



Gdański Uniwersytet Medyczny

Wydział Nauk o Zdrowiu z Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej

Klinika Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych

Katedra Medycyny Tropikalnej i Parazytologii

Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej

Lekarz Małgorzata Sulima

Ocena klinicznej wartości badań serologicznych i obrazowych w diagnostyce i monitorowaniu leczenia pacjentów z bąblowicą wielojamową na podstawie materiału Kliniki Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych UCMMiT z lat 2000-2016

Rozprawa doktorska

Promotor

dr hab. med. Waclaw Nahorski

Gdynia 2020 r.

Słowa kluczowe: Alveolar echinococcosis, Echinococcus multilocularis, serologic examination, ultrasound, imaging studies, liver transplantation

Tytuł pracy w języku angielskim:

The usefulness of serological tests and imaging studies in the diagnosis and monitoring of treatment in patients with alveolar echinococcosis based on experience of Department of Tropical and Parasitic Diseases, University Centre of Maritime and Tropical Medicine (UCMTM) in Gdynia.

Key words: Alveolar echinococcosis, Echinococcus multilocularis, serologic examination, ultrasound, imaging studies, liver transplantation

Spis treści:

1. Streszczenie w języku polskim
2. Streszczenie w języku angielskim
3. Piśmiennictwo
4. Publikacje włączone do rozprawy doktorskiej:

4.1 Sulima M., Wołyniec W., Ołdakowska-Jedynak U., Patkowski W., Wasielak N., Witczak-Malinowska K., Borys S., Nahorski W., Wroczyńska A., Szostakowska B., Lass A., Krawczyk M.: Liver Transplantation for Incurable Alveolar Echinococcosis: An Analysis of Patients Hospitalized in Department of Tropical and Parasitic Diseases in Gdynia. *Transplantation Proceeding*, 2016;48(5): 1708-1712. DOI: 10.1016/j.transproceed.2016.01.087

- 4.2 Sulima M., Nahorski W., Gorycki T., Wołyniec W., Wąż P., Felczak-Korzybska I., Szostakowska B., Sikorska K.: Ultrasound images in hepatic alveolar echinococcosis and clinical stage of the disease. *Advances in Medical Sciences* 2019;16;64(2); 324-330. DOI: 10.1016/j.advms.2019.04.002
- 4.3 Sulima M., Szostakowska B., Nahorski W., Sikorska K., Wołyniec W., Wąż P.: The usefulness of commercially available serological tests in the diagnosis and monitoring of treatment in patients with alveolar echinococcosis. *Clin. Exp. Hepatol.* 2019; vol5, nr 4, s. 327-333. DOI: <https://doi.org/10.5114/ceh.2019.89480>
- 4.4 Sulima M., Sikorska K., Nahorski W., Borys S.: Clinical aspects and treatment of alveolar echinococcosis- current state of the art and difficulties in the diagnosis and management of cases in Poland. *Postepy Hig Med Dosw.* 2020; 74: 49-56. DOI: 10.5604/01.3001.0013.9008

Streszczenie w języku polskim

Bąblowica jest chorobą pasożytniczą wywołaną przez tasiemce z rodzaju *Echinococcus*. Dwie najczęstsze odmiany tej choroby, wywołane przez różne gatunki tasiemca, to bąblowica jednojamowa (*Cystic echinococcosis*, CE) oraz wielojamowa (*Alveolar echinococcosis*, AE). Bąblowica jednojamowa występuje na całym świecie, podczas gdy przypadki AE odnotowuje się na półkuli północnej, w rejonach endemicznych Europy Zachodniej i Środkowej oraz Azji Środkowej i Wschodniej, a szczególnie w Chinach [1,2]. CE i AE prezentują się odmiennie w badaniach obrazowych oraz charakteryzują się różnym przebiegiem klinicznym,

a co za tym idzie wymagają odmiennego postępowania leczniczego. W przypadku CE czynnikiem etiologicznym odpowiadającym za większość zachorowań wśród ludzi jest *E. granulosus sensu stricto* (77% przypadków) oraz *E. canadensis* (22% przypadków). Natomiast za rozwój AE odpowiedzialne są stadia larwalne *E. multilocularis*, tasiemca pasożytującego w jelicie cienkim psowatych. Cykl życiowy *E. multilocularis* zawiera żywiciela pośredniego, jakim są gryzonie z podrodziny nornikowatych, takie jak nornik zwyczajny (*Microtus arvalis*), nornik północny (*M. oeconomus*) czy nornica ruda (*Myodes glareolus*). Człowiek ulega zarażeniu przypadkowo, poprzez połknięcie jaj znajdujących się w zanieczyszczonej odchodami wodzie lub pożywieniu, bądź też poprzez bezpośredni kontakt z żywicielem ostatecznym, którym najczęściej są lisy [2]. W ostatnich latach podkreśla się również rolę psów w transmisji zakażenia. W przeprowadzonym na terenie województwa podkarpackiego badaniu próbek kału pochodzących od psów, stwierdzono bowiem obecność DNA tego pasożyta [3]. Od początku lat 20 ubiegłego stulecia odnotowuje się znaczący wzrost zapadalności na AE w krajach Europy środkowo-wschodniej, w tym w Polsce [4]. Zwiększeniu uległ również odsetek zarażonych lisów. Najwięcej przypadków odnotowuje się w północno-wschodnim regionie Polski, w województwach warmińsko-mazurskim i podlaskim. Klinicznie inwazję pasożytniczą charakteryzuje długotrwały, podstępny przebieg bezobjawowy, który trwa średnio 5- 15 lat [2,5]. Narządem, w którym najczęściej dochodzi do rozwoju pierwotnych zmian w przebiegu AE jest wątroba [6]. Zwykle w czasie wystąpienia pierwszych objawów stwierdza się obecność dużej masy guzowatej sugerującej proces rozrostowy [7,8]. Zgodnie z wytycznymi World Health Organization- Informal Working Group on Echinococcosis (WHO-IWGE), prawdopodobne rozpoznanie AE może zostać postawione w oparciu o dane epidemiologiczne, obraz kliniczny, dodatnie wyniki 2 badań serologicznych i typowy obraz zmian w badaniach obrazowych. Natomiast rozpoznanie pewne AE możliwe jest po uzyskaniu potwierdzenia zakażenia w badaniu

