

Dorota Michałowska-Mitczuk<sup>1</sup>, Sylwia Brzezińska<sup>2</sup>, Ewa Augustynowicz-Kopec<sup>2</sup>, Renata Langfort<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Przychodnia Przykliniczna Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Kierownik: dr n. med. D. Michałowska-Mitczuk

<sup>2</sup>Zakład Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. E. Augustynowicz-Kopec

<sup>3</sup>Zakład Patomorfologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Kierownik dr n. med. R. Langfort

## Ziarnina stwierdzona w najądrzu chorego leczonego dopęcherzowymi wlewkami BCG — powikłanie leczenia BCG czy gruźlica?

Granuloma of epididymis of patient treated with intravesical BCG therapy — complication of BCG therapy or tuberculosis?

### Abstract

We present a case of 72-year old man treated from 2007 for superficial bladder carcinoma. Patient had undergone surgical intervention for transitional cell carcinoma of the bladder, followed by BCG therapy. Two years later enlarged right testis and epididymis was observed. A resection was carried out. Histologic examination revealed in epididymis cauda granulomatous infiltration with eosinophilic necrosis. No bacteriologic tests of resected material were performed. Suspecting BCG infection or TB patient was referred to the Institute of Tuberculosis and Lung Diseases in Warsaw for pulmonary evaluation. Chest X-ray, chest CT scan and bronchoscopy were performed but beside revealing scars in bronchi suggesting a history of TB did not contribute to the diagnosis. Tuberculin skin test was 21 mm. Diagnosis was determined by spoligotyping which found bacille of *Mycobacterium tuberculosis* in specimen preserved in paraffin block. Tuberculosis of right epididymis and past pulmonary tuberculosis was diagnosed. Patient was treated with rifampin, isoniazid and pirazinamid.

**Key words:** BCG infection, male genital tuberculosis, spoligotyping

**Pneumonol. Alergol. Pol. 2011; 79, 4: 305–308**

### Streszczenie

W pracy opisano przypadek 72-letniego mężczyzny leczonego od 2007 roku z powodu powierzchownego raka pęcherza moczowego. Pacjent miał wykonaną elektroresekcję zmian w pęcherzu, następnie otrzymywał dopęcherzowe wlewki BCG. Po 2 latach z powodu zmian obserwowanych w najądrzu i jądrze prawym wykonano resekcję. W badaniu histopatologicznym stwierdzono ziarninę z martwicą serowatą w ogonie najądrza. Nie wykonano posiewów bakteriologicznych z resekowanego materiału. Podejrzewając zakażenie BCG, skierowano chorego na diagnostykę w Instytucie Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie. Dalsza diagnostyka obejmowała badania radiologiczne klatki piersiowej i bronchoskopię, które, poza stwierdzeniem w oskrzelach blizn po przebiegach węzłowych sugerujących przebytą gruźlicę, nie przyczyniły się do ustalenia rozpoznania. Odczyn tuberkulinowy wynosił 21 mm. O rozpoznaniu przesądziło wykrycie metodą *spoligotyping* prątków należących do *M. tuberculosis* w wycinkach z bloczka parafinowego materiału operacyjnego. Na tej podstawie rozpoznano gruźlicę najądrza i wdrożono leczenie przeciwprątkowe.

**Słowa kluczowe:** zakażenie BCG, gruźlica męskich narządów płciowych, *spoligotyping*

**Pneumonol. Alergol. Pol. 2011; 79, 4: 305–308**

**Adres do korespondencji:** dr n. med. Dorota Michałowska-Mitczuk, Przychodnia Przykliniczna Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie, ul. Płocka 26, 01–138 Warszawa, e-mail: d.mitczuk@igichp.edu.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 18.04.2011 r.

