

*Originalni rad/
Original article*

PATOHISTOLOŠKA I SEROLOŠKA
DIJAGNOZA U PLUĆNIM OBLICIMA
BOLESTI IZAZVANIH GLJIVICAMA IZ
RODA *ASPERGILLUS*

HISTOPATHOLOGICAL AND
SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF LUNG
DISEASES CAUSED BY *ASPERGILLUS* SPP.

Aleksandra Lovrenski^{1,2}, Dragana Tegeltija^{1,2}, Željka
Vrekić³, Bojana Andrejić Višnjić⁴, Siniša Maksimović²,
Anika Považan^{2,5}

Correspondence to:

Aleksandra Lovrenski, MD, PhD,
Assistant Professor
Department for Pathology, Institute for
pulmonary diseases of Vojvodina
Put doktora Goldmana 4,
21204 Sremska Kamenica, Serbia
Mobile phone: +381 66 880 5321
e-mail:
aleksandra.lovrenski@mf.uns.ac.rs

¹ Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Katedra za patologiju

² Institut za plućne bolesti Vojvodine, Sremska Kamenica, Srbija

³ Centar za potologiju i histologiju, Klinički centar Vojvodine, Novi
Sad, Srbija

⁴ Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Katedra za histologi-
ju i embriologiju

⁵ Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Katedra za mikrobi-
ologiju i imunologiju

Ključne reči

Aspergillus, galaktomanan, antitela,
serološka dijagnostika, patohistološka
dijagnostika.

Key words

Aspergillus; galactomannan; antibody;
serological diagnostics; histopathological
diagnostics.

Sažetak

Uvod: Gljivice iz roda *Aspergillus* mogu da izazovu čitav spektar plućnih bolesti u zavisnosti od stanja imuniteta i postojećih plućnih oboljenja. Iako patohistološka dijagnostika predstavlja zlatni standard za postavljanje definitivne dijagnoze aspergiloze, prednost imaju serološke metode usled njihove manje invazivnosti i povoljnijeg profila komplikacija i kontraindikacija. **Cilj:** Cilj rada je bio da se utvrdi povezanost patohistološke i serološke dijagnoze kod pacijenata sa aspergilozom pluća lečenih u Institutu za plućne bolesti Vojvodine. **Materijal i metode:** Retrospektivno ispitivanje obuhvatilo je 33 pacijenata kod kojih je u periodu od juna 2012. do juna 2017. godine, na Institutu za plućne bolesti Vojvodine patohistološki i serološki dokazana aspergiloza pluća. Materijal za patohistološku i serološku analizu obrađen je u Centru za patologiju i Centru za mikrobiologiju, virusologiju i imunologiju Instituta. **Rezultati:** Od ukupno 33 pacijenta, aspergilom je dijagnostikovano kod 28 (85%) pacijenata, kod 2 (6%) pacijenta HNPA, IPA kod 2 (6%), a kod jednog (3%) ABPA. Najčešći komorbiditeti su bili: tuberkuloza kod 16 (49%) pacijenata, zatim karcinom pluća kod 7 (21%) pacijenata, bronhiektazije kod 5 (15%), HOBP kod 3 (9%) i akutna leukemija kod 2 (6%) pacijenta. Galaktomanan je bio pozitivan kod 20 (60%), a negativan kod 13 (40%). Vrednosti antitela su kod 30 (91%) pacijenata bile pozitivne, a kod 3 (9%) bile negativne. **Zaključak:** Patohistološka dijagnostika predstavlja jedini način za postavljanje definitivne dijagnoze aspergiloze, ali zbog invazivnosti, kontraindikacija i komplikacija, kao prva stepenica u postavljanju dijagnoze treba da se koriste serološka ispitivanja.

1. UVOD

Aspergiloza je grupa oboljenja izazvana gljivicama iz roda *Aspergillus*, koje pripadaju grupi kvasnica, široko rasprostranjenim, ubikvitarnim, mikororganizmima. Ljudi svaki dan udišu određeni broj spora aspergilusa, ali zahvaljujući zaštitnim mehanizmima one ne dovode do oboljenja kod imunokompetentnih, dok kod imunokompromitovanih pacijenata izazivaju teška oboljenja. Do sada je opisano oko 180 vrsta gljivica iz roda *Aspergillus*, a oko 40 je patogeno za čoveka. Najčešći uzročnici oboljenja kod ljudi iz ovog roda su *A. fumigatus*, a zatim *A. flavus*, *A. terreus* i *A. niger*. Kako se spore aspergilusa prenose vazдушnim putem, tako je i najčešće mesto infekcije respiratorni sistem. Pored simptomatskih infekcija, aspergilus može izazvati i asimptomatsku kolonizaciju respiratornog trakta koja može predstavljati podlogu za razvoj klinički manifestnog oboljenja pri padu imuniteta ili superponiranje drugih infekcija u respiratornom traktu. Prema načinu manifestacije aspergiloza može biti alergijska bronhopulmonalna aspergiloza, aspergilom, invazivna plućna aspergiloza kao i hronična nekrotizirajuća plućna aspergiloza⁽¹⁾.