histopatologicznym lub metodą PCR [8]. Powikłania wynikające z progresji choroby to cholestaza, zapalenie dróg żółciowych, wytworzenie ropnia w wątrobie, czy rozwój wtórnej marskości żółciowej wątroby i nadciśnienia wrotnego. W części przypadków w momencie rozpoznania widoczne są już zmiany pozawątrobowe, o lokalizacji odległej, np. w płucach (7-20% przypadków) czy mózgowiu (1-3% przypadków) [9,10]. Wczesne rozpoznanie i włączenie odpowiedniego leczenia jest bardzo ważne. W przypadkach nieleczonych śmiertelność jest wysoka i sięga 90% w okresie 10 lat od rozpoznania [11,12].

Znaczne zaawansowanie choroby odbiera chorym szansę optymalnego leczenia, jakim jest radykalny zabieg operacyjny połączony z czasowym leczeniem farmakologicznym. Chorzy niekwalifikujący się do leczenia operacyjnego, skazani są na leczenie pochodnymi benzimidazolu przez wiele lat, niekiedy do końca życia. W części przypadków jedyną szansą na uratowanie życia pacjenta jest zabieg przeszczepienia wątroby (LTx).

Badania serologiczne krwi są istotnym narzędziem w diagnostyce AE. Znalazły one również zastosowanie w monitorowaniu skuteczności leczenia [11] i kontroli po zakończeniu leczenia farmakologicznego, z uwagi na ryzyko wznowy choroby, szczególnie w grupie chorych poddanych immunosupresji. Diagnostyka serologiczna zwykle prowadzona jest w oparciu o dostępne komercyjnie testy immunoenzymatyczne (ELISA) oraz immunoblot, oparte na rekombinowanych i oczyszczonych antygenach białkowcowych. Jednoczesne zastosowanie różnych testów serologicznych, zwiększa szansę prawidłowego rozpoznania AE, pozwalając tym samym uniknąć inwazyjnych metod diagnostycznych, takich jak biopsja wątroby czy laparotomia zwiadowcza, które często wykonywane są bez wcześniejszego włączenia leczenia przeciwpasożytniczego, grożąc rozsiewem zarażenia.

Spośród badań obrazowych ultrasonografia (USG) jest badaniem pierwszego wyboru w diagnostyce dolegliwości bólowych brzucha, żółtaczk czy stanów gorączkowych, które często są pierwszymi objawami AE. W ocenie zmian białkowcowych znalazły również

zastosowanie inne metody obrazowania, takie jak tomografia komputerowa (CT), rezonans magnetyczny (MR), cholangiopankreatografia metodą rezonansu magnetycznego (MRCP), oraz pozytonowa tomografia emisyjna z użyciem ^{18}F -fluorodeoksyglukozy (^{18}F -FDG-PET-CT), która poprzez ocenę aktywności metabolicznej wokół zmian pasożytniczych pośrednio pomaga w różnicowaniu zmian aktywnych i nieaktywnych [13]. W ostatnich latach obserwuje się również coraz większą liczbę doniesień związanych z zastosowaniem USG z użyciem środka kontrastowego (Contrast-Enhanced Ultrasound, CEUS) w ocenie rozległości i aktywności zmian bąblowcowych w wątrobie. Wyniki badań są jednak niejednoznaczne i jak dotąd CEUS nie został powszechnie zaakceptowany jako standard diagnostyczny w AE [14]. CT jest doskonałym narzędziem w ocenie zwapnień [7,15,16].

Ich ilość i lokalizacja w obrębie nacieku pasożytniczego ulegają zmianie w trakcie naturalnego przebiegu choroby jak i leczenia farmakologicznego, w sposób pośredni ułatwiając ocenę dynamiki choroby pasożytniczej [7,16]. MRI z kolei pozwala na bardziej precyzyjną ocenę struktur pęcherzykowych charakterystycznych dla AE [8,13,16,17,18].

HIPOTEZY BADAWCZE:

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej była analiza przypadków bąblowicy wielojamowej w aspekcie wykorzystania badań obrazowych i serologicznych w diagnostyce i monitorowaniu leczenia pacjentów hospitalizowanych w Klinice Chorób Tropikalnych i Pasożytniczych Uniwersyteckiego Centrum Medycyny Morskiej i Tropikalnej (UCMMiT) w Gdyni w latach 2000 – 2016.

Postawiono trzy hipotezy badawcze:

1. Dostępne komercyjnie testy serologiczne w kierunku bąblowicy cechują się różną przydatnością w rozpoznawaniu AE, jak i ocenie aktywności choroby pasożytniczej w zależności od rodzaju zastosowanego leczenia (farmakologicznego czy

operacyjnego).

2. Występowanie określonego typu zmian w obrazowaniu ultrasonograficznym w wątrobie koreluje ze stopniem zaawansowania klinicznego i możliwością przeprowadzenia radykalnego leczenia operacyjnego.
3. Rokowanie w grupie chorych z wątrobową wielojamową wadliwą poddanych zabiegowi przeszczepienia wątroby jest dobre.

