

Bolnišnica Golnik – Klinični oddelek za pljučne bolezni in alergijo

Register za tuberkulozo



ZBORNİK PREDAVANJ

**12. REDNI LETNI POSVET O OBRAVNAVI IN SPREMLJANJU BOLNIKOV S
TUBERKULOZO (TB) V SLOVENIJI**

Ljubljana, 23. marec 2007

KAZALO

<u>EPIDEMIJA TUBERKULOZE V SLOVENIJI IN NACIONALNI PROGRAM</u>	<u>3</u>
<u>HISTOLOŠKA DIAGNOSTIKA TUBERKULOZE</u>	<u>4</u>
<u>MOLEKULARNO –BIOLOŠKI TESTI V HISTOLOŠKIH VZORCIH.....</u>	<u>4</u>
<u>MILIARNA TUBERKULOZA.....</u>	<u>10</u>
<u>POSEBNOSTI PRI ODVZEMU KRVI ZA TEST QuantiFERON</u>	<u>11</u>
<u>NETUBERKULOZNE MIKOBAKTERIJE – VEDNO BOLJ POMEMBNI MIKROORGANIZMI.....</u>	<u>13</u>
<u>RADIOLOŠKA DIAGNOSTIKA NETUBERKULOZNIH MIKOBAKTERIJ</u>	<u>15</u>
<u>ZDRAVLJENJE IN SPREMLJANJE BOLNIKOV Z NETUBERKULOZNIMI MIKOBAKTERIJAMI.....</u>	<u>17</u>

EPIDEMIJA TUBERKULOZE V SLOVENIJI IN NACIONALNI PROGRAM

Damijan Eržen, Manca Žolnir-Dovč

Bolnišnica Golnik - KOPA

Slovenija je od leta 2000 država z nizko incidenco tuberkuloze in že leta 2003 je izpolnjevala priporočila globalnega načrta do leta 2006. Nad 85% vseh bolnikov je bilo uspešno pozdravljenih in od leta 1995 je bila strategija neposredno nadzorovanega zdravljenja vključena v nacionalni program. V okviru novega globalnega načrta pod okriljem SZO, ki ga izvaja partnerstvo StopTB je potrebno zagotoviti nadaljnji upad tuberkuloze v Sloveniji. Vzdrževati je treba kakovost obravnave bolnikov s tuberkulozo in uporabljati vse novosti, ki jih partnerstvo pripravlja. Aktivnosti je nujno usmeriti v obravnavo skupin s povečanim tveganjem za tuberkulozo, obravnavo mikroepidemij in preprečevanje prenosa v zdravstvenih in negovalnih ustanovah in zaporih. Tuberkuloza v Sloveniji od prenove programa pospešeno upada in v letu 2006 je bilo registriranih 210 bolnikov s tuberkulozo kar predstavlja 10,5 primerov na 100.000 prebivalcev, kar je doslej najnižja incidenca tuberkuloze v Sloveniji. Da bi obdržali uspešen izid zdravljenja je pri čim večjem številu bolnikov s tuberkulozo nujen nadzor pri prejemanju zdravil, da se prepreči prekinitve zdravljenja. Vzdrževati moramo tudi visok nivo senzibiliziranosti zdravnikov in vseh zdravstvenih delavcev, ker je tuberkuloza še vedno relativno pogosta in pogosto prihaja diferencialno diagnostično v poštev. Slovenija v zadnjih letih prednjači po deležu bakteriološko potrjene tuberkuloze, kar pomeni da je diagnostika dovolj podrobna in delovanje laboratorijev visoke kakovosti. V prihodnosti bo potrebna racionalizacija mreže za vzdrževanje učinkovite obravnave in visokega znanja in izkušenosti.

HISTOLOŠKA DIAGNOSTIKA TUBERKULOZE

IN

MOLEKULARNO –BIOLOŠKI TESTI V HISTOLOŠKIH VZORCIH

Izidor Kern

Laboratorij za citologijo in patologijo

Bolnišnica Golnik – KOPA

Tuberkulozo lahko diagnosticiramo iz tkivnih vzorcev, ki so namenjeni histološki opredelitvi procesa, to pomeni v tkivu fiksiranem v formalinu in vklopljenem v parafin. Svetlobnomikroskopsko v hematoksilin-eozin obarvanem preparatu značilno najdemo epiteloidnocelične granulome z nekrozo.

