

KAZUISTIKA OROGLANDULÁRNÍ FORMY TULARÉMIE S PŘEKVAPIVÝM KULTIVAČNÍM ZÁCHYTEM NOKARDIÍ VE ZKOLIKVOVANÉ UZLINĚ

MUDr. Iva Vágnerová¹, MUDr. Elena Mikušková², MUDr. Mgr. Ivana Kohnová¹,
doc. MUDr. Dagmar Koukalová¹, CSc.

¹Ústav mikrobiologie LF UP a FN, Olomouc, ²Dětská klinika LF UP a FN, Olomouc

Práce popisuje kazuistiku oroglandulární formy tularémie se současným zachytem *Nocardia sp.* v punktátu z uzliny. Shrnuje klinický průběh, problémy se stanovením etiologického agens (sérologický průkaz tularémie a kultivační zachyt nokardií). Zmiňuje terapii kombinací doxycyklinu se streptomycinem a následně cotrimoxazolem. Diskutuje otázku vzniku onemocnění a zvažuje současnou či sekundární infekci nokardiemi.

Úvod

Tularémie je významná přírodně ohnisková nákaza, jejíž původce *Francisella tularensis* se vyskytuje zejména mezi hlodavci, ale také u klíšťat a jiného krev sajícího hmyzu. Z těchto rezervoárů je přenosná na člověka, ale i na jiná divoká a domácí zvířata, která pak mohou být dalším zdrojem lidské infekce. K onemocnění dochází většinou přímým kontaktem s nemocným zvířetem nebo nepřímo vodou a potravinami kontaminovanými výkaly či uhynulými zvířaty, inhalačně, případně transmisivně ekto-parazity.

Klinický obraz tularémie může být pestrý – podle místa vstupu francisel do organismu. Onemocnění se nejčastěji manifestuje jako ulceroglandulární forma s typickou ulcerativní lézí v místě průniku kůží a se zvětšením regionálních lymfatických uzlin. Při okuloglandulární formě nákaza prochází konjunktivou, ingesce kontaminované vody či potravin způsobuje oroglandulární (anginózní) nebo abdominální (tyfoidní) formu s možnými ulcerativními změnami a krvácením v gastrointestinálním traktu. Vzácná plicní manifestace je způsobena inhalační francisellou. Výjimečně dochází ke generalizované či septické formě onemocnění, meningitidě a endokarditidě (6, 7, 8, 9, 16, 17).

Stanovení diagnózy tularémie bývá často problematické, neboť se na tuto infekci poměrně málo myslí. Franciselly jsou navíc obtížně kultivovatelné, vyžadují pro svůj růst obohacené půdy a práce s nimi je nebezpečná. K potvrzení diagnózy se proto většinou používají sérologické metody, zejména aglutinační a imunoenzymatické. Problémem je však pozdní detekce protilátke, většinou až za několik týdnů po začátku onemocnění, proto je nutno vyšetření opakovat (3, 7, 8, 17).

V terapii se osvědčuje kombinace doxycyklinu s aminoglykosidy – streptomycinem nebo gentamicinem. V poslední době se zkoušejí

i novější preparáty – fluorochinolon ciprofloxacín a z makrolidů azitromycin (2, 5, 7, 8, 17).

Nokardióza je vzácné lidské onemocnění, způsobené u nás převážně druhem *Nocardia asteroides*. Zdrojem nákazy jsou rostlinné zbytky a půda, kde nokardie žijí saprofytycky. K infekci dochází drobným poraněním kůže nebo sliznic, vzdušnou nebo vzácněji i alimentární cestou. Ke vzniku onemocnění je potřebné alespoň přechodné snížení obranyschopnosti. Nokardióza se manifestuje nejčastěji jako plicní forma po inhalaci prachu obsahujícího nokardie, kdy se může vyskytnout ojedinělé ložisko nebo dojít k miliárnímu rozsevu. Poměrně často hematogenně vznikají komplikující abscesy v mozku, případně v ledvinách. Po vniknutí nokardií poraněnou kůží se objeví lokalizované podkožní ložisko.