W pracy analizą retrospektywną objęto wyniki badań serologicznych i obrazowych 72 pacjentów z prawdopodobnym i pewnym (według Brunetti et al.) [6] rozpoznaniem AE, hospitalizowanych w latach 2000-2016 w UCMMiT w Gdyni. Zebrano także dane dotyczące przebiegu leczenia zachowawczego i operacyjnego. Badania serologiczne wykonane zostały zgodnie z instrukcjami producentów w Zakładzie Parazytologii Tropikalnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. W pracy oceniono przydatność kliniczną komercyjnie dostępnych testów serologicznych, immunoenzymatycznego Em2plus ELISA (Bordier Affinity Products) oraz *Echinococcus* Western Blot IgG (LDBIO Diagnostics) w diagnozowaniu i monitorowaniu leczenia pacjentów z AE, na podstawie analizy danych z obserwacji 66 chorych. Ponadto podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, czy poszerzenie diagnostyki o zastosowanie testu immunoblot ANTY-Echinococcus EUROLINE-WB(IgG) w momencie negatywizacji testu Em2 plus ELISA w grupie chorych poddanych leczeniu operacyjnemu, u których wciąż utrzymują się dodatnie wyniki *Echinococcus* Western Blot IgG, umożliwi dokładniejszą ocenę aktywności choroby pasożytniczej. Chorych (n=66) przydzielono do jednej z czterech grup w zależności od metody zastosowanego leczenia. Pacjentów leczonych zachowawczo (n=25), radykalnie operowanych (n=21), nieradykalnie operowanych (n=10) oraz poddanych przeszczepieniu wątroby (LTx) (n=10). W momencie rozpoznania u wszystkich chorych wykonane były badania serologiczne

przy użyciu testów Em2plus ELISA oraz *Echinococcus* Western Blot IgG. W trakcie prowadzonego leczenia badania testem Em2plus ELISA wykonane zostały u wszystkich 66 chorych. *Echinococcus* Western Blot IgG wykonano natomiast u 47 chorych (71,2%). Wynik testu *Echinococcus* Western Blot IgG w analizowanej grupie potwierdzał rozpoznanie AE w momencie rozpoznania w 69,7 % przypadków. Wynik testu Em2plus ELISA był dodatni u wszystkich pacjentów w momencie rozpoznania. W trakcie dwuletniej obserwacji wynik testu Em2plus ELISA istotnie statystycznie ulegał negatywizacji w grupie pacjentów zoperowanych radykalnie i poddanych LTx, przy czym negatywizacja testu następowała w okresie od 1 miesiąca do roku od zabiegu. W przypadku pacjentów zoperowanych nieradykalnie negatywizacja testu następowała w okresie późniejszym. Wynik testu nie zmienił się u żadnego z pacjentów leczonych zachowawczo, przy czym najdłuższy okres obserwacji wyniósł 14 lat. W przypadku testu *Echinococcus* Western Blot IgG jego negatywizację w trakcie dwuletniej obserwacji zaobserwowano w grupie pacjentów leczonych zachowawczo, operowanych radykalnie oraz poddanych LTx. Nie wykazano jednak różnic statystycznie istotnych w poszczególnych grupach chorych. W przeprowadzonym dodatkowo badaniu 11 surowic pozyskanych od pacjentów poddanych leczeniu operacyjnemu i LTx, u których utrzymywały się dodatnie wyniki testu *Echinococcus* Western Blot IgG, pomimo negatywizacji wyników w teście Em2plus ELISA, uzyskano ujemny wynik badania w teście ANTY-Echinococcus EUROLINE-WB(IgG) w 6 przypadkach (54,5%). W dwóch przypadkach wyniki testu były graniczne (18,2%), w dwóch nadal wypadały dodatnio dla zakażenia AE, a w jednym przypadku dodatni wynik testu nie pozwalał na różnicowanie między CE a AE. Wyniki tych badań sugerują, iż test ten jest bardziej „dynamiczny” i szybciej ulega negatywizacji w trakcie skutecznego leczenia niż test *Echinococcus* Western Blot IgG. Hipoteza ta jednak wymaga przeprowadzenia dalszych badań, na większej grupie chorych, w tym także pacjentów leczonych tylko

farmakologicznie. W praktyce może to mieć znaczenie w monitorowaniu aktywności choroby pasożytniczej i podejmowaniu decyzji o zakończeniu leczenia farmakologicznego. Z drugiej strony w praktyce codziennej wciąż zdarzają się chorzy poddani leczeniu operacyjnemu z powodu zmiany ogniskowej w wątrobie, którzy do ośrodków zajmujących się leczeniem bąblowicy trafiają późno, nawet do roku czasu od zabiegu operacyjnego. U części z nich, gdy po radykalnym zabiegu dochodzi do negatywizacji testów Em2plus ELISA oraz Anti-Echinococcus EUROLINE-Westernblot (IgG), test *Echinococcus* Western Blot IgG może się okazać przydatny w potwierdzeniu rozpoznania AE i ustalenia dalszego postępowania, w tym włączenia leczenia przeciw pasożytniczego i kontynuacji nadzoru nad chorym.