Alergijska bronhopulmonalna aspergiloza (ABPA) je hipersenzitivna reakcija na antigen aspergilusa. ABPA se razlikuje od ostalih hipersenzitivnih reakcija, jer gljivice rastu unutar respiratornog trakta i mogu da vrše stalnu antigensku stimulaciju. Patohistološkim pregledom pluća nalazi se eozinofilna infiltracija parenhima (eozinofilna pneumonija) kao i okluzija bronha mukusnim čepom koji se sastoji od sluzi, fibrina, eozinofila i mononukleara. Karakteristično je da nema znakova invazije hifa u zid krvnog suda ili u plućni parenhim⁽²⁾.

Aspergilom se viđa kod pacijenata sa kavitarim plućnim oboljenjem. Kolonizacija, najčešće *A. fumigatusa*, dešava se u preegzistirajućim šupljinama pluća (apsces, bronhiektazije, tuberkulozne kaverne, šupljine kod pneumokonioze, karcinoma, infarkta), odnosno u svim onim stanjama gde šupljina komunicira sa spoljašnjom sredinom i gde može doći do kolonizacije gljivica⁽²⁾.

Invazivna plućna aspergiloza (IPA) je retka, teška forma plućne mikoze gde dolazi do proširenja bolesti van pluća sa pojavom granulomatozne upale sa razvojem nekroze i fokusa supuracije, kao i invazijom hifa u krvne sudove i plućni parenhim⁽²⁾.

Hronična nekrotizirajuća plućna aspergiloza (HNPA) se javlja kod pacijenata sa hroničnim plućnim oboljenjem i kod imunokompromitovanih osoba. HNPA napreduje sporo tokom nekoliko nedelja i meseci, a vaskularna invazija ili diseminacija u druge organe je izuzetno retka^(3,4).

Zbog nespecifičnih kliničkih znakova i simptoma, klinička dijagnoza aspergiloze se teško postavlja, te je rana laboratorijska dijagnoza ključna za izbor terapije, kao i za preživljavanje imunokompromitovanih pacijenata. Klasičan način za postavljanje dijagnoze se zasniva na izolaciji gljivica iz roda *Aspergillus* iz odgovarajućih materijala (sputum, bronhoalveolarni lavat, kateter biopsija) uz pozitivan patohistološki i/ili radiološki nalaz. Međutim, rast gljivica je relativno spor, a sama kultivacija nedovoljno osetljiva, a patohistološki i radiološki pregledi nedovoljno specifični. Serološki testovi su s toga od izuzetnog značaja. Za akutnu invazivnu aspergilozu značajna je detekcija antigena.

Najveći značaj ima određivanje biomarkera ćelijskog zida aspergilusa, kao što su 1,3-beta-D-glukan ili galaktomanan iako postoje izvesna ograničenja kod određenih grupa pacijenata. Određivanje antiaspergilusnih antitela je ključno za postavljanje dijagnoze ovih stanja. Razvoj različitih molekularnih metoda za postavljanje brze i tačne dijagnoze je od izuzetnog značaja^(5,6)

3. MATERIJAL I METODE

Retrospektivno ispitivanje obuhvatilo je 33 pacijenata kod kojih je u petogodišnjem periodu, od juna 2012. do juna 2017. godine, na Institutu za plućne bolesti Vojvodine (IPBV) u Sremskoj Kamenici dokazana infekcija pluća, gljivicama iz roda *Aspergillus*. Materijal za patohistološku i serološku analizu obrađen je u Centru za patologiju i Centru za mikrobiologiju, virusologiju i imunologiju IPBV. Demografski i morfološki podaci obuhvaćeni istraživanjem bili su: pol, starost, postojeći komorbiditeti, kao i tip plućne aspergiloze.

3.1. Uzorkovanje i obrada materijala za patohistološku analizu

Bioptički materijali kod pacijenata sa klinički i radiološki suspektom infekcijom izazvanom aspergilusom dobijeni su tokom bronhoskopije (bronhobiopsije, transbronhijalne biopsije i kateter biopsije), operativnim putem (uzorci dobijeni segmentektomijom i lobektomijom), ili post mortem na autopsiji. Nakon uzorkovanja materijala navedenim tehnikama uzorci su poslani u Centar za patologiju Instituta. Svi dobijeni uzorci fiksirani su u celini u 10% neutralnom formalinu i nakon kalupljenja u parafinu sečeni mikrotomom na tkivne isečke debljine 4 mikrona, a potom bojeni hematoxilin-eozin (HE) metodom (Slika 1.).

