



AUTORITATEA DE SĂNĂTATE PUBLICĂ A MUNICIPIULUI BUCUREȘTI
SPITALUL CLINIC DE BOLI INFECȚIOASE ȘI TROPICALE
„DR. VICTOR BABEȘ”

Șos. Mihai Bravu nr. 281 – 283, sector 3 Tel: 317.27.27, 317.27.28 Tel/Fax: 317.27.21
web site: www.spitalulbabes.ro e-mail: vbabes@xnet.ro



SPITALUL CLINIC „Dr. V. BABEȘ”
BUCUREȘTI

Șos. MIHAI BRAVU Nr. 281

Nr. 1631

04 Luna 02 2015



Aprobat Manager

Dr. Enăsan Ioan Imbri

Protocol infecții oportuniste neurologice la pacienții seropozitivi HIV

LEUCOENCEFALOPATIA MULTIFOCALA PROGRESIVĂ -PML (Progressive multifocal leukoencephalopathy)

Definiție: Leucoencefalopatia multifocală progresivă (PML) este o afecțiune demielinizantă a sistemului nervos central (SNC) produsă prin reactivarea virusului JC (JCV) produsă în condiții de imunodepresie, caracterizată prin modificări histopatologice și radiologice specifice.

Date clinice

! PML trebuie suspectată la orice pacient cu infecție HIV și manifestări neurologice focale

- ✓ debutul este
- progresiv cu evoluție spre agravare (mai rapid decât în cazul encefalopatiei HIV)
- în afibrilitate
- inițial: afectare neurologică multifocală (dependentă de localizarea primară a leziunii demielinizante)
- ulterior: leziuni plurifocale ce apar în decurs de săptămâni sau luni
- semnele și simptomele clinice sunt în relație directă cu localizarea leziunilor
- deficite motorii cu topografie variabilă (mono-, hemipareză, hemiplegie)
- tulburări vizuale (deficite de câmp vizual)
- sindrom cerebelos (ataxie)
- vertij
- tulburări senzitive
- deficite de nervi cranieni
- tulburări cognitive
- demență
- convulsii (mai frecvente în cursul evoluției decât la debut)
- coma

! Important pentru diagnostic: semnele care lipsesc

- febra
- hipertensiune intracraniană
- semne de encefalită

Diagnostic

Examen neuroimagistic

- caracteristici generale: leziuni unice sau multiple confluențe, fără edem, fără efect de masă, fără captarea substanței de contrast
- localizarea cea mai frecventă la nivelul substanței albe din lobul parieto-occipital
- uneori localizare infratentorială
- leziuni asimetrice
- de obicei nu sunt afectate fibrele subcorticeale în U
- excepțional afectarea substanței cenușii și a măduvei spinării



- ✓ **Tomografia computerizata (TC) este total inutilă pentru diagnosticul PML** deoarece poate indica un aspect normal sau zone de hipodensitate - unice sau multiple, localizate în substanța albă
- ✓ **Rezonanța magnetică nucleară (RMN) este investigația neuroimagică de elecție**
- ✓ mai sensibilă decât TC
- ✓ evidențiază extinderea leziunilor
- ✓ aspectele tipice sunt leziunile multiple
 - hipointense în secvențele ponderate T1 și
 - hiperintense în secvențele ponderate T2 și FLAIR
 - localizate în substanța albă
- ✓ **Exceptional** poate exista
 - discretă captare a substanței de contrast la periferia leziunii (asociată la pacienții cu HIV cu prognostic favorabil)
 - efect de masă perilezional (statistic pare asociat cu prognostic nefavorabil)

Lichidul cefalorahidian (LCR)

- ✓ aspect normal sau proteinorahie ușor crescută
- ✓ Detectarea ADN JCV în LCR prin Polymerase chain reaction (PCR)
 - sensibilitate 72-92% și specificitate 92-99 %
 - cantitatea de JCV din LCR este un marker reliabil -ar putea avea valoare prognostică
 - poate elimina necesitatea/incovenientul legat de efectuarea biopsiei cerebrale
- ✓ Evaluarea ARN HIV din LCR poate furniza date indirecte (la pacienții cu PML în general nivelul ARN HIV din LCR este mai redus decât cel din plasmă (Duiculescu, 2011 #143) poate exclude encefalopatia HIV

Biopsia cerebrală

- ✓ Diagnosticul biptic intravital este dificil.
- ✓ În asemenea cazuri este utilă hibridizarea în situ cu probă de ADN viral. Genomul JCV și proteinele virale pot fi detectate în secțiuni tisulare prin hibridizare „în situ” și imunohistochimie.
- ✓ aspecte caracteristice:
 - focare multiple de demielinizare în substanța albă
 - oligodendrocite cu nuclei mari hiper cromatici și material intanuclear bazofil
 - astrocite mărite, bizare, cu nuclei lobulați hiper cromatici

Diagnostic pozitiv

Criterii de consens pentru diagnosticul PML (Cinque, Koralnik et al. 2003):

- ✓ Diagnostic definitiv (causal):
 - PML confirmat prin examenul LCR, aspecte clinice și RMN evocatoare și punerea în evidență a JCV în LCR
 - PML confirmat prin examinarea tesutului cerebral, evidențierea modificărilor neuropatologice în tesutul cerebral (biopsie sau autopsie) cu detectarea ADN JCV sau a proteinelor virale prin tehnici în situ
- ✓ Diagnostic prezumtiv (clinic): evidențierea modificărilor tipice clinice și la examenul prin RMN, și biopsie cerebrală sau puncție lombară, fie neefectuată, fie nu s-a detectat JCV în LCR

Diagnostic diferențial: cu alte cauze de leziuni neurologice focale:

- ✓ toxoplasmoza cerebrală
- ✓ limfom cerebral primitiv
- ✓ tuberculum sau abces cerebral tuberculos
- ✓ criptococoame
- ✓ encefalita cu virus varicelos / virus herpes simplex / CMV



Prognostic și evoluție

Management

Tratament

- ✓ nu exista tratament etiologic -au fost investigati diversi agenti antivirali, dar fără rezultate incurajatoare:
- ✓ **cART**
 - este singurul abord terapeutic care îmbunătățește prognosticul la majoritatea pacienților, prin creșterea imunității celulare și încetinirea evoluției.
 - dintre ARV
 - există studii care arată ca folosirea medicației ARV cu bună penetrabilitate la nivelul SNC ar avea un beneficiu suplimentar (Gasnault J. 2008)
 - asocierea T20 poate contribui la o mai rapidă reconstituire imunologică (Gasnault J. 2008)
 - poate determina sindrom inflamator de reconstituire imuna ce constă fie în "demascarea" unui PML, fie în agravarea PML fie prin agravarea paradoxală a unui PML – asociată de obicei cu fenomene inflamatorii, caz în care se poate administra corticoterapie și întrerupe cART pentru o scurtă perioadă

MENINGOENCEFALITA TUBERCULOASA (MTB)

Cadru general:

- ✓ Afectarea sistemului nervos de către M tuberculosis se poate manifesta sub 3 forme clinice: meningoencefalita tuberculoasă (MTB), abcesele cerebrale sau tuberculoamele și afectările spinale sau radiculare
- ✓ MTB apare ca manifestare a infecției tuberculoase la pacienții cu infecție HIV și imunodepresie severă ($CD4+ < 200 \text{ l/mm}^3$)
- ✓ este asociată cu mortalitate ridicată mai ales în cazurile diagnosticate tardiv

Etiologie: *Mycobacterium tuberculosis*

- ✓ bacil aerob, nesporulat, imobil
- ✓ perete celular format din acid micolic
- ✓ prezintă acid- alcool rezistență

Date clinice

- ✓ debut insidios
- ✓ simptome nespecifice și variabile constând din:
 - sindrom de impregnare bacilară
 - sindrom infectios cu febră, transpirații, astenie
- ✓ sindrom meningian
- ✓ sindrom de hipertensiune intracraniană cu:
 - cefalee, vărsături, fotofobie
 - semne de iritație meningiană:
 - redoare de ceață, Kernig, Brudzinski
- ✓ sindrom encefalitic (cu afectarea senzoriului și cognitivă până la comă)
- ✓ deficite focale mai ales în cazul tuberculoamelor sau abceselor cerebrale
- ✓ afectarea nervilor cranieni este frecventă, mai ales în contextul meningitei bazale
- ✓ edemul papilar este cea mai frecventă manifestare a MTB la copii, poate progresa către atrofie optică și cecitate
- ✓ manifestări psihiatrice (impun explorări complementare și mai ales puncție lombară (PL), dacă pacienții nu aveau antecedente psihiatrice cunoscute)

Se utilizează o stadializare clinică care are valoare prognostică:

Stadiu	Descriere
Stadiul 1	✓ semne nespecifice de boală
1	✓ fără deficite neurologice sau hidrocefalie
	✓ constiență pastrată
Stadiul 2	✓ semne de iritație meningeală
2	✓ deficite neurologice minore (paralizii de nervi cranieni)
Stadiul 3	✓ convulsii
3	✓ pareză
	✓ comă

Diagnostic:

Lichidul cefalorahidian (LCR)

