

Najčešći uzročnici bakterijskog meningitisa u bolesnika liječenih u Klinici za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u razdoblju od 2011. do 2013. godine

Tatjana TOT¹⁾, dr. med. specijalizant
kliničke mikrobiologije
Arjana TAMBIĆ ANDRAŠEVIĆ²⁾, prof.
dr. sc., dr. med., specijalist kliničke
mikrobiologije
Suzana BUKOVSKI^{2,3)}, doc. dr. sc., prim.
dr. med., specijalist kliničke mikrobiologije

¹⁾ Opća bolnica Karlovac, Andrije Štampara 3,
47000 Karlovac

²⁾ Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran
Mihaljević", Zagreb

³⁾ Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josip
Juraj Strossmayer u Osijeku

Ključne riječi

bakterijski meningitis
izvanbolnički uzročnici
bolnički uzročnici
rezistencija

Key words

bacterial meningitis
community-acquired pathogens
nosocomial pathogens
resistance

Primljeno: 2014-03-12

Received: 2014-03-12

Prihvaćeno: 2014-04-24

Accepted: 2014-04-24

Uvod

Meningitis se prvi puta spominje još u Periklovo doba u spisima Hipokrata [1]. Prva epidemija meningitisa zabilježena je u Ženevi 1805. godine [2, 3], a austrijski bakteriolog Anton Weichselbaum prvi je dokazao da je bakterija uzrok meningitisa [4]. Za etiološku dijagnostiku najvažnija je analiza cerebrospinalne tekućine, a dobivanje uzorka postupkom punkcije omogućeno je 1891. go-

Stručni rad

Iako se pojedini uzročnici povezuju s karakterističnim kliničkim slikama ili epidemiološkim podacima, etiologija bakterijskog meningitisa temelji se na mikrobiološkoj dijagnostici. Cilj rada je bio prikazati učestalost uzročnika bakterijskog meningitisa u bolesnika liječenih u Klinici za infektivne bolesti u razdoblju od 2011. do 2013. godine. U promatranom razdoblju kultivacijom i/ili molekularnom dijagnostikom dokazan je bakterijski uzročnik u 212 slučajeva bakterijskog meningitisa. Bilo je 108 (50,94 %) izvanbolničkih i 104 (49,06 %) bolničkih uzročnika. Najčešći izvanbolnički uzročnici su bili *Streptococcus pneumoniae* 19,81 % (42/212 izolata), *Neisseria meningitidis* 15,57 % (33/212) i *Listeria monocytogenes* 7,55 % (16/212), a u neonatalnoj dobi *Streptococcus agalactiae* (3/6). Od bolničkih uzročnika najčešće je izoliran koagulaza negativan stafilokok 16,98 % (36/212), zatim *Staphylococcus aureus* 8,49 % (18/212), *Pseudomonas aeruginosa* 6,13 % (13/212), *Acinetobacter baumannii* 5,19 % (11/212) i *Klebsiella pneumoniae* 3,3 % (7/212). Rezistencija na antibiotike je očekivano veća u bolničkih izolata.

The most common causes of bacterial meningitis in patients treated at the University Hospital for Infectious Diseases "Dr. Fran Mihaljević" in the period from 2011 until 2013

Professional paper

Although some pathogens are related to specific clinical presentations or epidemiological data, the etiology of bacterial meningitis is based on diagnostic microbiology. The main purpose of this paper was to present the frequency of pathogens isolated from patients hospitalized at the University Hospital for Infectious Diseases "Dr. Fran Mihaljević" in the period from 2011 until 2013. In this period, a total of 212 cases of bacterial meningitis were diagnosed by cultivation and/or by molecular method. There were 108 (50,94 %) community-acquired and 104 (49,06 %) nosocomial pathogens isolated. The most common community-acquired pathogens were *Streptococcus pneumoniae* 18,83 % (42/212 isolates), *Neisseria meningitidis* 14,79 % (33/212) and *Listeria monocytogenes* 7,17 % (16/212) and in the neonatal age *Streptococcus agalactiae* (3/6). Coagulase-negative staphylococci (CoNS) were the most common nosocomial isolates 16,98 % (36/212), followed by *Staphylococcus aureus* 8,49 % (18/212), *Pseudomonas aeruginosa* 6,13 % (13/212), *Acinetobacter baumannii* 5,19 % (11/212) and *Klebsiella pneumoniae* 3,3 % (7/212). As expected, higher rates of resistance were recorded in nosocomial pathogens.

dine tehnikom koju je implementirao Heinrich Quincke. Od tada je cerebrospinalni likvor (CSL) reprezentativan uzorak za postavljanje etiološke dijagnoze meningitisa. Ubrzo nakon toga su se kao najčešći uzročnici meningitisa izdvojile tri bakterije *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* i *Haemophilus influenzae*. Danas, nakon više od 120 godina, kao etiološki uzročnici meningitisa navode se imena brojnih bakterija. Akutni bakterijski meningitis obično uzrokuju piogene bakterije. Kro-

Tablica 1. Etiologija akutnih i kroničnih bakterijskih meningitisa**Table 1.** Etiology of acute and chronic bacterial meningitis