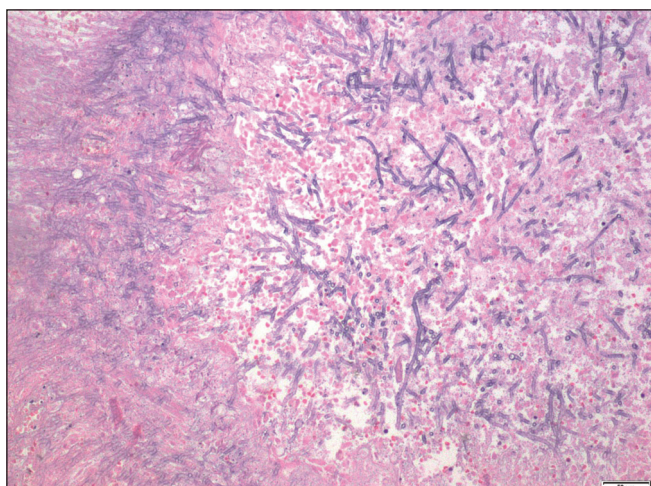
Pored standardnog HE bojenja korišćena su specijalna bojenja perjodna kiselina-Schiff metodom (PAS) (Slika 2.) i srebrom (Grocott-Gomori) (Slika 3.) koja omogućavaju bolju vizuelizaciju gljivica.

Mikroskopski, septirane hife gljivica se granaju dihotomno pod ostrim uglom od 45°. U slučajevima kada hife ne mogu biti identifikovane, nalaz kristala kalcijum-oksalata vidljivih na polarizacionom svetlu može biti od velike pomoći u postavljanju dijagnoze infekcije sa *Aspergillus-om* (naročito su karakteristični za *A. niger*)⁽⁷⁾.

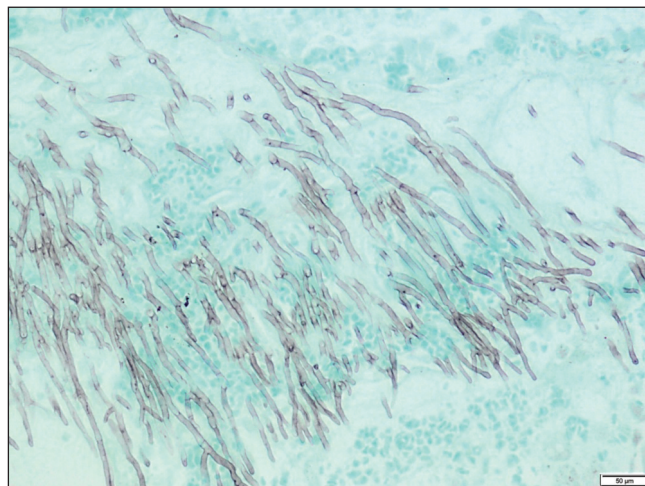
3.2. Serološke dijagnostičke metode

Uzorkovanje krvi za laboratorijske analize je invazivna metoda pri kojoj se igla uvodi u površinsku venu, najčešće površinske vene lakta, pri čemu se venska krv aspirira u brizgalicu ili direktno u epruvetu. Metoda uzorkovanja krvi u sklopu ovog istraživanja vršena je preko Vacutainer sistema koji se sastoji od igle, čiji jedan kraj ulazi u venu, a drugi kraj igle je prekriven gumenom zaštitom. Uzorci krvi poslani su u Centar za mikrobiologiju sa virusologijom i imunologiju.

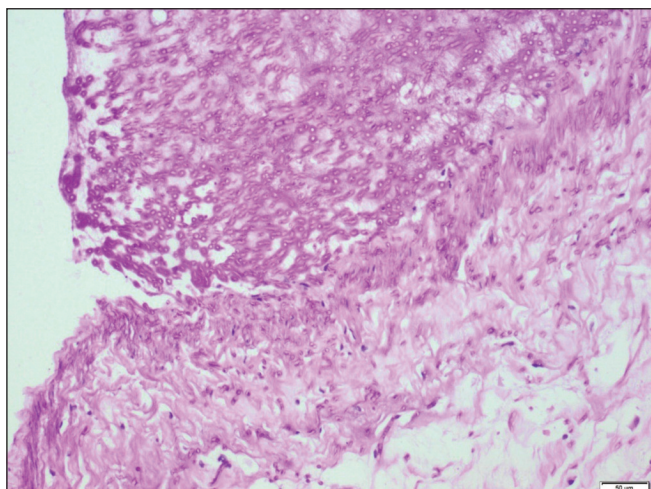
Dokazivanje galaktomanana u serumu je vršeno imunoenzimskim testom (ELISA-enzyme linked immunosorbent assay), direktnom "sendvič" tehnikom. Princip testa je antigen-antitelo reakcija. U svakom bunarčiću mikrotitracione ploče na dnu se nalaze antitela za galaktomanan. Kada se doda ispitivani serum, galaktomanan ukoliko je prisutan u uzorku, se vezuje za podlogu. Nakon toga se dodaju peroksidazom obeležena antitela. Nastanak boje određenog inten-



