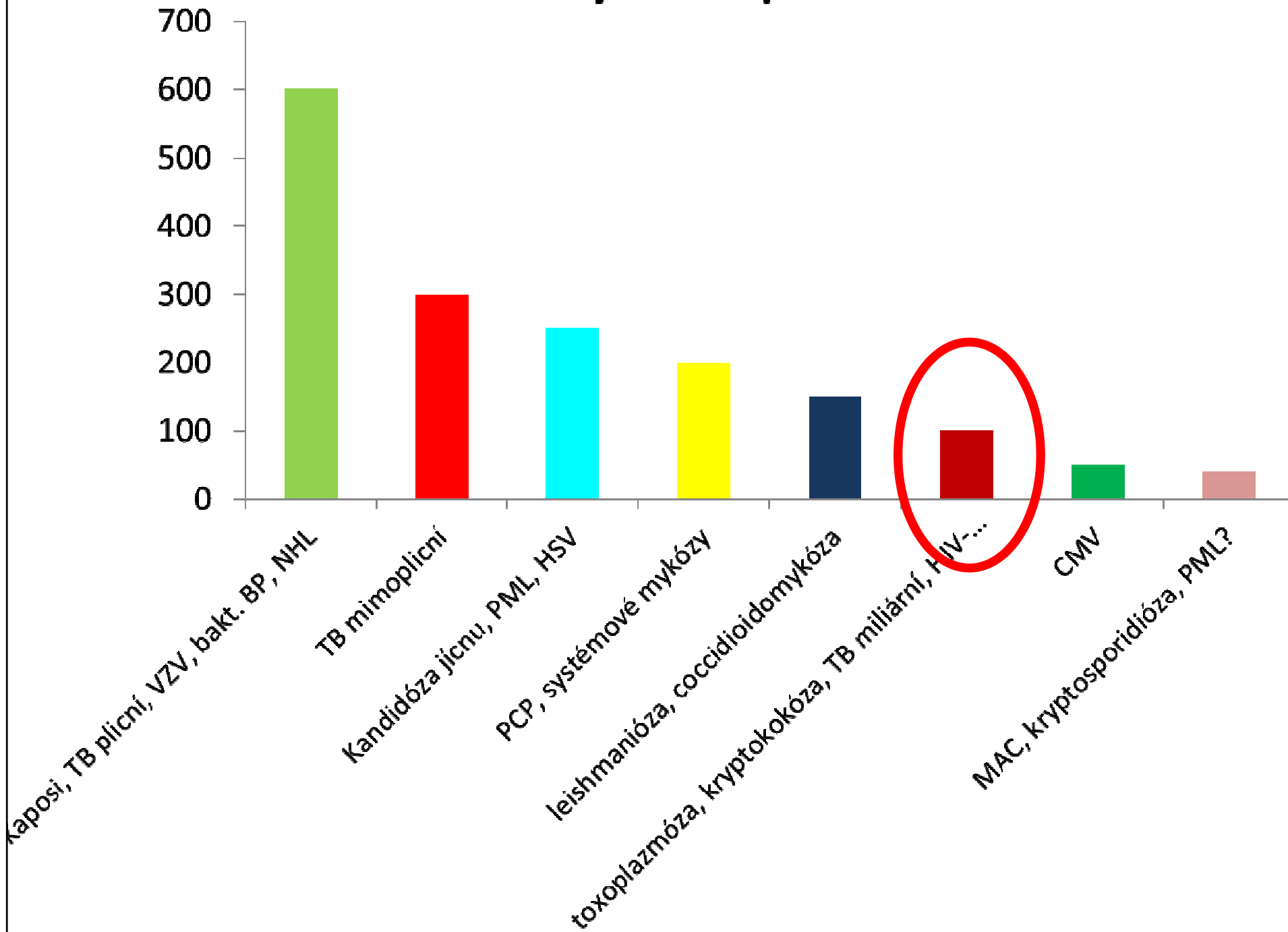


# OPORTUNNÍ INFEKCE II

# KRYPTOKOKÓZA

## (torulóza, evropská blastomykóza)

# Počet CD4+ lymf a oportunní infekce



# Kryptokokóza

- Celkové infekční onemocnění
- Hlavní predisponující faktor
  - Imunodeficit celulární imunity (T-lymfocyty)
    - **CD4+ lymf. < 100 bb/mm<sup>3</sup>**
- Indikativní onemocnění AIDS (klinická kat. C)

# *Cryptococcus spp.*

- Etiologické agens:
  - Mykotický organizmus
    - Ubikvitní půdní saprofyt
    - Celosvětová distribuce
    - Ptačí trus – nejvýznamnější rezervoár

***Cryptococcus neoformans***

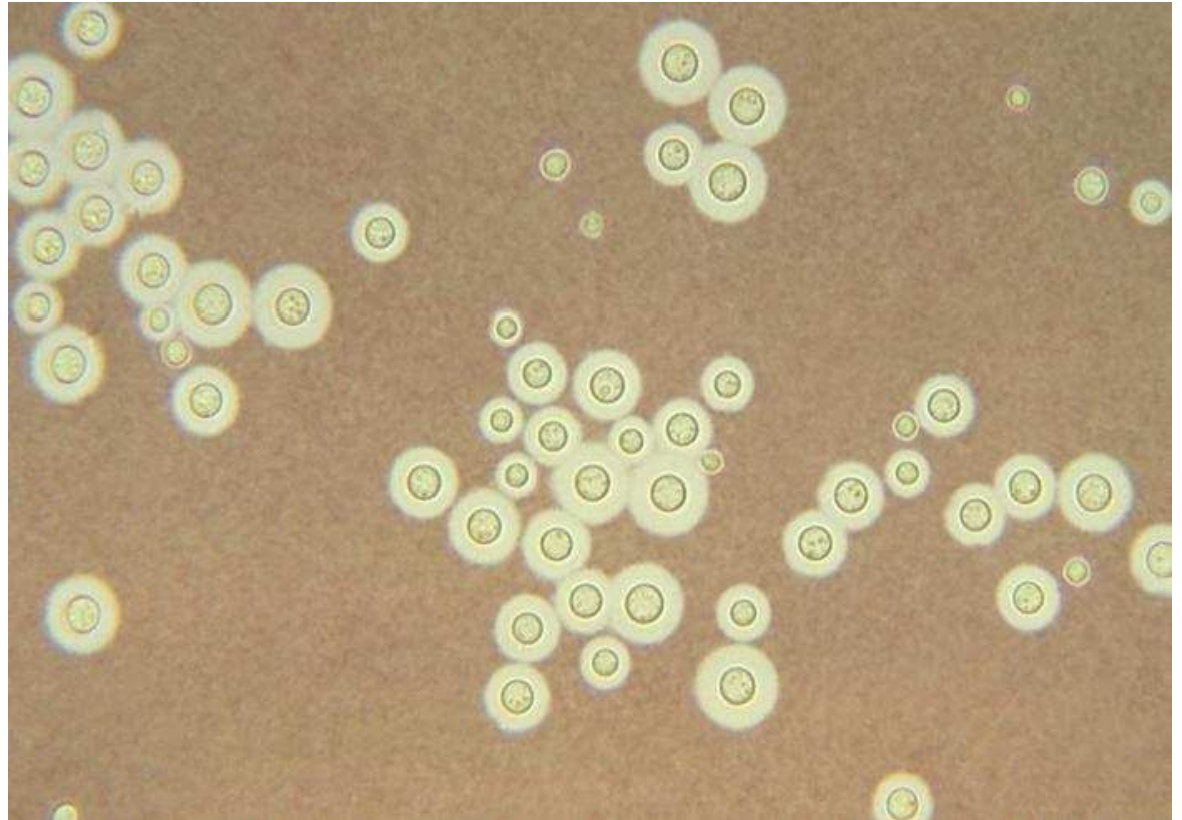
***Cryptococcus gatii***

Častější v Austrálii, subtropech Asie,  
SZ Pacifik, Africe

(i u non-imunokompromitovaných)

# *Cryptococcus neoformans*

- Opouzdřená plíseň
- Množí se pučením
- **Polysacharidové pouzdro**
  - Želatinové konzistence
  - Chrání před fagocytózou polynukleáry



# Kryptokokóza

- Predisponující faktory:
  - HIV infekce, Transplantace orgánů
  - Užívání kortikosteroidů a imunosupresiv
  - Biologická léčba
  - Hematoonkologické malignity (Hodgkinův lymfom, leukemie...)
  - Sarkoidóza
  - Diabetes mellitus
  - **!?!?!? Polovina postižených nemá zjevné predisponující faktory !?!?!?**

# Kryptokokóza

- Brána vstupu – dýchací cesty
- Hematogenní diseminací k dalším orgánům a tkáním
- Diseminované onemocnění (obvykle u imunokompromitovaných)
- Léze (kryptokokomy) mohou imitovat nádor
- Kterýkoli orgán
  - **Extrémní tropismus k CNS**
  - Plíce, nadledviny, kosti, oko, srdce (perikarditida, myokarditida, endokarditida), paranazální sinusy, močový trakt, pyelonefritida...
  - Kůže (imituje molluscum contagiosum)



# Kryptokokóz kůže

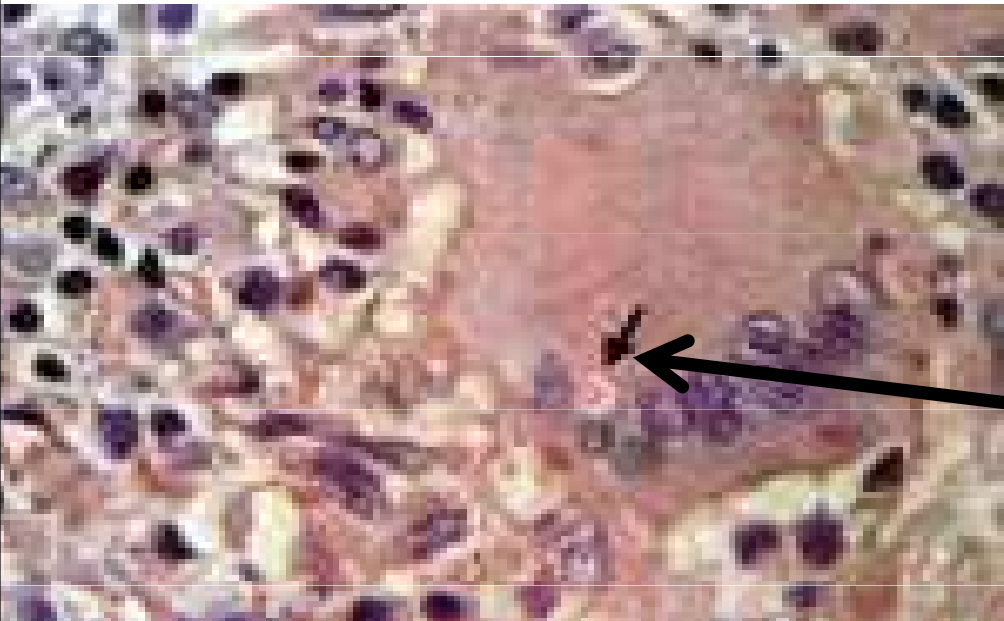


# Kryptokoková tendosynovitida při terapii monoklonálními protilátkami



## ADALIMUMAB

- Monoklonální protilátka TNF- $\alpha$
- Antagonista TNF- $\alpha$
- Terapie revmatoidní artritidy



Bioptovaný materiál z ložiska

- *Cryptococcus neoformans*

Histologie – kryptokokový granulom



**FIGURE 1 - Skin lesion associated with *Cryptococcus gattii* infection on the left forearm of a patient who had been on chronic corticotherapy.**

# Kryptokoková meningitida

- postižení CNS
  - 80% diseminovaných kryptokokových infekcí
  - Predispozice – imunodeficit v oblasti T lymfocytů
  - Nejčastější onemocnění CNS u pacientů s AIDS
  - 25% úmrtí na AIDS v Africe
- **Klasický meningeální syndrom:**
  - **Nejvýše u 30% pacientů**

