

*Magdalena Kurenko-Deptuch<sup>1</sup>, Beata Wolska-Kuśnierz<sup>1</sup>,  
Edyta Heropolitańska-Pliszka<sup>1</sup>, Maja Klaudel-Dreszler<sup>1</sup>, Małgorzata Pac<sup>1</sup>,  
Barbara Pietrucha<sup>1</sup>, Barbara Garczewska<sup>2</sup>, Ewa Bernatowska<sup>1</sup>*

## DIAGNOSTYKA I LECZENIE ZAKAŻEŃ WYWOŁANYCH PRZEZ *ASPERGILLUS SPP.* U PACJENTÓW Z PRZEWLEKŁĄ CHOROBA ZIARNINIAKOWĄ

<sup>1</sup> Oddział Immunologii, Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Immunologii,  
Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”

<sup>2</sup> Zakład Mikrobiologii Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”

Kierownik Kliniki: Jerzy Socha  
Ordynator Oddziału: Ewa Bernatowska

*Praca omawia problem zakażeń *Aspergillus spp.* w grupie pacjen-  
tów z przewlekłą chorobą ziarniniakową leczonych w Oddziale Immuno-  
logii IP-CZD w latach 1985-2005*

*Słowa kluczowe : przewlekła choroba ziarniniakowa, aspergilozy*  
*Key words: chronic granulomatous disease, aspergillosis*

### WSTĘP

Przewlekła choroba ziarniniakowa (PCHZ) to wrodzony, uwarunkowany genetycznie niedobór odporności. W Europie częstość jego występowania określa się na około 1:250 000 żywych narodzeń. Przyczyną defektu jest uszkodzenie oksydazy zależnej od nikotynoaminodininukleotydofosfatazy (NADPH). Defekt enzymu objawia się brakiem zdolności wytwarzania wolnych rodników tlenowych, i co za tym idzie, brakiem wewnątrzkomórkowego zabijania sfagocytowanych drobnoustrojów (1,2,3). Zagrożenie dla pacjentów stanowią katalazo-dodatnie bakterie i grzyby. Drobnoustroje te ze względu na zawartość własnej katalazy neutralizują wytwarzany przez siebie H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a w związku z brakiem uszkadzających je metabolitów tlenowych gospodarza, pozostają aktywne i namnażają się. Problemem klinicznym pacjentów z PCHZ są przede wszystkim zakażenia narządów mających bezpośredni kontakt ze środowiskiem zewnętrznym. Obserwuje się nawracające zapalenia płuc, ropnie skórne, nawracające zapalenia węzłów chłonnych. Często dochodzi także do rozwoju ropni narządów wewnętrznych, w szczególności wątroby, płuc i mózgu oraz zapaleń kości i posocznicy (4,5). Mimo tego, że potencjalnie wszystkie katalazo-dodatnie drobnoustroje stanowią zagrożenie dla pacjentów z PCHZ, są wśród nich patogeny,

na które są oni szczególnie podatni. Należy do nich zaliczyć bakterie: *S. aureus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Nocardia*, *Burkholderia cepacia* oraz grzyby głównie *Aspergillus spp.* (6). Od czasu wprowadzenia w latach siedemdziesiątych profilaktyki antybiotykowej zakażeń bakteryjnych w PCHZ, a w następnym dziesięcioleciu profilaktyki przeciwgrzybiczej, istotnie wzrosła przeżywalność pacjentów. Mimo tego, nadal większość chorych umiera w drugiej lub trzeciej dekadzie życia. Rokowanie jest gorsze u osób, u których objawy wystąpiły już w pierwszym roku życia (7,8). Profilaktyka przeciwbakteryjna, będąca standardem postępowania u chorych z PCHZ, przyczyniła się do ograniczenia częstości występowania zakażeń bakteryjnych. Narastać natomiast zaczęła ilość zakażeń o etiologii grzybiczej, a w szczególności *Aspergillus spp.* W pierwszych opisach chorych z PCHZ z lat siedemdziesiątych *Aspergillus spp.* izolowany był tylko u 7% pacjentów (7), w początku lat osiemdziesiątych u 20% (9), natomiast w późnych latach osiemdziesiątych już u 40% opisywanych pacjentów stwierdzano przynajmniej jedno zakażenie o tej etiologii (10). Zakażenia *Aspergillus* stanowią obecnie najczęstszą przyczynę zgonów pacjentów z PCHZ (11). W PCHZ zakażenia *Aspergillus fumigatus* są najczęstsze, ale występują również zakażenia *Aspergillus nidulans* (12).

