

DUÁLNÍ HERPETICKÁ INFEKCE PO TRANSPLANTACI LEDVINY

MUDr. Miroslav Förstl¹, prof. MUDr. Jiří Horáček, CSc.¹, MUDr. Zbyněk Veselský²,
MUDr. Petr Macek², MUDr. Josef Štefánek³, MUDr. Petr Fixa, CSc.³, MUDr. Markéta Tomšová⁴,
prof. MUDr. Josef Špaček, DrSc.⁴, doc. MUDr. Ivo Dřížhal, CSc.⁵, doc. MUDr. Radovan Slezák, CSc.⁵

¹Ústav klinické mikrobiologie a NRL pro CMV FN a LFUK Hradec Králové

²Urologická klinika FN a LFUK Hradec Králové, ³I. interní klinika FN a LFUK Hradec Králové

⁴Fingerlandův ústav patologie FN a LFUK Hradec Králové

⁵Stomatologická klinika FN a LFUK Hradec Králové

V kazuistice pacienta po transplantaci kadaverózní ledviny je popsána diagnostika herpetické stomatitidy a esofagitidy způsobená reaktivovaným herpes simplex virem typ 2 (HSV 2) spojená s reaktivací lidského cytomegaloviru (CMV) a následná léčba.

Úvod

Z virových agens, schopných vyvolat onemocnění dutiny ústní, se nejčastěji setkáme s projevy infekce virem herpes simplex typu 1 a 2 (HSV 1 a 2). Méně často jde o klinickou manifestaci infekce virem varicella-zoster (VZV), virem Epstein a Barrové (EBV), lidského cytomegaloviru (CMV) nebo některých dalších (enteroviry, papillomaviry a poxviry). Pro hrozbu své generalizace představují zejména herpetické infekce vážný problém u skupin imunosuprimovaných pacientů. Jednu takovou kazuistiku předkládáme (2, 4).

Průběh onemocnění

Jedenačtyřicetiletý muž po transplantaci kadaverózní ledviny (TL). Do čekacího listu pro TL zařazen pro chronickou renální insuficienci, pravidelná hemodialyzační léčba trvala dva roky. V anamnéze opakované záněty středouší, žaludeční vřed, hyperlipoproteinémie a těžká bronchitida, kuřák a alergik.

Bezprostředně po transplantaci nastala afunkce štěpu způsobená dle biopsie těžkou akutní celulární rejekcí v kombinaci s akutní tubulární nekrózou (ATN). Po antirejekční léčbě bolusovými dávkami kortikoidů (tj. v základní p. o. terapii cyklosporin A v dávce 1,5 mg/kg/den, prednison 10 mg/den a azathioprin 50 mg/den nahrazen prednison antirejekční pulzní terapií methylprednisolone ve schématu první tři dny po 500 mg/den, další tři dny po 250 mg /den a další čtyři dny po 125 mg/den i. v. v pomalých infuzích) nástup funkce desátý den po operaci. Rebiopsií byly ověřeny známky odeznívající ATN a toxicity cyklosporinu A. Pacient zůstává i nadále hospitalizován, má leukopenii.

Třicátý sedmý den po TL se u nemocného objevily náhle eroze a bělavé povlaky na jazyku a sliznici dutiny ústní spojené s hypersalivací. Regionální mízní uzliny nehmátelné. Subjektivně ztížený až bolestivý příjem potravy i tekutin. Pacient přeložen na Nefrologické oddělení I. interní kliniky FNHK ke kompletní parenterální výživě a léčbě. Při přijetí provedeno pro v. s. ezofagitidu a gastritidu diagnostické endoskopické vyšetření spojené s biopsií sliznice duodena, antra a ezofagu. Vyžádáno stomatologické konzilium. Stěry z defektů ústní sliznice odeslány na mikrobiologické vyšetření (stěr pro izolaci virů v Parkerově odběrovém

a transportním médiu a stěr suchým sterilním odběrovým tamponem pro vyšetření pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR), stěr pro kultivaci bakterií v Amiesově transportní půdě). Odebrána srážlivá (sérové protilátky antiHSV a antiCMV) a nesrážlivá krev (PCR CMV z leukocytů, nestedPCR CMV a HSV z plazmy).

1. Stomatologické konzilium

Stomatitis herpetica (obrázek 1 a 2). Doporučeny výplachy dutiny ústní 0,25 % vodným roztokem $ZnSO_4$ 8–10 × denně a vzhledem k imunosupresi pacienta i celková antivirová terapie aciklovirem.