# Kryptokoková meningitida

- **Subakutní meningitida nebo meningoencefalitida**
  - **Akutní až fulminantní** (vzácněji, u těžce imunokompromitovaných)
- Protrahovaný nenápadný začátek nemoci
- Teplota, bolesti hlavy, diskomfort
- Narůstající intrakraniální tlak:
  - Nauzea, zvracení
  - Encefalopatie – letargie, změny osobnosti, ztráta paměti
  - Poruchy hlavových nervů, porucha vizu, ztráta sluchu
  - Křeče, fokální neurologický nález (kryptokokomy – mohou imitovat absces či tumor)
  - Postižení nervových i cévních struktur



# Kryptokoková meningitida

- **Báze mozku**
  - Maximum změn
- **Meningy**
  - Ztluštělé
- **Subarachnoideální prostory**
  - Vyplněny hutnými mukoidními hmotami z polysacharidového pouzdra kryptokoků (želatinová konzistence)



# Mozkomíšňní mok

## Cytologie a biochemie

- CB – mírně zvýšená
- Glukóza – nízká nebo normální
- Pleocytóza – většinou lymfocytóza
  - někdy zcela minimální buněčný nález
- **Kompletně negativní cytologický a biochemický nález v CSF nevylučuje dg. krypt. meningitidy !!!**
  - Insuficientní reakce imunodeficitního makroorganizmu na přítomnost patogenu  
(nedokáže reagovat obvyklou zánětlivou symptomatologií)

# Mozkomíšňní mok

## Mikroskopie a kultivace

### • Průkaz *Cryptococcus sp*

- Mikroskopický nátěr (barvení) – 60 – 80% případů
- Kultivace

## Tlak CSF $\geq$ 25 cm H<sub>2</sub>O

- Norma 6-18 cm H<sub>2</sub>O

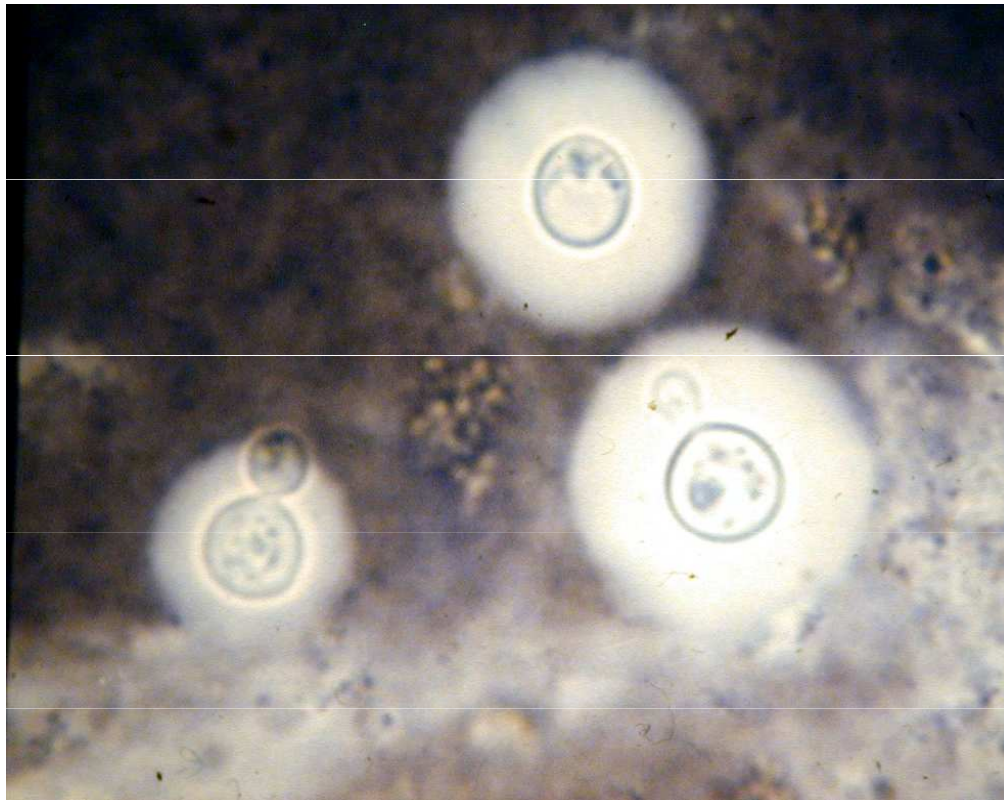
## Kryptokokový polysacharidový antigen

- Kapsulární polysacharid
- Nepřechází hematoencefalickou bariéru
- Vysoce sensitivní a vysoce specifická metoda (> 95%)

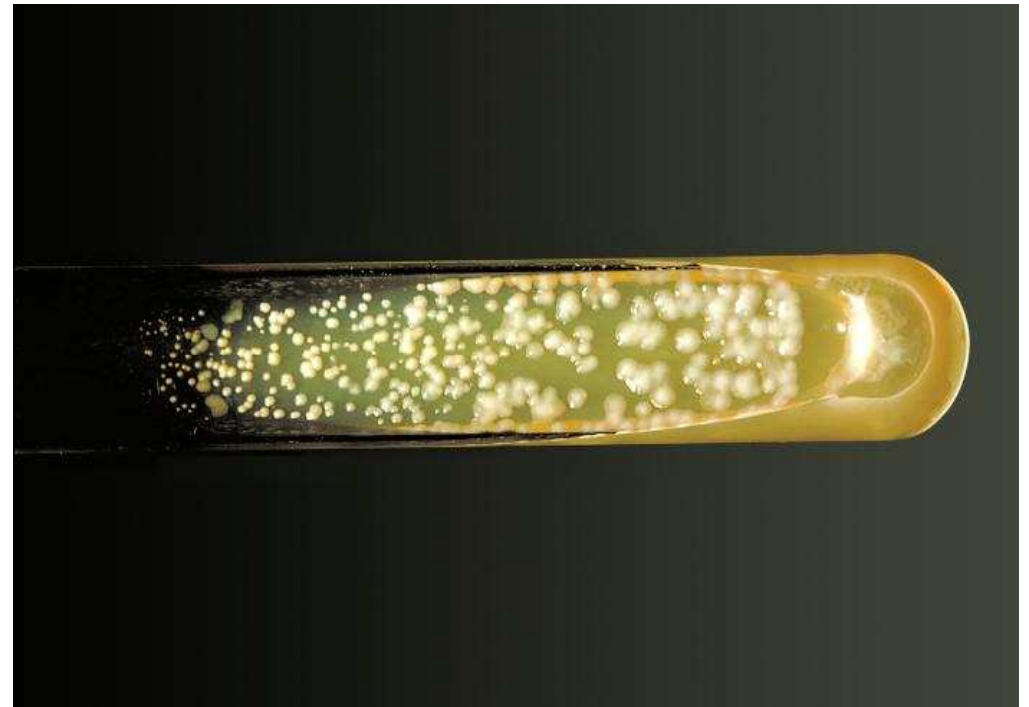


# *Cryptococcus neoformans*

*Organizmy Cr. neoformans v mozkomíšním moku*



This SABHI agar slant culture is growing *Cr. neoformans* grown at 37°C



# Kryptokoková meningitida

- **Hemokultura**
  - Pozit. 50 – 70%
  - Prognosticky nepříznivý faktor
- **Kryptokokový antigen v krvi**
  - Pozitivní v 55% při postižení CNS

# Intrakraniální tlak

- **↑ ICP**
  - 93% mortalita během prvních 2 týdnů léčby
  - 40% mortalita během 3 – 10 týdnů
- **„otvírací tlak“ mozkomíšního moku změřit manometrem po LP u všech pacientů v době stanovení dg.**

# Intrakraniální tlak

- Pravidelně měřit je-li
  - Zmatenost, neostré visus, edem papily, křeče končetin, jiná neurol. Symptomatologie
- **Lumbální punkce - denně**
  - 20-30ml CSF denně do vymizení symptomatologie
  - Při intoleranci LP či perzistenci ↑ICP komorová drenáž, shunt, ventrikulostomie etc.
- **Kortikosteroidy a manitol** - nedoporučeno, neefektivní (CIII)

# Indukční fáze terapie

- Minimálně 2 týdny

## Preferovaný režim

- **Liposomální amfotericin B 3-4mg/kg i.v./die  
+ flucytosine 25 mg/kg p.o.QID**

(AmBisome, flucitosine – není v ČR registrace)

# Indukční fáze terapie

## Alternativní režim

- Amfotericin B lipidový komplex (Abelcet) + flucytosine
- Konvenční AmB + flucytosine
- **Liposomální AmB 3-4mg/kg i.v./die** (AmBisome)  
**+ fluconazole 800 mg i.v./die**
- **Konvenční AmB + fluconazole**
- Lipozomální AmB
- Fluconazole + flucytosine
- **Fluconazole 1200 mg i.v./die** (inferiorní)

# Konsolidační fáze terapie

- Následně po efektivní indukční fázi ( klinické zlepšení a negat. CSF při opakované LP), která trvala nejméně 2 týdny
- Minimálně po dobu následujících 8 týdnů

