

HERPES ZOSTER KOMPLIKOVANÝ SERÓZNÍ MENINGITIDOU, DIAGNOSTIKA POMOCÍ PCR, LÉČBA

MUDr. Miroslav Förstl¹, MUDr. Vlasta Štěpánová¹, prof. MUDr. Jiří Horáček, CSc.¹, PharmDr. Lenka Plíšková², MUDr. Stanislav Plíšek, Ph.D.³

¹Ústav klinické mikrobiologie

²Laboratoř molekulární biologie (sloučené pracoviště ÚKM a Ústavu klinické biochemie a diagnostiky)

³Infekční klinika Fakultní nemocnice Hradec Králové

V článku je popsána infekce virem varicella-zoster (VZV) – herpes zoster a aseptická meningitida, diagnostika provedená nově zavedenou metodou průkazu DNA VZV pomocí nested polymerázové řetězové reakce (nPCR) a následná léčba aciclovirem.

Úvod

Cílem krátkého sdělení je seznámit pomocí stručné ka- zuistiky odbornou veřejnost neurologů i praktických lékařů s novou možností rutinní diagnostiky VZV infekci pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR).

Virus varicella-zoster (VZV) je řazen do čeledi Herpesviridae, podčeledi α -herpesviridae a rodu Varicellovirus. Jeho jediným hostitelem je člověk. Primoinfekce probíhá pod obrazem planých neštovic (makula – papula – vesicula – pustula – krusta) nebo je i asymptomatická. Komplikace, jako varicellová pneumonie, meningoencefalitida, generalizace infekce, jsou u zdravých jedinců poměrně vzácné. Virus po prodělané infekci celoživotně perzistuje v lidském těle v paravertebrálních gangliích nebo v gangliích hlavových nervů. Promořenost naší dospělé populace je přibližně 90%. Při reaktivaci VZV proniká z místa své perzistence senzitivním nervem do oblasti jeho inervace a tam vyvolává herpes zoster, pásový opar. Velmi častá je jeho sekundární bakteriální infekce. Bolestivost je způsobena neuritidou, radikulitidou a zánětlivými změnami v příslušném gangliu. Pro terapii VZV infekci je běžně k dispozici specifický nukleosidový analog aciclovir, derivát acicloviru famciclovir nebo v indikovaných případech i specifický hyperimunní globulin. Očkovací látka je ve vývoji (2, 3, 5, 6, 7, 8).

Průběh onemocnění

Osmadvacetiletý muž se dostavil s jeden den trvajícím rozsáhlým pásovým oparem na levé přední ploše hrudníku na ambulanci Kožní kliniky FN. Týž den byl hospitalizován a byla zahájena léčba aciclovirem 200 mg p.o. po 4 hodinách. Čtvrtý den od začátku onemocnění se objevila bolest hlavy a nemocný byl přeložen na Infekční kliniku FN. Při příjmu byl pacient plně orientován, afebrilní, s rozsáhlým výsevem herpes zoster na kůži přední plochy hrudníku vlevo. Ze subjektivních obtíží dominovala cefalea. Byla zjištěna jednoznačná opozice šíje, neurologický náález byl bez ložiskových změn. Byla provedena elektroencefalografie (EEG). Lumbální punkcí získaný likvor typický pro serózní meningitidu byl odeslán k biochemickému a mikrobiologickému vyšetření.

Dle kožního nálezu byl diagnostikován jednoznačně herpes zoster komplikovaný v. s. serózní VZV meningitidou. Byl podán aciclovir i. v. v dávce 750 mg 3× denně při váze pacienta 70 kg. Diagnóza etiologie meningitidy byla