Diagnostika je založena na přímém průkazu nokardií v biologickém materiálu, neboť jako nenáročná bakterie rostou velmi dobře na krevním agaru i Czapek-Doxově půdě.

V terapii se osvědčují sulfonamidy, případně kombinace aminoglykosidů s betalaktamovými preparáty, v poslední době byly použity i fluorochinolony. Při vzniku abscesů je často nezbytné chirurgické řešení (1, 2, 4, 10, 11, 12, 13, 14).

Vlastní kazuistika

Patnáctiletý chlapec, student střední zemědělské školy, prodělal ve 3 měsících zápal plic, později varicelu, ve 3 letech adenotomii, dále sledován kardiologem pro srdeční šelest bez prokázané srdeční vady.

Asi 7–10 dnů před první hospitalizací, po účasti na bramborové brigádě v předchorobí, se objevila rýma, teplota až 40 °C. Zpočátku byl léčen symptomaticky antipyretiky, pro nelepšení stavu nasazen po 3 dnech Ospen. Přes tuto terapii horečky trvaly dál a dostavily se přechodně i bolesti břicha se zvracením. Bylo vysloveno podezření na infekční mononukleózu a chlapec byl odeslán k hospitalizaci.

1. hospitalizace – Dětské oddělení Nemocnice Bruntál

Při přijetí teplota 39 °C, sytý rudý farynx, povleklý jazyk, prosáklé, hypertrofické tonzily s čepy bilaterálně a peritonilární reakcí, oboustranně zvětšené submandibulární uzliny, bolestivé, nefluktuující, vlevo průměru 3 cm, vpravo až 5 cm. Byla zahájena 8denní terapie Zinnatem, po kterém teploty postupně klesly, nálezy v krku se upravily, ale přetrvávaly zvětšené submandibulární uzliny, přechodně mírně zmenšené, později opět narůstající, vpravo až do velikosti 7 cm. Infekční mononukleóza byla sérologicky vyloučena. Byla doporučena sternální punkce a excize uzliny, proto byl pacient předán k vyloučení onkohematologického onemocnění na Dětskou kliniku FN Olomouc.

Laboratorní a pomocná vyšetření (při opakovaných výsledcích uvedeny vstupní a výstupní hodnoty): FW 70/80, CRP 82...33 mg/l, KO: erytrocyty $4,92 \times 10^{12}/l$, leukocyty $14,4 \times 10^9/l$, s převahou neutrofilů, ostatní hodnoty v normě. Hodnoceno jako reaktivní změny v bílé řadě při suspektním bakteriálním infektu, bez nezralých buněk.

ALT 3,67...2,14 µkat, AST 2,1...0,64 µkat, bilirubin 9 µmol/l, ELFO bílkovin: výrazná mobilizace bílkovin akutní fáze.

Sérologie: negativní – VZV, CMV, EBV, HAV, HCV, HBsAg, ASLO; další sérologická vyšetření, jejichž výsledek nebyl v průběhu hospitalizace k dispozici: bartonelóza, leptospiróza, toxoplazmóza, tularémie, HIV.

Kultivační vyšetření krku: fyziologická mikroflóra, nosu: *Staphylococcus aureus*.

RTG plic a srdce: bez patologie.

2. hospitalizace – Dětská klinika FN Olomouc

Dítě hospitalizováno k objasnění lymfadenopatie. Při přijetí mělo nastříklé hrdlo, zvětšené a prosáklejší tonzily, vpravo s čepem, zvětšené

submandibulární uzliny, vpravo paket měkkých, nebolestivých uzlin $10 \times 3\text{--}4\text{ cm}$, vlevo $2 \times 1\text{ cm}$. Byla zahájena terapie Augmentinem a současně provedena punkce, později i incize uzlin oboustranně, s odsátím hnisu a drenáží. Vyšetřena byla také kostní dřev, sonograficky uzliny i břicho s vyloučením onkohematologické diagnózy. V průběhu hospitalizace byl dodatečně sdělen z Dětského oddělení Nemocnice Bruntál pozitivní výsledek antitularémických protilátek (titr 640) a dítě bylo (v celkově dobrém stavu, afebrilní) přeloženo k doléčení na Klinikou dětských infekčních nemocí FN Brno.

