



Šta klinički mikrobiolog treba da preduzme pri sumnji na invazivnu gljivičnu infekciju?

Zorica Vasiljević
Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije
Laboratorija za kliničku mikrobiologiju

Beograd, 30. maj 2018.

Različiti scenariji...

- Šta klinički mikrobiolog treba da preduzme pri sumnji na invazivnu gljivičnu infekciju?
- Šta sa izolatom kada ne postoji sumnja na gljivičnu infekciju?
- Šta sa neuobičajenim uzročnikom?
- Da li pojava invazivne gljivične infekcije može da se spreči?

Pacijent 1

- Muško novorođenče
- Normalna trudnoća, porođaj u terminu (39. nedelja), SC
- Porođajna težina 4300 g, Apgar 7/8
- Zbog znakova respiratornog distresa započeta parenteralna AB terapija u 1. danu života, ↑ CRP (55 mg/l)
- U 8. danu ponovo ↑ CRP, započeta Th cefalosporinima 3. generacije
- U 13. danu meropenem, blago ↑ CRP (30 mg/l), sve kulture sterilne
- Prevod u IMD u 22. danu zbog potrebe za daljim ispitivanjem

Pacijent 1

- Klinički nalaz na prijemu normalan osim prisutnih znakova „pelenskog dermatitisa“ i blage hipotonije
 - Lab: laka anemija sa trombocitozom (631.000), lako ↑CRP (28 do 41 mg/l)
 - AB Th: meropenem, vankomicin i flukonazol
-
- 4. dan hospitalizacije (26. dan života) otok levog kolena i smanjena pokretljivost leve noge
 - Prevod na odeljenje ortopedije zbog kliničkih i radioloških znakova **septičkog artritisa**

Pacijent 1



Fotografije dobijene ljubaznošću dr sc. med J. Martić

Pacijent 1

- Artrotomija sa drenažom levog kolena
- Iz sinovijalne tečnosti izolovana je *Candida albicans*
- Amfotericin B koloidna disperzija 3 nedelje, zatim itrakonazol *per os* tokom 3 nedelje

Pitanje

- Infekcija kod ovog novorođenčeta je
 - A. endogena
 - B. egzogena

Pitanje

- Infekcija kod ovog novorođenčeta je
 - A. endogena
 - B. egzogena

Grupa od 10 pacijenata!

- Tokom samo jednog meseca (mart 2009), 4 novorođenčadi sa *C. albicans* artritisom je hospitalizovano u tri pedijatrijske ustanove tercijarnog nivoa u Beogradu
- Dijagnoza je postavljena na osnovu kliničkih i radiografskih znakova artritisa i izolacije *C. albicans* iz sinovijalne tečnosti i/ili hemokulture
- Tokom istog meseca i još 6 novorođenčadi sa *C. albicans* sepsom
- Sva deca rođena u istom porodilištu
- Genotipizacija DiversiLab® sistemom – isti soj
- Epidemiološkim ispitivanjem nije otkriven izvor infekcije

Karakteristike četvoro novorođenčadi sa *Candida albicans* artritisom

Karakteristike	Vrednost
Pol M:Ž	2:2
Gestacijska dob pri porođaju	
Preterminsko	3 ($36,4 \pm 0,23$ nedelje)
Terminsko	1 (39 nedelja 6 dana)
Način porođaja	
Vaginalni : Carski rez	1:3
Porođajna težina (g)	2945 ± 907 g
Apgar skor u 5. minutu	9,5
Rana terapija AB širokog spektra	4
Dužina boravka u OIN > 7dana	4
Centralna venska linija, intubacija, TPI	0

Klinički i laboratorijski parametri

Pacijent	Prvi simptomi (dan poč. života)	Antibiotici (dan poč. Th)	Zglob	Le	Tr	CRP	Patogen	Uzorak	Terapija	Sekvеле
1	3	3	Koleno	↓	↓	↑	<i>Candida albicans</i>	krv/ST	Flukonazol ABKD	Nema
2	1	1	Koleno	↓	N	↑	<i>Candida albicans</i>	ST	Flukonazol ABKD	Nema
3	2	1	Koleno	↓	N	↑	<i>Candida albicans</i>	krv	Flukonazol ABKD	Nema
4	1	1	Lakat/ koleno	↑	N	↑	<i>Candida albicans</i>	ST	ABKD	Nema

ST – sinovijalna tečnost; ABKD – amfotericin B koloidna disperzija

Pitanje

- Da li je stanje imunokompromitovanosti neophodan preduslov za nastanak invazivne gljivične infekcije?
- A. DA
- B. NE

Pitanje

- Da li je stanje imunokompromitovanosti neophodan preduslov za nastanak invazivne gljivične infekcije?
- A. DA
- B. NE



Pacijent 2

- Dečak, 10 godina, prethodno zdrav, iz gradske sredine
- Kašalj i blage hemoptizije koje traju nekoliko dana unazad
- Visina 158 cm (>P97), težina 60 kg, BMI 24,1 kg/m² (P97) = gojazan
- Auskultatorno: pukoti na desnoj strani
- RTG grudnog koša: okrugli infiltrat u desnom gornjem lobusu pluća
- Parametri zapaljenja (CRP, SE) i broj leukocita u granicama referentnih vrednosti (ponavljanje)
- TH azitromicinom (susp. atipična pneumonija), simptomi su ublaženi ali kontrolni RTG nepromenjen.
- TB, ehinokokoza: Ø
- Rutinska ispitivanja nisu pokazala abnormalnosti humoralne ili ćelijske imunosti, NBT (Nitroblue tetrazolium) test za HGB je pokazao normalan odgovor neutrofila

Pacijent 2



© Z. Vasiljević

Kompjuterizovana tomografija:

Okrugla lezija u gornjem i posteriornom segmentu DGL, prisutan znak meniskusa, odsustvo postkontrastnog pojačanja denziteta signala. Zadebljanje pleure, sa fibrotičnim trakama od lezije ka zidu grudnog koša.

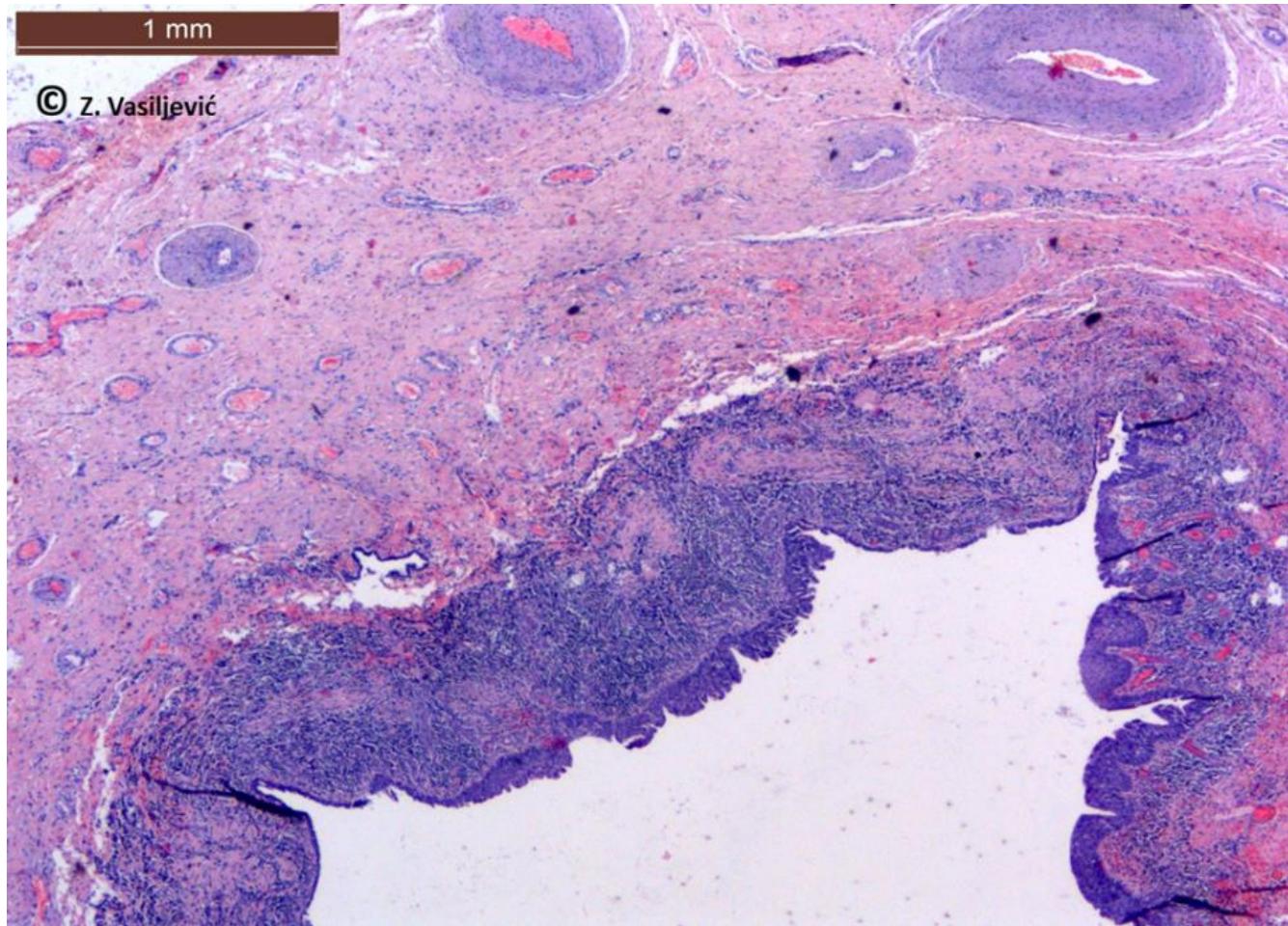
Pacijent 2

- **Bronhoskopija:** bez anatomskeih abnormalnosti, u bioptiranom tkivu segmentnog bronha bez HP promena
- **BAL:** Direktan preparat po Gramu Ø, kultura sterilna
Galaktomanan + [2,45 pg/ml, cut-off \geq 0.5 pg/ml]
Manan + [>500 pg/ml, cut-off 125 pg/ml]
- **Serum:** Galaktomanan Ø
Aspergillus IgG antitela + (96 U/ml; cut-off 70 U/ml)
Aspergillus IgM Ø

Hirurška eksploracija i resekcija zahvaćenog posteriornog segmenta desnog gornjeg režnja

Kultura uzorka ekscidiranog plućnog tkiva: ***Aspergillus fumigatus***

Hronična nekrotizirajuća plućna aspergiloza (CNPA)

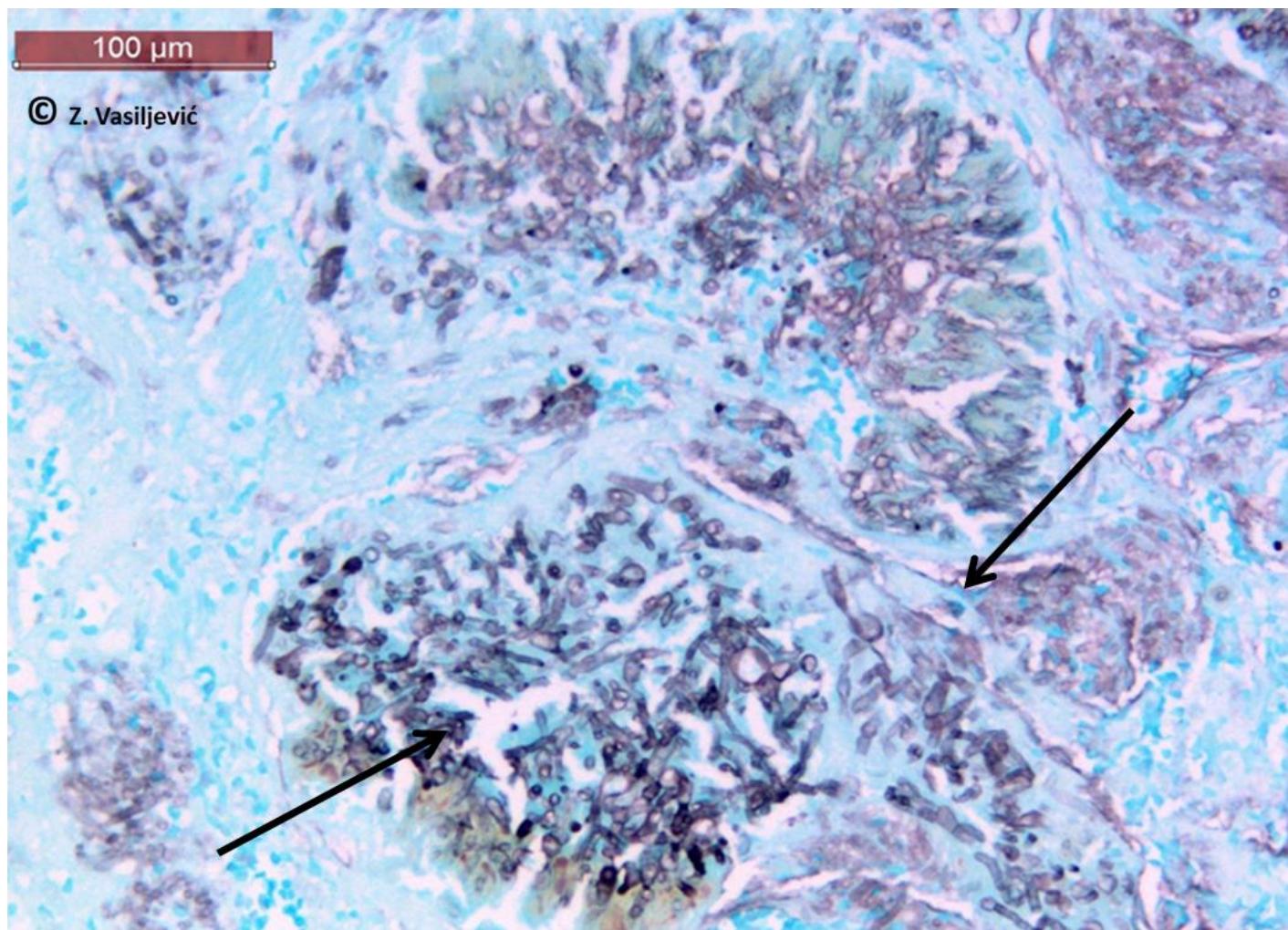


Krupne bronhiektazije praznih lumena neposredno ispod zadebljane, fibrotične pleure. Nema šupljine koja bi odgovarala aspergilomu (HE, x2,5)

Patohistološki:

Supurativni bronhiolitis i bronhitis, bronhiektazije i mali apsesi, širenje mešovitog zapaljenjskog infiltrata (PMNL i mononuklearne ćelije Ly, plazmociti i histiociti) u okolini plućni parenhim. Prisutni znaci početne fibroze.