Bolest/Disease	Etiologija/Etiology
Akutni meningitis/Acute meningitis	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , gram-negativni štapići, <i>Bacillus anthracis</i> .
Kronični meningitis/Chronic meningitis	<i>Nocardia</i> spp., <i>Brucella</i> spp., <i>Leptospira interrogans</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Treponema pallidum</i> , <i>Borrelia burgdorferi</i> .
Akutni meningitis povezan s likvorskom drenažom/Shunt meningitis	KNS, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Propionibacterium</i> spp., enterobakterije, gram-negativni nefermentativni štapići (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i>).

nični meningitis mogu vrlo često uzrokovati za mikrobiološku dijagnostiku zahtjevne i spororastuće bakterije. Meningitise nakon operativnih postupaka i zahvata najčešće uzrokuju koagulaza negativni stafilocoki (KNS) i *Staphylococcus aureus* (Tablica 1).

Najčešći uzročnici meningitisa u novorođenčadi su *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* i *Klebsiella pneumoniae* [5]. U dojenčadi od jednog mjeseca do jedne godine starosti se uz *S. agalactiae*, *E. coli* i *L. monocytogenes* kao uzročnici meningitisa javljaju *Streptococcus pneumoniae* i *Neisseria meningitidis*. Uvođenjem obaveznog cijepljenja protiv *Haemophilus influenzae* tip b (u Hrvatskoj od siječnja 2002. godine) meningitis uzrokovan tom bakterijom se javlja izuzetno rijetko [6]. U predškolskoj i školskoj dobi su najznačajniji uzročnici meningitisa *S. pneumoniae* i *N. meningitidis*. Veliki broj oboljelih bilježi se i u skupini adolescenata gdje je najčešći uzročnik *N. meningitidis*. U skupini odraslih osoba do kasne srednje dobi (22 do 65 godina) uz *N. meningitidis* i *S. pneumoniae*, česti uzročnici su i gram-negativni štapići. U osoba starijih od 65 godina najčešći uzročnici su koagulaza negativni stafilocoki, *S. pneumoniae*, a čest je izolat i *L. monocytogenes*. Ukoliko se radi o duže hospitaliziranim bolesnicima, posebice nakon operativnih zahvata, česti su izolati aerobni gram-negativni fermentativni i nefermentativni štapići [7]. *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* i *Propionibacterium* spp. češće uzrokuju meningitise u bolesnika s ventrikuloperitonealnom drenažom, traumom glave, neurokirurškim zahvatima te u imunodeficijentnih osoba [8, 9]. *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis* češće se izoliraju iz uzoraka bolesnika koji su imali povrede glave ili neurokirurški zahvat.

U radu je analizirana pojavnost bakterijskih uzročnika meningitisa u bolesnika koji su liječeni u Klinici za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" (KIB).

Materijal i metode

Retrospektivno su analizirani podaci o mikroorganizmima koji su izolirani iz uzoraka cerebrospinalnog likvora

bolesnika liječenih u KIB u razdoblju od 1. siječnja 2011. do 31. prosinca 2013. godine. Analizirani su samo uzorci likvora iz kojih nije ponavljano izoliran isti uzročnik kod istog bolesnika unutar 28 dana od prvog izolata (bez "copy" sojeva). U analizu nisu uključeni uzorci likvora za koje je u dogovoru s kliničarom zaključeno da se radi o kontaminaciji.

Uzorci cerebrospinalnog likvora obrađivani su sukladno standardnim mikrobiološkim procedurama. Iz sedimenta likvora je pripremljen razmaz po Gramu. Kultivacija je izvođena nasadivanjem na dva kruta hranilišta, čokoladni i krvni agar. Hranjive podloge su inkubirane 24 sata na 36 ± 1 °C u atmosferi obogaćenoj ugljičnim dioksidom (5 % CO₂). Osjetljivost izolata na antibiotike ispitana je disk-difuzijskom metodom po Kirby-Baueru na Mueller-Hintonovoj podlozi i metodom gradijent difuzije (E-test, AB Biodisk, Solna, Švedska). Dobiveni rezultati su tumačeni prema standardima u preporukama EUCAST-a (engl. *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*).

U dijagnostici izvanbolničkih patogena (*Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Listeria monocytogenes* i *Haemophilus influenzae*) primijenjena je i *in house* metoda lančane reakcije polimeraze u stvarnom vremenu (engl. *Real time polymerase chain reaction; real time-PCR*). Za molekularnu dijagnostiku bakterije *Staphylococcus aureus* primijenjeni su komercijalni testovi (LightCycler *Staphylococcus* Kit i MRSA Detection Kit, Roche Diagnostics). Svi molekularni testovi izvedeni su na LightCycler 2.0 aparatu (Roche Diagnostics), a nalazi iskazani sukladno preporuci proizvođača. Deskriptivnom metodom su analizirani podaci o dobi i spolu bolesnika.