## Preferovaný režim

- Fluconazole 400 mg i.v./p.o.QD

## Alternativní režim

- Intraconazole 200 mg p.o. BID

# Udržovací fáze terapie

## Preferovaný režim

- Fluconazole 200 mg p.o., QD nejméně 1 rok

## cART

- Zahájení odložit (2-6 týdnů) – nebezpečí IRIS



# Plicní kryptokokóza

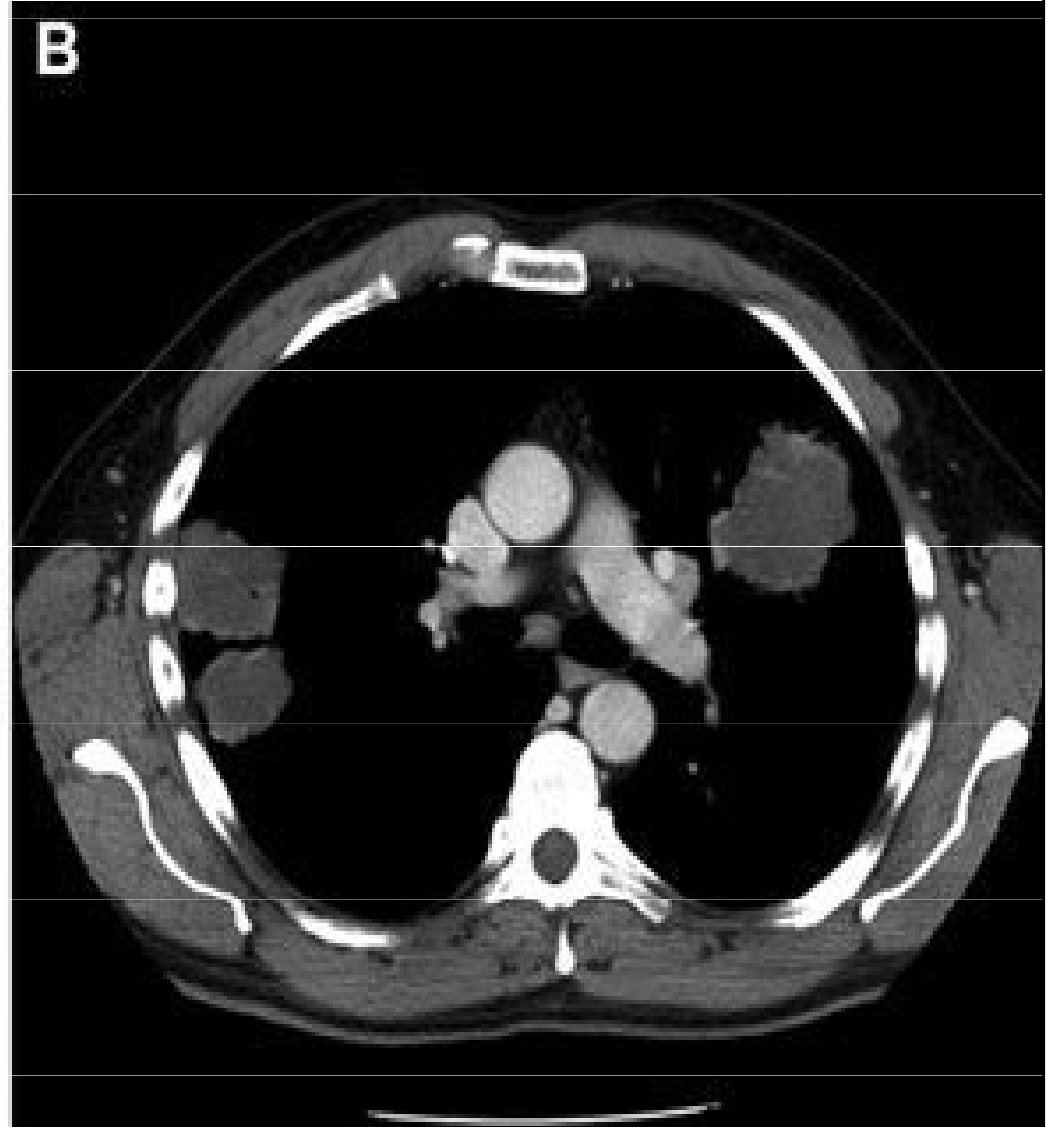
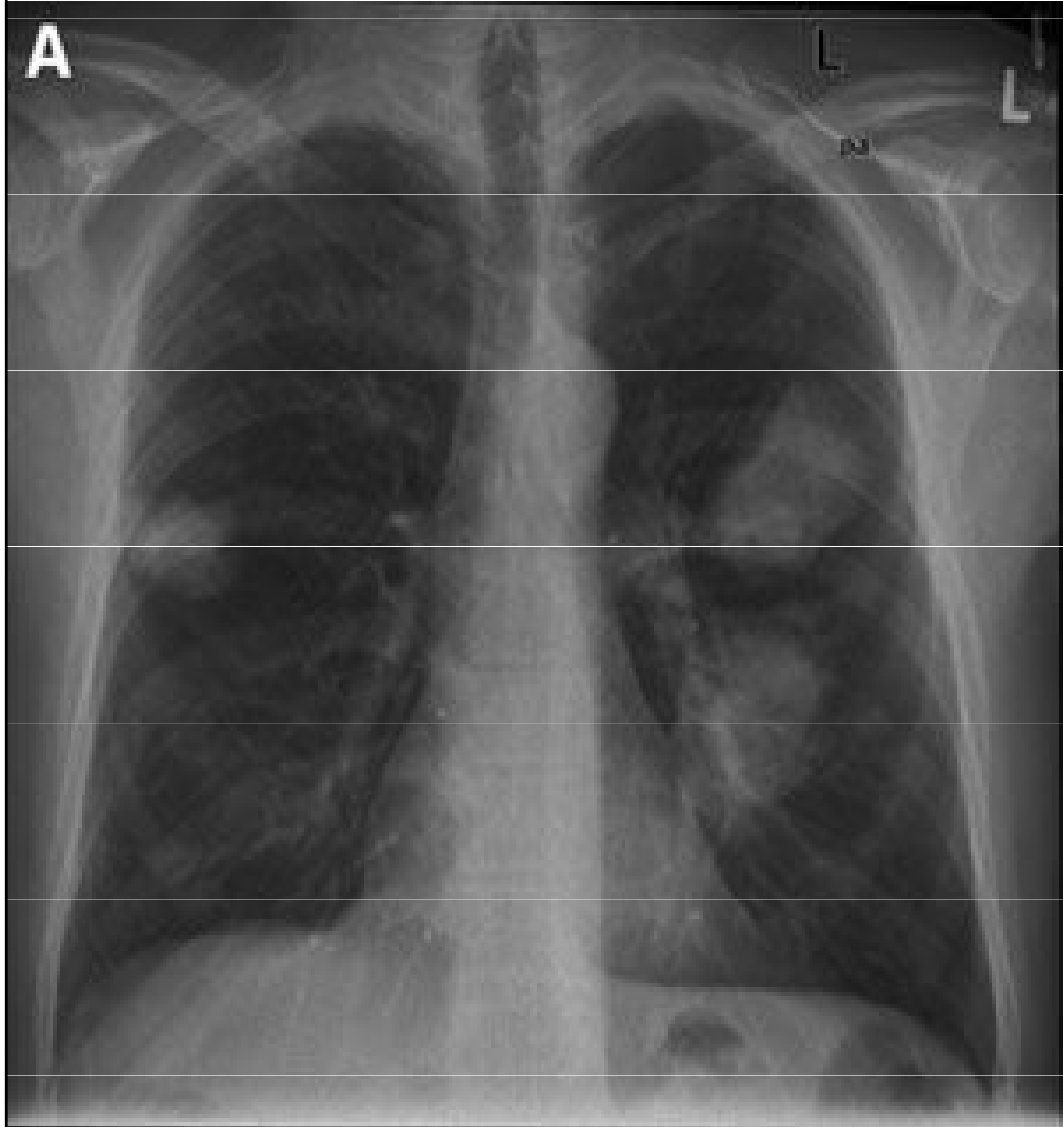
Brána vstupu – dýchací cesty

- inhalace kontaminovaného prachu

Klinický obraz – závisí na hloubce imunodeficitu

- **Asymptomatický, subklinický, tranzientní**
- **Subakutní, chronický**
  - Kašel, mukopurulentní expektorace, pleurální dráždění, hemoptýza, subfebrilie, úbytek hmotnosti
  - Střední a dolní laloky plic
  - Rezidua – asymptomatické uzlíky (relaps)

# Plicní kryptokokóza



# Plicní kryptokokóza

Brána vstupu – dýchací cesty

Klinický obraz – závisí na hloubce imunodeficitu

- **Progresivní forma, miliární rozsev**
  - Perakutní průběh
  - Těžká dušnost
  - Septický stav
  - Klinický průběh jako ARDS
  - UPV

# Plicní kryptokokóza - diagnóza

## Sputum

- Nesignifikantní (kolonizace)
- Pozitivní pouze u 10 – 30% pacientů

## Biopsie plic

- Zásadní
- Transbronchiální, transtorakální
  - Tkáňová invaze kryptokoků (mikroskopie a kultivace)

## !!! Nutno vyloučit diseminovanou formu kryptokokózy

- CSF, krev a moč kultivačně a kryptokokový antigen

# Terapie

Lehká až středně závažná plicní forma kryptokokózy,  
fokální plicní infiltráty:

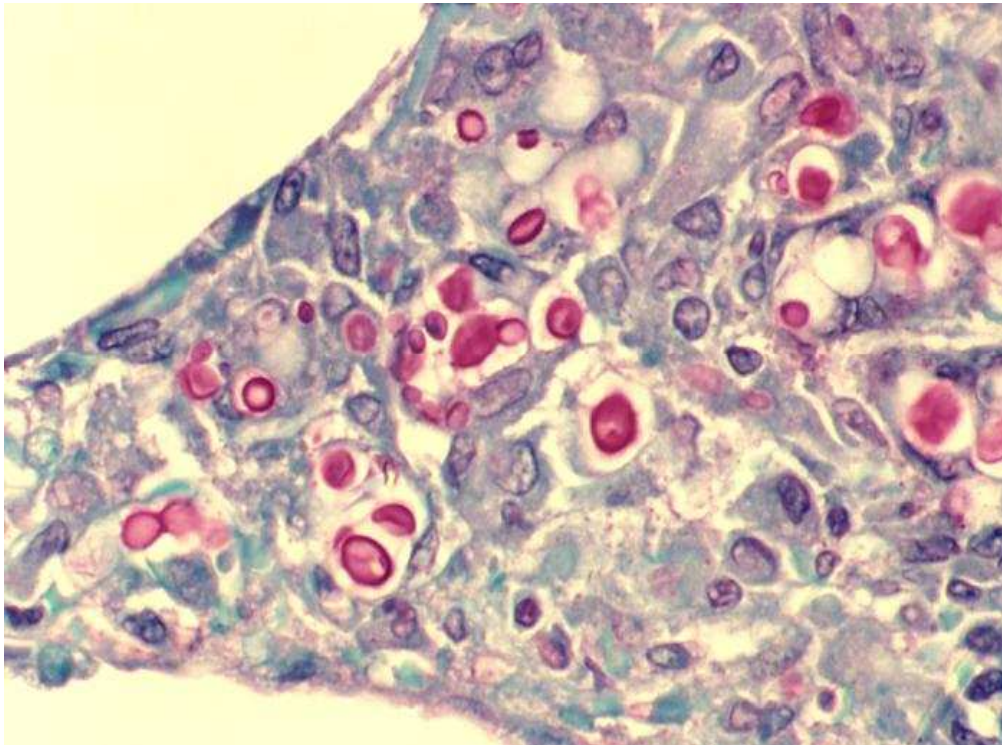
- **Fluconazole 400 mg/die po dobu 12 měsíců**  
**+ efektivní cART**

Optimální doba zahájení cART není stanovena.

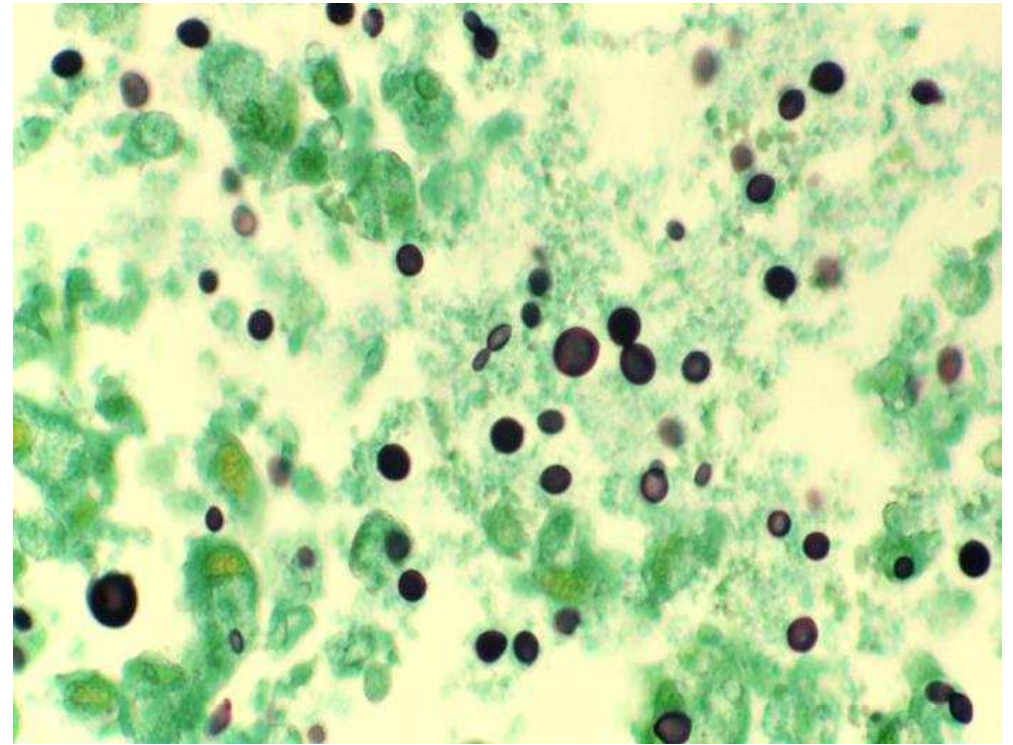
Non-CNS, extrapulmonální a difuzní pulmonální formy  
kryptokokózy:

- **Terapie stejná jako CNS kryptokokóza**

Kryptokokóza plic u pacienta s AIDS.  
Mucicarmine stain. Alveolární septum  
obsahuje málo zánětlivých buněk, ale  
mnoho kryptokoků.

