

**Immunszupprimált betegek fertőzéseinek epidemiológiája: különös tekintettel a hematológiai betegek véráram fertőzéseire, és az autológ őssejt transzplantációt követő CMV és HHV-6 vírusfertőzés előfordulására**

*PhD értekezés tézisei*

***Dr. Piukovics Klára***

Témavezető:

Dr. Urbán Edit PhD, habil

Szegedi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ

Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet

Szeged

2016

**Immunszupprimált betegek fertőzéseinek epidemiológiája: különös tekintettel a hematológiai betegek véráram fertőzéseire, és az autológ őssejt transzplantációt követő CMV és HHV-6 vírusfertőzés előfordulására**

*PhD értekezés tézisei*

***Dr. Piukovics Klára***

Témavezető:

Dr. Urbán Edit PhD, habil

Szegedi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ

Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet

Szeged

2016

## KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA

### *Az értekezés alapjául szolgáló közlemények:*

**I. Piukovics Klára,** Terhes G, Bereczki A, Borbényi Z, Gurbity Pálfi T, Kóvári B, Urbán E. Valós idejű polimeráz láncreakció alkalmazása cytomegalovirus-fertőzés és -reaktiváció nyomon követésére malignus hematológiai betegségek kemoterápiás kezelése során és autolog őssejt-transzplantációt követően.

**ORVOSI HETILAP 157:(35)** pp. 1403-1409. (2016)

**IF: 0,291**

**II. Piukovics Klára,** Terhes G, Lazar A, Timar F, Borbenyi Z, Urbán E. Evaluation of Bloodstream Infections During Chemotherapy-Induced Febrile Neutropenia in Patients with Malignant Hematological Diseases: Single Center Experience.

**EUROPEAN JOURNAL OF MICROBIOLOGY AND IMMUNOLOGY 5:(3)** pp. 199-204. (2015)

**III. Piukovics Klára,** Borbényi Z, Rajda C, Csomor A, Deák J, Terhes G. Monitoring Human Herpesvirus-6 in Patients with Autologous Stem Cell Transplantation.

**IN VIVO 28:(6)** pp. 1113-1117. (2014)

**IF: 0,974**

**IV. Terhes G, Piukovics Klára,** Urbán E, Nagy E. Four cases of bacteraemia caused by *Fusobacterium nucleatum* in febrile, neutropenic patients.

**JOURNAL OF MEDICAL MICROBIOLOGY 60:(7)** pp. 1046-1049. (2011) **IF: 2,205**

**V. Piukovics Klára,** Terhes G, Gurbity-Pálfi T, Bereczki Á, Rárosi F, Deák J, Borbényi Z, Urbán E. Cytomegalovirus infection in patients with haematological diseases and after autologous stem cell transplantation as consolidation: a single-centre study.

**ANNALS OF HEMATOLOGY** 2016 Oct 11. [Epub ahead of print]

**IF: 3,022**

**VI. Klára Piukovics,** Viktória Bertalan, Gabriella Terhes, Ágnes Báthori, Edit Hajdú, Gyula Pokorny, László Kovács, Edit Urbán. Fatal cases of disseminated nocardiosis-challenges to physicians and clinical microbiologist-case report.

*ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA*

**IF: 0,568**

(közlésre elfogadva)

**VII.** Tóth Eszter, Hajdú Edit, **Piukovics Klára,** Borbényi Zita, Nagy Erzsébet. VÉRÁRAM fertőzést okozó baktériumok előfordulása acut leukémiás betegeknél.

*BULLETIN OF MEDICAL SCIENCES/ORVOSTUDOMÁNYI ÉRTESÍTŐ 80:* pp. 32-34. (2007)

**VIII.** Hajdú Edit, Terhes Gabriella, Bertalan Viktória, **Piukovics Klára,** Nagy Erzsébet. Fatalis kimenetelű nocardiosis immunosupprimált betegeknél.

*INFEKTOLÓGIA ÉS KLINIKAI MIKROBIOLÓGIA 15:* pp. 46-49. (2009)

## **1. BEVEZETŐ**

### **1.1. HEMATOLÓGIAI BETEGEK FERTŐZÉSES KOMPLIKÁCIÓI**

Az elmúlt 2-3 évtizedben a malignus betegségek kezelésében jelentős fejlődés tapasztalható, melynek köszönhetően mérséklődött a daganatos betegségekkel összefüggő halálozás. A hemopoetikus őssejt transzplantáció autológ formája a lymphoproliferatív betegségek egyes típusaiban, mint konszolidáció a kezelési stratégia részévé vált, allogén formája pedig az akut leukémák kezelésében jelent kuratív terápiát. Az új típusú kedvezőbb kemo-immunoterápiás hatású szerek alkalmazása ellenére a daganatellenes kezelés egyik legjelentősebb komplikációját a neutropenia képezi. A neutropenia megjelenhet mind a daganatos alapbetegség, mind pedig az antineoplasztikus kezelés következtében, mely az infekciók kialakulásában az egyik legfontosabb rizikótényező. A neutropenia és az infekciók előfordulása közötti összefüggés már az 1960-as években ismertté vált (Bodey és munkatársai). A neutropeniás betegek többségében (30-60 %-ban) megjelenik láz, fertőzéses komplikáció, 17-37 %-ukban pedig véráram fertőzés (BSI) is kifejlődik. Az infekció leggyakrabban a légző rendszert (tüdő, paranasalis sinusok) érinti (35-40%), 15-35% a centrális vénás kanülhöz (CVC) asszociált véráram fertőzés gyakorisága (CLABSI). Bőr és

függelékei, lágyszövetek és húgyutak 5-10%-ban érintettek, hasonló arányban találkozunk az oropharynx és gastrointestinum területéről kiinduló fertőzésekkel (neutropeniás enterocolitis, perianalis infekció).

Az intenzív kemoterápiás kezelések széleskörű alkalmazása, valamint a monoklonális antitestek és biológiai terápiák bevezetése a malignus hematológiai betegségek kezelésében perzisztáló és erőteljesebb immundeficiens állapotot eredményezhet, és egyben befolyással bír a különböző eredetű fertőzések kialakulására is. Kórházi körülmények között ezen betegcsoportban a profilaktikus és terápiás antibiotikus kezelés, a sebészi, vagy egyéb invazív beavatkozások hatására a bőr és nyálkahártyát kolonizáló mikroorganizmusok spektruma radikálisan megváltozik. Ismeretes, hogy daganatos betegek mikrobiológiailag dokumentált infekcióinak háttérében közel 80%-ban az endogén flóra részét képező mikroorganizmusok állnak, és csekély hányadban fordul elő exogén eredetű fertőzés. A fentiek alapján malignus daganatos betegségekhez társuló morbiditás és mortalitás fő oka a bakteriális, virális és gomba eredetű fertőzések előfordulása. A patogén kórokozók spektruma folyamatosan változik különböző tényezők hatására, melyre hatással van az alkalmazott antibiotikus, antivirális és gombaellenes kezelés, valamint az intravaszkuláris eszközök széles körű használata.