Rezultati

U Klinici za infektivne bolesti "Dr Fran Mihaljević" od 1. siječnja 2011. do 31. prosinca 2013. godine obrađeno je 3991 uzoraka likvora od 2865 bolesnika. Podaci o kliničkim značajkama i broju bolesnika s potvrđenim meningitisom su izvan dosega ove studije. Bakterije su izolirane u 282 ili 9,84 % od ukupno 2865 uzoraka (bez "copy" izola-

ta), od čega je klinički značajno 212 uzoraka. Za 70 izolata (KNS, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Corynebacterium* spp. i ostali rjeđi uzročnici) je nakon dobivenih podataka o bolesniku i u dogovoru s kliničarom zaključeno da se radi o kontaminaciji.

Najčešći klinički značajni izolati su bili *Streptococcus pneumoniae* 19,81 % (42/212 izolata), KNS 16,98 % (36/212 izolata), *Neisseria meningitidis* 15,57 % (33/212 izolata), *Staphylococcus aureus* 8,49 % (18/212 izolata), *Listeria monocytogenes* 7,55 % (16/212 izolata), *Pseudomonas aeruginosa* 6,13 % (13/212 izolata), *Acinetobacter baumannii* 5,19 % (11/212 izolata), *Klebsiella pneumoniae* 3,3 % (7/212 izolata) i *Streptococcus agalactiae* 2,83 % (6/212 izolata).

Izvanbolničkih uzročnika bakterijskog meningitisa bilo je 108 ili 50,94 % od ukupno 212 izolata. Najčešći izvanbolnički izolati su bili *Streptococcus pneumoniae* 38,89 % (42/108 izolata), *Neisseria meningitidis* 30,56 % (33/108 izolata), *Listeria monocytogenes* 14,81 % (16/108 izolata), *Streptococcus agalactiae* 5,56 % (6/108 izolata) i *Escherichia coli* 3,7 % (4/108 izolata) (Tablica 2).

Najčešći bolnički uzročnici bakterijskog meningitisa bili su koagulaza negativni stafilokoki 34,61 % (36/104

izolata), *Staphylococcus aureus* 17,31 % (18/104 izolata), *Pseudomonas aeruginosa* 12,5 % (13/104 izolata), *Acinetobacter baumannii* 10,58 % (11/104 izolata) i *Klebsiella pneumoniae* 6,73 % (7/104 izolata) (Tablica 2).

Analiza raspodjele bolesnika prema spolu pokazala je podjednaku zastupljenost žena i muškaraca kod izvanbolničkih meningitisa i nešto veću zastupljenost muškog spola (60,58 %) u bolničkim slučajevima (Tablica 3).

Prema rezultatima provedene trogodišnje analize najviše, odnosno 45,23 % (19/42) izolata *S. pneumoniae*, bilo je 2011. godine. Više od polovice svih izolata *S. pneumoniae* je detektirano u uzorcima bolesnika starijih od 50 godina 54,76 % (23/42) izolata, a zatim u skupini mlađih od pet godina 26,19 % (11/42).

U promatranom trogodišnjem razdoblju najviše izolata *N. meningitidis* je bilo 2011. godine odnosno 48,48 % (16/33) izolata. Meningokok je izoliran podjednako često iz uzoraka likvora bolesnika svih dobnih skupina, iako je najviše izolata bilo kod bolesnika u dobi od 15 do 24 godine odnosno u 27,27 % (9/33 izolata).

Najmanje izolata *L. monocytogenes* u promatranom razdoblju bilo je 2013. godine 12,5 % (2/16). *L. monocytogenes* je najčešće izolirana iz uzoraka bolesnika starijih od

Tablica 2. Učestalost izvanbolničkih i bolničkih uzročnika bakterijskog meningitisa

Table 2. Frequency of community-acquired and nosocomial causes of bacterial meningitis

Izvanbolnički uzročnici/Community-acquired pathogens			Bolnički uzročnici/Nosocomial pathogens		
Uzročnik/Pathogen	Broj/No	%	Uzročnik/Pathogen	Broj/No	%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	42	38,89	Koagulaza negativni stafilokoki/ Coagulase-negative staphylococci	36	34,61
<i>Neisseria meningitidis</i>	33	30,56	Meticilin osjetljiv/Methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	13	12,5
<i>Listeria monocytogenes</i>	16	14,81	Meticilin rezistentan/Methicilline-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	5	4,8
<i>Streptococcus agalactiae</i> (BHS-B)	6	5,56	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	12,5
<i>Escherichia coli</i>	4	3,7	<i>Acinetobacter baumannii</i>	11	10,58
<i>Streptococcus viridans</i>	3	2,78	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	6,73
<i>Haemophilus influenzae</i>	2	1,85	<i>Enterococcus faecalis</i>	5	4,8
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1	0,93	<i>Enterococcus faecium</i>	1	0,96
Beta hemolitički streptokok grupe C (BHS-C)	1	0,93	<i>Serratia marcescens</i>	1	0,96
			<i>Proteus mirabilis</i>	1	0,96
			<i>Enterobacter cloacae</i>	2	1,92
			<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	0,96
			<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	1,92
			<i>Aeromonas hydrophila</i>	1	0,96
			<i>Corynebacterium</i> spp.	2	1,92
			<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1	0,96
			<i>Pseudomonas</i> spp.	1	0,96
			miješana anerobna kultura	1	0,96
Ukupno/Total	108	100		104	100