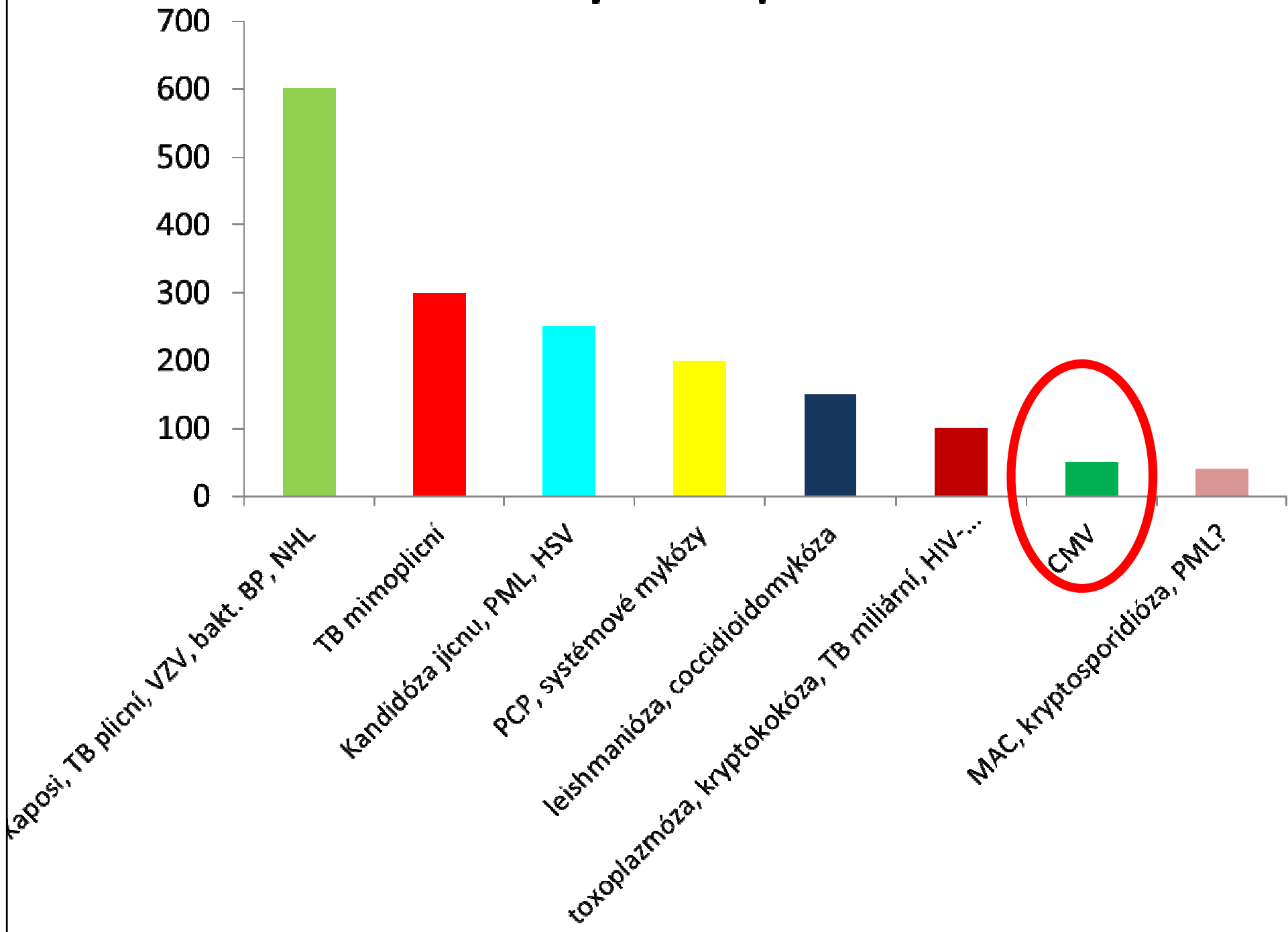


Numerous extracellular yeasts of *Cr. neoformans* within an alveolar space.  
Yeasts show narrow-base budding and  
characteristic variation in size.



# CYTOMEGALOVIROVÁ NEMOC (orgánové postižení)

# Počet CD4+ lymf a oportunní infekce





# CMV nemoc

- Ubikvitní DNA virus , největší virus infikující člověka
- Po primoinfekci přetrvává v latentním stavu
- Diseminované nebo lokalizované onemocnění
- Indikativní onemocnění AIDS
- Podmínka vzniku:
  - Těžký pokročilý imunodeficit
  - **CD4+ lymf. < 50 bb/mm<sup>3</sup>**
- **Reaktivace latentní infekce**
- **Reinfekce novým kmenem**

# Rizikové a negativní prognostické faktory

- Extrémně těžký imunodeficit, patofyz. není jasná
- Předcházející oportunní infekce
- Vysoká plazmatická virémie
  - Vysoký počet kopií DNA CMV (intenzivní replikační aktivita CMV – u různých pacientů různý, závisí na mnoha neidentifikovaných faktorech)
  - Vysoký počet kopií RNA HIV (>100000 kopií/ml)
- **Pozdní diagnóza**
- UPV (k aktivaci CMV může dojít později)
- **CMV zvyšuje riziko dalších oportunních infekcí bakteriálních, mykotických, virových**

# Klinická manifestace

**1. Diseminované (generalizované) onemocnění s příznaky sepse (virémie)**

**2. Postižení různých orgánů**

- **CMV retinitida**

- Nejčastější klinická manifestace CMV u HIV+ před cART
- Před cART 30% pacientů s AIDS

- **CMV kolitida**

- **CMV ezofagitida**

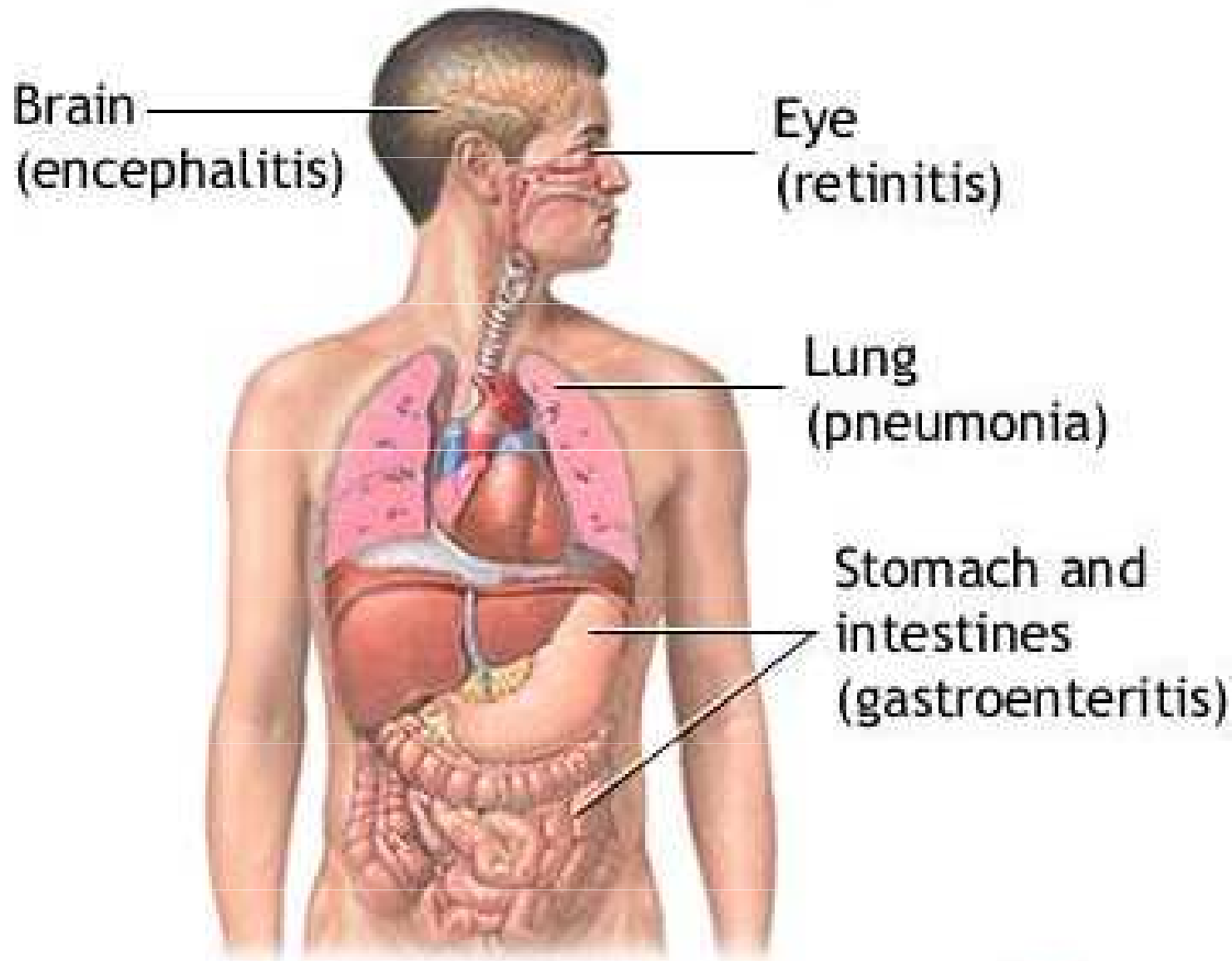
- **Postižení CNS**

- Demence, ventrikuloencefalitida, polyradikulomyelopatie....

- **CMV pneumonie**

- Často současně s PCP

# Nejčastější postižení orgánů CMV



# CMV retinitis

- Nekrotizující retinitis s intraretinálními hemoragiemi
- Malá zánětlivá reakce sklivce
- Nejčastější manifestace CMV u AIDS před zavedením ART

Dg:

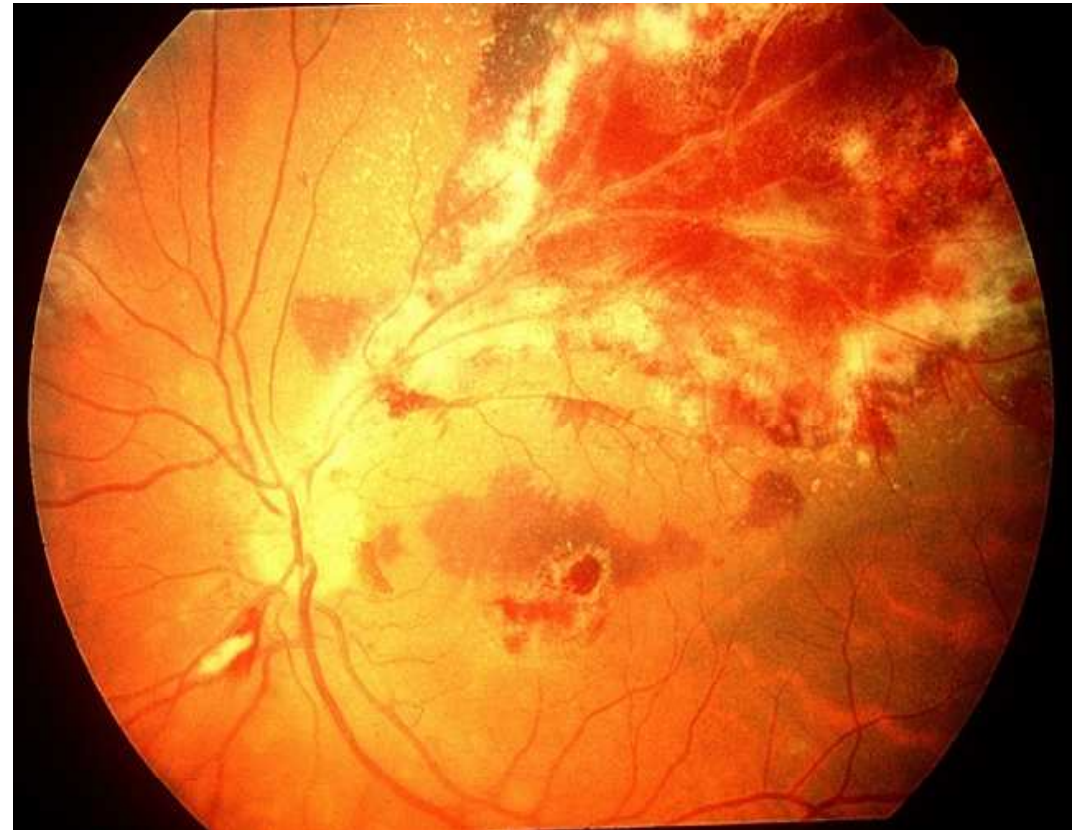
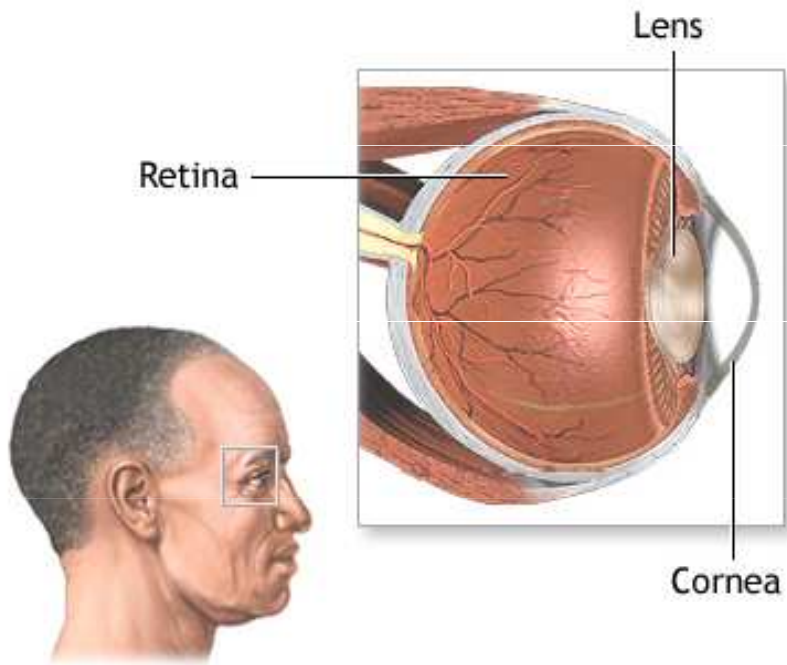
## **1. Oftalmoskopický obraz**