Copyright © 2011 Via Medica

ISSN 0867–7077

## Wstęp

Zakażenie prątkiem gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*) może dotyczyć każdego narządu. Gruźlica pozapłucna w Polsce w 2009 roku stanowiła 7,1% nowo rejestrowanych przypadków. Gruźlica narządów moczowo-płciowych stanowi po opłucnej, węzłach chłonnych, kościach i stawach, czwartą co do częstości lokalizację gruźlicy pozapłucnej. W Polsce w 2009 roku rozpoznano 62 przypadki gruźlicy narządów moczowych oraz 18 przypadków gruźlicy narządów płciowych, co stanowi odpowiednio 10,6% i 2,7% wśród chorych z rozpoznaną gruźlicą pozapłucną [1]. Zmiany najczęściej lokalizują się w najądrzu (9–42%) i prostatie (11–58%) [2–5]. Do zakażenia dochodzi przez rozsiew drogą krwipochodną oraz wstępująco przy zakażeniu dróg moczowych i moczu [4].

*Bacillus Calmette-Guerin* (BCG), atenuowany szczep *Mycobacterium bovis*, jest jedyną na świecie dostępną szczepionką używaną do szczepień przeciwgruźliczych. Szczep BCG jest żywą szczepionką bakteryjną, której aktywnym składnikiem jest prątek bydlęcy (*Mycobacterium bovis*), przez wielokrotne pasażowanie pozbawiony zjadliwości. Szczep ten na skutek delekcji lub/i wielopunktowych mutacji w genomie [6] utracił swoją wirulencję i nigdy drogą rewersji nie powrócił do swojej pierwotnej zjadliwości. Obecnie wiadomo, że utrata wirulencji jest związana z delekcją regionu RD1 kodującego fragment 9,5-kb, który zawiera co najmniej 8 otwartych ramek odczytu.

Dopęcherzowe wlewki BCG stosuje się w leczeniu powierzchownego raka pęcherza moczowego [7, 8]. Mechanizm immunologiczny uruchamiany przez BCG poza działaniem w obrębie pęcherza moczowego może również być przyczyną niepożądanych zmian lokalnych, to znaczy występujących w obrębie innych narządów układu moczowo-płciowego, jak prostata, jądra, najądrza i nerki. Może również powodować zmiany odległe, do których zalicza się tworzenie ziarniniaków w płucach, wątrobie i innych narządach mięsistych oraz zapalenie kości [9–14]. Kazuistycznie są opisywane przypadki prosówki BCG. Uważa się, że działania niepożądane BCG to rzadkość, dotyczą mniej niż 5% chorych; zmiany w płucach i/lub wątrobie obserwuje się u 0,7%, w stawach u 0,5%, nerkach u 0,1%, w prostatie u 0,9%, a w najądrzach u 0,4% leczonych BCG [5, 15].

Mikrobiologiczne diagnozowanie gruźlicy pozapłucnej jest bardzo trudne i wymaga starannego dobrania próbki od chorego oraz wyboru odpowiedniej metody diagnostycznej. Diagnostykę pozapłucnych lokalizacji gruźlicy utrudniają następujące elementy: bardzo długi czas wzrostu prątków, skąpoprątkowy przebieg, obecność inhibito-

rów reakcji genetycznych, trudności pobrania/otrzymania materiałów do badania bakteriologicznego.

Wiele postaci gruźlicy pozapłucnej wymaga inwazyjnego pobierania materiałów (wycinki tkanek, szpik kostny, płyn osierdziowy, opłucnowy, mózgowo-rdzeniowy), co powoduje, że do laboratorium trafia tylko jeden specymen, którego diagnostyka staje się podstawą rozpoznania. W związku z tym diagnostyka tych postaci gruźlicy wymaga zastosowania najnowocześniejszych, mikrobiologicznych metod diagnostycznych, dostępnych tylko w nielicznych laboratoriach.

Rozwój biologii molekularnej i opracowanie testów amplifikacji kwasów nukleinowych pozwoliły na udoskonalenie metod wykrywania prątków gruźlicy bezpośrednio w materiałach klinicznych, bez konieczności ich hodowania. Unikalne sekwencje kwasów nukleinowych *Mycobacterium* mogą być wykrywane bezpośrednio w materiałach klinicznych z większą czułością niż metodami bakterioskopii i w znacznie krótszym czasie niż w hodowlach.

