

Včasná invazívna pľúcna aspergilóza s fatálnym koncom u pacientky s akútnou lymfoblastovou leukémiou

MUDr. Miroslav Gašpar¹, doc. MUDr. Ľuboš Drgoňa, CSc.², RNDr. Miroslava Póczová, PhD.¹, RNDr. Martina Sládeková¹

¹HPL, spol. s r. o., Oddelenie mykológie, Bratislava

²II. onkologická klinika LF UK a NOÚ, Bratislava

Ciel: Hlavným cieľom tejto publikácie je poukázať na zložitosť problematiky starostlivosti o pacientov s hematoonkologickým ochorením so zameraním sa na infekčnú komplikáciu – invazívnu pľúcnu aspergilózu.

Prípad (kazuistika): Prezentujeme kazuistiku 49-ročnej pacientky liečenej na akútnu lymfoblastovú leukémiu. Vo včasnom období po transplantácii došlo napriek kombinovanej antimikrobiálnej liečbe k nástupu febrilit a dýchavičnosti. Vzhľadom na klinický stav imunosuprimovanej pacientky a rádiologický nález suspektných zápalových zmien na pľúcach bola antibiotická aj antimykotická liečba zmenená. Respiračná symptomatológia progredovala a stav si vynútil umelú pľúcnu ventiláciu. Realizovaná bronchoskopia preukázala štrukturálne zmeny bronchiálnej sliznice. Výsledky laboratórných analýz bronchoalveolárnej laváže svedčili o mykotickej infekcii – pľúcnej aspergilóze s kultivačným nálezom *Aspergillus flavus*. Napriek intenzívnej komplexnej liečbe vyústil stav pacientky do multiorgánového zlyhania a na deň D +27 po transplantácii lekári konštatovali *exitus letalis*. Pitevný nález potvrdil invazívnu pľúcnu aspergilózu.

Záver: Akútna leukémia a jej liečba predstavuje zvýšené riziko rozvoja systémových mykóz u daných pacientov – predovšetkým invazívnej aspergilózy. Letalita na invazívnu aspergilózu v tejto rizikovej skupine predstavuje v priemere 50 %. Vzhľadom na túto skutočnosť je na záchranu života nevyhnutné infekciu včas diagnostikovať a adekvátne liečiť.

Kľúčové slová: invazívna pľúcna aspergilóza, bronchoalveolárna laváž, *Aspergillus flavus*, akútna lymfoblastová leukémia, autológna transplantácia krvotvorných buniek.

Early invasive pulmonary aspergillosis with fatal outcome in a patient with acute lymphoblastic leukemia

Purpose: The main objective of this publication is to highlight the complexity of the issue of care for patients with hemato-oncological disease, with a focus on infectious complication – invasive pulmonary aspergillosis.

Case: We present a case report of a 49-year-old patient treated for acute lymphoblastic leukemia. In the early post-transplant period, in spite of combined antimicrobial treatment, an onset of fever and dyspnoe occurred. Because of the clinical condition of our immunosuppressed patient, as well as radiological finding of suspected inflammatory changes in the lung, antibiotic and antifungal therapy was changed. Respiratory symptoms progressed and the state extorted artificial ventilation. Realized bronchoscopy showed structural changes in bronchial mucosa. The results of laboratory analyses of bronchoalveolar lavage testified to fungal infection – pulmonary aspergillosis, with the cultures of *Aspergillus flavus*. Despite intensive complex treatment, the patient's condition led to multiple organ failure and on the Day D +27 after transplantation physicians stated *exitus letalis*. Autopsy confirmed invasive pulmonary aspergillosis.

Conclusion: Acute leukemia and its treatment is an increased risk of systemic fungal infections in those patients – especially invasive aspergillosis. The fatality rate for invasive aspergillosis in this risk group represents on average 50 %. With this in mind, it is necessary for life-saving to diagnose the infection in time and treat it appropriately.

Key words: invasive pulmonary aspergillosis, bronchoalveolar lavage, *Aspergillus flavus*, acute lymphoblastic leukemia, autologous stem cell transplantation.