(Sulima M., Szostakowska B., Nahorski W., Sikorska K., Wołyniec W., Wąż P.: The usefulness of commercially available serological tests in the diagnosis and monitoring of treatment in patients with alveolar echinococcosis. Clin. Exp. Hepatol. 2019; vol5, nr 4, s. 327-333)

Druga teza badawcza dotyczyła występowania korelacji określonego typu zmian ultrasonograficznych w bąblowicy wielojamowej wątroby ze stopniem zaawansowania klinicznego, a co za tym idzie z możliwością przeprowadzenia radykalnego leczenia operacyjnego. Zaawansowanie zmian w wątrobie oceniano w badaniach USG, CT oraz MRI. Ostatecznie do badania zakwalifikowano 58 chorych, u których była możliwa szczegółowa analiza obrazów ultrasonograficznych i u których stwierdzano jeden typ zmian. Wykluczono z badania 13 pacjentów, którzy poddani byli dalszej obserwacji w UCMMiT po przebytych już wcześniej leczeniu operacyjnym lub przeszczepieniu wątroby oraz chorą, u której obserwowano dwa różne typy zmian występujące jednocześnie w obu płatach wątroby. W badanej grupie znalazło się 39 pacjentów z rozpoznaniem pewnym AE oraz 19 z rozpoznaniem prawdopodobnym. W grupie pacjentów z rozpoznaniem pewnym w siedmiu przypadkach pobranie materiału do badania hist-pat. wykonane zostało bez wcześniejszego podejrzenia AE i wdrożenia leczenia przeciw pasożytniczego. Rozpoznanie prawdopodobne

postawione było w oparciu o dodatnie wyniki badań serologicznych krwi i charakterystyczne obrazy zmian w tomografii komputerowej. Badania usg j. brzusznej wykonywane były przez dwóch lekarzy doświadczonych w diagnostyce i leczeniu AE (I.F., M.S), początkowo na aparacie ATL Philips APOGEE800W przy użyciu sondy Convex Philips C5-2, a w okresie późniejszym na aparacie ALOKA 10 Premier przy użyciu sondy ConvexUST-9130. W pracy poddano analizie wyniki badań USG wykonywanych w momencie rozpoznania. W ocenie badań USG użyto klasyfikacji opracowanej przez badaczy z Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Ulm (Niemcy) [19]. Klasyfikacja ta opiera się na 5 wzorcach zmian. Typ 1 to zmiany o obrazie “burzy gradowej” (hailstorm pattern) przedstawiające się jako niejednorodne echogeniczne obszary o nieregularnych obrysach, z widocznymi rozszianymi skupiskami hiperech, w części przypadków ze zwapnieniami. Typ 2 to zmiany o typie pseudotorbieli (pseudocystic pattern) z widoczną nieregularną hiperechogenną obwódką, nie wykazującą unaczynienia w opcji power Doppler. Typ 3 to ogniska o morfologii przerzutów (metastasis-like pattern), typ 4 o morfologii naczynek (hemangioma-like pattern) oraz typ 5 to zmiany o typie zwapnień (ossification pattern). Ponadto w trakcie badania przeanalizowano lokalizację zmian w obrębie wątroby (prawy/lewy płąt wątroby), ich wielkość oraz liczbę. Stopień zaawansowania choroby oceniono w oparciu o wyniki badań obrazowych (CT/MRI) zgodnie z klasyfikacją PNM [6], w której P- określa wielkość i lokalizację nacieku pasożytniczego w wątrobie, N- ekspansję pozawątrobową na otaczające tkanki a M- obecność zmian odległych. W grupie 58 chorych poddanych analizie ultrasonograficznej zmiany w wątrobie zlokalizowane były w obrębie prawego płata wątroby w 21 przypadkach (36,2 %) a w obrębie płata lewego w czterech przypadkach (6,9 %). Najczęściej, bo aż w 33 przypadkach (56,9 %) obserwowano zajęcie obu płatów wątroby. W 10 przypadkach obserwowano wyjście nacieku poza wnękę wątroby. Największe wymiary osiągały zmiany o typie pseudotorbieli i zlokalizowane były w płacie prawym. W siedmiu

przypadkach w momencie rozpoznania na podstawie przeprowadzonej równocześnie diagnostyki CT stwierdzano obecność zmian pozawątrobowych (w tym rozsiew do otrzewnej, przestrzeni zaotrzewnowej i miednicy małej, zmiany odległe w płucach i mózgowiu). Przeprowadzona analiza ultrasonograficzna według klasyfikacji z Ulm wykazała występowanie zmian o typie burzy gradowej [Fig. 1] w 33 przypadkach (56,9 %). Zmiany o typie pseudotorbieli [Fig. 2] obserwowane były w 21 (36,2%), a o typie naczynek [Fig. 3] w dwóch (3,4%) przypadkach. Wzór badania o typie zwapnień (ossification pattern) odnotowano u dwóch pacjentów - u tych chorych stwierdzano zmiany wielogniskowe (odpowiednio trzy i pięć ognisk) występujące w obu płatach wątroby.



Fig.1 Zmiana o typie “burzy gradowej”
Hailstorm pattern.



Fig.2 Zmiana o typie pseudotorbieli
Pseudocystic pattern



Fig.3 Zmiana o typie naczyniaków
Hemangioma-like pattern

Stopień zaawansowania ustalono w oparciu o wymieniony wyżej system PNM. Za kwalifikujące się do totalnej resekcji uznano zaawansowanie zmian w stadium I i II. Przeprowadzona analiza statystyczna nie wykazała istotnego związku między dwoma najczęściej obserwowanymi typami zmian (burzy gradowej i pseudotorbieli) a stopniem zaawansowania klinicznego.

