

Značaj infekcije listerijom u trudnica i novorođenčadi

Blaženka Hunjak, Zdenka Peršić

Odjel za bakteriologiju, Služba za mikrobiologiju
Hrvatski zavod za javno zdravstvo

Sažetak

Listerioza u trudnica može uzrokovati poremećaje tijekom ili prekid trudnoće. Iako listerioza u nas za sada nema visoku učestalost, zbog teške kliničke slike i posljedica na trudnice i novorođenčad, potrebno je povećati svijest o pojavi listerioze te poboljšati suradnju veterinarske i humane medicine.

Uvod

Listerioza je često neprepoznata i nedovoljno dijagnosticirana bolest koja se može prezentirati vrlo teškom kliničkom slikom u trudnica, novorođenčadi, osoba starijih od 65 god. i imunokompromitiranih osoba. Infekcija se zbiva uglavnom nakon ingestije hrane kontaminirane bakterijom *L. monocytogenes*, iako su rijetki slučajevi listerioze zabilježeni i nakon direktnog kontakta sa životinjom zaraženom ovim mikroorganizmom (1).

Problem predstavljaju asimptomatske inficirane osobe i neprepoznate infekcije. Ukoliko je bolest simptomatska, u trudnica se prezentira kao blaga, influenci slična bolest, sa temperaturom, bolovima u mišićima, te ponekad mučninom i proljevom tijekom bakterijemijske faze bolesti. Iako simptomi mogu biti blagi ili infekcija ostane neprepoznata, listerioza u trudnica uzrokuje poremećaje tijekom ili prekid trudnoće (1, 2). Placentarni prijenos organizma na fetus uzrokuje amnionitis, koji rezultira spontanom, septičkim abortusom, rođenjem mrtvog

djeteta ili prijevremenim porodom s inficiranim djetetom. Ukoliko se inficira fetus, infekcija se prezentira kao septikemija, meningoencefalitis ili kao diseminirane granulomatozne lezije s mikroapscesima. Smatra se da oko 22% perinatalnih infekcija završava smrću neonatusa ili rođenjem mrtvorodenčeta. U neonatusa, smrtnost iznosi oko 50%. Smrtnost je veća ukoliko dođe do rane pojave neonatalne sepse. Istraživanja pokazuju da kako trudnoća napreduje, mogućnost preživljavanja fetusa raste. Kasnija pojava listerioze u trudnica, tipično se manifestira kao meningitis novorođenčeta u 2-4 tjednu života. Kod imunokompromitiranih osoba infekcija *L.monocytogenes* izaziva sepsu i meningitis. Zanimljivo je da, zbog još za sada nepoznatih razloga, CNS infekcije koje su uobičajene u ostaloj populaciji rizičnoj za listeriozu, u trudnica nisu česte. Prikaz prijavljenih slučajeva listerioze CNS-a u općoj populaciji u Hrvatskoj za razdoblje od 1998-2007, naveden je u Tablici 1.

Tablica 1. Listerioza CNS-a (meningitis i encephalitis) u Hrvatskoj od 1998-2007

Godina	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Broj slučajeva	0	2	5	2	4	2	3	6	8	2

O značajnosti infekcije listerijama govore epidemiološki izvještaji sa raznih dijelova svijeta. Zanimljivi su podaci o listeriozi za Izrael dobiveni iz kliničkih mikrobioloških