- ✓ aspectul LCR nu diferă față de aspectul cunoscut al MTB de la pacienții fără infecție HIV:
 - clar, opalin sau xantocrom
- ✓ în cazul tuberculoamelor sau abceselor TB examenul LCR poate fi normal
- ✓ pleiocitoza cu
 - limfocite (predomină limfocitele mici monomorfe)
 - polinucleare neutrofile (mai ales la debut)
- **Atentie ! Uneori LCR poate fi acelular (Laguna, Adrados et al. 1992)**
- ✓ proteinorahie crescută (adesea $> 1 \text{ g/L}$)
- ✓ glicorahie scăzută
- ✓ **Atentie ! Uneori proteinorahia și glicorahia pot fi normale**
- ✓ vâul BK – când este prezent, uneori se poate evidenția prezenta BAAR pe frotiul Ziehl-Nielsen (ZN)
- ✓ frotiul ZN (din sediment LCR) este pozitiv într-un număr redus de cazuri (25 %)
- ✓ cultura BK

- necesită timp
- este pozitivă în 50-70 % din cazuri (probabilitatea de diagnostic pozitiv prin frotiu sau cultură crește cu cât se examinează un număr mai mare de probe și cu cât cantitatea probei este mai mare)
- ✓ antibiograma BK (lărgită) este obligatorie pentru toți pacienții cu MTB confirmată prin culturi
- ✓ **PCR pentru BK** din LCR- este o metodă rapidă de diagnostic (Bonington, Strang et al. 2000)
 - are specificitate între 88 – 100 % și sensibilitate între 33 – 90 %
 - poate da rezultate fals negative (Gascoyne-Binzi and Hawkey 1999)
- ✓ determinarea adenosin deaminazei (ADA) (eliberată de limfocitul T) arată nivele crescute în LCR în MTB (nu și în meningitele virale sau bacteriene) dar nu este totuși specifică (poate fi crescută și în meningita limfomatoasă, și în neurosarcoidoză).

Aspecte neuroimagistice

- **Tomografia computerizată cerebrală (TC)** evidențiază
 - ✓ hidrocefalie
 - ✓ leziuni focale
 - ✓ captarea substanței de contrast la nivelul meningelui
- **Rezonanța magnetică nucleară (RMN)**
 - ✓ este mai sensibilă decât TC
 - ✓ evidențiază
 - priza de contrast la nivelul meningelui (mai ales la nivelul cisternelor bazale)
 - dilatarea ventriculilor cerebrali (hidrocefalie)
 - ✓ sau
 - aspect de abcese cerebrale sau tuberculoame
- ✓ leziunile parenchimatose sugestive pentru diagnosticul de abcese cerebrale sau tuberculoame sunt multiple, hipointense în T2 (tuberculoamele) cu o capsulă izointensă (necroza caseoză), captează substanța de contrast fie nodular – în cazul tuberculoamelor, fie periferic în cazul abceselor și asociază edem perilezional cu efect de masă
- ✓ rar se observă aspect de cerebrită tuberculoasă: zone hipodense periferice fără legătură cu zona de vascularizație a unui vas asociate cu priză de contrast giriformă sau cu accidente ischemice, multiple, simetrice localizate preferențial în nucleul caudat, capsula internă și talamus
- ✓ leziunile spinale sunt vizibile la administrarea contrastului, au localizare bine delimitată, captează contrastul mai ales la periferie și specific la nivelul rădăcinilor nervilor spinali

Teste sistemice

- ✓ radiografia pulmonară poate indica aspect de afectare pulmonară concomitentă
- ✓ examenul de spută sau lavajul gastric cu frotiu ZN și culturi BK pot fi uneori pozitive
- ✓ hemocultura pentru mycobacterii poate stabili diagnosticul de certitudine, este mai sensibilă la pacienții cu imunodepresie severă
- ✓ testul cutanat la PPD
 - are rata mare de rezultate fals negative (cu o corelație inversă cu valoarea CD4)
 - rezultate pozitive la 25% din cazuri
- ✓ în ceea ce privește testul Quantiferon-gold TB din LCR, opiniile sunt împărțite, pe de o parte există date care indică o bună sensibilitate și specificitate la copiii cu tuberculoză din România (Caliman-Sturdza, Mihalache et al. 2010), pe de altă parte se menționează lipsa sensibilității acestui test (Mendez Echevarria, 2010 #113). Nu există însă date legate de utilitatea acestor teste din LCR pentru diagnosticul MTB la pacienții cu infecție HIV. Oricum testul Quantiferon gold TB din plasmă este mai puțin fiabil mai ales dacă pacienții au imunodepresie severă (Mazurek, Jereb et al. 2010)
- ✓ examinarea fundului de ochi poate evidenția aspect caracteristic de tuberculi coroidieni
- ✓ hiponatremie prin sindrom de secreție inadecvată de hormon antidiuretic

Diagnosticul de certitudine este stabilit prin culturile pozitive pentru BK din LCR, sau în baza modificărilor specifice la examenele biotice (efectuate intravital mai ales pentru diagnosticul tuberculoamelor sau abceselor cerebrale)

Diagnostic diferential

- ✓ meningita cu *Cryptococcus neoformans*
- ✓ meningite bacteriene
- ✓ meningite limfocitare
- ✓ coccidioidomicoza
- ✓ histoplasmoza

Tratament – principii

- ✓ Tratamentul TBC se va începe cât mai rapid după recoltarea probelor bacteriologice, chiar și numai pe baza unui diagnostic prezumtiv
- ✓ **Terapia anti-TBC și ARV nu va fi începută simultan** din cauza următorilor factori:
 - cumulara toxicității medicamentoase
 - evitarea interacțiunilor medicamentoase
 - necesitatea asigurării aderenței optime la tratament
 - evitarea apariției posibilelor reacții paradoxale (sindrom de reconstituire imună)
- ✓ *Excepție:* La pacienții cu imunodepresie severă tratamentul ARV se va iniția cât mai rapid posibil pentru scăderea mortalității (Abdool Karim, Abdool Karim et al. 2010)
- ✓ Atunci când imunodepresia nu este severă se va trata întâi tuberculoza, iar terapia antiretrovirală se va introduce după 4-6 săptămâni.
- ✓ **Tratamentul TBC** va constă dintr-o asociere de patru medicamente antituberculoase din care ideal 2 majore care să patrundă în LCR:
 - Isoniazida (HIN) – 10 mg /kgc/zi (max.300mg/zi)
 - Rifampicina (RIF) – 10 mg/kgc/zi (max.600mg/zi)
 - Pirazinamida (PZM)- 15-30mg/kgc/zi(max.2000mg/zi)
 - Etambutol (EMB) –15mg/kgc/zi(max.1600mg/zi) sau
 - Streptomicina (SM) –20mg/kgc/zi (max.1000mg/zi)
- ✓ Primele două luni (tratamentul de atac) se administrează patru antituberculoase (HRZE), apoi se continuă cu două (HR)
- ✓ Perioada de atac va fi mai lungă de două luni dacă culturile BK se mențin pozitive mai mult de 2 luni.
- ✓ Tratamentul se va administra zilnic (7/7) pe o durată de 9-12 luni.
- ✓ Eventual se poate administra în regim 3/7 în perioada de continuare de tratament.

Se recomandă

- ✓ tratamentul strict supravegheat (TSS) pentru toți pacienții cu infecție HIV și MTB.
- ✓ efectuarea **antibiogramei** cu adaptarea tratamentului după obținerea rezultatului acesteia (mai ales pentru cazurile cu rezistență)
- ✓ terapia adjuvantă cu corticosteroizi (CS).
- ✓ monitorizarea clinică și de laborator, precum și urmărirea reacțiilor adverse.
- ✓ **! Atenție la interacțiunile dintre RIF și inhibitorii de protează (IP) (Cohen and Meintjes 2010)**
- ✓ efectuarea unui sondaj ventricular la pacienții la care apare hidrocefalie
- ✓ Terapia de linia a 2-a care se poate administra în caz de rezistență la medicația antituberculoasă de prima linie include: Etionamida, Cicloserina, Protionamida, PAS, aminoglicozide, Capreomicină iar dintre fluorochinolone: Ciprofloxacina, Ofloxacina și Levofloxacina
- Ca regulă generală folosirea agenților de linia a 2-a se face după consult cu medicul specialist pneumolog și ideal în baza antibiogramei, un antituberculos major (HIN sau RMP) se va înlocui prin 2 antituberculoase minore sau de rezervă
- Agenți noi potențiali sunt Oxazolidinona și Isepamicin și TMC 207 (Doi 2009)
- În cazul apariției **sindromului de reconstituire imună** caracterizat prin agravarea paradoxală simptomelor inițiale (febră înaltă, limfadenopatie, extinderea leziunilor SNC) și modificări radiologice sau prin apariția la scurt timp după inițierea cART a MTB se recomandă:
 - ✓ Continuarea/inițierea terapiei TBC și ARV
 - ✓ asocierea medicației simptomatice dacă reacția este ușoară sau
 - ✓ asocierea corticoterapiei sistemice dacă reacția este severă.
- Se contăindea administrarea de Rifapentine o dată pe săptămână sau regimul cu administrare de două ori pe săptămână
- Răspunsul la terapie este similar cu cel al pacienților HIV negativi, totuși durata optimă a tratamentului rămâne încă o problemă controversată

MENINGITA CU CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS (CNM)

Definiție: meningita și meningoencefalita sunt cele mai frecvente manifestări ale infecției cu *C. Neoformans* (CN) cu evoluție subacută sau cronică care apare în condiții de imunodepresie celulară

Manifestari clinice:

Meningita și meningo-encefalita sunt cele mai frecvente manifestări ale infecției cu CN, ele pot fi prezente la un pacient în mod izolat sau în contextul unei criptococozes diseminate (care poate include afectarea pulmonară, cutanată (leziuni ulcerate sau asemănătoare moluscum contagiosum) ca și afectarea altor organe cum ar fi oase, rinichi, ficat și țesut limfatic, prostata, ochi, etc)