Virális eredetű fertőzések leggyakrabban a gyerekkor daganatos betegségeiben fordulnak elő, súlyos életet veszélyeztető állapotot előidézve a sejt közvetítette immunrendszerre kifejtett direkt hatás révén. A vírusfertőzések háttérében álló legjelentősebb patogének a cytomegalovírus (CMV), herpes simplex vírus (HSV), varicella-zoster vírus (VZV), respiratory syncytial vírus (RSV), parainfluenza és influenza vírusok, a humán herpesvírus 6 (HHV-6), humán papillomavírus 1 (BK vírus), adenovírus (ADV) és human metapneumovírus. A malignus hematológiai betegségek kezelése során kialakuló bakteriális fertőzéseket illetően több különböző nemzetközi felmérés ismeretes. Korábban elsősorban Gram negatív baktériumok okozta fertőzések domináltak, míg az utóbbi években a Gram pozitív baktériumok okozta infekció vált gyakoribbá ebben a betegcsoportban. Mind emellett az atípusos mycobacteriumok, intracelluláris kórokozók valamint opportunistá baktériumok szerepe is egyre jelentősebbé vált. Míg a bakteriális fertőzések előfordulása, jelentősége jól meghatározott hematológiai betegek esetében, a virális fertőzések incidenciája és következményei kevésbé jól körvonalazottak ebben a betegcsoportban.

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

A különböző nemzetközi felmérések, és a helyi epidemiológiai adatok hiánya alapján fontosnak tartottuk a véráram fertőzések epidemiológiai vizsgálatát hematológiai betegcsoportban, valamint felmérni a vírusfertőzések előfordulását, különös tekintettel a CMV és HHV-6 vírusfertőzés kialakulására autológ őssejt transzplantációban részesülő betegek esetében. Célul tűztük ki:

1. A Szegedi Tudományegyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ Hematológia Osztályán 2005-2008 között kezelt hematológiai betegek lázas neutropeniás epizódjai során kialakuló véráram fertőzések epidemiológiai elemzését, kórokozók species szerinti előfordulásának értékelését.
2. Jellemezni az úgynevezett ritkán előforduló patogének okozta véráram fertőzéseket, beleértve a *Fusobacterium* spp., *Nocardia* spp., és *Achromobacter* spp. által okozott infekciókat.
3. Bemutatni a CMV monitorozás eredményeit hematológiai betegekben és autológ őssejt transzplantációt követően.
4. Meghatározni a HHV-6 infekció előfordulását autológ őssejt transzplantált betegekben.

## 3. ANYAG ÉS MÓDSZEREK

### 3.1. GYAKRAN ALKALMAZOTT DEFINÍCIÓK

**Lázás neutropenia:** Lázás neutropeniáról beszélünk akkor, ha egyszeri alkalommal mért orális hőmérséklet  $38.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ , vagy ennél magasabb, és akkor ha  $38.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  legalább 1 órán át. Az abszolút neutrophil szám (ANC) pedig kevesebb, mint  $0.5 \times 10^9/\text{L}$ , vagy kevesebb, mint  $1.0 \times 10^9/\text{L}$ , és rapidan csökken  $0.5 \times 10^9/\text{L}$  alá. Neutropeniás betegek lázas epizódjait 3 főbb csoportba soroljuk: 1. Mikrobiológiailag dokumentált infekció (MDI) esetén a különböző tenyésztéses mintákból (vér, köpet, egyéb testváladék) kimutatható a kórokozó. 2. Klinikailag dokumentált infekcióra a klinikai kép és radiológiai vizsgálatok alapján következtethetünk

anélkül, hogy lenne pozitív tenyésztési eredményünk. 3. Ismeretlen eredetű láz (FUO) esetén a fertőzésnek klinikai/radiológiai jele nem detektálható, és nincs pozitív mikrobiológiai eredmény. BSI előfordulási aránya 19-29% között változik, a pozitív tenyésztési eredmények 15-25%-ban pedig több, mint 1 baktérium tenyészik ugyanazon időben (*polimikróbás BSI*). A neutropeniás betegek fertőzései az esetek 10-15%-ban szokatlan lokalizációban jelennek meg, beleértve a központi idegrendszert (meningitis, agytályog), szeptikus arthritis, máj, lép, vesék érintettsége szokatlan baktériumok okozta szepszis esetén.

### **3.2. VÉRÁRAM FERTŐZÉS ELŐFORDULÁSA HEMATOLÓGIAI BETEGEKBEN**

#### ***3.2.1. Betegek***

A hematológiai osztályon 2005-2008 között 469 beteget észleltünk lázas neutropeniával (230 nő, 239 férfi, median életkor 60 év). A betegadatok feldolgozása a kórlap dokumentáció és az elektronikus adatbázis alapján történt, mely magába foglalta a demográfiai adatokat, diagnózist, az alaptergység kezelését, fehérvérsejt és abszolút neutrophil számot (ANC), valamint a neutropenia időtartamát. Minden lázas epizód kapcsán rögzítettük a fertőzés eredetére vonatkozó adatokat, volt-e pozitív tenyésztési eredmény, az izolált kórokozó klinikai szempontból valóban relevánsnak bizonyult vagy sem. Egyetlen pozitív tenyésztési eredményt klinikailag szignifikánsnak tekintettünk, ha az izolált kórokozó valóban releváns oka lehetett a lázas epizódnak. A gyakori bőrkontaminánsokat [coagulase negatív staphylococcus (CNS), propionobacterium] akkor tekintettük releváns kórokozónak, ha 2 egymást követő hemokultúrából kitenyészett, vagy egyidejű bőr-, lágyszövet gyulladás is fennállt, vagy vénás katéter eredetű infekció alapos gyanúja állt fenn.

#### ***3.2.2. Hemokultúra minták analízise***

Hemokultúra vizsgálatra (BC) mintavétel a láz kezdetén történt perifériás vénából, centrális vénás kanüllel rendelkező betegnél pedig szimultán a kanül szárából is vettünk vért (BD Bactec, Beckton Dickinson, USA hemokultúra mintavételi rendszer) aerob, anaerob és gomba tenyésztésre alkalmas palackba. Közvetlenül a vérminta levétele után a palack inkubátorba került 5-14 napra. Az automata pozitív jelzése esetén Gram festést, mikroszkópos vizsgálatot és táptalajon történő tenyésztést végeztek. Aerob kultúrához használt tenyésztő közeg 5%-os

birkavérrel dúsított Columbia agar (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France), csokoládé agar kiegészítve PolyViteX (bioMérieux, Marcy L'Etoile, France), eosin-metilénkék (Lab M, UK) és Sabouraud Chloramphenicol (Bio-Rad, France) agar volt, míg anaerob kultúrához 5% birkavérrel dúsított Schaedler agart (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) alkalmaztak. A kioltott mintákat 37 °C-on 24 órán át 5% CO<sub>2</sub> tartalmú inkubátorban, vagy normál atmoszférán tenyésztették, míg anaerob kabinban (Concept 400; Ruskinn Technology Ltd., Bridgend, UK) 37 °C-on 48 óráig 85% N<sub>2</sub>, 10% H<sub>2</sub> and 5% CO<sub>2</sub> tartalmú gáz elegyben. Antibiotikum érzékenységi vizsgálatokat a Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) ajánlása alapján végezték

### ***3.2.3. Baktérium és gomba identifikálás***

Baktérium és gomba speciestek identifikálását a tradicionális biokémiai módszerekkel vagy automata rendszerrel végezték, mint pl. VITEK<sup>®</sup>2 ID (bioMérieux, France), API 20 A (BioMérieux, France), vagy a RapID<sup>™</sup> ANA (bioMérieux, France) az O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> felhasználás, fáziskontraszt mikroszkópos jellegzetességek alapján. Amennyiben a fenti módszerekkel nem lehetett pontos meghatározást megadni, 16S rDNA amplifikációt végeztek. Röviden összegezve: A kolóniákból nukleinsav tisztítást végeztek QIAamp DNA mini kit (Qiagen) alkalmazásával, 16S rDNA amplifikáláshoz E8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') és E533R (5'-TTACCGCGGCTGCTGGCA-3') univerzális primer-t használtak. Amplifikálás a következő módon történt: kezdeti denaturálás 94°C-on 3 percig; 35 ciklus: denaturálás 94°C-15 mp-ig, utólagos hőkezelés 55.5°C-on 30 mp-ig, extension 72°C-on 1 percig, majd további 10 percig. A PCR produktum tisztítását High Pure PCR Cleanup Micro Kit (Roche, Germany) gyári instrukció alapján végezték, majd a végső PCR terméket szekvenálták, a kapott terméket összehasonlították a GenBank mintáival BLAST software program segítségével (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>).