Laboratorní a pomocná vyšetření: CRP 35 mg/l , KO: erytrocyty $4,93 \times 10^{12}/\text{l}$, leukocyty $13,9\text{--}15,6 \times 10^9/\text{l}$.

ALT $1,68\text{ }\mu\text{kat/l}$, AST $0,85\text{ }\mu\text{kat/l}$.

Sternální punkce: pouze reaktivní změny.

UZ krčních uzlin: bilaterálně suspektní pakety uzlin s kolikvací, nález svědčící spíše pro benigní zánětlivou etiologii.

UZ břicha: bez patologického nálezu, neprokázáno zvětšení lymfatických uzlin.

Kultivace hnisu uzlin: 1. vzorek byl kultivačně negativní, ale v mikroskopii prokázány gram-pozitivní tyčinky, ve 2. vzorku identifikována *Nocardia sp.*, mikroskopicky se jednalo o gram-pozitivní tyčinky až větvičky se vláknem. Tento kmen byl později potvrzen v NRL pro aktinomykety SZÚ jako *Nocardia sp.* bez druhového určení. V hnisu nebyla prokázána mykobakteria.

3. hospitalizace – Klinika dětských infekčních nemocí FN Brno

Dítě bylo přijato v celkově dobrém stavu k terapii oroglandulární formy tularémie, při přijetí paket uzlin submandibulárně vpravo o průměru 6 cm , vlevo 4 cm . Bylo přeléčeno 14 dnů Streptomycinem a 3 týdny Deoxymykoinem. Po dodatečné informaci o pozitivním záchytu nokardií z hnisu uzlin na Ústavu mikrobiologie LF a FN Olomouc byla léčba doplněna 2týdenní aplikací Biseptolu. V průběhu hospitalizace došlo jen k velmi pomalému zmenšování uzlin a pacient byl propuštěn do domácí péče s jaterní dietou a dobíhající terapií Deoxymykoinem a Biseptoem.

Laboratorní a pomocná vyšetření: FW 90/121...45/83, CRP $7,4$, KO: erytrocyty $4,62 \times 10^{12}/\text{l}$, leukocyty $14,7 \times 10^9/\text{l}$. ALT $4,4\text{--}2,0$, AST $1,4\text{--}0,77$, bilirubin $10,8\text{ }\mu\text{mol/l}$.

UZ krku: zánětlivě změněné uzliny submandibulárně vpravo o průměru 6 cm se susp. kolikvací, vlevo 4 cm , při kontrolním vyšetření jen lehká regrese jejich velikosti.

Diskuze

Tularémie se vyskytuje v naší zemi většinou sporadicky, s výjimkou endemických ložisek na jižní Moravě. Stanovení diagnózy bývá někdy problematické, neboť s výjimkou nápadnější ulceroglandulární formy zůstává toto onemocnění

často mimo diferenciálně diagnostické rozvahy. K tomu přispívá i skutečnost, že francisely jsou pouze obtížně kultivatelné a tvorba protilátek je pomalá. Začínají se tvořit za 8–10 dnů po začátku onemocnění a detekovatelných hladin dosahují většinou až za 4–5 týdnů. Je proto třeba zdůraznit nutnost opakovaného sérologického vyšetření (3, 6, 7, 8, 9, 15, 16, 17).

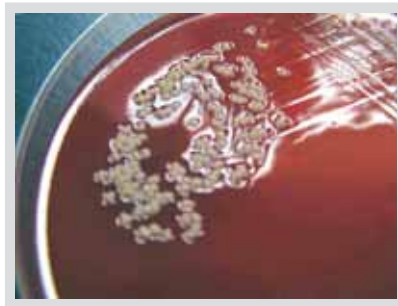
V terapii se nejlépe osvědčuje, i podle našich vlastních zkušeností, kombinace preparátů doxycyklinu s aminoglykosidy (streptomycinem nebo gentamicinem). Jejich podání v monoterapii nebo v kombinaci s jinými preparáty, např. aminopeniciliny s inhibitory betalaktamáz, má pouze částečný efekt. V poslední době se zkoušejí i novější antimikrobní přípravky – fluoro-ochinolon ciprofloxacin nebo z makrolidů azitromycin, avšak v naší praxi jsme je zatím nepoužili (2, 5, 7, 8, 14, 17).