(Sulima M., Nahorski W., Gorycki T., Wołyniec W., Wąż P., Felczak-Korzybska I., Szostakowska B., Sikorska K.: Ultrasound images in hepatic alveolar echinococcosis and clinical stage of the disease. *Advances in Medical Sciences* 2019;16;64(2); 324-330)

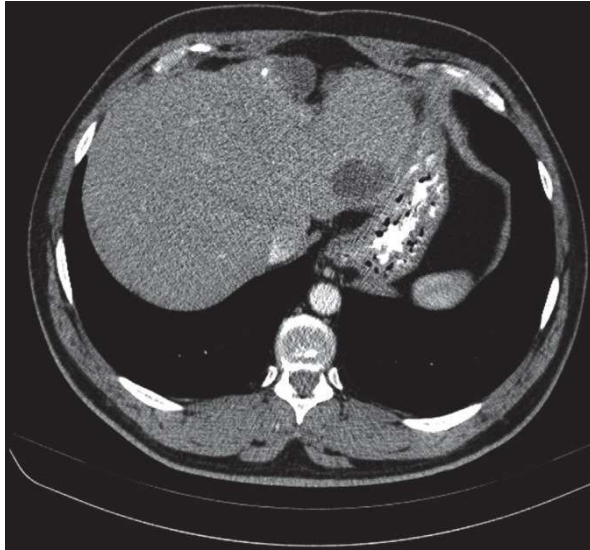
Trzecia teza badawcza dotyczyła oceny rokowania w grupie chorych poddanych zabiegowi przeszczepienia wątroby (LTx). Zgodnie z zaleceniami Grupy Ekspertów ds. bąblowicy działającej przy WHO [6] do zabiegu przeszczepienia wątroby powinni być kwalifikowani chorzy z zagrażającą życiu niewydolnością wątroby czy nawracającymi incydentami zapalenia dróg żółciowych, u których stwierdza się brak możliwości radykalnego leczenia operacyjnego i u których wykluczono obecność zmian pozawątrobowych. W zaawansowanych przypadkach, przy współistnieniu zmian odległych, przeszczepienie wątroby wykonywane powinno być wyjątkowo, tylko ze wskazań życiowych, z uwagi na ryzyko progresji zmiany odległej na skutek stosowanej immunosupresji, promującej rozwój choroby pasożytniczej. Warunkiem kwalifikacji takiego chorego do LTx jest brak przeciwwskazań i zapewnienie ciągłości wieloletniego leczenia farmakologicznego pochodnymi benzimidazolu po przeszczepieniu. Ilość przypadków LTx wykonywanych w Polsce z powodu AE jest wciąż wysoka. Wynika to z faktu, iż w momencie rozpoznania proces chorobowy jest często zaawansowany. O ile w przypadku pacjentów leczonych radykalnie operacyjnie Grupa Ekspertów ds. bąblowicy działająca przy WHO zaleca leczenie farmakologiczne pochodnymi benzimidazolu przez okres dwóch lat od operacji, tak w grupie po LTx nie ma jednoznacznych rekomendacji [6]. Z uwagi na wysokie ryzyko wznowy choroby pasożytniczej zaleca się długotrwałe leczenie farmakologiczne u chorych po LTx. W pracy przedstawiono grupę dziewięciu chorych (obejmującą siedmiu mężczyzn oraz dwóch kobiet) znajdujących się pod opieką UCMMiT, którzy poddani zostali LTx. To pierwsza opisana w Polsce taka grupa chorych. Średni wiek w momencie przeszczepienia wynosił 46,11 (32- 64) lat, podczas gdy średni wiek w momencie rozpoznania AE to 43,89 (30-64) lat. Czas od rozpoznania AE do LTx wynosił od ośmiu do 90 miesięcy (średni 28,78

miesiący). Przeszczepienia wykonane zostały w Klinice Chirurgii Ogólnej Transplantacyjnej i Wątroby Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. We wszystkich przypadkach były to przeszczepienia od zmarłego dawcy. Głównym wskazaniem do LTx były nawracające ciężkie zapalenia dróg żółciowych (w pięciu z dziewięciu przypadków) oraz progresja choroby pasożytniczej pomimo stosowanego leczenia farmakologicznego, zagrażająca ekspansją nacieku pasożytniczego poza wnękę wątroby. W dwóch przypadkach wskazaniem do LTx była zagrażająca życiu niewydolność wątroby. W jednym przypadku w trakcie przeszczepienia doszło do rozszerzenia zabiegu o częściową resekcję zajętej naciekiem pasożytniczym przepony oraz prawego przedsiönka. W tym przypadku rozległość nacieku pasożytniczego przekraczająca granice wątroby, nie była znana w trakcie kwalifikacji do LTx. Stopień zaawansowania zmian w momencie kwalifikacji do LTx oceniany był według klasyfikacji PNM. W momencie kwalifikacji do LTx sześciu chorych było w stadium zaawansowania P3N0M0 a trzech w P4N1M0. Jak wspomniano, w jednym przypadku zaawansowanie choroby stwierdzone śródoperacyjnie było większe niż ustalone zostało w trakcie badań obrazowych kwalifikujących do przeszczepienia. W analizowanej grupie u pięciu chorych LTx poprzedzony był wcześniejszym leczeniem operacyjnym, w tym w dwóch przypadkach hemihepatectomią, a w trzech laparotomią zwiadowczą. W analizowanym okresie czas obserwacji po LTx wynosił od siedmiu do 155 miesięcy (średni 6,4 lat). Odnotowano jeden zgon. Dotyczył on pacjenta z zaawansowaną chorobą (P4N1 M0), wcześniej poddanego zabiegowi nieradykalnej hemihepatectomii, u którego w okresie po LTx doszło do zapalenia dróg żółciowych powikłanego powstaniem ropnia w wątrobie i niewydolnością wątroby. W jednym przypadku pacjent zaniechał wizyt kontrolnych. Leczenie przeciwpasożytnicze przed LTx wdrożone zostało u wszystkich chorych. W trzech przypadkach zaistniała konieczność czasowego przerwania leczenia farmakologicznego z uwagi na obserwowany wzrost aktywności transaminaz. Średni czas

przyjmowania albendazolu (ABZ) przed LTx wyniósł 6,3 (6,5-59,5) miesięcy. Po LTx wszystkim chorym zalecono kontynuację leczenia ABZ.