Tablica 3. Raspodjela bolesnika s bakterijskim meningitisom prema spolu i izolatu iz CSL**Table 3.** Distribution of patients with bacterial meningitis by gender and bacterial isolate from CSF

Uzročnici/Pathogens	Spol/Gender		Ukupno/ Total
	Muški spol/ Male Broj/No (%)	Ženski spol/ Female Broj/No (%)	
1. Izvanbolnički uzročnici (n = 108) / Community-acquired pathogens			
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	20	22	42
<i>Neisseria meningitidis</i>	18	15	33
<i>Listeria monocytogenes</i>	11	5	16
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	5	6
Ostali izvanbolnički patogeni/Other community-acquired pathogens	4	7	11
Ukupno/Total (%)	54 (50%)	54 (50%)	108
2. Bolnički uzročnici (n = 104)/ Nosocomial pathogens			
KNS/CoNS	26	10	36
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	5	13
<i>Acinetobacter baumannii</i>	7	4	11
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	9	18
Ostali bolnički patogeni/Other nosocomial pathogens	13	13	26
Ukupno/Total	63 (60,58%)	41 (39,42%)	104

Tablica 4. Raspodjela bolesnika s bakterijskim meningitisom prema dobi i izolatu iz CSL**Table 4.** Distribution of patients with bacterial meningitis by age and bacterial isolate from CSF

Uzročnici/Pathogens	Dobna podjela (godine)/Age distribution (years)							Ukupno/ Total
	<1.	2. – 4.	5. – 14.	15. – 24.	25. – 49.	50. – 64.	>65.	
KNS/CoNS	3	1	3	3	7	10	9	36
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6	5	2	1	5	11	12	42
<i>Neisseria meningitidis</i>	4	4	4	9	6	3	3	33
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	3	4	4	7	18
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	0	0	0	2	7	6	16
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3	0	0	0	3	0	5	11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0	0	1	2	3	6	13
<i>Escherichia coli</i>	1	0	0	1	0	0	2	4
<i>Streptococcus agalactiae</i>	4	0	0	0	1	1	0	6
Ostale enterobakterije/ Other <i>Enterobacteriaceae</i>	4	0	0	0	1	2	5	12

50 godina 81,25 % (13/16) izolata, od kojih je šest starije od 65 godina. Jedan izolat je detektiran u uzorku likvora novorođenčeta.

S. agalactiae (BHS-B) je bio uzročnik neonatalnog meningitisa u 50 % novorođenčadi (3/6 izolata).

S. aureus je izoliran iz likvora osoba starijih od 65 godina u 38,89 % (7/18) izolata.

Koagulaza negativnih stafilokoka je, kao što je očekivano, izolirano najviše u populaciji starijih od 50 godina

52,78 % (19/36) izolata i uglavnom su vezani uz prisutnost drenažnog sustava (shunt meningitis).

Iz uzoraka bolesnika starijih od 65 godina učestalo su izolirani i nefermentativni gram-negativni štapići, *P. aeruginosa* u šest od 13 uzoraka (46,15 % izolata) i *Acinetobacter baumannii* u pet od 11 uzoraka (45,45 % izolata).

Klebsiella pneumoniae, koja je u tablici 4. prikazana zbirno s ostalim enterobakterijama, je izolirana iz ukupno sedam uzoraka odnosno iz dva likvora djece do jedne go-

Tablica 5. Rezistencija na antibiotike izolata *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *E. faecium* i *E. coli* izoliranih iz likvora

Table 5. Antibiotic resistance of isolates *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *E. faecium* and *E. coli*, isolated from cerebrospinal fluid

Uzročnik/Pathogen		Antibiotici/Antibiotics	Broj rezistentnih/broj ukupnih izolata Number of resistant isolates/ Total number of isolates	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		Penicillin	7/27	
		Ceftriaxone I	1/27	
		Ceftriaxone R	0/27	
<i>Staphylococcus aureus</i>		Oxacillin/Met R	5/18	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Ceftazidime R	3/13	
		Meropenem R	6/13	
		Meropenem I	2/13	
		Colisitini R	1/13	
<i>Acinetobacter baumannii</i>		Meropenem R	8/11	
		Colistin R	0/11	
		Ampicillin-sulbactam R	0/11	
		Ampicillin-sulbactam I	1/11	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		Gentamicin R	5/7	
		Amikacin R	0/7	
		Amikacin I	1/7	
		3rd generation of Cephalosporines R	5/7	
		ESBL	5/7	
		Meropenem R	0/7	
<i>Escherichia coli</i>		Gentamicin R	0/4	
		Ceftriaxon R	0/4	
		Meropenem R	0/4	
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	Aminopenicillins R	0/5	1/1
		Gentamicin R	4/5	1/1
		Vancomycin R	0/5	0/1

dine starosti, tri likvora u bolesnika starijih od 65 godina i dva likvora u skupini bolesnika od 50 do 64 godine.

Tijekom promatranog razdoblja je pet izolata, odnosno 27,78 %, *S. aureus* bilo rezistentno na metilicilin (MRSA). U četiri uzorka cerebrospinalnog likvora prisutnost *S. aureus* je dokazana samo *real time* PCR-om bez kultivacije i zato je antibiotski profil rađen za samo 14 izolata (Tablica 5).