Obrázek 1. Herpetická stomatitida – bukalní sliznice s herpetickými erozemi



Obrázek 2. Herpetická glositida – rozsáhlé postižení hřbetu jazyka



2. Histopatologické vyšetření biopsií

Duodenální a antrální sliznice s minimálními až zcela spornými chronickými zánětlivými změnami. Epitel jicnu většinou zcela normální s několika skupinami buněk s intranukleárními inkluzemi herpetického typu (obrázek 3b). Cytologické vyšetření potvrzuje nález jicnové biopsie, je patrné velké množství vícejaderných buněk s typickým utvářením jader (obrázek 3a) charakteristickým pro napadení herpetickými viry, které byly v bioptickém vzorku prokázány i elektronmikroskopicky (obrázek 4). Závěr: *herpetická ezofagitida*.

3. Virologické vyšetření

Ze stěrů erozí z dutiny ústní třetí den kultivace na buněčné kultuře lidských embryonálních plicních fibroblastů (LEP19) izolován HSV. Mezitím pomocí nestedPCR v těchto stěrech detekována přítomnost nukleové kyseliny HSV typ 2 (metoda multiplex nestedPCR HSV 1+2: pro HSV 1 jsou primery vybrány z oblasti genu UL – 42 a pro HSV 2 primery z oblasti genu US – 4) a zároveň i přítomnost nukleové kyseliny CMV (pro průkaz CMV DNA metodou nestedPCR jsou primery vybrány z oblasti IE genu). PCR HSV z krve negativní a PCR CMV (primery z oblasti genu pp65 a IE 247 – obrázek 5) v leukocytech a následně i nestedPCR CMV z plazmy pozitivní.

Ve vyšetřovaném séru protilátky antiHSV1, 2 IgG pozitivní a antiHSV1, 2 IgM negativní. Pacient antiCMV IgG pozitivní dle záznamů a antiCMV IgM negativní.

Pro diagnostiku CMV infekce v tomto případě nebylo využito western-blotu pro detekci protilátek antiCMV IgM nebo IgG ani nové metody RFLP průkazu mutací v nukleové kyselině CMV (v UL97 genu v kodonech 460, 520, 591, 592, 594, 595 (2x), 599, 603 a 607) odpovědných za rezistenci CMV ke gancikloviru. Imunofluorescenční (IF) vyšetření abrazí z ložisek pomocí monoklonálních proti-

Obrázek 3.



látek neprovádíme, od vyšetřování antigenu pp65 již bylo upuštěno – naděje vkládané do této metody se nejen nám ukázaly v praxi jako liché (1, 2).

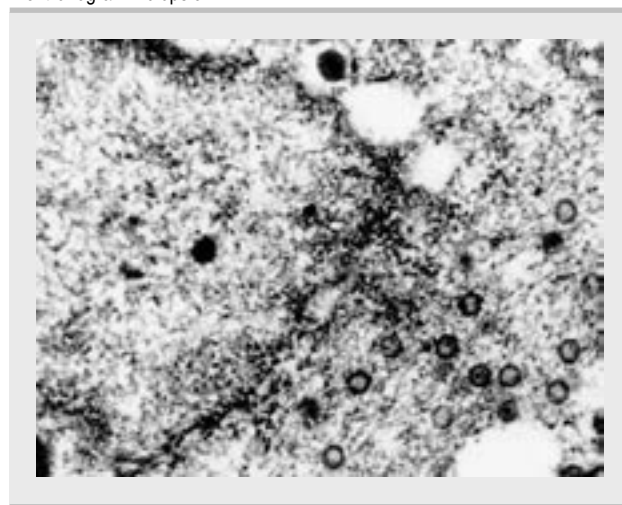
	HSV 1,2	CMV
Kultivace stěru na TK LEP19	+	–
IgG v séru	+	+
IgM v séru	–	–
nestedPCR ze stěru	+ (HSV 2)	+
PCR z leukocytů		+
nestedPCR z plazmy	–	+

Kontrolní vyšetření 53. den po TL: antiCMV IgM pozitivní, antiHSV IgM negativní.

4. Bakteriologické a mykologické vyšetření

V materiálu z dutiny ústní mikroskopicky četné gramnegativní tyče. Kultivaci stěrů na krevním agaru, MacConkeyho a Sabouraudově půdě izolován *Citrobacter* rezistentní na ampicilin, aminopeniciliny + inhibitor β -laktamáz, cefazolin, cotrimoxazol, tetracyklin, gentamycin.

Obrázek 4. Herpetické viry (inkompletní virové partikule, neobalené kapsidy). Elektronogram z biopsie



Obrázek 5. Pozitivní nestedPCR CMV ze stěru (2x vzorek č. 3)



cin, netilmycin, piperacilin, cefuroxim i cefotaxim a citlivý na ciprofloxacin.