Manifestările clinice neurologice ale infecției cu CN sunt variabile de la forme de meningită fulminantă la cefalee moderată în context de sindrom febril prelungit

Meningita cu *C. neoformans*

- ✓ Debutul este insidios (uneori până la 1 lună) cu semne nespecifice, care se agravează treptat cefalee: febră, astenie, mialgii, artralgii, vărsături, afectarea statusului mental.
- ✓ Pot fi prezente de asemenea durerile oculare, fotofobia, parezele de nervi cranieni (în special oculomotori), redoarea de ceafă, modificări cognitive-comportamentale cu tulburări de memorie, demențiere, alterarea statusului mental: obnubilare, agitație, delir, convulsii, ataxie, semne neurologice focale.
- ✓ Sindromul meningeal e prezent doar la 25-40%
- ✓ Procesele înlocuitoare de spațiu (criptococoamele) de obicei multiple și sunt asociate de obicei cu modificarea LCR (Perfect and Casadevall 2002)
- ✓ Sindromul de hipertensiune intracraniană survine în formele severe, se asociază cu fenomene de edem cerebral (afectarea vederii, prin procese de arahnoidită, nevrită optică, chorioretinită sau edem papilar, diplopie, pierderea auzului, cefalee atroce, confuzie, edem papilar) – necesită șunt ventriculo-peritoneal
- ✓ Afectarea nervilor optici este relativ frecventă (5% din cazuri) și ar loc fie prin mecanism direct, fie prin fenomene de arahnoidită optochiasmatică, fie prin compresiune în contextul sindromului de hipertensiune intracraniană (Rex, Larsen et al. 1993)
- ✓ Afectarea medulară este excepțională și se poate manifesta ca abces/ proces înlocuitor de spațiu sau prin fenomene de arahnoidită (Nfoussi, Chelly et al. 2010)

Diagnostic pozitiv:

Diagnosticul de infecție cu CN se stabilește conform criteriilor CDC Atlanta 1993 prin: *histologie și citologie, cultură sau detecția antigenului din specimene obținute direct din țesuturi afectate sau fluide obținute din acele țesuturi – în cazul meningitei cu CN examen microscopic: cu tus de China, culturi pe mediu Sabourand sau pe sistem automat BacT/Alert, reacția de aglutinare pentru antigen criptococcic în LCR și ser, examen histopatologic*

Teste serologice

Detectarea antigenului capsular polizaharidic al *Cn* în ser prin latex aglutinare

- se poate face din sânge sau din LCR
- valoros ca test de screening în cazul în care nu se poate efectua puncția lombară sau când se începe o terapie ARV pentru a preveni sau diagnostica meningita cu C.N în contextul sindromului inflamator de reconstituire imună
- totuși o serologie pozitivă pentru CN în lipsa semnelor clinice sugestive de meningită cu CN trebuie repetată
- are valoarea predictivă pozitivă direct proporțională cu titrul seri, pentru că de obicei persistă luni după ce s-a stabilit diagnosticul de CNM
- dacă e absent în LCR dar prezent în ser exclude meningita cu C.N
- mai puțin util pentru monitorizarea răspunsului la tratament

Puncția lombară:

- caracteristică este hipertensiunea LCR (>200 mm Hg) care atunci când e mai mare de 250 mm Hg are valoare prognostică nefavorabilă
- aspectul macroscopic este clar

- biochimia LCR: albuminorahie normală sau discret crescută (până la 1 g/l), glicorahie de obicei scăzută
- pleocitoza este relativ redusă (atenție CN are aceleași dimensiuni cu celule nucleate – poate da rezultate eronate la număratoarea directă, iar elementele sunt predominant mononucleare
- confirmarea diagnostică se face prin:
- examen direct Tuș de China – aspect tipic se vizualizează capsula birefringentă- e pozitiv în 25-80%, dacă e făcut din sediment crește valoarea diagnostică
- antigen criptococcic pozitiv (titru > 1/8) este util pentru un diagnostic rapid, are o sensibilitate și specificitate crescute (decelat în 95% din cazuri), util și pentru monitorizarea răspunsului la terapia antifungică. Antigenul poate rămâne pozitiv la titruri scăzute, în ciuda unui tratament antifungic eficient
- cultura pe mediu Sabouraud sau în sistem automat dă rezultat la 3-10 zile – confirmă diagnosticul, e pozitivă doar la 75% din pacienți

Analiza altor produse biologice - este utilă pentru confirmarea Criptococozei diseminate hemocultură (adesea pozitivă), urocultură, lavaj bronhoalveolar (poate indica doar colonizarea), leziune cutanată, etc

Detectarea ADN CN : din produse biologice are sensibilitate și specificitate crescută, superioară culturilor (85,7%) (Paschoal, Hirata et al. 2004)

Evaluare imagistică

CT/RMN

- de preferat înaintea puncției lombare
- aspectul neuroimagic poate fi normal, chiar și în cazurile grave
- aspecte CT :
- ✓ aspect de meningită cu priză de contrast la nivelul meningelui
- ✓ criptococame: formațiuni înlocuitoare de spațiu cu dimensiuni variabile (de obicei mici), margini neregulate, frecvent confluențe, localizate de obicei la baza creierului
- ✓ hidrocefalie prin obstrucția orificiilor de drenaj al LCR – apare mai rar
- ✓ rar leziuni nespecifice: atrofie, leziuni focale
- ✓ la examenul RMN se pot vizualiza în plus:
- ✓ în cadrul afectării parenchimatoase se disting două forme de meningită
- ✓ cea areactivă la care leziunile sunt bine delimitate cu hiposemnal T1 și T2 ce nu captează contrastul (pseudochiști gelatinoși)
- ✓ forma granulomatoasă cu leziuni cu hiposemnal T1 și hipersemnal T2 și priză de contrast care sunt situate în special în endimul plexurilor coroide (fiind posibile dilatații ventriculare) – aceste leziuni nu pot fi diferențiate de abcesele cerebrale de altă origine
- ✓ modificări la nivelul ganglionilor bazali
- ✓ modificări ale densității LCR de tip punctiform care se corelează cu prezența criptococilor în spațiile Virchow-Robin
- ✓ dilatații ale spațiilor Virchow-Robin
- ✓ excepțional pot apărea modificări la nivel medular cu aspect de abces sau arahnoidită
- ✓ se pot vizualiza calcificări la nivelul spațiilor meningeene – ca sechelă a unei meningite cu CN

Rx pulmonar : normal sau cu aspect de infiltrate interstițiale, cavități, noduli, pleurezie, adenoptice

Examen histologic :

- ✓ la nivelul LCR sau țesutului cerebral se pun în evidență funghi rotund-ovalari înconjurați de capsulă polizaharidică – fungul poate fi izolat sau acompaniat de o celulă flică, dezvoltă excepțional pseudohife
- ✓ capsula birefringentă a CN se vizualizează la examenul cu Tuș de China (India Ink)
- ✓ în țesuturi capsula CN poate fi vizualizată prin colorare cu mucicarmină (care fixează mucopolizaharide)
- ✓ fragmentele de țesut pot fi colorate cu colorația Fontana-Masson, care detectează precursorii de melanină de la nivelul peretelui celular al CN
- ✓ din cauza capsulei polizaharidice a CN, reacția tisulară este minimă
- ✓ în formele severe de meningită cu CN se vizualizează criptococi organizați în grupuri la nivelul spațiilor Virchow- Robin. Criptococamele care sunt funghi înmuguriți aglutinați pot fi văzute mai ales la baza creierului (ganglioni bazali)
- ✓ pe piese necrotice se evidențiază edem cerebral cu modificări de angajare



AUTORITATEA DE SĂNĂTATE PUBLICĂ A MUNICIPIULUI BUCUREȘTI
SPITALUL CLINIC DE BOLI INFECȚIOASE ȘI TROPICALE
„DR. VICTOR BABEȘ”

Șos. Mihai Bravu nr. 281 – 283, sector 3 Tel: 317.27.27, 317.27.28 Tel/Fax: 317.27.21

web site: www.spitalulbabes.ro e-mail: vbabes@xnet.ro



- ✓ la necropsie se vizualizează pseudochisti gelatinoși ce abundă în CN se găsesc la nivelul spațiilor Virchow-Robin și a țesutului cerebral adiacent – indicând o diseminare a infecției meningeale la nivelul spațiilor perivascularare (Klock, Cerski et al. 2009)
- ✓ afectarea cerebrală și meningeală implică fenomene inflamatorii minime, prezența infiltratelor cu fungi și rareori cu reacții granulomatoase și necroză
- ✓ deseori meningita cu CN este asociată cu afectare multiorganică în cadrul criptococozei diseminate

Diagnostic diferential:

Meningită:

- ✓ Alte meningite fungice: ex cu Histoplasma capsulatum, Candida
- ✓ Meningite cu LCR clar: tuberculoasă, luetică, virală
- ✓ De cauze non-infecțioase tumorale, sarcoidoză, Criptococcom
- ✓ abces cerebral bacterian
- ✓ tuberculom
- ✓ toxoplasmoza cerebrală
- ✓ limfom primar cerebral
- ✓ alte tumori cerebrale