Zastupljenost *Pseudomonas aeruginosa* među bolničkim uzročnicima je 12,5 % (13/104 izolata), a *A. baumannii* 10,58 % (11/104 izolata). Rezistencija na karbapeneme je iznosila 69,2 % za *P. aeruginosa* i 72,7 % za *A. baumannii* (Tablica 5).

Od sedam izoliranih *Klebsiella pneumoniae* (ili 3,3 % od ukupno 212 izolata), pet izolata (71,43 %) je produci-

rano betalaktamaze-proširenog spektra (engl. *extended spectrum beta-lactamase*, ESBL). Svi su sojevi bili osjetljivi na imipenem i meropenem, a samo je jedan ESBL soj bio rezistentan na ertapenem (Tablica 5).

Od 42 izolata *S. pneumoniae*, 27 je kultivirano i testirano na antibiotsku osjetljivost. Ostali su dokazani *real time* PCR-om.

Neisseria meningitidis je u većini slučajeva dokazana samo molekularnom dijagnostikom. Tri izolata *N. meningitidis* su bila smanjeno osjetljiva na penicilin, a za 2 izolata je utvrđena i minimalna inhibitorna koncentracija (MIK 0,25 mg/L i 0,19 mg/L). Svi izolati su bili osjetljivi na ceftriakson (MIK \leq 0,002 mg/L).

Listeria monocytogenes je u 7/16 uzoraka likvora dokazana samo metodom *real time* PCR. Svi testirani izolati

L. monocytogenes bili su osjetljivi na ampicilin i sulfometoksazol-trimetoprim.

Svi ispitivani sojevi *Streptococcus agalactiae*, najznačajnijeg uzročnika neonatalnog meningitisa, su bili osjetljivi na penicilin.

U pojedinačnim slučajevima iz uzoraka su izolirani sojevi: *Serratia marcescens* izolirana iz uzorka likvora jednogodišnjeg dječaka 2012. godine i uobičajene osjetljivosti na antibiotike (rezistentna na amoksicilin, amoksicilin s klavulanskom kiselinom i cefaleksin); *Bordetella bronchiseptica* koja je 2011. godine izolirana iz uzorka likvora muškarca u dobi od 67 godina i dobre osjetljivosti na ceftazidim, cefepim, piperacilin-tazobaktam, aminoglikozide i karbapeneme; *Haemophilus influenzae* tip b koji je izoliran 2011. godine iz likvora muškog novorođenčeta bio je osjetljiv na amoksicilin; a iste godine iz likvora bolesnice u dobi od 76 godina *Haemophilus influenzae* non b tip izoliran rezistentan na amoksicilin. *Aeromonas hydrophila* koji je 2011. godine izoliran iz likvora bolesnice od 46 godina bio je osjetljiv na amikacin, kolistin i sulfametoksazol-trimetoprim, smanjeno osjetljiv na imipenem i meropenem te rezistentan na ceftriakson. Beta hemolitički streptokok grupe C izoliran 2012. godine iz likvora ženske osobe (54 godine) bio je dobro osjetljiv na penicilin, ali rezistentan na makrolide i klindamicin.

Rasprava

Specifična etiologija bakterijskih meningitisa vezana je uz izvor infekcije (bolničke/ izvanbolničke infekcije) [7], dob pacijenta i komorbiditete. U KIB u promatranom razdoblju zabilježen je podjednaki broj bakterijskih meningitisa uzrokovan patogenima bolničkog (KNS, MRSA, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*) i izvanbolničkog porijekla (*S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *L. monocytogenes*).

Broj bolesnika s bakterijskim meningitisom i bolničkim izolatima posebno je velik jer se u Zavodu za intenzivnu njegu i neuroinfektologiju u Jedinici intenzivnog liječenja djece Klinike liječe i neurokirurški pacijenti. Većina KNS izolata proglašena je kontaminacijom, a oni koji su smatrani klinički značajnima bili su vezani uz postojanje likvorskog drenažnog sustava sukladno nalazima drugih autora [10, 11, 37]. Najčešći bolnički uzročnici meningitisa su bile gram-negativne bakterije (42,5 %) što odgovara rezultatima Durand i kolega (40 %) [10].

Dob je vrlo važan čimbenik za incidenciju i etiologiju bakterijskog meningitisa i raspodjela najčešćih izvanbolničkih uzročnika u našem ispitivanju se podudara s većinom radova [13–16]. Do uvođenja obaveznog cijepljenja, *H. influenzae* tipa b je, uz *S. pneumoniae* i *N. meningitidis*, bio vodeći uzročnik bakterijskog meningitisa u populacije djece do dvije godine. Sada se javlja izuzetno rijetko kao