Metoda *spoligotyping* (*spacer oligonucleotide typing*) wykorzystuje polimorfizm chromosomalnego regionu *direct repeat* (DR), występującego u prątków należących do *M. tuberculosis complex*. Liczba i pozycja sekwencji rozdzielających w regionie DR stanowi kryterium różnicowania między szczepami. Do wykrywania sekwencji rozdzielających wykorzystuje się syntetyczne sondy oligonukleotydowe, będące komplementarnymi wobec 43 poznanych, zsekwencjonowanych fragmentów rozdzielających zidentyfikowanych w szczepach *M. tuberculosis* [16]. *Spoligotyping* jako metoda oparta na PCR (*polymerase chain reaction*) wymaga bardzo niewielkich ilości DNA, dzięki temu może być stosowana do wykrywania i identyfikacji *M. tuberculosis complex* bezpośrednio w materiale klinicznym z pominięciem etapu hodowli. Wyniki takie uzyskuje się w przeciągu 1–2 dni. Jak wykazano, metoda ta może być również stosowana w identyfikacji szczepów *M. tuberculosis*, stwierdzanych w badaniu mikroskopowym materiału czy też wycinków tkanek zatopionych w parafinie [16].

Otrzymane wzory genetyczne szczepów prątków gruźlicy porównuje się ze wzorami zgromadzonymi w międzynarodowej bazie spoligotypów SpolDB4 i na tej podstawie kwalifikuje do określonych rodzin molekularnych.

## Opis przypadku

Pacjent 72-letni chorujący od 2007 roku na raka pęcherza moczowego po elektroresekcji zmian otrzymał dopęcherzowe wlewki BCG. Po około

2 latach z powodu bolesności i twardego obrzęku w okolicy jądra wykonano resekcję jądra i najądrza lewego. Rana pooperacyjna zagoiła się bez powikłań. Histologicznie w obrębie najądrza stwierdzono obszary nieregularnej kwasochłonnej martwicy z rozpadem, otoczone palisadą fibroblastów i histiocyty, z komórkami olbrzymimi i obfitymi naciekami limfoidalnymi. Nie wykonano posiewu moczu ani posiewu nasienia. Również materiał histologiczny nie został skierowany na badania bakteriologiczne. Podejrzewając, na podstawie obrazu histopatologicznego, zakażenie BCG, pacjent został skierowany do Instytutu Gruźlicy w Warszawie.

W chwili rozpoczęcia diagnostyki pacjent nie miał dolegliwości ze strony układu oddechowego. Twierdził, że nie miał gorączki, nie tracił masy ciała, nie miał bólów w klatce piersiowej. Również w badaniu przedmiotowym nie stwierdzano odchyłań od stanu prawidłowego. Odczyn tuberkulinowy wynosił 21 mm. W badaniu tomokomputerowym klatki piersiowej wykonanym poza Instytutem wykazano w płacie dolnym płuca prawego pasmowate zagęszczenia — zaburzenia upowietrzenia. Zmiany te odcinkowo przylegały do pogrubiałej opłucnej. W badaniu tomokomputerowym wykonanym 5 miesięcy później w instytucie obraz narządów klatki piersiowej nie uległ zmianie, nie wykazywał radiologicznych cech czynnej gruźlicy.

Wobec braku wykonanych badań bakteriologicznych materiału ze zmian chorobowych podjęto próbę uzyskania potwierdzenia etiologii choroby z innych materiałów. Wyniki badania ogólnego moczu nie wykazywały nieprawidłowości mogących sugerować gruźlicę, również posiewy były ujemne. Bronchoskopowo w oskrzelach stwierdzono inkrustacje antrakotyczne i blizny po przebicjach węzłowych, co przemawiało za przebytą gruźlicą. Jednak w wydzielinie oskrzelowej nie stwierdzono materiału genetycznego prątków gruźlicy ani nie wyhodowano prątków kwasoodpornych.