Dokazovanje mikobakterij v tkivnih vzorcih

V tkivnih vzorcih skušamo dokazati prisotnost povzročitelja *M.tuberculosis* z različnimi metodami:

1. barvanji Ziehl-Neelsen in auramin rodamin
2. imunohistokemija
3. molekularno biološke tehnike

Prikazovanje acidorezistentnih bacilov (ARB) v histoloških preparatih z barvanjima Ziehl-Neelsen in auramin rodamin je nizko občutljivo in zato pogosto negativno (>50% primerov¹). Fiksacija tkiva v formalinu dodatno znižuje občutljivost². ARB je 4 µm velik bacil. Barvanji ocenimo pozitivno ob najdbi vsaj treh ARB. Ob prisotnosti več kot 10⁵ ARB v enem ml tkiva pričakujemo pozitivno reakcijo. Z auramin rodamin fluorescentnim barvanjem lažje najdemo ARB³. ARB običajno najdemo izven celic, v osrednjih predelih nekroze granuloma ali v robu votline. Razen pri imunskokompromitiranih osebah ARB redko najdemo v histiocitih in granulomih brez nekroze. Včasih je potrebno pregledati več različnih vzorcev tkiva (preparata vsaj dveh tkivnih blokov)⁴. Mrtvi bacili se ne obarvajo z omenjenima tehnikama, se pa prikažejo s srebritvenimi barvanji (GMS). Z omenjenima barvanjima ne moremo ločiti med *M.tuberculosis* in drugimi mikobakterijami.

Imunohistokemična reakcija z uporabo specifičnih protiteles je enako občutljiva kot barvanji Ziehl-Neelsen in auramin rodamin, vendar dražja⁵.

Z molekularno biološkimi tehnikami imamo možnost dokaza prisotnosti nukleinskih kislin različnih vrst mikobakterij^{6,7,8}. Tehnike so bolj občutljive od specialnih barvanj, a manj kot kultura⁹. Molekularno biološke tehnike uporabljamo v primerih mikrobiološko nepotrjenih ali neopredeljenih histološko dokazanih granulomskih vnetij¹⁰. Pomembno je tudi spoznanje, da dokaz prisotnosti nukleinskih kislin mikobakterij, ne pomeni bolezni. Molekularno biološke tehnike pridejo v poštev pri iskanju povzročitelja negranulomskega vnetja v pljučih¹¹, še posebej pri imunskokompromitiranih osebah.

Histološka diagnoza tuberkuloze

Prednost histopatološke diagnoze tuberkuloze in drugih mikobakterioz je v hitri postavitvi suma možnosti mikobakterijske okužbe. V biopsijskem vzorcu lahko opredelimo povezavo med povzročiteljem in gostiteljevim odgovorom. To je pomembno tudi pri vrednotenju rezultatov mikrobioloških preiskav. En izolat netuberkulozne mikobakterije iz kužnine ne pomeni vedno tudi vzroka bolezni. Zaradi premajhnega vzorčenja za mikrobiološke preiskave, neenakomerne razporeditve sprememb ali tehničnega postopka obdelave kužnine se dogaja, da je kultura iz tkivnih kužnin negativna, medtem ko je v vzporednem histološkem vzorcu prisotno granulomsko vnetje. Pomanjkljivosti histopatološke diagnostike tuberkuloze je odsotnost dokaza sposobnosti razmnoževanja bacilov in ugotavljanja občutljivosti za antituberkulotike, ker fiksacija v formalinu in kasnejši vklop v parafin uničita mikobakterije.

V primeru možnosti infektivne etiologije bolezenskih sprememb bi bilo nujno, da bi ob tkivnem vzorcu za histopatološki pregled odvzeli še vzporedno kužnino za mikrobiološke preiskave. Ker postaja tuberkuloza v naših razmerah redkejša bolezen, nanjo pozabljamo in se zato pogosteje srečujemo z omejenimi možnostmi diagnosticiranja. Posebej to velja v primerih izvenpljučne tuberkuloze (bezgavke, plevra, koža,...), ki pri nas predstavlja do 20% vseh oblik tuberkuloze. Ob diagnostičnem internističnem ali kirurškem posegu se odvzame tkivo, ki je namenjeno histološkemu pregledu in zato fiksirano v formalin. S pljučno tuberkulozo se patolog srečuje v primerih diagnosticiranja pljučnih infiltratov, ki vztrajajo ali celo napredujejo in so klinično neopredeljeni. Endobronhalna tuberkuloza je makroskopsko podobna tumorju. Z za življenja nediagnosticirano tuberkulozo se patolog občasno sooči na obdukciji.

Okužba z *M.tuberculosis*, ki je pri nas najpomembnejši povzročitelj tuberkuloze, sproži tudi drugačne histopatološke spremembe: granulomi brez nekroze, slabše formirani granulomi, supurativni granulomi, kopičenje histiocitov, vretenastocelični psevdotumor, bronhitis in

bronhektazije (endobronhialna tuberkuloza), fibrokalcinirani nodusi, granulomska intersticijska pljučnica.

Posebno pozornost mikobakterijski okužbi namenjam pri imunsko kompromitiranih osebah (kronične pljučne bolezni, AIDS, alkoholizem, sladkorna bolezen, neoplazme, citostatsko zdravljenje). Mikobakterioze so etiološko povezane s sindromom Lady Windermere in pljuči vročih kopeli.