### ***3.2.4. Antimikróbás kezelési protokoll***

A lázas epizód kezdetén a vérminta levételét követően azonnal empirikusan széles spektrumú antibiotikus kezelés indult (piperacillin-tazobactam, cefepim, imipenem vagy meropenem). Antibiotikum dózist a kreatinin értéktől függően módosítottuk. Betegvizsgálatot naponta



végzett a kezelőorvos infekció igazolására, klinikai állapot felmérésére. A beteg állapotát 48-72 órás obszervációt követően újraértékelték, a klinikai választól és tenyésztés eredménytől függően történt az empirikus terápia módosítása. Stabil klinikai állapot, negative tenyésztés csökkenő láz esetén a megkezdett terápiát folytattuk amíg az ANC elérte a 0,5xG/L értéket. Perzisztáló láz, hypotonia esetén, vagy CVC-vel rendelkező betegeknél Vancomycin kiegészítést alkalmaztunk. A 4-5. napon továbbra is perzisztáló láz esetén a klinikai tünetek és képalkotó vizsgálatok, elsősorban computer tomográfia (CT) alapján feltételezhető gomba fertőzés esetén amphotericin-B-t kezdtünk.

### **3.3. CMV MONITOROZÁSA HEMATOLÓGIAI BETEGEKBEN**

#### ***3.3.1. Betegek és mintavétel***

A Szegedi Tudományegyetem II. számú Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ Hematológia és Transzplantációs Részlegén 2008-2014 közötti időszakban retrospektíve elemeztük a CMV infekció és reaktiváció előfordulását 271 hematológiai beteg 1238 RT-PCR módszerrel vizsgált plazma mintájából, valamint értékeltük a betegek epidemiológiai jellemzőit. A betegek adatainak részletes feldolgozása az elektronikus adatbázis és kórlap dokumentáció alapján történt. A CMV szerológiai és PCR vizsgálatokat a Központi Klinikai és Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet végezte a klinikus kérése alapján. A betegeket megkülönböztettük az alapbetegség szerint (lymphoid rendszer malignus betegségei, akut leukemiák), továbbá aszerint, hogy végeztek-e autológ őssejt transzplantációt vagy sem (ASCT/nem-ASCT betegcsoport). A vizsgálatban résztvevők etikai engedélyt kértek a retrospektív, beavatkozással nem járó adatfeldolgozáshoz. Előzetes írásbeli beleegyező nyilatkozattal rendelkezett minden beteg a helyi szokásoknak megfelelően. CMV-specifikus vírusellenes kezelést akkor kezdtünk, ha 2 egymást követő CMV DNA kópiaszám pozitív volt, vagy ha 1 minta volt pozitív >1000 kópia/ml felett, vagy <1000 kópia/ml számot észleltünk, de a 2 egymást követő pozitív minta emelkedő tendenciát mutatott.

Statisztikai analízist IBM SPSS Version 22 programmal végeztük. A betegcsoportok között a klinikai jellemzők összehasonlítására Mann-Whitney U-tesztet alkalmaztunk. Chi négyzet próbával elemeztük a CMV PCR pozitív és negatív beteg csoportokban az alapbetegség, kor, nem, valamint az indukciós és kondicionáló kezelés szerepét a CMV reaktiváció előfordulásában. Statisztikailag szignifikánsnak tekintettük az eredményeket, ha  $p < 0.05$  volt.

### **3.3.2. CMV szerológiai státusz meghatározása és CMV DNA kópiaszám monitorozás**

ASCT betegektől CMV PCR vizsgálatot heti 1 alkalommal végeztünk a 30. post-transzplantációs napig, majd nem reguláris időközönként a +100. napig. A K2EDTA alvadásgátolt vérminta centrifugálása után a plazma mintából nukleinsav izolálás történt MagNa Pure Compact Nucleic Acid isolation Kit I (Roche Switzerland) alkalmazásával a gyári előírásnak megfelelően. A vírus kópiaszám meghatározására Artus CMV RT PCR (Qiagen, Germany) kitet alkalmaztak. CMV specifikus IgG és IgM antitest meghatározás enzim immuno assay (EIA) módszerrel történt ETI-CYTOK-M reverse Plus CMV IgM EIA (DiaSorin, Italy) és ETI-CYTOK-G Plus CMV IgG EIA (DiaSorin, Italy) kit alkalmazásával. Az IgM assay diagnosztikus szenzitivitása és specificitása 100% és 99,71%, IgG assay esetében pedig szenzitivitás 99,59%, specificitás 100%. CMV reaktivációt feltételeztünk, ha a plazma vagy egyéb mintából (légtúti, liquor minta) nukleinsavat lehetett detektálni. CMV betegség „end organ disease” a klinikai tünetek vagy radiológiai eltérés és szervi infekció együttes igazolása (a szövetminta hisztopatológiai vagy immunhisztokémiai jellegzetességei) alapján mondható ki.

## **3.4. HHV-6 MONITOROZÁSA HEMATOLÓGIAI BETEGEKBEN**

### **3.4.1. Betegek**

A 2010-2012 között eltelt időszakban a Szegedi Tudományegyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ Hematológia és Transzplantációs Részlegén 35 ASCT-ben részesülő beteget vizsgáltunk HHV-6 vírus reaktiváció és infekció előfordulása szempontjából [19 nő és 6 férfi, median életkor 60 év (22-71 év)]. Myeloma multiplexes (MM) beteg 29 volt, Hodgkin lymphoma (HL) 2, non-Hodgkin lymphoma (NHL) pedig 4 esetben fordult elő. Összesen 121 EDTA-val antikoagulált vérmintát, 2 liquor mintát vizsgáltunk a 35 beteg esetében.

### **3.4.2. HHV-6 vírus kimutatása molekuláris módszerrel**

A plazma mintákat, neurológiai tünetek esetén a CSF mintát CMV, HSV-1/2, EBV DNA PCR vizsgálatra is teszteltük RT PCR módszerrel (artus CMV LC PCR Kit; Qiagen, Hilden, Germany, artus HSV-1/2 LC PCR Kit; Qiagen and artus EBV LC PCR Kit; Qiagen). HHV-6

nested PCR vizsgálatot Dream Taq Green PCR Master mix [(2x) (Thermo Scientific; Waltham, MA, USA) hozzáadva 2x DreamTaq Green buffer, 0.4 mM dNTP, 4 mM MgCl<sub>2</sub>] módszerrel végeztük. A primer a HHV-6 vírus 2 variánsának “immediate early” génlókuszából (U1102) (115) származott. A PCR vizsgálatához használt reagensek: 10 µl 1x DreamTaq Green PCR minta, 0.4 µl 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.3 µl 25 pmol HHV6-F (5'-TTC TCC AGA TGT GCC AGG GAA ATC C-3'), 0.3 µl 25 pmol HHV6-R (5'-CAT CAT TGT TAT CGC TTT CAC TCT C-3'), 4 µl H<sub>2</sub>O, and 5 µl tisztított DNA template. A következő körben a PCR termék előállítását az alábbiak szerint történt: 10 µl 1x Dream Taq Green PCR Master mix, 0.4 µl 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.3 µl 25 pmol HHV6-F (5'-AGT GAC AGA TCT GGG CGG GCC CTA ATA ACT T-3'), 0.3 µl 25 pmol HHV6-R (5'-AGG TGC TGA GTG ATC AGT TTC ATA ACC AAA-3'), 4 µl H<sub>2</sub>O and 5 µl template (az előző PCR folyamán amplifikált mintából). A PCR terméket gél elektroforezissel érzékelték, a HHV-6 vírus 2 variánsát a méretük alapján különböztették meg (A variáns 195 bázispár (bp), míg a B variáns 423 bp PCR produktum volt).

## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1. VÉRÁRAM FERTŐZÉSEK HEMATOLÓGIAI BETEGEKBEN

A hematológiai részlegen 2005-2008 között összesen 1361 beteget kezeltünk (átlagosan 340 eset/év). Lázás neutropeniás epizódot (FN) 469 beteg esetében észleltünk. Összesen 812 FN epizód során 3714 BC mintavétel történt (-2-12 pár palack/beteg, median 6,5). A 469 beteg közül 126-nál (27%) csak 1 pár BC vizsgálatot végeztünk. A 812 FN epizódból CDI volt 430 (52,95%), melynek 39,5%-a a tüdőre lokalizálódott. Colitis, bőr- és lágyrész infekció volt a 2. és 3. leggyakoribb lokalizáció. A 3714 vizsgált BC mintából 759 (20,4%) adott pozitív eredményt, többségében Gram pozitív baktérium tenyésztett (67,1%). A Gram pozitív baktériumok közül leggyakrabban CNS fordult elő (65%), *S. aureus* (10%), *Enterococcus* spp. (6,7%), beta-hemolizáló streptococcus (3,1%), *S. pneumoniae* (2,8%), alfa-hemolizáló streptococcus (2,4%) *Clostridium* spp. (1,4%), és egyéb species (3%) csekélyebb arányban fordult elő (beleértve a *Listeria monocytogenes*, *Nocardia farcinica*, *Gemella* spp-t és a Gram pozitív nem identifikált baktériumokat). Gram negatív baktériumot 250 (32,9%) BC palackból lehetett izolálni. Nagyobb arányban lehetett detektálni *E. coli* előfordulását (52%) ezen minták között, míg a *P. aeruginosa* 14%-ban, *Klebsiella* spp. 9,6%-ban,

*Enterobacter* spp. 8%-ban, *Fusobacterium* spp. 1,6%-ban fordult elő. A vizsgált periódusban mindössze 6 palackból tenyésztett gomba species, 2 esetben *Candida albicans*, 2 betegen *Candida tropicalis*, további 2 esetben pedig *Cryptococcus* spp. A Gram pozitív izolátumok között a CNS volt a leggyakrabban előforduló species. Az FN epizódok 1/3-ban releváns kórokozónak bizonyult a 2 egymást követő pozitív tenyésztés, egyidejűleg fennálló bőr-, lágyrész infekciók és CVC-hez társuló fertőzések alapján. A fennmaradó esetekben kontaminációnak tekintettük. A ritkán előforduló patogének közül *Nocardia farcinica* (*N. farcinica*) 1 esetben volt kimutatható. A 37 éves férfi beteget nagy granuláris lymphocytas (LGL) leukémiával észleltük és kezeltük. Ezt megelőző 6 hónapban már több alkalommal obszerváltuk különböző fertőzések miatt. Aktuális felvételére fáradékonyság, láz miatt került sor. Észlelése alatt fejfájás, szédülés jelentkezett. Neurológiai vizsgálat meningitisre utaló tüneteket nem igazolt. Három nappal később azonban facialis és hypoglossus agyidegek centrális parezise jelent meg, laboratóriumi paramétereiben súlyos neutropenia, emelkedett gyulladás paraméterek szerepeltek. Koponya CT vizsgálat 6-13 mm átmérűjű multiplex léziókat írt le perifokális oedémával. Sztereoataxiás biopszia nem volt kivitelezhető a súlyos thrombocytopenia miatt. Vér és vizelet tenyésztési vizsgálatot követően empirikusan napi 4x500 mg imipenem-cilastatin kezelés indult. Két BC minta jelzett pozitivitást 52 és 65 óra inkubációt követően. A Gram festés szerint pozitív elágazó filamentumokat lehetett kimutatni, a további inkubáció apró narancs színű kolóniákat jelzett. VITEK 2 GP ID card, BioMérieux 16S rDNA szekvenálás során nyert PCR termék *N. farcinica* speciest igazolt.

A vizsgált időszakban 4 esetben *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) okozta szepszis igazolódott akut leukémiás betegeknél. Egy esetben a szintén ritkán előforduló *Achromobacter xylosoxidans* (*A. xylosoxidans*) okozta szepszist igazoltunk.

#### **4.2. CMV MONITOROZÁSA HEMATOLÓGIAI BETEGEKBEN**

2008-2014 között 271 betegnél végeztünk CMV DNA PCR vizsgálatot. CMV szerológiai vizsgálattal 204 esetben (75,5%) lehetett kimutatni CMV IgG specifikus ellenanyagot, míg 50 esetben (24,5%) CMV IgG negatív lett. A vizsgált 1238 plazma mintából 118 lett pozitív (9,5%), A CMV PCR pozitív minták többsége (45,2%) az ASCT-ben részesülő betegeknél volt megfigyelhető. A pozitívítás elsősorban a transzplantációt követő 20-40. nap között jelent meg, 5 betegnél a post-transplant 10-20. nap között, 1 beteg

esetén pedig a 100. napon túl. A CMV PCR pozitív minták kópia száma 1000 kópia/ml alatti volt 87 esetben (72%). Nem találtunk szignifikáns különbséget a CMV PCR pozitív és negatív csoportban az életkor, nem és az alapbetegség tekintetében ( $p=0.987$ ,  $p=0.411$ ,  $p=0.416$ ). Összesen 24 beteg részesült CMV specifikus antivirális kezelésben (5 mg/kg ganciclovir iv. naponta 2x, vagy per os valganciclovir naponta 2x450 mg dózisban) a klinikai tünetek oldódásáig és 2 egymást követő negatív vagy csökkenő tendenciát mutató CMV PCR eredmény eléréséig.