laboratorija, nacionalnih referentnih laboratorija za listerije i iz ordinacija liječnika opće medicine (3). Istraživanje je pokazalo da je u razdoblju od 1998-2007, ukupno identificirano 481 slučajeva listerioze, od kojih je bilo 34,5% (166/481) u trudnica. Najviša godišnja incidencija bila je 2006/7 sa 9,6 slučajeva na milion stanovnika, što je bilo 5x više od incidencije u SAD za isto razdoblje. Incidencija u trudnoći varirala je od 5 do 25 slučajeva na 100,000 trudnica godišnje. Infekcija listerijom bila je ustanovljena kod 26,6% kasnih pobačaja i 46,8% prijevremenih poroda. Kod samo jedne trudnice sa listerijom zabilježen je smrtni ishod. Također je zabilježen postepen porast infekcije listriozom u osoba starijih od 65 god., koji je dosegao 42,7 slučaja godišnje na milion stanovnika. U zemljama zapadne Europe također zabrinjava porast infekcije listerijama u Europi posljednjih 10-tak godina. U Engleskoj i Wales-u, u razdoblju od 2000-2008 zabilježeno je prosječno 179 slučajeva godišnje u usporedbi sa samo 110 slučajeva u razdoblju od 1990. do 1999. Najveći porast učestalosti ustanovljen je u populaciji sa 60 i više godina (4). Osim zbirnih podataka o praćenju listerioze, postoje i povremene epidemije ove bolesti, koje također predstavljaju veliku opasnost za trudnice. Jedna od novijih epidemija zabilježena je u 9.mj. 2011 u SAD; država Kolorado, sa ukupno 84 slučajeva listerioze. Udio žena u zahvaćenoj populaciji bio je 55%, među kojima su bile dvije trudnice. U SAD se zabilježi godišnje oko 25 000 slučajeva, sa fatalnim završetkom u oko 500 slučajeva (5).

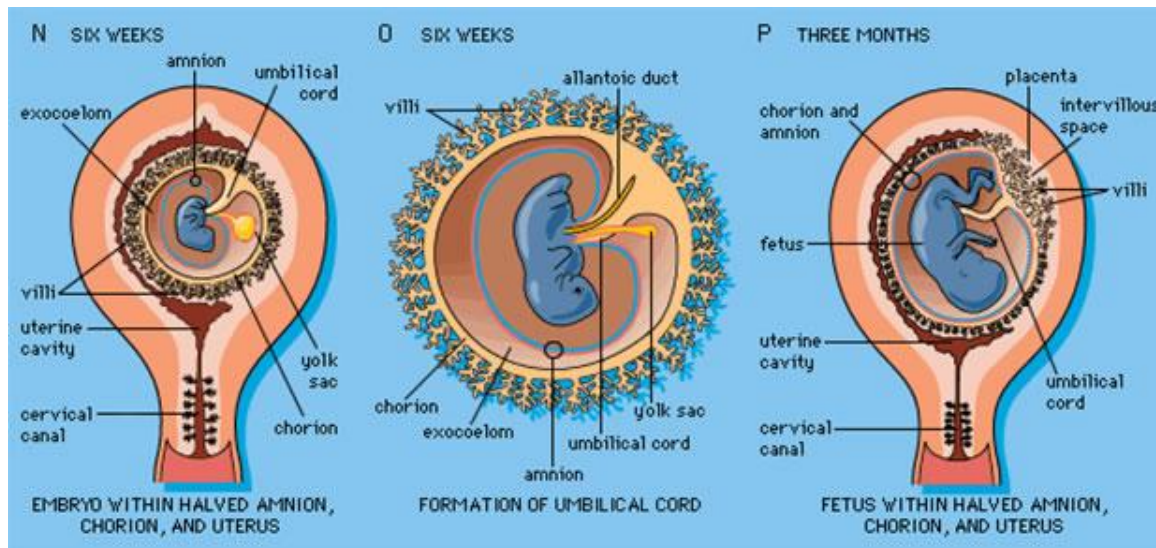
Listerioza u trudnica

Trudnice predstavljaju 60% svih slučajeva infekcije bakterijom *Listeria monocytogenes* u populaciji mlađoj od 40 g (2, 6). Također, smatra se da se oko 1/3 slučajeva listerioze zbiva tijekom trudnoće, a najčešće u trećem trimestru. Klinička slika listerioze u trudnica posljedica je bakterijemije, a mehanizmi koji za posljedicu imaju infekciju fetusa, predmet su mnogih