Fig.4 Nawrót AE w lewym płacie przeszczepionej wątroby.

The recurrence of AE in a transplant liver patient.



Dwóch chorych nie przestrzegało zaleceń lekarskich dotyczących leczenia farmakologicznego po LTx. Jeden pacjent przerwał leczenie przeciwpasożytnicze po dwóch latach i zaniechał dalszej kontroli w UCMMiT, drugi przerwał leczenie po roku i u tego chorego (wyjściowo w stadium zaawansowania P4N1M0) po 12 latach od LTx obserwowano wznowę AE w obrębie lewego płata przeszczepionej wątroby [Fig. 4] z zajęciem przepony i naciekiem osierdzia. Średni czas od rozpoznania do LTx był relatywnie szybki (28 miesięcy). Przeżycie było dobre. Tylko jeden pacjent zmarł.

(Sulima M., Wołyniec W., Ołdakowska-Jedynak U., Patkowski W., Wasielak N., Witczak Malinowska K., Borys S., Nahorski W., Wroczyńska A., Szostakowska B, Lass A., Krawczyk M.: Liver Transplantation for Incurable Alveolar Echinococcosis: An Analysis of Patients Hospitalized in Department of Tropical and Parasitic Diseases in Gdynia. Transplantation Proceeding, 2016;48(5): 1708-1712)

Podsumowanie:

Doświadczenia naszego ośrodka wskazują na to, że rozpoznanie AE stawiane jest nadal na etapie znacznego zaawansowania choroby (Fig 5).

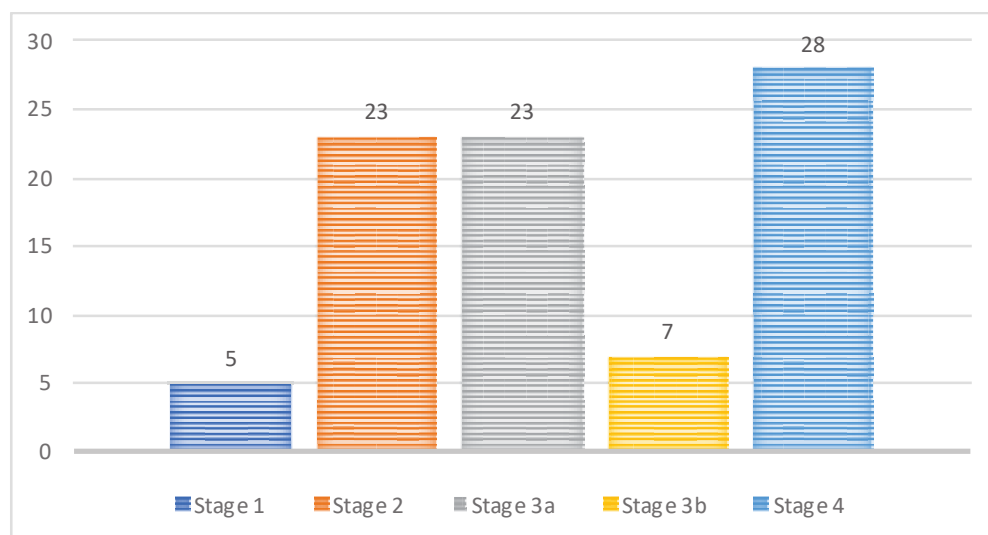


Fig. 5 Stopień zaawansowania klinicznego (według Brunetti et al.) AE w momencie rozpoznania w grupie 86 pacjentów hospitalizowanych w UCMMiT w latach 2000-2018. Stage 1- zmiana położona obwodowo w wątrobie bez zajęcia proksymalnych naczyń i/lub dróg żółciowych. Stage 2- zmiana położona centralnie w wątrobie z zajęciem proksymalnych naczyń i/lub dróg żółciowych jednego płata. Stage 3a- zmiana położona centralnie w wątrobie z zajęciem naczyń i dróg żółciowych obu płatów w obrębie wnęki i/lub z zajęciem dwóch żył wątrobowych. Stage 3b- każda zmiana szerząca się poza wątrobę wzdłuż naczyń i dróg żółciowych lub naciekająca narządy sąsiednie lub tkanki. Stage 4- każda zmiana szerząca się poza wątrobę wzdłuż naczyń i dróg żółciowych i naciekająca narządy sąsiednie lub tkanki lub

każda zmiana w wątrobie ze współistnieniem zmian odległych z/ bez naciekania narządów sąsiednich lub tkanek.

Clinical stage of AE patients' at the time of diagnosis (according to Brunetti et. al) in group of 86 patients hospitalized in UCMTM between 2000-2018. Stage 1- peripheral liver lesions without proximal vascular and/or biliar involvement. Stage 2- central liver lesions with proximal vascular and/or biliar involvement of one lobe. Stage 3a- central liver lesions with hilar vascular and biliar involvement of both lobes and /or with involvement of two hepatic veins. Stage 3b- any liver lesion with extension along the vessels and the biliary tree or with regional involvement of contiguous organs or tissues. Stage 4- any liver lesion with extension along the vessels and the biliary tree with regional involvement of contiguous organs or tissues or any liver lesion with distant metastasis with/without regional involvement of contiguous organs or tissues.