#### **4.3. HHV-6 MONITOROZÁSA HEMATOLÓGIAI BETEGEKBEN**

A 35 ASCT-ben részesülő betegek között 4 esetben észleltünk pozitívítást perifériás vér, vagy liquor minta HHV-6 PCR vizsgálatával. Két beteget MM miatt, kezeltünk, a másik 2 beteg pedig HL kemoszenzitív relapszust követő komplett remisszióban (CR) került transzplantációra. HHV-6 A variánsát a 2 MM-s betegnél, míg a vírus B variánsát a HL miatt kezelt 2 betegben tudtuk detektálni. A 4 beteg közül a mintavétel idején csak 1 esetben észleltünk infekcióra utaló tüneteket, nevezetesen limbicus encephalitist. A 32 éves férfi beteg II/A stádiumú HL korai relapszusa miatt DHAP (Dexamethason+Cytosar+Cisplatinum) kombinált kemoterápiás kezelésben részesült, mely után CR alakult ki. A 2. ciklust követően perifériás őssejt gyűjtés történt ( $5.56 \times 10^6$ /kg CD34+ sejt). BEAM (BiCNU+Etoposide+Cytosar+Melphalan) kondicionáló kezelést követően történt az őssejt visszaadás. A transzplantációt követő +17. napon a betegnél zavartság lépett fel, később belázasodott. Neurológia konziliumot kértünk. Meningitisre utaló neurológia jel nem volt, lumbarpunkció (LP) sikertelen volt. Koponya MRI vizsgálat felvetette vírus encephalitis lehetőségét, a temporalis lebenyben észlelt eltérés alapján elsősorban HHV-6 encephalitist. Két nappal később LP-t megismételtük HHV-6 PCR vizsgálatra, mely pozitív lett a vírus B-variánsára. Ezzel egyidőben perifériás vérből is detektálni lehetett PCR vizsgálattal a HHV-6 B vírust. Parenteralis gancyclovir (napi 2x500 mg) kezelés indult, 21 nap után pedig per valgancyclovirrel (450 mg napi 2 alkalommal) folytattuk kezelését további 4 héten át. A kezelés hatására mentális állapota javult, neurológiai tünetei megszűntek.

## DISZKUSSZIÓ

### 5.1. VÉRÁRAM FERTŐZÉSEK HEMATOLÓGIAI BETEGEKBEN

A daganatos betegségek kezelésében az utóbbi évtizedekben elért kedvező eredmények ellenére az infekciók továbbra is jelentős morbiditással és halálozással járó komplikációt jelentenek immunszupprimált betegekben. Az infekció felismerése, kivédése és sikeres kezelése érdekében átfogó ismeretekre van szükségünk mind a hajlamosító tényezők, mind a gyakrabban kimutatható patogén ágensek tekintetében. Ebben a betegcsoportban a fertőzések epidemiológiája is változik, így a klinikusnak ezzel is lépést kell tartani. A terápiás lehetőségek fejlődése, a kitenyészett kórokozók egyre gyakoribb gyógyszer rezisztenciája és az újonnan felfedezett patogének által okozott fertőzések sikeres kezelése az elkövetkezendő években további kihívásokat jelent mind a klinikus, mind a mikrobiológus számára.

A malignus hematológiai betegségek kezelése során kialakuló leggyakoribb komplikáció a lázas neutropenia, mely kedvezőtlen hatással van a betegek hosszú távú túlélésére. A mikrobiológiai diagnosztika fejlődése és hatékony antimikrobás kezelés ellenére, a bakteriális fertőzések, ezen belül is a véráram fertőzések képezik a legnagyobb hányadát a hematológiai betegek infekcióinak és a nozokomiális fertőzéseknek világszerte. Az 1960-as évek elején ismerték fel a jelentőségét a neutropeniás betegek véráram fertőzéseinek. Ebben az időszakban az infekciók háttérben leggyakrabban Gram negatív kórokozó állt, így az empirikus kezelési protokollok kidolgozása elsősorban a Gram negatív baktériumok okozta fertőzések kezelését célozta. Később az antibiotikum profilaxis bevezetésével és az intravasculáris kanülök használatának terjedésével a patogének spektruma a Gram pozitív baktériumok irányába tolódott. Napjainkban a hemokultúrából leggyakrabban izolált patogének a CNS, a különböző antibiotikumokra rezisztens baktériumok, beleértve a multidrug rezisztens Gram negatív baktériumokat és a VRE. Az infekció kiindulópontja az esetek többségében nem ismert. Retrospektív tanulmányunkban a 4 éves periódusban a véráramfertőzés incidenciája 20,4% volt. Hasonló eredményeket közöltek Klastersky és munkatársai, daganatos betegek lázas neutropeniás epizódjai során 23%-ban tudtak kimutatni kórokozót a vérből, míg Viscoli ezt 29%-ban észlelte. Vizsgálatainkban a fent említett irodalmi adatokkal korrelálva 67,1%-ban Gram pozitív baktériumot lehetett kimutatni, melynek 65%-a CNS volt. Winston tanulmányában észak-Amerikában azonban jelentős

arányban Gram negatív kórokozók álltak ebben a betegcsoportban a véráram fertőzések hátterében (55,6%). Ugyanabban az időszakban más szerzők franciaországi és olasz tanulmányai alapján a legjelentősebb izolátumok a Gram pozitív baktériumok voltak, beleértve a CNS-t, streptococcust. A Gram negatívak kisebb hányadot képviseltek, ezen belül az *E. coli*, *Klebsiella* spp. és *P. aeruginosa* volt a leggyakoribb. Beteganyagunkban az FN epizódok kezelése során empirikus terápiaként leggyakrabban piperacillin/tazobactam antibiotikumot alkalmaztunk, míg abdominalis fertőzés vagy neutropeniás colitis esetén imipenemet, meropenemet részesítettük előnyben. A Gram-pozitív baktériumok magasabb előfordulási aránya magyarázható az empirikus antibiotikus kezelési stratégiánkkal, másrészt összefügg az egyre gyakrabban használt vénás kanülök jelenlétével. Ezen tényezők mellett a kemoterápiás kezelés is befolyással bír az izolált baktériumok előfordulására. Az akut leukémiás betegeink 30%-a részesült nagy dózisu Ara-C kezelésben, 15% és 12%-a pedig fludarabin és Ara-C + anthraciklin (elsősorban idarubicin) tartalmú kezelést kapott. Az irodalmi adatok alapján a lázas neutropenia hátterében a Gram pozitív kórokozók növekvő prevalenciája figyelhető meg nagy dózisu Ara-C kezelést követően, melyhez hasonlóak saját eredményeink is. Cordonnier és munkacsoportja a staphylococcusok prevalenciájának gyorsabb ütemű emelkedését észlelte szemben a streptococcus és enterococcus arányának emelkedésével. Hasonlóan saját adataink alapján a Gram-pozitív baktériumok többsége CNS volt, az izolátumoknak csak 6,7% és 2,4%-ban találtunk *Enterococcus* speciest és béta-hemolizáló streptococcust. CNS 331 hemokultúrából tenyésztett, mely 149 beteg 161 FN epizódja során került vizsgálatra. Közülük 50 FN esemény során a kitenyésző CNS valóban releváns kórokozónak bizonyult, a láz idején klinikailag dokumentálható volt az egyidejűleg fennálló bőr és légyszív fertőzés valamint a CVC-hez társuló infekció. A fennmaradó 111 esetben a klinikai adatokkal összevetve az izolált CNS-t kontaminációnak tartottuk. A pozitív tenyésztések 32,9%-ban Gram negatív baktériumot figyelhettünk meg, mely többségében *E. coli* (52%) volt. A 2. leggyakoribb a *P. aeruginosa* (14%), míg a 3. a *Klebsiella* spp (9.6%) volt. Hasonló eredményekre jutott Ramphal is 4 közlemény eredményeinek analizálása alapján. A Gram negatív organizmusok közül a legjelentősebbek az *E. coli*, *Klebsiella* spp. és *P. aeruginosa* volt.

