

Meningoencefalitis uzrokovan bakterijom *Listeria monocytogenes* u imunokompetentne mlade žene: prikaz slučaja

Meningoencephalitis in immunocompetent young woman caused by *Listeria monocytogenes*: case report

Finka Štivić¹, Maja Tomić Paradžik^{1,2*}

Sažetak. Cilj: Prikazati slučaj akutnog meningoencefalitisa uzrokovanog bakterijom *Listeria monocytogenes* kod mlade, imunokompetentne djevojke. **Prikaz slučaja:** Djevojka stara 21 godinu zaprimljena je na Odjel za zarazne bolesti s temperaturom višom od 38 °C, mučninom i povraćanjem praćenim jakom čeonom glavoboljom koja se širila prema potiljku i nije smanjivala nakon primjene analgetika. Uzorak likvora dobiven lumbalnom punkcijom upućen je na mikrobiološku obradu. Empirijski je u terapiju uveden ceftriakson. U likvoru je nakon 72 sata inkubacije porasla *L. monocytogenes* te je u terapiju uveden ampicilin u kombinaciji s gentamicinom. Iz anamneze saznajemo da je 4 dana uzastopno jela isti kolač od svježeg, termički neobrađenog sira. Uvođenjem adekvatne terapije dolazi do poboljšanja općeg stanja i ozdravljenja bez posljedica. **Zaključak:** Prikazom ovog slučaja želimo ukazati na potrebu bolje kontrole hrane radi prevencije infekcija uzrokovanih *L. monocytogenes*.

Ključne riječi: kolač od sira; *Listeria monocytogenes*; meningoencefalitis

Abstract. Aim: To present a case of acute meningoencephalitis caused by *Listeria monocytogenes* in young immunocompetent girl. **Case report:** The girl aged 21 years was admitted to a Department of Infectious Diseases with a temperature over 38°C, nausea and vomiting accompanied by a strong headache widening to the hindhead and not diminishing after the administration of analgesics. Cerebrospinal fluid obtained by lumbar puncture was sent to Microbiology department. Because a meningoencephalitis was suspected, empirical treatment with ceftriaxone was started. After 72 hours of incubation, *L. monocytogenes* was isolated and therapy was changed to ampicillin in combination with gentamicin. Anamnesis data indicated her four-day consumption same cake made by fresh thermally unprocessed cottage cheese. Following the introduction of appropriate therapy, there is a significant improvement of the general condition without any remaining health consequences. **Conclusion:** Better control of food is needed in order to prevent infection by *L. monocytogenes*.

Key words: cheese cake; *Listeria monocytogenes*; meningoencephalitis

¹Služba za kliničku mikrobiologiju, ZZJZ Brodsko-posavske županije, Slavonski Brod

²Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku, Osijek

***Dopisni autor:**

Maja Tomić Paradžik, dr. med.
Služba za kliničku mikrobiologiju,
ZZJZ Brodsko-posavske županije
Vladimira Nazora 2A, 35 000 Slavonski Brod
e-mail: maja-tomic.paradzik@sb.t-com.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

UVOD

Listeria monocytogenes je fakultativno anaerobni, gram-pozitivni, asporogeni štapić, bez kapsule. Na hranjivim podlogama s dodatkom ovčje krvi stvara β -hemolizu. Spada u porodicu *Listeriaceae*, rod *Listeria*, a zahvaljujući razvoju molekularnih metoda i genotipizaciji danas razlikujemo 17 vrsta listerija podijeljenih u dvije grupe – *Listeria sensu strictu* i *Listeria sensu lato*. *Listeria sensu strictu* grupa obuhvaća dvije vrste patogene za

Promjene navika u ishrani, konzumiranje svježih, termički neobrađene hrane, kao i uporaba „prirodne” hrane bez dodataka, povećavaju rizik od nastanka infekcije listerijom. Anamnestički podatak o konzumaciji kolača sa svježim sirom četiri dana uzastopno potvrđuje karakteristično svojstvo listerije – izazivanje bolesti nakon kontinuiranog unošenja u subinfektivnim dozama zbog nastanka kumulativnog učinka.