Dle výsledků vyšetření diagnostikována herpetická stomatitida s ezofagitidou spojená s reaktivací CMV. Vedle základní terapie a parenterální výživy byly indikovány výplachy úst roztokem s antivirovým účinkem v kombinaci s celkovou terapií aciklovirem (ACV) v dávce 750 mg i.v. pomalou infuzí dvakrát denně po dobu 10 dní. Antibiotická clona nebyla použita. Po úpravě lokálního nálezu v dutině ústní byl pacient při současném zlepšení ledvinných funkcí propuštěn 50. den po TL v uspokojivém stavu do domácí péče.

Diskuze

Pro diagnózu herpetické stomatitidy a ezofagitidy vyvolané reaktivovaným HSV 2 svědčil klinický obraz v dutině ústní spolu s histopatologickým nálezem v jícnové biopsii. S pouhou přítomností HSV a CMV v dutině ústní se totiž i bez klinických projevů setkáváme dle vlastních pozorování u jedinců se sníženou imunitní odpovědí poměrně často. Hladina sérových protilátek antiHSV IgM není spolehlivým markerem reaktivity HSV s lokální manifestací a navíc je nutné u těchto pacientů přihlídnout k možnosti snížené schopnosti tvorby protilátek. Diagnózu potvrdil rychlý ústup obtíží po terapii aciklovirem. Celková antivirová terapie okamžitě po zjištění herpetické stomatitidy byla vzhledem k imunokompromitovanému stavu pacienta po transplantaci a antirejekční léčbě zcela na místě (u pacienta s renální insuficiencí je ovšem vždy nutné správně upravit dávkování ACV).

Herpetickou stomatitidu provázela následná (současná?) reaktivace CMV (pozitivní záchyt genomu CMV v plazmě a následný vzestup antiCMV IgM). Pro možnost systémové manifestace CMV byla připravena terapie gan-

ciklovirem (GCV). Ke klinickému projevu CMV infekce však nedošlo, a tak se podařilo pacientovu transplantovanou ledvinu ušetřit nefrotoxického působení tohoto preparátu. Důvod ústupu HSV a zároveň i CMV infekce po zahájení léčby aciklovirem je s vysokou pravděpodobností dán právě koinfekcí obou virů v tomto popsáném případě. ACV je fosforylovaný v HSV napadené buňce HSV-thymidinkinázou a následně dalšími buněčnými kinázami na ACV-trifosfát (vlastní aktivní forma ACV). A právě až ACV-trifosfát je nejen vysoce účinným inhibitorem DNA syntézy samotného HSV, ale také obligátním terminátorem DNA řetězce CMV s 5–10× vyšší potencí než GCV-trifosfát (aktivní forma GCV), který není schopen tak kompletního bloku DNA syntézy. Účinnost ACV vůči CMV může být tedy dána jen aktivací ACV HSV a nikoli vlastní klinickou účinností ACV vůči monoinfekci CMV. Nadále platí, že ACV je na samostatně probíhající infekci CMV prakticky neúčinný (CMV neobsahuje gen pro tvorbu HSV-thymidinkinázy) (5).

Závěr

Reaktivace herpetických virů představují i při současných možnostech antivirové terapie nadále značné riziko pro imunosuprimované pacienty. Použité metody a jejich výsledky opět potvrdily, že se dnes lze u těchto nemocných spolehnout jen na komplexní multioborovou diagnostiku.

Zpracování textu proběhlo v rámci Výzkumného záměru: MŠMT CEZ: J13/98: 111500001 (Závažná orgánová selhání, experimentální a klinické aspekty, možnosti prevence a terapeutického ovlivnění). Kazuistika byla zároveň prezentována dr. Štefánkem jako poster v rámci Českého nefrologického kongresu v Liberci.

Literatura

1. Boeckh M, Gooley TA, Myerson D, et al. Cytomegalovirus pp65 antigenemia – guided early treatment with ganciclovir versus ganciclovir at engraftment after allogeneic marrow transplantation: a randomized double-blind study. *Blood* 1996; 88, 4063–4071.
2. Mahy BWJ, Collier L. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Volume 1, Virology, Ninth edition. Arnold, London 1998.
3. Mayer J, Dvořáková D, Krahulová M, Vorlíček J, Adler J. Diagnostika cytomegalovirové infekce pomocí polymerázové řetězové reakce a antigenémie u nemocných po alogenní transplantaci periferních kmenových buněk – srovnání 318 párových vzorků. *Časopis lékařů českých* 1999; 14: 436–440.

4. Slezák R, Dřížhal I, Horáček J, Kopecký O. Infekční choroby ústní sliznice. GRADA, Avicenum 1997.
5. Talarico CL, Burnette TC, Miller WH, Smith SL, Davis MG, Stanat SC, Ng TI, He Z, Coen DM, Roizman B, Biron KK. Acyclovir Is Phosphorylated by the Human Cytomegalovirus UL97 Protein. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. August 1999; 8: 1941–1946.
<http://aac.asm.org/cgi/content/full/43/8/1941?view=full&pmid=10428917>