A ritkán izolált baktériumok között az *A. xylosoxidans*, *B. cepacia* általában kanülhöz társuló szepszis kórokozója, míg a *S. maltophilia* főként nozokomiális bacteraemiát okoz. A *H. influenzae*, *Neisseria* spp., *Gemella* spp. megjelenésére az oropharyngealis mucosa

károsodás hajlamosít. A hemokultúrából izolált faj meghatározása tradicionális biokémiai módszerekkel vagy automata rendszerrel nem lehetséges minden esetben, így alacsony biokémiai aktivitás esetén, vagy akkor ha az izolált species nem található az automatikus identifikáló rendszerben, bizonyos esetekben pedig az identifikálás eredménye téves. Ezen esetekben a molekuláris metodika univerzális bakteriális PCR alkalmazásával és szekvenálással vagy a MALDI-TOF módszer használata nyújt segítséget a korrekt species megnevezésben, mint a *Nocardia* sp., és *A. xylooxidans* által okozott szepszis eseteinkben is. Néhány ritkábban izolált, lassan növekvő baktérium speciális táptalajt és tenyésztési feltételeket igényel. Ezeknek az opportunistáknak feltételezett kóroki szerepe esetén, hogy igazolni tudjuk a baktérium jelenlétét, elengedhetetlen a beteg kórtörténetének ismerete mellett a klinikus és mikrobiológus folyamatos konzultációja és együttműködése. Nocardiosis esetében találkozhatunk ezzel a szituációval, mely immunszuprimáltak oportunistáknak került leírásra, elsősorban sejt-médiálta immundeficiens betegek esetében. Pulmonalis nocardiosis a leggyakoribb megjelenési forma, míg egyéb szervi manifesztációk közül vezető a központi idegrendszer érintettsége. *Nocardia* által okozott véráram fertőzés ritka entitás, a betegek többségében egyidejű tüdő (64%), cutan (28%) és CNS érintettség (19%) is megfigyelhető. Disszeminált formában 2 vagy több szervben van kimutatható fertőzés, és az esetek többségében a légúti transzmisszió következtében a tüdő is érintett. Számos publikációban mutattak be *N. farcinica* által okozott különböző infekciózus eseteket. Chirstidou és munkatársai irodalmi áttekintése alapján 2004-ig mindössze 11 angol nyelvű publikációt találtak *N. farcinica* által előidézett bacteraemia esetbemutatásról. Többségében férfiaknál jelentkezett, 1 vagy több predisponáló tényező fennállásával, és a fertőzés leggyakoribb lokalizációja a tüdő volt. A mortalitás 41,7% volt. Hasonlóan rossz prognózzal társult a *N. farcinica* szepszis kimenetele Torres korábban közölt megfigyelése szerint is. Széles körben elfogadott kezelési ajánlás kidolgozása nocardiosisban nehezen kivitelezhető kontrollált klinikai vizsgálatok hiányában és a változó antibiotikum érzékenységi módszerek miatt. Ráadásul a különböző *Nocardia* speciesek lassú növekedése miatt az antibiotikum érzékenységi teszt kivitelezése és a cut off érték meghatározása nehezebb. Problémát jelent ezenkívül a *N. farcinica* fertőzések kezelése amiatt is, hogy az izolátumok többsége multirezisztens, mint ahogy saját esetünkben is csak imipenemre és amikacinra volt érzékeny a kitenyészett kórokozó.



Ritkán kitenyésző kórokozót pl. anaerob baktériumot feltételezve a véráramfertőzés hátterében a különböző típusú hemokultúra palackok használata, így az anaerob palacké is ajánlott. Ennek alkalmazásával tudtuk kimutatni a vérből 4 betegünkénél a *F. nucleatum* szepszist. Három betegben csak 1 anaerob palack esetén volt pozitív jelzés. Szepszis klinikai jeleit mind a 4 beteg esetében észleltük, miután a *F. nucleatum* nem tagja a bőrflórának, mint lehetséges kontamináns kizárható volt. Átlagosan 2,6 napra jelzett pozitivitást a palack (35-87 óra között). A 4 *F. nucleatum* törzs érzékeny volt az összes tesztelt anaerob ellenes hatású antibiotikumra ((penicillin, amoxicillin/klavulánsav, clindamycin, cefoxitin, imipenem és metronidazol). Az alapbetegség minden esetben akut myeloid vagy akut lymphoid leukemia volt. Két beteg kapott kemoterápiás kezelést a lázas periódus megjelenése előtt, egyikükénél pedig súlyos oropharyngealis mucositis is fennállt, míg a másik esetben erre utaló klinikai jel nem volt, annak ellenére, hogy az alkalmazott kemoterápiás kezelés hajlamosított orális mucositis kialakulására. A 4. beteg kemoterápiás kezelésben nem részesült, ennek ellenére súlyos fokú oropharyngealis mucositise volt. Egy betegnél pedig a lágyszájpad és tonsillák területén kifejezett oedémát lehetett észlelni. Fanourgiakis és munkatársai 15 *Fusobacterium* spp. okozta szepszis eseteit mutatták be, melyeket 6,5 éves időtartamon belül észleltek. Átlagos életkor 53 év volt, 13 esetben észleltek neutropeniát, többségük malignus hematológiai betegség miatt állt kezelés alatt, és a kemoterápiát követően orális mucositist észleltek a legtöbb betegnél, mely a bacteraemia feltételezett fókusza volt. Ebben a tanulmányban relatíve hosszú idő telt el az anaerob palackoknál a pozitív jelzés megjelenéséig (5 nap). Az irodalmi adatok alapján az 1960-as és 1970-es években az anaerob laboratóriumi tenyésztési technikák fejlődésével növekedett az anaerob baktériumok okozta szepszis előfordulása. Később a tendencia csökkent, majd 1993-2004 között ismét emelkedett.

## 5.2. CMV MONITOROZÁSA HEMATOLÓGIAI BETEGEKBEN

A CMV infekció jelentős opportunistá fertőzéssé vált a malignus hematológiai betegségek kezelése során széles körben alkalmazott tartós és súlyos sejt-mediálta immunszuppressziót okozó szerek következtében. A publikációk többsége a hematológiai betegek őssejt transzplantációt (elsősorban allogén transzplantációt) követő CMV reaktivációra és CMV betegség előfordulására vonatkozó adatokat mutat be, és kevesebb adat áll rendelkezésre őssejt transzplantációban nem részesülő hematológiai betegekről. Hat éves vizsgálati periódusban retrospektíve analizáltuk hematológiai betegek körében a CMV