Hronična nekrotizirajuća plućna aspergiloza (CNPA)



Gljivični elementi u malim kavitarnim lezijama ali uočljiva i invazija plućnog parenhima, bez angioinvazije. Histološka slika karakteristična za CNPA (Grocott metenamin silver, x200)

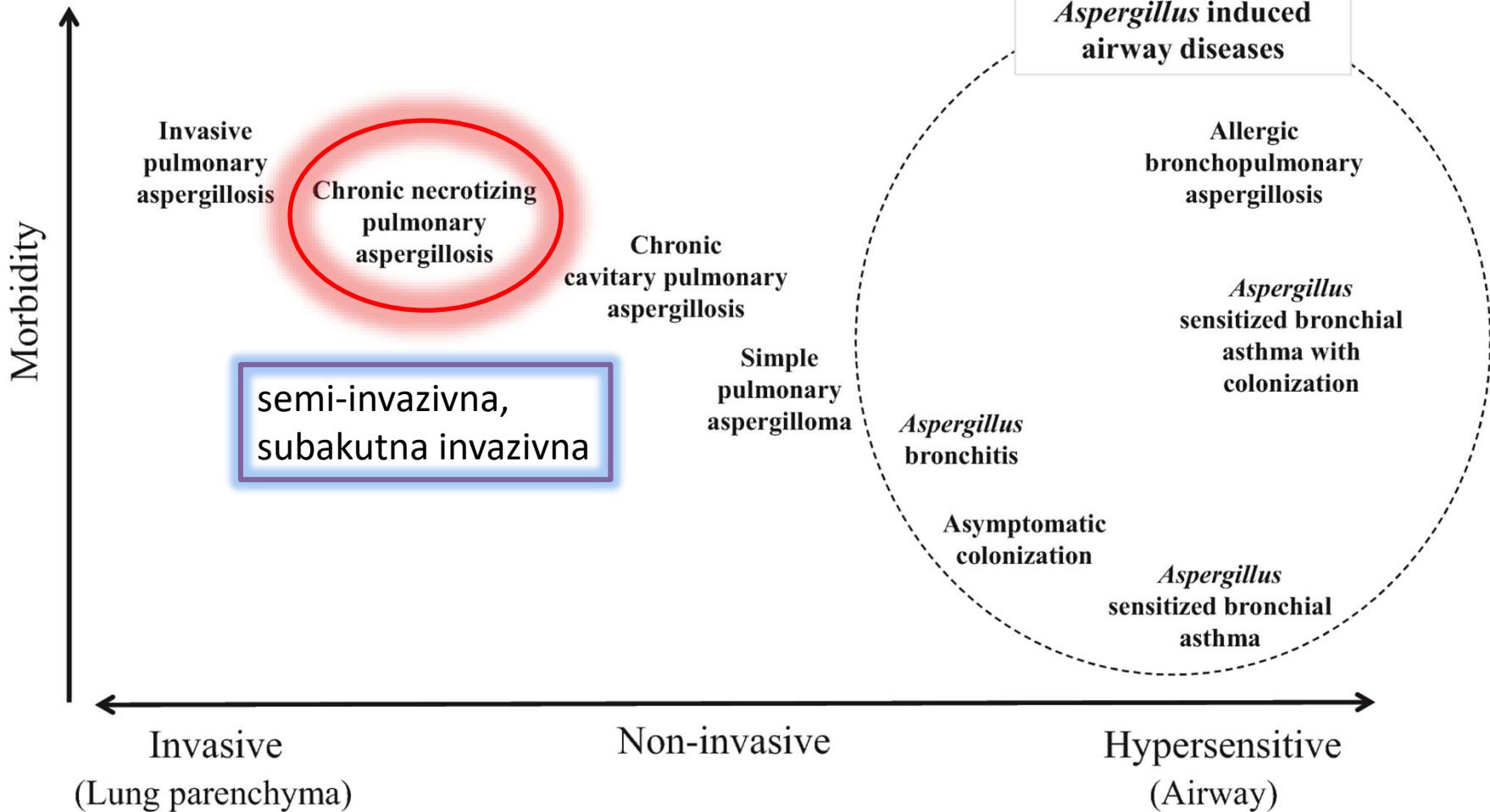
Pitanje

- Hronična nekrotizirajuća plućna aspergiloza je
 - A. invazivni
 - B. semi-invazivni
 - C. neinvazivni oblik plućne aspergiloze

Pitanje

- Hronična nekrotizirajuća plućna aspergiloza je
 - A. invazivni
 - B. semi-invazivni
 - C. neinvazivni oblik plućne aspergiloze

Hronična nekrotizirajuća plućna aspergiloza (CNPA)



Hronična nekrotizirajuća plućna aspergiloza (CNPA)

- **Lokalna invazija** *Aspergillus* spp., sa sporo progresivnim kliničkim tokom
- **Relativno retka** manifestacija PA, obično kod osoba sa hroničnim oboljenjima pluća ili blagom imunosupresijom, dijabetesom, kod alkoholičara
- **Imunogenetski defekt?** Mutacija u genu za manoza-vezujući lektin kao i moguća disfunkcija osovine CD40-CD40L mogu da budu uzrok neodgovarajućeg imunskog odgovora kod pacijenata sa CNPA
- Tipično, pacijenti su srednjeg životnog doba (4. do 6. decenija)
- **Veoma retko kod dece:** CNPA opisana kod tri dečaka sa HGB, kod jedne devojčice nakon TBC i samo jedan izveštaj o prethodno zdravoj devojčici (7 godina)

Postoperativno, dečak je dobijao vorikonazol tokom 6 nedelja u cilju lečenja moguće zaostale infekcije plućnog parenhima. Klinički nalaz je bio dobar posle 2 godine praćenja.

Pacijent 3

- Muško odojče uzrasta 7 meseci
- Bolest je počela 3 nedelje pre prijema u IMD
- Kašalj, TT do $38,5^{\circ}\text{C}$, otežano i čujno disanje, trombocitopenija, anemija; parametri zapaljenja nisu bili povišeni
- Imidžing metode: masivni pleuralni izliv levo, tumorska promena anteriornog segmenta LGR pluća koja komprimira segmentni bronh; perikardni izliv;
- Uvećana i cistično izmenjena slezina
- Bronhoskopija: ekstramuralna kompresija levog glavnog bronha
- Od 2. dana prevod na OIN, plasiranje pleuralnog i perikardnog drena, nazogastrična sonda, mehanička ventilacija, CV kanila

Pacijent 3

- Sa velikom verovatnoćom isključena bakterijska i virusna etiologija (adeno, entero, parvo B19, EBV, HIV, hepatitis A, B, C), TBC (Quantiferon), sistemska bolest i malignitet
- NMR: visok stepen sumnje na **limfangiomatozu pluća**
- Zbog veoma teškog kliničkog stanja sa tendencijom svakodnevnog pogoršavanja, 22. dana započeta terapija **sirolimusom** (imunosupresivno dejstvo)
- Brojne komplikacije: edemi, kardiovaskularna insuficijencija, anurija
- Dijaliza veno-venskom hemodijfiltracijom
- U par navrata ↑TT do 39°C uz porast CRP ali i epizode hipotermije. Suspektna sistemska infekcija.
- Antibiotici širokog spektra sve vreme

Pacijent 3

Mikrobiologija:

- pleuralni i perikardni izliv sterilni (ponavljanje)
- svaki 2. dan HK, kulture trahealnog aspirata i UK. **Sve sterilno osim:**
- 8. dana hospitalizacije: *Candida albicans* u TA (mali broj), narednog dana dodat flukonazol
- 34. dana: VRE u TA (mali broj)
- 39. dana: u TA dve kolonije plesni koje morfološki **ne liče** na *Aspergillus* Kontaminacija ??? (ponovo zasejan isti uzorak, ponovo porast malog broja plesni ali i malo *C. albicans*)
- 42. dan: komunikacija sa OIN, molba da se uzme novi uzorak TA
- 42./43. dan: *Exitus letalis*

Fusarium solani

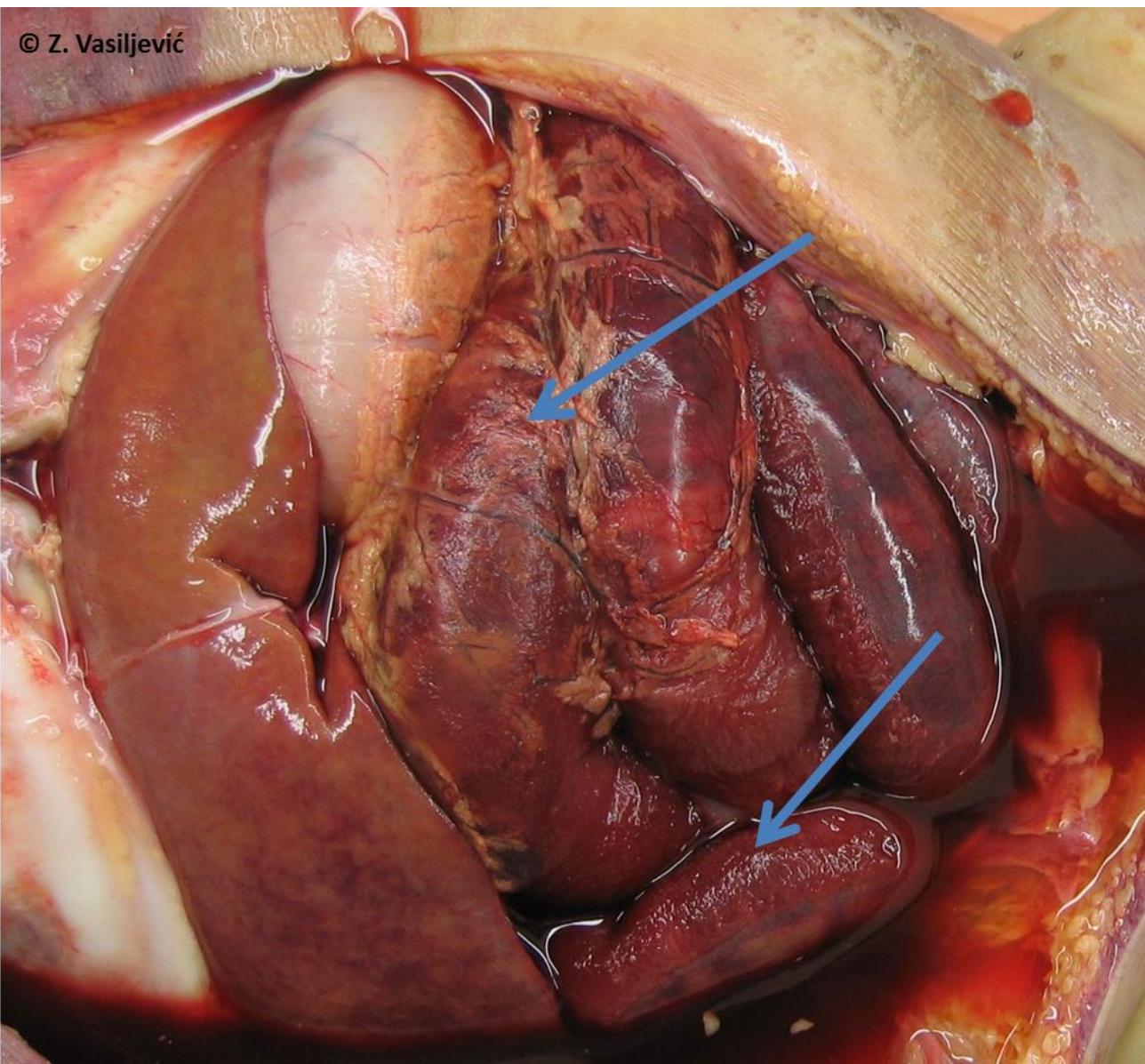
flukonazol, amfotericin B

R

mikonazol, vorikonazol

S

Pacijent 3



© Z. Vasiljević

Serozna površina creva
(visceralni peritoneum)
sitnobaršunasto
izmenjena

- Mikotički peritonitis?

