

Mikroskopický nálezn kryptokoka v mozkomíšním moku jako první příznak rozvinutého stadia AIDS: kazuistika

Microscopic detection of Cryptococcus in the cerebrospinal fluid as the first symptom of the advanced stage of AIDS – a case study

Souhrn

Oportunní infekce mohou být prvním závažným příznakem, který upozorní na základní onemocnění u osob s imunitním deficitem v oblasti T-lymfocytů. Popsaný případ dokumentuje výskyt kryptokokové meningitidy jako první projev pokročilého HIV/AIDS-onemocnění. K diagnóze vedlo rutinní, důsledně provedené cytologické vyšetření mozkomíšního moku. Mikroskopický nálezn byl potvrzen latexovým testem a kultivací s masivním nárůstem *Cryptococcus neoformans*. Následně byla stanovena diagnóza HIV/AIDS-onemocnění včetně anamnesticky doložené rizikové homosexuální i heterosexuální aktivity.

Abstract

Opportunistic infections may be the first serious symptom pointing to the underlying disease in persons with T lymphocyte immunodeficiency. The case study describes the occurrence of Cryptococcus meningitis as the first symptom of advanced HIV/AIDS disease. The diagnosis resulted from a rigorous cytological examination of the cerebrospinal fluid. The microscopic finding was confirmed by a latex test and cultivation with massive growth of *Cryptococcus neoformans*. Subsequently, HIV/AIDS was diagnosed, with anamnestically documented risk homosexual and heterosexual activity.

M. Dastych¹, Z. Čermáková¹,
P. Štourač³, A. Ševčíková²,
I. Kocmanová², S. Snopková⁴

¹ Oddělení klinické biochemie a hematologie FN Brno a Katedra laboratorních metod LF MU

² Oddělení klinické mikrobiologie FN Brno

³ Neurologická klinika FN Brno a LF MU

⁴ Klinika infekčních chorob FN Brno a LF MU



doc. MUDr. Milan Dastych, CSc., MBA
Oddělení klinické biochemie a hematologie
Fakultní nemocnice Brno
Jihlavská 20, 625 00 Brno
e-mail: mdast@fnbrno.cz

Přijato k recenzi: 19. 7. 2007
Přijato do tisku: 25. 10. 2007

Klíčová slova

kryptokoková meningitida – oportunní infekce – mozkomíšní mok – HIV/AIDS

Key words

cryptococcal meningitis – opportunistic infections – cerebrospinal fluid – HIV/AIDS

Úvod

Do klinického obrazu pacientů s poruchou imunity tj. imunokompromitovaných osob z kategorie pacientů s HIV-infekcí, ale i pacientů léčených imunosupresivou po transplantacích a dlouhodobé imunosupresi z jiných indikací patří výskyt klinicky závažných oportunních infekcí. Velké oportunní infekce jsou vyvolávány agens, která jsou za standardních podmínek považována za nepatogenní nebo velmi málo patogenní. U pacientů infikovaných virem lidské imunodeficiencie (HIV), dospělých i dětí, je výskyt oportunních infekcí indikativní pro diagnózu AIDS. Mezi nejběžnější oportunní infekce je řazena pneumocystová pneumonie, toxoplazmová encefalitida, kandidová ezofagitida, plicní tuberkulóza a v rozvinutém stadiu se pak manifestují další závažné infekce vázané na hluboký imunodeficit, jako je diseminovaná mykobakteriíza či infekce vyvolané cytomegalovirem. Kryptokoková infekce je u pacientů s rozvinutým syndromem získané imunodeficiencie na jednom z předních míst v příčině smrtelných infekčních komplikací. Klinicky manifestní formy kryptokokózy u HIV-pozitivních osob jsou vázány na hluboký imunodeficit s poklesem CD4+lymfocytů pod 100/μl. Nejčastější klinickou manifestací kryptokokové nákazy u HIV-infikovaných osob je meningitida (až v 80 %). Jako iniciální indikativní onemocnění AIDS se vyskytuje jen v 1,5 %. Kryptokoková meningitida je závažná komplikace zatížená i při dostupné a relativně účinné léčbě (amfotericin B, flukonazol) vysokou úmrtností [1–7].