reaktiváció és infekció előfordulását, epidemiológiai jellemzőket. ASCT-ben részesülő betegekben nagyobb arányban (33,3%) fordult elő CMV infekció, mint a nem transzplantált csoportban (16,6%). Hasonlóan magasabb volt a CMV infekció incidenciája (26-39%) ASCT betegekben más nemzetközi vizsgálatok szerint is. Holmberg és munkatársai CD34+ szelektált autograft esetén 22,6%-ban észleltek CMV reaktivációt a transzplantációt követő első 100 napban, míg nem szelektált graft esetén mindössze 4,2%-ban. Ha pre-emptív anti-CMV kezelést alkalmaztak ASCT kapcsán, CMV betegség nem fordult elő. A CMV szeropozitív betegekben 2%-ban észlelték CMV pneumonia kialakulását ASCT kapcsán. Marchesi és munkacsoportja ASCT-t követő CMV reaktivációt DNA PCR módszerrel vizsgálva azt találta, hogy a betegek 11%-ban vált szükségessé antivirális kezelés CMV infekció vagy betegség miatt. A reaktiváció nagyobb arányban fordult elő lymphoma miatt kezelt betegekben (16%), mint myeloma multiplex esetén (8%). Al-Rawi (2015) CMV pp65 antigenemia teszt alkalmazásával 210 betegből 37-nél (17,6%) észlelt reaktivációt, és a pozitív betegek 94,6%-a CMV ellenes kezelésben részesült. Így symptomaticus CMV infekciót vagy szervi betegséget nem észleltek, a mortalitás 29,7% volt ebben a betegcsoportban. Vizsgálataink alapján a betegek többségében tünetmentes reaktivációt találtunk, 8 beteg (19%) esetében a reaktiváció tünetekkel járt, 1 esetben CMV betegség igazolódott 6225 kópia/ml érték mellett. Radiológiailag interstitialis pneumoniát lehetett észlelni, később akut respiratorikus distress alakult ki. A beteg állapota a megkezdett antivirális kezelés ellenére gyorsan romlott, és 2 nappal később elhunyt. A hisztológiai vizsgálat igazolta a klinikai diagnózist. A magas mortalitással járó CMV pneumonia incidenciája ASCT betegekben 2-9% az irodalmi adatok alapján. Marchesi CMV reaktiválódott betegekben szignifikánsan magasabb transzplantációval összefüggő mortalitást észlelt (8.4%+/-4.7% versus 1.7%+/-0.8%; p=0.047), míg a diagnózis (NHL versus MM), a nem és a kondicionáló kezelés típusa szempontjából nem volt szignifikáns a különbség. Hasonlóan megfigyeléseink alapján mind az ASCT, mind a nem-ASCT csoportban nem találtunk szignifikáns különbséget a CMV PCR pozitív és negatív csoportok között az életkor, nem tekintetében (p=0.671, p=0.411), és a mortalitási rátában (p=0.429). A statisztikai analízis alapján az ASCT csoportban az alapbetegség tekintetében (MM, NHL, HL) a CMV reaktiváció előfordulásában nem volt szignifikáns a különbség 5%-os szignifikancia szinten, míg 10%-os szinten igen (p=0.076 versus p=0.038). B-sejtes NHL miatt transzplantált betegek indukciós kezelése rituximab (R) tartalmú kombinált kemo-immuno terápia volt, míg a kondicionáló kezelést (BEAM) 13 esetben egészítettük ki rituximabbal. Összehasonlítva a

kondicionáló kezeléseket (BEAM+R-BEAM versus melphalan), szignifikáns különbséget találtunk a CMV reaktiváció előfordulásában (23.6% versus 42.3%;  $p=0.029$ ). R-BEAM kondicionáló kezelési csoportban 1 betegnél észleltünk CMV PCR pozitív eredményt. Tekintettel az alacsony betegszámra korrelációt nem vizsgáltuk az R-BEAM és BEAM kezelések és CMV reaktiváció között. Jain 2016-ban vizsgálta a CMV infekció előfordulását PCR technikával ASCT-ben részesülő betegekben, tanulmányában a betegek 24%-a részesült rituximab tartalmú indukciós kezelésben a transzplantációt megelőzően vagy a kondicionáló kezelés részeként. a 239 vizsgált beteg közül 2,9%-ban talált CMV PCR pozitivitást. CMV viraemia 7 betegnél igazolódott, közülük 3 kapott rituximab tartalmú kezelést, ez a kezelés nem bizonyult szignifikáns rizikófaktornak symptomaticus CMV reaktiváció kialakulása szempontjából ( $p=0,34$ ). Hasonló eredményt kaptunk, bár vizsgálatunkban a NHL betegek száma alacsonyabb volt. MM betegek esetében a pretranszplant indukciós kezelés (bortezomib versus thalidomide) tekintetében nem találtunk szignifikáns különbséget a CMV pozitív és negatív csoportban (45% vs 46.7%;  $p=0.912$ ). Marchesi MM betegeknél tandem ASCT kapcsán vizsgálta a CMV reaktiváció megjelenését. Az első ASCT után talált nagyobb arányú reaktivációt ha az indukciós kezelés új típusú szert tartalmazott (odds ratio [OR]: 9.897; 95% fiducia intervallum [CI]);  $p=0.021$ ), mely alapján úgy tűnt, hogy az indukciós kezelés részeként adott nagy dózisú dexamethason negatív hatást fejt ki a sejt-mediálta immunitásra. Másrészt a proteaszóma gátló és immunmodulátor szerek hatása kedvezőtlen a T-sejtekre (NK, CD4+ és CD8+ sejtek számára és funkciójukra).

Vizsgálatunkban a nem-ASCT csoportban CMV reaktivációt a lymphoid rendszer malignus betegségei esetén észleltünk, myeloid rendszer betegségével 1 esetben figyeltünk meg CMV infekciót. Tünetekkel járó reaktiváció 14 betegnél jelent meg, 2 betegnél CMV betegséget észleltünk (colitis és hepatitis). Hasonlóan más tanulmányokhoz, igazolódott, hogy a reaktiváció rizikója magasabb lymphoproliferatív betegségek esetén, elsősorban akkor, ha T-sejt funkció károsító hatású kezelést kapnak a betegek (így alemtuzumab kezelés esetén). Hasonló eredményeket közölt Han CMV pp65 antigén vizsgálata során hematológiai betegekben, szignifikánsan magasabb volt a reaktiváció előfordulása rosszindulatú lymphoid betegségek esetén mint myeloid típusú malignitásokban. Ausztrál munkacsoport (Peter MacCallum Cancer Center, Melbourne) CMV DNA-t detektálta PCR módszerrel különböző típusú kemoterápiás kezelésben [hyper-CVAD (cyclophosphamid, vincristin, doxorubicin, dexamethason, methotrexae és Ara-C), fludarabin-tartalmú kezelés, alemtuzumab] részesülő

hematológiai betegekben és ASCT-t követően. A CMV reaktiváció aránya 4.6, 4.2, 9.7, 2.6 és 50% volt azokban a betegekben akik fludarabin-alapú kezelést kaptak, vagy ASCT, hyperCVAD, rituximab és alemtuzumab terápiában részesültek. Nem-ASCT betegekünk közül CMV reaktivációt 5 alemtuzumab kezelt betegnél, kettőnél fludarabin tartalmú kezelés után észleltük, míg hyper-CVAD kezelés esetén egy betegnél sem fordult elő a már közölt irodalmi adatokhoz hasonlóan.

### **5.3. HHV-6 MONITOROZÁSA HEMATOLÓGIAI BETEGEKBEN**

ASCT széles körben elterjedt kezelési lehetőség MM, HL és NHL esetén. Ebben a betegcsoportban az ASCT-t követő morbiditás és mortalitás szempontjából egyik legfontosabb tényező virális fertőzések kialakulása. ASCT recipienseiben a HHV-6 encephalitis a vírusinfekciók közül nagyon ritka, súlyos kimenetelű komplikációt jelent. Pagter és munkatársai a hemopoetikus őssejt transzplantáció során kialakuló HHV-6 reaktiváció előfordulását összegezték a különböző tanulmányok alapján. A vizsgált 18 tanulmány közül 12-ben fordult elő HHV-6 reaktiváció a transzplantáció utáni első hónapban. Incidenciája 28-78% között változik allogén és autológ őssejt átültetés esetén. Elhúzódó thrombocytá megtapadás szoros összefüggést mutat a HHV-6 DNA jelenlétével. Imbert-Marcille és munkacsoportja 92 betegből származó 846 perifériás vérmintából (526 autológ, 320 pedig allogén transzplantáció recipienséből származott) izolált HHV-6 DNA-t. A minták 18,3%-ban kapott pozitív eredményt. Más vizsgálatok eredményeihez hasonlóan az aktív HHV-6 fertőzés incidenciája 42,5 % volt mind az autológ (27/64), mind az allogén (12/28) transzplantációt követően. Ljungman megfigyelései alapján a magas HHV-6 vírus kópiaszám HHV-6 betegség kialakulásával jár, valamint elhúzódó megtapadással, mely elsősorban a megakaryocytá és erythroid sejtvonalakat érinti.