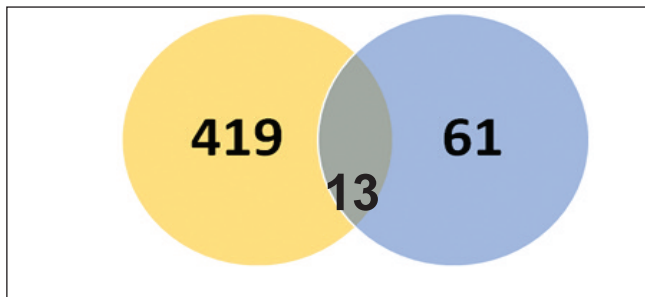
Slika 1. Hife *Aspergillus*, H&E x 100.



Slika 2. Hife *Aspergillus*, Grocott x 400.



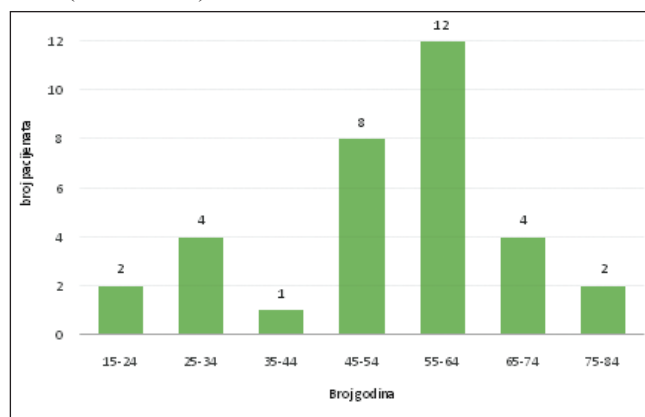
Slika 3. Hife *Aspergillus*, PAS x 200.



Grafikon 1. Pacijenti sa serološki i patohistološki dokazanom aspergilozom

Pacijenti u ovom istraživanju bili su starosti od 23 do 80 godina (prosek 51 godina sa SD ±15) godina (Grafikon 2.).

Od 33 pacijenata, 19 (58%) bili su muškarci, a 14 (42%) žene (Grafikon 3.).



Grafikon 2. Starosna distribucija pacijenata sa plućnom aspergilozom

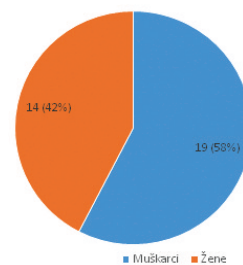
zيتeta se očitava spektrofotometrijski, a rezultati su interpretirani prema uputstvu proizvođača (Platelia *Aspergillus* Ag, Biorad, SAD). Vrednosti galaktomanana do 0,5 su se smatrale negativnim, a vrednosti iznad toga pozitivnim nalazom (8).

Za određivanje antitela IgM i IgG klase takođe je korišćena ELISA tehnika. U svakom bunarčiću mikrotitracione ploče na dnu je vezan antigen za koji se vezuju potencijalno prisutna antitela iz seruma. Nakon reakcije sa bojenim supstratom, intenzitet boje proporcionalan je količini specifičnih antitela. Interpretacija rezultata je vršena u skladu sa proizvođačem (IBL, Nemačka). Vrednosti manje od 8 U/ml smatrane su negativnim, a vrednosti preko 12 U/ml pozitivnim nalazom (9).

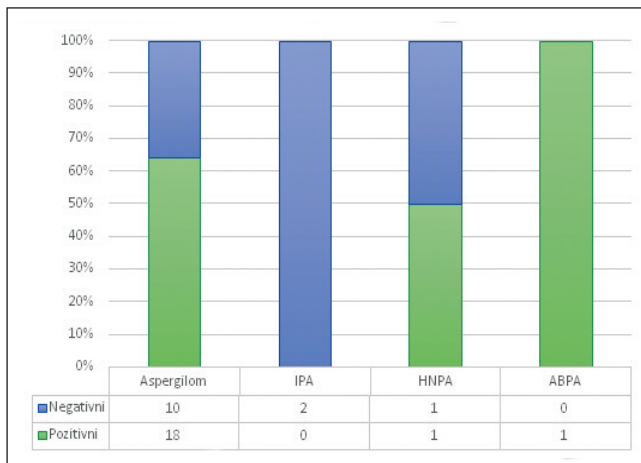
Podaci dobijeni istraživanjem unošeni su u zasebno kreiranu bazu podataka Microsoft Excell paketa. Podaci su prikazani kao distribucija frekvencija i izračunata je standardna devijacija. Nije računat χ^2 -test za utvrđivanje statističke značajnosti zbog malog uzorka. Rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