Pacijent 3

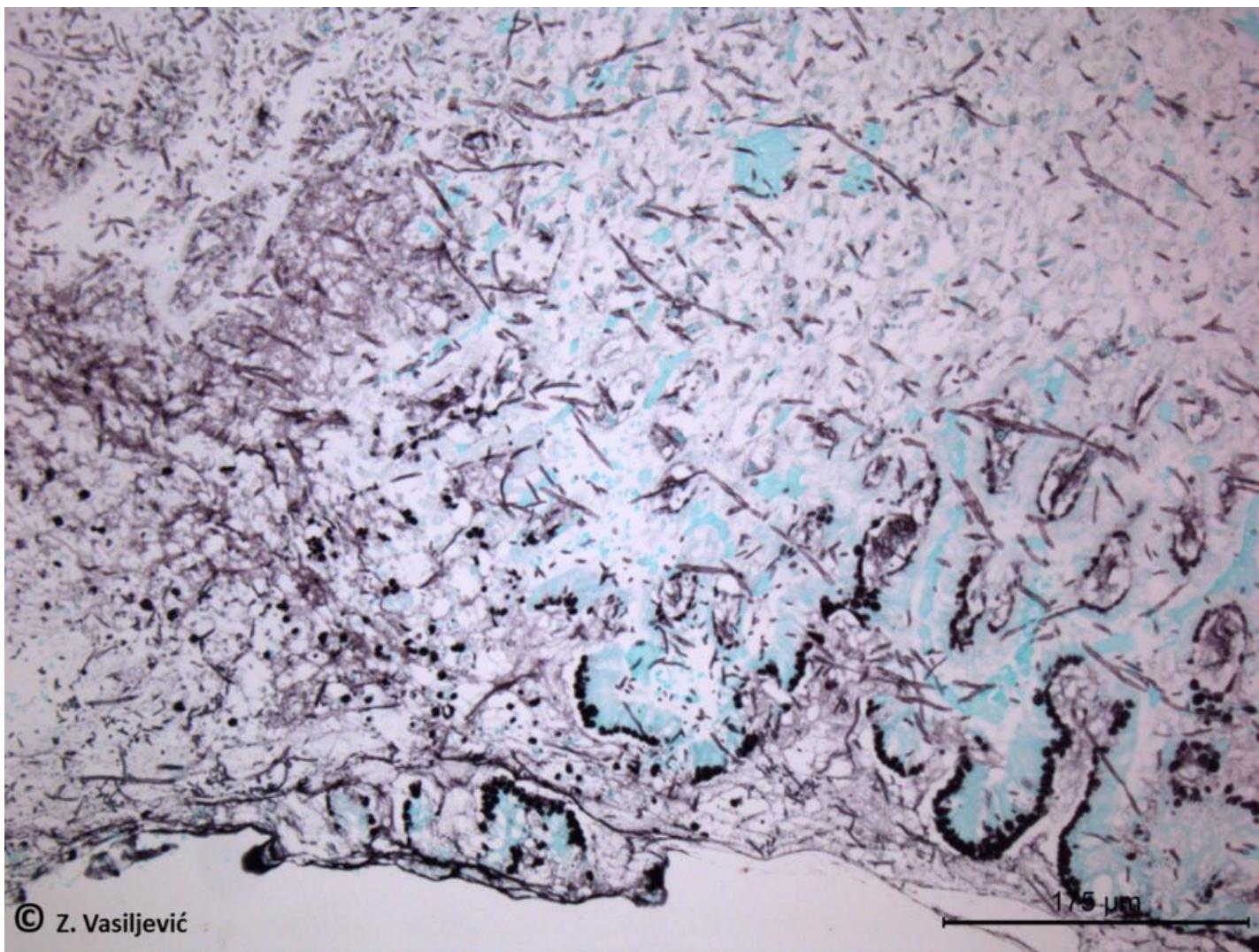
Akutni mikotični
ulkus želuca
(HE x50)

*Lamina
muscularis
mucosae*



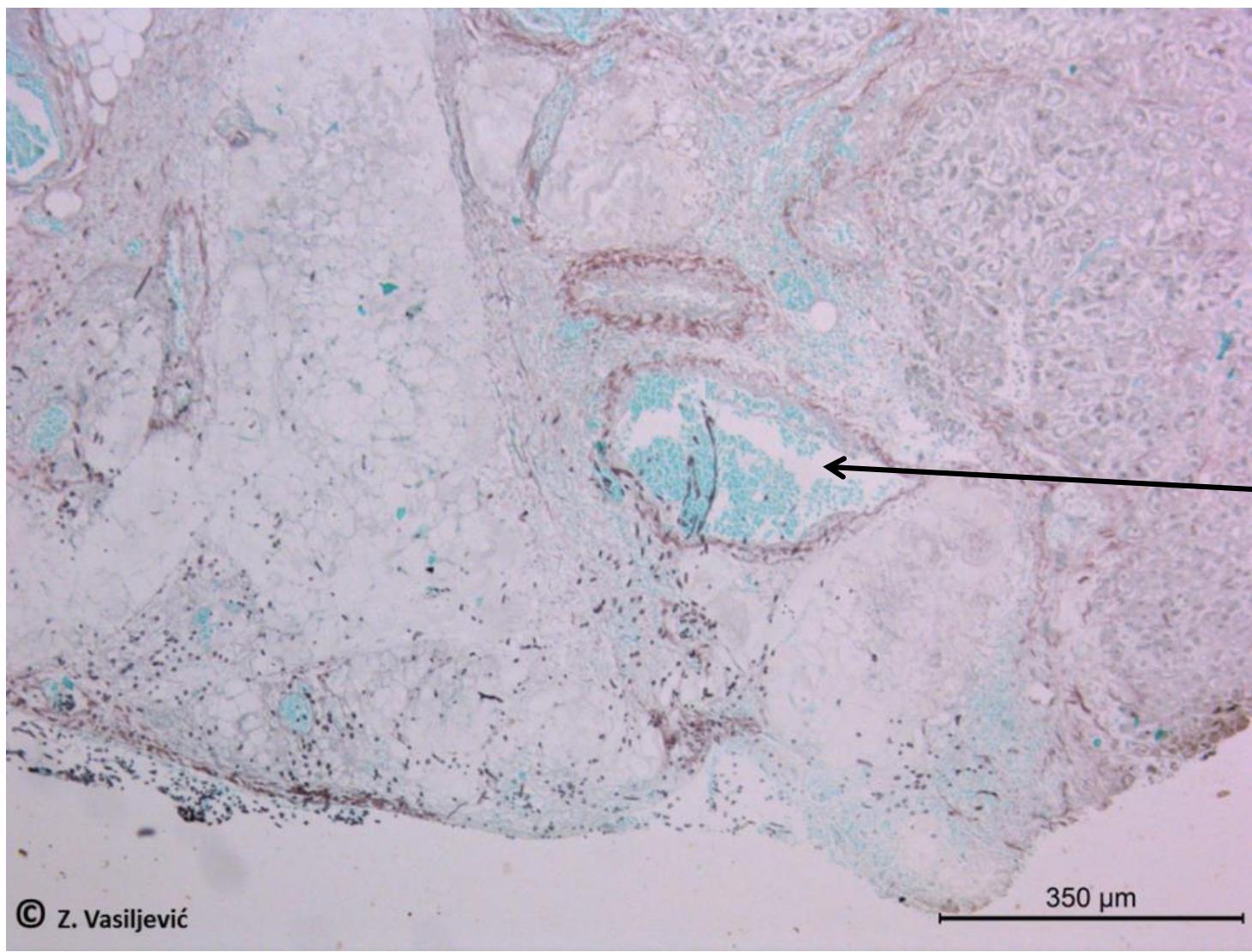
350 µm

Pacijent 3

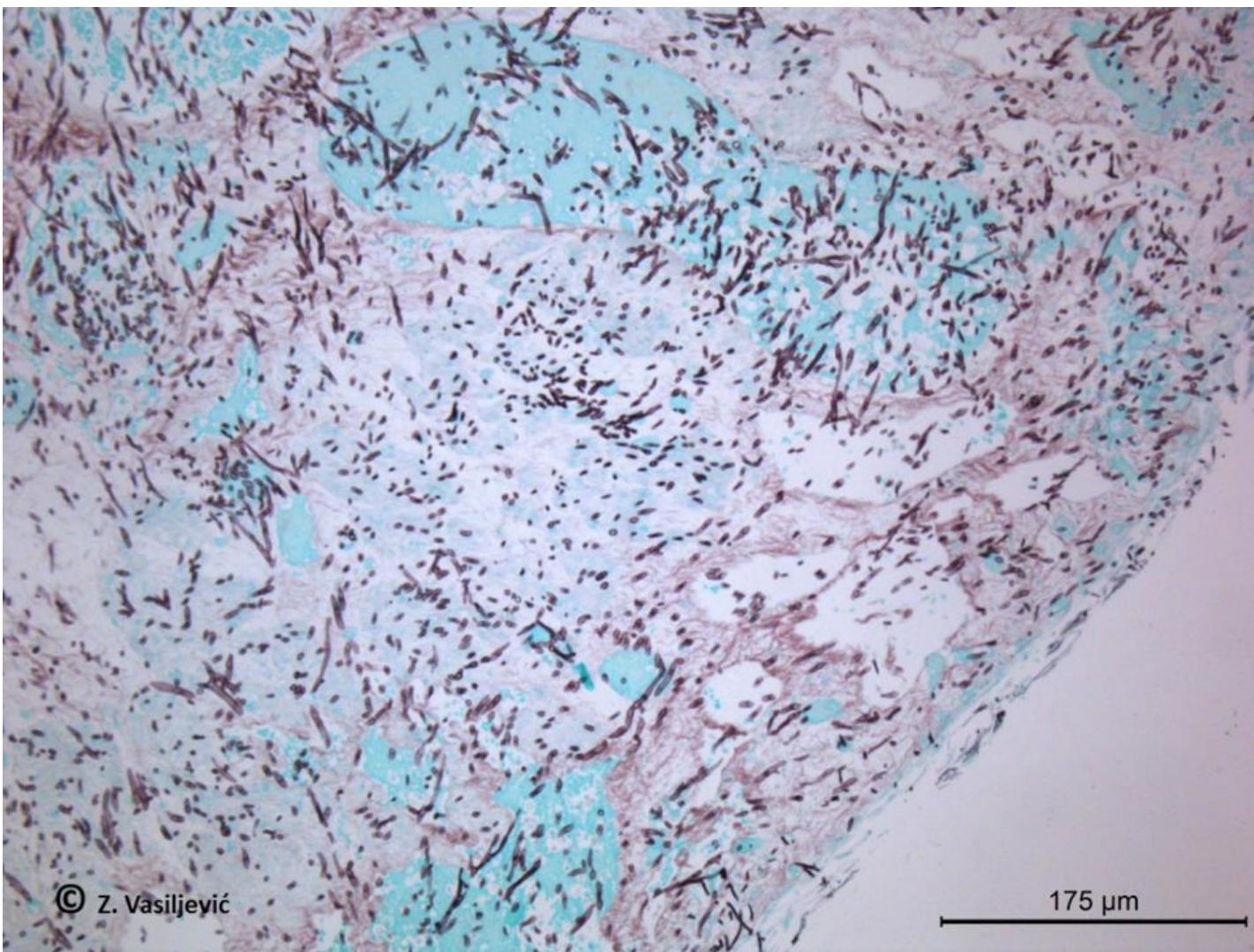


Akutni mikotični
ulkus želuca
(Grocott, x100)