Nokardióza, většinou způsobená druhem *N. asteroides*, běžně se vyskytující v půdě, je poměrně vzácné lidské onemocnění. Dochází k němu drobným poraněním kůže nebo sliznice, které se pak manifestuje vznikem lokalizovaného podkožního ložiska, tvorbou pustul, pyodermií nebo celulitidou. Po inhalaci prachu obsahujícího nokardie se může rozvinout závažná plicní forma, někdy komplikovaná sekundárními mozkovými a ledvinovými abscesy. Méně často se infekce objeví po vniknutí nokardií do organismu alimentární cestou. K rozvoji nokardiózy je většinou třeba alespoň přechodného snížení imunity, i když jsou popsány zejména kožní formy onemocnění u osob jinak zcela zdravých (1, 4, 10, 11, 12, 13).

Stanovení etiologického agens se opírá o přímý průkaz nokardií v biologickém materiálu.

Přestože jsou tyto bakterie růstově nenáročné, výsledky kultivací jsou často falešně negativní, neboť aerobní nokardie rostou poměrně pomalu, a kultivaci je proto třeba prodloužit. I v našem případě byl jejich záchyt problematický. V prvním vzorku – punktátu uzliny – byly v přímé mikroskopii nalezeny gram-pozitivní štíhlé tyčinky, avšak jeho 3denní kultivace za aerobních i 10denní za anaerobních podmínek (k vyloučení aktinomykózy) byla negativní, stejně jako materiál odebraný současně do speciálních lahviček pro hemokultury. Druhý vzorek – hnis z incize uzliny – byl rovněž kultivačně negativní, ale tentýž materiál inokulovaný do lahviček pro hemokultury signalizoval po dvou dnech růst za aerobních podmínek. Mikroskopie potvrdila nález gram-pozitivních větviček se tyčinkou. Po vyočkování materiálu byla po čtyřdenní kultivaci detekována tvorba suspektních kolonií, které po přeočkování a prodloužené kultivaci na krevním (obrázek 1) a Czapek-Doxově agaru (obrázek 2) jeví charakteristický vzhled – byly nažloutlé a vrostlé, po delší době pokryté bělavým popraškem, charakteristické zemité vůně a s typickou mikroskopickou morfologií (obrázek 3).

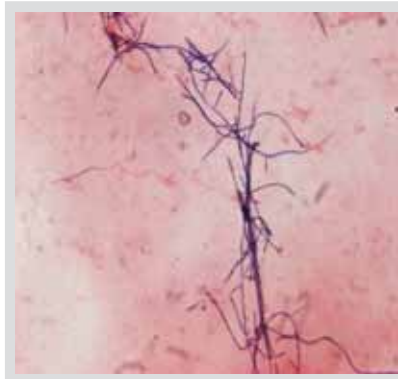
Obrázek 1. Růst nokardií na krevním agaru



Obrázek 2. Růst nokardií na Czapek-Doxově agaru



Obrázek 3. Nokardie barvené dle Grama



V terapii nokardiózy se používají sulfonamidy, zejména preparát cotrimoxazol. Podle literárních údajů se také osvědčuje aminoglykosid amikacin v kombinaci s betalaktamovými preparáty – aminopenicilinem s inhibitory betalaktamáz, cefalosporiny 3. generace, případně karbapenemy, nověji byly vyzkoušeny i fluoro-ochinolony. U závažných forem a imunokompromitovaných pacientů je nutno terapii vždy prodloužit až na několik měsíců. Existují však i sdělení, která uvádějí úspěšnou krátkodobou léčbu imunokompetentních jedinců s kožní manifestací nokardiózy pomocí sulfonamidů nebo dokonce i spontánní zhojení bez antibioterapie (1, 2, 4, 10, 11, 12, 13, 14).