čovjeka (*L. monocytogenes* i *L. ivanovii* te nepatogene vrste *L. seeligeri*, *L. marthii*, *L. welshimeri* i *L. innocua*). Unutar grupe *Listeria sensu lato* nalazi se *L. grayi* i još 10 vrsta listerija opisanih nakon 2009. godine^{1,2}. Unutar vrste *L. monocytogenes* postoji 12 serotipova koji su određeni na temelju imunoreaktivnosti dviju površinskih struktura bakterijske stanice kao O i H antigeni. Serotipovi 1/2a, 1/2b i 4b u 95 % slučajeva su uzročnici infekcije čovjeka, a serotip 4b je najčešći epidemijski serotip³. *L. monocytogenes* fakultativno je unutarstanični parazit brojnih eukariotskih stanica poput fibroblasta, enterocita, hepatocita i makrofaga. U čovjekov organizam ulazi kroz probavni sustav, a prolaskom kroz crijevnu barijeru inficira hepatocite.

Hepatociti su glavno mjesto umnožavanja, a zbog aktiviranja upalnog odgovora i lučenja citokina dolazi do privlačenja neutrofila koji uništavaju izvanstanične bakterijske stanice, ali i apoptoične, intracelularno zaražene hepatocite, pune listerija, te nastaju granulomi i apscesi. Ako ne postoji dobar imunološki odgovor, bakterija se nakon nekontrolirane proliferacije u jetri širi po cijelom organizmu, a poseban afinitet pokazuje za moždane ovojnice i posteljicu^{1,4}.

Infekcija čovjeka najčešće nastaje konzumiranjem termički neobrađenih mesnih delikatesnih proizvoda, nepasteriziranih mliječnih proizvoda, kolača, nedovoljno opranog sirovog povrća, ali i prethodno zamrznute hrane koja ne zahtijeva dodatnu termičku obradu. Sposobnost preživljavanja i razmnožavanja na +4 °C uzrokuje značajne probleme u prehrambenoj industriji i predstavlja opasnost za ljude. Infekcija listerijom posebno je opasna za trudnice, starije osobe, imunosuprimirane i/ili imunokompromitirane osobe, dok zdravi ljudi rijetko oboljevaju⁵.

Period inkubacije za gastrointestinalni oblik bolesti je 24 sata, dok inkubacija s posljedičnim razvojem sepse i meningitisa može trajati i do 3 mjeseca⁶. U zdravih pojedinaca, nakon unosa većeg broja bakterija, može nastati klinička slika neinvazivnog, febrilnog gastroenteritisa, koji je samoograničavajuća bolest i obično prolazi nakon 2 dana bez ozbiljnih komplikacija. Kod visoko rizičnih, prethodno navedenih skupina ljudi, može izazvati bakterijemiju praćenu sustavnim infekcijama. Zbog izraženog tropizma prema moždanim ovojnicama i posteljici, tijekom sustavne listerioze prevladavaju klinički znaci infekcije središnjeg živčanog sustava (meningitis i encefalitis), a kod trudnica dolazi do diseminirane infekcije ploda s posljedičnim pobačajem, rođenjem mrtvorodjenčeta ili rođenja djeteta s malformacijama nespojivim sa životom (*granulomatosis infantiseptica*)⁴⁻⁶. Terapija izbora su ampicilin u monoterapiji ili u kombinaciji s gentamicinom kod sistemskih infekcija. Osjetljiva je na penicilin, makrolide (eritromicin), tetracikline, trimetoprim-sulfametoksazol i imipenem. Cefalosporini prve, druge, treće generacije i fluorokinoloni ne djeluju na *L. monocytogenes*^{7,8}.