Tuberkuloza je granulomatoza

Tuberkuloza sodi v skupino granulomatoz, katerih skupna značilnost je granulomsko vnetje. Histološko granulom, ki se razvije ob prisotnosti nerazgradljivega produkta in celične preobčutljivostne reakcije, opredelimo kot skupek histiocitov, transformiranih v epitelioidne celice, s pogosto pridruženimi večjedrnimi velikankami, limfocitnim infiltratom ob robu in nekrozo v središču. Granulomatoze razdelimo na okužbe, vaskulitise, imunološka obolenja, okvaro levkocitne oksidaze, preobčutljivostni pnevmonitis, pnevmokonioze in neoplazme¹² (tabela 1). Najpogostejša etiologija granulomatoz je vsekakor okužba in na prvem mestu tuberkuloza. Za patologa je pri vrednotenju granulomskega vnetja pomembna:

- prisotnost nekroze,
- vrsta nekroze (fibrinoidna, koagulacijska, purulentna, kazeozna, levkocitoklastična),
- razporeditev v pljučih (traheobronhalno, plevralno, parenhimsko, angiocentrično, nodularno)
- posamični, številni (med seboj zlivajoči se v večje granulome, v konglomeratih)
- starost (aktivno vnetje, fibroza, kalcinirana nodularna brazgotina)
- imunsko stanje bolnika
- morebitno predhodno zdravljenje.

Za opredelitev bolezni, katere histološki substrat je granulom, so potrebne dodatne histološke preiskave, mikrobiološke preiskave in natančna kliničnopatološka interpretacija.

Pljučna tuberkuloza

Granulomi so v pljučih relativno pogosta najdba¹³. V primeru histološke diagnoze granulomskega vnetja z nekrozo (tipični tuberkuloidni tip granuloma) v pljučih prihaja diferencialnodiagnostično v naših razmerah v poštev¹⁴:

1. tuberkuloza
2. mikobakterioze
3. sarkoidoza

V primeru slabše formiranih granulomov, granulomov brez nekroze, supurativnih granulomov in drugih manj pogostih vnetnih reakcij, ki jih lahko povzroči bacil tuberkuloze, v pljučih so diferencialnodiagnostične možnosti zelo široke in vključujejo:

1. glivične okužbe (kriptokokoza, kronična aspergiloza)
2. mikobakterioze (MAC)
3. sarkoidoza, nekrotizirajoča sarkoidna granulomatoza
4. Wegenerjeva granulomatoza
5. bronhocentrična granulomatoza
6. bakterijske okužbe (nokardioza, aktinomikoza, bruceloza, melioidoza...)
7. berilioza, talkova granulomatoza

Sočasno lahko najdemo granulome z in brez nekroze. Večino naštetih možnosti lahko rešimo s specialnimi barvanji za prikaz mikroorganizmov in vzporednimi kužninami za mikrobiološke preiskave. Pomembno je upoštevati klinično sliko, rezultate seroloških in slikovnodiagnostičnih preiskav (npr.: sarkoidoza, Wegenerjeva granulomatoza).

Izvenpljučna tuberkuloza

Tuberkuloza prizadene tudi druge organe. S histološkim pregledom ugotovljeni granulomi v drugih organih (koža, jetra, bezgavke, črevesje, ...) predstavljajo patologu drugačne dileme. Splošno velja, da so granulomi z nekrozo bolj verjetno infektivne etiologije. Granulomi brez nekroze v jetrih pomenijo lahko primarno biliarno cirozo in v vzorcu črevesja Crohnovo bolezen. Granulome z nekrozo v bezgavkah opisujemo pri tuberkulozi, mikobakteriozah, boleznih mačje opraskanine, glivični okužbi, tudi sarkoidozi. Granulomsko vnetje v plevri, peritoneju in meningah pa praktično vedno pomeni tuberkulozo. Nasprotno pa granulomsko vnetje v koži odpira zelo široke možnosti.

Tabela 1. Kliničnopatološka klasifikacija granulomatoz

Okužbe	Glive (aspergiloza, kriptokokoza), mikobakterije, spirohete, brucela, toksoplazma, jersinija, bartonela, nokardije, aktinomicete, Whipplova bolezen
Vaskulitisi	Wegenerjeva granulomatoza, Churg-Straussin sindrom
Imunološka obolenja	Sarkoidoza, Crohnova bolezen, primarna biliarna ciroza, orofacialna granulomatoza
Okvara levkocitne oksidaze	Kronična granulomatozna bolezen
Preobčutljivostni pnevmonitis	EABA (farmarska pljuča, pljuča rejcev ptic, pljuča gojiteljev gob)
Pnevmokonioze	Berilioza, talkova granulomatoza
Neoplazme	Limfomatoidna granulomatoza