4. REZULTATI

Istraživanje je obuhvatilo period od pet godina, od juna 2012. do juna 2017. godine. U tom periodu ukupan broj pacijenata koji su imali pozitivne serološke markere aspergilozе iznosio je 419, dok broj pacijenata kod kojih je patohistološki dokazana aspergilozа bio 61. Kod 33 pacijenta infekcija je dokazana i patohistološki i serološki (Grafikon 1.).



Grafikon 3. Polna distribucija pacijenata sa plućnom aspergilozom



Grafikon 4. Nalaz galaktomanana u odnosu na tipove aspergiloze

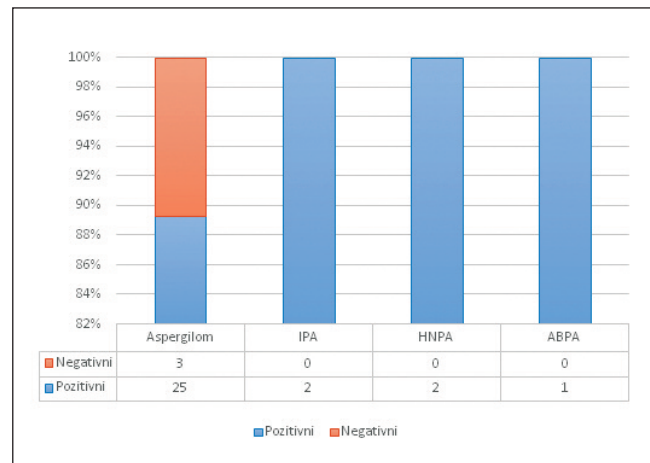
Kad je u pitanju tip aspergiloze, kod 28 (85%) pacijenata dokazan je aspergilom, kod 2 (6%) pacijenta IPA, kod 2 (6%) pacijenta dijagnostikovana je HNPA, dok je samo kod jednog (3%) pacijenta utvrđena ABPA.

Komorbidity igraju jednu od ključnih uloga u nastanku aspergiloze pluća. Kod pacijenata uključenih u naše istraživanje najčešći komorbiditet bila je tuberkuloza koja je bila dijagnostikovana kod 16 (49%) pacijenata, 7 (21%) pacijenata imalo je dijagnostikovano karcinom pluća, kod 5 (15%) pacijenata dokazane su bronhiektazije, 3 (9%) pacijenata bolovalo je od hronične opstruktivne bolesti pluća (HOBP), dok je kod 2 (6%) pacijenta postavljena dijagnoza akutne leukemije.

Kad su u pitanju komorbidity vezani za različite vrste aspergiloze, kod 28 pacijenata sa dijagnostikovanim aspergilomom njih 16 (57%) je imalo tuberkulozu, 6 (21%) karcinom pluća, 5 (18%) pacijenata je imalo bronhiektazije i 1 (4%) je imao hroničnu opstruktivnu bolest pluća. Oba pacijenta sa invazivnom plućnom aspergilozom su kao komorbiditet imali akutnu leukemiju. Dva pacijenta su imali hroničnu nekrotizirajuću plućnu aspergilozu od kojih je jedan imao hroničnu opstruktivnu bolest pluća, a drugi karcinom pluća. Jedan pacijent koji je dijagnostikovano sa alergijskom bronhopulmonalnom aspergilozom, imao je dijagnostikovano HOBP.

Kad su u pitanju vrednosti galaktomanana kod ispitivanih pacijenata, kod 20 (60%) pacijenata je bio pozitivan, dok je kod 13 (40%) bio negativan. Vrednosti antitela su bile pozitivne kod 30 (91%) pacijenata, a kod 3 (9%) pacijenata su bile negativne. U odnosu na tip aspergiloze, kod aspergiloma je 18 (64%) pacijenta je bilo pozitivno na galaktomanan, dok je 10 (36%) pacijenata bilo negativno, kod IPA su oba pacijenta bili negativni, dok je kod HNPA jedan pacijent bio pozitivan, a drugi je bio negativan i na kraju kod ABPA je jedan pacijent bio pozitivan na galaktomanan (Grafikon 4.).