Tratament – principii

- ✓ Tratamentul criptococozei se inițiază în situația în care există simptomatologie clinică sugestivă și examenul direct (Tuș de China) sau antigenemia pentru CN este pozitivă – fără a mai aștepta confirmarea prin cultură
- ✓ Implică o fază de atac de 2-4 săptămâni și o fază de întreținere/consolidare
- ✓ Pentru managementul hipertensiunii intracraniene se pot face puncții lombare repetate pentru scăderea hipertensiunii craniene sau drenaj ventriculo-peritoneal
- ✓ Corticosteroizii și/sau interferonul gamma sunt necesare pentru tratamentul criptococoamelor mari, a edemului cerebral sau al infecției refractare (Sorrell and Chen 2010)

Terapia de atac – se administrează clasic timp de 14 zile sau până la sterilizarea culturilor

- ✓ Terapia de primă linie implică combinația Amfotericină B + 5 Flucitozină timp de 14 zile
 - Amfotericină B (Fungisone): 0.7-1 mg/kg/zi IV sau Amfotericină B liposomală (Ambisome): 3-4 , maxim 6mg/kg/zi iv (mai puțin toxică și mai bine tolerată)
 - 5-Flucytosine (5-FC) 100 mg/kg/zi PO în 4 prize
- ✓ Terapia de linia a 2-a:
 - Amfotericină B 0.7-1 mg/kg/zi IV sau Amfotericină B liposomală (3-4 mg/kg/d IV up to 6 mg/kg) fără 5-FC
 - Amfotericină B 0.7 mg/kg/zi + Fluconazol 800 mg/zi
 - Fluconazole (800 mg/zi PO sau 1200 mg/zi) + 5-FC (100 mg/kg/zi PO) timp de 6 săptămâni
 - Fluconazole 800-2000 mg/zi PO timp de 10-12 săptămâni
 - Amfotericină B 5 zile asociat cu Fluconazole în doze mari de 800-1200 mg/zi (Mazora, C. 2011)

Terapia de consolidare și de menținere:

Fluconazol 400 mg/zi, sau 5-10 mg/kg. zi la copii pentru următoarele 8 săptămâni, dar se continuă cu 200 mg/zi toată viața sau până când imunitatea celulară crește și se menține >200 l/mm pentru cel puțin 6 luni.

În regimurile de menținere se poate folosi ca a doua opțiune Itraconazole 200 mg x 2/zi cu necesitatea de a monitoriza nivelurile de medicatie (treatment-drug-monitoring), sau Amfotericina B 1 mg/kg/săptămână

Terapiile cu alte antifungice Posaconazole și Voriconazole nu sunt susținute de studii clinice. S-au administrat în cazuri speciale în faza de atac asociate cu Amfotericina B, ex Posaconazole (Esposito, Viglietti et al. 2009, Ogaki, Noda et al. 2010) și singure în cadrul terapiei de consolidare (Esposito, Viglietti et al. 2009). Voriconazole ridică probleme în ceea ce privește asocierea cu tratamentul antiretroviral din cauza modificării concentrațiilor atât a antiretroviralelor (în special inhibitorii de



AUTORITATEA DE SĂNĂTATE PUBLICĂ A MUNICIPIULUI BUCUREȘTI
SPITALUL CLINIC DE BOLI INFECȚIOASE ȘI TROPICALE
„DR.VICTOR BABEȘ”

Șos. Mihai Bravu nr. 281 – 283, sector 3 Tel: 317.27.27, 317.27.28 Tel/Fax: 317.27.21

web site: www.spitalulbabes.ro e-mail: vbabes@xnet.ro



protează și efavirenzul), în cazuri speciale poate fi folosit singur sau în asociere cu Interferonul gamma, dar cu ajustarea dozelor în funcție de nivelurile terapeutice de medicament(Nierenberg, Thompson et al. 2010)

Tratamentul antiretroviral se va iniția cât mai precoce în interval de 2-8 săptămâni după începerea tratamentului antifungic de atac (ideal după terminarea terapiei de atac sau după sterilizarea culturilor pentru C. Neoformans), luând în considerare riscul de apariție a sindromului inflamator de reconstituire imună (IRIS)

!! Atenție la toxicitățile medicamentoase

- ✓ Toxicitățile medicamentoase trebuie monitorizate de două ori pe săptămână în faza de inducție și la fiecare două săptămâni în faza de consolidare
- ✓ Amfotericina B: diselectroliemii, insuficiență renală, anemie
- ✓ Azolii determină toxicități hepatice
- ✓ 5-FC: colită severă, leucopenie, trombocitopenie, rash sau hepatită – dozele trebuie reduse pentru citopenii sau colită



Encefalita cu citomegalovirus (CMV)

La pacienții cu infecție HIV, cytomegalovirus (CMV) poate afecta atât sistemul nervos central cât și pe cel periferic. Manifestările neurologice ale infecției cu CMV includ encefalita, ventriculita, mielita, retinita, și neuropatiile periferice.

Manifestari clinice

- ✓ Există o mare varietate de tablouri clinice în cazul afectării neurologice determinate de CMV: encefalită cu două forme difuză și focală și mielită (transversă sau poliradiculomielită)
- ✓ Diagnosticul este foarte dificil și trebuie să se bazeze pe lângă semnele clinice pe neuroimagică și markeri virusologici

Encefalita CMV

- ✓ Tabloul clinic nu este uniform și nici caracteristic pentru pacienții cu infecție HIV și encefalită CMV – variază de la forme asimptomatice, care sunt descoperite la autopsie la forme fulminante cu deces
- ✓ Encefalita poate asocia alte afectări de organe determinate de CMV: esofagită, retinită, mielită, neuropatie sau insuficiență adrenoidiană, chiar și la pacienți care sunt deja în tratament cu Ganciclovir.
- ✓ A fost găsită în studii necroptice asocierea encefalitei CMV la 75% din cei cu retinită CMV care implică aria peripapilară (Bylsma, Achim et al. 1995)
- ✓ Debutul poate fi acut sau subacut
- ✓ Acușele clinice neurologice sunt proteiforme, în ordinea frecvenței predomină afectarea cognitivă, sindrom confuzional, apatie, febră, somnolență, cefalee, epilepsie, deficit motor focal, tulburări de echilibru, manifestări psihiatrice (Maschke, Kastrup et al. 2002)

Encefalită difuză

- ✓ Această formă de encefalită difuză este de mai multe tipuri cu asocierea ventriculoencefalitei, cu afectarea concomitentă a sistemului nervos periferic și forma cu noduli microgliali
- ✓ Pacienții cu ventriculoencefalită pot avea debut brusc cu afectarea stării de conștiență: stare de confuzie rapid progresivă, letargie. În context febril cu evoluție rapidă către comă
- ✓ În cazul în care este prins și trunchiul cerebral tabloului clinic i se asociază afectare de nervi cranicieni cel mai frecvent oculomotor și facial dar și alte deficite neurologice focale
- ✓ Există posibilitatea ca encefalita difuză să fie extinsă atât la nivelul SNC cât și a celui periferic (caz în care asociază și un deficit motor ascendent) (Luttmann, Husstedt et al. 1997)
- ✓ Encefalita CMV caracterizată prin noduli microgliali este una din formele cel mai des subdiagnosticate, se manifestă cu modificări mai lente ale statusului mental, la care se asociază uneori idei delirante, apatie, și lentoare ideomotorie, care sunt similare cu demența HIV – deși greu de diferențiat de encefalopatia HIV, există elemente orientative pentru encefalopatia CMV: progresia rapidă a simptomatologiei, care include cel mai frecvent starea de confuzie, asocierea tulburărilor hidroelectrolitice și imunodepresia severă (Holland, Power et al. 1994)

Encefalită focală

- ✓ Acest tip de encefalită focală este mai rar întâlnită (aproximativ 5% din cazuri), are 2 forme cea necrozantă și cea non-necrozantă
- ✓ Forma de encefalită focală necrozantă se manifestă prin semne neurologice focale, cu debut acut sau subacut și cu semne clinice în funcție de localizarea leziunilor
- ✓ Semnele clinice cele mai frecvent întâlnite sunt deficite neurologice focale, crize epileptice ce sugerează mai degrabă abcese sau tumori cerebrale atât din punct de vedere clinic cât și neuroimagic (Moulinier, Mikol et al. 1996), (Miller, Lucas et al. 1997), confirmarea diagnosticului făcându-se în aceste cazuri prin PCR sau când este contraindicată puncția lombară prin biopsie stereotactică
- ✓ Forma de encefalită focală non-necrozantă are localizare aproape exclusivă la nivelul trunchiului cerebral (Silva, Oliveira et al. 2010)

Mielitele



- ✓ Mielitele determinate de CMV sunt asociate frecvent cu prinderea sistemului nervos periferic și tablou clinic de mieloradiculită sau de mielită transversă atunci când sunt izolate
- ✓ Poliradiculonevrita CMV – se manifestă ca durere la nivelul spatelui, sau de tip sciatic, paretezii, disfuncții sfinceteriene, tulburări senzoriale distale, paralizie ascendentă. La debut se poate manifesta ca sindrom Guillain-Barré-like cu slăbiciune la nivelul extremităților sau cu retenție urinară sau pierderea controlului sfinceterian. Poate avea aspect de mielită transversă cu para- sau tetraplegie, deficite senzoriale
- ✓ La fel ca și în cazul encefalitelor există forme necrozante și non-necrozante (Moulinier, Mikol et al. 1996)
- ✓ Mielitele difuze au o evoluție subacută cu tulburări de mers și senzitive
- ✓ Mielitele focale sunt cel mai adesea necrozante – tabloul lor clinic este de deficit motor la care se asociază tulburări sfinceteriene, cu debut de obicei acut