uzročnik meningitisa u najmlađih što potvrđuje i naša studija sa samo jednim izolatom (0,47 %) *H. influenzae* tipa b i to u novorođenčeta [6, 12]. U zemljama s obavezanim cijepljenjem protiv *S. pneumoniae* incidencija meningitisa uzorkovana pneumokokom je značajno pala u djece mlađe od dvije godine [17, 18, 19, 20, 38]. U promatranom razdoblju *S. pneumoniae* je u djece bio najčešći izvanbolnički izolat. U Hrvatskoj se pneumokokno cjepivo primjenjuje u zaštiti rizičnih skupina (splenektomiranih, bolesnika s malignim bolestima, bolesnika s kroničnom opstruktivnom plućnom bolešću, dijabetičarara, alkoholičara, imunokompromitiranih), a dostupno je prema preporuci pedijatra ili internista. Uvođenje ovog cjepiva u program obaveznog cijepljenja [17, 18] je u Hrvatskoj još tema rasprava stručnjaka. *Streptococcus pneumoniae* je bio najčešći izolat (19,81 % svih izolata, odnosno 38,9 % izvanbolničkih patogena). Više od polovice pozitivnih izolata je detektirano u dvije dobne skupine, u populaciji starijih od 65 godina (28,57 %) i u skupini do pet godina (26,19 %). Sličnu dobnu distribuciju pokazuju i druga istraživanja [19, 20]. Prema podacima Odbora za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj, 2011. godine 19 % izolata pneumokoka iz likvora je bilo smanjeno osjetljivo na peniciline [39] što odgovara i našim rezultatima (22,2 % smanjeno osjetljivih na penicilin). Standardi za interpretaciju smanjene osjetljivosti pneumokoka na penicilin su se često mijenjali i u američkim i u europskim standardima, no u slučaju infekcija središnjeg živčanog sustava (SŽS) interpretacija osjetljivosti se nije mijenjala i dobro osjetljivi sojevi moraju imati minimalnu inhibitornu koncentraciju od $\leq 0,06$ mg/L. Iako je u promatranom razdoblju zabilježen samo jedan izolat pneumokoka smanjeno osjetljiv i niti jedan rezistentan na ceftriakson, u svijetu zabrinjava pojava takvih izolata s obzirom da je spomenuti antibiotik čest izbor u empirijskoj i ciljanoj terapiji bakterijskih meningitisa. Stoga se sve češće proporuča kombinirana empirijska terapija, ceftriakson i vankomicin.

Neisseria meningitidis je i dalje čest izvanbolnički uzročnik meningitisa iako se Hrvatska ne ubraja u zemlje s visokom stopom incidencije. U promatranom trogodišnjem razdoblju *N. meningitidis* često je izolirana u djece do 5 godina starosti (8/33 bolesnika), ali i u skupini bolesnika od 15 do 24 godine (9/33 bolesnika), kao i u skupinama odraslih od 25 do 49 godina (6/33 bolesnika) te u starijih od 50 godina (6/33 bolesnika). U većini radova opisana je slična dobna distribucija za meningokokni meningitis koja ovisi o zemljopisnom položaju i o serogrupi *N. meningitidis* [21, 22, 23]. Većina naših meningokoknih meningitisa je dokazana samo *real time* PCR-om (50 %) koji se kao dijagnostička metoda sve češće koristi s obzirom da liječnici slijede preporuke struke i u slučaju sumnje na invazivnu meningokoknu bolest odmah primjenjuju antibiotsku terapiju. U ovom razdoblju smo uočili pojavu izolata *N. meningitidis* sa smanjenom osjetljivošću

na penicilin, tri od devet izolata (33,33 %) i to odgovara podacima koji se posljednjih godina nalaze u literaturi (raspon smanjene osjetljivosti od 30 % do 40 %) [24, 25]. Proizvodnja penicilinaza koja uzrokuje visoku rezistenciju na penicilin, u meningokokima u ovom istraživanju nije zabilježena.

Listeria monocytogenes je očekivano uzrokovala meningitise u starijim dobnim skupinama, a zabilježena je i kao uročnik jednog neonatalnog meningitisa. Ti podaci odgovaraju literaturi u kojoj se listerija ističe kao uzročnika o kojem treba sve više razmišljati u etiologiji bakterijskog meningitisa odraslih i imunokompromitiranih osoba [26–29].

Staphylococcus aureus je najčešće izoliran iz likvora osoba starijih od 65 godina (38,89 %). To je uobičajena dobnost distribucija za ovog uzročnika jer se medijan dobnog raspona kreće od 43,4 godine [30] do 67 godina [31]. Podaci Odbora za 2011. i 2012. godinu pokazuju da je *S. aureus* iz invazivnih uzoraka u 27 %, odnosno u 22 % izolata bio rezistentan na oksacilin (MRSA sojevi) [39, 40] što odgovara našim rezultatima od 27,77 % MRSA izolata. Iako je danas osjetljivost stafilokoka na penicilin izuzetno rijetka, u našem smo radu zabilježili dva izolata dobro osjetljiva na penicilin, oba u osoba starije dobi.

Izolati *P. aeruginosa* su bili rezistentni na većinu testiranih antibiotika uključujući karbapeneme stoga su u čak 68,2 % slučajeva preporuke kliničarima bile da se primijene mjere kontaktne izolacije. U jednog se pacijenta tijekom liječenja razvila visoka rezistencija na kolistin uz istovremeno očuvanu osjetljivost na ciprofloksacin i amikacin. U promatranom razdoblju rezistencija *P. aeruginosa* je bila 69,23 % na imipenem i 46,15 % na meropenem. Odbor za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike u RH je u 2011. godini [39] na nacionalnoj razini zabilježio rezistenciju na karbapeneme od 30 %, odnosno 21 % u 2012. godini [40] što je zamjetno niže od rezistencije u naših izolata.