Literatura

1. Gardiner DF, Beavis KG. Laboratory diagnosis of mycobacterial infection. *Semin Respir Infect* 2000;15:132-43.
2. Fukunaga H, Murakami T, Gondo T, et al. Sensitivity of acid-fast staining for *Mycobacterium tuberculosis* in formalin-fixed tissue. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:994-7.
3. Cserni G. Auramine fluorescence for acid-fast bacilli in formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *Am J Clin Pathol* 1995;103:114.
4. Tang YW, Procop GW, Zheng XT, Myers JL, Roberts GD. Histologic parameters predictive of mycobacterial infection. *Am J Clin Pathol* 1998;109:331-4.
5. Cartun RW. Use of immunohistochemistry in the surgical pathology laboratory for the diagnosis of infectious disease. *Pathol Case Rev* 1999;4:260-5.
6. Zerbi P, Schoonau A, Bonetto S. Amplified in situ hybridization with peptide nucleic acid probes for differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* complex and nontuberculous mycobacterium species on formalin-fixed, paraffin-embedded archival biopsy and autopsy samples. *Am J Clin Pathol* 2001;116:770-5.
7. O'Sullivan C, Miller DM, Schneider PS. Evaluation of Gen-Probe amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test by using respiratory and nonrespiratory specimens in tertiary care laboratory. *J Clin Microbiol* 2002;40:1723-7.

8. Park D, KimJX, Choi KU. Comparison of polymerase chain reaction with histopathologic features for diagnosis of tuberculosis in formalin-fixed, paraffin-embedded histologic specimens. *Arch Pathol Lab Med* 2003;2003:326-330.
9. Renshaw AA. The relative sensitivity of special stains and culture in open lung biopsies. *Am J Clin Pathol* 1994;102:736-40.
10. Hardman WJ, Benian GM, Howard T. Rapid detection of mycobacteria in inflammatory necrotizing granulomas from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues by PCR in clinically high risk patients with acid-fast and culture negative tissue biopsies. *Am J Clin Pathol* 1996;106:384-9.
11. Ghossein RA, Ross DG, Salomon RN, et al. Rapid detection and species identification of mycobacteria in paraffin-embedded tissues by PCR. *Diagn Mol Pathol* 1992;3:185-91.
12. James DG. A clinicopathological classification of granulomatous disorders. *Postgrad Med J* 2000;76:457-65.
13. El-Zammar OA, Katzenstein ALA. Pathological diagnosis of granulomatous lung disease:a review. *Histopathol* 2007;50:289-310.
14. Rott T. Pregled pljučnih granulomatoz. Pljučne granulomatoze. *Med Razgl* 1985;24(4):75-100.

MILIARNA TUBERKULOZA

Damijan Eržen, Manca Žolnir-Dovč
Bolnišnica Golnik - KOPA

Miliarna tuberkuloza se nanaša na klinični potek tuberkuloze, ki je posledica hematogonega razsoja *M. tuberculosis*. V preteklosti je bil nujen patološki ali radiološki dokaz, danes pa označuje vse oblike progresivne, diseminirane bolezni s hematogenim razsojem bacilov tuberkuloze tudi če ni klasičnega patološkega in radiološkega izvida.

Nastane lahko kot rezultat primarne progresivne bolezni, kot reaktivacija latentnega žarišča ali redko iatrogeno. Včasih je bila pogosteje diagnosticirana pri mladih in najmlajših, danes je to bolezen starejših in tistih, ki imajo biološke dejavnike tveganja za razvoj aktivne tuberkuloze po okužbi. Poteka lahko kot akutna miliarna tuberkuloza, kot kasna generalizirana bolezen ali pa redko kot nereaktivna ali anergična tuberkuloza. Akutna tuberkuloza poteka hitro in vodi v sindrom septičnega šoka, multiorgansko odpoved in ARDS. Kasna miliarna tuberkuloza poteka lahko bolj subakutno ali kronično in neznačilno, zato je velikokrat bolezen neugotovljena in smrtna. Najpogosteje so prizadeta pljuča, gastrointestinalni trakt in centralni živčni sistem. Prizadetost ostalih organov je redka. Pomembna je prizadetost nadledvičnih žlez, ki lahko vodi v insuficienco in tudi prizadetost oči, kjer lahko na očesnem ozadju ugotovimo granulome. Pri polovici bolezni spremlja normocitna anemija, lahko levkocitoza ali levkopenija, trombocitoza ali redkeje trombocitopenija. Povišani so reaktanti vnetja, lahko je prisotna hiponatremija zaradi SNIADH in hiperkalcemija zaradi presnove vitamina D v granulomih. Rentgensko je najbolj značilen enakomeren retikulonodularni in mikronodularni infiltrat. Najbolj ustreza je bakteriološka potrditev bolezni ali vsaj skladen histopatološki izvid, klinična bolezen zdravljena empirično naj bo redka. Zdravljenje je standardno štiriterno do prejetja testa občutljivosti, nato lahko brez etambutola do zaključka inicialne faze zdravljenja. Pirazinamid ukinemo po dveh mesecih zdravljenja in nadaljujemo s podaljšano nadaljevalno fazo zdravljenja šest mesecev. Kortikoide uporabljamo samo v primeru meningealne tuberkuloze.