Úvod

Akútna lymfoblastová leukémia (ALL) predstava najčastejšie sa vyskytujúci typ leukémie u detí, ale vyskytuje sa aj v dospeljej populácii. Najvyššiu incidenciu dosahuje v Taliansku, USA, vo Švajčiarsku a na Kostarike (1). Prognóza ochorenia závisí od viacerých faktorov (veku pacienta, cytogenetických zmien, počtu leukocytov, nástupu kompletnej remisie po nasadení iniciálnej terapie, pohlavia, rasy, postihnutia centrálného nervového systému (CNS)). Vo všeobecnosti sa uvádza lepšia prognóza u detí než u dospelých (1). Manažment liečby ALL

je veľmi náročný a vyžaduje *compliance* pacienta. Vzhľadom na charakter terapie sa vyskytujú rôzne dlhé obdobia, počas ktorých je pacient v imunosupresii. Práve tieto podmienky sú vhodné na uplatnenie sa patogénnych aj podmienených patogénnych mikroorganizmov ako pôvodcov infekčných komplikácií základného ochorenia. Infekcie vyvolané vlákňitými hubami rodu *Aspergillus* sa významne podieľajú na morbidite a mortalite pacientov s akútnymi leukémiami. Letalita na invazívnu pľúcnu aspergilózu (IPA) dosahuje v priemere hodnotu 50 % (2). Nami uvádzaná kazuistika pacientky

Onkológia (Bratisl.), 2015; roč. 10(2): 116–120

s ALL opisuje nepriaznivý priebeh príhovejania štepu po autológnej transplantácii krvotvorných buniek so závažnou infekciou pľúc vyvolanou vlákňitou hubou *Aspergillus flavus*. Význam tejto kazuistiky spočíva v tom, že upozorňuje na problematiku IPA aj u pacientov, ktorí nie sú v skupine s vysokým rizikom jej vzniku (3).

Kazuistika

Ide o 49-ročnú pacientku, ktorá v detstve a dospelosti prekonala bežné ochorenia a okrem kombinovanej hormonálnej substitučnej liečby

(estrogén + gestagén) neužívala žiadne lieky. Na jeseň v roku 2010 začala mať zdravotné ťažkosti v podobe bolestí pod lopatkou, na prsiach a pocit dýchavičnosti pri námahe. V klinickom obraze dominovali aj zväčšené lymfatické uzliny nad kľúčnymi kosťami. Na RTG snímke hrudníka (RTG – röntgen) sa zistilo rozšírenie tieňa mediastína, preto následne absolvovala CT vyšetrenie (CT – *computed tomography*, počítačová tomografia), pri ktorom bol opísaný cystický útvar parakardiálne vpravo. Ešte v decembri toho istého roku pacientka podstúpila operáciu hrudníka s cieľom získania biopptickej vzorky z daného tkaniva. Bolo vyslovené podozrenie na T-ALL, respektíve T-lymfoblastový lymfóm (T-LBL). Na spresnenie diagnózy bolo nutné vykonať exstirpáciu lymfatickej uzliny na krku a trepanobiopsiu kostnej drene. Vo februári 2011 sa potvrdila diagnóza T-ALL/T-LBL mediastína s bilaterálnou lymfadenopatiou supraklavikulárne. Pacientka bola v sledovaní onkologickej kliniky a liečená podľa nemeckého protokolu GMALL (*German Multicenter ALL*) s efektom kompletnej remisie ochorenia. Podstúpila aj profylaktickú rádioterapiu zameranú na CNS a neskôr na mediastínium. Počas konsolidácie v júni 2011 došlo po podávaní metotrexátu k akútnej renálnej insuficiencii, ktorá si vyžiadala opakovanú hemodialýzu. Pre pretrvávanie elevácie renálnych parametrov bola pacientke podávaná kokarboxyláza s dobrým efektom. Postupne bola pripravovaná na plánovanú autológnu transplantáciu krvotvorných buniek.

Dňa 30. augusta 2011 bola prijatá na transplantáciu jednotku kostnej drene, kde bol začatý vysokodávkový chemoterapeutický režim BEM (karmustín, etopozid, melfalán). Pacientke bolo odo dňa D -8 pred termínom transplantácie profylakticky podávané antibiotikum (ATB) ofloxacin. Autológna transplantácia kostnej drene sa realizovala dňa 7. septembra 2011 a prebehla bez závažných komplikácií. V deň D 0 sa pacientke k dovtedy podávanej liečbe jednorazovo pridalo aj ATB vankomycín a antimikrobiálna profylaxia sa rozšírila o antimykotikum (ATM) flukonazol a odo dňa D +2 aj antivirotikum aciklovir, ktoré bolo následne zmenené na valaciclovir (od D +7). Na urýchlenie obnovy vlastnej krvotvorby pacientka dostávala hematopoetický rastový faktor filgrastim (od D 0). Priebeh liečby a prihojovania transplantátu bol komplikovaný výraznejším intermitentným dysfunkčným krvácaním z pošvy po predošlom vysadení hormonálnej substitučnej liečby. Bolo nutné opakované podávanie hemostyptík, krvných derivátov a progesterónu, avšak len s krátkodobým efektom. Pre nástup