- U 95% případů typický

## **2. PCR – DNA CMV** ze sklivce (tekutina)

- Současně jiná agens – HSV, VZV, toxoplasmoza

# CMV retinitis



# CMV retinitis - terapie

## Anti-CMV virostatika:

- **Valganciclovir** – p.o.
- **Ganciclovir** – i.v., p.o., intravitreálně
  - Ganciklovirový implantát (rezervoár gancikoloviru intraokulárně na 6 měsíců – velmi efektivní, t.č. není vyráběn)
- **Foscarnet** i.v., intravitreálně
- **Cidofovir** i.v., intravitreálně
  - Velmi dlouhý poločas

**Anti-HIV virostatika – absolutně zásadní !!!!!**

# CMV kolitis

## Predisponující faktory:

- Hluboký imunodeficit, stavy po transplantaci
- AIDS , imunosupresivní terapie, kortikoterapie...

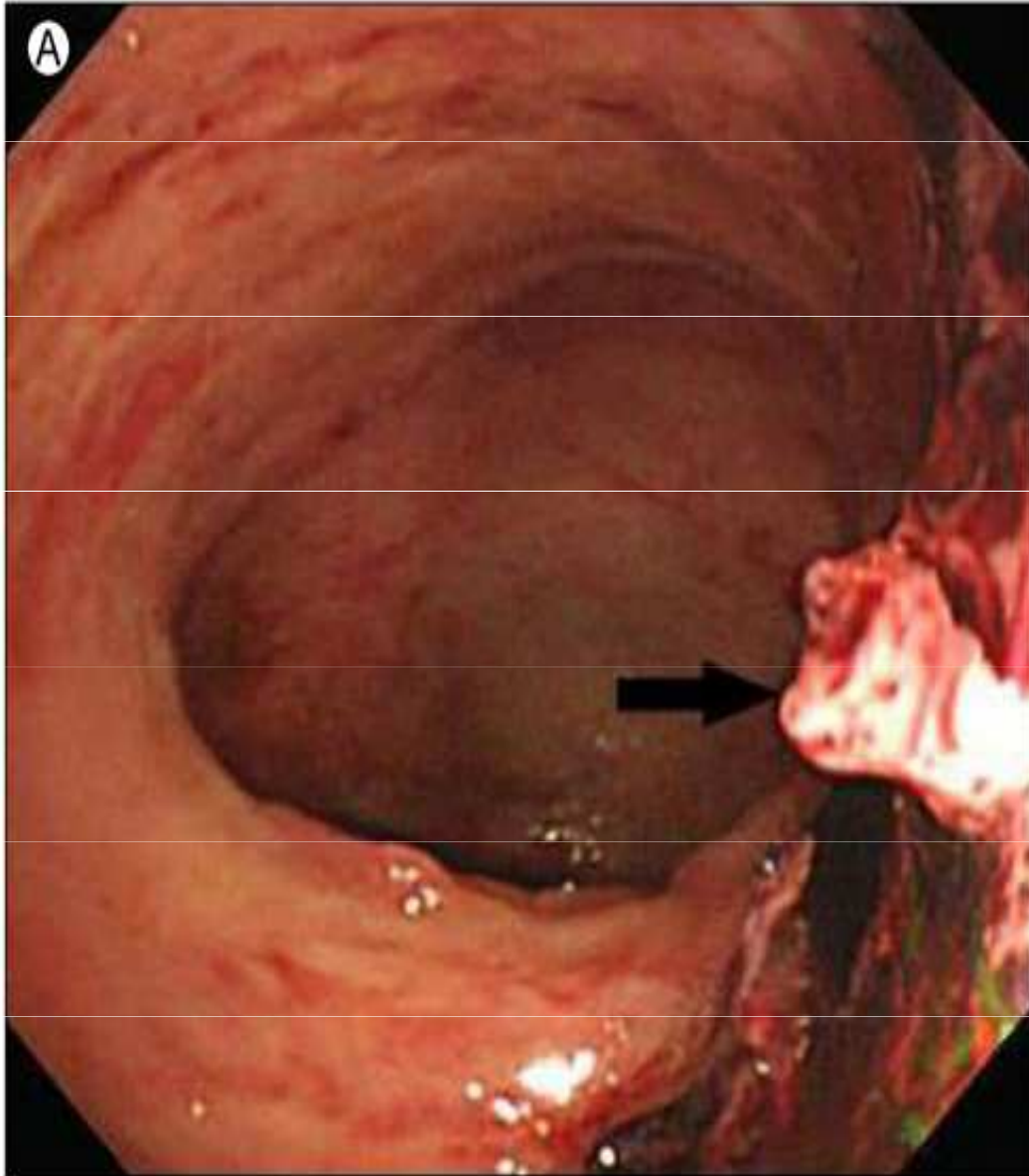
## Symptomatologie

- Úbytek hmotnosti
- Nechutenství
- Bolesti břicha
- Těžké vysilující hemoragické průjmy
- Vyčerpanost
- Horečky (nepravidelně)
  
- Zánětlivá infiltrace colon (zvláště cecum)
- Časté perforace a obraz „akutního břicha“



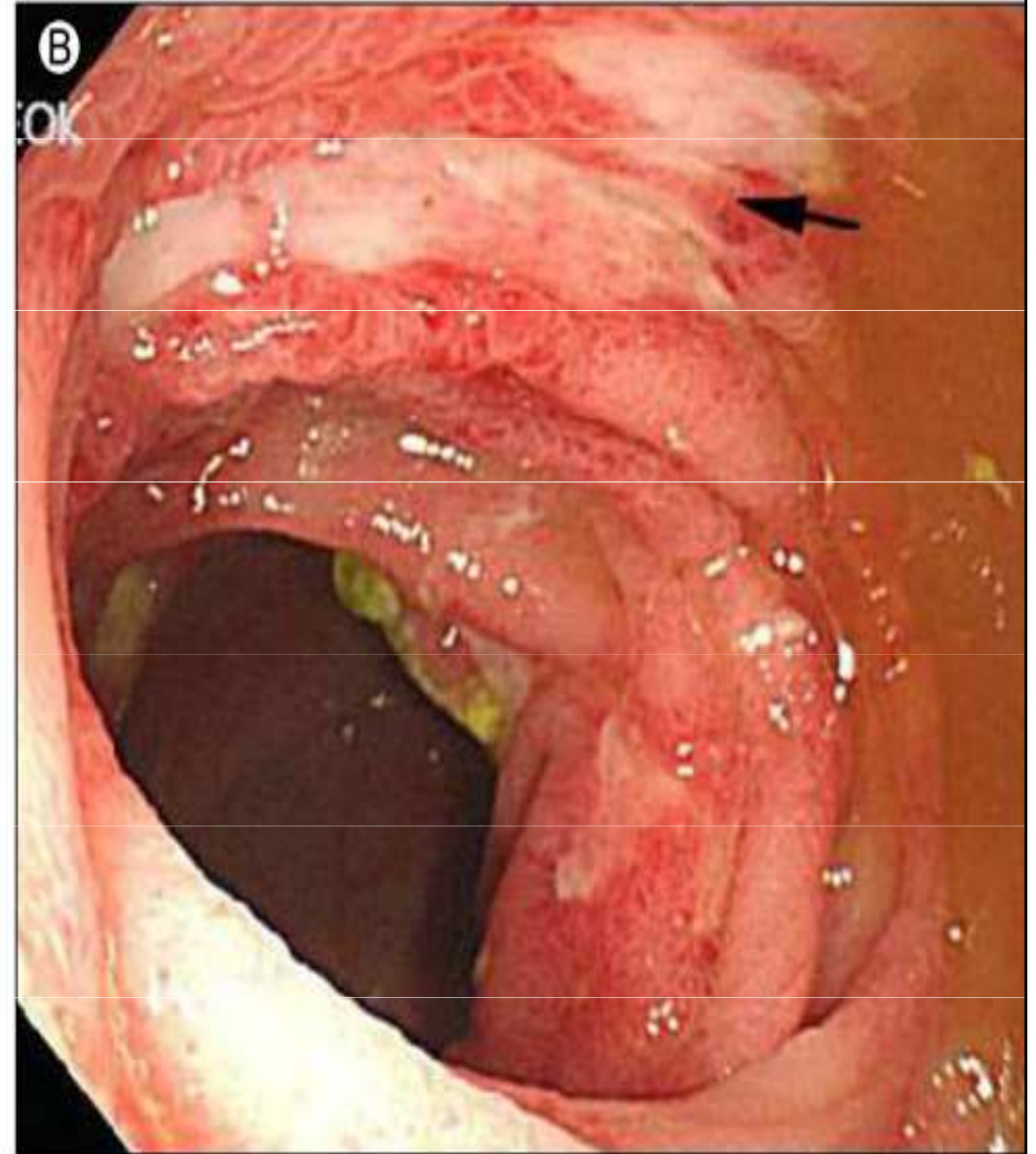
## CMV colitis

Sigmoideoskopie: segmentální ulcerace a krevní sraženiny na sliznici distálního colon, bez evidentního krvácení.