Pacijent 3



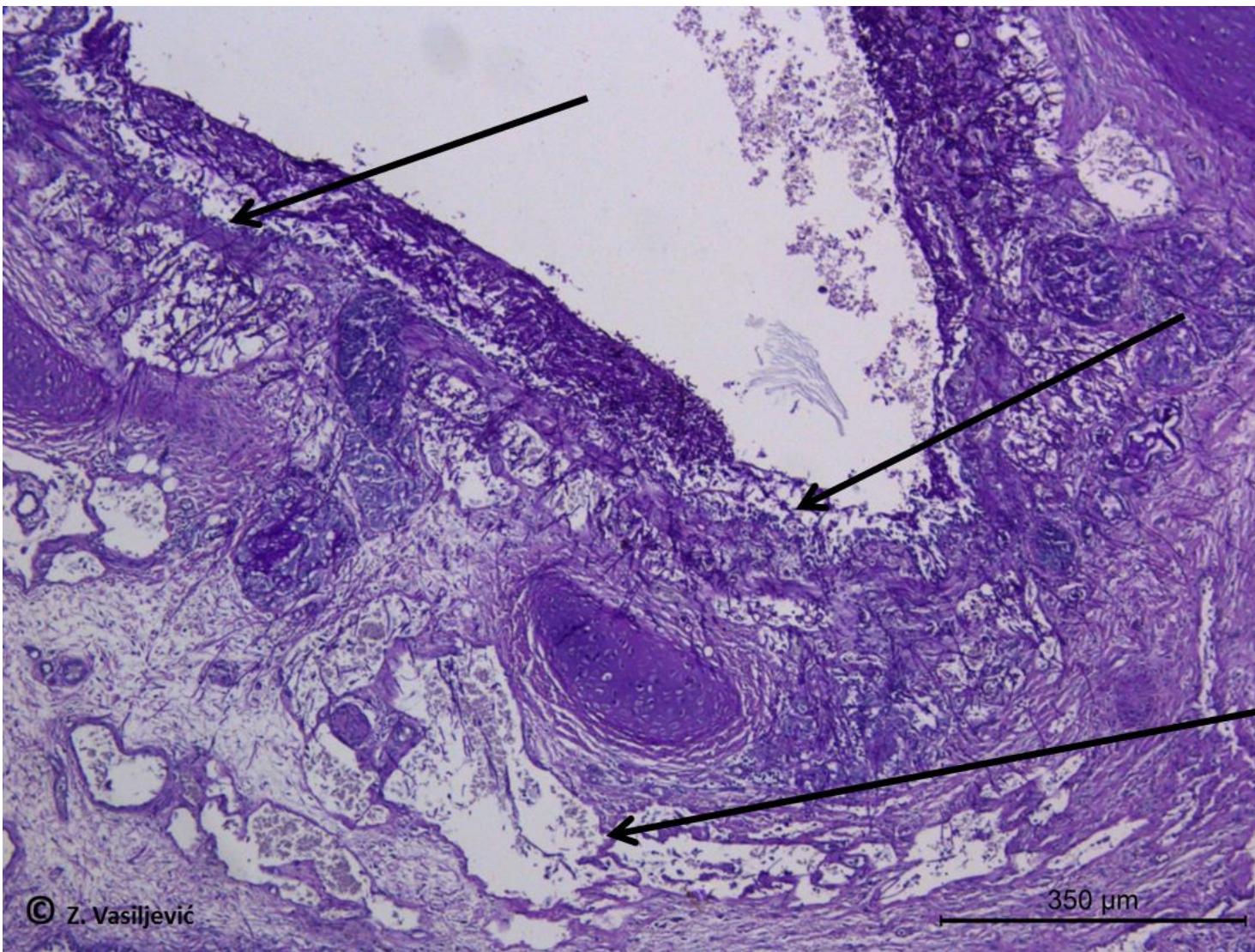
Pacijent 3



Farinks
(Grocott, x100)

Izrazita invazivnost rasta gljivice se demonstrira na ovoj slici masivnog prodora kroz zid farinksa

Pacijent 3

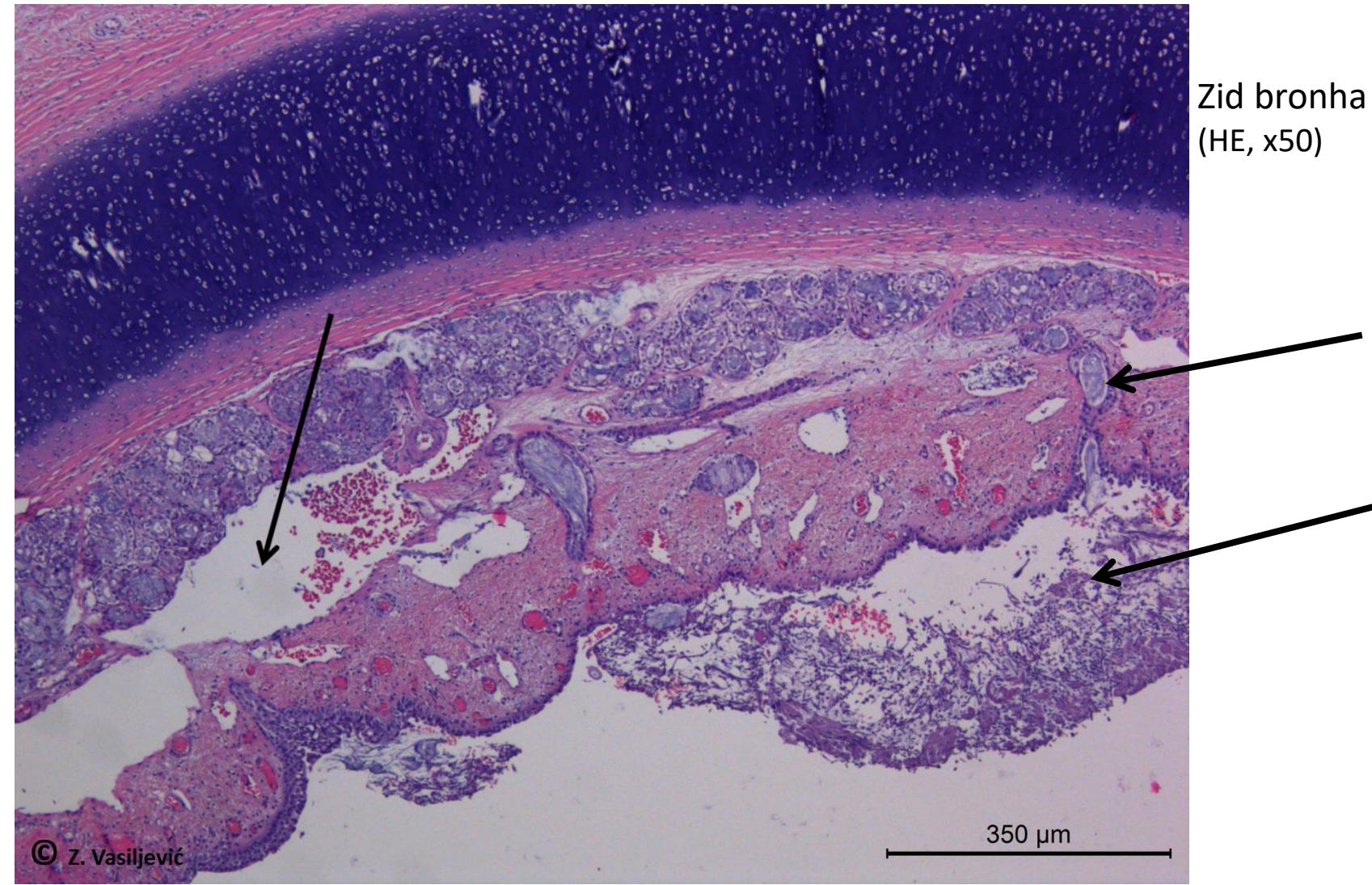


Bronh u plućnom
parenhimu
Sluznica
destruisana,
obložena debelim
slojem gljivičnih
elemenata
(PAS, x50)

Malformisani
limfni sudovi oko
bronha
(generalizovana
limfatična
anomalija, GLA)

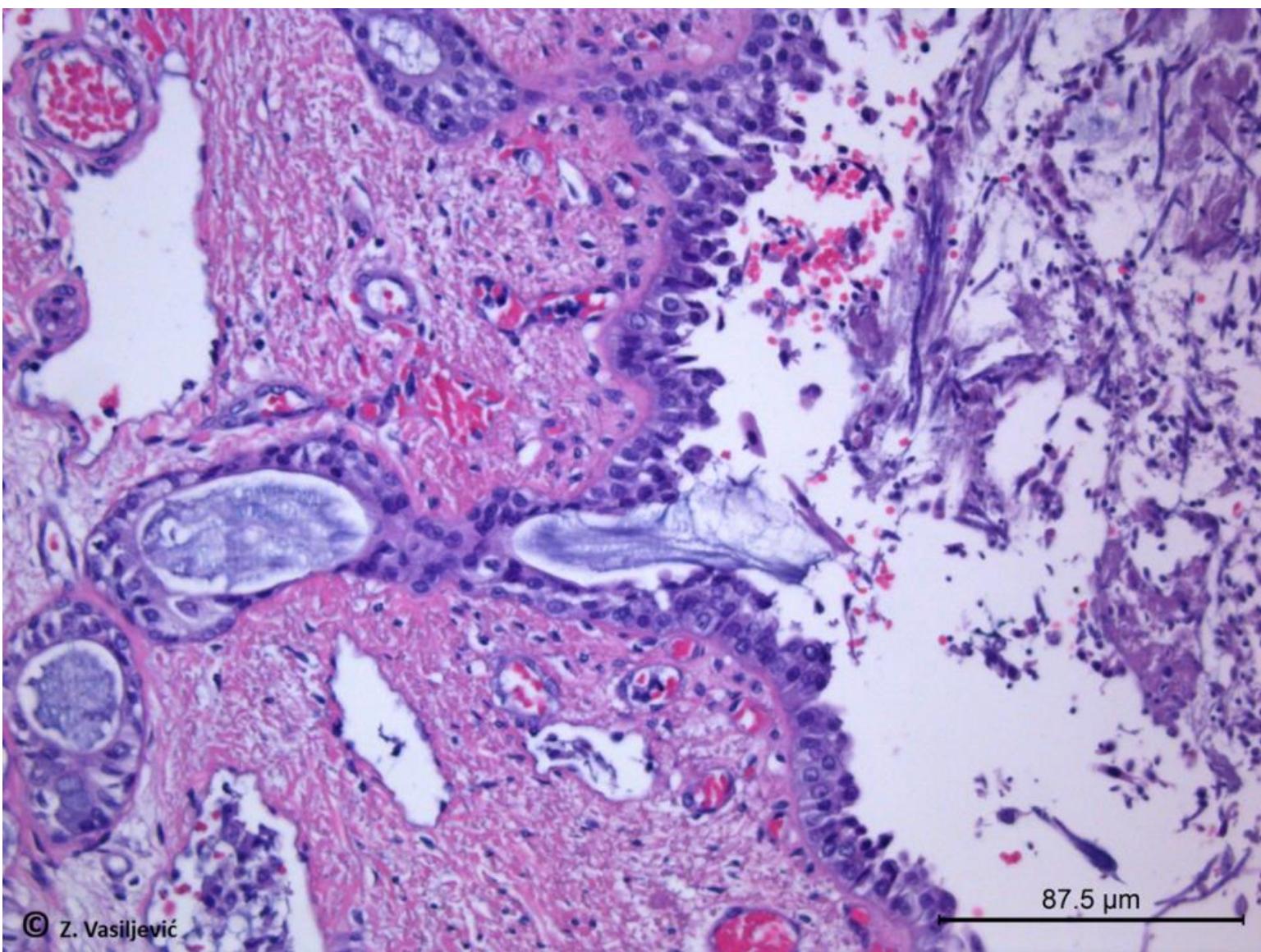
Pacijent 3

Zid bronha
(HE, x50)

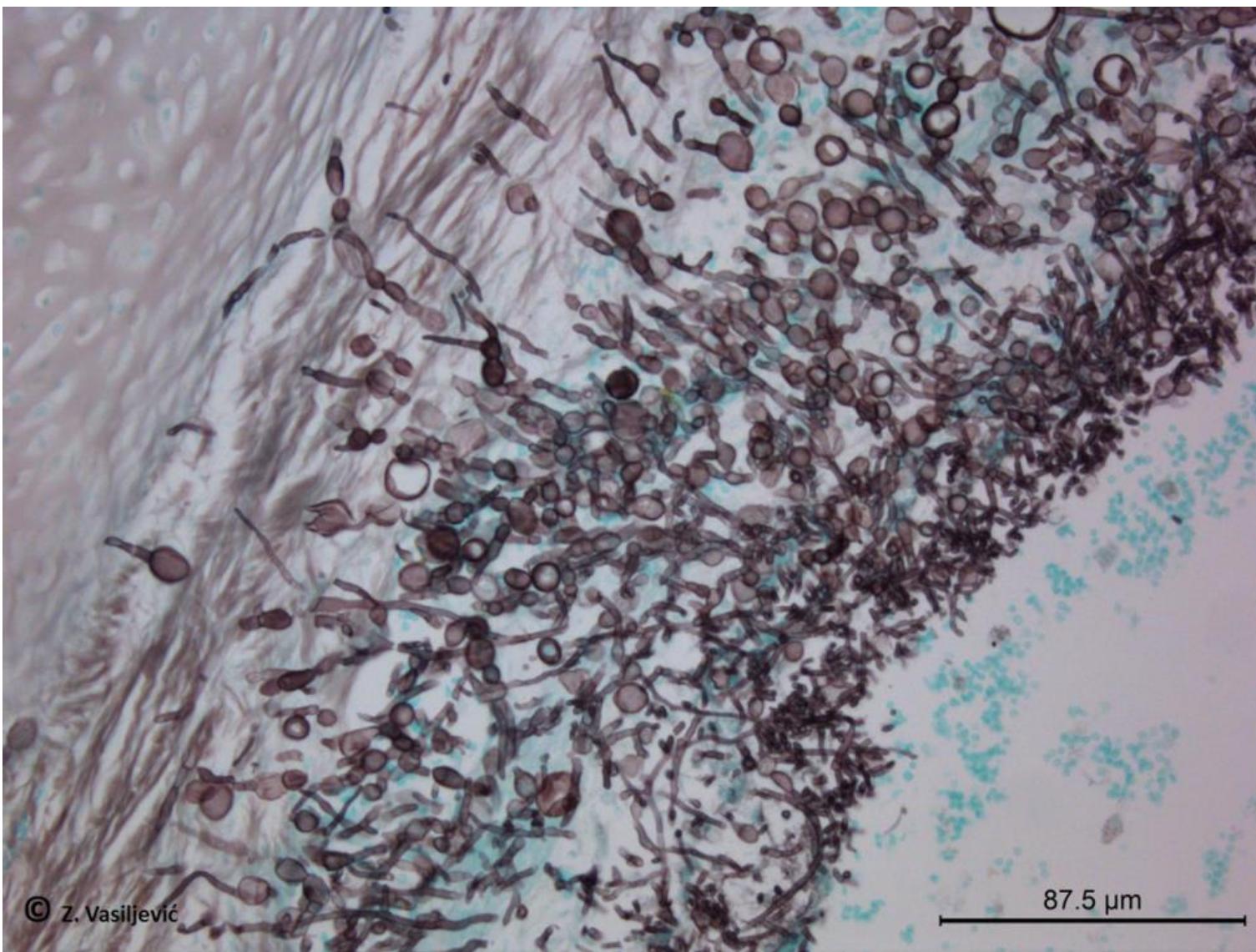


Pacijent 3

Zid bronha
(HE, x200)