febrilit bola ATB liečba zmenená a odo dňa D +5 pacientka dostávala cefepím. Kultivačné vyšetrenie moču bolo pozitívne v zmysle významnej bakteriúrie s nálezom *Escherichia coli* v kvantite > ako 10^5 cfu/ml a *Enterococcus* sp. 10^3 cfu/ml. Pridružili sa aj hnačky, avšak mikrobiologicky bez nálezu etiologického agensa. Pre opakované febrility boli v deň D +9 odobraté hemokultúry (HK) s pozitívnym nálezom *Staphylococcus epidermidis* z centrálného venózneho katétra. Klinický stav pacientky sa napriek komplexnej liečbe nezlepšoval a počas dňa D +12 sa objavili febrility 39°C , kašeľ a dyspnoe. Realizované HRCT (*high resolution computed tomography*, počítačová tomografia s vysokým rozlíšením) vyšetrenie pľúc ukázalo zmeny pľúcneho parenchýmu charakteru konsolidácie so vzdušným bronchogramom (*air bronchogram*) a početnými nodulmi typu mliečného skla (GGO – *ground-glass opacity*) s príznakom halo v okolí suspektnej zápalovej etiológie. Vzhľadom na tento nález bola ATB liečba zmenená na meropepením a pre možný zápal pľúc mykotickej etiológie bol do liečby pridaný lipidický amfotericín B. Sérový galaktomanán (GM, antigén vláknitých húb – predovšetkým zástupcov rodu *Aspergillus*) bol negatívny, s hodnotou indexu pozitivity IP = 0,02. Po získaní výsledkov *in vitro* citlivosti kmeňa *S. epidermidis* z HK (D +13) bol do ATB liečby pridaný vankomycín. Z dôvodu pretrvávania kašľa bola v deň D +19 vyhotovená RTG snímka hrudníka s nálezom obláčikovitého zatienenia v ľavom dolnom pľúcnom poli. Sérový GM bol v porovnaní s predošlým nálezom zvýšený (IP = 0,47), ale ešte v pásme negativity. O dva dni neskôr bol pre suspektnú postradiačnú pľúcnu toxicitu do liečby pridaný dexmetazón, avšak bez efektu. V deň D +22 sa objavila triaška bez zvýšenia telesnej teploty. ATB liečba bola preto zmenená na sulperazón a amikacín. Pri kontrolnom HRCT vyšetrení pľúc sa zistila progresia nálezu vľavo. Ďalší deň pacientka absolvovala pneumologické vyšetrenie, pri ktorom bola opísaná zmiešaná reverzibilná ventilačná porucha ľahkého stupňa s odporúčaním pokračovať v podávaní antimikrobiálnej, podpornej a symptomatickej liečby. Počas celého priebehu hospitalizácie po transplantácii bola pacientka pancytopenická s veľmi pomalou regeneráciou hematopoézy. Vzhľadom na opakovanú metrorágiu gynekológ odporučil kyretáž maternice v krátkodobej celkovej anestézii po adekvátnej príprave. Výkon bol realizovaný dňa 30. septembra 2011 (D +23). Po návrate na oddelenie bola pacientka dyspnoická, hyposaturovaná, s inspiračnými a expiračnými piskotmi, s obrazom dekompenzácie v malom krvnom obehu. Stav bol prechodne zlepšený symptoma-