Rozszerzona o kolejne dwa lata obserwacja kliniczna wykazała, iż spośród 16 odnotowanych nowych przypadków AE w UCMMiT w latach 2016-2018, w siedmiu przypadkach diagnostyka serologiczna i włączenie leczenia BMZ, poprzedzone były wykonaniem biopsji zmiany w wątrobie, a w czterech przypadkach laparotomią zwiadowczą z pobraniem wycinków do badania hist-pat. W jednym z przypadków, w którym przed radykalnym leczeniem operacyjnym zmiany w wątrobie wykonano biopsję, pacjentka wymagała przedłużonego leczenia BMZ z uwagi na stwierdzony śródoperacyjnie rozsiew AE do otrzewnej. Diagnostyka obrazowa AE prowadzona była w oparciu o badania ultrasonograficzne, CT oraz MRI. Ocena zmian miała charakter opisowy z uwzględnieniem zmian o typie rozpadu czy zwapnień, nie stosowano jednak systematycznie żadnej z proponowanych w piśmiennictwie klasyfikacji zmian. CT oraz MRI okazały się bardziej przydatne w ocenie stopnia zaawansowania AE i kwalifikacji do leczenia operacyjnego, szczególnie w przypadku ekspansji nacieku poza wnękę wątroby czy zajęcia przestrzeni

zaotrzewnowej. W grupie 86 chorych z AE obserwowanych w UCMMiT w latach 2000-2018 tylko 28 (32,5%) kwalifikowało się do radykalnego leczenia operacyjnego w momencie rozpoznania. Wskazuje to na potrzebę propagowania wiedzy wśród personelu medycznego, szczególnie wykonującego badania obrazowe, jak i prowadzenia badań przesiewowych w rejonach endemicznych tej choroby. Praca podkreśla konieczność prowadzenia diagnostyki serologicznej AE z jednoczesnym wykorzystaniem kilku testów. Dotyczy to zarówno rozpoznania zarażenia *Echinococcus spp.* jak i różnicowania między AE i CE. Interpretacja wyników zawsze powinna odbywać się w łączności z wynikami badań obrazowych i danymi dotyczącymi przebiegu klinicznego AE, szczególnie przebytego leczenia operacyjnego. Trzeba mieć bowiem na uwadze, że skuteczne leczenie operacyjne czy stosowane leczenie farmakologiczne skutkujące wygasaniem aktywności choroby pasożytniczej wpływa na wyniki badań serologicznych, czyniąc różnicowanie gatunkowe bąblowicy w trakcie leczenia mniej prawdopodobnym. W leczeniu farmakologicznym lekiem z wyboru jest ABZ. W UCMMiT początkowo stosowany był w schemacie cyklicznym z przerwami (28 dni leczenia/14 dni przerwy), a następnie zgodnie z rekomendacjami WHO-IWGE [6] w sposób ciągły. Działania niepożądane wymuszające czasowe lub trwale zaprzestanie leczenia obserwowano w 22 przypadkach (25,6%). Najczęstszą przyczyną był obserwowany wzrost aktywności transaminaz (18,6 %). Przy czym w połowie przypadków dotyczył pacjentów z cholestazą i w tej grupie możliwa była kontynuacja leczenia ABZ po normalizacji aktywności transaminaz na skutek skutecznego leczenia endoskopowego. W pozostałych 8 przypadkach, u pacjentów z wyjściowo prawidłowymi poziomami aktywności transaminaz i enzymatycznymi wskaźnikami cholestazy wzrost aktywności transaminaz następował w okresie od jednego do trzech miesięcy od rozpoczęcia leczenia ABZ. Wiązano to z toksycznością ABZ i stanowiło przeciwwskazanie do jego dalszego stosowania. W tych przypadkach leczenie kontynuowano z użyciem mebendazolu (MBZ). Drugim czynnikiem

wymuszającym redukcję dawek ABZ była neutropenia (4,7%). W większości przypadków obserwowano ją w grupie chorych z nadciśnieniem wrotnym i hipersplenizmem i wyjściowo obniżoną liczbą białych krwinek. Leczenie farmakologiczne AE, poza możliwym wystąpieniem działań niepożądanych jest dużym obciążeniem finansowym dla pacjenta w Polsce. Charakterystyka produktu leczniczego dla ABZ i MBZ nie uwzględnia ich zastosowania w leczeniu AE (off label use). Leczenie ABZ jest nierefundowane, a dla MBZ podlega refundacji tylko w przypadku owsicy, glistnicy, trichuriozy, ankylostomatozy czy nekatoriozy. W takiej sytuacji dla wielu pacjentów jedyną szansą na kontynuowanie leczenia farmakologicznego jest kupno leku za granicą lub korzystanie z ofert sprzedaży leków w internecie, których pochodzenie i skład jest niepewny i może stanowić zagrożenie dla zdrowia. W grupie pacjentów leczonych zachowawczo istotnym problemem jest zachowanie drożności dróg żółciowych. UCMMiT jako ośrodek zajmujący się leczeniem pacjentów z AE brał udział w wielośrodkowym europejskim badaniu dotyczącym zastosowania zabiegów endoskopowych w leczeniu powikłań AE dotyczących dróg żółciowych [20]. Główne wnioski wysunięte na podstawie analizy danych dotyczących zastosowania zabiegów endoskopowych w tej grupie chorych, to przeważająca korzyść stosowania stentów plastikowych w przeciwieństwie do metalowych w trakcie protezowania dróg żółciowych, prowadząca do wydłużenia okresu drożności dróg żółciowych, oraz zalecenie intensywnego płukania i usunięcia tkanek pasożyta w trakcie protezowania, co wraz z zastosowaniem antybiotyku zmniejsza ryzyko powikłań pod postacią zapalenia dróg żółciowych. Trudnym momentem w prowadzeniu leczenia chorych z AE jest decyzja o zakończeniu leczenia farmakologicznego w grupie pacjentów niepoddanych leczeniu operacyjnemu, nieradykalnie zoperowanych oraz po LTx. Decyzję podejmuje się w oparciu o wyniki badań obrazowych pomocne w ocenie aktywności zmian pasożytniczych oraz wyniki badań serologicznych. Wysokie koszty oraz brak refundacji badania 18F-FDG-PET-CT są

przeszkodą w jego powszechnym stosowaniu w Polsce, natomiast CEUS jako tańsza alternatywna metoda oceny aktywności zmian AE w wątrobie, nie został zaakceptowany przez grupy ekspertów zajmujących się problematyką AE.