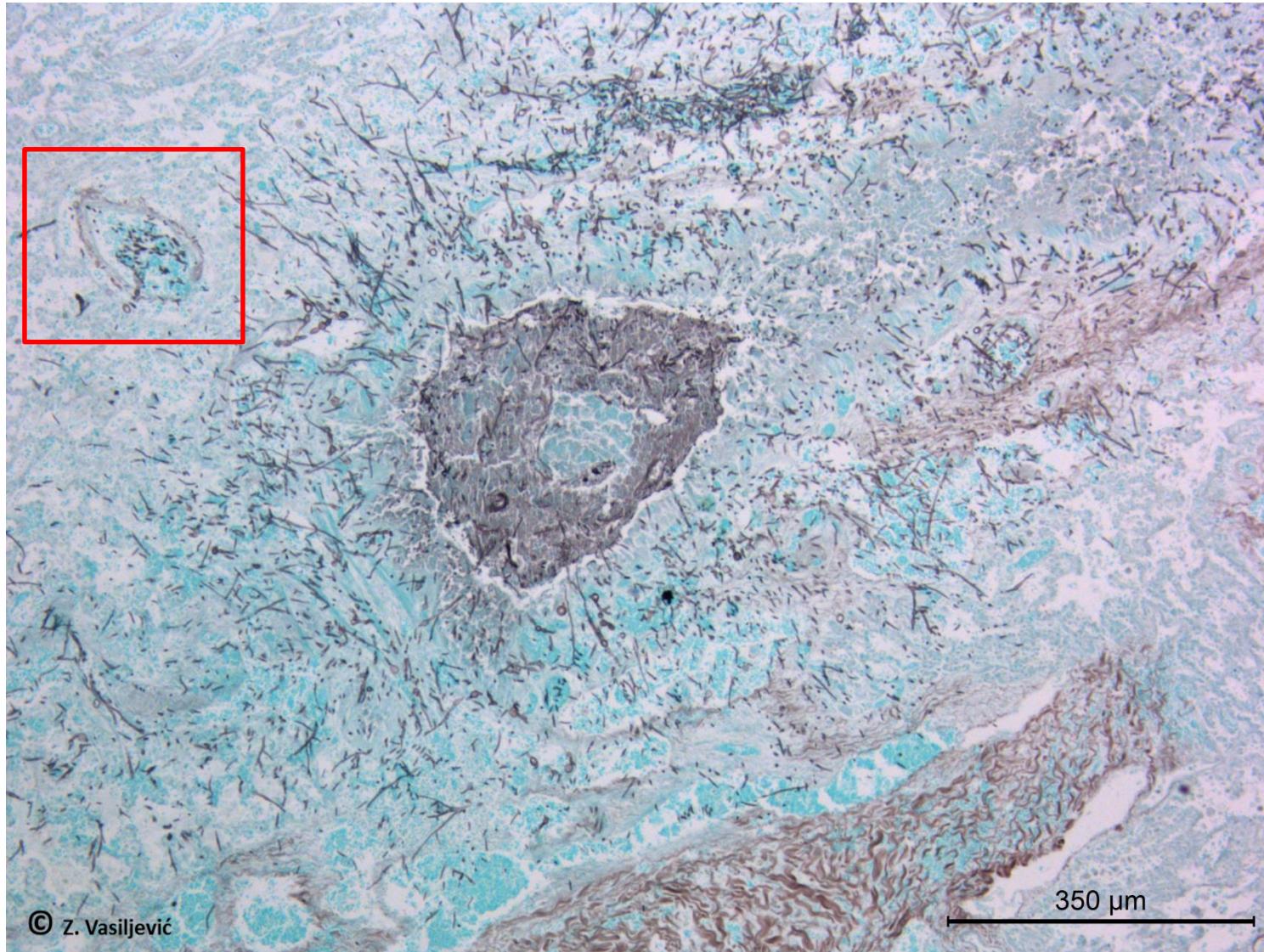
Pacijent 3



Zid bronha
(Grocott, x1000)

Invazija iz
sluznice u dublje
slojeve zida
bronha

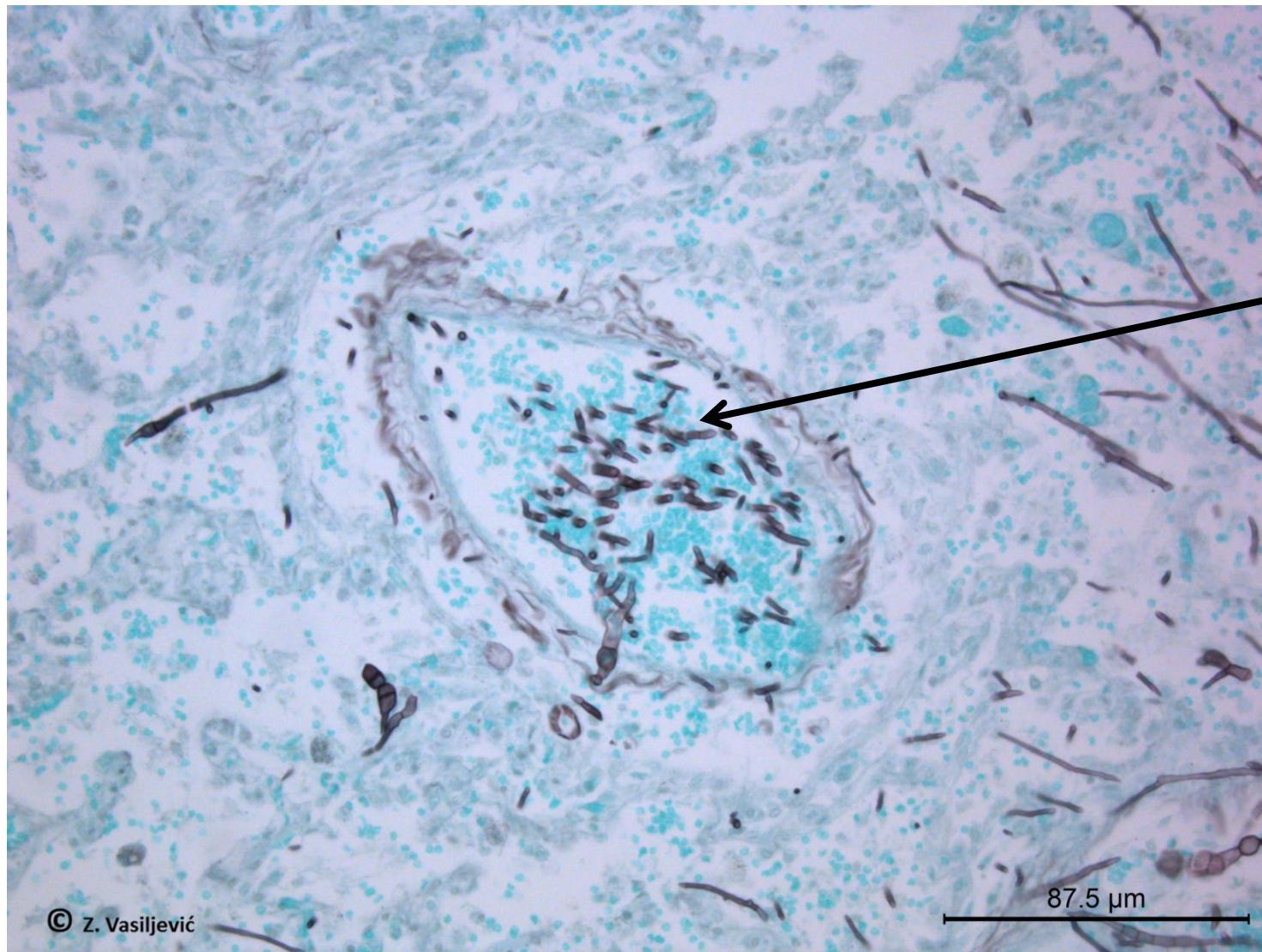
Pacijent 3



Pluća-bronh
(Grocott, x50)

Ekstremna
invazivnost, poput
eksplozije se
gljivični elementi
šire u plućni
parenhim
uključujući i krvne
sudove

Pacijent 3



Pluća
(Grocott, x200)

Invazija u krvni
sud

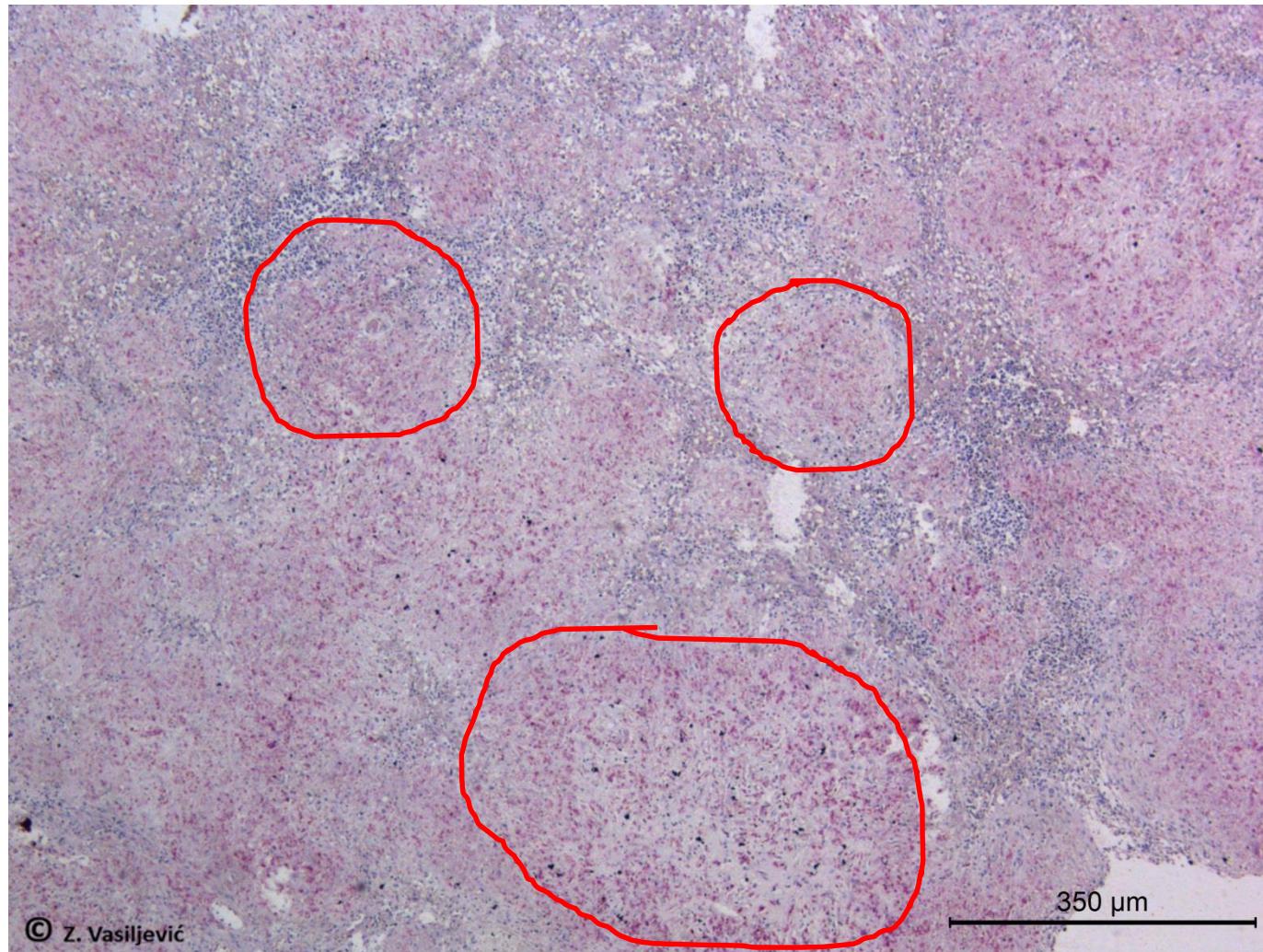
Pacijent 4

- Muško odojče uzrasta 4,5 meseca
- Kašalj, otežano disanje, hepatosplenomegalija, prolivaste stolice,
↑TT
- Pancitopenija, hipogamaglobulinemija
- RTG lobanje: osteolitičke promene. Susp. Langerhans cells histiocytosis
- UZ abdomena: uvećani paraaortalni i parakavalni limfni čvorovi
- Virusološka ispitivanja negativna (HIV, CMV, HBV, HCV)
- Biopsija makulopapuloznih promena na koži
- Prevod sa hemato-onkologije na OIN zbog teškog kliničkog stanja