Acinetobacter baumannii je najčešće izoliran iz uzoraka starijih bolesnika a tri su izolata bila iz likvora djece do dvije godine starosti. Od testiranih *Acinetobacter baumannii*, osam je zahtijevalo mjere kontaktne izolacije zbog rezistencije na karbapeneme. Sojevi izolirani kod djece bili su dobro osjetljivi.

Klebsiella pneumoniae izolirana iz likvora naših bolesnika imala je u 71 % izolata ESBL mehanizam rezistencije. U vrijeme sve češće pojave rezistencije *K. pneumoniae* na karbapeneme u Europi značajan je podatak da su svi naši sojevi pa tako i ESBL sojevi bili osjetljivi na meropenem.

Očekivano najčešći uzročnik neonatalnog meningitisa bio je *Streptococcus agalactiae* (beta-hemolitički streptokok grupe B, BHS-B) (50 %) što još jednom govori u prilog testiranju trudnica na BHS-B u periodu od 35. do 37. tjedna trudnoće.

Zaključak

Iako je bakterijski meningitis sve češće bolnička infekcija i dalje su najčešći uzročnici kao i prije 100-tinjak godina izvanbolnički patogeni *Streptococcus pneumoniae* i *Neisseria meningitidis*. Učestalost *Haemophilus influenzae* je, međutim, značajno smanjena s obzirom da je u RH uvedeno obavezno cijepljenje 2002. godine. *Streptococcus pneumoniae* je najčešći izvanbolnički uzročnik bakterijskog meningitisa. Smanjena osjetljivost izolata pneumokoka na penicilin je dosta česta, međutim posebno zabrinjava pojava jednog izolata smanjene osjetljivosti na ceftriakson. U starijoj populaciji kao izvanbolnički patogen češće se izolira i *Listeria monocytogenes*. Među bolničkim patogenima su najbrojniji koagulaza negativni stafilokoki izolirani iz uzoraka bolesnika s likvorskim drenažnim sustavom. Trećina *Staphylococcus aureus* je bila MRSA. Gram-negativne bakterije dominiraju kao bolnički patogeni, a među njima kao najbrojniji i rezistentni na karbapeneme su *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*. Ovi uzročnici predstavljaju veliki izazov ne samo u liječenju meningitisa već i u kontroli bolničkih infekcija.

Literatura

- [1] Attia J, Hatala R, Cook DJ, Wong JG. The rational clinical examination. Does this adult patient have acute meningitis? JAMA 1999; 282(2): 175–81.
- [2] Greenwood B. 100 years of epidemic meningitis in West Africa – has anything changed? TM&IH 2006; 11(6): 773–80.
- [3] Vieusseux G. Mémoire sur le Maladie qui a regné à Genève au printemps de 1805". Journal de Médecine, de Chirurgie et de Pharmacologie (Bruxelles) (in French) 1806; 11: 50–53.
- [4] Weichselbaum A. Ueber die Aetiologie der akuten Meningitis cerebro-spinalis. Fortschritt der Medizin (in German) 1887; 5: 573–583.
- [5] Pong A, Bradley JS. Bacterial meningitis and the newborn infant. Infect Dis Clin North Am 1999; 13(3): 711–733.
- [6] Knezović I, Čeljuska-Tošev E, Kovačević G, Tešović G. Invazivne bakterijske bolesti – prije i nakon uvođenja cijepljenja protiv *Haemophilus influenzae* tipa B. Paediatr Croat 2011; 55(Supl 1): 91–97.
- [7] Brouwer MC, Allan R, van de Beek T i D. Epidemiology, Diagnosis, and Antimicrobial Treatment of Acute Bacterial Meningitis. Clin Microbiol Rev 2010; 23(3): 467–492.
- [8] Jakab E, Zbinden R, Gubler J, Ruef C. Severe Infections Caused by *Propionibacterium acnes*. Yale J Biol Med 1996; 69: 477–482.
- [9] Sarguna P, Lakshmi P. Ventriculoperitoneal shunt meningitis. Indian J Med Microbiol 2006; 24(1): 51.
- [10] Durand ML, Calderwood SB, Weber DJ et al. Acute bacterial meningitis in adults. A review of 493 episodes. N Engl J Med 1993; 328: 21–28.
- [11] Hussein AS, Shafran SD. Acute bacterial meningitis in adults. A 12-year review. Medicine (Baltimore). 2000; 79: 360–368.

