur zachowują stabilność, która może decydować o ciepłooporności bakterii (34). Mechanizm ciepłooporności nie jest w pełni poznany, wiadomo jednak że jest związany z wytwarzaniem przez komórkę białek wstrząsu cieplnego (*heat shock proteins* – Hsp), nazywanych też białkami opiekuńczymi (35). Bakterie w warunkach wstrząsu cieplnego zwiększają syntezę tych białek, stymulując w ten sposób naprawę białek zdenaturowanych termicznie. Wysoki poziom Hsp zapewnia jednocześnie stabilizację istniejących polipeptydów i uniknięcie niewłaściwego fałdowania i agregacji nowo powstających białek (36). *L. monocytogenes* posiada trzy klasy genów indukowanych podwyższoną temperaturą, z których klasa II znajduje się pod kontrolą σ^B (37, 38). Najlepiej poznanymi białkami opiekuńczymi, zaangażowanymi w odpowiedź na stres cieplny, są białka DnaK, DnaJ, GroEL oraz GroES (39). Wszystkie te białka współpracują ze sobą w utrzymaniu odpowiedniej struktury białka w wysokich temperaturach (40). Sygnałem do odpowiedzi na wstrząs termiczny jest, najprawdopodobniej, kumulacja niesfałdowanych białek wytworzonych w warunkach podwyższonej temperatury. Białka DnaK i DnaJ odpowiedzialne są za stabilizację konformacji niesfałdowanych białek, natomiast GroE zapewnia ich prawidłowe fałdowanie (41). Białka GroE i DnaK pomagają dodatkowo przetrwać listeriom w warunkach podwyższonego ciśnienia osmotycznego, niskich temperatur oraz w obecności etanolu w środowisku (42, 43). Innym rodzajem białek wstrząsu cieplnego są białka Clp o aktywności kazeinolitycznej. Są one odpowiedzialne za regulację proteolizy i prawidłowe fałdowanie się białek (44). Z kolei proteinaza serynowa HtrA podtrzymuje wzrost bakterii poprzez degradację źle sfałdowanych białek, zgromadzonych podczas wstrząsu cieplnego (45). Niektóre z białek wstrząsu cieplnego pomagają *L. monocytogenes* nie tylko przetrwać w niekorzystnych warunkach, ale także wpływają na jej wirulencję (46, 47, 48).

Kolejnym wyzwaniem dla listerii jest niskie pH. Żywność jest źródłem przede wszystkim słabych kwasów, podczas gdy sok żołądkowy charakteryzuje się wysokim stężeniem kwasów nieorganicznych (49). *Listeria monocytogenes* wykształciła strategie, które pozwalają jej pokonać ten rodzaj stresu. W warunkach stresu patogen najpierw musi przywrócić homeostazę zapewniającą stałe pH wewnątrz komórki. Następnie uruchamia produkcję białek zapobiegających uszkodzeniu komórki lub odpowiedzialnych za naprawę uszkodzeń (50). Homeostaza może być przywracana za pomocą mechanizmów biernych poprzez zwiększenie pojemności buforowej cytoplazmy oraz zmniejszenie przepuszczalności błony komórkowej dla protonów lub za pośrednictwem mechanizmu aktywnego, przy udziale pompy protonowej (51). Jedną z najważniejszych strategii, pozwalających listerii na przywrócenie równowagi kwasowo-zasadowej, opiera się na dekarboksylacji aminokwasów (52). Z uwagi na to, że glutaminian sodu jest często stosowanym dodatkiem do żywności, szczególną rolę w odporności *L. monocytogenes* na ten rodzaj stresu odgrywa system dekarboksylazy glutaminianowej (53). Dzięki pochłonięciu protonu przez glutaminian, towarzyszącemu jego przekształceniu w kwas gamma-aminomasłowy dochodzi do przywrócenia homeostazy poprzez wzrost pH cytoplazmy (54). Z kolei system deiminazy argininowej dzięki dekarboksylacji argininy umożliwia wytworzenie w cytoplazmie amoniaku, który wiąże proton, przekształcając się w jon amonowy. Reakcja ta dostarcza komórce również ATP napędzające pompę protonową (55).