Pacijent 4

- 4. dan: HK sterilna
urin 15-20 Le, malo bakterija, viđene gljivice; UK sterilna
- 7. dan: HK *Acinetobacter baumannii* (MDR, kolistin S)
UK *Candida albicans* 10^4 - 10^5 CFU/ml,
- 11. dan: HK *A. baumannii*
UK *C. albicans* 10^3 CFU/ml;
- AB: ceftriakson + amikacin; imipenem + vankomicin; + kolistin; + flukonazol
- 13. dana rezultat biopsije makulopapuloznih promena na koži: apsces, nema infiltracije u sklopu histiocitoze
- 14. dana *exitus letalis* usled septičkog šoka

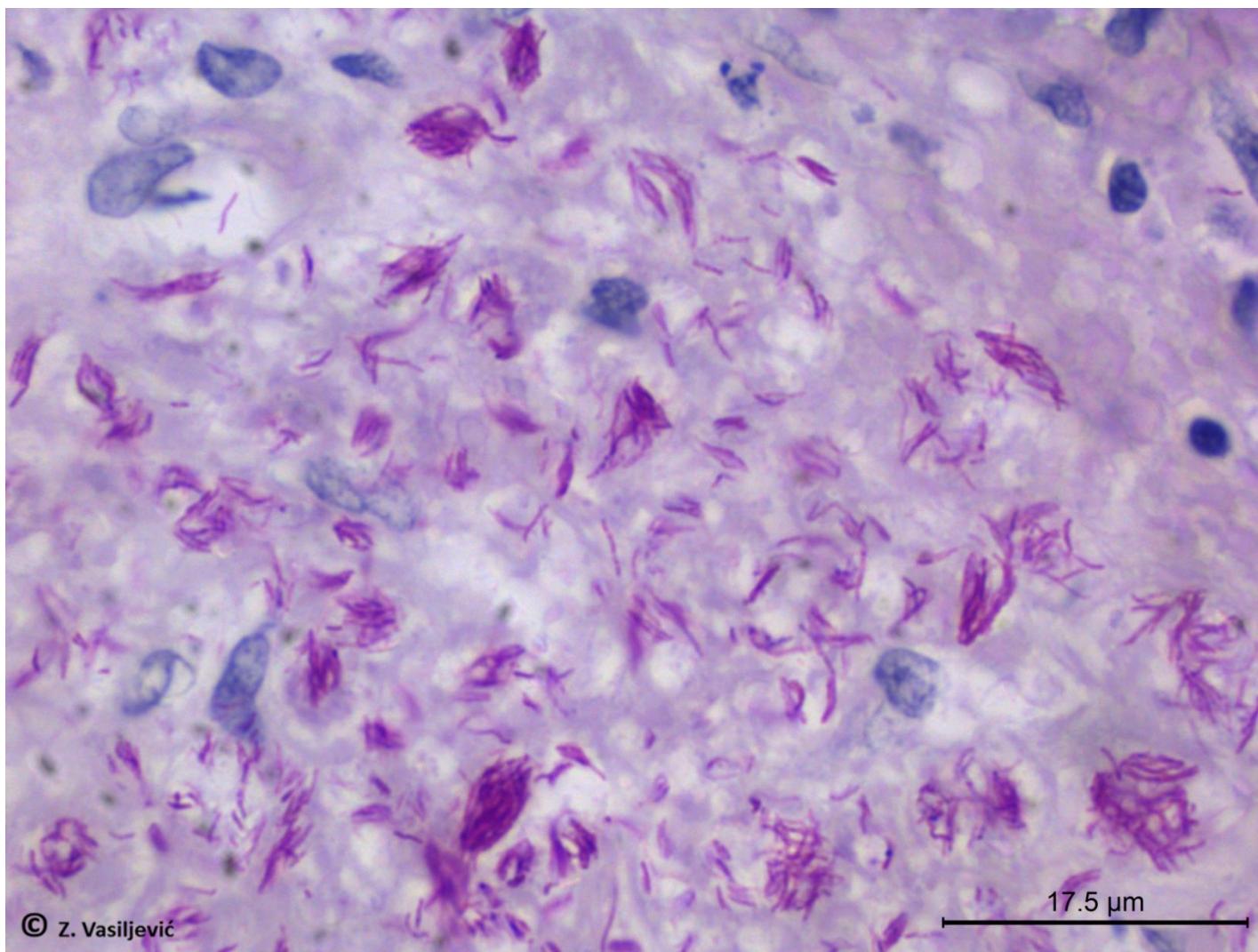
Pacijent 4



Pluća
(Ziehl Neelsen, x50)

Brojni, delom sliveni hronični zapaljenjski granulomi sa širokim nekrotičnim centrom

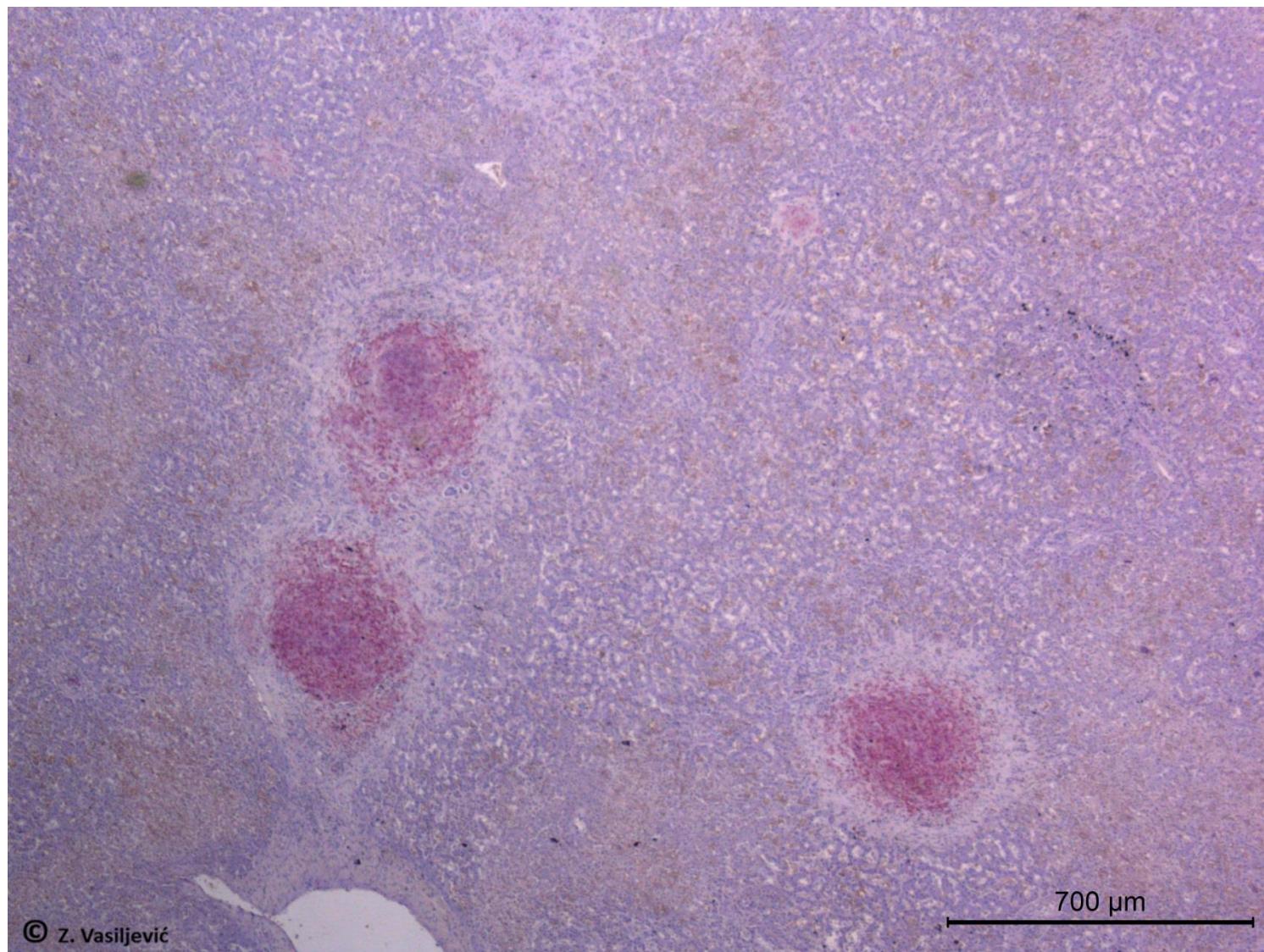
Pacijent 4



Pluća
(Ziehl Neelsen, x1000)

U nekrotičnim
centrima
granuloma
uočavaju se mase
ARB

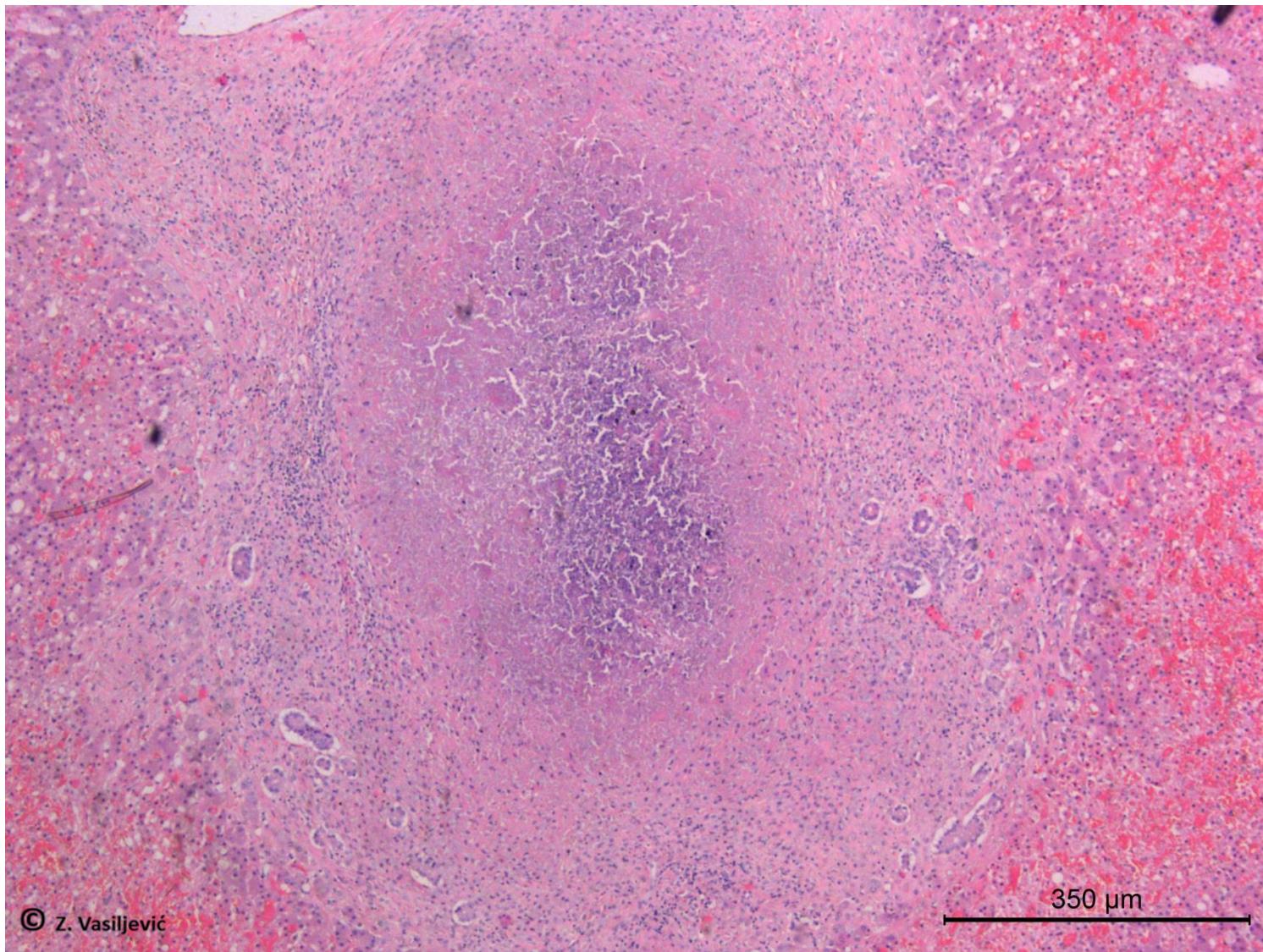
Pacijent 4



Jetra
(Ziehl Neelsen, x25)