tickou liečbou, ale na ďalší deň (D +24) sa dyspnoe zvýraznilo. Realizovaná RTG snímka nepreukázala progresiu nálezu. V ďalšom priebehu ochorenia sa rozvinula respiračná insuficiencia, ktorú nebolo možné korigovať ani kombinovanou symptomatickou liečbou pri oxygenoterapii cez kyslíkovú (O_2) masku s prietokom 10 až $15 \text{ l O}_2/\text{min}$. V deň D +25 bola pacientka preložená na oddelenie anestéziológie a intenzívnej medicíny s cieľom napojenia na umelú pľúcnu ventiláciu (UPV). Na UPV stúpala požiadavka na inspiračnú frakciu O_2 , s nízkou pľúcnou poddajnosťou. Dňa 3. októbra 2011 (D +26) bola realizovaná bronchoskopia s odberom vzorky tkaniva na cytologické vyšetrenie a bronchoalveolárnej laváže (BAL) na mikrobiologické analýzy. Pri bronchoskopii boli opísované nekrotické masy v pravom bronchiálnom strome, výrazne prekrvená sliznica a podozrenie na tumorózny proces. Pre stúpajúce zápalové parametre a kultivačný nález *Stenotrophomonas maltophilia* z HK z periférnej žily bola ATB liečba v deň D +27 doplnená o kolistín. V ten istý deň boli z mikrobiologického laboratória hlásené pozitívne nálezy – vláknité huby kultivačne a pozitívny GM v BAL (IP = 11,96). Pacientka bola cirkulačne instabilná, bolo potrebné zvyšovať dávku noradrenalinu až do 800 ng/kg/min . Súčasne došlo k tachydysrytmii v zmysle fibrilácie predsiení, ktorú sa nepodarilo korigovať ani kombináciou betablokátora s antiarytmikom. Došlo k progresii multiorgánového zlyhávania a napriek intenzívnej liečbe nastala dňa 4. októbra 2011 (D +27) asystólia a *exitus letalis*. Dodatočne boli k dispozícii výsledky analýz z bronchoskopie: histologický obraz pľúcnej aspergilózy z biopptickej vzorky tkaniva (bez prítomnosti maligných buniek) a mikrobiologický mikroskopický nález hýf v natívnom preparáte z BAL (hýfy = vláknité elementy mikroskopických, predovšetkým vláknitých húb). Kultivačne bol potvrdený *A. flavus* v kvantite 10^3 – 10^4 cfu/ml. *In vitro* citlivosť izolátu na ATM preukázala tieto hodnoty MIC – minimálnej inhibičnej koncentrácie (mg/l): amfotericín B (3,0), vorikonazol (0,125), posakonazol (0,064), itraconazol (0,38), kaspofungín (0,023), mikafungín (0,002), anidulafungín (0,064). Početné mikrobiologické vyšetrenia zahŕňali okrem aeróbnej kultivácie aj ďalšie analýzy – všetky s negatívnym nálezom: stanovenie antigénov (adenovírus, respiračný syncytiálny vírus, vírus chrípky A a B), kultiváciu na *Mycobacterium tuberculosis* komplex a stanovenie nukleovej kyseliny metódou PCR – *polymerase chain reaction*, polymerázová reťazová reakcia (*Mycobacterium tuberculosis*, *Pneumocystis jirovecii*, cytomegalovírus (CMV), vírus Epstein a Barrovej, vírus *herpes simplex* 1 a 2, *Chlamydia pneumoniae*,

Mycoplasma pneumoniae). Nariadená pitva (realizovaná 5. októbra 2011) potvrdila príčinu úmrtia – bilaterálnu aspergilovú bronchopneumóniu s rozsiahlym krvácaním do parenchýmu pľúc a tvorbou hyalinných membrán.

Diskusia

ALL patrí medzi malignity so stredným rizikom rozvoja oportúnnych infekcií (3). Invazívna aspergilóza (IA) je závažná infekčná komplikácia pacientov po transplantácii krvotvorných buniek s incidenciou < 2 % až 16 % (4). Medzi najvýznamnejšie rizikové faktory asociované s rozvojom IA patrí GvHD III. a IV. stupňa (*graft-versus-host disease*, reakcia štepu proti hostiteľovi), užívanie kortikosteroidných liečiv, dlhodobá neutropénia, deplécia T-lymfocytov, transplantácia krvotvorných buniek (vyššie riziko je po alogénnej transplantácii), imunosupresívna terapia, invazívna mykotická infekcia v anamnéze, akútne prebiehajúca CMV infekcia, nekontrolované základné ochorenie, mukozitída, konštrukčné práce v okolí, masívna transfúzna terapia/preťaženie železom (2). Dominantne izolovaným druhom rodu *Aspergillus* pri IA u imunokompromitovaných pacientov je *A. fumigatus* (56 – 64 %). Pomerne časté sú aj ďalšie druhy – *A. flavus* (14 – 18 %), *A. niger* (5 – 8 %), *A. terreus* (5 – 16 %) a iné (5). Diagnostika IPA je multidisciplinárna a jej pilierom sú aj paraklinické odbory (rádiológia, mikrobiológia). Pri podozrení na IPA je potrebné čo najskôr, ideálne ešte pred nasadením ATM liečby, zaslať biologické vzorky do mikrobiologického laboratória (priamo na oddelenie mykológie, ak je dostupné). Diagnosticky najcennejším materiálom je BAL získaná počas bronchoskopie (5, 6). Iné vzorky (odsatý sekrét z dýchacích ciest alebo spútum) sú z diagnostického hľadiska podstatne menej vhodným materiálom pri suspektnej IPA. Pozitívny nález vláknitých húb z týchto vzoriek odráža skôr kolonizáciu dýchacích ciest alebo kanýl. V rámci možnosti sa okrem odberu BAL odporúča realizovať aj odber bioptických vzoriek postihnuteho tkaniva na cytologické analýzy (7, 8), a zároveň stanovenie DNA (*deoxyribonucleic acid*, deoxyribonukleová kyselina) mikroskopických húb metódou PCR (9). Invazívne diagnostické zátky, ku ktorým biopsia určite patrí, sú spojené s rizikom komplikácií (krvácanie, pneumotorax), a to nielen u pancytopenických pacientov. Pri počte trombocytov < 50 x 10⁹/l krvi je možné ich realizovať len po adekvátnej príprave pacienta podávaním trombocytových koncentrátov. Na základe charakteru a lokalizácie nálezu na HRCT sa volí odber bioptického materiálu transbron-