Listerioza je treći najčešći uzrok smrti zbog bolesti koje se prenose hranom u SAD-u. Na svjetskoj razini, godišnje se prijavi oko 2.000 slučajeva listerioze, a oko 500 osoba umre od te infekcije⁹. Epidemijski slučajevi listerioze dobro su dokumentirani, a među njima, s najvećim brojem oboljelih, su epidemija u Italiji, 1997. godine, s 1.500 oboljelih osoba, uglavnom osnovnoškolske djece i izvorom zaraze u smrznutom kukuruzu i salati od tune. Slijedi je epidemija u SAD-u, 2011. godine, kada je oboljelo 147 osoba u 28 država s 33

smrtna ishoda, a izvor zaraze bile su dinje proizvedene u Kanadi. U velikoj epidemiji listerioze koja traje od prosinca 2017. godine u Južnoj Africi do sada je oboljelo 748 osoba, sa smrtnim ishodom za njih 67, i još uvijek nije dokazano ishodište infekcije¹⁰.

Cilj ovog rada je prikazati slučaj akutnog meningoencefalitisa uzrokovanog *L. monocytogenes* u prethodno zdrave, mlade djevojke.

PRIKAZ SLUČAJA

Djevojka stara 21 godinu, s boravištem u ruralnom području županije, zaprimljena je na Odjel za zarazne bolesti s temperaturom iznad 38 °C, praćenom jakim čeonom glavoboljom sa širenjem prema potiljku uz prisutnu mučninu i povraćanje. Bolest je počela tri dana prije prijama u bolnicu, bez pojave osipa, bez respiratornih simptoma, proljeva ili urinarnih tegoba. Glavobolja se nije smanjivala nakon primjene analgetika. Tijekom prijama prisutna je izrazita slabost i klonulost, prisutno je kočenje vrata, Kernig pozitivan, Brudzinski naznačen. U biokemijskim nalazima krvi prisutna je leukocitoza ($16 \times 10^9/L$), povišene vrijednosti C-reaktivnog proteina (258,7 mg/l), a diferencijalna krvna slika ukazuje na prisutnost segmentiranih leukocita od 53 %. Djevojka je lumbalno punktirana te je uzorak likvora poslan u lokalni mikrobiološki laboratorij gdje je obrađen prema protokolu. Uzorak likvora upućen je i na Kliniku za infektivne bolesti „Dr. F. Mihaljević“ Zagreb na dijagnostiku *Borrelia burgdorferi*. Prema standardiziranom protokolu uzeti su uzorci krvi za set hemokultura (aerobna/anaerobna) koje su inkubirane u BD BACTEC™ sustavu za kultivaciju. U antimikrobnoj terapiji empirijski je uveden ceftriakson.

Mikrobiološka dijagnostika i epidemiološki podaci

U mikroskopskom preparatu dobivenog uzorka likvora bili su prisutni rijetki segmentirani leukociti, pokoji eritrocit, bez vidljivih mikroorganizama. Likvor je nasađen standardnim postupkom, kalibriranom (10 µl) ezom na krvni agar i čokoladni agar kao i na Columbia agar za uzgoj anaerobnih mikroorganizama. Uzorak je također nasađen na tekuće podloge (tioglikolati bujon) radi namno-

žavanja mikroorganizama. Kruta i tekuća hranilišta inkubirana su u aerobnim (+ 10 % CO₂) i anaerobnim uvjetima.

Krute podloge, nakon 48 sati inkubacije u aerobnim i anaerobnim uvjetima, ostale su sterilne. Tekuće podloge presađene su na krvni agar na kojem su nakon 24-satne inkubacije, i to samo s prethodno anaerobno inkubiranog tioglikolata, porasle nježne, prozirno mliječne kolonije s blagom hemolizom koje su izgledale poput kolonija *Streptococcus agalactiae*. Mikroskopijom poraslih kolonija obojenih po Gramu vidjeli su se nježni gram-pozitivni štapići. U identifikaciji izolata korištene su klasične biokemijske metode i specifična svojstva vrste poput porasta u eskulin bujonu i slanom bujonu (bujon s 6 % NaCl), rast na +4 °C, pokretljivost na sobnoj temperaturi i identifikacijski test API – Coryne (BioMerieux, France). Dobiveni rezultati ukazivali su na *L. monocytogenes*, te je prema rezultatima testiranja osjetljivosti u terapiju uveden ampicilin u kombinaciji s gentamicinom kroz deset dana. Nakon provedene kombinirane antimikrobne terapije i značajnog poboljšanja općeg stanja, gentamicin se izostavlja iz terapije te pacijentica ostaje na monoterapiji ampicilinom iduća 2 tjedna.