Wykonano więc badanie utrwalonego materiału metodą *spoligotyping*. W preparacie histopatologicznym stwierdzono obecność materiału genetycznego prątków gruźlicy. Uzyskane wzory hybrydacyjne porównywano z wzorami zarejestrowanymi w międzynarodowej bazie danych *Spoligotyping Database* (SpolDB4). W ten sposób zidentyfikowano prątki należących do gatunku *M. tuberculosis* i rodziny molekularnej T153.

Na tej podstawie rozpoznano gruźlicę najądrza prawego u chorego po przebytej gruźlicy płuc i podano, zgodnie z obowiązującym wówczas schematem leczenia, rifampicynę, isoniazyd i pyrazynamid.

## Omówienie

Rozpoznanie gruźlicy pozapłucnej bywa trudne, jej objawy są nieswoiste. Najszybciej wykrywa się gruźlicze zapalenie opłucnej, najpóźniej gruźlicę kości i stawów, co wynika z nasilenia objawów klinicznych i być może dostępności materiału do badania bakteriologicznego [17]. Potwierdzenie bakteriologiczne w przypadku lokalizacji pozapłucnej jest trudne. W Polsce w 2009 roku potwierdzono dodatnimi badaniami bakteriologicznymi tylko 32% przypadków gruźlicy pozapłucnej przy 65,8% potwierdzonej gruźlicy płuc [1]. Powoduje to, że gruźlica pozapłucna jest rozpoznawana późno lub nierozpoznawana za życia. Uważa się, że 20–50% przypadków gruźlicy pozapłucnej jest wykrywana badaniem autopsyjnym, podczas gdy w przypadku gruźlicy płuc odsetek ten wynosi 5% [18, 19].

Gruźlica najądrza występuje głównie u młodych aktywnych seksualnie mężczyzn. Przed erą leczenia przeciwprątkowego gruźlica najądrza dotyczyła głównie mężczyzn w wieku 16–40 lat. Obecnie ponad 70% chorych ma więcej niż 35 lat, 15–20% ponad 65 lat [20]. Większość pacjentów (70%) ma cechy przebytej gruźlicy o innej lokalizacji [4]. Najczęściej, podobnie jak w opisanym przypadku, zmiany dotyczą układu oddechowego. W 2/3 przypadków przebieg choroby jest ostry. Dominują objawy miejscowe, ale może im towarzyszyć gorączka, poty, pogorszenie apetytu i utrata masy ciała [4]. Najądrze ulega powiększeniu, zwykle jest bolesne. Ból może promieniować w kierunku nerki. Zmiany chorobowe z czasem obejmują również jądro. W głowie lub ogonie najądrza mogą tworzyć się ropnie, a po pewnym czasie przetoki w skórze moszny [2, 20]. Podobnie jak w opisywanym przypadku zmiany częściej są jednostronne, choć około 1/3 chorych ma zmiany obustronne [20].

Powikłania dopęcherzowego leczenia BCG mogą być wynikiem odczynu immunologicznego lub infekcji BCG. Zmiany odległe (w płucach, wątrobie, stawach) częściej są uważane za wynik odczynu immunologicznego. Występują one wcześnie — 3–6 miesięcy po zastosowaniu BCG. Histologicznie stwierdza się ziarninę, ale tylko w 30% przypadków udaje się uzyskać potwierdzenie bakteriologiczne, co według wielu autorów sugeruje immunologiczny mechanizm choroby. Zmiany lokalne występują po co najmniej 6 miesiącach od podania BCG. W około 70% ze zmian zidentyfikowano BCG, co świadczy o ich infekcyjnej etiologii [21]. Gonzales i wsp. [21] obserwowali infekcyjne powikłania powodowane przez BCG u 8 chorych w wieku 44–77 lat (śr. 63,8). Objawy ogólne są rzadkie, głównie obserwuje się miejscowe obrzęk