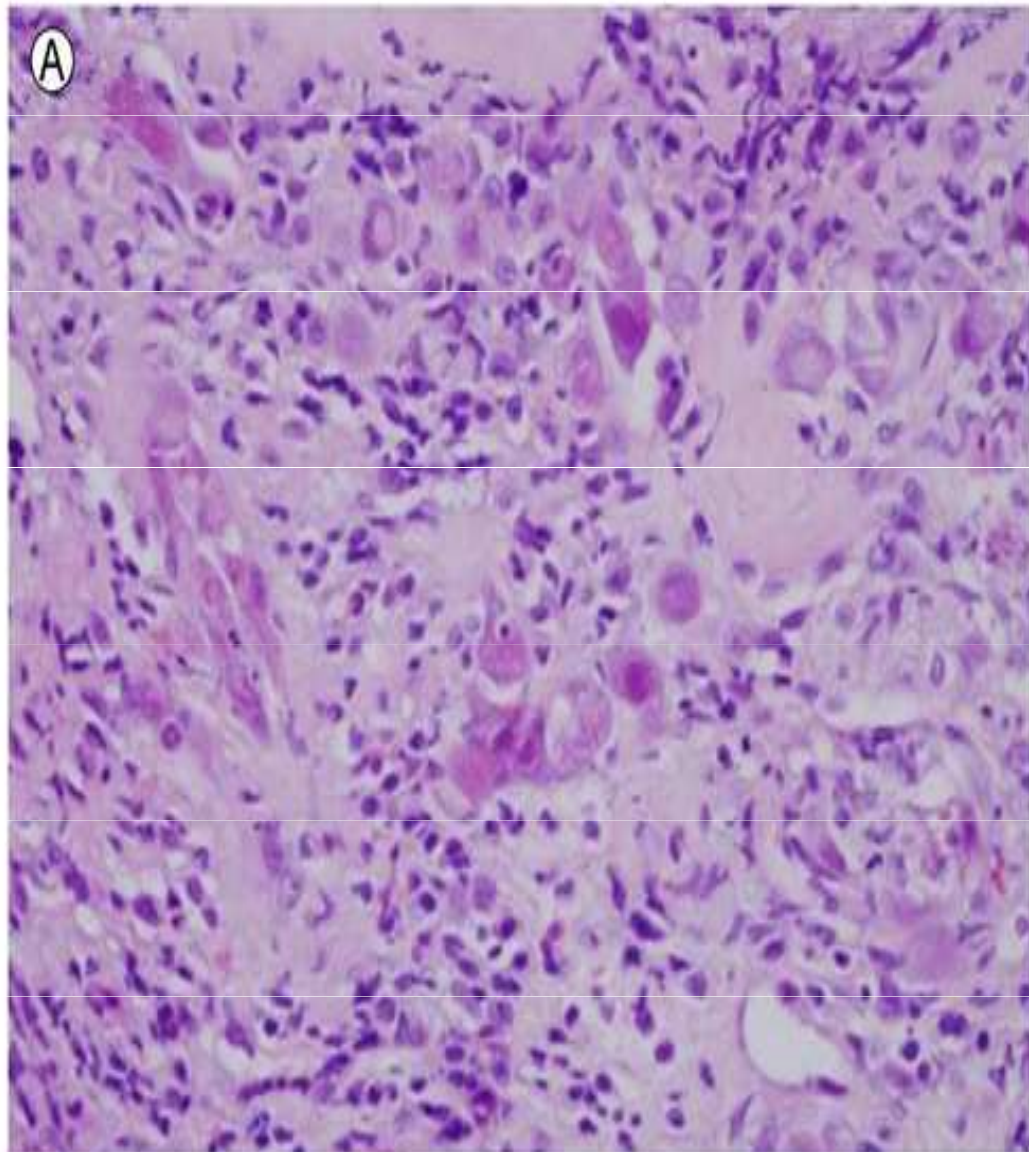
## CMV colitis

Kolonoskopie: pravidelné segmentální ulcerace po obvodu střeva na intracoekální chlopni a ascendentním colon.

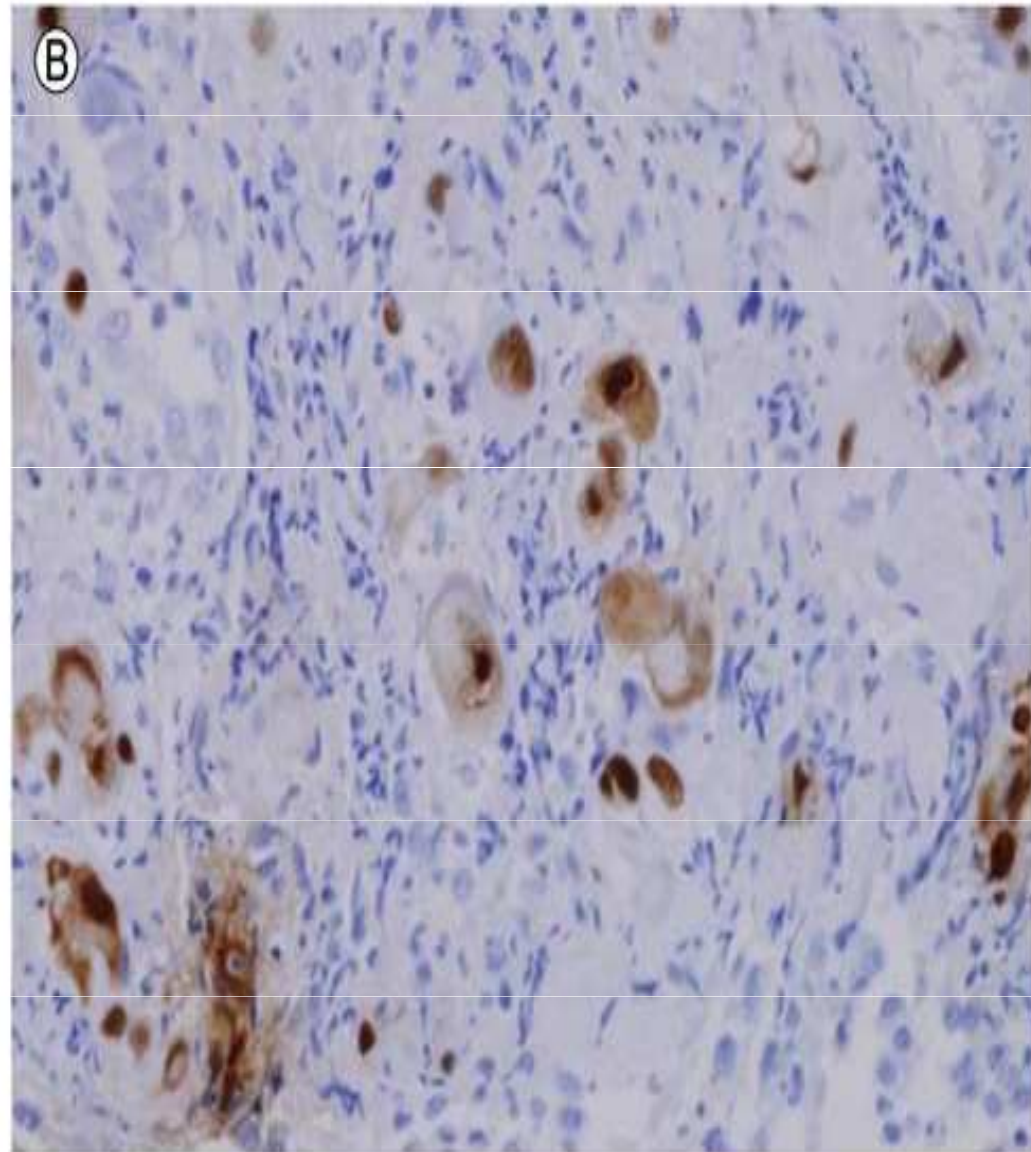




V mucose colon četná CMV tělíka.



V CMV-infikovaných buňkách hnědě zbarvená obě jádra a cytoplasma (imunohistochemické zbarvení).

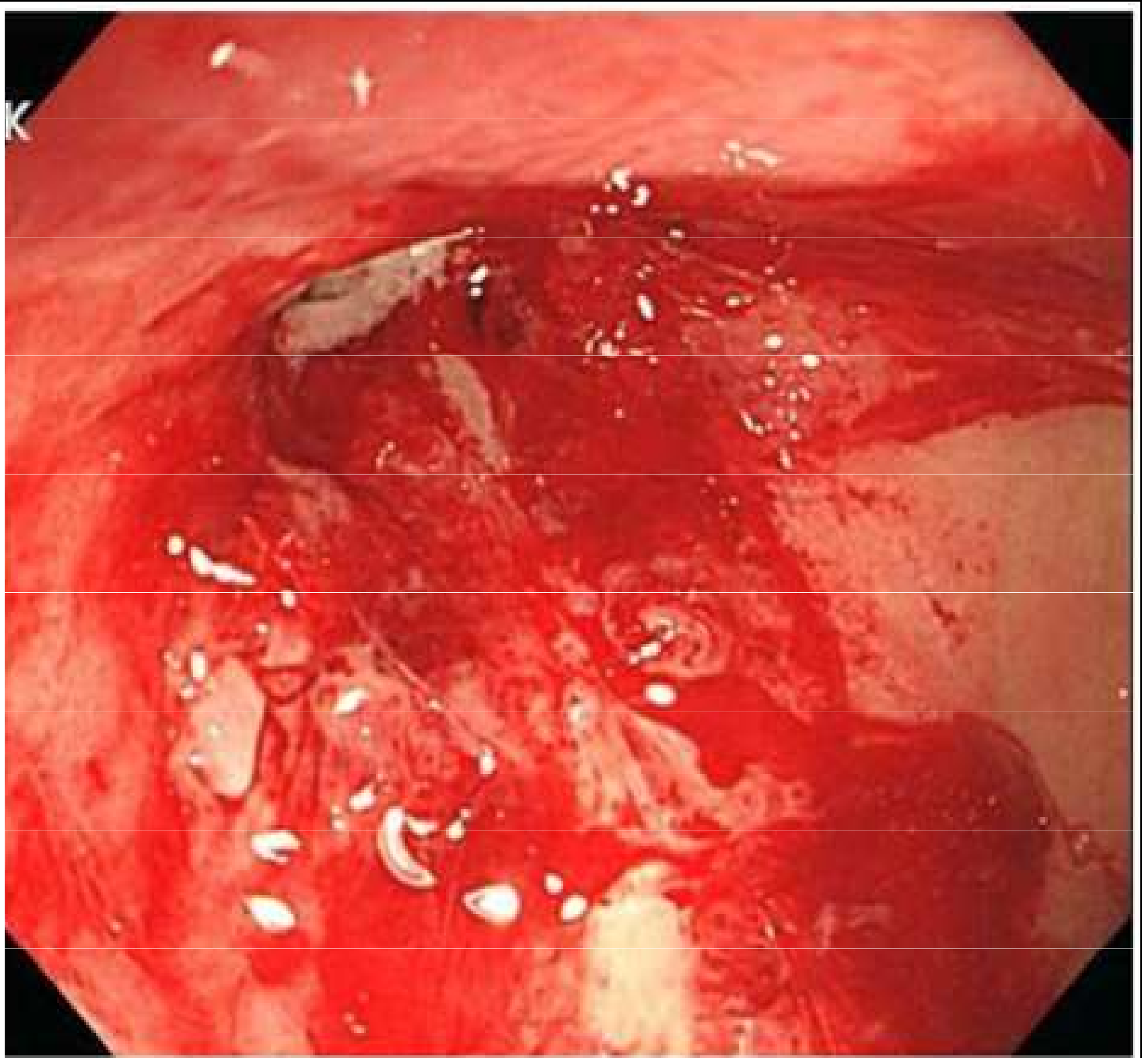


CT břicha:

Zánětlivý infiltrát v okolí  
střední části colon transversum.



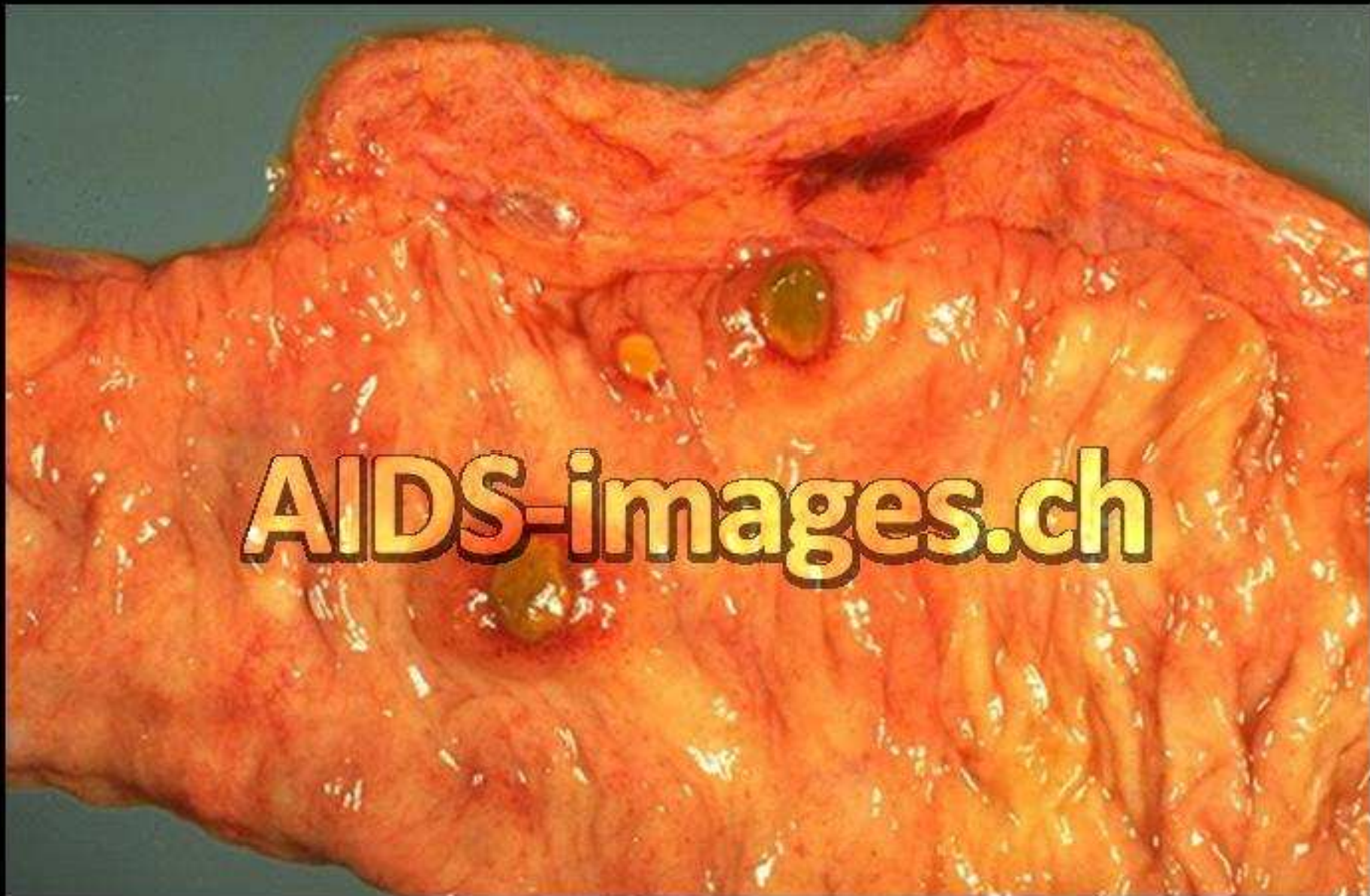
Colonoskopie:  
Striktura  
proximálního  
transverza  
následkem CMV  
colitidy