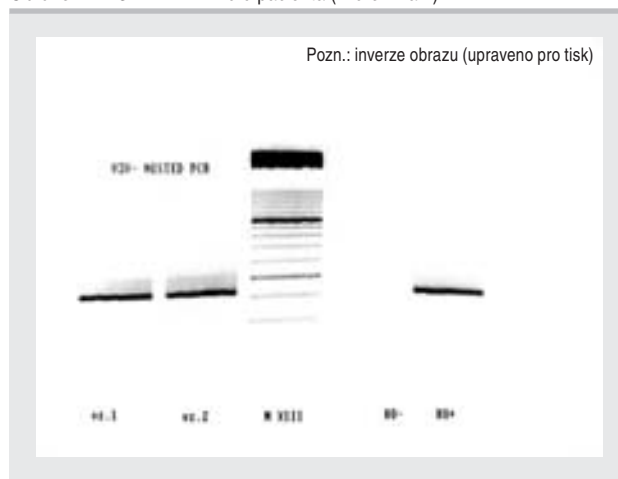
potvrzena druhý den nálezem genomu VZV v likvoru. Během 15denní hospitalizace na Infekční klinice se stav nemocného upravil a byl v dobrém stavu propuštěn do domácí péče.

Materiál a metody

Pro vyšetření přítomnosti genomu herpes simplex viru typ 1 a 2 (HSV 1, 2, HHV 1, 2), varicella-zoster viru (VZV, HHV 3) a lidského cytomegaloviru (CMV, HHV 4) byl do laboratoře molekulární biologie doručen pacientův likvor. Pro všechny průkazy genomu v likvoru používáme nested PCR s citlivostí 100–1 000 genomu/ml. Izolovaná DNA byla pro průkaz HSV 1 + 2 metodou PCR amplifikována pro HSV 1 s primery z oblasti genu UL – 42 a pro HSV 2 s primery z oblasti genu US – 4 metodou multiplex nPCR. Produkty o velikosti 159 bp (HSV1) a 225 bp (HSV2) byly detegovány elektroforeticky na 3% agarozovém gelu barveném ethidium bromidem. Pro průkaz CMV DNA metodou nPCR byly primery vybrány z oblasti IE genu, produkt o velikosti 146 bp byl detegován rovněž elektroforeticky na 3% agarozovém gelu. Pro průkaz VZV byla v nově zavedené metodě nPCR izolovaná DNA amplifikovaná s primery hybridizujícími v oblasti genu 29 a vzniklý PCR produkt dlouhý 200 bp detegován na 2% agarozovém gelu barveném ethidium bromidem (obrázek 1) (3).

Likvor byl dále doručen k rozboru do biochemické laboratoře, do bakteriologické laboratoře pro standardní kul-

Obrázek 1. PCR VZV z likvoru pacienta (vzorek 1 a 2)



Tabulka 1

nPCR HSV 1,2 DNA	negativní
nPCR VZV DNA	pozitivní
nPCR EBV DNA	negativní
nPCR CMV DNA	negativní

tivační vyšetření přítomnosti bakterií v likvoru a do laboratoře virologické pro pokus o izolaci živých virů na tkáňové kultuře (LEP19, lidské embryonální fibroblasty). Vyšetření PCR pro detekci genomu bakterií v likvoru ani vyšetření sérových hladin protilátek proti virům nebylo požadováno.

Výsledky vyšetření

Dle popisu EEG středně abnormní záznam pro ložisko hypofunkčního charakteru frontotemporálně vlevo a hyperfunkční ložisko parietálně vlevo na frekvenčně labilním pozadí.

V čírem a bezbarvém likvoru bylo 145 lymfocytů a 3 segmenty/mm³, glukóza 2,71 mmol/l, Cl 130 mmol/l, celková bílkovina 0,83 g/l, laktát 2,2 mmol/l a laktát dehydrogenáza 0,63 μ kat/l. Výsledky PCR viz. tabulka 1, kultivační vyšetření na přítomnost bakterií (po 2 dnech) a virů (po 21 dnech) bylo ukončeno jako negativní.