Pri nas je miliarna tuberkuloza redka, najpogostejša je pri starejših moških. Ob diagnozi je napredovala in glede na podatke v letih 2000 do 2006 v 40 odstotkih smrtna. Diagnoza je v večini primerov bakteriološka. Zdravljenje pravočasno odkritih primerov je dobro (ozdravljenih 75 %), 21 % jih med zdravljenjem umre. Zaradi upada tuberkuloze zdravniki nanjo redko pomislimo in jo spoznamo in tu je še veliko priložnosti za izboljšanje.

POSEBNOSTI PRI ODVZEMU KRVI ZA TEST QuantiFERON

Ružica Bavdek, Nada Šorli-Peranovič, Manca Žolnir-Dovč
Bolnišnica Golnik, Klinični oddelek za pljučne bolezni in alergijo, SI-4204 GOLNIK,
SLOVENIJA
Tel:+386 425 69 100, fax:+386 425 69 117, e-mail: ruzica.bavdek@klinika-golnik.si

V KOPA Golnik se poleg zdravljenja aktivne TB ukvarjamo z diagnostiko in zdravljenjem latentne okužbe. Tuberkulinski test (Mantoux test, TKT) je več kot 100 let star test za dokazovanje latentne okužbe z bacili tuberkuloze, ki ga izvajamo intradermalno na podlakti človeka. Do leta 2001 je bil tuberkulinski kožni test edini s katerim je bilo mogoče ugotoviti latentno okužbo s tuberkulozo (LOTB). Pri tem testu merimo velikost pozne preobčutljivosti 48 do 72 ur po intradermalnem vbrizganju standardiziranega odmerka tuberkulina (dve mednarodni enoti). Meri se velikost zatrdline pri kožni reakciji in vrednost se izraža v milimetrih prečnega premera. Pri izvedbi in odčitavanju je veliko variabilnosti in napak glede na izkušnost zdravstvenega osebja. Interpretacija je odvisna tudi od tveganja za LOTB. Običajno je TKT pozitiven pri primeru induracije 10 mm in več. Interpretacijo moti vpliv cepljenja s cepivom BCG in prisotnost netuberkuloznih mikobakterij. Pri tem testu obstaja možnost oslabiljenega imunskega odgovora in pojav odgovora (booster fenomen) po ponovitvi testiranja.

V zadnjih letih so se na tržišču pojavili novi testi za dokazovanje okužbe, ki so bolj specifični in merijo nivo interferona gama v vzorcu polne krvi po stimulaciji z antigeni bacilov TB. Prednost testa je več, je bolj specifičen, izvajamo ga v epruveti, razen tega bolniki ne potrebujejo dvakratnega obiska pri zdravniku. Namen prispevka je opozoriti na posebnosti pri odvzemu krvi za test QuantiFERON TB Gold (Cellestis, Carneige, Avstralija) in opozoriti, da test ni primeren test za izključevanje ali potrjevanje aktivne bolezni.

V raziskavo smo zajeli 29 bolnikov z aktivno TB, ki so začeli zdraviti v Bolnišnici Golnik med decembrom 2004 in marcem 2007. Pri 28 od njih je bila aktivna TB dokazana z osamitvijo bacilov TB na gojiščih, samo pri enem od bolnikov pa je bila bolezen potrjena samo s histologijo. Vsi bolniki so se tudi zdravili za aktivno TB. Mešanje epruвет, čas od odvzema krvi in dostave v laboratorij, ter hranjenje in transport epruвет na sobni temperaturi so najpomembnejši faktorji, ki vplivajo na rezultat preiskave in so lahko vzrok za napačen rezultat. Prav v ta namen smo pri dveh bolnikih istočasno odvzeli po dva para vzorcev krvi.

Prvi par smo premešali in naprej postopali po navodilih proizvajalca, drugi par krvi pa smo brez mešanja postavili v termostat in od tu dalje spet sledili navodilom proizvajalca.

Kar pri 3 od 29 bolnikov (10,3%), pri katerih je bila diagnoza aktivne TB dokazana z osamitvijo bacilov na gojiščih in / ali z ustrezno histološko sliko, je bil test Quantiferon (QFT) negativen. Ostalih 26 oseb (89,7%) pa je imelo test QFT pozitiven. Testiranje parametrov, ki vplivajo na rezultat preiskave je pokazalo, da imajo ti faktorji zelo velik vpliv na rezultat preiskave, saj je pri obeh bolnikih, pri katerih kri ni bila premešana, rezultat preiskave močno padel (iz visoko pozitivnega na nizko pozitivnega, lahko pa bi bil tudi negativen). Osebe, ki izvajajo test mora biti izkušeno in usposobljeno za odvzem in predvsem za mešanje krvi, saj izkušnje kažejo, da je prav od mešanja odvisen rezultat. Potrebno je, da se po odvzemu krvi s pacientom dogovorimo za naslednji srečanje, na katerem ga seznanimo z rezultati, podamo zdravniško mnenje in začnemo z zdravljenjem, če je le-to potrebno. Pomembno je, da je pregled dogovorjen tudi z laboratorijem, saj samo tako lahko zagotovimo nemoten in hiter pregled krvi.