Vizsgált betegekünk közül 1 esetben észleltünk HHV-6 reaktivációra és betegség kialakulására utaló klinikai tüneteket. Tanulmányunkban a HHV-6 pozitív minták előfordulási aránya alacsonyabb volt a korábbi tanulmányokhoz képest, egyben az analizált betegek száma is kevesebb volt. Elhúzódó megtapadást nem észleltünk a 4 pozitív betegnél. Immunszupprimált betegeknel encephalopathiára utaló klinikai tünetek, mentális status megváltozása, és memória zavar esetén a háttérben álló okok, mint a thrombocytopenia következtében kialakuló intracranialis vérzés, az alkalmazott gyógyszerek okozta direkt

toxikus hatás, elektrolit és egyéb metabolikus zavar és fertőzőes eredet feltárása elengedhetetlen. Bommer HHV-6 okozta encephalitis és pneumonitis együttes megjelenéséről számolt be ASCT-ben részesülő HL betegnél. Mentális zavart és konvulziót észleltek a +12. napon, azonban az elvégzett agyi MRI eltérést nem mutatott, míg a mellkas CT mindkét oldali tüdőben diffúz interstitialis pneumonia képét igazolta. Bronchoalveolaris mosás és CSF HHV-6 DNA vizsgálata pozitív lett. Foscarnet kezelés hatására állapota javult, majd további 6 héten át valgancyclovir kezelést alkalmaztak.

Esetünkben HHV-6 reaktivációt követően encephalitis alakult ki rövid idővel az ASCT után. Perifériás vér és CSF mintákból pozitív HHV-6 PCR eredményt kaptunk, míg más vírus vagy bakteriális ok kizárható volt a neurológiai tünetek hátterében. Az igazolt HHV-6 encephalitis kezelésére parenteralis gancyclovirt kezdtünk, majd per os valgancyclovir adásával folytattuk. A kezelés során a neurológiai tünetek sikeresen megszűntek, minimális rövidtávú memóriazavar maradt vissza. Hematológiai alapbetegsége tartós komplett remisszióban van. Esetünkhöz hasonlóan Imbert-Marcille vizsgálata azt mutatta, hogy aktív HHV-6 infekció 3-4 héttel a transzplantáció után jelenik meg. HHV-6 encephalitis kezelésére gancyclovir, foscarnet vagy cidofovir javasolt. Esetünkben gancyclovir kezelés hatására neurológiai tünetek megszűntek.

## KONKLÚZIÓ

**Ezen tanulmány célja az immunszupprimált betegek gyakori fertőzéses komplikációinak epidemiológiai elemzése, fókuszálva a véráram fertőzésekre, valamint a CMV és HHV-6 infekció előfordulására hematológiai betegeken és autológ őssejt transzplantációt követően.**

1. Feldolgoztuk a Szegedi Tudományegyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ Hematológia Osztályán 2005-2008 között kezelt hematológiai betegek lázas neutropeniás eseményeinek epidemiológiai adatait, elemeztük a véráram fertőzéseket kiváltó baktérium speciestek előfordulását a mikrobiológiai tenyésztési eredmények alapján. A hemokultúrák 20,4 %-ból tenyésztett kórokozó. A pozitív minták 67,1%-ban Gram pozitív baktériumot lehetett detektálni. A leggyakrabban előforduló Gram pozitív izolátumok a CNS (65%), *S. aureus* (10%), *Enterococcus* species (6.7%) volt. CNS-t 331 esetben izoláltunk, ezeket a mintákat 149 beteg 161 FN epizódja során nyertük. Ötven FN epizód során vet hemokultúrából kitenyésző CNS releváns kórokozónak bizonyult a láz háttérében az egyidejűleg fennálló bőr és lágyrész gyulladás, vénás kanülhöz társuló fertőzés fennállása alapján, 111 esetben a CNS-t kontaminációnak tekintettük. A kontamináció elkerülésére rendkívül fontos hangsúlyozni a jól időzített és precíz mintavételi technika elsajátítását. Gram negatív baktériumot a pozitív minták 32,9 %-ban találtunk, legnagyobb arányban *E. coli* (52%) tenyésztett. Ezek az eredmények magyarázhatók az intravasculáris eszközök szélekkörű használatával és a jelentős toxicitással, következményes súlyos nyálkahártya károsodással járó nagy dózisú kemoterápiás kezelési protokollokkal.

2. Néhány instruktív eset bemutatásával kívántuk jellemezni a “szokatlan” ritkábban izolált patogének által okozott véráram fertőzéseket. A ritkábban izolált baktériumok (*A. xylooxidans*, *B. cepacia*, *F. nucleatum* and *N. farcinica*) azonosításához, sikeres tenyésztéséhez a tradicionális biokémiai módszerek vagy automata azonosító rendszer mellett a baktérium számára speciális tenyésztési feltételek megteremtése, a korrekt species szintű meghatározáshoz pedig PCR metodika és szekvenálás vagy MALDI-TOF rendszer alkalmazása szükséges.

3. CMV DNA PCR vizsgálatot 271 betegnél végeztünk, 66 esetben (24,4%) kaptunk pozitív eredményt. A CMV PCR pozitív betegek közül 42 részesült ASCT-ben. A nem-ASCT csoportban lymphoproliferatív betegség esetén észleltünk nagyobb arányban reaktivációt, elsősorban azoknál a betegeknél akik purin analóg vagy alemtuzumab kezelésben részesültek. ASCT csoportban a CMV reaktiváció előfordulása az MM és NHL betegek között határérték szignifikánsnak bizonyult. Összehasonlítva a kondicionáló kezeléseket (BEAM+R-BEAM versus Melphalan) a CMV reaktiváció előfordulása szignifikánsan különbözött ( $p=0,029$ ) a 2 csoportban.

4. ASCT-t követően HHV-6 pozitivitást PCR módszerrel a vizsgált perifériás vér és liquor minták 11,4%-ban találtunk. HHV-6 okozta encephalitis egyetlen esetben találtunk, gancyclovir kezeléssel a beteg sikeresen gyógyult. HHV-6 encephalitis kezelésében randomizált nagy betegszámú vizsgálatok hiányában gancyclovir, foscarnet vagy cidofovir terápia ajánlott.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani a PhD dolgozatomhoz szükséges munkában minden közreműködő és segítséget nyújtó személynek.

Köszönöm témavezetőm, **Dr. Urbán Edit** tanárnő lelkes támogatását. Munkámat folyamatosan segítette tanácsaival. Hálás vagyok türelméért és értékes javaslataiért, mely alapvető mértékben hozzájárult a dolgozat megszületéséhez. Köszönettel tartozom **Dr. Terhes Gabriella** adjunktusnőnek, biztató, inspiráló ötleteiért. Konstruktív véleményével kezdettől fogva segítette munkámat. Köszönöm a II. sz. Belgyógyászati Klinika és Kardiológiai Központ, Haematológiai Osztályán dolgozó kollégáim biztatását, támogatását. Köszönöm a Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet orvosainak, gyógyszerészeinek, biológusainak és asszisztenseinek a mikrobiológiai adatok feldolgozásában nyújtott segítségét és támogatását. Végtelen hálával tartozom családomnak türelmükért és bátorításukért, mely lehetővé tette, hogy ezt a munkát befejezhessem.