Osjetljivost na ampicilin i gentamicin testirana je disk-difuzijskom metodom, a za ampicilin dodatno je određena minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) koja je iznosila 0,5 mg/L. Hemokulture izvađene tijekom prijama pacijentice ostale su sterilne, a dodatne laboratorijske pretrage nisu potvrdile druge bolesti u podlozi. Serologija na krvlju prenosive viruse (HCV, HBV, HIV) bila je negativna, kao i biljezi za dokaz *B. burgdorferi* iz likvora.

Budući da se radilo o invazivnom izolatu, uzorak likvora poslan je na Kliniku za infektivne bolesti „Dr. F. Mihaljević“, gdje je molekularnom RT-PCR (engl. *Real-time Polimerasa Chain Reaction*) metodom potvrđena prisutnost *L. monocytogenes*. Parni serumi pacijentice uzorkovani u razmacima od 2 tjedna (drugog i četvrtog tjedna bolesti), poslani su u Laboratorij za serološku dijagnostiku HZZJZ-a Zagreb radi utvrđivanja titra serumskih protutijela. Titar protutijela na listeriolizine O i H u serumu uzorkovanom krajem drugog tjedna bolesti bio je negativan (H 1 negativan, H 4b ne-

gativan, O 1 negativan, O 4b 1 : 160 negativan, ref. vrijednost < 1 : 320). U parnom uzorku seruma, mjesec dana od početka bolesti, došlo je do četverostrukog porasta titra protutijela na listeriolizin O 4b na 1 : 320, čime smo potvrdili sistemsku listeriozu.

U razgovoru s pacijenticom utvrđeno je da je četiri dana uzastopno jela kolač od svježeg, termički neobrađenog sira, dok su ostali ukućani isti kolač konzumirali jednokratno. Sir je kupljen od privatnog proizvođača iz susjedstva. Kolač nije poslan na analizu jer je u potpunosti pojedena.

Subakutni tijek meningitisa uzrokovanog bakterijom *L. monocytogenes*, unatoč prirodnoj otpornosti ove bakterije na cefalosporine koji se koriste u empirijskoj terapiji izvanbolničkih meningitisa, omogućava pravovremenu promjenu terapije i izlječenje pacijenta.

Uvođenjem ampicilina i gentamicina u terapiju postignut je dobar klinički terapijski odgovor te se nakon 25 dana boravka pacijentica otpušta iz bolnice.

RASPRAVA

Listeria monocytogenes je u svega 1 % slučajeva uzročnik bolesti koje se prenose hranom te je podcijenjena u odnosu na neke druge uzročnike tih bolesti, poput salmonele i kampilobaktere. Važno je, međutim, istaknuti da se listerioza svrstava u bolesti s najčešćim smrtnim ishodom koji se procjenjuje na oko 30 %. U istraživanjima provedenim na području Hrvatske, *L. monocytogenes* izolirana je u 4,27 % uzoraka kolača, 13,37 % uzoraka domaćih nepasteriziranih mliječnih proizvoda i u 3,03 % uzoraka svježega i smrznutoga mesa peradi¹¹. Najmanja infektivna doza *L. monocytogenes* za ljude je nepoznata jer ovisi o imunitetu domaćina i o koncentraciji patogena u konzumiranoj namirnici. Prema publiciranim podacima infektivna doza varira od 10⁷-10¹¹ CFU (engl. *colony forming units*)/g namirnice u imunokompetentnih osoba^{12,13}.