Diagnostic diferential

Formele encefalitice difuze cu

- ✓ Dementa/encefalopatia HIV
- ✓ Meningita difuza toxoplasmozică
- ✓ Meningita cu herpes simplex, cu virus varicelo-zosterian
- ✓ Hidrocefalie comunicantă
- ✓ Meningoencefalita cu C. Neoformans
- ✓ Leucoencefalopatia multifocală progresivă

Formele encefalitice focale cu

- ✓ Toxoplasmoza cerebrală
- ✓ Limfomul primar cerebral
- ✓ Abcese tuberculoase
- ✓ Abcese bacteriene
- ✓ Encefalita herpetică

Mielitele

- ✓ Scleroza multiplă
- ✓ Scleroza laterală amiotrofică
- ✓ Hernie de disc
- ✓ Tumori medulare primare sau metastatice
- ✓ Etiologii infecțioase asociate cu mielite Guillain Barre (infecție HIV acută, gripa, etc)
- ✓ Leziuni vasculare

Examen neuroimagingistic

Examenul CT relativ inutil poate vizualiza arii difuze cu atenuare slabă în parenchimul cerebral în cazul encefalitei difuze

- ✓ **Examenul RMN** deși este și el destul de puțin sensibil și specific și nu poate vizualiza formele micronodulare poate fi util în orientarea diagnostică și pentru excluderea altor etiologii (ex absența captării parenchimatoase, prezența hipertensiunii intracraniene). Nu se întâlnesc calcificări periventriculare care sunt semnul encefalitei CMV congenitale
- ✓ Aspect de encefalită ce prinde emisferile cerebrale și trunchiul cerebral, ventriculită și infarcte
- ✓ În cazul encefalitei difuze aspectul este modificări la nivelul parenchimului cerebral cu arii hipersemnal în T2 la nivelul substanței albe, predominant periventricular
 - În cazul asocierii ventriculitei apare captarea contrastului (în aproximativ 3% din cazuri) la nivelul suprafeței endocistale și uneori și hidrocefalie
 - Nu apare edem sau efect de masă
- ✓ În cazul forme difuze micronodulare – modificările RMN sunt discrete pentru că micronodulii (care apar ca zone hiperintense T2) pot trece neobservați din cauza dimensiunilor mici, aspectul RMN fiind normal sau de atrofie cerebrală
- ✓ La examenul RMN în cazul encefalitei focale necrozante se vizualizează o imagine tip abces cerebral cu captare periferică a substanței de contrast și edem perilezional, aspect greu de diferențiat de abcese cerebrale toxoplasmozice sau de limfomul primar cerebral

- ✓ Encefalitele focale non-necrozante au aspect RMN nespecific, mici noduli hiperintensi T2 punctiformi localizați în principal la nivelul trunchiului cerebral fără efect de masă și de obicei fără captare a substanței de contrast
- ✓ Examenul RMN medular pune în evidență o leziune care captează contrastul la periferie și are centrul necrotic cu hiposemnal T1 în cazul (Moullignier, Mikol et al. 1996); de asemenea poate apărea o captare a contrastului la nivelul rădăcinilor

Diagnostic molecular

- ✓ Culturile celulare sunt pozitive în < 50% din cazuri (Calvario, Bozzi et al. 2002)
- ✓ Identificarea ADN-CMV în LCR prin PCR cu sensibilitate 62-100%, și specificitate de 89-100% (Stanojevic, Zerjav et al. 2002)
 - are valoare diagnostică doar în măsura în care asociază semne clinice sugestive pentru afectarea SNC și SNP nu distinge infecția de boală
 - este un test de monitorizare al tratamentului
- ✓ Identificarea ADN CMV din plasmă la o valoare de peste 10000 copii/ml este predictivă pentru boală CMV cu posibilă afectare a sistemului nervos sau a retinei (Brantsaeter, Holberg-Petersen et al. 2007) și impune începerea terapiei specifice mai ales la pacienții cu imunodepresie severă (Spector, Hsia et al. 1999)
- ✓ Detectia antigenului pp65 în celulele polimorfonucleare circulante este pozitivă la debut dar poate deveni negativă cu tratament specific
- ✓ Detectia ARN mesager (mRNA) pp67 din LCR (Zhang, Tetali et al. 2000)

Analiza LCR

- ✓ LCR poate fi normal sau poate fi modificat:
 - Moderată pleiocitoză
 - Se poate găsi o proteinorahie crescută și posibil hipoglicorahie
- ✓ Determinarea anticorpilor anti-CMV este nespecifică
- ✓ Determinarea pp65 de la nivelul LCR are sensibilitate și specificitate bună mai ales la pacienții cu poliradiculonevrită (Revello, Percivalle et al. 1994)
- ✓ Cultura CMV din LCR este specifică pentru diagnosticul de encefalită dar puțin sensibilă

Alte analize:

- ✓ Detectarea ADN CMV în plasmă, nu presupune obligatoriu afectare organică dar poate predispuce mai ales la persoanele cu imunodepresie severă, la apariția unor afectări organice inclusiv neurologice și impune administrare de tratament anti-CMV
- ✓ Retinita CMV cu aspect tipic (de "chetch-up cu brânză") asocia cu afectări neurologice în aproape 90% din cazuri (Bylsma, Achim et al. 1995)

! Diagnostic de certitudine : prin biopsie (Steininger, Puchhammer-Stockl et al. 2006); modificările histologice includ aspect de ventricuită, noduli microgliali, necroză parenchimatoasă focală, celule citomegalice izolate, incluzii nucleare

Leziunile histopatologice determinate de CMV pot fi incluse în mod clasic în 5 mari categorii (Morgello, Cho et al. 1987): noduli microgliali, celule izolate cu incluzii, necroză focală parenchimatoasă, ventriculo-encefalită necrotizantă și radiculomielită necrotizantă. Nodulii microgliali și celulele cu incluzii sunt modificări tipice ce pot fi întâlnite frecvent. Nodulii microgliali sunt mai rar întâlniți și sunt prezenți la nivelul substanței cenușii subcorticale. Modificările de necroză focală, ventriculoencefalită și radiculomielită sunt mai puțin frecvenți.

Management

Tratament specific anti- CMV

- ✓ Rolul tratamentului specific anti-CMV este de a scurta boala, de a preveni și diminua complicațiile recurența și transmiterea și de a trece în stadiul de latență
- ✓ Terapia anti-CMV poate fi eficientă dacă se inițiază precoce
- ✓ Medicatia recomandată: ganciclovir, foscarnet, cidofovir - ca agenți unici sau în combinație
- ✓ Medicatia anti-CMV este asociată cu efecte adverse redutabile și trebuie administrată în faza de atac pe cale iv
- ✓ Alternative pentru administrare orală :
 - Ganciclovir, cu utilizare limitată pentru profilaxia secundară a retinitei

- Valganciclovir – are biodisponibilitate mai bună și poate fi folosit în tratamentul de inducție și în profilaxia secundară pentru retinita CMV
- ✓ Decizia de a folosi ganciclovir sau foscarnet este bazată pe parametrii hematologici și renali ai pacientului.
- ✓ Combinația ganciclovir + foscarnet este utilizată uneori, dar nu a demonstrat rate de răspuns mai bune (Anduze-Faris, Fillet et al. 2000) monoterapiei și este mai greu tolerată

	Profilaxie primara	Tratament de inducție	Profilaxie secundara
Criterii de inițiere	Ac anti-CMV și CD4 < 50 l/mm	infecția SNC	Boala CMV anterioară și terapie de inducție terminată
Criterii de oprire	CD4 > 100 l/mm timp > 3 luni	Sfârșitul perioadei de inducție	CD4 > 100-150 l/mm pt o perioada de 3-6 luni
Trat. de prima intenție	Valganciclovir (900 mg/zi po)	Ganciclovir (5mg/kg iv la fiecare 12 h) sau Foscarnet (90 mg/kg iv la fiecare 12 h) ambele timp de 3-6 săptămâni	Ganciclovir (5-6 mg/kg iv 5-7 zile/sapt)
Trat. alternative	Ganciclovir 1g po la fiecare 8 h	Ganciclovir (5mg/kg iv la fiecare 12 h) timp de 3-6 săptămâni Foscarnet (90 mg/kg iv la fiecare 12 h) timp de 3-6 săptămâni Cidofovir (5 mg/kg iv săptămânal) timp de 2 săptămâni apoi la fiecare 2 săptămâni + probenecid (2 g po 3 h înaintea dozei de cidofovir și 1 g la 2-8 h după doza)	Foscarnet (90-120 mg/kg zilnic) Cidofovir (5 mg/kg la fiecare 2 săptămâni) + probenecid (2 g po 3 h înaintea dozei de cidofovir și 1 g la 2-8 h după doza)