Listeria monocytogenes, podobnie jak większość patogenów przenoszonych przez żywność, wykazuje ograniczoną tolerancję w stosunku do tlenu. W wyniku ekspozycji na wysokie lub obniżone ciśnienie tlenu, działania niektórych związków chemicznych, pewnych zakresów promieniowania oraz procesów metabolicznych towarzyszących fagocytozie wytwarzane są reaktywne formy tlenu. Zaburzenie równowagi pomiędzy ich aktywnością a mechanizmami obronnymi prowadzi do uszkodzeń kwasów nukleinowych, białek oraz lipidów i określane jest mianem stresu oksydacyjnego (56). W komórce *L. monocytogenes* funkcjonuje kilka mechanizmów, które chronią ją przed działaniem reaktywnych form tlenu. Kluczową rolę w ich degradacji odgrywają dwa enzymy: dysmutaza ponadtlenkowa oraz katalaza. Dysmutaza odpowiedzialna jest za konwersję rodnika ponadtlenkowego do nadtlenu wodoru, który następnie jest rozkładany przez katalazę, chroniąc bakterię przed skutkami działania tych czynników (57). Stwierdzono, iż zetknięcie bakterii z subletalnymi dawkami czynników stresowych może inicjować

odpowiedź prowadzącą do wzrostu oporności patogenu na kolejne dawki tych czynników (58, 59). W bakteriach, które przeżywają stres może dochodzić także do wzrostu wirulencji. Czynniki sigma B reguluje bowiem transkrypcję genu kodującego hydrolazę soli żółciowych, ułatwiającą kolonizację jelita, a także genów kodujących internaliny, umożliwiających wnikanie do komórek eukariotycznych (62). Dodatkowo sigma B wpływa na ekspresję PrfA, kluczowego czynnika regulatorowego, odpowiedzialnego za kontrolę ekspresji białek odpowiadających za ucieczkę z fagosomu oraz przemieszczania się patogenu w kierunku sąsiednich komórek (60, 61). Wynika z tego, iż posiadanie skuteczniejszych mechanizmów odpowiedzi na stres może wiązać się ze zwiększoną wirulencją niektórych szczepów *L. monocytogenes* (63).

Biorąc pod uwagę fakt, że *L. monocytogenes* wykazuje znaczną oporność na czynniki środowiska, jak: niska temperatura, niskie pH czy wysokie stężenie soli, wydaje się, iż opracowywanie nowych procedur utrwalania żywności, zwłaszcza takich, które przewidują zastosowanie subletalnych dawek środków redukcji mikroorganizmów, powinno uwzględniać naturę tego patogenu. Dlatego też istotne jest, aby metody utrwalania żywności skutecznie redukowały liczebność *L. monocytogenes*, nie pozwalając na indukację mechanizmów odpowiedzi na stres.

Piśmiennictwo

- Farber J.M., Peterkin P.I.: *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev.* 1991, **55**, 476–511.
- Vázquez-Boland J.A., Kuhn M., Berche P., Chakraborty T., Dominguez-Bernal G., Goebel W., González-Zorn B., Wehland J., Kretz J.: *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin. Microbiol. Rev.* 2001, **14**, 584–640.
- Bajard S., Rosso L., Fardel G., Flandrois J.P.: The particular behaviour of *Listeria monocytogenes* under sub-optimal conditions. *Int. J. Food Microbiol.* 1996, **29**, 201–211.
- Ragon M., Wirth T., Holland L., Lavenir R., Lecuit M., Le Monnier A., Brisse S. A.: A new perspective on *Listeria monocytogenes* evolution. *PLoS Pathog.* 2008, **4**, e1000146.
- Zhang C., Zhang M., Ju J., Niefeldt J., Wise J., Terry P.M., Olson M., Kachman S.D., Wiedmann M., Samadpour M., Benson A.K.: Genome diversification in phylogenetic lineages I and II of *Listeria monocytogenes*: identification of segments unique to lineage II populations. *J. Bacteriol.* 2003, **185**, 5573–5584.