L. monocytogenes razmnožava se unutar velikog temperaturnog raspona (1 – 45 °C), otporna je prema visokim koncentracijama NaCl (do 12 %) te zbog toga preživljava brojne postupke obrade u

prehrambenoj industriji. Dobro se umnožava pri niskim temperaturama, preživljava smrzavanje pa je izolirana i iz na taj način uskladištene i čuvane hrane^{4,12}. Toplinski obrađeno meso koje se nakon obrade čuva u salamurama također je pogodno za razvoj listerije. Mlijeko i mliječni proizvodi glavni su izvor infekcije listerijom. Pasterizacija smanjuje njihov broj na dozvoljenu količinu, ali ako dođe do rekontaminacije listerijom ona se na temperaturi hladnjaka brže razmnožava u pasteriziranom nego u sirovom mlijeku⁴. Navedena svojstva listerije potaknula su FDA (engl. *Food and Drug Administration*, USA) da 2006. godine odobri korištenje bakteriofaga karakterističnih za listeriju kao dodatka mesnim prerađevinama koje se konzumiraju bez dodatne termičke obrade. U proizvodnji mlijeka i mliječnih proizvoda iz istog se razloga koristi bakteriofag *Listeria phage P 100*^{14,15}.

U dijagnostici listerioze, osim iz primarno sterilnih uzoraka poput likvora ili hemokultura, listeria se može izolirati iz amnijske tekućine, genitalnih obrisaka, biopata tkiva majke i/ili fetusa, kao i iz uzoraka hrane. Ako se izolira iz uzoraka hrane, potrebno je koristiti selektivne podloge^{1,8}.

Prikazana pacijentica nije pripadala niti jednoj od prethodno navedenih rizičnih skupina za razvoj bolesti. Podaci iz literature navode svega par slučajeva listerioze kod prethodno zdravih osoba, bez postojećih predispozicija i to uglavnom kod djece mlađe dobi¹⁶⁻²⁰. Podatak o produženoj konzumaciji kolača sa svježim sirom (četiri dana uzastopno) potvrdio je karakteristično svojstvo listerije da izazove bolest nakon kontinuiranog unošenja u malim, infektivnim dozama zbog nastanka kumulativnog učinka. Površinski proteini, internalini, omogućuju listeriji ulazak u stanice, a listeriolizin O omogućava preživljavanje u samoj stanici. Fosfolipaze razaraju membrane fagosoma i olakšavaju ulazak bakterije u još nezaražene stanice dok protein *ActA* omogućuje unutarstanično kretanje polimerizacijom citoskeleta^{2,4}. Zbog navedenih čimbenika i sposobnosti unutarstaničnog preživljavanja, potrebno je provoditi dugotrajnu antimikrobnu terapiju koja je u slučaju naše pacijentice trajala 3 tjedna.

Promjene navika u ishrani, učestalije konzumiranje svježeg, termički neobrađene hrane, kao i uporaba „prirodne“ hrane bez dodataka, povećava rizik od nastanka infekcije listerijom⁵.

ZAKLJUČAK

Na temelju mikrobiološke dijagnostike kod naše je pacijentice postavljena dijagnoza meningoencefalitisa uzrokovanog *L. monocytogenes*. Primjenom odgovarajuće terapije postignut je potpuni oporavak. Subakutni tijek meningitisa uzrokovanog bakterijom *L. monocytogenes*, unatoč prirodnoj otpornosti ove bakterije na cefalosporine koji se koriste u empirijskoj terapiji izvanbolničkih meningitisa, omogućava pravovremenu promjenu terapije i izlječenje pacijenta. Opisani slučaj ukazuje na potrebu osvješćivanja ljudi o važnosti termičke obrade hrane, pogotovo "domaćih" proizvoda. Zbog različitih trendova u pripremi hrane neophodno je educirati osjetljivu populaciju, poput trudnica, osoba starijih od 60 godina i imunokompromitiranih o prethodno navedenim čimbenicima, čime se može spriječiti nastanak životno ugrožavajućih infekcija.