chiálne počas bronchoskopie alebo transthorakálne pod CT kontrolou (7). Histologický nález hýf určitého charakteristického vzhľadu môže v niektorých prípadoch usmerniť voľbu ATM pri mykotickej infekcii pľúc, napríklad pomôcť rozlíšiť hýfy mukormycét od hýf iných mikroskopických húb (8). Zlatým štandardom diagnostiky IPA v klinickej mikrobiológii je naďalej mikroskopia (obrázok 1) a kultivácia (obrázok 2) s následnou identifikáciou izolátov (obrázok 3) (10). U pacientov vo vysokom riziku rozvoja IA je v mnohých prípadoch nutná profylaktická, respektíve empirická alebo preemptívna liečba ATM. Z toho dôvodu môže byť kultivácia falošne negatívna. V prípade, že sa kultivačnou analýzou vzorky potvrdí druh *Aspergillus* sp., stanovuje sa *in vitro* citlivosť kmeňa na ATM, a zároveň sa kladie dôraz na druhové určenie izolátu, respektíve jeho zaradenie do skupiny (*A.* skupina *flavus*, *A.* skupina *niger*). Dôvodom je, okrem iného, narastajúca alebo primárna rezistencia *Aspergillus* spp. proti rôznym ATM (napríklad *A. terreus* verusus amfotericín B) (2). Interpretácie hodnôt MIC pre jednotlivé ATM pri konkrétnych druhoch *Aspergillus* spp. sú podľa súčasných odporúčaní rôzne. V Európe je trendom interpretovať hodnoty MIC podľa európskych noriem EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*, verzia 7.0, august 2014). Pre niektoré druhy (pre nedostatočný počet hodnotených izolátov) však v spomínanej norme nie sú interpretačné kritériá. V týchto prípadoch sa výsledky MIC hodnotia podľa poslednej verzie medzinárodných noriem CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*, podľa štandardu M38-A2, 2. edícia, apríl 2008). Súčasťou nekultivačných metód diagnostiky IPA je stanovenie GM v BAL a v krvnom sére (napríklad testom Platelia™ *Aspergillus* Ag, Bio-Rad, Francúzsko) (5, 10, 11). Podľa výrobcu má táto metóda špecifickosť 81 – 100 % a negatívnu prediktívnu hodnotu > 95 %. Senzitivita stanovenia GM sa v rôznych štúdiách líši (30 – 100 %) (5). Veľké rozdiely v senzitivite testu môžu súvisieť s výberom sledovanej skupiny pacientov. Najvyššiu senzitivitu (okolo 70 – 100 %) dosahovali štúdie zahrnujúce pacientov (prevažne neutropenických) s hematologickou malignitou – najmä s akútnou leukémiou a po alogénnej transplantácii krvotvorných buniek (5). Na interpretáciu hodnôt IP v rôznych biologických materiáloch nie sú zhodné názory. Niektoré pracoviská sa riadia výrobcom odporúčanou hodnotou *cut-off* (hraničná hodnota) IP = 0,5 pre sérum aj BAL (5, 11). Mnohí autori sa však pri vzorkách BAL prikláňajú k hodnote *cut-off* 1,0 a tento fakt je podporený aj