- Swaminathan B., Gerner-Smidt, P.: The epidemiology of human listeriosis. *Microbes Infect.* 2007, **9**, 1236–1243.
- Czuprynski C.J., Haak-Frendscho M.: Non-specific resistance mechanisms to listeriosis: implications for experimental and naturally occurring infection. *Infect Immun.* 1997, **64**, 3946–3949.
- Low J.C., Donachie W.: A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. *Vet. J.* 1997, **153**, 9–29.
- Stavru F., Archambaud C., Cossart P.: Cell biology and immunology of *Listeria monocytogenes* infections: novel insights. *Immunol. Rev.* 2011, **240**, 160–184.
- McGann P., Wiedmann M., Boor K.J.: The alternative sigma factor sigma B and the virulence gene regulator PrfA both regulate transcription of *Listeria monocytogenes* internalins. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007, **73**, 2919–2930.
- Drevets D.A., Bronze M.S.: *Listeria monocytogenes*: epidemiology, human disease, and mechanisms of brain invasion. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2008, **53**, 151–165.
- Scallan E., Griffin P.M., Angulo F.J., Tauxe R.V., Hoekstra R.M.: Foodborne illness acquired in the United States—unspecified agents. *Emerg. Infect. Dis.* 2011, **17**, 16–22.
- Fretz R., Pichler J., Sagel U., Much P., Ruppitsch W., Pietzka A.T., Stöger A., Huhulescu S., Heuberger S., Appl G., Werber D., Stark K., Prager R., Flieger A., Karpisková R., Pfaff G., Allerberger F.: Update: Multinational listeriosis outbreak due to 'Quargel', a sour milk curd cheese, caused by two different *L. monocytogenes* serotype 1/2a strains, 2009–2010. *Euro. Surveill.* 2010, **15**, pii: 19543.
- Cossart P., Toledo-Arana, A.: *Listeria monocytogenes*, a unique model in infection biology: an overview. *Microbes Infect.* 2008, **10**, 1041–1050.
- Lecuit M., Ohayon H., Braun L., Mengaud J., Cossart P.: Internalin of *Listeria monocytogenes* with an intact leucine-rich repeat region is sufficient to promote internalization. *Infect. Immun.* 1997, **65**, 5309–5319.
- Camilli A., Tilney L.G., Portnoy D.A.: Dual roles of plcA in *Listeria monocytogenes* pathogenesis. *Mol. Microbiol.* 1993, **8**, 143–157.
- Smith G.A., Marquis H., Jones S., Johnston N.C., Portnoy D.A., Goldfine, H.: The two distinct phospholipases C of *Listeria monocytogenes* have overlapping roles in escape from a vacuole and cell-to-cell spread. *Infect. Immun.* 1995, **63**, 4231–4237.
- Poyart C., Abachin E., Razafimanantsoa I., Berche P.: The zinc metalloprotease of *Listeria monocytogenes* is required for maturation of phosphatidylcholine phospholipase C: direct evidence obtained by gene complementation. *Infect. Immun.* 1993, **61**, 1576–1580.
- Yousef A.E., Polly D.C.: Basics of Stress Adaptation and Implications in New-Generation Foods. W: *Microbial Stress Adaptation and Food Safety*, Yousef A.E. Juneja, V.K., ed., CRC Press LLC, 2002, s. 1–30.
- Gahan C.G., Hill, C.: The relationship between acid stress responses and virulence in *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.* 1999, **50**, 93–100.
- Begley M., Gahan C.G., Hill C.: Bile stress response in *Listeria monocytogenes* L028: adaptation, cross-protection, and identification of genetic loci involved in bile resistance. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002, **68**, 6005–6012.
- Lungu B., Ricke S.C., Johnson M.G.: Growth, survival, proliferation and pathogenesis of *Listeria monocytogenes* under low oxygen or anaerobic conditions: a review. *Anaerobe* 2009, **1**, 7–17.
- Kazmierczak M.J., Wiedmann M., Boor K.J. Alternative sigma factors and their roles in bacterial virulence. *J. Bacteriol.* 2005, **185**, 5722–5734.
- Boor K.J.: Bacterial stress responses: what doesn't kill them can make them stronger. *PLoS Biol.* 2006, **4**, e23.