istraživanja. U trudnica je rizik za razvoj bolesti oko 20x veći nego što je to kod ostalih ljudi. Smatra se da je taj rizik posljedica imunsupresije u trudnoći, koja dozvoljava toleranciju fetoplacentarnog alografta. U literaturi su opisane interakcije bakterije sa ciljnim tkivom. Zbog visoke incidencije listerioze u američkih trudnica, upravo su se američki istraživači bavili mehanizmima ulaska *L. monocytogenes* u organizam i patogenezom bolesti. Ustanovljeno je da listerija može ući u kultivirane nefagocitne humane stanice procesom koji je posredovan interakcijom internalina (InlA); bakterijskog površinskog proteina, sa E-kaderinom (engl. *E-cadherin*); transmemembranskim površinskim proteinom izraženim u različitim epitelnim lozama (lozama- lineages). Smatra se stoga da InlA ima visok stupanj specifičnosti za humani E-kaderin.

Humana materno - placentarna barijera sadržava dvije anatomske različite komponente: horio - alantoidnu placentu i korioamnion. Barijera se formira na razini placente uz pomoć viloznog sinciotrofoblasta. Ova specijalizirana linija epitela je u direktnom kontaktu sa majčinom krvi koja cirkulira kroz intervilozni prostor. Mnoga istraživanja pokazala su da InlA posreduje kod prihvaćanja na receptore E-kaderina u sinciotrofoblastu i posljedično omogućuje invaziju viloznog tkiva. Stoga, sposobnost *L. monocytogenes* da prepozna i prođe materno - fetalno humanu barijeru počiva na mogućnosti interakcije bakterijskog proteina - internalina i njegovog staničnog liganda - E- kaderina, na nivou barijere viloznog trofoblasta. Ovakva interakcija ligand- receptor dozvoljava patogenu da prepozna cilj i prođe placentarnu vilozno trofoblastičnu barijeru, što nije prije bilo poznato. Imunohistološke studije na humanim placentama dobivenih od pacijentica s listeriozom, pokazale su da se bakterijska invazija zbiva transplacentarno, a ne kroz amnion (2).

Slika1. Shematski prikaz razvoja embrija i fetusa u dobi od 6 tjedana i 3 mjeseca



Studija francuskih istraživača Jacques-a i sur. (6), potvrdila je sumnju kako InIA ima vrlo važnu ulogu u prolazu materno-fetalne barijere. Testirano je 300 sojeva listerije dobivenih od ispitanika sa listeriozom u Francuskoj, te su uspoređivani sa 150 sojeva listerija dobivenih iz uzoraka hrane u istom razdoblju. Pokazalo se da su svi izolati dobiveni od trudnica (61/61) izrazili navedeni funkcionalni protein; InIA, dok je samo 65% (98/150) izolata dobivenih iz hrane izrazilo ovaj protein.

Mikrobiološka dijagnostika i liječenje

L.monocytogenes smatra se najpatogenijim izolatom iz roda listerija za humanu populaciju. Ovaj mikroorganizam rasprostranjen je u tlu, vegetaciji, vodi, a može kolonizirati probavni sustav mnogih životinja i ljudi. *L.monocytogenes* također se nalazi i u sirovoj i obrađenoj hrani, mlijeku, mliječnim proizvodima, mesu, povrću, ali i hrani iz mora (1). Sposobnost listerije da preživi i umnoži se u uvjetima temperature hladnjaka (+4 °C) i bez prisutnosti kisika, omogućava širenje listerije u hrani. Vakimirani proizvodi i gotova brza hrana

pripremljena za jelo (engl. *RTE; ready - to - eat*) izvor je listerije u zapadno - europskim visoko razvijenim zemljama. Stoga je kontrola namirnica na bakteriju *L.monocytogenes* posebno važna jer je hrana najvažniji izvor listerije. Europska zajednica ima vrlo stroge kriterije praćenja i mikrobiološkog dokazivanja listerije u hrani. Proizvođači i distributeri hrane zakonski su obavezni poštovati mikrobiološke kriterije dijagnostike listerija, kako bi se smanjila mogućnost izazivanja listerioze u osjetljivoj populaciji.