poslednými odporúčaniami odborníkov z ECIL 3 (*3rd European Conference on Infections in Leukemia*) z roku 2009 (12). Pri podozrení na aspergilózu CNS je podľa ECIL 3 v súčasnosti možné akceptovať *cut-off* IP = 0,5 pre GM v likvore. V našom laboratóriu interpretujeme hodnoty IP týmto spôsobom: krvné sérum a likvor s hodnotou IP ≥ 0,5 a IP < 0,7 sú slabozákladne pozitívne na GM, s IP ≥ 0,7 sú pozitívne. Vzorky BAL považujeme za pozitívne na GM pri hodnotách IP ≥ 1,0. Vo všeobecnosti sa uvádza, že nález IP GM ≥ 0,5 vo dvoch po sebe nasledujúcich vzorkách pacienta je jedným z mikrobiologických kritérií pre IA (5, 12). V prípade požiadavky lekára na stanovenie GM v iných biologických materiáloch (pleurálny punktát, odsatý sekrét z paranazálnych dutín alebo dolných dýchacích ciest, spútum) vieme túto analýzu vykonať, ale problém nastáva pri interpretácii nálezov. Pozitivita GM v BAL môže časovo predchádzať jeho pozitivite v krvnom sére, a urýchliť tak vyslovenie podozrenia na možnú IPA (5, 12). Odber BAL by preto mal byť uprednostňovaný v rámci prvotnej diagnostiky suspektnej IPA, aj keď je svojím invazívnejším charakterom odberu problematickejší v porovnaní s odberom krvi. Nevýhodou stanovenia GM je možnosť skříženej pozitivity nálezu pri:

- užívaní niektorých beta-laktámových ATB (fenoxymetylpenicilín, semisyntetické a potenciovane penicilínové ATB, niektoré cefalosporíny, meropeném),
- infekciách vyvolaných inými mikroskopickými hubami (*Alternaria* spp., *Penicillium* spp., *Paecilomyces* spp., *Rhodotorula* spp., *Histoplasma* spp., *Geotrichum* (= *Blastoschizomyces*) spp., *Cryptococcus neoformans*, respektíve aj *Trichophyton* spp., *Cladosporium* spp., *Botrytis* spp., *Wallemia* spp., *Neosartorya* spp., *Fusarium* spp.),
- prieniku GM z potravy (mliečne výrobky, krémové zákusky, výživové doplnky na báze sóje, obilniny, cereálne produkty),
- mukozitíde,
- podávaní prípravku *Plasmalyte*®,
- kolonizácii črevnej sliznice *Bifidobacterium* spp. u novorodencov (najmä nedonosných),
- opakovaných transfúziách krvi,
- podávaní antiglobulínového séra,
- podávaní cyklofosfamidu alebo kontaminácii vzorky počas manipulácie a spracovania (vzdušné spóry, vata, lepenka) (5, 13).

Výrobca udáva, že stanovenie GM nebolo hodnotené na neonatálnych vzorkách, a preto je možné vyššie riziko výskytu falošne pozitívnych výsledkov v tejto skupine pacientov. V niektorých prípadoch je možné pozorovať falošnú negatívitu GM (hodnota GM pod detekčným limi-

Obrázok 1. Hýfy v BAL, natívny preparát, zväčšenie 500-krát. Fotografia: M. Gašpar, HPL, spol. s r. o.



tom, pľúcny aspergilóm, podávanie antimykotík s účinkom na vláknité huby, vysoká hladina protilátok voči GM) (5). Výrobca uvádza možnú nižšiu senzitivitu detekcie GM u pacientov s chronickou granulomatóznou chorobou a Jóbovým syndrómom. Ďalšie diagnostické metódy – napríklad stanovenie DNA mikroskopických húb metódou PCR, nie sú dostatočne štandardizované, a preto sa v rutinej diagnostike využívajú menej často. Odporúčajú sa hlavne ako doplnok k iným, vyššie spomínaným analýzám (5, 14). Ďalšou laboratórnou metódou s veľmi vysokou negatívnou prediktívnou hodnotou (90 – 96 %) je stanovenie sérového 1,3- β -D-glukánu. Táto analýza je však zaťažená vysokou mierou skríženej pozitivity a nevýhodou je aj jej nízka senzitivita (44 – 89 %), špecifickosť (20 – 56 %), vysoká cena a náročnosť laboratórneho spracovania (5, 15). Na Slovensku sa zatiaľ v mykologických laboratóriách nevykonáva.