Multipli hronični
zapaljenjski
granulomi u
parenhimu jetre

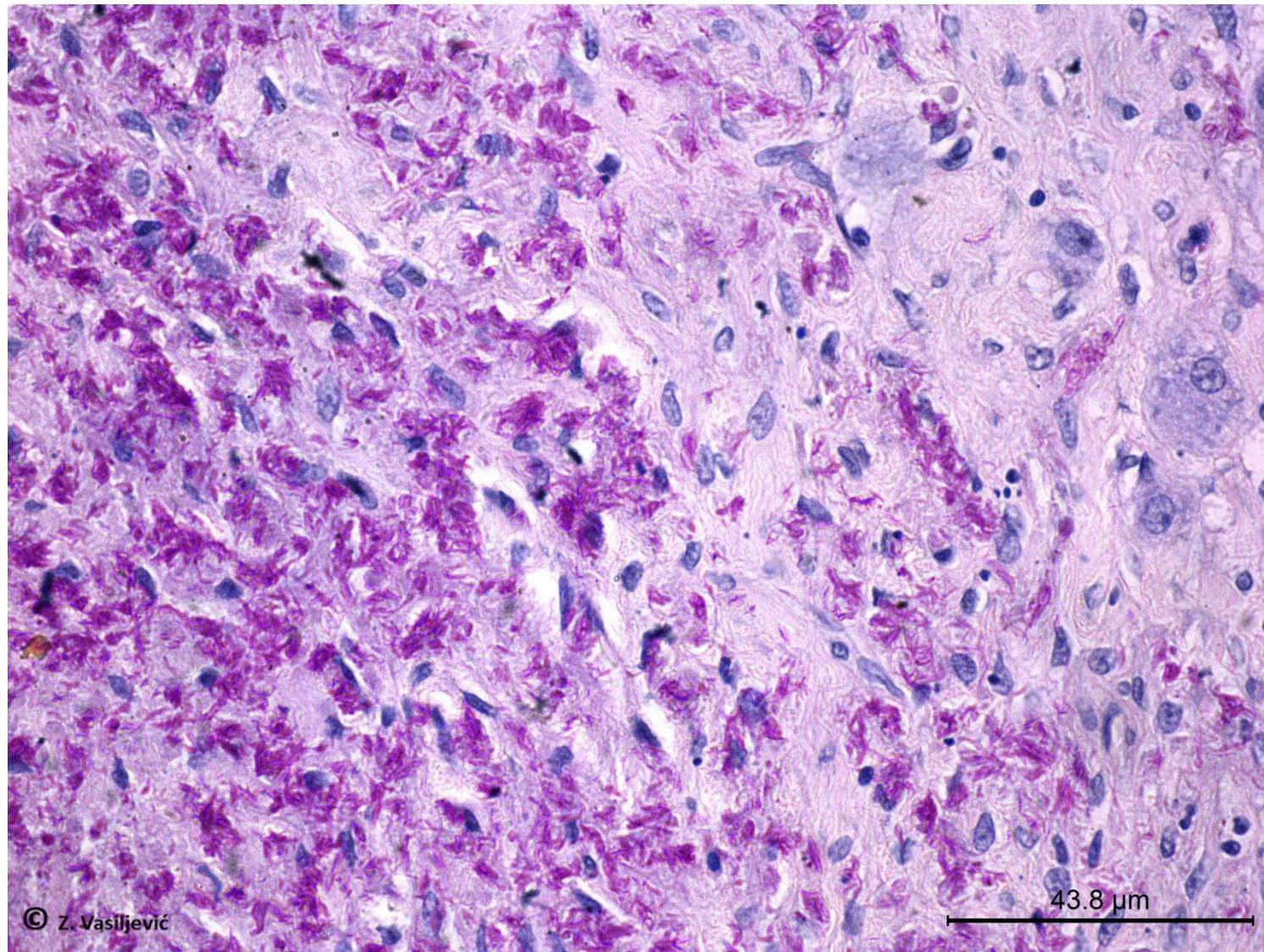
Pacijent 4



Jetra
(HE, x50)

Granulom sa
širokim
kazeozno
nekrotičnim
centrom u
parenhimu
jetre

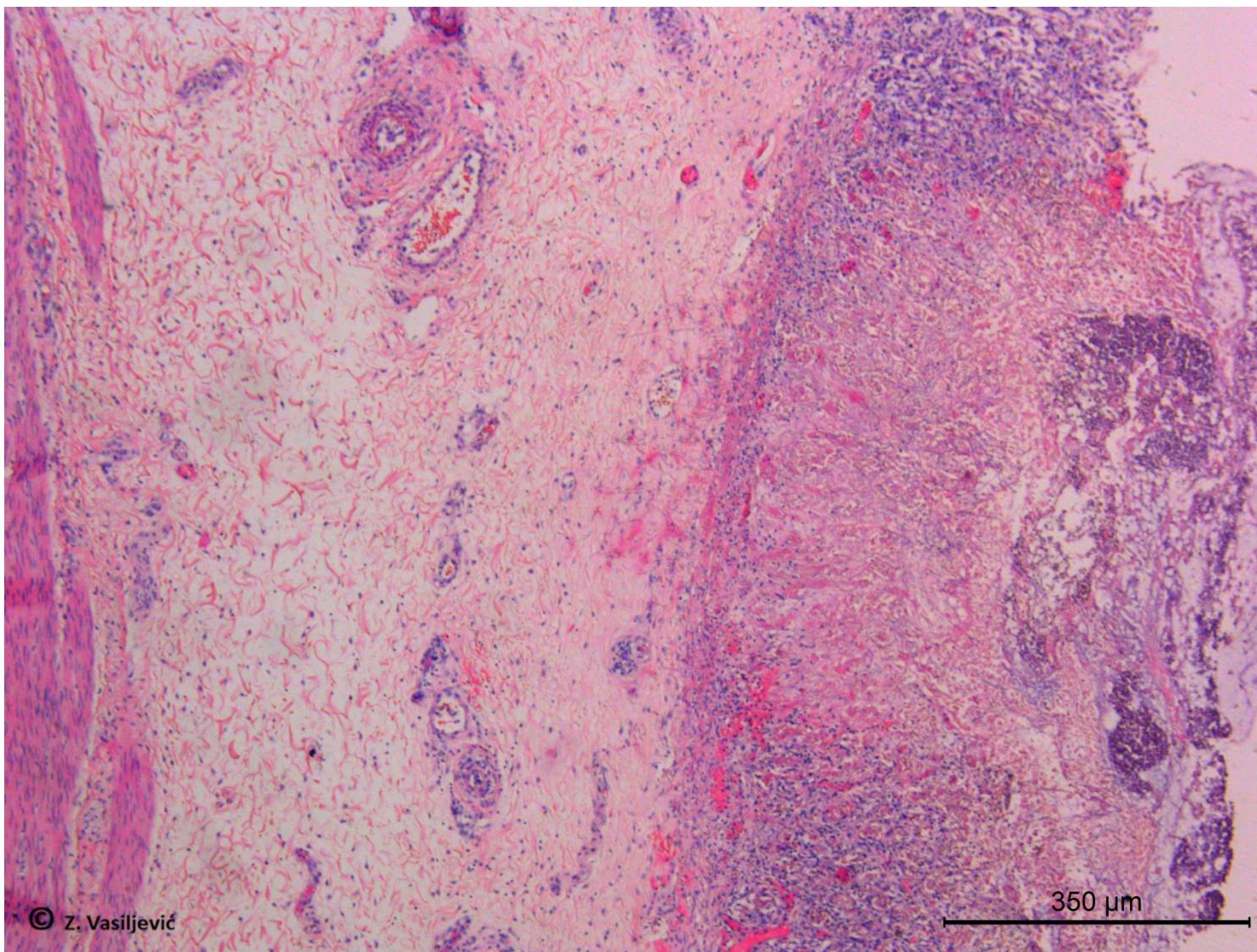
Pacijent 4



Jetra
(Ziehl Neelsen, x400)

U makrofagima
granuloma i
između njih vidi se
masa ARB

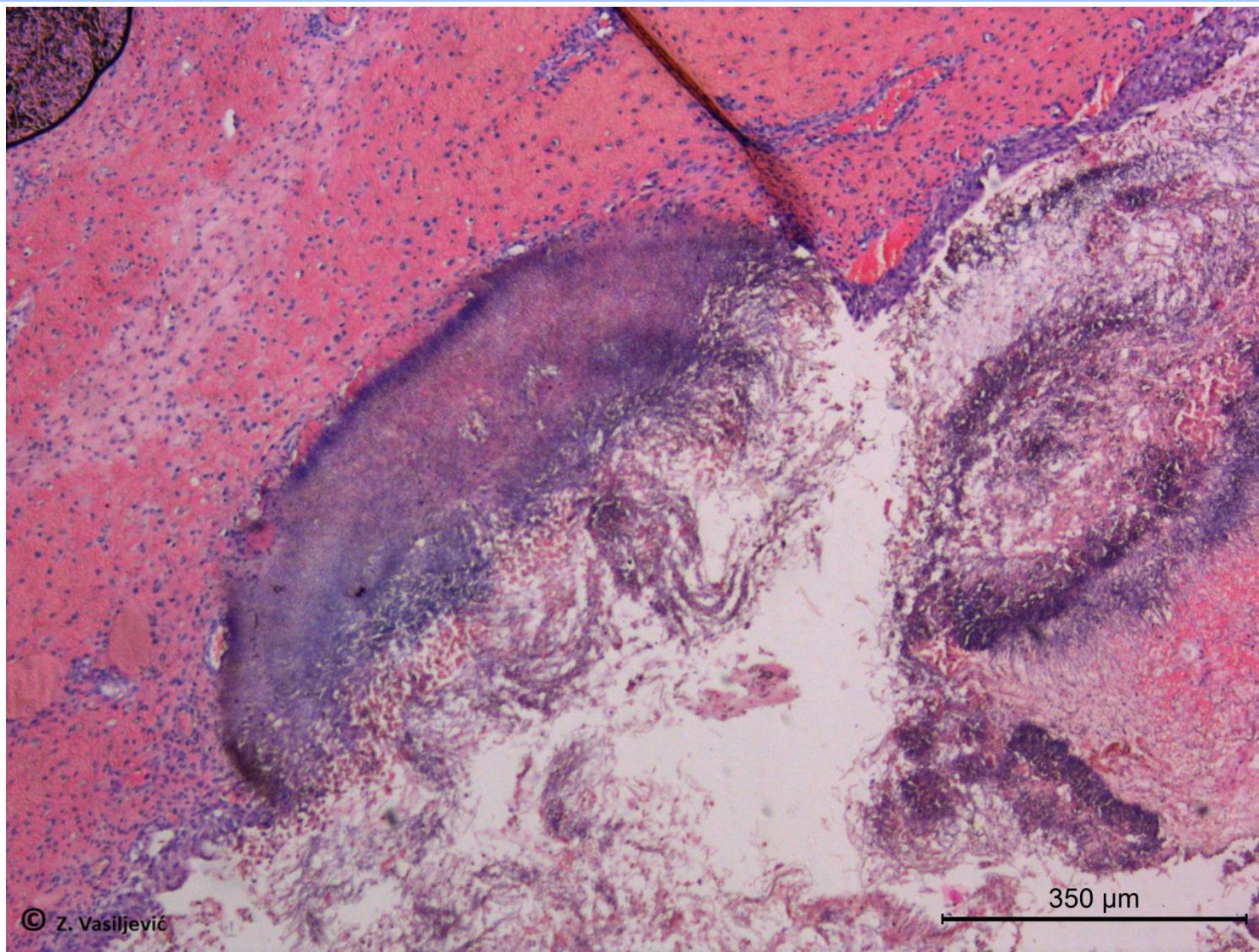
Pacijent 4



Želudac
(HE, x50)

Akutni
mikotični ulkus
želuca koji
dopire do *l.
muscularis
mucosae*

Pacijent 4

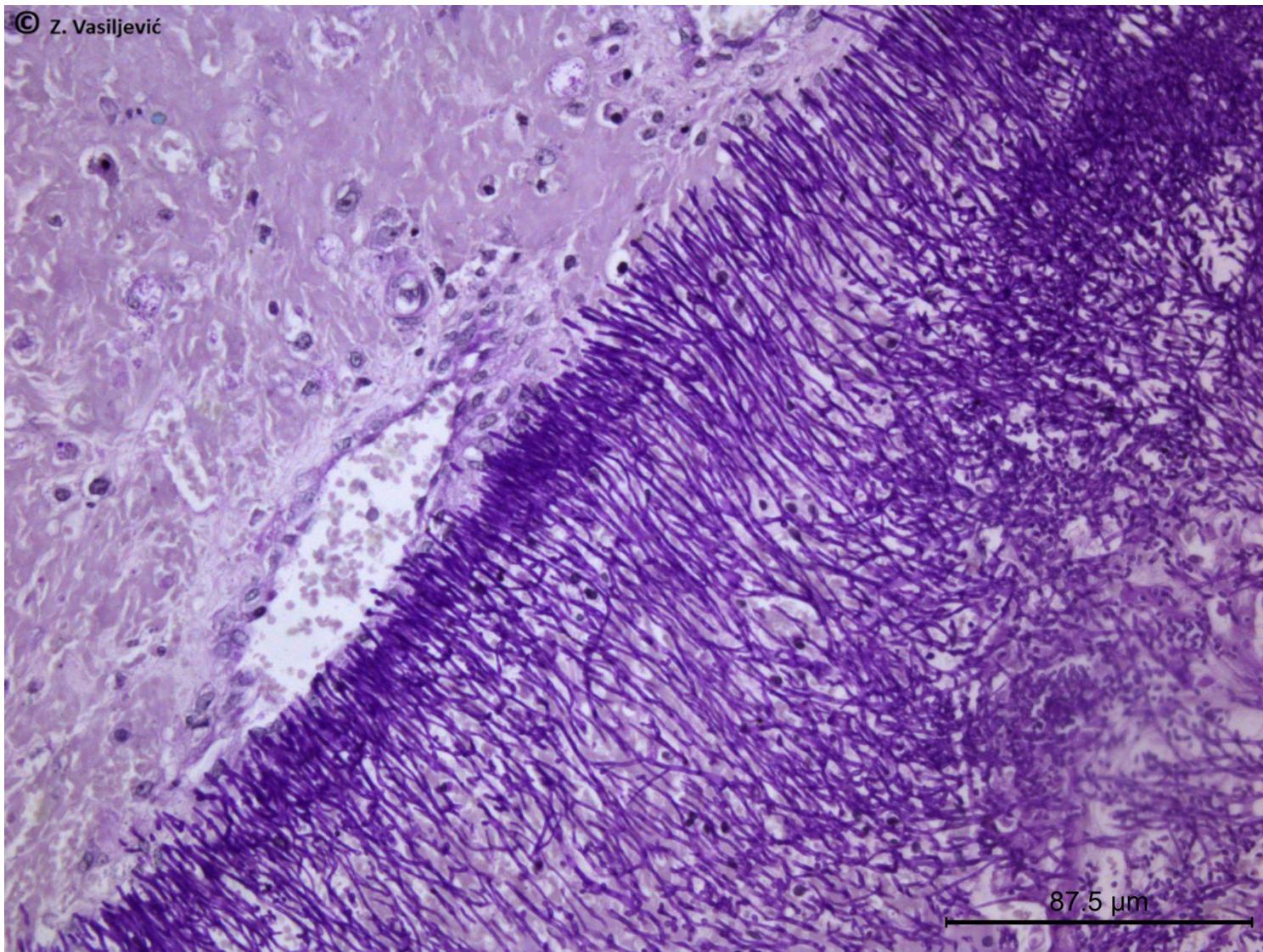


Mokraćna
bešika
(HE, x50)