W pracy omawiamy grupę pacjentów z PCHZ i inwazyjnym zakażeniem *Aspergillus*, leczonych w Oddziale Immunologii Instytutu „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka” w latach 1980-2005.

## MATERIAŁ I METODY

W ciągu ostatnich 25 lat spośród 804 chorych z pierwotnymi niedoborami odporności, PCHZ została rozpoznana u czterdziestu. Inwazyjne zakażenie *Aspergillus* wystąpiło u jedenastu pacjentów.

Potwierdzeniem zakażenia *Aspergillus* było uzyskanie wzrostu kropidlaka w posiewie materiału biologicznego, uwidocznienie grzyba barwieniem Groccota w badaniu histopatologicznym, wykrycie antygenów grzybiczych – galaktomannanu testem lateksowym (Pastorex *Aspergillus* – Bio Rad) lub metodą ELISA (Platelia *Aspergillus* – Bio Rad) oraz wykrycie rRNA *Aspergillus* metodą PCR.

## WYNIKI

**Przebieg kliniczny.** Zakażenie inwazyjne *Aspergillus* zostało stwierdzone u dziewięciu chłopców i dwóch dziewczynek z PCHZ. W grupie tej u pięciu chorych stwierdzono postać sprzężoną z chromosomem X, u czterech autosomalną recesywną, natomiast u dwu chorych PCHZ nie była potwierdzona genetycznie. U dwu pacjentów inwazyjne zakażenie *Aspergillus* było pierwszą kliniczną oznaką PCHZ. U dwu chorych obserwowano nawroty zakażenia. U trzech pacjentów proces zapalny obejmował więcej niż jeden narząd. Najczęstszym rozpoznaniem klinicznym było zapalenie płuc, stwierdzone u dziewięciu pacjentów, w dwu przypadkach powikłane naciekiem zapalnym ściany klatki piersiowej. W jednym przypadku stwierdzono zapalenie kości i stawu, zapalenie zatok obocznych nosa, ropień podskórny, ropień wątroby, ropień mózgu. Także u jednego pacjenta doszło do nadkażenia rany pooperacyjnej po laparotomii.

## IDENTYFIKACJA ZAKAŻENIA

U ośmiu pacjentów zakażenie potwierdzono uzyskaniem wzrostu kropidłaka, przy czym w siedmiu przypadkach był to *Aspergillus fumigatus*, a tylko w jednym, *Aspergillus nidulans*. W pięciu przypadkach potwierdzenie zakażenia stanowiła ocena histopatologiczna – uwidocznienie elementów grzyba w barwieniu Grocott. Obecność antygenów grzybiczych, galaktomannanu, stwierdzono w trzech przypadkach. W jednym przypadku potwierdzono jego obecność testem lateksowym, w dwóch – metodą ELISA. Także u trojga pacjentów stwierdzono obecność *Aspergillus* metodą PCR wykrywając rRNA grzyba. U dwu chorych, poza dodatnim wynikiem PCR, uzyskano dodatni wynik posiewu i badania histopatologicznego, natomiast w jednym przypadku stwierdzono rRNA grzyba metodą PCR w wymazie z rany pooperacyjnej oraz z surowicy, bez potwierdzenia zakażenia uzyskaniem wzrostu grzyba w posiewie materiału, w badaniu histopatologicznym lub dodatnimi wynikami badań serologicznych.

**L e c z e n i e .** W sześciu przypadkach leczenie zostało rozpoczęte preparatem amfoterycyny B. Zakończone zostało ono przy użyciu tego samego preparatu u czterech pacjentów, u pozostałych ze względu na działanie niepożądane leku, głównie nefrotoksyczność, kontynuowane było preparatem vorikonazol. W monoterapii stosowany był u jednego pacjenta itraconazol, u trzech vorikonazol. Aktualne zalecenie łączenia terapii vorikonazolu z kaspofunginą w opornych na leczenie przypadkach aspergilozy zastosowano u jednego pacjenta, niestety bez dobrego efektu terapeutycznego. Wyleczenie zakażenia *Aspergillus* udało się osiągnąć u pięciu pacjentów, trzech jest aktualnie w trakcie leczenia, w trzech przypadkach, mimo intensywnego leczenia, zakażeń nie udało się opanować i zakończyły się one zgonem.

## OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

*Aspergillus spp.* stanowi narastający problem jako przyczyna zakażeń u pacjentów z PCHZ. Tendencja taka daje się zauważyć także w naszym materiale klinicznym. W latach osiemdziesiątych i dziewięćdziesiątych zdiagnozowano i leczono tylko trzy przypadki zakażenia *Aspergillus*, podczas gdy u większości, bo u ośmiu z jedenastu opisywanych przez nas chorych, zakażenie o tej etiologii było rozpoznane po 2000 roku. Tendencja ta nie jest jednak związana z poprawą diagnostyki laboratoryjnej zakażeń grzybiczych, gdyż podstawą rozpoznania zakażenia u naszych pacjentów było uzyskanie wzrostu *Aspergillus* w posiewie. Zakażenia *Aspergillus spp.* stanowią najczęstszą przyczynę zapalenia płuc oraz ropni płuc i mózgu w PCHZ (13). Również u naszych pacjentów zapalenie płuc stanowiło najczęstszą manifestację kliniczną zakażenia *Aspergillus*. Na uwagę zasługuje pacjent, u którego brak było potwierdzenia zakażenia dodatnim wynikiem posiewu, mimo pobrania do badania mikrobiologicznego bezpośrednio tkanki płucnej. Jednak jak wskazują dane z literatury, wyniki posiewów u pacjentów otrzymujących leki przeciwgrzybicze mogą być negatywne (14). Opisywany przez nas pacjent w czasie rozwoju zakażenia otrzymywał zgodną ze standardami postępowania w PCHZ profilaktykę przeciwgrzybiczą. Podobnie fałszywie ujemne w PCHZ mogą być badania wykrywające składnik ściany komórkowej grzyba – galaktomannan. Verweij i wsp.(15) opisują pacjenta z PCHZ, u którego mimo pewnego rozpoznania inwazyjnej aspergilozy płucnej i wielokrotnych oznaczeń, nie

udało się wykryć obecności krążących antygenów grzybiczych w surowicy, natomiast wykazano ich obecność w miejscu zakażenia. U naszych pacjentów nie udało się wykryć krążących antygenów grzybiczych, mimo pewnego rozpoznania aspergilozy w sześciu przypadkach. Dane literaturowe jednoznacznie wskazują, że regularna profilaktyka antybiotykowa u chorych z PCHZ znacznie zmniejsza ryzyko rozwoju zakażeń grzybem z rodzaju *Aspergillus*, ale nie chroni przed nim całkowicie (16). W opisywanej przez nas grupie pacjentów, do rozwoju inwazyjnego zakażenia grzybiczego doszło w siedmiu przypadkach, mimo stosowanej profilaktyki. Dostępne w literaturze dane o sposobie postępowania terapeutycznego w przypadku zakażenia *Aspergillus* u pacjentów z PCHZ dotyczą wyłącznie opisów pojedynczych przypadków. Brak jest jednocześnie jednoznacznie ustalonych standardów leczniczych dotyczących powyższych zakażeń. Aktualnie duże nadzieje wiąże się z nowymi lekami przeciwgrzybiczymi, a w szczególności worikonazolem i kaspofunginą, tym bardziej, że pierwszy z nich, jako jedyny z dostępnych preparatów o udokumentowanej aktywności przeciw *Aspergillus spp.*, dobrze penetruje do ośrodkowego układu nerwowego (17). Stanowi więc leczenie z wyboru w przypadku zakażenia *Aspergillus* o takiej lokalizacji. Mimo istnienia pojedynczych opisów przypadków, w których dołączenie do terapii INF gamma, G-CSF lub infuzje granulocytów obok stosowanego leczenia przeciwgrzybiczego, okazały się skuteczne (18-20) brak jest, potwierdzonych randomizowanymi badaniami, wskazań do stosowania leczenia immunomodulującego w przypadku ostrego, inwazyjnego zakażenia grzybiczego. Śmiertelność w przebiegu inwazyjnego zakażenia *Aspergillus* u chorych z PCHZ jest bardzo wysoka i wynosi od 30% do 50% (9,8,12). W omawianej przez nas grupie chorych troje pacjentów (27%) zmarło, mimo intensywnego leczenia przeciwgrzybiczego. Nadzieją ostatnich lat są nowe antybiotyki przeciwgrzybicze. Szczególnie obiecujące wydają się być: nowa generacja tiazoli – worikonazol oraz kandyny, których przedstawicielem jest zarejestrowana w Polsce kaspofungina. Obecność nowych leków przeciwgrzybiczych stwarza możliwość zarówno monoterapii, jak i terapii skojarzonej. Ich mniejsza toksyczność, w porównaniu do leków klasycznych (np. amfoterycyny B) pozwala na długotrwałe leczenie. Dodatkowo w przypadku worikonazolu, bardzo wysoka biodostępność po podaniu doustnym (96%) pozwala na kontynuację leczenia w warunkach ambulatoryjnych.