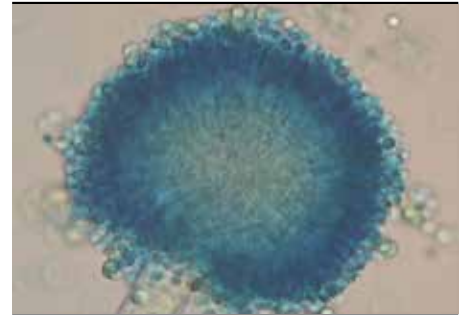
Nami prezentovaná pacientka mala na rozvoj IA viaceré rizikové faktory: akútna leukémia v dospelosti, stav po autológnej transplantácii krvotvorných buniek, užívanie kortikosteroidných liečiv, dlhodobá neutropénia, kombinovaná ATB liečba, opakované transfúzie máš erytrocytov. IPA sa u nej vyvinula napriek tomu, že táto infekcia sa častejšie spája s alogénnou než s autológnou transplantáciou krvotvorných buniek (1, 16). Atypický bol aj včasný nástup klinických príznakov. Už na deň D +12 boli okrem febrilit pozorované aj respiračné ťažkosti. Po okamžitom realizovaní HRCT vyšetrenia bolo vyslovené podozrenie na zápalové postihnutie pľúc možnej mykotickej etiológie. Sérový GM bol negatívny, ale za zmienku stojí fakt, že v danom čase nebola uskutočnená bronchoskopia s odberom BAL na kultiváciu a stanovenie GM. To mohlo byť jedným z dôvodov oddialenia stanovenia diagnózy. Vzhľadom na klinický stav pacientky a HRCT nález bola profylaktická liečba flukonazolom ukončená a pacientke bol empiricky podávaný lipidický amfotericín B –

Obrázok 2. *Aspergillus skupina flavus*, Sabouraudov agar, 6-dňová subkultúra. Fotografia: M. Gašpar, HPL, spol. s r. o.



ATM so širokým spektrom účinku na rôzne mikroskopické huby. Podľa Vestníka Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky (MZ SR, 2010) (17) je pri IA liekom voľby vorikonazol, ktorý pacientke podávaný nebol, ale vzhľadom na negatívny GM v krvnom sére a absenciu kultivačného nálezu *Aspergillus* spp. bol amfotericín B jednou z možných terapeutických alternatív. Túto možnosť podporujú národné (17) aj medzinárodné odporúčania (ESCMID – *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, IDSA – *The Infectious Diseases Society of America*). Priebeh infekcie bol veľmi rýchly a napriek pravidelnému podávaniu rastových faktorov s účinkom na granulocyty bola pacientka trvalo neutropenická. Na základe makroskopického nálezu na bronchoch (počas bronchoskopie) bolo vyslovené podozrenie na tumorózny proces, ktorý sa však v bioptickej vzorke nepotvrdil. Potvrdila sa však IPA – histologicky, mikroskopicky, kultivačne aj sérologicky. Hodnota IP GM v BAL bola extrémne vysoká (11,96), pričom krvné sérum na stanovenie GM už, žiaľ, nebolo odobraté. V deň, keď bol hlásený pozitívny kultivačný nález vláknitých húb a pozitívny GM v BAL, pacientka zomiera. Kultivačne potvrdený *A. flavus* mal vyššiu hodnotu MIC pre amfotericín B (3,0 mg/l). Aj to mohlo byť príčinou toho, že *in vivo* nemal dostatočný účinok na potlačenie infekcie. Podľa poslednej verzie EUCAST nie sú pre druh *A. flavus* stanovené definitívne interpretačné kritériá MIC amfotericínu B a uvádzajú sa len hodnoty epidemiologických *cut-offs*. Hodnota MIC = 3,0 mg/l by mala spadať do intervalu interdiárnej citlivosti, ale nie je možné vyjadriť sa k interpretácii *in vitro* citlivosti. Ani normy CLSI druhovo špecifickú interpretáciu MIC amfotericínu B pre *A. flavus* neuvádzajú. Realizovaná pitva potvrdila nález IPA aj napriek tomu, že vzorky získané *post mortem* neboli na mykologické analýzy odoslané.

Obrázok 3. *Aspergillus skupina flavus*, laktofenolový preparát, zväčšenie 500-krát. Fotografia: M. Gašpar, HPL, spol. s r. o.



Záver

Základom úspešnej laboratórnej diagnostiky IPA je včasné rozpoznanie jej hrozby na základe nešpecifických klinických príznakov, rizikových faktorov a s pomocou ďalších vyšetrovacích metód. Pri suspektných HRCT nálezoch na pľúcach u pacienta s klinickými príznakmi infekcie je vhodné neodkladne realizovať bronchoskopiu s odberom bioptickej vzorky (cytológia, PCR DNA) (7, 8, 9) a BAL na mykologické analýzy (stanovenie GM, kultivácia) (5, 6, 9, 10, 11, 12), ideálne ešte pred nasadením ATM liečby s účinkom na vláknité huby. Zároveň sa u vysokorizikových pacientov (dlhodobá neutropénia, stav po transplantácii krvotvorných buniek – pozri vyššie) odporúča stanoviť GM aj v krvnom sére a následne sledovať jeho hladiny v pravidelných intervaloch (aspoň 2-krát týždenne) (5). Výsledky jednotlivých laboratórných analýz je potrebné interpretovať vždy v súlade s klinickým stavom pacienta, pričom ich kombinácia zvyšuje senzitivitu diagnostiky (2). IPA si napriek súčasným možnostiam medicíny vyžaduje vysokú pozornosť a nezaobíde sa bez spolupráce ošetrojúcich lekárov a klinických mikrobiológov.