- van Schaik W., Abee T.: The role of sigmaB in the stress response of Gram-positive bacteria—targets for food preservation and safety. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2005, **16**, 218–224.
- Ferreira A., O'Byrne C.P., Boor K.J.: Role of sigma(B) in heat, ethanol, acid, and oxidative stress resistance and during carbon starvation in *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001, **67**, 4454–4457.
- Csonka L.N.: Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Microbiol. Rev.* 1989, **53**, 121–147.
- Wood J.M.: Osmosensing by bacteria: signals and membrane-based sensors. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1999, **63**, 230–262.
- Angelidis A.S., Smith G.M.: Three transporters mediate uptake of glycine betaine and carnitine by *Listeria monocytogenes* in response to hyperosmotic stress. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, **69**, 1013–1022.
- Sleator R.D., Gahan, C.G., Hill, C.: A postgenomic appraisal of osmotolerance in *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, **69**, 1–9.
- Beumer R.R., Te Giffel M.C., Cox L.J., Rombouts F.M., Abee, T.: Effect of exogenous proline, betaine, and carnitine on growth of *Listeria monocytogenes* in a minimal medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994, **60**, 1359–1363.
- Angelidis A.S., Smith G.M.: Role of the glycine betaine and carnitine transporters in adaptation of *Listeria monocytogenes* to chill stress in defined medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, **69**, 7492–7498.
- Ko R., Smith L.T., Smith G.M.: Glycine betaine confers enhanced osmotolerance and cryotolerance on *Listeria monocytogenes*. *J. Bacteriol.* 1994, **176**, 426–431.
- Earnshaw R.G., Appleyard J., Hurst R.M.: Understanding physical inactivation processes: combined preservation opportunities using heat, ultrasound and pressure. *Int. J. Food Microbiol.* 1995, **28**, 197–219.
- Lundén J., Tolvanen R., Korkeala H.: Acid and heat tolerance of persistent and nonpersistent *Listeria monocytogenes* food plant strains. *Let. Appl. Microbiol.* 2008, **46**, 276–280.
- Yura T., Nakahigashi K.: Regulation of the heat-shock response. *Curr. Opin. Microbiol.* 1999, **2**, 153–158.
- Hu Y., Raengpradub S., Schwab U., Loss C., Orsi R.H., Wiedmann M., Boor K.J.: Phenotypic and transcriptomic analyses demonstrate interactions between the transcriptional regulators CtsR and Sigma B in *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007, **73**, 7967–7980.
- Hu Y., Oliver H.F., Raengpradub S., Palmer M.E., Orsi R.H., Wiedmann M., Boor K.J.: Transcriptomic and phenotypic analyses suggest a network between the transcriptional regulators HrcA and sigmaB in *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007, **73**, 7981–7991.
- Muga A., Moro E.: Thermal adaptation of heat shock proteins. *Curr. Protein Pept. Sci.* 2008, **9**, 552–566.
- Langer T., Lu C., Echols H., Flanagan J., Hayer M.K., Hartl F.U.: Successive action of DnaK, DnaJ and GroEL along the pathway of chaperone-mediated protein folding. *Nature* 1992, **356**, 683–689.
- Craig E.A., Gambill B.D. and Nelson R.J.: Heat shock proteins: molecular chaperones of protein biogenesis. *Microbiol. Rev.* 1993, **57**, 402–414.
- Kilstrup M., Jacobsen S., Hammer K., Vogensen F.K.: Induction of heat shock proteins DnaK, GroEL, and GroES by salt stress in *Lactococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1997, **63**, 1826–1837.
- Salotra P., Singh D.K., Seal K.P., Krishna N., Jaffe H., Bhatnagar R.: Expression of DnaK and GroEL homologs in *Leuconostoc esenteroides* in response to heat shock, cold shock or chemical stress. *FEMS Microbiol. Lett.* 1995, **131**, 57–62.
- Gottesman S., Wickner S., Maurizi M.R.: Protein quality control: triage by chaperones and proteases. *Genes Dev.* 1997, **11**, 815–823.