i ból. Dolegliwości są często interpretowane jako nowotworowe. Z tego względu wielokrotnie pierwszym wykonanym badaniem jest pobranie materiału do badania histopatologicznego, które ukierunkowuje diagnostykę, ale nie rozstrzyga o rozpoznaniu. Ziarnina gruźliczopodobna w męskich narządach płciowych może mieć różne przyczyny. Poza gruźlicą są to zakażenia innymi prątkami niż BCG: prątkami trądu i prątkami niegruźliczymi, jak *M. kansasii*, *M. avium-intracellulareae*, *M. fortuitum*. Inne przyczyny infekcyjne to brucelloza, promienica oraz zakażenia grzybicze. Przyczyny nieinfekcyjne to między innymi sarkoidoza, zapalenia naczyń. Również dodatni odczyn tuberkulinowy nie różnicuje gruźlicy i zakażenia BCG.

Jedyną pewną podstawą rozpoznania jest wyhodowanie prątków. Materiałem do badania może być tkanka z biopsji, mocz, nasienie. Przy podejrzeniu gruźlicy posiew powinno się wykonać również z materiału z dróg oddechowych (plwociny, wydzieliny oskrzelowej, BAL [bronchoalveolar lavage]). Z tego względu w opisanym przypadku wykonano posiewy materiału z dróg oddechowych. W badaniu Garcii i wsp. opisującym 8 przypadków gruźlicy nąjdrza i jądra potwierdzenie bakteriologiczne uzyskano u 6 osób z moczu i u dwóch z biopsji igłowej [2].

Jednak lekarze inni niż pulmonolodzy w diagnostyce różnicowej rzadko biorą pod uwagę gruźlicę. Z tego względu badania bakteriologiczne w kierunku gruźlicy są zbyt rzadko wykonywane, jak miało to miejsce w przedstawianym przypadku — nie wykonano posiewu z resekowanego materiału, zaś posiewy moczu wykonano dopiero po resekcji zmian chorobowych.

W diagnostyce gruźlicy pozapłucnej, która często opiera się na skąpoprątkowych materiałach tkankowych, trudno jest uzyskać potwierdzenie choroby przy użyciu standardowych technik mikrobiologicznych. Aby maksymalnie zwiększyć czułość badań wprowadzono metody molekularne. Pozwalają one na wykrycie *M. tuberculosis* nie tylko w bezpośrednich materiałach od chorego, ale również w materiałach tkankowych zatopionych w bloczkach parafinowych. W przypadku, jaki został przedstawiony w obecnej pracy, jedynym dowodem na istnienie procesu chorobowego był preparat histologiczny z obecną ziarniną. Zastosowanie do preparatów histologicznych metod molekularnych umożliwiło w krótkim czasie stwierdzenie obecności prątków *M. tuberculosis*, a nie potwierdziło zakażenia BCG.

Ustalenie właściwego rozpoznania jest ważne ze względu na różne postępowanie w gruźlicy i zakażeniu BCG. Gruźlica musi być bezwzględnie leczona. Standardowy zestaw leków to rifampicyna, izoniazyd, pyrazynamid oraz etambutol. W przypadku stwierdzenia prątków BCG resekcja zmian lokalnych może być wystarczająca. W przy-

padku zmian odległych stosuje się leczenie bez pyrazynamidu, na który prątki BCG są odporne.

Opisany przypadek pokazuje trudności w rozpoznaniu gruźlicy oraz w jej różnicowaniu z zakażeniem BCG. Wykazano, że wywiad, obraz kliniczny i histopatologiczny nie mogą być podstawą diagnozy. W takich sytuacjach tylko badanie bakteriologiczne pozwala na postawienie pewnego rozpoznania. Przedstawiony przypadek ilustruje przydatność nowych technik badania mikrobiologicznego w trudnej do zdiagnozowania postaci gruźlicy.