Je zajímavé, že i v zemích postižených pandemickým výskytem HIV infekce bývají velmi často projevy a diagnostika kryptokokové meningitidy prvním projevem vedoucím k diagnóze HIV-infekce případně AIDS [8].

Česká republika je zatím jednou z nejméně postižených zemí pandemií HIV/AIDS. K 31. 12. 2006 bylo v ČR registrováno celkem 920 HIV-pozitivních případů, u 209 bylo diagnostikováno plně rozvinuté onemocnění AIDS, 123 z nich zemřelo [9].

Nejčastějším způsobem přenosu HIV v ČR je i nadále sexuální přenos (přes 84 % všech diagnostikovaných případů). Nejvíce

Tab. 1. Biochemické, cytologické, sérologické, kultivační a flow-cytometrické parametry v krvi, séru, plazmě a mozkomíšním moku.

		referenční meze
CSF-glukóza	3,3 mmol/l	2,5–4,0 mmol/l
S-glukóza	5,7 mmol/l	3,1–5,6 mmol/l
CSF-laktát	1,9 mmol/l	1,1–2,4 mmol/l
P-laktát	2,0 mmol/l	0,5–2,2 mmol/l
CSF-bílkovina	0,54 g/l	0,15–0,45 g/l
CSF-albumin	126,0 mg/l	120–300 mg/l
S-albumin	37,5 g/l	34,0–48,0 g/l
Q-albumin	$3,4 \times 10^{-3}$	$2,5–8,0 \times 10^{-3}$
S-IgG	24,45 g/l	7,0–16,0 g/l
CSF-IgG	73,60 mg/l	12,0–40,0 mg/l
intratekální IgG	20,62 mg/l	0,0
intratekální IgG relat.	28,01 %	
S-IgM	1,51 g/l	0,4–2,3 g/l
CSF-IgM	1,97 mg/l	0,2–2,5 mg/l
intratekální IgM	1,10 mg/l	0,0
intratekální IgM relat.	55,78 %	
S-IgA	12,46 g/l	0,7–4,0 g/l
CSF-IgA	11,40 mg/l	0,2–3,0 mg/l
intratekální IgA	neprokázána	0,0
intratekální IgA relat.	0 %	
kvantitativní cytologie		
CSF-mononukleáry	10,0 / μl	0,0–3,0 / μl
CSF-polynukleáry	0,0 / μl	0,0
CSF-erythrocyty	0,0 / μl	0,0
CSF-atypické kulaté útvary	170 / μl	
kvalitativní cytologie (cytospinový preparát)	lymfocyty/monocyty susp. kryptokoky	
CSF-latex aglutinační test	pozitivní	
CSF-kultivace na kvasinky	Cryptococcus neoformans	
Ab HIV v séru (ELISA)	reaktivní	
konfirmace v NRL AIDS SZÚ	pozitivní	
CD4+	4 / μl	400–1400 / μl
CD4+ / CD8+	0,05	0,70–3,00

CSF – mozkomíšní mok, S – sérum, P – plazma, NRL – Národní referenční laboratoř, SZÚ – Státní zdravotní ústav

exponovanou populační skupinou zůstávají v ČR muži mající sex s muži (53 %). Počet heterosexuálně přenášených infekcí zůstává prakticky na stejné úrovni (okolo 32 %), stejně i četnost infikovaných žen

(okolo 22 %). Prevalence HIV/AIDS zůstává nadále relativně nízká (89,7 případů na milion obyvatel), nicméně jeví v posledních třech letech mírně vzestupnou tendenci [9].

Popis případu

Muž 43 let, svobodný, intermitentně pečuje o 12letého syna. Kromě atopického ekzému se s ničím neléčil. V poslední době má nechutenství, za 3 měsíce zhubl asi 10 kg. 3 dny pozoroval bolest hlavy v zátylku a za očima, měl nauzeu, ale nezvracel.