Če povzamemo: Številni faktorji lahko vplivajo na rezultat testa QFT. Čas od odvzema krvi do transporta v laboratorij nikakor ne sme biti daljši od 16. ur, kri mora biti pred in med transportom ves čas na sobni temperaturi, ter pravilno mešanje krvi neposredno po odvzemu, so 3 najpomembnejši faktorji, ki vplivajo na rezultat preiskave. Teste priporočamo za odkrivanje latentne okužbe in sicer: (i) pregledovanje oseb, ki so bile v stiku z bolniki z aktivno TB; (ii) odkrivanju okužbe pred začetkom zdravljenja z biološkimi zdravili, transplantacijo organov; (iii) pregledovanje zdravstvenih delavcev. Test torej ni primeren za potrjevanje ali izključevanje bolnikov z aktivno TB. V te namene je potrebno še vedno uporabljati mikrobiološke metode, to je mikroskopski pregled, kultivacijo bacilov TB in molekularno biološke metode (AT).

NETUBERKULOZNE MIKOBakterIJE – VEDNO BOLJ POMEMBNI MIKROORGANIZMI

Manca Žolnir - Dovč, Nada Šorli - Peranovič, Damijan Eržen

Bolnišnica Golnik, Klinični oddelek za pljučne bolezni in alergijo, SI-4204 GOLNIK,
SLOVENIJA

Tel:+386 425 69 100, fax:+386 425 69 117, e-mail: manca.zolnir@klinika-golnik.si

Uvod: Netuberkulozne mikobakterije (NTM) najdemo povsod v okolju, najpogosteje pa v vodi in zemlji. Pri človeku lahko povzročijo bolezen - mikobakteriozo, in to tako pri imunsko slabše odpornih osebah kot tudi pri imunsko normalno odpornih. Okužba z virusom HIV, predhodno kronično obolenje pljuč, cistična fibroza, delo v rudarski industriji, starost bolnika in moški spol so dejavniki tveganja, ki so v številnih raziskavah po svetu najpogostejše povezani z boleznijo povzročeno z NTM. Bolezen se lahko odraža v štirih kliničnih oblikah: pljučna oblika, limfadenitis, diseminirana oblika ali kožna oblika bolezni oz. okužba mehkih tkiv. Mikrobiološka diagnostika mikobakterioze je nujna, saj skoraj vsaka vrsta mikobakterij zahteva za zdravljenje drugačno kombinacijo protimikrobnih zdravil.

V prispevku smo analizirali mikrobiološko diagnostiko mikobakterioz in netuberkuloznih mikobakterij v Sloveniji v zadnjih sedmih letih (2000-2006) z namenom, da poiščemo morebitne spremembe v razširjenosti posameznih vrst mikobakterij v Sloveniji, opozorimo na napake pri delu in na ta način še izboljšamo laboratorijsko diagnostiko mikobakterioz.

Material in metode: V sedemletno analizo smo zajeli 1299 izolatov netuberkuloznih mikobakterij, ki so porasle iz kužnin bolnikov poslanih neposredno v Laboratorij za mikobakterije Bolnišnice Golnik, ali pa so izolate mikobakterij poslali na identifikacijo iz Laboratorija za mikobakterije Zavoda za zdravstveno varstvo Maribor, Bolnišnice Topolšica, Bolnišnica Sežana ali Inštituta za mikrobiologijo Medicinske fakultete iz Ljubljane. Izolate NTM smo identificirali z molekularno biološkimi testi (test GenoType Mycobacterium CM in AS (Hain, Nahren, Nemčija), AccuProbe (Gen-Probe, San Diego, ZDA), morfologijo kolonij na transparentnem gojišču Middlebrook 7H10 in / ali biokemičnimi testi.

Rezultati: Vrsta Mycobacterium (M.) xenopi je najpogosteje izolirana mikobakterija v 7-letnem obdobju v Sloveniji (n=374), sledijo ji mikobakterije iz sklopa M avium (MAC) z 263 izolati in M. gordonae z 215 izolati. Bakterijo M. scrofulaceum, ki je bila v preteklosti v Sloveniji precej pogosta, smo pri nas nazadnje osamili v letu 2001, kar je skladno z navedbami iz literature.