## Piśmiennictwo

1. Korzeniewska-Kosęła M. (red.). Gruźlica i choroby układu oddechowego w Polsce w 2009 roku. Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, Warszawa 2010.
2. Garcia I.G., Mampaso E.G., Revilla J.B. i wsp. Tuberculous orchiepididymitis during 1978–2003 period: review of 34 cases and role of 16SrRNA amplification. *Urology* 2010; 76: 776–781.
3. Jacob J.T., Nguyen M.L.T., Ray S.M. Male genital tuberculosis. *Lancet Infect. Dis.* 2008; 8: 335–342.
4. Madkour M.M. Genitourinary tuberculosis. W: Madkour M.M. (red.). *Tuberculosis*. Springer, Berlin 2004; 699–729.
5. Zarrabi A.D., Heyns C.F. tuberculosis of the urinary tract and male genitalia — a diagnostic challenge for the family practitioner. *SA Fam. Pract.* 2009; 51: 388–392.
6. Zhang Y., Wallace R.J. Jr, Mazurek G.H. Genetic differences between BCG substrains. *Tubercle Lung Dis.* 1995; 76: 43–50.
7. Brosman S.A. Bacillus Calmette-Guerin immunotherapy. *Urol. Clin. North Am.* 1992; 19: 557–564.
8. Lugosi L. Theoretical and methodological aspects of BCG vaccine from discovery of Calmette and Guerin to molecular biology. A review. *Tubercle Lung Dis.* 1992; 73: 252–261.
9. Kim S.H., Kim H.W., Lee H.-J., Bae W.J., Cho S.Y. Tuberculous prostatic abscess following intravesical Bacillus Calmette-Guerin instillation. *Korean J. Urol.* 2009; 50: 186–187.
10. Polcari A.J., Brancato S., Huguenot C.M., Bresler L. Case report: *Mycobacterium bovis* prostatic abscess following intravesical BCG therapy. <http://www.bju.org/ContentFullItem.aspx?id=544&sectionType=1&title=Mycobacterium>.
11. Senes A.T., Badet L., Lyonnet D., Rouviere O. Granulomatous renal masses following intravesical Bacillus Calmette-Guerin therapy: the central unaffected calyx sign. *Br. J. Radiol.* 2007; 80: e230–e233.
12. Kesten S., Title L., Mullen B., Grossman R. Pulmonary disease following intravesical BCG treatment. *Thorax* 1990; 45: 709–710.
13. Fradet V., Gaudreau C., Perrotte P., Cote J., Paquin J.-M. Management of hepatic granulomatous tuberculosis complicating intravesical BCG for superficial bladder cancer. *Can. Urol. Assoc. J.* 2007; 1: 269–272.
14. Abu-Nader R., Terrell C.L. *Mycobacterium Bovis vertebrae osteomyelitis* as a complication of intravesical BCG use. *Mayo Clin. Proc.* 2002; 77: 393–397.
15. Falkensammer C., Gozzi C., Hager M. i wsp. Late occurrence of bilateral tuberculous-like epididymo-orchitis after intravesical Bacille Calmette-Guerin therapy for superficial bladder carcinoma. *Urology* 2005; 65: 175.e18–175.e20.
16. Kamerbeek J., Schouls L.M., Kolk A. i wsp. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35: 907–914.
17. Rowińska-Zakrzewska E. (red.). Gruźlica w praktyce lekarskiej. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2000.
18. Szopiński J., Remiszewski P., Szymańska D., Rowińska-Zakrzewska E. Gruźlica rozpoznana na podstawie badania pośmiertnego w materiale Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w latach 1972–1991. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 1993; 61: 275–279.
19. Talavera W., Miranda R., Lesnau K.-D.K.L., Klapholz A. Extrapulmonary tuberculosis. W: Friedman L.N. (red.). *Tuberculosis: current concepts and treatment*, 2<sup>nd</sup> edition. CRC Press, Boca Raton 2001; 139–190.
20. Cek M. Male genital tuberculosis. W: Schaff H.S., Zumla A.I. (red.). *Tuberculosis a comprehensive clinical reference*. Saunders, Europe 2009; 450–456.
21. Gonzalez O.Y., Musher D.M., Brar I. i wsp. Spectrum of Bacillus Calmette-Guerin (BCG) infection after intravesical BCG immunotherapy. *Clin. Infect. Dis.* 2003; 36: 140–148.