Vrednosti antitela kod aspergiloma su kod čak 25 (90%) bile pozitivne dok su kod samo 3 (10%) pacijenata bile negativne, kod IPA oba pacijenta su bila pozitivna, kod HNPA su takođe oba pacijenta bila pozitivna, a kod ABPA je jedan pacijent bio pozitivan (Grafikon 5.).



Grafikon 5. Nalaz antitela u odnosu na tip aspergiloze

5. DISKUSIJA

Gljivice iz roda aspergilus su široko rasprostranjene u prirodi. Najčešće se prenose vazдушnim putem, a mogu da se nađu u sklopu tranzitorne flore respiratornog trakta. Zbog stalne izloženosti aspergilusu njegovo dokazivanje u sputumu ne govori u prilog postojanju bolesti, te se drugim dijagnostičkim metodama mora potvrditi postojanje aspergiloze (7, 10, 11).

Prema kriterijumima EORTC/MSG (European Organisation for Research and Treatment of Cancer – Mycoses Study Group) aspergiloza može da bude „dokazana”, „verovatna” i „moguća”. Ova klasifikacija ima klinički i epidemiološki značaj i prema njoj se ne određuje terapija same bolesti. Zlatni standard u postavljanju dijagnoze aspergiloze, odnosno za postavljanje dijagnoze „dokazane” aspergiloze ima patohistološki dokaz invazije tkiva hifama aspergilusa kao i izolacija aspergilusa iz primarno sterilnih regija. S obzirom na to da je za postavljanje patohistološke dijagnoze potrebno uraditi biopsiju ciljanog tkiva, što je invazivni postupak koji je kod ovakvih pacijenata često kontraindikovano, patohistološko dokazivanje nije primarno u dijagnostici aspergiloze. Zbog toga je broj „dokazanih” aspergiloza mali (12).

Za postavljanje „verovatne” dijagnoze potrebno je da postoji barem jedan faktor rizika (neutropenija, imunosupresivna terapija, leukemija), barem jedna klinička manifestacija (znaci gljivične pneumonije, bronhitisa, sinuzitisa, diseminovane infekcije) i barem jedan pozitivan serološki nalaz (pozitivan galaktomanan, povišen titar antitela protiv antigena aspergilusa)^(12,13,14). Dijagnoza „moguća” aspergiloze donosi se na osnovu podataka o postojanju barem jednog faktora rizika, kao i na osnovu barem jednog pozitivnog serološkog nalaza (12).

Za patohistološki pregled dobijeni uzorci se nakon laboratorijske obrade boje posebnim tehnikama bojenja koje omogućavaju lakše uočavanje gljivica. Dve najčešće korišćene metode su bojenje perjodnom kiselinom-Schiff metodom (PAS) i bojenje po Grocott-Gomori-ju. Aspergilus se uočava u vidu uskih, septiranih hifa sa račvanjem pod uglom od 45 stepeni. Ovakve odlike imaju i neke druge gljivice kao što su *Scedosporium* spp i *Fusarium* spp, što je bitno jer terapija može biti drugačija pa je neophodno odrediti tačno koja je gljivica u pitanju. Pored ovih gljivica bitno je razlikovati

aspergilus od gljivice roda *Mucor* koje imaju široke, nesepirane hife i račvaju se pod uglom od 90 stepeni. Gljivice iz roda *Mucor* nisu osjetljive na antigljivični lek vorikonazol, dok aspergilus jeste, te je njihova diferencijacija važna upravo zbog aplikovanja terapije (8).

U našem istraživanju pacijenti su bili starosti od 23 do 80 godina (prosek 51 godina sa $SD \pm 15$). Najveći broj pacijenata, njih oko dve trećine (64%), bilo je srednje životne dobi od 45 do 65 godina. Većina pacijenata bilo je muškog pola (58%), a najčešći tip aspergiloze bio je aspergilom koji je dijagnostikovano u čak 85% slučajeva. Preostalih 15% pacijenata ima dijagnostikovano IPA, HNPA i ABPA. Komorbiditeti igraju veoma značajnu ulogu u nastanku aspergiloze i najčešći komorbiditeti kod pacijenata u našem istraživanju bili su tuberkuloza (49%), karcinom pluća (21%), bronhiektazije (15%) i HOBP (9%). Kad je u pitanju aspergilom koji je u ubedljivo najvećem broju dijagnostikovano, najčešći komorbiditeti su tuberkuloza na prvom mestu sa 57%, zatim karcinom pluća sa 21%, bronhiektazije pluća sa 18% i HOBP sa 4%.

