

## Laboratoř lékařské mykologie

(odd. parazitologie, mykologie a mykobakteriologie Praha, Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem),

### Průkaz aspergilového antigenu galaktomannanu (GM) metodou ELISA při diagnóze invazivní aspergilózy (IA): Stručné informace pro lékaře

- výrazně usnadňuje a urychluje diagnostiku invazivní aspergilózy (IA)
- má **vysokou senzitivitu, detekční limit je 0.5-1.0 ng/ml**
- dokáže infekci odhalit již v časné fázi, tzn. v průměru týden před objevením se prvních vážnějších klinických nebo radiologických příznaků
- průkaz je možný z **krve, z bronchoalveolární tekutiny (BAT), z moči** a také z tkáně
- **detekce GM z BAT má vyšší výtěžnost než detekce ze séra**
- **pravděpodobnost záchytu onemocnění (a zejména správné interpretace výsledků) se výrazně zvyšuje při současném vyšetření vzorku BAT kultivačně a mikroskopicky**
- metoda vhodná zejména u **imunosuprimovaných pacientů**
- u **pacientů bez deficitu imunity** s chronickou plicní aspergilózou (CNPA) či aspergilomem může být fungální nálož ve tkáni a v krvi nízký
- výsledky je vhodné hodnotit velmi obezřetně, vždy v souvislosti s klinikou a s výsledky dalších vyšetření (mikroskopie, kultivace, popř. také detekce protilátek proti aspergilům)
- **pro vyléčení IA je včasná diagnóza rozhodující**
- stanovení hladiny GM může sloužit také jako **marker zhodnocení odpovědi na léčbu antimykotiky** (při úspěšné léčbě IA dochází k poklesu hladin GM; naopak u pacientů, u kterých léčba selhává se mohou hladiny GM narůstat, nebo docházet k rekurencím po předchozím poklesu; vzestup GM IP (indexu pozitivita) o více než 1,0 po 7 dnech léčby je s více než 90% pozitivní pravděpodobností spojen se selháním terapie a měla by být zvážena její změna.

#### Diagnostická kritéria invazivní aspergilózy (IA):

- **Prokázaná IA** – nezbytný histopatologický a/nebo kultivační průkaz *Aspergillus* spp. v primárně sterilním materiálu (tkáň, mozkomíšní mok apod.).  
*Stanovení GM zde hraje úlohu při zjišťování dynamiky jeho tvorby v organismu nebo při monitorování účinnosti léčby.*
- **Pravděpodobná IA** – vyžaduje přítomnost alespoň jednoho z kritérií z každé ze tří kategorií: rizikových faktorů (pacient s imunopresí), klinických příznaků (vč. nálezu při použití zobrazovacích metod, zejména vysoce rozlišovacího CT plic – HRCT plic) a mikrobiologického nálezu (kultivační nález *Aspergillus* spp. v materiálu z dýchacích cest nebo pozitivní záchyt galaktomannanu).  
*V tomto případě by mělo být stanovení GM nedílnou součástí vyšetření. Pozitivní záchyt galaktomannanu představuje významné diagnostické kritérium.*

**[Možná IA** – u pacienta s rizikovými faktory, u kterého jsou přítomny klinické příznaky vysoce pravděpodobně zapříčiněné IA (vč. nálezu při použití zobrazovacích metod, zejména HRCT plic), ale mikrobiologický průkaz chybí).  
*Pravidelné monitorování hladin galaktomannanu je v tomto případě velmi důležité, neboť může zaznamenat přechod indexu z negativity do pozitivita, a umožnit tak časný průkaz infekce. Optimálně by se měl skrining provádět 1-2× týdně.*

**NA ZÁKLADĚ NAŠICH VLASTNÍCH ZKUŠENOSTÍ DOPORUČUJEME PRŮKAZ GM Z PŘEDPOKLÁDANÉHO MÍSTA INFEKCE (vždy pokud je to možné). NEZBYTNOSTÍ PRO SPRÁVNOU INTERPRETACI HODNOTY „IP GM“ JE MIKROSKOPICKÉ A KULTIVAČNÍ VYŠETŘENÍ.**

## Interpretace naměřených hodnot (tzv. Index positivity IP / Galaktomannan index GMI):

### ➤ Sérum

Negativní index* průkazu galaktomannanu	< 0,5
Hraniční index** průkazu galaktomannanu	0,5-0,8
Pozitivní index průkazu galaktomannanu	> 0,8

\*\*V současné době je všeobecně přijímaná hodnota cut-off 0,5, doporučená výrobcem. Z důvodu vyššího výskytu falešných pozitivit jsme zvolili hraniční hodnotu v rozmezí 0,5 – 0,8 uváděnou některými autory.