V obdobju 2000-2007 sta mikobakteriozo pri slovenskih bolnikih najbolj pogosto povzročili mikobakteriji *M. kansasii* in MAC, nekoliko redkeje *M. xenopi* in *M. marinum*, medtem ko smo v istem obdobju našli le posamezne primere mikobakterioz povzročenih z *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. abscessus* in *M. malmoense*. Na podlagi laboratorijskih podatkov in sprotim anketiranjem kliničnih zdravnikov ocenjujemo, da je bilo v tem obdobju v Sloveniji zdravljeno najmanj 60 bolnikov za mikobakteriozo, ki smo jo prej uspeli dokazati z mikrobiološkimi metodami.

Zaključek: Pogostost mikobakterioz povzročenih z NTM je različna v različnih delih sveta, vendar so vse štiri oblike bolezni v zadnjih letih v porastu. Ker se za sedaj v Sloveniji ne registrirajo primeri mikobakterioz povzročenih z NTM, lahko za pogostost te bolezni uporabimo samo podatke iz laboratorijev. Na podlagi te analize in sprotnega beleženja kliničnih primerov mikobakterioz v Laboratoriju za mikobakterije Golnik, ocenjujemo, da je bilo v Sloveniji med leti 2000-2007 zdravljenih okoli 60 bolnikov, kar je razmeroma malo. Takšno stanje se lahko v prihodnosti spremeni. Za to obstajata vsaj dva razloga: vsakoletno upadanje tuberkuloze v naši državi in ukinitvev neselektivnega cepljenja z BCG, ki ga izvajamo od marca 2005. V zadnjih dveh letih za sedaj bistvenega povečanja mikobakterioz še ne beležimo.

RADIOLOŠKA DIAGNOSTIKA NETUBERKULOZNIH MIKOBakterIJ

Rok Cesar
Bolnišnica Golnik - KOPA

Incidenca okužb z NTM je pri populaciji z normalnim imunskim odzivom 2 na 100.000, kar je približno petina kot pri TBC. Delež verjetno narašča. Okužbe se pojavijo iz naravnega okolja in ne s prenosom s človeka n človeka.

Problem raziskave patogeneze okužb je tudi v tem, da so ti mikroorganizmi lahko slučajni onesnaževalci v preiskovanih vzorcih.

Imunsko kompetentne paciente, ki se okužijo z NTM lahko razdelimo v dve skupini:

- 1.) običajno starejši moški z že predhodno boleznijo pljuč, kot so kronična bolezen dihalnih poti (KOPB), fibroza kot posledica zaceljene TBC ali glivične infekcije, bronhiektazije ali cistična fibroza.
- 2.) Pretežno starejše ženske brez znane poprejšnje prizadetosti pljuč.

Imunsko kompromitirani bolniki (AIDS, po transplantacijah) so zelo dovzetni za okužbo z NTM. Ta pa je v primerjavi s TBC bolj indolentna in poteka kronično. Slika je lahko stabilna mesece ali leta (tudi do 12 let), vendar brez zdravljenja napreduje in konča s smrtjo.

Radiološke manifestacije

Širok spekter radioloških slik. Določene poteze kažejo na možnost okužbe z NTM.

Pacienti iz prve skupine imajo običajno izvotlitve v zgornjih režnjih, pridružene so tudi retikulonodularne spremembe z znaki endobronhialnega širjenja. To je »klasični« opis okužb z *M. kansasii* in je podoben kot pri TBC. Bolniki imajo sistemske simptome: izguba teže, temperatura, utrujenost, kašelj, hemoptize. Z uporabo tehnik kot BAL, TBB in OLB so odkrili tudi drugi, manj tipični vzorec: številne nodularne zgojitve, bronhiektazije, brez žariščne konsolidacije. Sistemska simptomatika je blaga ali je ni.

RTG slika običajno ostaja v spektru med kavitaro obliko in bronhiektatičnim/nodularnim vzorcem. Ni dokazano, da bi slednji napredoval do kavitacij.

Variacije: Pacienti s CF ali tisti, ki pogosto aspirirajo (ahalazija itd) imajo predispozicijo za okužbo z *M. fortuitum-chelonae*. Pri teh se pojavljajo velika območja zlivajočih se zgojitev.

Redko pa se lahko pojavijo v obliki mase, ki je suspektna za malignom.

Lokalne plevralne reakcije so pogoste, izlivi pa so redki.

Bronhiektazije so zelo pogost spremljevalec okužb z NTM, še posebej z *M. avium-intracellulare* (MAC). Časovne študije bolnikov so pokazale napredovanje bronhiektazij – domnevno je okužba z MAC vzrok za bronhiektazije in ne zgolj oportunistična infekcija v spremenjenih dihalnih poteh. Domnevno bi lahko okužba z MAC povzročila hudo obliko bolezni malih dihalnih poti (SAD), kot jo odkrijemo s CT preiskavo, napravljeno v izdihu.

Kavitacij pri TBC in NTM ni mogoče zanesljivo ločevati, čeprav je bilo nekaj poskusov v tej smeri.