- [12] McMillan DA, Lin CY, Aronin SI, Quagliarello VJ. Community-acquired bacterial meningitis in adults: categorization of causes and timing of death. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 969–975.
- [13] Thigpen MC, Rosenstein NE, Whitney CG, et al. Bacterial meningitis in the United States – 1998–2003. In: Program and Abstracts of the 43rd Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America. San Francisco, CA. 2005: 46.
- [14] Schlech WF III, Ward JI, Band JD, et al. Bacterial meningitis in the United States, 1978 through 1981. The National Bacterial Meningitis Surveillance Study. *JAMA* 1985; 253: 1749–1754.
- [15] Schuchat A, Robinson K, Wenger JD, et al. Bacterial meningitis in the United States in 1995. *N Engl J Med* 1997; 337: 970–976.
- [16] Hussein AS, Shafran SD. Acute bacterial meningitis in adults. A 12-year review. *Medicine (Baltimore)*. 2000; 79: 360–368.
- [17] Rose M, Zielen S. Impact of infant immunization programs with pneumococcal conjugate vaccine in Europe. *Expert Rev Vaccines* 2009; 8: 1351–1364.
- [18] Kyaw MH, Lynfield R, Schaffner W, et al. Active Bacterial Core Surveillance of the Emerging Infections Program Network. Effect of introduction of the pneumococcal conjugate vaccine on drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *N Engl J Med* 2006; 354: 1455–63.
- [19] Epidemiology of Meningitis Caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*, CDC, 2012.
- [20] O'Brien KL, Wolfson LJ, Watt JP, et al. Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates. *Lancet* 2009; 374: 893–902.
- [21] Van Deuren M, Meis JF. Meningococcal disease. *N Engl J Med* 2001, 345(9): 699.
- [22] Stephens DS, Greenwood B, Brandtzaeg P. Epidemic meningitis, meningococcaemia, and *Neisseria meningitidis*. *Lancet* 2007; 369(9580): 2196–2210.
- [23] Kim SA, Kim DW, Dong BQ, Kim JS, Anh DD, Kilgore PE. An expanded age range for meningococcal meningitis: molecular diagnostic evidence from population-based surveillance in Asia. *BMC Infect Dis* 2012; 12: 310.
- [24] Temime L, Boëlle PY, Courvalin P, Guillemot D. Bacterial Resistance to Penicillin G by Decreased Affinity of Penicillin-Binding Proteins: A Mathematical Model. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 411–417.
- [25] Afifi S, Wasfy MO, Azab MA, et al. Laboratory-based surveillance of patients with bacterial meningitis in Egypt (1998–2004). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007; 26(5): 331–40.
- [26] Bennion JR, Sorvillo F, Wise ME, Krishna S, Mascola L. Decreasing listeriosis mortality in the United States, 1990–2005. *Clin Infect Dis* 2008; 47: 867–874.
- [27] Cabellos C, Verdaguier CR, Olmo M, et al. Community-acquired bacterial meningitis in elderly patients: experience over 30 years. *Medicine (Baltimore)* 2009; 88: 115–119.
- [28] Clauss HE, Lorber B. Central nervous system infection with *Listeria monocytogenes*. *Curr Infect Dis Rep* 2008; 10: 300–306.
- [29] Weisfelt M, van de Beek D, Spanjaard L, Reitsma JB, de Gans J. Community-acquired bacterial meningitis in older people. *J Am Geriatr Soc* 2006; 54: 1500–1507.
- [30] Huang WC, Lee CH, Liu JW. Clinical Characteristics and Risk Factors for Mortality in Patients with Meningitis Caused by *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Immunol Infect* 2010; 43(6): 470–477.
- [31] Pedersen M, Benfield TL, Skinhoj P, Jensen AG. Haematogenous *Staphylococcus aureus* meningitis. A 10-year nationwide study of 96 consecutive cases. *BMC Infect Dis* 2006; 6: 49.
- [32] Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. Principles of diagnostic medical microbiology. Jawetz, Melnick & Adelberg, Medical Microbiology, 25. izd. New York, Lange Medical Book, 2010: 703–733.
- [33] Perry JL. Utility of cytocentrifugation for direct examination of clinical specimens. *Clin Microbiol News*; 1995; 17: 29–32.
- [34] Kilian M i Bieberstein EL. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Genus II. Haemophilus*. 2. izd. Baltimore: Williams & Wilkins. 1984; 4.
- [35] Hoffman O, Weber RJ. Pathophysiology and Treatment of Bacterial Meningitis. *Neurological Disorders* 2009; 2(6): 1–7.
- [36] Dawson KG, Emerson JC, Burns JL. Fifteen Years of experience with bacterial meningitis. *Ped Infect Dis J* 1999; 18(9): 812–822.
- [37] Weinstein MP, LaForce FM, Mangi RJ, Quintiliani R. Non-pneumococcal Gram-positive coccal meningitis related to neurosurgery. *J Neurosurg* 1977; 47(2): 236–40.
- [38] Bingen E, Levy C, Varon E, et al. Pneumococcal meningitis in the era of pneumococcal conjugate vaccine implementation. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008; 27(3): 191–9.
- [39] Tambić Andrašević A, Šoprek S. Praćenje rezistencije na antibiotike u invazivnih izolata. U: Tambić Andrašević A, Tambić T, ur. Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj u 2011. g. Zagreb: Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, 2011: 111–123.
- [40] Tambić Andrašević A, Šoprek S. Praćenje rezistencije na antibiotike u invazivnih izolata. U: Tambić Andrašević A, Tambić T, ur. Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj u 2012. g. Zagreb: Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, 2012: 113–124.