Date despre principalele medicamente anti-CMV

- ✓ **Ganciclovir** (Cytovene, Vitrasert) – analog nucleozidic de 2'deoxyguanazine, se concentrează de până la 100 de ori mai mult în celulele infectate cu CMV (prin fosforilare preferențială), inhibă replicarea CMV prin inhibarea competitivă a ADN-polimerazei. La fel ca și Acyclovirul, Ganciclovirul este virostatic, își exercită efectul exclusiv asupra virusului replicativ
- ✓ **Foscarnet** (Foscavir) – analog organic al pirofosfatului anorganic, inhibă replicarea virală in vitro. Are toxicitate renală care îl face să fie considerat o a doua opțiune ca tratament de atac
- ✓ **Valganciclovir** (Valcyte)- prodrug al ganciclovirului, este folosit în profilaxie la pacienții cu transplant de organe solide, inhibă replicarea CMV in vivo și in vitro prin inhibarea sintezei de ADN viral, atinge niveluri plasmatice similare cu ganciclovirul administrat iv, nu sunt date despre utilizarea lui în complicațiile neurologice legate de CMV
- ✓ **Cidofovir** reprezintă o medicație alternativă din cauza toxicității renale și datelor limitate legate de penetrabilitatea lui în LCR

cART

- ✓ Acționează prin ameliorare importantă a imunodepresiei
- ✓ Se administrează după stabilizarea pacientului, în medie la 1 lună după tratament specific anti-CMV, în scopul ameliorării funcției imune și a unui control mai bun al infecției CMV
- ✓ Poate determina o agravare paradoxală a simptomatologiei în contextul sindromului inflamator de reconstituire imună (Subsai, Kanoksri et al. 2006)

Linfomul primar cerebral (Primary CNS Lymphoma PCNSL)

Etiologie asociată cu **virusul Epstein-Barr** la pacienții cu SIDA

Manifestari clinice

- ✓ Semnele clinice sugestive pentru PCNSL sunt semnele neurologice de focar instalate insidios
- ✓ Simptome și semne apar în interval de zile - săptămâni
- ✓ Confuzie
- ✓ Alterarea statusului mental
- ✓ Deficite neurologice focale
- ✓ Hemipareză
- ✓ Cefalee prezentă la ~30-40% din pacienți
- ✓ Convulsii
- ✓ Semne de hipertensiune intracraniană
- ✓ Afecțarea neurocognitivă determinată de HIV poate fi un simptom supraadăugat
- ✓ Prezența unei formațiuni tumorale cerebrale, mai ales unice poate ridica suspiciunea de imunodepresie și de infecție HIV
- ✓ Probleme de diagnostic apar în situații particulare în care pacientul are următoarele simptome:
 - Absența semnelor de focar, dar prezența afectării vederii, cefaleei, afectării de nervi cranieni (ex. diplopie, amețeli, disfație, vedere monoculară sau afectare de nervi cranieni) indică prezența unei tumori izolate oculare sau meningeale
 - Dementiere progresivă sau stupoare fără semne neurologice focale și cu captare redusă a contrastului la examinarea RMN – sunt mai frecvente la pacienții cu SIDA care asociază și patologie legată de HIV
 - Afecțarea meningeală este prezentă la 5% din pacienți – cu afectare de nervi cranieni – mimează pseudotumor cerebri sau vasculită, necesită biopsie de meninge sau de nervi (Levin, Soffér et al. 2008)
- ✓ Afecțarea medulară primitivă este rară poate fi unilaterală și realizează un sindrom Brown-Sequard sau bilaterală cu aspect clinic de para sau tetrapareză în funcție de nivelul lezional

Diagnostic

Examen neuroimagistic

- ✓ **CT sau RMN** cu și fără contrast
 - RMN mai bun decât CT în caracterizarea leziunilor focale de tipul limfomului primar cerebral
 - Leziuni unice sau multiple cu edem variabil care pot deplasa linia mediana
 - Lobul frontal este mai frecvent afectat
 - Aspectul tipic RMN de PCNSL este de leziune unică hipointensă în T1 înaintea administrării contrastului izo sau hiperintensă în T2, localizată în substanța albă periventriculară care se întinde către corpurile calose, captează omogen substanța de contrast și are moderat edem perilezional
 - Captarea substanței de contrast poate fi uneori inelară, sau poate lipsi în cazuri excepționale din cauza necrozei extinse
 - Leziunile pot multifocale la aprox. 50% din pacienții cu SIDA (spre deosebire de cei fără infecție HIV, la care localizarea multifocală este prezentă doar în 25% din cazuri)
 - Examenul RMN dă informații și asupra leptomeningelui, hidrocefaliei și altor posibile diagnostice diferențiale sau concomitente (cum ar fi encefalopatia HIV)
 - Pacienții cu afectare focală spinală trebuie să facă RMN pentru localizarea limfomului (mai ales că în această situație se recomandă radioterapia) (Eichler and Batchelor 2006)
-
- ✓ **SPECT** (Tomografia computerizată cu emisie de protoni cu Thallium 201)
 - Utilă în diferențierea limfomului primar cerebral de alte etiologii cum ar fi toxoplasmoza cerebrală, infecția cu Nocardia, neurosifilis, mai ales în cazul leziunilor cu aspect de abces cerebral
 - Creșterea captării este sugestivă pentru diagnosticul de limfom primar cerebral



AUTORITATEA DE SĂNĂTATE PUBLICĂ A MUNICIPIULUI BUCUREȘTI
SPITALUL CLINIC DE BOLI INFECȚIOASE ȘI TROPICALE
„DR. VICTOR BABEȘ”

Șos. Mihai Bravu nr. 281 – 283, sector 3 Tel: 317.27.27, 317.27.28 Tel/Fax: 317.27.21
web site: www.spitalulbabes.ro e-mail: vbabes@xnet.ro



După ce evaluarea neuroimagică a ridicat suspiciunea de PCNSL pentru confirmarea diagnostică sunt necesare puncția biopsie cerebrală, evaluarea LCR, examen de fund de ochi/vitroscoapie.

Analiza LCR

- ✓ PCR: ADN-EBV pozitiv
- Asocierea frecventă între PCNSL și virusul Epstein-Barr sugerează utilizarea determinării ADN EBV din LCR ca marker diagnostic – în scopul de a reduce timpul necesar stabilirii diagnosticului și de a permite o evaluare invazivă minimă (Cingolani, Fratino et al. 2005)
- Testul ADN ptr EBV atunci când este pozitiv poate fi echivalat biopsiei cerebrale, are o sensibilitate de 83-100% și o specificitate de 93% - 100% pentru diagnosticul de limfom primar cerebral (Antinori, Cingolani et al. 1999)
- Totuși un test ADN-EBV negativ **NU** exclude diagnosticul de PCNSL

Biopsia cerebrală

- ✓ Reprezintă standardul de aur și singura modalitate de stabilire a unui diagnostic pozitiv conform criteriilor CDC
- ✓ Singura metoda de diagnostic pozitiv mai ales dacă analiza LCR nu este disponibilă sau edificatoare

PCNSL este o formă de limfom non-Hodgkin cu celule B, dens celular și agresiv

Se găsește grupuri perivasculare de limfocite, la pacienții cu HIV lipsese infiltratele perivasculare cu celule T

În anumite cazuri s-a izolat virusul herpetic uman 8 (HHV-8), asociat de principiu cu sarcomul Kaposi la pacienții cu PCNSL (Corboy, Garl et al. 1998). Studii ulterioare au demonstrat însă că HHV8 este prezent în alte compartimente celulare și deci practic lipsa relației cu PCNSL (Antinori, Larocca et al. 1999, Gomez-Brouchet, Delisle et al. 2001)

Alte examinări:

- ✓ Examen oftalmologic ce include evaluarea la lampa cu fantă, și examen de fund de ochi, vitrectomie, cu biopsie chorooidală și de retină –poate da date despre localizarea oculară a PCNSL
- ✓ LDH- de obicei crescut- marker indirect
- ✓ Examen CT de torace, abdomen și biopsie medulară pentru cazurile excepționale cu determinări extracerebrale, sau pentru diagnosticul diferențial al metastazelor

Diagnostic diferențial

Cu alte infecții oportuniste:

- ✓ Toxoplasmoza cerebrală
- ✓ Encefalita cu CMV
- ✓ Leucoencefalopatia multifocală progresivă
- ✓ Encefalopatia HIV, demența HIV
- ✓ Meningita cu C. Neoformans, criptococame

Alte neuroinfecții:

- ✓ Encefalomielita acută diseminată
- ✓ Meningita aseptică
- ✓ Encefalita herpetică
- ✓ Neurosifilis

Alte tumori:

- ✓ Gliome
- ✓ Ependimoame
- ✓ Glioblastoame



AUTORITATEA DE SĂNĂTATE PUBLICĂ A MUNICIPIULUI BUCUREȘTI
SPITALUL CLINIC DE BOLI INFECȚIOASE ȘI TROPICALE
„DR. VICTOR BABEȘ”

Șos. Mihai Bravu nr. 281 – 283, sector 3 Tel: 317.27.27, 317.27.28 Tel/Fax: 317.27.21
web site: www.spitalulbabes.ro e-mail: vbabes@xnet.ro



- ✓ Astrocitoame
- ✓ Carcinomatoza leptomeningelui
- ✓ Metastaze/determinări secundare ale altor tumori

Alte afecțiuni neurologice:

- ✓ Neurosarcoidoza
- ✓ Scleroza multiplă
- ✓ Encefalomielita paraneoplazică

Management

- ✓ Tratamentul are ca scop eradicarea atât a leziunilor tumorale macroscopice ce captează contrastul cât și a infiltrației microscopice a creierului, măduvei, leptomeningelui și vitrosului
- ✓ Managementul PCNSL trebuie să aibă în vedere maximizarea eficienței și o toxicitate cât mai redusă
- ✓ Nu există o conduită standardizată
- ✓ Implică radio- și chimioterapie, asocierea lor poate ameliora prognosticul pacienților dar crește toxicitatea
- ✓ Tratament standard: radioterapie (≥ 30 Gy) - iradierea externă este mai frecvent folosită
 - Indică la pacienți cu:
 - vârstă < 40 ani
 - $CD4+ > 125$ l/mm^3
 - Eastern Cooperative Oncology Group status = 2
- ✓ Alte tratamente recomandate
 - Chimioterapia singură
 - methotrexat doză mare
 - Chimioterapie + radioterapie
 - Methotrexat + Thiotepe + Procarbazine
 - Methotrexat sistemic și intratecal, înainte de radioterapie
- ✓ Protocoalele de chimioterapie includ (Hoang-Xuan, Taillandier et al. 2003):
 - Methotrexat: cea mai eficientă abordare terapeutică – se administrează sistemic în doză mare Methotrexate-based chemotherapy regimens have been the most successful treatment strategies to
 - Topotecanul a fost folosit în terapiile de salvare la pacienții care nu au răspuns la terapia cu Metotrexat și la radioterapie cu o rată globală de răspuns de 40%(Voloschin, Betensky et al. 2008)
 - Corticoterapia: ar trebui evitată
 - în faza inițială de stabilire a diagnosticului pentru că poate determina reducerea importantă a dimensiunilor tumorii vizualizate la examenul RMN, prin efect direct asupra limfoamelor cu celule B și ca atare pot întârzia diagnosticul cel neuroimagistic cu caracter orientativ, dar și pe cel biptic
 - asociat chimioterapiei, mai ales a celei cu metotrexat, pentru că determină modificarea permeabilității barierei hemato-encefalice și ca urmare reduc nivelul de medicament care ajunge la creier
- ✓ Antiepileptice:
 - nu se utilizează cu caracter profilactic, ci doar la pacienții care au convulsii
 - pot fi folosite orice antiepileptice de primă linie ex fenitoin, carbamazepine, acid valproic acid)
 - au risc de cumulare sau mascare a toxicității cu chimioterapia
 - noile antiepileptice ex Kepra par să aibă toxicitate mai redusă
- ✓ cART poate fi asociată cu precauție – legată de monitorizarea atentă a reacțiilor adverse
- ✓ Abordarea chirurgicală
 - În scop diagnostic: se practică fie biopsie stereotactică fie biopsie deschisă – preferabilă atunci când leziunea este localizată într-o zonă dificil de accesat ex trunchi cerebral
 - Excizia tumorii nu are beneficii, având în vedere existența rezervoarelor perivascularare de celule neoplazice



AUTORITATEA DE SĂNĂTATE PUBLICĂ A MUNICIPIULUI BUCUREȘTI
SPITALUL CLINIC DE BOLI INFECȚIOASE ȘI TROPICALE
„DR.VICTOR BABEȘ”

Șos. Mihai Bravu nr. 281 – 283, sector 3 Tel: 317.27.27, 317.27.28 Tel/Fax: 317.27.21
web site: www.spitalulbabes.ro e-mail: vbabes@xnet.ro



- Plasarea unui rezervor Ommaya poate fi utilă pentru administrarea intratecală a chimioterapiei mai ales la pacienții cu limfom de leptomeninge – dar aceasta nu este o procedură de rutină

TOXOPLASMOZA CEREBRALĂ (TC)

Etiologie

- ✓ Toxoplasmoza este o parazitoză determinată de *Toxoplasma gondii* (T.gondii)
Toxoplasma gondii este un parazit ubiquitar are ca și gazdă definitivă pisica (în intestinul căreia se formează oochiștii, care sunt eliberați în mediul exterior). Omul, ca și majoritatea mamiferelor reprezintă o gazdă intermediară în care se regăsesc celelalte 2 forme tachizoitii formă invazivă și chisturile tisulare, forma latentă, care se poate reactiva în condiții de imunodepresie

Manifestari clinice

- ✓ Debutul este în general subacut, cu semne neurologice focale (60-90% din cazuri), poate fi uneori acut, cu crize convulsive focale sau generalizate (15-25% din cazuri)
- ✓ TC tipică cu abcese cerebrale multiple se manifestă clinic prin semne neurologice focale în directă legătură cu localizarea leziunilor – cel mai frecvent întâlnite sunt: cefalee, stare confuzională, febra, hemipareză/ plegie, parezele de nervi cranieni, afazia, sindromul cerebelos și convulsilei
- ✓ Semne neurologice mai rar asociate cu TC sunt: mișcări involuntare de tip coree sau hemibalism, manifestări neuro-psihice (psihoză paranoidă, anxietate, agitație), diabet insipid, panhipopituitarism, sindrom de secreție inadecvată de ADH
- ✓ Se poate asocia un sindrom de hipertensiune intracraniană sau semne de radiculomielită
- ✓ În lipsa tratamentului se înregistrează o agravare neurologică cu instalarea comei și evoluție rapidă către deces
- ✓ Mai rar se poate manifesta ca encefalită difuză cu tulburări ale conștienței, febră, cefalee, fără semne de focar, aspecte clinice greu de diferențiat de alte encefalite virale, ex cea herpetică, HIV, evoluția în această situație este rapid fatală în câteva zile
- ✓ Uneori apar exclusiv modificări oculare cu aspect specific de corio-retinită toxoplasmozică

Diagnostic

Conform definiției de caz a TC în “Clasificarea revizuită a infecției HIV la adolescenți și adulți- CDC, 1993”(1993), diagnosticul poate fi **definitiv** când este confirmat prin examen histopatologic și **prezumtiv**, când sunt întrunite următoarele criterii:

- debut recent cu semne neurologice focale sau alterarea stării de conștiență **și**
- examen neuroimagic (CT/RMN) cu leziuni cu efect de masă și captare periferică a substanței de contrast **și**
- anticorpi anti-*Toxoplasma* prezenți în ser sau răspuns favorabil la terapia anti-*Toxoplasma*

Teste serologice:

- ✓ Anticorpii anti-*Toxoplasma* tip **IgM** nu au valoare diagnostică, având în vedere că TC se produce prin reactivarea unei infecții cronice latente cu T. gondii, totuși ei pot fi prezenți în context de reactivare (Machala, Maly et al. 2009), situație în care ac tip IgG sunt în titru mai mare
- ✓ Anticorpii anti-*Toxoplasma* tip **IgG**:
 - Sunt prezenți la majoritatea pacienților și indică infecția primară în antecedente, deci nu au mare valoare diagnostică pentru TC în absența unui context clinic sugestiv sau în lipsa imunodepresiei severe
 - Rareori serologia IgG este negativă, cel mai probabil din cauza metodelor de detecție (Borges and Figueiredo 2004), situație care nu exclude diagnosticul de TC (aproximativ 10% din cazurile de TC au serologie negativă) (del Rio-Chiriboga, Orzechowski-Rallo et al. 1997)
 - Evaluarea producției intratecale de IgG are sensibilitate de 100% dar o specificitate de 71%, ceea ce nu îl indică ca test diagnostic (Borges and Figueiredo 2004)
 - Titrul cantitativ nu este util pentru diagnostic, desi se pare ca o valoare de >150 UI/ml este predictivă pentru apariția bolii

Evaluare neuroimagică

1. **Tomografia computerizată (CT) / Rezonanța magnetică nucleară (RMN) craniană – cu substanța de contrast**
 - ✓ Poate fi folosită în scop diagnostic și de monitorizare a răspunsului la tratament
 - ✓ RMN este mai sensibilă și detectează mai multe leziuni decât CT
 - ✓ Aspect tipic: leziuni hipodense multiple localizate în substanța albă corticală și subcorticală, cu efect de masă, edem perilezional, care captează periferic (inelar) substanța de contrast (aspect în cocardă)
 - ✓ Localizare predilectă este la nivelul ganglionilor bazali și al joncțiunii dintre substanța albă și cea cenușie
 - ✓ Aspecte atipice: leziune unică, captare difuză sau nodulară a substanței de contrast, aspect normal RMN în encefalita difuza

- ✓ Nici un element neuro-radiologic nu este patognomonic, desi aspectul tipic descris este înalt sugestiv pentru diagnosticul de TC
- ✓ O leziune unică pe RMN sau persistentă ca și agravarea leziunilor sub tratament specific anti-toxoplasma sunt argumente împotriva diagnosticului de TC, sugerând mai degrabă un limfom cerebral primar sau altă infecție oportunistă neurologică
- ✓ În dinamică:
 - Aspectul neuro-imagistic se ameliorează după 2-3 săptămâni de terapie anti-Toxoplasma, prin scăderea numărului și dimensiunilor leziunilor, diminuarea edemului perilezional și a captării substanței de contrast
 - Leziunile mici se remit complet, iar cele mari cu sechele (atrofie, osteomalacie, calcificare)

2. Alte investigații imagistice nucleare: SPECT (single photon emission computed tomography) / PET (positron emission tomography)

- ✓ Util pentru diagnosticul diferențial al leziunilor cerebrale focale, dar sunt foarte scumpe și greu accesibile
- ✓ Au sensibilitate și specificitate mare în diferențierea TC de limfomul cerebral primar, însă nu detectează leziuni mai mici de 6-8 mm

LCR

- ✓ Puncția lombară nu este totdeauna posibilă, din cauza pericol de herniere cerebrală; se efectuează numai după explorarea neuro-radiologică și examenul de fund de ochi pentru excluderea hipertensiunii intracraniene
- ✓ Nu este esențială pentru diagnosticul pozitiv, dar permite excluderea altor etiologii
- ✓ LCR poate fi normal sau pot exista modificări nespecifice: pleiocitoză moderată cu celule mononucleare, proteinorahie moderată, glicorahie de obicei normală sau ușor scăzută
- ✓ În ceea ce privește datele legate de diagnosticul molecular prin PCR pentru ADN de T. gondii, rezultatele sunt controversate - cu toate că majoritatea testelor au o specificitate înaltă de 88- 100%, sensibilitate testului este variabilă de la 33-50%, cu mențiunea că proba trebuie lucrată din LCR (Correia, Melo et al. 2010) până la sensibilitate între 68-98% pentru varianta real-time cantitativă (Nogui, Mattas et al. 2009, Mesquita, Ziegler et al. 2010), ca atare o un rezultat negativ nu exclude diagnosticul de TC