### ➤ BAT (bronchoalveolární tekutina) \*\*\*

Negativní index průkazu galaktomannanu	< 1,0
Pozitivní index průkazu galaktomannanu	≥ 1,0

\* Při rozhodování je třeba vzít do úvahy, že při negativním výsledku nelze vyloučit invazivní aspergilózu (hladina antigenu v séru může být nízká - pod mezí detekce). Nejvyšší diagnostický přínos je u neutropenických pacientů s hematologickými malignitami.

\*\*\* **V diagnostice plicních forem máme lepší zkušenosti s průkazem GM v BAT (častá negat. v séru)**

## Některé z příčin falešných pozitivit:

- Terapie penicilinovými antibiotiky piperacilin/tazobaktamem (PPT), amoxicilin/kyselina klavulanová (AMC), ampicilin (AMP)
- **Galactoxylomannan r. *Cryptococcus (C. neoformans)***
- Aplikace některých infuzních roztoků (např. Plasma-Lyte)
- Cyklofosfamid
- Zkřížená reakce s dalšími druhy vláknitých mikromycet: *Myceliophthora termophila*, *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Paecilomyces* spp., *Fusarium* spp., *Cladosporium* spp., *Acremonium* spp., *Trichophyton* spp. atd.
- Kolonizace respiračního traktu mikroskopickými vláknitými houbami
- Byly popsány u malých dětí bez klinických příznaků
- Galaktofuránosa, která je přítomna v různých potravinách, zejména v obilovinách, obilných produktech a krémových dezertech
- Kojenecké mléko, gastrointestinální mikrobiota (*Bifidobacterium bifidum*), enterální výživa (sójové proteiny)
- Kontaminace vatou (např. při dezinfekci místa odběru), zkřížená reakce s glukopyranozovými zbytky
- V případě průkazu GM z tkáně může vadit příměs krve

## Některé z příčin falešných negativit:

- Antimykotická terapie, která může ovlivňovat rychlost růstu aspergilů, snižovat mykotickou nálož a stejně tak i omezovat intenzitu angioinvasze
- Lokalizovaná forma aspergilové infekce
- Nízká frekvence odběrů
- Přítomnost protilátek proti GM
- Stav imunity (např. imunokompetence)

**Literatura:** Cetkovský P., Kouba M. et al. *Diferenciální diagnostika plicních infiltrátů a pokroky v léčbě mykotických infekcí u imunokompromitovaných pacientů*. Triton, Praha, 2009.

Dalle et al. *Cryptococcus neoformans galactoxylomannan contains an epitope(s) that is cross-reactive with Aspergillus galactomannan*. J Clin Microbiol 2005;43(6): 2929-2931.

Haber J. (2010): přednáška – *Doporučené postupy pro léčbu invazivních mykóz*. XVIII. Moravsko-slovenské mikrobiologické dny 7.-9. října 2010.

Haber J. et al.: *Léčba invazivních mykotických infekcí u imunoalterovaných nemocných – doporučení odborných společností*. Anesteziologie a intenzivní medicína 2009;1(20): 31-35.

Haber J., Mallátová N. et Kocmanová I. *Invazivní mykózy*. Pfizer. 2007.

Lisalová M. *Galaktomannan v bronchoalveolární laváži*. In: Sborník přednášek. XVIII. Moravsko-slovenské mikrobiologické dny 7.-9. října 2010.

Mallátová N.: *Mykologické vyšetření bronchoalveolární tekutiny*. Postgraduální medicína 2010; 12, příloha 5: 39-44.

Morio F. et al. *Invasive Myceliophthora termophila infection mimicking invasive aspergilosis in a neutropenic patient: a new cause of cross-reactivity with the Aspergillus galactomannan serum antigen assay*. Med Mycol 2011;49:883-886.

Park et al.: *Aspergillus galactomannan antigen assay in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis*. Journal of infection. 2010 (article in press).

PLATELIA™ ASPERGILLUS EIA, BIO-RAD – leták od výrobce.

Ráčil Z. et al.: *Využití detekce galaktomannanu pro časnou diagnostiku invazivní aspergilózy*. Klin mikrobiol inf lék 2007;13(5): 176-183.

## **KONTAKT:**

**LABORATOŘ LÉKAŘSKÉ MYKOLOGIE**, Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem, Praha

**Sokolovská 60, 182 00 Praha 8**

**RNDr. Pavlína Lysková** (tel. 222 310 578, e-mail: pavlina.lyskova@zuusti.cz)