Ulcerozni
mikotični
cistitis

Pacijent 4

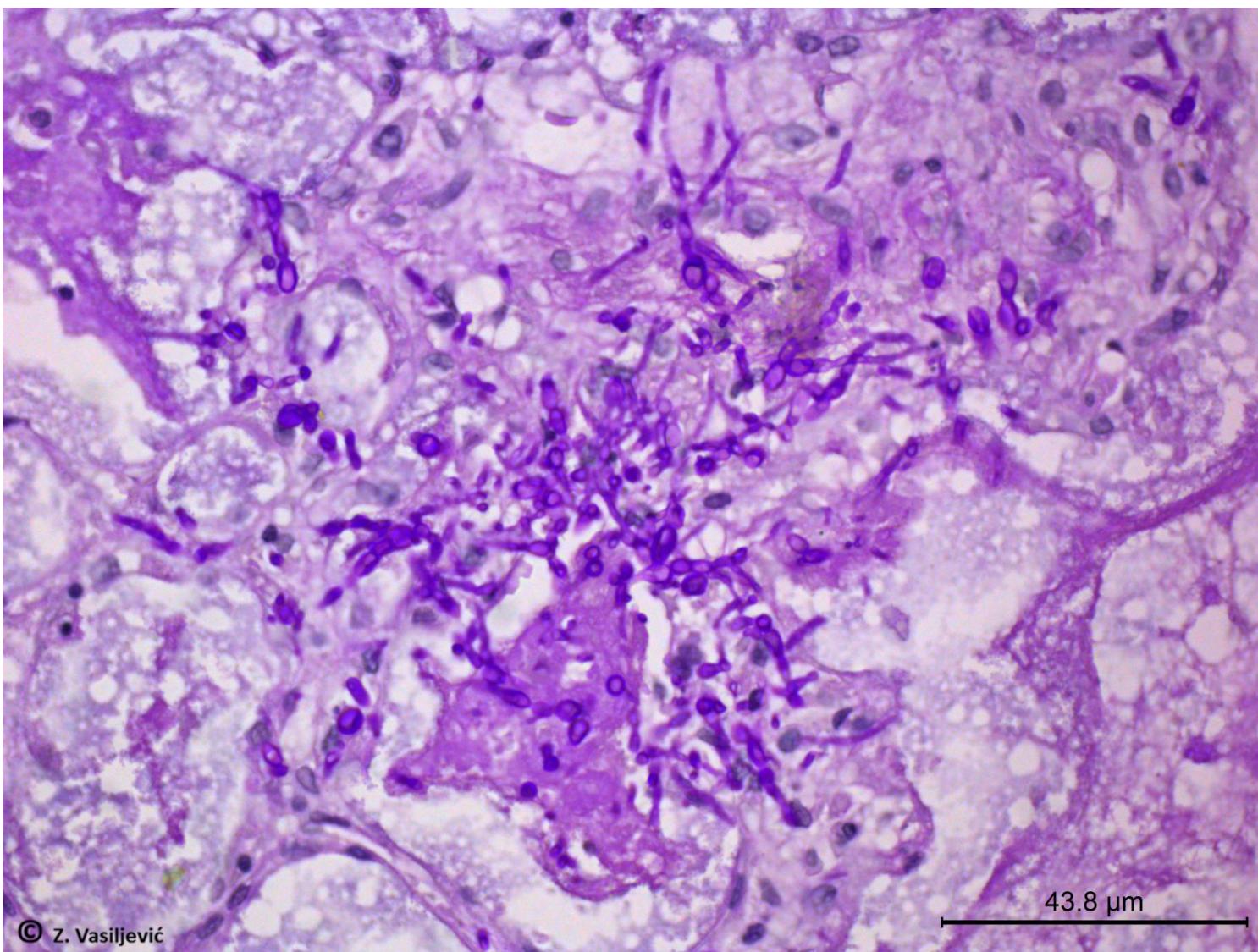
© Z. Vasiljević



Mokraćna
bešika
(PAS, x1000)

Invazivni rast
gljivičnih
pseudohifal u
podsluznicu
nadomak
kapilara

Pacijent 4



Pluća
(PAS, x400)

Dokaz
septičkog
širenja u
plućnom
parenhimu –
pseudohife u
alveolama

Pacijent 4

Kliničke dijagnoze:

- Hepatosplenomegalia
- Pancytopenia
- Pneumonia interstitialis
- Langerhans cells histiocytosis
- Imunodeficientio in obs.
- Sepsis (*Acinetobacter*)
- Infectio tractus urinarii (*Candida albicans*)
- Insufficientio cardiorespiratoria et circulatoria

Pacijent 4

Kliničke dijagnoze:

- Hepatosplenomegalia
- Pancytopenia
- Pneumonia interstitialis
- Langerhans cells histiocytosis
- Imunodeficitario in obs.
- Sepsis (*Acinetobacter*)
- Infectio tractus urinarii (*Candida albicans*)
- Insufficientio cardiorespiratoria et circulatoria

Autopsijski nalaz:

- Hepatomegalia et splenomegalia gravissima
 - Inflammatio chronica granulomatosa necrotica disseminata cutis, pulmonum, hepatis, lienis, medullae ossium, lymphonodorum retroperitonealium et glandularum suprarenalium /tuberkulozni tip granuloma – u nekrotičnim centrima nalazi se masa ARB, *Mycobacteria*)
 -
 - Urocystitis mycotica (Candidiasis invasiva vesiace urinariae)
 - Gastritis et enteritis ulcerosa mycotica (Candidiasis intestinalis tenuae)
 - Lymphadenitis mycotica (*Candida albicans*)
 - Candidiasis pulmonis
-
- Post mortem kulture:
 - jetra i slezina *Acinetobacter baumannii*,
 - pluća *Acinetobacter* i *K. pneumoniae*

Pacijent 4

Kliničko-patološka korelacija:

- Uzrok smrti je **septički šok izazvan bakterijom** (izolovanom u hemokulturi) kombinovan sa **diseminacijom mikotične infekcije** (*Candida albicans* u više sluznica i reatroperitonealnim limfnim čvorovima). Osnovnu bolest predstavlja generalizovana, diseminirana hronična nekrotizujuća granulomatozna infekcija izazvana mikobakterijom (neutvrđenog tipa) najverovatnije kao posledica **besežitisa**, a razvijena na osnovi **teške urođene imunodefijencije** odojčeta čiji morfološki supstrat predstavlja tešku hipoplaziju ili skoro potpuni nedostatak limfatičnog aparata.

Genetika:

X-vezana teška kombinovana imunodefijencija (SCID); mutacija gama-lanca za IL-2 receptor

Pitanje

- Da li pojava invazivne gljivične infekcije može da se spreči?
 - A. DA
 - B. NE
 - C. DONEKLE

Pitanje

- Da li pojava invazivne gljivične infekcije može da se spreči?
- A. DA
- B. NE
- C. DONEKLE

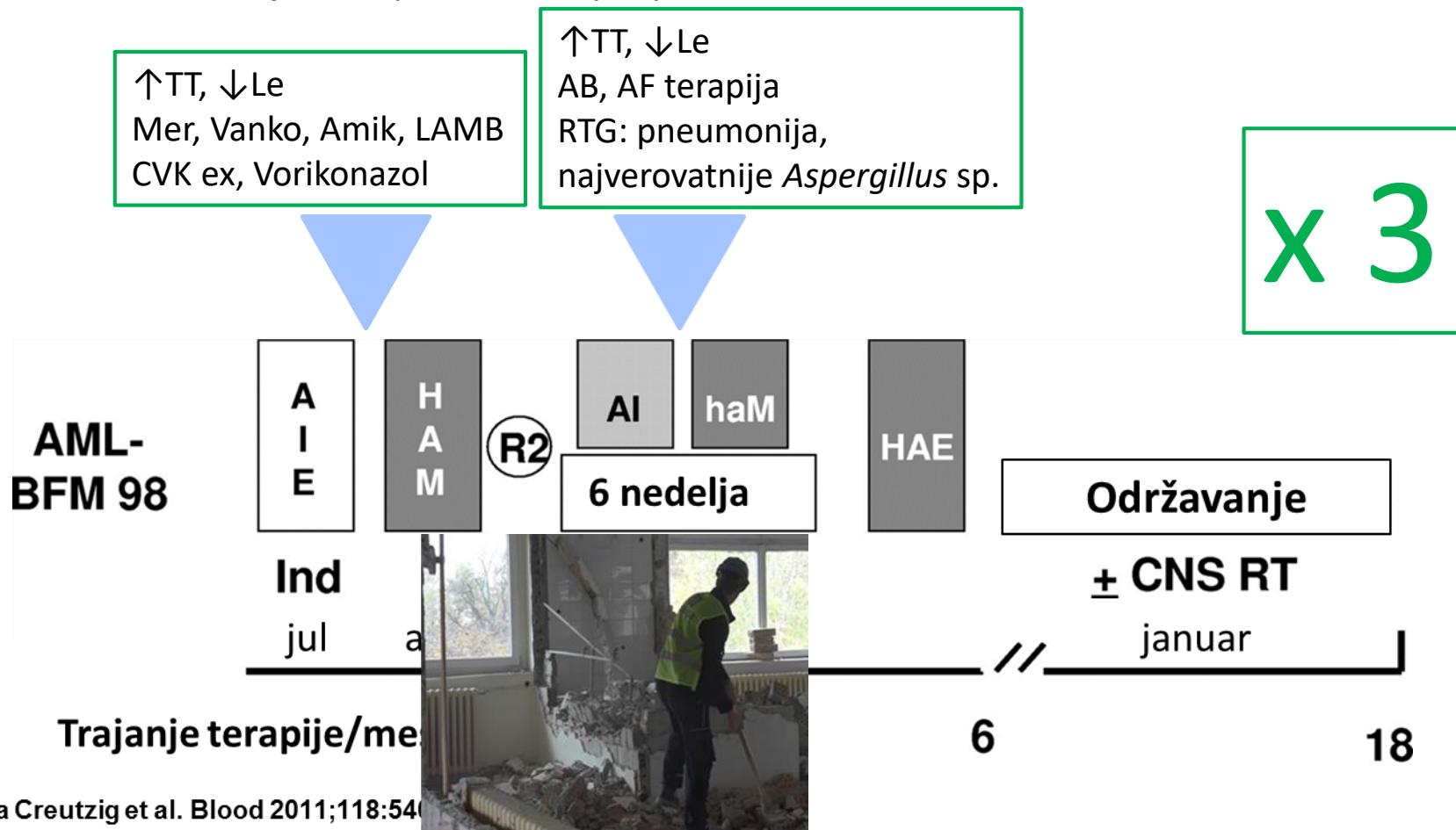


National Guidelines for the Prevention of Nosocomial Invasive Aspergillosis During Construction/Renovation Activities



Pacijent 5

- Devojčica uzrasta 6,5 godina, hospitalizovana jula 2015. godine
- Dg: *Leukaemia myeloblastica acuta*
- Polovinom jula započeta Th po protokolu AML BFM 98



Završna razmatranja

- Dijagnostikovane gljivične infekcije predstavljaju samo „vrh ledenog brega“
- Klinička sumnja nije dovoljna, mikrobiološka kultura nije dovoljna:
Kod bolesnika 3 i 4, IGI je prošla „ispod radara“ i ne bi bila dijagnostikovana bez autopsije
- Potcenjen je nozokomijalni aspekt gljivičnih infekcija, uglavnom se misli SAMO na bakterijske infekcije
- Hematolozi uglavnom više misle na IGI, intenzivisti još uvek ne sagledavaju dovoljno njihov značaj i učestalost

Završna razmatranja

- Potrebno je proceniti FAKTORE RIZIKA pacijenata
- Potrebno je poznavati lokalnu epidemiologiju
- Dopuniti ispitivanja i onim agensima o kojima se obično ne razmišlja
- *Skreening* i preventivne mere imaju ključni značaj

HVALA NA PAŽNJI!