Diskuze

V námi popsaném případě byla využita jen část mikrobiologických diagnostických metod. Vždy je třeba samozřejmě zvážit i další vyšetření jako je určení hladin protilátek v séru proti herpetickým virům, klíšové encefalitidě, borreliím aj. Nepřímá diagnostika stanovení hladin protilátek nemusí být zvláště u lokálních infekcí vždy spolehlivá, protilátky se nemusí vytvořit vůbec nebo až s dlouhým časovým odstupem, ale přesto je stanovení příslušných IgM jako markerů akutní infekce přínosem. Zavedení metody průkazu genomu VZV polymerázovou řetězovou reakcí bylo velmi potřebné (připomínáme jen, že vedle tekutých materiálů, jako je likvor, jsou materiály z kožních lézí i jiné stěry pro průkaz patogenního agens pomocí PCR odebírány na suchý sterilní tampon, pro vyšetření krve je vhodná nesrážlivá krev). Tato přímá diagnostická metoda má především v materiálu jako je likvor vysokou vypovídající hodnotu stejně jako např. elektronmikroskopický průkaz virových partikulí herpetických virů (obrázek 2), který ale nikdy blíže neurčí druh, nebo izolace virů na tkáňových kulturách. Elektronový mikro-

Literatura

1. Coffin SE, Hodinka RL. Utility of direct immunofluorescence and virus culture for detection of varicella zoster virus in skin lesions: J Clin Microbiol 1999; 35: 2792–2795.
2. Mahy BWJ, Collier L. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Volume 1, Virology, Ninth edition 1998; Arnold, London: 331–338.
3. Rawson H, Crampin A, Noah A. Deaths from chickenpox in England and Wales 1995–1997: analysis of routine mortality data: Brit Med J 2001; 323: 1091–1093.
4. Read SJ, Kurtz JB. Laboratory diagnosis of common viral infections of the central nervous system by using a single multiplex PCR screening assay: J Clin Microbiol 1999; 37: 1352–1355.

Obrázek 2. Ilustrační elektronogram herpetického viru, Stannard L M



skop nebyl využit, izolace VZV se nemusí vždy, jako i v tomto případě, zdařit (VZV patří mezi viry obtížně kultivovatelné) a je navíc i velmi časově náročná – bylo by ji ale případně možné urychlit využitím přímé imunofluorescenční metody (1).

Proč došlo u pacienta k propuknutí VZV meningitidy i přes léčbu pásového oparu příslušným antivirotikem zůstává nezodpovězenou otázkou, příčinou byla pravděpodobně nedostatečně vysoká dávka acicloviru. Pro terapii VZV infekcí je třeba vždy užít vyšších dávek tohoto antivirotika než u léčby infekcí vyvolaných herpes simplex virem, a to p. o. až 800 mg po 4 hodinách s vynecháním noční dávky a i. v. v dávce 10 mg/kg po 8 hodinách (pozor na úpravu dávkování u pacientů s nedostatečnou funkcí ledvin).

Závěr

Na dalším konkrétním případě se nám podařilo ověřit nově zavedenou metodu stanovení DNA VZV pomocí PCR. Infekce způsobené VZV jsou při správném dávkování acicloviru dobře léčitelné a rychlá diagnostika jejich genomu (stejně jako genomu HSV, EBV, CMV, rodu Enterovirus a dalších) v likvoru i jiných materiálech je u nás nyní už běžně dostupná.

Zavedení nové metody a zpracování textu proběhlo v rámci Výzkumného záměru: MŠMT CEZ: J13/98: 111500001 (Závažná orgánová selhání, experimentální a klinické aspekty, možnosti prevence a terapeutického ovlivnění.)

5. Roubalová K. Infekce herpetickými viry u příjemců transplantátu kostní dřeně: Klinická mikrobiologie a infekční lékařství 1997; 3: 9–12.
6. Rozsypal H. Nová antivirotika: Klinická mikrobiologie a infekční lékařství 1997; 8: 203–207.
7. Staňková M. Herpetické infekce u pacientů s HIV/AIDS: Remedia – Klinická mikrobiologie 1997; 1: 4–6.
8. Zicha J. Aciclovir, klinické zkušenosti po 10 letech: Remedia 1994; 1: 40–42.