Kontrast s bariem:  
krátké zúžení ve  
středním transverzu  
(striktura jako následek  
proběhlé CMV colitidy)







**AIDS-images.ch**

Cecal ulcerations due to CMV

# CMV esofagitis

- Odynofagie
- Nausea
- Retrosternání dyskomfort
- Horečky

Dg:

- GF - Ulcerace distálního esofagu
- Biopsie – intranukleární inkluze (tělíška) v buňkách endotelu se zánětlivou infiltrací na okraji ulcerací

# CMV esofagitis, colitis - terapie

- Terapeutické zkušenosti obecně velmi malé
- Neexistují standardizované postupy pro diagnostiku ani terapii (každé pracoviště vlastní postup)
- **Ganciclovir i.v.** – terapie 1. volby
  - Při projevech toxicity či
  - Ganciclovir-rezistentní kmen
- **Foscarnet i.v.** – alternativa
- **Délka terapie 21 – 42 dnů**
  - Do vymizení příznaků



# CMV pneumonie

- CMV v latentní podobě perzistuje i v plicních alveolárních makrofázích a v bb. plicního epitelu
- Při prohloubení imunodeficitu
  - Nekontrolovaná virová replikace
  - Invaze CMV do tkáně
- Mortalita 85%
- Klinický i rtg obraz nespecifický
- **Často paralelně při infekci jinými patogeny**
  - Vysoce negativně ovlivňuje průběh stávajícího onemocnění

# CMV pneumonie

- Horečka, kašel, dyspnoe, progredující RI
- Rtg, HRCT:
  - Nespecifický obraz
  - Difuzní plicní intersticiální infiltráty
- Staršími dg. Metodami nediagnosticskovatelná  
(velmi obtížně diagnosticskovatelná)

# Diagnóza

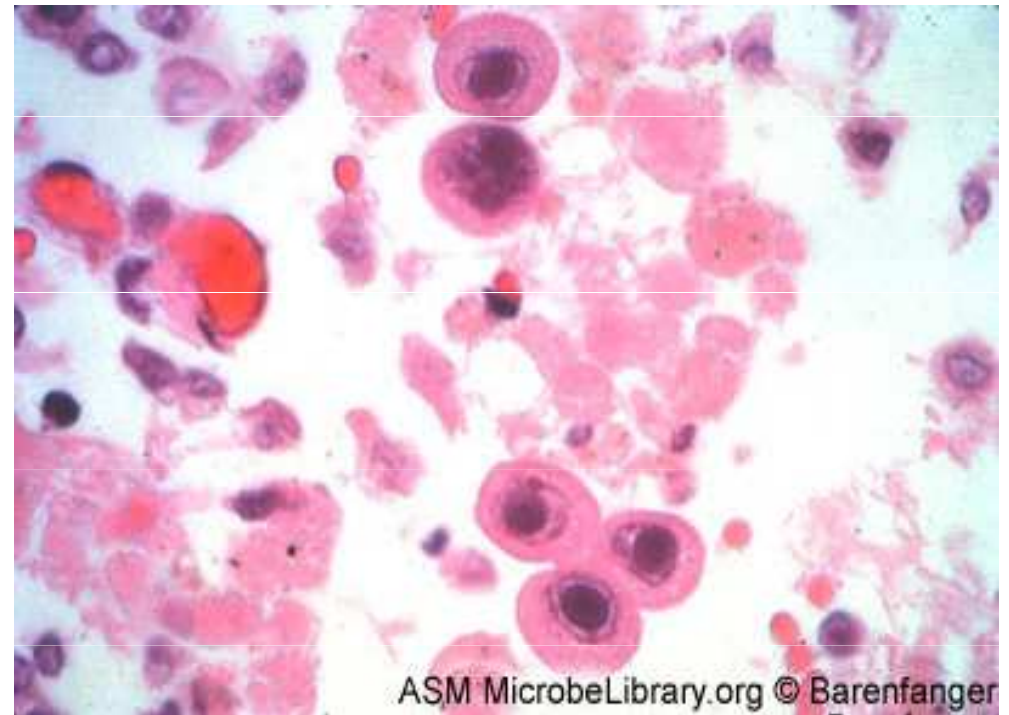
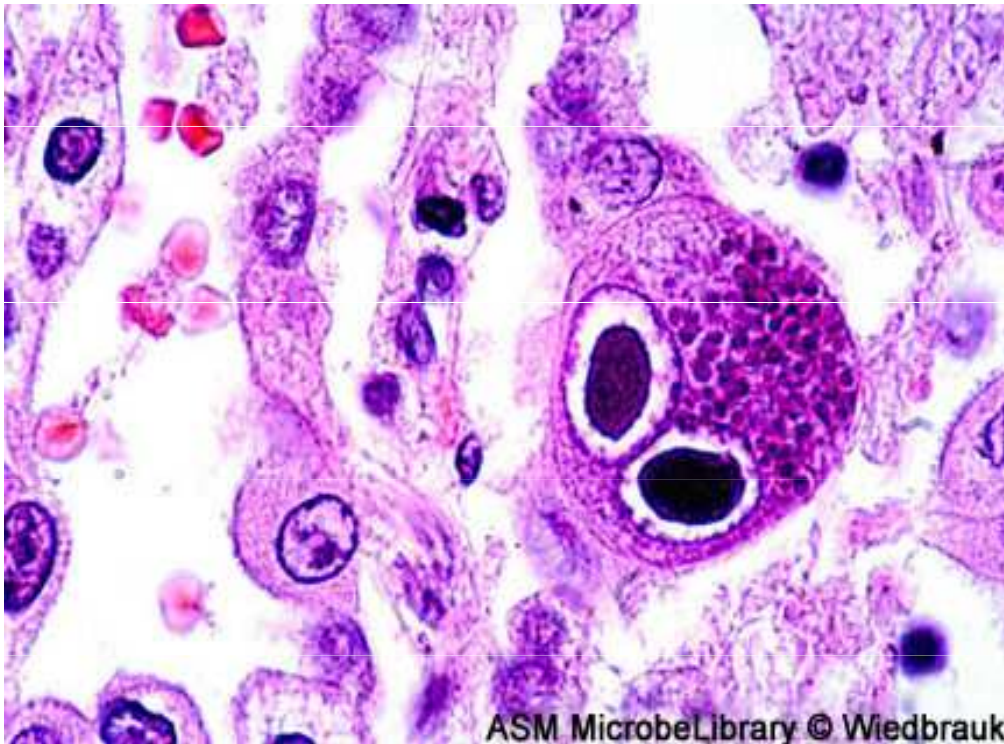
## 1. BAL s průkazem viru v BAT (real-time PCR)

- Není stanoven nejvhodnější cílový gen pro PCR diagnostiku
- Metody nejsou většinou standardizované (proto nejsou všeobecně akceptovaná guidelines)
- Není stanoven cutt-off pro různý biologický materiál
  - **CMV pneumonie pravděpodobná**
    - **Počet kopií DNA CMV > 10<sup>5</sup> kopií/1 ml BAT**
    - Podle některých zdrojů 10<sup>2</sup> – 10<sup>3</sup> kopií/ml BAT

## 2. Průkaz viru v bioptickém vzorku plicní tkáně (či jiné tkáně)

# Histologický průkaz CMV

Intranukleární, intrabuněčné inkluze –  
dvoujaderné bb. vzhledu „sových očí“.



# Diagnóza

- **Počet kopií DNA CMV v periferní krvi**
  - Nedoporučeno pro dg. orgánového postižení
  - Negativní výsledek nevylučuje orgánové postižení
    - K replikační aktivitě CMV může docházet izolovaně pouze v postižené tkáni
  - Pokles kopií DNA CMV v periferní krvi není validní parametr pro posuzování úspěšnosti léčby
- **Cutt-off pro zahájení terapie**
  - 100 kopií/ml plazmy...vysoce rizikovní pacienti
  - 500 kopií/ml plazmy...méně rizikovní

# Terapie

- **Útočná fáze:**
  - Ganciklovir 5mg/kg/d á 12 hod....2-3 týdny
    - U HIV+ často doporučena délka terapie 21 – 42 dnů
- **Konsolidační fáze:**
  - Ganciklovir 5mg/kg/d 5 dnů v týdnu 3-6 týdnů
    - I déle
    - do negativity PCR
- **Sekundární profylaxe ???**
  - Zásadní je ART !!!
- **Polyvalentní imunoglobuliny**
  - Pokud je plazmatická hladina IgG < 5g/l

# Alternativní terapie

- **Gancyklovir-rezistentní CMV**
  - **Foskarnet**
    - 60mg/kg i.v. 3x denně po dobu 1 týdne
    - Následně 90mg/kg i.v. – délka léčby není stanovena
  - **Cidofovir**
    - Dlouhý intracelulární poločas
    - CMV retinitida, ostatní dg. – nejsou dostatečné zkušenosti
    - Nefrotoxický

# CMV neurologické postižení

- **CMV encefalitida**

- demence, letargie, zmatenost, horečka
- CSF – lymfocytoza (někdy ↑neu i lymf.), glukoza norm. či ↓,  
CB norm. či ↑

- **Ventriculoencefalitida**

- Bouřlivější klin. Symptomatologie, rychlá progresse s fatálním průběhem
- Fokální neurol. Nález, postižení kraniálních nervů – paresy, nystagmus
- CT, MR – periventrikulární enhancement (vysoce susp.)

- **Polyradiculomyelopatie**

- Klinická symptomatologie jako Guillian-Barre syndrom



# Terapie

- Zkušenosti s terapií (zejména u HIV+) jsou limitované a neoficiální
- Optimální délka terapie není stanovena
- Cutt-off si většinou každé pracoviště stanovuje na základě retrospektivní analýzy samo...
- Různá schémata na různých pracovištích
- **Terapie je dlouhodobá, až do negativity plazmatické virémie**
- **Monitorace** PCR DNA CMV – u rizikových pacientů **1x týdně**, při narůstajícím riziku **2x týdně**

# Progressive multifocal leukoencephalopathy – epidemiology, immune response, clinical differences, treatment

**Snopková S.<sup>1</sup>, Štourač P.<sup>2</sup>, Fašanecková L.<sup>1</sup>, Mihalčín M.<sup>1</sup>, Havlíčková K.<sup>1</sup>, Svačinka R.<sup>1</sup>, Volfová P., Snopek P., Husa P.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Klinika infekčních chorob FN Brno a LF MU, Brno

<sup>2</sup>Kliniky dětské anesteziologie a resuscitace FN Brno a LF MU d



## ABSTRACT

Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) is a severe disease of the central nervous system with very high mortality. It is caused by the JC virus with high seroprevalence, at up to 80%. Development of PML is typically opportunistic, particularly in acquired immunodeficiency syndrome, and usually affects patients with profound immunodeficiency. Furthermore, as a result of highly efficient immunosuppressive and immunomodulatory treatments in recent years, the number of PML cases has increased

in the general population. In this article, the authors mention virological and epidemiological relationships and characteristic manifestations of PML. Possible relationships of humoral and cellular immunity are discussed and limited treatment options including prophylaxis are mentioned.