Potvrda dijagnoze infekcije listerijom zahtijeva pozitivan nalaz kultivacije sterilnih materijala (krv, likvor). Serološko testiranje nije pouzdano za potvrđivanje dijagnoze, a metode kultivacije stolice nisu ni dovoljno osjetljive ni specifične.

U dijagnostici listerioze najvažnije su hemokulture, a rezultati su češće pozitivni kod febrilnih pacijenata. Pozitivan nalaz kultivacije obrisa vagine i rektuma u trudnica ne smatra se dovoljnim dokazom infekcije listerijom, iako su obrisci često uobičajeni uzorak za mikrobiološku dijagnostiku. U neonatusa, listeria se može kultivirati iz mekonijuma, obriska nosa ili oka, urina, cerebrospinalog likvora, krvi, tkiva placente ili lohija.

U klasičnoj mikrobiološkoj dijagnostici za dokaz *Listeria spp.* primjenjuju se metode kultivacije i brze detekcije, uz obavezan mikroskopski pregled. Kultivacija se izvodi na krvnom agaru s ovčjom krvi i/ili na specifičnim podlogama, uz primjenu postupaka obogaćivanja ovisno o vrsti uzorka (sterilni/nesterilni uzorci). Direktni test imunofluorescence sa specifičnim monoklonalnim protutijelima konjugiranim na fluorescein izotiocianat omogućava brzu detekciju.

Kultivacija *Listeria spp.* u primarno sterilnim uzorcima izvodi se na krvnom agaru s ovčjom krvi i u obogaćenom bujonu. Inkubacija krutih medija traje 5-7 dana, na 35°C 5-10%

CO₂ ili anaerobno, uz svakodnevnu kontrolu rasta. Ukoliko se u bujonu pojavi rast, soj se subkultivira na krvni agar. Uzorci s nesterilnih mjesta uključujući obriske rodnice i rektuma, zahtijevaju korak obogaćivanja i uporabu selektivnih medija. Uzorci se inkubiraju na 30°C 24 h u primarno obogaćenom bujonu i tada se subkultiviraju na drugi obogaćeni medij na 30°C, 24 h. Selektivni mediji korisni u dijagnostici listerija su PALCAM (Polymyxin-acriflavin-lithium chloride-ceftazidime-esculin-manitol agar) i Oxford agar. U dijagnostici listerioze CNS-a koristi se i PCR.

Serologija ima ograničenu vrijednost u dijagnostici suspektih slučajeva listerioze i nije prikladna za šire praćenje imunosti. *L.monocytogenes* je antigeno bliska s bakterijama *Staphylococcus aureus* i *Enterococcus faecalis*, stoga su moguće unakrižne reakcije. Antitijela klase Ig-M su uključena u humani odgovor listerija na infekcije i povišena razina titra Ig-M antitijela može perzistirati godinama u imunokompetentnih ljudi koji su bili izloženi *L. monocytogenes*.

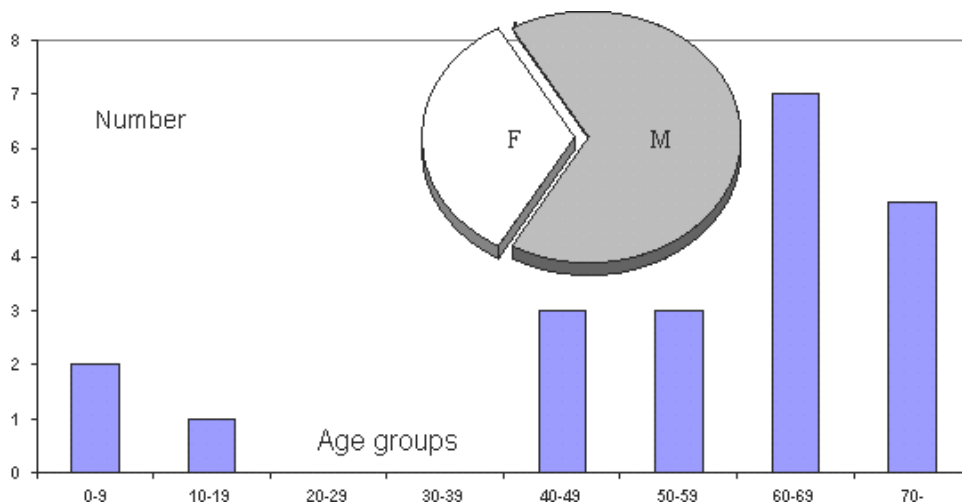
Rutinski screening nije za sada preporučen u trudnica jer prisutnost ovog mikroorganizma u vagini ili crijevima ne mora biti povezana s pojavom listerije u trudnoći. Ukoliko se radi o infekciji neonatusa, listerija se može kultivirati iz mekonijuma, obriska nosa ili oka, urina, cerebrospinalog likvora, krvi, tkiva placente ili lohija.