U istraživanju Taccone i sar. prosek godina pacijenata obolelih od aspergiloze bio je 67 godina sa standardnom devijacijom od ± 17 (15). Od ukupnog broja pacijenata muškarci su zahvatili 61% pacijenata, a žene 39%. Kad su u pitanju komorbiditeti prisutni kod pacijenata u njihovom istraživanju 31% pacijenata imao je HOBP, 10% karcinom, a 8% leukemiju. Kod 57% pacijenata dijagnoza je postavljena na osnovu pozitivnih vrednosti galaktomanana. Patohistološki i citološki, hife su nađene u uzorcima uzetim brohoalveolarnom lavažom, biopsijom i u uzorcima tkiva uzetim na autopsiji. U studiji Lin i sar. o invazivnoj aspergilozi najčešći komorbiditet bila je akutna leukemija u 44% pacijenata što je u saglasnosti sa drugim literaturnim podacima (16).

Uzimajući u obzir najčešće komorbiditete u naših pacijenata (TBC, karcinom i bronhiektazije), za očekivati je bilo da i najčešći tip aspergiloze bude upravo aspergilom. U literaturi se najviše navode istraživanja koja se baziraju na ispitivanju invazivne aspergiloze pluća zbog značaja njenog pravovremenog i pravilnog dijagnostikovanja, dok je u našem istraživanju ona bila postavljena samo kod dva pacijenta koji su oboleli od akutne leukemije.

Veliki značaj u dijagnostici aspergiloze imaju serološke metode, tačnije dokazivanje galaktomanana u serumu i određivanje titra serumskih antitela IgG i IgM na antigene aspergilusa (17).

Kad su u pitanju rezultati naših seroloških ispitivanja, galaktomanan je bio pozitivan kod 20 (60%) dok je kod 13 (40%) bio negativan. Vrednosti galaktomanana kod pacijenata sa aspergilomom su bile pozitivne kod 18 (64%) pacijenata dok su negativne bile kod 10 (36%) pacijenata, kod

pacijenata sa IPA vrednosti su bile negativne kod oba pacijenta, kod pacijenata sa HNPA jedan pacijent je imao pozitivne vrednosti dok je drugi imao negativne, a jedini pacijent sa ABPA je imao pozitivne vrednosti galaktomanana. U Studiji Yamakami i sar. kod pacijenata sa dijagnostikovanim aspergilomom, od njih 9 ni jedan nije bio pozitivan na galaktomanan, od 6 pacijenata sa HNPA 3 pacijenta su bila pozitivna, a od 12 pacijenata sa IPA, njih 6 je bilo pozitivno (6).

Vrednosti antitela klase IgM i IgG su kod 30 (91%) pacijenata bile pozitivne, dok su kod samo 3 (9%) osobe bile negativne. Kod pacijenata sa aspergilomom vrednosti antitela su bile pozitivne kod 25 pacijenata, a samo kod 3 pacijenata su bile negativne. Pored ovih pacijenata, 2 su dijagnostikovane sa IPA, 2 sa HNPA i jedan sa ABPA i svi su imali pozitivne vrednosti antitela. U istraživanju Brummund i sar. pozitivne vrednosti IgG antitela su uočene kod 13 (100%) pacijenata sa ABPA i kod 12 (100%) pacijenata sa aspergilomom, dok su vrednosti IgM bile povišene kod 8 (62%) pacijenata sa ABPA i samo kod jednog (8%) pacijenta sa aspergilomom. U istraživanju Hearn i sar. pozitivne vrednosti antitela je imalo 8 (67%) pacijenata sa ABPA dok je 11 (85%) pacijenata sa dijagnostikovanim IPA bilo takođe pozitivno.

Patohistološka analiza tkiva predstavlja zlatni standard pri postavljanju dijagnoze aspergiloze. Materijal za patohistološku analizu dobija se invazivnim medicinskim postupcima, te se prilikom izvođenja ovih procedura mogu javiti određene komplikacije, dok sa druge strane kod određenog broja pacijenata usled prisustva kontraindikacija (trombocitopenija) nije ni moguće sprovesti neku od ovih metoda uzorkovanja. Sa druge strane, i pored najsavremenijih mikrobioloških metoda, postavljanje pravovremene i precizne dijagnoze oboljenja izazvanih gljivicama iz roda *Aspergillus* predstavlja veliki izazov. Iako su serološka ispitivanja metoda prvog izbora u dijagnostičkom algoritmu aspergiloze, nikada se ne koriste sama. Samo multidisciplinarnim pristupom moguće je doći do prave i pravovremene dijagnoze aspergiloze, uzimajući u obzir stanje pacijenta i njegov imunološki status. Neophodno je dalje usavršavati postojeće testove, raditi na uspostavljanju preporuka za detekciju aspergilusa kod različitih formi oboljenja i grupa pacijenata, kako bi se izbegla nepotrebna primena antimikotika, odnosno obezbedila adekvatna terapija kada i gde je to neophodno.