## KLÍČOVÁ SLOVA

**cellular immunity – CD4/CD8 ratio – HIV – multiple sclerosis – progressive multifocal leukoencephalopathy**

## SOUHRN

**Snopková S., Štourač P., Fašanecková L., Mihalčín M., Havlíčková K., Svačinka R., Volfová P., Snopek P., Husa P.: Progresivní multifokální leukoencefalopatie – epidemiologie, imunitní odpověď, klinické rozdíly, léčba**

Progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML) je závažné onemocnění centrální nervové soustavy s velmi vysokou mortalitou. Příčinou onemocnění je JC virus s vysokou séroprevalencí dosahující až 80 %. PML je typické oportunní onemocnění vyskytující se zejména u syndromu získané imunodeficiency u pacientů s hlubokým imunodeficientem. Počet případů PML se

však v posledních letech zvyšuje také u všeobecné populace jako důsledek vysoce účinných immunosupresivních a immunomodulačních léčebných postupů. V tomto článku autoři uvádějí virologické a epidemiologické souvislosti a charakteristické projevy PML. Jsou diskutovány možné vztahy humorální a buněčné imunity a jsou zmíněny omezené možnosti léčby včetně profylaxe.



## KLÍČOVÁ SLOVA

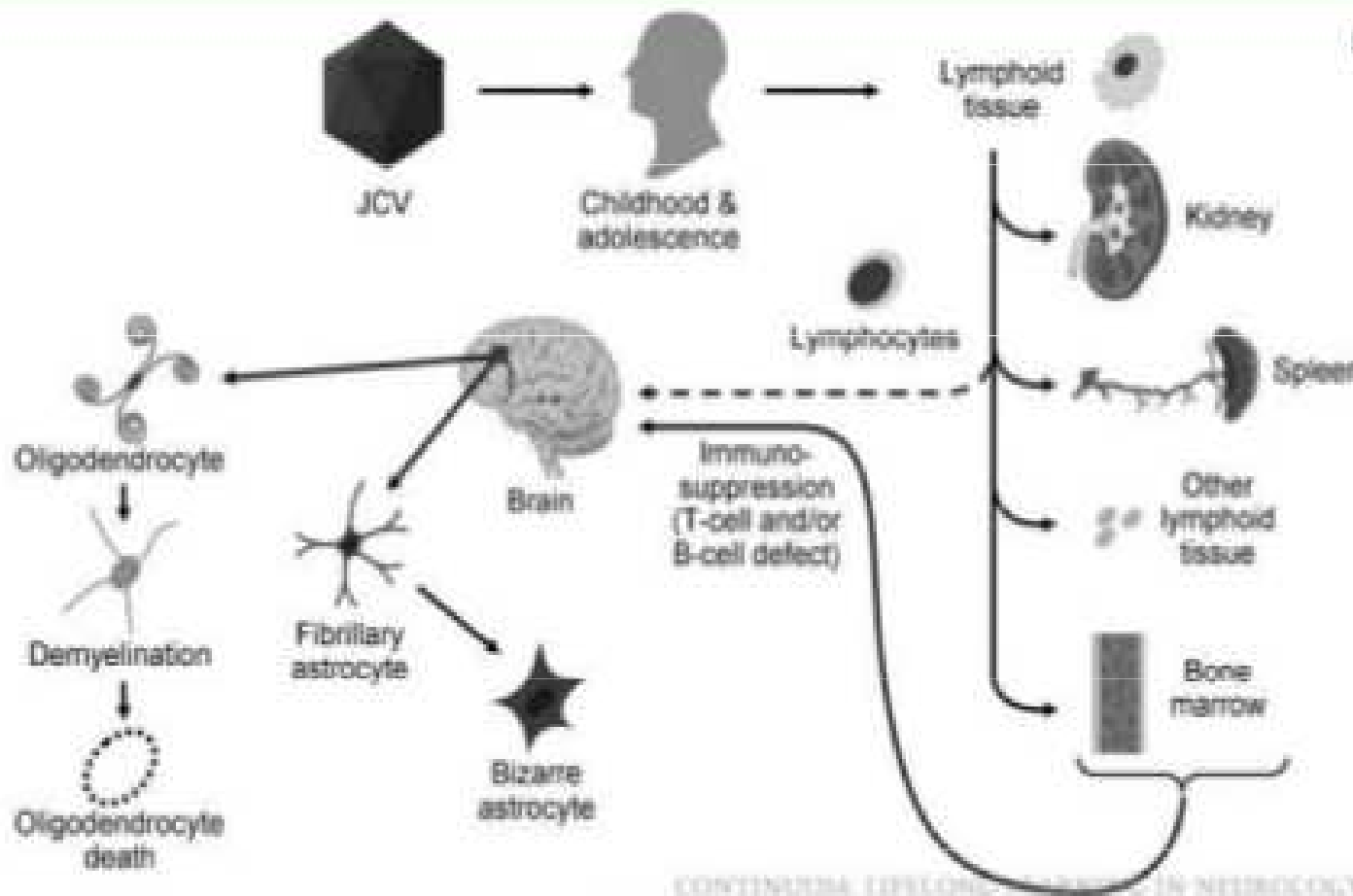
**buněčná imunita – poměr CD4/CD8 – HIV – sclerosis multiplex – progresivní multifokální leukoencefalopatie**

# PML

- Těžké demyelinizační onemocnění CNS s rychlou progresí a fatálním koncem
- JC virus (polyoma virus), séroprevalence 80%
- Při imunosupresi diseminace JCV do CNS z orgánů, kde perzistuje (ledviny, kostní dřeň, lymfatické orgány, slezina, mandle...)
- Doba od prvních příznaků do smrti (medián 3-6 měsíců)
- Specifická terapie není známá
- S ART progrese snad pomalejší

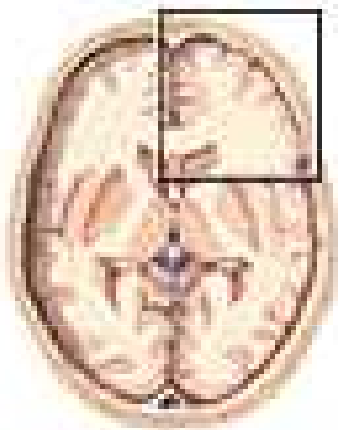
# Patogeneza PML

## Pathogenesis of JC Virus

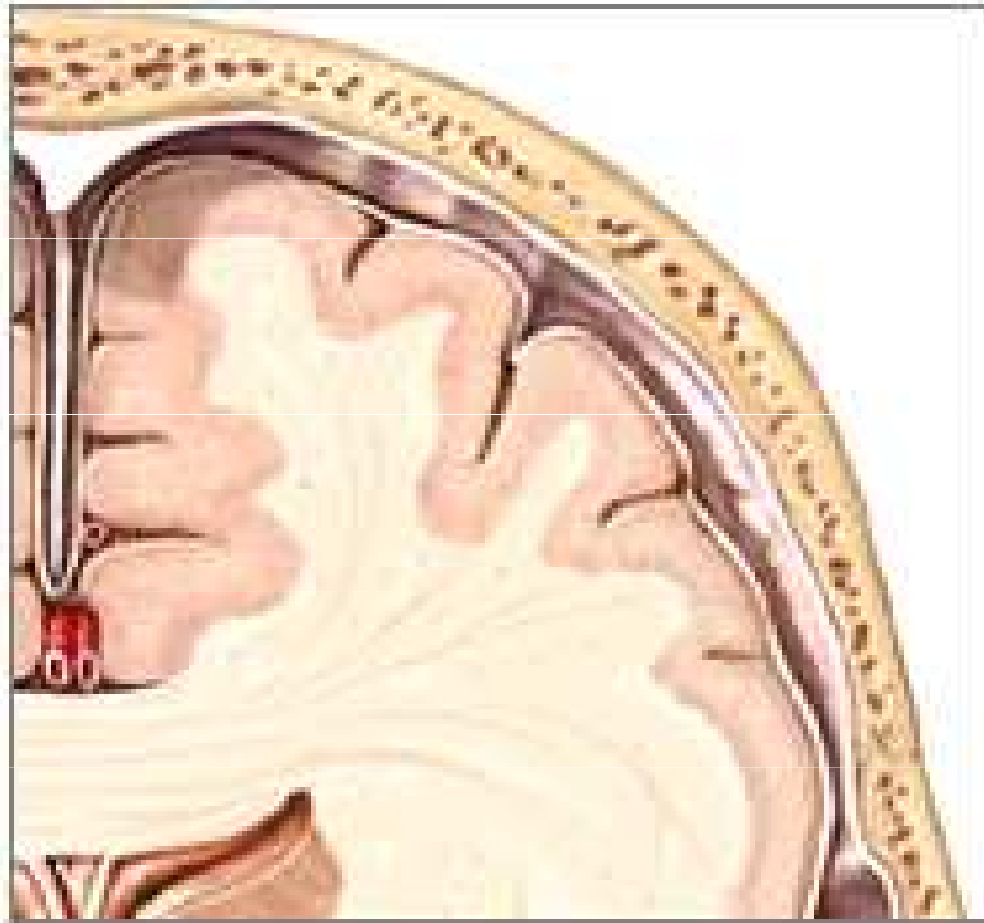


▶ The virus is acquired in childhood or young adulthood and becomes latent in lymphocytes, spleen, kidney, bone marrow, and other lymphoid tissue.

It also may establish latency in the brain. With immunosuppression, JC virus replicates in oligodendrocytes; kills them, causing demyelination; and nonproductively infects astrocytes, causing bizarre histologic changes.



In progressive multifocal leukoencephalopathy, lesions appear, gradually demyelinating the nerve cells (white matter) of the brain, causing loss of coordination and weakness



Normal brain



Brain with lesions

# PML

- Žena 43 let, dosud zcela zdravá
- Neobratnost PHK a palce LDK
  - MRI – vícečetná demyelinizační ložiska P-O, pouze lehce naznačeno splývání T2
- Během 2 měsíců
  - Rychlá progrese do těžké akrální parézy LDK, neocerebelární a paleocerebelární syndrom s ataxií a dysmetrií
  - MRI – rychlá progrese nálezů
  - Dg. HIV+

# PML

Splněna kritéria pro dg. PML podle Americké akademie neurologie (AAN)

- Typický MRI scan
- Klinické známky
- Pozitivní CSF JCV PCR
- Zahájena terapie
  - Specifická terapie není známá
  - ART – s max. CPE
    - ABC/3TC + LPV/r + RAL (RAL podle studií rychle regeneruje počet CD4)

# PML

- Během 2 měsíců po zahájení ART
  - Rychlý nárůst CD4 a zlepšení funkce regenerujících bb.
  - Regenerace imunitního systému – CD4/CD8
    - Během 2 měsíců negat. CSF
  - **Buněčná imunita – zásadní role v sanaci JCV infekce**
  - **Regenerace imunitních funkcí**
    - **Zahájení produkce protilátek (OB 4 → 3 → 2)**
  - Protektivní efekt intratekálně produkovaných protilátek je nejasný, vs. není neutralizační kapacita
  - Regrese MRI – dosud nepopsána
- Vs. efekt vysoce efektivní ART včetně rychlé regenerace počtu CD4 via RAL ??????



# Závěr

- Rychlá stabilizace klin. stavu – důsledek rychle navozené regenerace imunitního systému
  - Rychlá clearance JCV z CSF
  - Změna Typu OB 4 via 3 via 2 (z anergie na produkci protilátek – humorální imunita není dominantní)
  - Absolutně zásadní imunita celulární
- ??? role raltegraviru ???
- **Složení ART při PML není determinováno**
  - RAL pozitivní efekt

- Děkuji Vám za pozornost...