Lijek izbora za listeriozu je ampicilin: 2 tjedna intravenske primjene kod bakterijemije. Sulfametoksazol – trimetoprim je alternativa za pacijente alergične na penicilin, ali primjena je upitna tijekom prvog trimestra trudnoće.

Podaci o listeriozi prema podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo

Dostupni podaci o listeriozi govore o niskoj učestalosti u našoj populaciji. Obaveza prijavljivanja listerioze prema Zakonu o zaštiti pučanstva od zaraznih bolesti do 2009.god. bila je ograničena na slučajeve listerioze središnjeg živčanog sustava, a od 2009. god. postoji mogućnost prijavljivanja listerioze kao samostalne infekcije. Podaci su stoga najčešće ograničeni na listeriozu CNS-a. Učestalost listerioze u Hrvatskoj i distribucija prema dobi i spolu za razdoblje od 2003-2007 prikazana je na Slici 2.

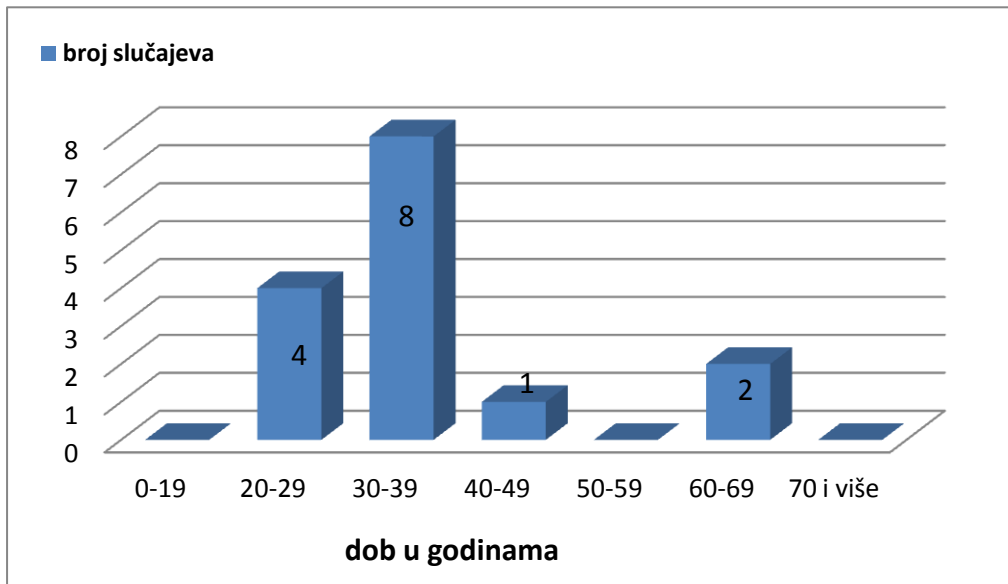
Slika 2. Kumulativni prikaz listerioze CNS-a prema dobi i spolu u Hrvatskoj za razdoblje od 2003-2007 (Epidemiološki vjesnik, HZJZ, Br.5, Svibanj, 2008)