Biopsia cerebrală

- ✓ Utilă pentru stabilirea diagnosticului definitiv prin evidențierea parazitului în țesutul cerebral
- ✓ Nu este indispensabilă pentru diagnosticul pozitiv, dacă există un răspuns obiectiv, clinic și radiologic, la terapia specifică anti-toxo
- ✓ Indicațiile biopsiei cerebrale intra vitam sunt rezervate pentru situații particulare:
 - Persistența sau agravarea leziunilor cerebrale sub tratament empiric anti-toxoplasma
 - Leziune cerebrală solitară sau leziuni atipice la examenul RMN
 - Serologie anti-toxoplasma negativă
 - Profilaxie primară anti-Toxoplasma efectuată corect (este protectivă)
- ✓ Modificările histologice sunt nespecifice de meningită limfocitară, leziuni ce conțin chiști, noduli astrogliali și microgliali, modificări de vasculită limfocitară asociată, aspect de encefalită difuză

Diagnostic diferențial

- ✓ Infecții oportuniste neurologice:
 - limfom cerebral primar
 - encefalita CMV
 - PML (debutează cu semne neurologice de focar, dar nu asociază cefalee, convulsii, iar leziunile nu au efect de masă)
 - Tuberculoză, abcese tuberculoase
 - Mielopatia vacuolară
- ✓ Alte neuroinfecții:
 - infecție fungică (cu Candida, Aspergillus spp.)
 - abces cerebral bacterian, cu Nocardia
 - neurocisticercoză
 - encefalite virale: ex cu virusul herpes simplex, virusul varicelo-zosterianrosifilis
 - neu
- ✓ Accidente vasculare cerebrale
- ✓ Tumori cerebrale: primare sau metastatice

Tratament

- ✓ TC este una din puținele infecții oportuniste neurologice care beneficiază de tratament curativ, inițierea acestuia trebuie făcută cât mai precoce, empiric chiar și numai pe baza suspiciunii clinice
- ✓ Tratamentul standard de atac se administrează 6 săptămâni și va fi urmat de o terapie supresivă cu doze mai reduse (profilaxie secundară), a cărei durată va fi în funcție de răspunsul la cART și creșterea și menținerea CD4 >200 l/mm³
- ✓ Ameliorarea clinică neurologică și cea neuroimagistică sub tratament anti-Toxoplasma (proba terapeutică pozitivă) reprezintă criteriu de diagnostic prezumtiv

✓ **Tratamentul de atac- durata 6 săptămâni după rezoluția semnelor și simptomelor clinice**

Scheme de tratament:

1. Preferată (de prima alegere):

- pirimetamina 100-200 mg po doza de încărcare, apoi 50-75 mg/zi (50mg la greutate<60 kg; 75mg la greutate>60 kg) sau doze pediatrice pirimetamina 2mg/kg/zi (max. 100mg)- 3 zile, apoi 1mg/kg/zi (max. 25mg)
- +sulfadiazina 1-1.5 g po la 6 ore 4g/zi la greutate <60 kg; 6g/zi la greutate >60kg) sau doze pediatrice sulfadiazine 120-200mg/kg/zi în 4 prize
- +acid folinic 10-25 mg/ zi, la copii 5-10mg de 3 ori/săptămână

! este necesară asigurarea unui aport adecvat de lichide și alcalinizare pentru prevenirea cristaluriei determinată de sulfamida

2. Alternativă: Trimetoprim/Sulfametoxazole (TMP/SXT) în doză: de 10/50 mg (TMP/SXT)/kg/zi administrat iv sau po la 12 h interval

TMP/SXT a demonstrat o eficacitate similară tratamentului standard (Beraud, Pierre-Francois et al. 2009) iar costul mai redus al acestei terapii o recomandă pentru țările cu resurse limitate (Dedicoat and Livesley 2006)

-
- 3. Alternativă în caz de alergie la sulfamide:
- pirimetamina 100-200mg doza de încărcare, apoi 50-75 mg/zi (50mg la greutate<60 kg; 75mg la greutate>60 kg + acid folinic 10-25 mg/ zi
- plus unul din următoarele medicamente
- i. Clindamicina 600mg la 6 ore (2.4 g/zi) po sau iv
- ii. Azitromicina 900-1200mg/zi po doză unică
- iii. Atovaquone 1500mg po de 2 ori/zi

Excepțional se poate opta pentru monoterapie cu Atovaquone 750 mg po de 4 ori/zi

Răspunsul favorabil la tratamentul de atac se constată după 10-14 zile, cu ameliorare inițial clinică, în 7 zile și apoi neuro-radiologică, în 14 zile.

✓ **Terapia supresivă (profilaxia secundară)**

-se ia în continuarea tratamentului de atac, pentru prevenirea recăderilor și trebuie administrată toată viața, sau până la restaurarea imună (CD4> 200 l/mm³ sau > 15% care se menține peste 6 luni)

Scheme de tratament:

1. De primă alegere: pirimetamina 25-50mg/zi po (25mg la greutate<60 kg; 50mg la greutate>60 kg) + sulfadiazina 500-1000mg po doza zilnică ce va fi administrată în 4 prize (50% din doza de atac) + acid folinic 10-25 mg/ zi
2. Alternativ:
- a. pirimetamina :25-50mg/zi po (25mg la greutate<60 kg; 50mg la greutate>60 kg) + clindamicina 300-450 mg po la 6 ore (50% din doza de atac) + acid folinic 10-25mg/zi
- b. pirimetamina :25-50mg/zi po (25mg la greutate<60 kg; 50mg la greutate>60 kg) + atovaquone 750 mg po la 6-12 ore (50% din doza de atac) + acid folinic 10-25mg/zi
- c. pirimetamina- sulfadoxina (Fansidar) 1 tableta (25mg pirimetamina + 500mg sulfadoxina) de 3 ori pe săptămână



AUTORITATEA DE SĂNĂTATE PUBLICĂ A MUNICIPIULUI BUCUREȘTI
SPITALUL CLINIC DE BOLI INFECȚIOASE ȘI TROPICALE
„DR. VICTOR BABEȘ”

Șos. Mihai Bravu nr. 281 – 283, sector 3 Tel: 317.27.27, 317.27.28 Tel/Fax: 317.27.21

web site: www.spitalulbabes.ro e-mail: vbabes@xnet.ro



- ✓ **Profilaxia primară** - este indicată pentru pacienții cu infecție HIV cu serologie pozitivă pentru *Toxoplasma gondii* (IgG) și CD4 <200/mm³ (15%)

✓

- ✓ **Scheme de tratament:**

1. De primă intenție: cotrimoxazol: 160mg trimetoprim/800mg sulfametoxazol/ zi sau 80 mg trimetoprim- 400mg sulfametoxazol/ zi
2. Alternativ:
 - dapsona 50mg/ zi po + pirimetamina 50mg po/ săptămână + acid folinic 25mg/săptămână
 - atovaquone 1500mg/ zi monoterapie

Profilaxia primară poate fi întreruptă dacă imunitatea celulară prezintă o creștere sustinută >3 luni a numărului de limfocite CD4 > 200/ mm³ sub cART și trebuie reluată dacă scade <200/ mm³.

Schemele terapeutice cu cotrimoxazole, sulfadiazina, dapsona sau atovaquone asigură și profilaxia pneumoniei cu *Pneumocystis jirovecii*.

- ✓ **Tratamente asociate**

- ✓ **Corticosteroizi:**

- sunt indicați numai în caz de edem cerebral, efect de masă important al leziunilor focale durată scurtă (max. 2 săptămâni) și după ce s-au făcut demersurile de stabilire a diagnosticului (pot afecta rezultatele în caz de limfom)
- nu influențează răspunsul clinic la terapia specifică anti-toxoplasma și nici durată de supraviețuire
- efectul lor favorabil pe termen scurt, prin acțiunea anti-edematoasă și anti-inflamatoare, face dificilă interpretarea tratamentului de probă anti-toxoplasma

- ✓ **Anticonvulsivante:** indicate în caz de convulsii pe perioada terapiei de atac nu se administrează profilactic la toți pacienții

- ✓ **Terapia antiretrovirală (cART)**

- se indică a fi inițiată cât mai precoce, având în vedere imunodepresia severă, chiar și în faza de terapie acută anti-Toxoplasma (Antinori, Larussa et al. 2004)
- restaurarea imunității celulare prin cART oferă cea mai bună supresie pe termen lung a toxoplasmozei și permite întreruperea profilaxiei secundare anti-toxo dacă CD4 este peste 200 limfocite/ mm³, timp de peste 6 luni
- se evită medicamentele cu toxicitate hematologică (zidovudina)
- poate determina sindromul inflamator de reconstituire imună fie prin demascarea unei TC nediate diagnosticate fie prin agravarea paradoxală a simptomatologiei unei TC diagnosticate anterior (Nissapatorn 2009)

Intocmit

Comisia de specialitate pentru analizarea rezultatelor

Utilizării ghidurilor și protocoalelor de practică

Presedinte Dr. Florescu Simin Aysel

Director Medical
Dr. Florescu Simin Aysel