Abstract

Introduction: *Aspergillus* spp. can cause a wide range of lung diseases, depending on the current state of immunity and the existing pulmonary diseases. Although histopathological diagnostics is a gold standard for setting a definite diagnosis of aspergillosis, serological methods are preferred because of their less invasiveness and more favorable profile of complication and contraindications. **Goal:** The objective of this study was to determine the relation of pathohistological and serological diagnosis of patients with aspergillosis. **Material and Methods:** This retrospective study included 33 patients with lung aspergillosis diagnosed at the Institute for Pulmonary Diseases of Vojvodina from June 2012 until June 2017. The material for pathohistological and serological analysis was processed at the Centre for Pathology and Center for Microbiology, Virology and Immunology of the Institute. **Results:** From total of 33 patients, aspergilloma was diagnosed at 28 (85%) patients, 2 (6%) patients had CNPA, 2 (6%) patient had IPA and one (3%) was diagnosed with ABPA. The most common comorbidities were: tuberculosis in 16 (49%) patients, lung carcinoma in 7 (21%) patients, bronchiectasis in 5 (15%), HOBP in 3 (9%) and acute leukemia in 2 (6%) patients. Galactomannan was positive in 20 (60%) and negative in 13 (40%). The antibody values were positive in 30 (91%) patients, and 3 (9%) were negative. **Conclusion:** Histopathological examination is the only way to set a definite diagnosis of aspergillosis, but due to invasiveness, contraindications and complications, serological tests should be used as the first step in diagnosis.

LITERATURA

- Soubani AO, Chandrasekar PH. The Clinical Spectrum of Pulmonary Aspergillosis. *Chest*. 2002; 121:1988-99.
- Denning DW. Chronic forms of pulmonary aspergillosis. *Clin Microbiol Infect*. 2001;7 Suppl 2:25-31.
- Parra I, Remacha A, Rezusta A, et al. Chronic necrotizing pulmonary aspergillosis. *Med Mycol*. 2004; 42:369-71.
- Latge J. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clin Micro Rev*. 1999; 12:310-50.
- Guinea J, Bouza E. Current challenges in the microbiological diagnosis of invasive aspergillosis. *Mycopathologia*. 2014;178:403-16.
- Yamakami Y, Hashimoto A, Yamagata E, Kamberi P, Karashima R, Nagai H et al. Evaluation of PCR for Detection of DNA Specific for *Aspergillus* Species in Sera of Patients with Various Forms of Pulmonary Aspergillosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1998;36(12):3619-3623.
- Dagenais TRT, Keller NP. Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in invasive aspergillosis. *Clin Microbiol Rev*. 2009; 3(22):447-65.
- De Pauw B, Walsh T, Donnelly P, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European organization for research and treatment of cancer/Invasive fungal infections cooperative group and the National institute of allergy and Infectious diseases mycoses study group (EORTC/MSG) consensus group (2008). *Clin Infect Dis*. 2008; 46:1813-21
- Kousha M, Tadi R, Soubani AO. Pulmonary aspergillosis: a clinical review. *Eur Respir Rev*. 2011;20(121):156-74.
- Mennink-Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis* 2004; 4:349.
- Mattei D, Rapezzi D, Mordini N, Cuda F, Nigro CL, Musso M et al. False-positive *Aspergillus* galactomannan enzyme-linked immunosorbent assay results in vivo during amoxicillin-clavulanic acid treatment. *J Clin Microbiol* 2004; 42:5362.
- Walsh TJ, Shoham S, Petraitiene R, Sein T, Schaufele R, Kelaher A et al. Detection of galactomannan antigenemia in patients receiving piperacillin-tazobactam and correlations between in vitro, in vivo, and clinical properties of the drug-antigen interaction. *J Clin Microbiol* 2004; 42:4744.
- Huang YT, Hung CC, Hsueh PR. *Aspergillus* galactomannan antigenemia in penicilliosis marneffei. *AIDS* 2007; 21:1990.
- Ratkov E, Vidović A, Minić P, Janić D, Šipetić-Grujičić S, Džamić A et al. Nalaz laboratorijskih biomarkera kod hematoloških i pulmoloških bolesnika s visokim rizikom za aspergilozu. *Srp Arh Celok Lek*. 2012; 140(5-6):290-8.
- Taccone FS, Abeele AM, Bulpa P, Misset B, Meersseman W, Cardoso T et al. Epidemiology of invasive aspergillosis in critically ill patients: clinical presentation, underlying conditions, and outcomes. *Crit Care*. 2015; 19(1): 7.
- Lin SJ, Schranz J, Teutsch SM. Clinical Infectious Diseases. 2001 Feb 1; 32(3):358-66.
- Powers-Fletcher MV, Hanson KE. Molecular diagnostic testing for *Aspergillus*. *J Clin Microbiol*. 2016;54(11):2655-60.