Prema podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo tijekom 2011. god. poslano je 63 uzorka na serološko testiranje na listeriju. Za serološko testiranje rabe se dvije metode: aglutinacija s antigenima H1, H4b, O1, O4b; i indirektni test imunofluoresce (IIF) - IgA, IgM, IgG - serotip O1/2,4b. Od 63 uzorka, testiranje je potvrdilo sumnju na listeriju u 18 uzoraka kod ukupno 15 ispitanika: 13 žena i 2 muškarca. Od 13 ispitanica, 7 su bile trudnice s uputnim

dijagnozama: poremećaj u tijeku trudnoće, pobačaj ili smrt djeteta prije aktualne trudnoće i prijeteći pobačaj. Prema dobi, najviše je bilo pozitivnih uzoraka u dobi između 30. i 38. god.

Slika3. Prikaz serološki pozitivne listerioze prema dobi i spolu u 2011. god.



U istom razdoblju, za kultivaciju je zaprimljeno 17 uzoraka , a radilo se o obriscima rodnice i rektuma trudnica koje su bile serološkim testiranjem pozitivne na listeriju. *L. monocytogenes* nije potvrđena niti kod jednog uzorka, a izolirane su vrste *L. ivanovii* i/ili *L.*

grayi. Obzirom na mali broj obrađenih uzoraka, i ozbiljnost klinipotrebno je više ukazivati na mogućnost pojave listerioze u trudnica.

Prevenција listerioze

Prevenција je najbolja metoda sprečavanja listerioze, a edukacija trudnih žena neophodna je komponenta prevencije. Najvažnija preporuka je da bi trudnice morale izbjegavati hranu koja je potencijalno izvor listerije i tijekom spravljanja namirnica pridržavata se slijedećih naputaka:

- temeljito termički obraditi hranu životinjskog porijekla,
- temeljito prati i ispirati sirovo povrće prije jela,
- strogo odvajati termički neobrađeno meso od povrća i kuhane hran,
- izbjegavati nepasterizirano mlijeko i proizvode od sirovog mlijeka,
- obavezno prati noževe, ruke i radne površine nakon obrade nekuhanih namirnica,
- konzumirati kvarljivu hranu što prije moguće

Iako listeroza u nas za sada nema visoku učestalost, zbog teške kliničke slike i posljedica na trudnice i novorođenčad, potrebno je povećati svijest o pojavi listerioze te poboljšati suradnju veterinarske i humane medicine.

Literatura

1. Swaminathan B, Rocxourt J, Bille J. *Listeria*. In: Murray PR, Barron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (Eds). *Manual of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington, DC, USA. 1995, p. 341-348.

2. Lecuit M, Nelson DM, Smith SD i sur. Targeting and crossing of the human maternofetal barrier by *Listeria monocytogenes*: role of internalin interaction with trophoblast E-cadherin. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;10:6152–6157.
3. Hersko-KementA, Eliav H, Valinsky L i sur. Clinical and epidemiological aspects of listeriosis in Israel. XVII International Symposium on Problems of Listeriosis, Book of Abstract, May 5- 8th, 2010, Porto, Portugal, p: 47.
4. Gillespie IA, Mook P, Little CL, Grant K. *Listeria monocytogenes* infection in the over 60s in England between 2005 and 2008; a retrospective case-control study utilizing market research panel data. XVII International Symposium on Problems of Listeriosis, Book of Abstract, May 5- 8th, 2010, Porto, Portugal, p: 49.
5. Center for Disease Control and Prevention 2011. Multistate Outbreak of Listeriosis Associated with Jensen farms Cantaloupe-United States, August-September 2011. Morb Mortal Wkly Rep 2011; 60:/early release
6. Jacquet C, Doumith M, Gordon JI, Martin PM, Cossart P, Lecuit M. A molecular marker for evaluating the pathogenic potential of foodborne *Listeria monocytogenes*. J Infect Dis. 2004;1;189(11): 2094-100.