Byl vyšetřen na Neurologické klinice FN Brno (CRP 1,5 mg/l, WBC $3,12 \times 10^9$, CT mozku bez patologického nálezu) se závěrem susp. neuroinfekce. Doporučenou hospitalizaci na Klinice infekčních chorob pacient odmítl. Po 3 dnech byl vyšetřen na Neurologické klinice FN U sv. Anny pro zhoršení obtíží. Byl odeslán k hospitalizaci na Kliniku infekčních chorob FN Brno.

Váha 85 kg, výška 187 cm, TK 150/80, P 60/min, pravák, teplota 36,5 °C.

Kromě výrazné opozice šije a pozit. La-segue 70° byl fyzikální nále z zcela negativní. Byla provedena diagnostická lumbální punkce a kompletní laboratorní cytologické a biochemické vyšetření mozkomíšního moku. Laboratorní nále z včetně sérologického, mikrobiologického a flow-cytometrického vyšetření je uveden v tab. 1.

Komentář k laboratornímu nálezu

Biochemické parametry včetně celkové bílkoviny byly v referenčních mezích, hematoencefalická bariéra vyjádřená jako Q-albumin (tj. poměr koncentrace CSF-albumin/S-albumin) byla neporušená.

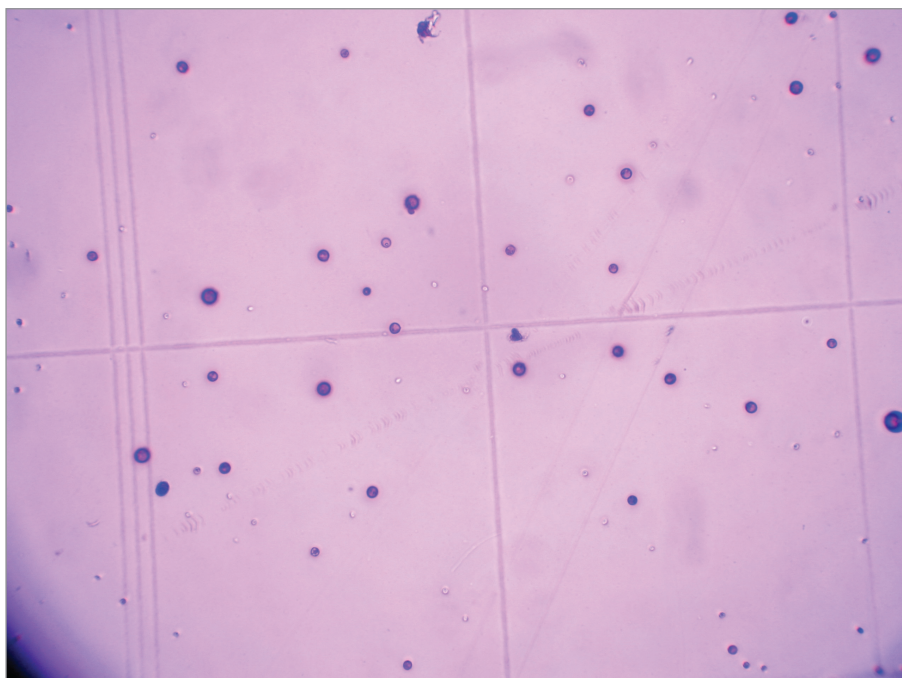
Intratekální syntéza imunoglobulinů stanovená výpočtem podle Reiberova vztahu byla prokázána u IgG a IgM, nebyla prokázána u IgA.