Projevy tularémie i nokardiózy mohou být podobné, je pro ně charakteristická tvorba granulomatózního zánětu. V literatuře nebyl nalezen údaj o podobné současně probíhající infekci, je však zmíněna sekundární nokardiiová infekce preformovaných tuberkulózních kaveren (11, 13). Otázkou v této kazuistice zůstává neobjasněný zdroj a cesta přenosu nákazy. Jako velmi prav-

děpodobná se její účast na bramborové brigádě, kdy zdrojem oroglandulární formy infekce mohlo být vdechnutí prachu nebo pozření potravin kontaminovaných franciselami a nokardiemi, ať už současně nebo následně. Jako nereálná se její sekundární kontaminace zkolikvovaných uzlin nokardiemi, nedošlo totiž k jejich úplnému provalení navenek. Případně zanesení infekce do uzlin při jejich biopsii je zcela jistě vyloučené, neboť se provádí za přísně aseptických podmínek, a navíc již první vzorek z biopsie ukazoval v přímé mikroskopii grampozitivní tyčinky.

Závěr

Na základě popsané kazuistiky lze konstatovat, že je i nadále nutno počítat se sporadickým výskytem tularémie, zejména u pacientů s nejasným uzlinovým syndromem. Po vyloučení hematologického onemocnění je nezbytné provést kompletní mikrobiologickou diagnostiku, založenou nejen na detekci protilátek, ale současně doplněnou o kultivaci hnisu z postižených uzlin.

Literatura

1. Baroni MR, Norona M, Ronchi S, et al. Necrotizing lymphadenitis caused by *Nocardia asteroides* in healthy girl. *Rev Argent Microbiol* 2004; 36(2): 75–77.
2. Bartlett JG. Pocket book of infectious diseases therapy. Baltimore: Williams and Wilkins, 1997.
3. Bártová V, Žampach P. Některé imunitní parametry u tularémie. *Klin Mikrobiol Inf Lék* 2000; 6: 66–72.
4. Bednář M, Kozák K, Kubín M, et al. Rod *Nocardia*. In: Bednář M, et al. Lékařská mikrobiologie. Praha: Marvil 1996: 316–318.
5. Beneš J. Léčba tularémie v závislosti na formě a stádiu nemoci. *Klin Mikrobiol Inf Lék* 2000; 6: 79–83.
6. Černý Z. Tularémie na jižní Moravě opět aktivnější. *Klin Mikrobiol Inf Lék* 2000; 6: 66–72.
7. John C, Souček A, Schindler J. *Francisella tularensis*. In: Bednář M, et al. Lékařská mikrobiologie. Praha: Marvil 1996: 255–256.
8. Kouba K. Tularémie. In: Havlík J, et al. Příručka infekčních a parazitárních nemocí. Praha: Avicenum 1985: 209–211.
9. Lobovská A, Havlíčková I, Aster V. Tularémie – stále aktuální zoonóza. *Klin Mikrobiol Inf Lék* 2000; 6: 73–76.
10. Manych J. Nokardióza. In: Havlík J, et al. Příručka infekčních a parazitárních nemocí. Praha: Avicenum 1985: 275.
11. Satoh S, Oishi K, Watanabe K, et al. A case report of pulmonary nocardiosis associated with bronchiectasis after pulmonary tuberculosis successfully treated with sparflaxacin. *Kansenshogaku Zasshi* 2002; 76(3): 212–215.
12. Satterwhite TK, Wallace RJ Jr. Primary cutaneous nocardiosis. *JAMA* 1979; 242(4): 333–336.
13. Shimokubo T, Ashitani J, Ihi T, et al. A case of mixed infection by *Nocardia asteroides* and *Mycobacterium tuberculosis*. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi* 2002; 40(8): 703–707.
14. Simon C, Stille W. Antibiotika v současné lékařské praxi. Praha: Grada Publishing 1998.
15. Tarnvik A, Sandstrom G, Sjosted A. Infrequent manifestation of tularemia in Sweden. *Scand J Infect Diseases* 1997; 29: 443–446.
16. Tremi F, Hubálek Z, Halouzka J, et al. Analýza výskytu tularémie na okrese Břeclav v letech 1994–1999. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2001; 50: 4–9.
17. Typovská H, Vágnerová I, Kleinerová J, et al. Výskyt tularémie na Olomoucku. *Klin Mikrobiol Inf Lek* 2001; 7(9–10): 252–254.