Izjava o sukobu interesa: autorice izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

LITERATURA

1. Abram M. Listerija, erizipelotriks. In: Kalenić S et al. (eds). Medicinska mikrobiologija. Zagreb: Medicinska naklada, 2013;149-52.
2. Orsi RH, Wiedmann M. Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. Appl Microbiol Biotechnol 2016;100: 5273-87.
3. cdc.gov [Internet]. Atlanta: Center for Disease Control and Prevention, Division of Foodborne, Waterborne and Environmental Disease. National Enteric Disease Surveillance: The *Listeria* Initiative, c2016 [cited 2018 Mar 17]. Available from: https://www.cdc.gov/listeria/pdf/listeriainitiativeoverview_508.pdf.
4. Abram M, Bubonja M. Listeria i Erysipelotrix. In: Uzunović-Kamberović S (ed). Medicinska mikrobiologija. Zenica: Štamparija Fojnica d. o. o., 2009;307-17.
5. Uzunović-Kamberović S, Smole Možina S. Gram-pozitivne bakterije uzročnici trovanja hranom, u: Uzunović-Kamberović S. Medicinska mikrobiologija. Zenica: Štamparija Fojnica d. o. o., 2009;1175-6.
6. Zhu Q, Gooneratne R, Hussain MA. Listeria monocytogenes in Fresh Produce: Outbreaks, Prevalence and Contamination Levels. Foods 2017;6:21.
7. Mahmood H, Marwat ADJK, Khan NAJ. Invasive Listeria monocytogenes Gastroenteritis Leading to Stupor, Bacteremia, Fever, and Diarrhea: A Rare Life-Threatening Condition. J Investig Med High Impact Case Rep 2017; 5:2324709617707978.
8. Winn WC Jr, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger PC et al. Aerobic and Facultative Gram-Positive Bacilli, in: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006:766-73.
9. cdc.gov [Internet]. Atlanta: Center for Disease Control and Prevention, c2016 [cited 2018 Mar 17]. Available from: <https://www.cdc.gov/listeria/index.html>.
10. foodsafetynews.com [Internet]. Seattle: Food and Safety News. c2018 [cited 2018 Mar 17]. Available from: http://www.foodsafetynews.com/2018/01/south-africa-hit-by-deadliest-listeriosis-outbreak-in-history/#.WvVCTKSFM_4.
11. Markov K, Frece J, Čvek D, Delaš F. Listeria monocytogenes i drugi kontaminanti u svježem siru i vrhnju domaće proizvodnje s područja grada Zagreba. Mljekarstvo 2009; 59:225-31.
12. Brouwer MC, van de Beek D, Heckenberg SG, Spanjaard L, de Gans J. Community-acquired Listeria monocytogenes meningitis in adults. Clin Infect Dis 2006;43:1233-8.
13. Bubonja M, Vučković D, Rubeša-Mihaljević R, Abram M. Činitelji bakterije i domaćina u patogenezi listerioze. Medicina 2007;43:15-20.
14. Carlton RM, Noordman WH, Biswas B, de Meester ED, Loessner MJ. Bacteriophage P100 for control of Listeria monocytogenes in foods: genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application. Regul Toxicol Pharmacol 2005;43:301-12.
15. Lang LH. FDA approves use of bacteriophages to be added to meat and poultry products. Gastroenterology 2006;131:1370.
16. Von Rotz M, Dierig A, Heining U, Chrobak C, Baettig V, Egli A. Case report: when two and ½ men go camping... BMC Infect Dis 2017;17:102.
17. Lobotková D, Dická E, Rolný V, Stankovič I, Čížnár E. Systemic Listeria monocytogenes infection in a 2-year-old immunocompetent child. Infection 2014;42:1055-9.
18. Dilber E, Aksoy A, Cakir M, Bahat E, Kamaşak T, Dilber B. Listeria monocytogenes meningitis in two immunocompetent children. Ann Trop Paediatr 2009;29:225-9.
19. Peer MA, Nasir RA, Kakru DK, Fomda BA, Wani MA, Ha-keem QN. Listeria monocytogenes meningoencephalitis in an immunocompetent, previously healthy 20-month old female child. Indian J Med Microbiol 2010;28: 169-71.
20. Ben Shimol S, Einhorn M, Greenberg D. Listeria meningitis and ventriculitis in an immunocompetent child: case report and literature review. Infection 2012;40: 207-11.