Kvantitativní cytologie

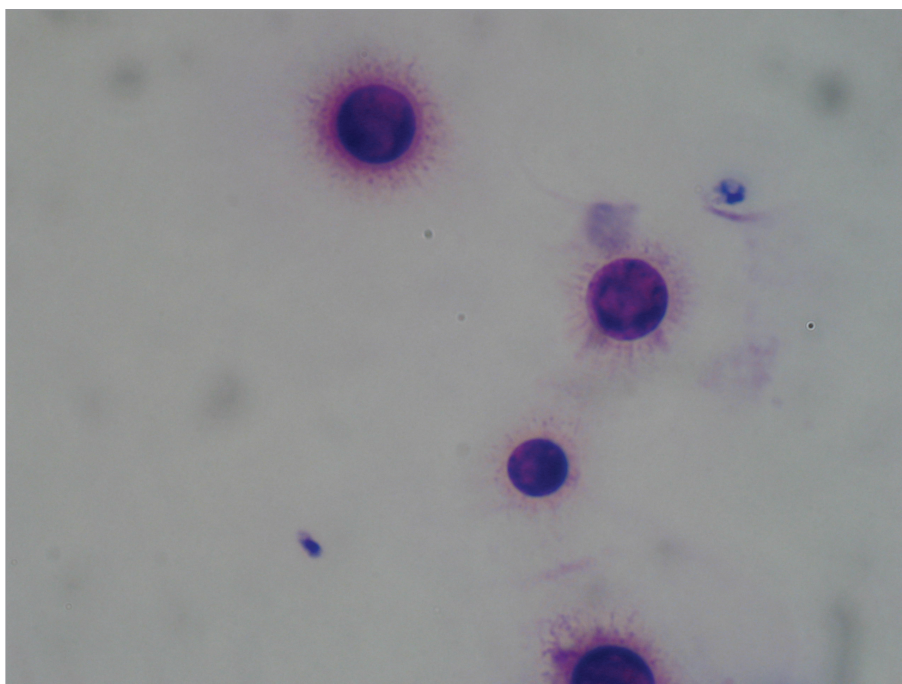
Přítomné buněčné elementy byly spočítány po obarvení Fuchsinem ve o Fuchs-Rosenthalově komůrce. Byla zjištěna mírná mononukleární pleocytóza s masivním nálezem atypických kulatobuněčných útvarů (obr. 1).

Kvalitativní cytologie (cytospinový preparát)

Na cytocentrifuze byl zhotoven cytospinový mikroskopický preparát. Ten byl obarven pomocí soupravy Diff-Quik Medion Diagnostics.



Obr. 1. Různě veliké kryptokoky obarvené fuchsinem ve Fuchs-Rosenthalově komůrce při kvantitativní cytologii mozkomíšního moku.



Obr. 2. *Cryptococcus neoformans* v cystospinovém preparátu (barvení Diff-Quik Medion Diagnostics; zvětšení 1000krát).

V preparátu byly přítomny lymfocyty, monocyty a četné kulaté útvary. Při zvětšení 1000krát bylo u uniformních kulovitých útvarů s vyjádřeným kruhovým lemem vysloveno podezření na přítomnost kryptokoka.

Závěr cytologického vyšetření likvoru: serózní neuroinfekce, suspektní kryptokokóza CNS (obr. 2) Na základě vysloveného podezření na přítomnost kryptokoka v likvoru byla provedena latexová aglutinace na průkaz

kapsulárního antigenu glykuronoxylomananu setem Pastorex rCrypto Plus BioRad s pozitivním výsledkem.

Následná kultivace likvoru na kvasinky (Sabouraudův agar, 30 °C), prokázala masivní růst bílých mukózních kolonií, které byly dourčeny pomocí setu ID 32 C (Bio Mérieux) jako *Cryptococcus neoformans*.

Primární podezření na kryptokokózu CNS vyslovené na základě cytologického vyšetření likvoru tak bylo potvrzeno průkazem antigenu i kultivací.

Provedené vyšetření na protilátky HIV bylo pozitivní. Reaktivita vzorku byla potvrzena v Národní referenční laboratoři pro AIDS v Praze. Flowcytometrické vyšetření buněčné imunity prokázalo enormně snížený počet CD4+ lymfocytů i nízký imunoregulační index, tj. poměr CD4+/CD8+. MR i CT mozku neprokázaly žádné patologické změny. V cíleně doplněné anamnéze pacient přiznal pohlavní promiskuitu s nechráněnými rizikovými homosexuálními i heterosexuálními kontakty.