*M Kurenko-Deptuch, B Wolska-Kuśnierz, E Heropolitańska-Pliszka, M Klaudel-Dreszler,  
M Pac, B Pietrucha, B Garczewska, E Bernatowska*

#### DIAGNOSIS AND TREATMENT OF ASPERGILLOSIS IN THE PATIENTS WITH CHRONIC GRANULOMATOUS DISEASE

##### SUMMARY

Chronic granulomatous disease is a rare defect of phagocytosis. Increased susceptibility to infections is limited to catalase positive bacteria and fungi. *Aspergillus spp* was reported as the increased clinical problem and the main cause of the deaths.

##### PIŚMIENNICTWO

1. Curnutte JT. Chronic granulomatous disease; the solving of a clinical riddle at the molecular level. Clin Immunol Immunopathol 1993; 67:S2.

2. Roos D. The genetic basis of chronic granulomatous disease. *Immunol Rev* 1994(4);138:121-57.
3. Thrasher A, Keep N, Wientjes F, i in. Chronic granulomatous disease. *Biochim Biophys Acta* 1994;1227(1-2):1-24.
4. Domachowska JB. Chronic granulomatous disease. *CMNEEJ* 1995;17(15):113-120.
5. Meerhof LJ, Roos D. Heterogeneity in chronic granulomatous disease detected with an improved nitroblue tetrazolium slide test. *J Leucocyte Biol* 1986; 39:699-711.
6. Andrews T, Sullivan KE. Infections in patients with inherited defects of phagocytic function *Clin Microbiol Rev* 16;4:597-621.
7. Johson RB Jr, Baehner RL. Chronic granulomatous disease: Correlation between pathogenesis and clinical findings. *Pediatrics* 1971; 20:431-38.
8. Liese J, Kloos S, Jodrossek V, i in. Long-term follow-up and outcome of 39 patients with chronic granulomatous disease *J Pediatr* 2000;137:687-93.
9. Cohen DW, Insturiz RE, Malech HL, i in. Fungal infection in chronic granulomatous disease . The phagocyte in defence against fungi. *Am J Med* 1981;71:59-66.
10. Mouy R, Fisher A, Vilmer E, i in. Incidence , severity and prevention of infections in chronic granulomatous disease. *J Pediatr* 1989;114:555-560
11. Goldblatt D. Current treatment options for chronic granulomatous disease. *Expert Opin Pharmacother* 2002;3(7):857-863.
12. Segal BH, DeCarlo ES, Kwon-Chung KJ, i in. *Aspergillus nidulans* infections in chronic granulomatous disease. *Medicine* 1998;77:345-54.
13. Winkelstein JA, Marino MC, Johnston RB Jr, i in Chronic granulomatous disease: report on a national registry of 368 patients. *Medicine* 2000;79(3):155-169.
14. Lass-Flörl C, Gunsilius E, Gastl G, i in Diagnosing invasive aspergillosis during antifungal therapy by PCR analysis of blood samples. *J Clin Microbiol* 2004;42 (9):4154-4157.
15. Verweij PE, Weemaes CM, Curfs JHAJ, i in Failure to detect circulating *Aspergillus* markers in a patient with chronic granulomatous disease and invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 2000;38(10):3900-3901.
16. Gallin JI, Alling DW, Malech HL, i in. Itraconazole to prevent fungal infections i chronic granulomatous disease. *N Engl J Med* 2003;348:2416-22.
17. Wingard J R, Leather H A new era of antifungal therapy. *Biology of blood and marrow transplantation* 2004;10:73-90.
18. Mamishi S, Zomorodian K, Saadat F, i in. A case of invasive aspergillosis in CGD patient successfully treated with amfotericin B and INF  $\gamma$ . *Ann Clin Mier Antimicrobials* 2005;4:4.
19. Ikinciogullari A, Dogu F, Solaz N, i in. Granulocyte transfusions in children with chronic granulomatous disease and invasive aspergillosis. *Therapeutic Apheresis Dialysis* 2005; 9(2):137-141.
20. Saulsbury FT. Successful treatment of *Aspergillus* brain abscess with itraconazole and interferon- $\gamma$  in a patient with chronic granulomatous disease. *Clin Inf Dis* 2001;32(10):E 137-9.

Otrzymano: 14.11.2005 r.

**Adres autorów:**

Magdalena Kurenko-Deptuch  
Oddział Immunologii, Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”  
Al. Dzieci Polskich 20, 03-740 Warszawa  
tel. (0-22) 815 73 85  
e-mail [immuno@czd.waw.pl](mailto:immuno@czd.waw.pl)