- Wonderling L.D., Wilkinson B.J., Bayles D.O.: The htrA (degP) gene of *Listeria monocytogenes* 10403S is essential for optimal growth under stress conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004, **70**, 1935–1943.
- Stack H.M., Sleator R.D., Bowers M., Hill C., Gahan C.G.: Role for HtrA in stress induction and virulence potential in *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005, **71**, 4241–4247.
- Hanawa T., Yamanishi S., Murayama S., Yamamoto T., Kamiya S.: Participation of DnaK in expression of genes involved in virulence of *Listeria monocytogenes*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2002, **214**, 69–75.
- Nair S., Milohanic E., Berche P.: ClpC ATPase is required for cell adhesion and invasion of *Listeria monocytogenes*. *Infect. Immun.* 2000, **68**, 7061–7068.
- Audia J.P., Webb C.C., Foster J.W.: Breaking through the acid barrier: an orchestrated response to proton stress by enteric bacteria. *Int. J. Med. Microbiol.* 2001, **291**, 97–106.
- Foster J.W.: The acid tolerance response of *Salmonella typhimurium* involves transient synthesis of key acid shock proteins. *J. Bacteriol.* 1993, **175**, 1981–1987.
- Hill C., O'Driscoll B., Booth L.: Acid adaptation and food poisoning microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.* 1995, **28**, 245–254.
- Small P.L., Waterman S.R.: Acid stress, anaerobiosis and gadCB: lessons from *Lactococcus lactis* and *Escherichia coli*. *Trends Microbiol.* 1998, **6**, 214–216.
- Cotter P.D., Gahan C.G., Hill C.: A glutamate decarboxylase system protects *Listeria monocytogenes* in gastric fluid. *Mol. Microbiol.* 2001, **40**, 465–475.
- Olier M., Rousseaux S., Piveteau P., Lemaître JP, Rousset A, Guzzo J.: Screening of glutamate decarboxylase activity and bile salt resistance of human asymptomatic carriage, clinical, food, and environmental isolates of *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.* 2004, **93**, 87–99.
- Ryan S., Begley M., Gahan C.G., Hill C.: Molecular characterization of the arginine diaminase system in *Listeria monocytogenes*: regulation and role in acid tolerance. *Environ. Microbiol.* 2009, **11**, 432–445.
- Imlay J.A.: How oxygen damages microbes: oxygen tolerance and obligate anaerobiosis. *Adv. Microb. Physiol.* 2002, **46**, 111–153.
- Mongkolkeha S., Helmann J.D.: Regulation of inducible peroxide stress responses. *Mol. Microbiol.* 2002, **45**, 9–15.
- Werbrouck H., Vermeulen A., Van Coillie E., Messens W., Herman L., Devlieghere F., Uyttendaele M.: Influence of acid stress on survival, expression of virulence genes and invasion capacity into Caco-2 cells of *Listeria monocytogenes* strains of different origins. *Int. J. Food Microbiol.* 2009, **31**, 140–146.
- Ferreira A., Sue D., O'Byrne CP, Boor KJ.: Role of *Listeria monocytogenes* sigma(B) in survival of lethal acid conditions and in the acquired acid tolerance response. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, **69**, 2692–2698.
- Kazmierczak M.J., Mithoe S.C., Boor K.J., Wiedmann M.: *Listeria monocytogenes* sigma B regulates stress response and virulence functions. *J. Bacteriol.* 2003, **185**, 5722–5734.
- Engelbrecht F., Chun S.K., 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.
- Portnoy D.A., Auerbuch V., Glomski I.J.: The cell biology of *Listeria monocytogenes* infection: the intersection of bacterial pathogenesis and cell-mediated immunity. *J. Cell Biol.* 2002, **158**, 409–414.
- Roche S.M., Gracieux P., Milohanic E., Albert I., Virlougeux-Payant I., Témoin S., Grépinet O., Kerouanton A., Jacquet C., Cossart P., Velge P.: Investigation of specific substitutions in virulence genes characterizing phenotypic groups of low-virulence field strains of *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005, **71**, 6039–6048.

Dr Ewa Walecka-Zacharska,
e-mail: ewa.walecka@up.wroc.pl