Podakovanie: Podakovanie patrí NOÚ v Bratislave a spoločnosti HPL, spol. s r. o., za poskytnutie nevyhnutných údajov na vznik tejto publikácie a ďalej menovite MUDr. Magdaléne Lisalovej za praktické rady a vynikajúcu spoluprácu.

Literatúra

- Seiter K. *Acute Lymphoblastic Leukemia* [online]. 2014. Available from: <<http://emedicine.medscape.com/article/207631-overview>>.
- Drgoňa L. Invazívne mykotické infekcie. In: Drgoňa L. *Infekčné komplikácie onkologických pacientov*. Bratislava, Slovenská republika: Univerzita Komenského; 2013. 24–73.
- Pagano L, Akova M, Dimopoulos G, et al. Risk assessment and prognostic factors for mould-related diseases in immunocompromised promised patients. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66(Suppl 1):i5–i14.
- Drgoňa L. Diagnostika a liečba invazívnych mykóz u hematológických pacientov. *Onkológia*. 2008;3(5):320–323.
- The Czech Leukemia Study Group for Life (Česká leukemická skupina – pro život) – Ráčil Z, Mayer J, eds. *Invazív-*

ni aspergilóza: súčasné možnosti diagnostiky. *Vnitř Lék.* 2007;53(Suppl):S1–S34.

6. Sherif R, Segal BH. Pulmonary Aspergillosis: clinical presentation, diagnostic tests, management and complications. *Curr Opin Pulm Med.* 2010 May;16(3):242–250.

7. Crumley S, Hull A, Cernoch P, et al. Comparison between cytologic examination of fungi in bronchial washings and bronchoalveolar lavage specimens and culture: a review of 100 cases with emphasis on diagnostic pitfalls. *Journal of the American Society of Cytopathology.* 2014;3(4):211–217.

8. Sharma SK, Kumar S, Singh AK, et al. Feasibility and outcome of CT – guided lung biopsy in patients with hematological diseases and suspected fungal pneumonia. *J Infect Dev Ctries.* 2013;7(10):748–752.

9. Morrissey CO, Chen SCA, Sorrell TC, et al. Galactomannan and PCR versus culture and histology for directing use of antifungal treatment for invasive aspergillosis in high-risk haematology patients: a randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis.* 2013;13(6):519–528.

10. Buchta V, Hamal P, Mallátová N, et al. Nepodkročiteľné minimum laboratorní diagnostiky invazívnych mykotických infekcií – doporučení odborníků s podporou CELL a SLM JEP. *Postgraduální medicína.* 2010;12(příloha 5):76–81.

11. Meersseman W, Lagrou K, Maertens J, et al. Galactomannan in Bronchoalveolar Lavage Fluid: A Tool for Diagnosing Aspergillosis in Intensive Care Unit Patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;177(1):27–34.

12. Haber J. Hodnocení galaktomananu v séru a bronchoalveolární laváži u neutropenických a non-neutropenických pacientů. *Kazuistiky v alergologii, pneumologii a ORL.* 2011;8(2):10–13.

13. Wheat LJ, Walsh TJ. Diagnosis of invasive aspergillosis by galactomannan antigenemia detection using an enzyme immunoassay. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2008;27(4):245–251.

14. Tošková M, Winterová J, Kocmanová I, et al. Invazívne mykotické infekcie u hematologických pacientov – epidemiológia, rizikové faktory, klinické príznaky a diagnostika. *Oncologie.* 2012;6(6):298–303.

15. Racil Z, Kocmanova I, Lengerova M, et al. Difficulties in using 1,3-β-D-glucan as the screening test for the early diagnosis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies – high frequency of false-positive results and their analysis. *J Med Microbiol.* 2010;59(9):1016–1022.

16. Drgoňa L. Stratégie použitia antimykotík v liečbe invazívnych mykotických infekcií onkologických pacientov. *Oncológia(Bratisl.).* 2014;9(4):258–260.

17. Odborné usmernenie Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky k diagnostike a liečbe invazívnych mykóz. In: *Vestník Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky.* Bratislava, Slovenská republika: V OBZOR, s. r. o.; 2010: 146–159.

MUDr. Miroslav Gašpar

HPL, spol. s r. o.

Oddelenie mykológie

Istrijská 20, 841 07 Bratislava

gaspar@hpl.sk