Mycobacterium avium-intracellulare complex (MAC)

Tipična slika (predvsem na HRCT): bronhiektazije (pogosto le v srednjem režnju in linguli), centrilobularni noduli (vzorec vejic s popki – »tree-in-bud«), posamični večji noduli premera okoli 1 cm (lahko s kavitacijo), nekaj manjših žarišč konsolidacije.

Kombinacija teh sprememb, zlasti pri starejši ženski, nam lahko kaže na MAC.

Izrazita kavitacija je redka v primerjavi s TBC.

Bronhiektazije pa so pri okužbi z MAC obsežnejše in hujše.

Druge vrste Mycobacterium

M. kansasii je podobna kot klasična TBC. Praktično vedno kavernozen potek, ki zajema zgornje režnje, ob destruktiji in zgostitvah.

M. xenopi je podobna kot *M. kansasii*. Kaverne in fibroza v zgornjih režnjih. BE so bile pri eni seriji bolnikov prisotne, pri drugi pa ne.

M. abscessus daje prav tako neznačilno sliko.

M. malmoense: velike votline (>6 cm) s plinsko-tekočinskim nivojem. Pogosto zraven tudi nekrotizirajoča aspergiloza – možnost dveh hkratnih »low-grade« infekcij.

M. chelonae: podobno kot MAC – BE in noduli, vendar pogosto kavitira.

M. chelonae in *M. fortuitum* sta pogostejši pri mlajših bolnikih. Sta tudi pogosta povzročitelja pri bolnikih s CF.

M. gordonae ima neznačilno sliko (običajno nepatogen kolonizator).

Pri bolnikih z AIDS ne zajamejo samo pljuč, ampak tudi črevesje, jetra, bezgavke in kostni mozeg.

ZDRAVLJENJE IN SPREMLJANJE BOLNIKOV Z NETUBERKULOZNIMI MIKOBakterIJAMI

Damijan Eržen, Manca Žolnir-Dovč

Bolnišnica Golnik - KOPA

Zanimanje za netuberkulozne mikobakterije postaja vse večje. Najprej je bilo temu vzrok zbolevanje oseb okuženih z virusom HIV, v zadnjih letih pa narašča tudi pri ostalih ljudeh. Pojavljajo se nove klinične manifestacije, ki jih povzročajo netuberkulozne mikobakterije. Bistven prispevek pri povečevanju pomena pa predstavlja napredek v mikobakteriološkem laboratoriju, kjer je vse več izolatov mikobakterij in je možna vse hitrejša in zanesljivejša identifikacija iz kliničnih vzorcev.

Danes velja, da je za postavitve diagnoze pomembne bolezni potrebno, da so izpolnjeni klinični, radiološki in mikrobiološki kriteriji. Minimalna obravnava mora vsebovati radiogram prsnega koša ali če ni kavitacij tudi HRCT. Odvzetih mora biti tri ali več izmečkov za dokaz prisotnosti ARB v razmazih in izključene morajo biti druge bolezni, ki pridejo v poštev.

Za klinično diagnozo je pri simptomatskem bolniku potreben dokaz nodularnih zgostitev ali kavitet na radiogramu prsnih organov oziroma bronhiektazij s številnimi malimi noduli na HRCT. Potrebno je izključiti druge bolezni, kot je tuberkuloza.

Za mikrobiološko diagnozo je potrebna pozitivna kultura vsaj iz dveh razmazov izmečka ali vsaj ena iz izpirka bronha ali lavata. Zadostuje tudi pozitivna biopsija pljuč s skladno histološko sliko ali z dokazom ARB in pozitivna kultura izmečka ali izpirka.

V primerih izolacije redkih mikobakterij ali enkratnih izolacijah, ki lahko predstavljajo kontaminacijo, je potrebna konzultacija s strokovnjaki. Bolnike s sumom, ki še ne izpolnjujejo diagnostičnih kriterijev, je potrebno spremljati. Postavitve diagnoze ne pomeni nujno tudi začetka zdravljenja. Odločitev za zdravljenje mora temeljiti na oceni vsega tveganja za pojav nezaželenih škodljivih učinkov zdravil in koristi za bolnika.

Zdravljenje je dolgotrajno in potrebno je sodelovanje bolnika in dolgotrajno spremljanje. Hospitalna obravnava je potrebna v diagnostičnem postopku, ob uvajanju zdravljenja in ob pojavu toksičnih učinkov zdravil. Ambulantno bolnika redno spremljamo laboratorijsko, potrebni so redni odvzemi izmečka in dokumentiranje negativizacije v kulturi, kontrolni radiogrami in HRCT. Običajno so kontrole na 6-8 tednov. Pogosti so recidivi bolezni.

Sponzorji

12. rednega letnega posveta o obravnavi in spremljanju bolnikov s tuberkulozo (TB) v Sloveniji,

petek 23.03.2007 ob 10.15 uri v srednji predavalnici MF Ljubljana, Korytkova ulica 2.

Astra Zeneca
Sanofi Aventis

Glaxo SmithKline
Medias International
Mediline