Po stanovení Dg. HIV/AIDS byla zahájena kombinovaná léčba (amfotericin B, flukonazol, Zovirax). V průběhu několika dní došlo ke zhoršení psychického stavu pacienta s kolísající luciditou, dezorientací a poruchou vidění. Stav se nelepšil a 12. den hospitalizace došlo k opakované srdeční zástavě s neúspěšnou resuscitací a úmrtím pacienta.

V sekčním materiálu byl kultivačně prokázán *Cryptococcus neoformans* ve všech oddílech mozku i v plicní tkáni.

Diskuse

Cílem efektivní zdravotní péče je včasné a správné stanovení diagnózy onemocnění sledované bezodkladným nasazením

účinné léčby. U velké skupiny chorob s necharakteristickými klinickými projevy i běžnými laboratorními nálezy je určení správné diagnózy závislé na komplexních znalostech, zkušenosti a intuici ošetřujícího lékaře. Každý klinický příznak i abnormální laboratorní nálezy musí být důsledně vyhodnocen.

V popsaném případě byly necharakteristické příznaky suspektní neuroinfekce provázeny atypickým cytomorfologickým nálezem v mozkomíšním moku, který původně působil dojmem artefaktu. Jeho vyloučení a interdisciplinární spolupráce klinického biochemika, mikrobiologa, neurologa a infektionisty vedla k etiologickému určení patologického stavu i základního onemocnění. Vyslovené podezření na přítomnost kryptokoka v mozkomíšním moku pacienta bylo potvrzeno stanovením kryptokokového antigenu s jeho následným kultivačním průkazem.

Závěr

Popsaný případ dokumentuje výskyt kryptokokové meningitidy jako první projev pokročilého HIV/AIDS-onemocnění. K diagnóze vedlo rutinní, důsledně provedené cytologické vyšetření mozkomíšního moku. Mikroskopický nálezy byl potvrzen latexovým testem a kultivací s masivním nárůstem *Cryptococcus neoformans*. Následně byla stanovena diagnóza HIV/AIDS-onemocnění včetně anamnesticky doložené rizikové homosexuální i heterosexuální aktivity.

Literatura

1. Prasad KN, Agarwal J, Nag VL, Verma AK, Dixit AK, Ayyagari A. Cryptococcal infection in patients with clinically diagnosed meni-

gitis in a tertiary care center. *Neurology India* 2003; 51: 364–366.

2. Chakrabarti A, Sharma A, Sood A, Grover R, Sakhuja V, Prabhakar S et al. Changing scenario of cryptococcosis in a tertiary care hospital in north India. *Indian J Med Res* 2000; 112: 56–60.

3. Khanna N, Chandramuki A, Desai A, Ravi V. Cryptococcal infections of the central nervous system: an analysis of predisposing factors, laboratory findings and outcome in patients from South India with special reference to HIV infection. *J Med Microbiol* 1996; 45: 346–379.

4. Kris Ann K. Oursler, D'Moore R, Chaison RE. Risk factors for cryptococcal meningitis in HIV-infected patients. *Aids Research and Human Retroviruses* 1999; 15: 625–631.

5. Kalra SP, Chadha DS, Singh AP, Sanchette PC, Mohapatra AK. Cryptococcal meningitis in acquired immunodeficiency syndrome. *J Assoc Physicians India* 1999; 47: 958–961.

6. Moreira Tde A, Ferreira MS, Ribas RM, Borges AS. Cryptococcosis: clinical epidemiological laboratory study and fungi varieties in 96 patients. *Rev Soc Bras Med Trop* 2006; 39: 255–258.

7. Likasitwattanukul S, Poneprasert B, Sirisanthana V. Cryptococcosis in HIV-infected children. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004; 35: 935–939.

8. Lakshmi V, Sudha T, Tejda VD, Umabal P. Prevalence of central nervous system cryptococcosis in human immunodeficiency virus reactive hospitalized patients. *Indian J Med Microbiol* 2007; 25: 146–149.

9. Brůčková M, Malý M, Vandasová J. Výskyt a šíření HIV/AIDS v ČR v roce 2006. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2007; 16: 36–40.

www.mhwa.cz