Leczenie pacjentów z AE wymaga opieki wielodyscyplinarnego zespołu, w oparciu o aktualne zalecenia diagnostyczno- terapeutyczne i wymianę doświadczeń pomiędzy Ośrodkami zajmującymi się problematyką bąblowicy. Aktualne zalecenia dotyczące zastosowania badań serologicznych i obrazowych w AE oraz prowadzenie leczenia w tej grupie chorych, z uwzględnieniem doświadczeń własnych przedstawiono w załączonej publikacji.

(Sulima M., Sikorska K., Nahorski W., Borys S.: Clinical aspects and treatment of alveolar echinococcosis- current state of art and difficulties in the diagnosis and management of cases in Poland. Postepy Hig Med. Dosw. 2020; 74: 49-56)

Streszczenie w języku angielskim

Echinococcosis is a parasitic disease caused by tapeworms of the genus *Echinococcus*. The two most common forms of this disease, caused by different tapeworm species, are cystic echinococcosis (CE) and alveolar echinococcosis (AE). CE has a cosmopolitan distribution, whereas AE occurs in the northern hemisphere, in the endemic areas of Western and Central Europe as well as Central and Eastern Asia, especially in China [1,2]. CE and AE present different lesion patterns in imaging examinations and are characterized by different clinical course, and thus require different therapeutic approach.

In case of CE etiological factors responsible for high incidence of the disease in humans are *E. granulosus sensu stricto* (77% of cases) and *E. canadensis* (22% of cases). AE is caused by the larval form of the tapeworm *Echinococcus multilocularis*. Carnivores are the definitive

hosts for the adult form of the parasite. The cycle of *E. multilocularis* involve intermediate hosts which are rodents from the family Arvicolidae such as common vole (*Microtus arvalis*), tundra vole (*M. oeconomus*) or bank vole (*Myodes glareolus*). Humans can be infected as aberrant intermediate host by accidental swallowing of parasite eggs with contaminated water or food or by direct contact with definitive hosts, mainly foxes. [2]. The role of dogs in transmission of infection is emphasized in recent years. Molecular analysis of faecal samples collected from dogs in rural areas in Podkarpackie province has detected *E. multilocularis* DNA [3]. Since early 1920s, a significant increase in the incidence of AE in Central and Eastern Europe, including Poland has been noted [4]. Percentage of infected foxes has increased too. The largest number of cases is detected in the north-eastern and south-eastern regions of Poland in Varmia- Masuria and Podlaskie Province. Clinically, the parasitic invasion is characterized by a long-lasting asymptomatic phase (of average duration of 5-15 years) [2,5]. In most cases of AE, primary lesions are located in the liver [6]. Often at the onset of symptoms, imaging examination reveals the presence of a large tumour-like mass in the liver, suggestive of a proliferative process [7,8]. According to World Health Organization Informal Working Group on Echinococcosis (WHO-IWGE), the probable diagnosis is based on the positive results of serological tests and a typical pattern of lesions in imaging examinations. The diagnosis is considered as certain in patients in whom the disease is additionally confirmed by histopathological or molecular (PCR) examination [8]. Accompanying complications resulting from the progression of the disease are cholestasis, cholangitis, formation of an abscess, or secondary biliary cirrhosis and portal hypertension. In some cases intercurrent extrahepatic lesions due to spread by continuity to adjacent structures or metastasizing via the haematogenic route to remote locations, e.g. the lungs (7-20% of cases) or the brain (1-3% of cases) are present [9,10]. Early diagnosis and initiation of appropriate treatment are very important. In untreated patients, mortality reaches 90% within 10 years from diagnosis [11,12].

Radical resection of the lesion at the initial stage of its development, combined with temporary pharmacological treatment with benzimidazoles (BMZ) is the most effective management.

Patients with advanced disease, who are not eligible for surgery, require treatment with benzimidazoles for many years, sometimes for the rest of their lives. In some cases, liver transplantation (LTx) remains the only therapeutic option and a chance for survival.

Serological blood tests are besides imaging studies important tools in the diagnosis and monitoring the effectiveness of treatment [11] as well as in follow-up after the termination of pharmacotherapy, due to the risk of recurrence, especially in the group of patients receiving immunosuppression. Serological diagnosis is usually based on commercially available immunoenzymatic (ELISA) and immunoblot assays containing recombinant and purified *Echinococcus* antigens. Simultaneous use of various serological tests increases the chance of establishing correct diagnosis of AE, thus avoiding invasive diagnostic methods, such as liver biopsy or exploratory laparotomy. Invasive diagnostic methods, often performed without previously initiated antiparasitic treatment, carry the risk of spreading the infection.

Ultrasound examination is usually the diagnostic modality of choice in patients with abdominal pain, jaundice or febrile conditions, which are often the first symptoms of AE.

In the assessment of echinococcal lesions, apart from ultrasound, other imaging methods have been applied, such as CT, MRI, magnetic resonance cholangiopancreatography and positron emission tomography using 18F-fluorodeoxyglucose (18F-FDG-PET-CT), which helps in differentiating between active and inactive lesions by assessing metabolic activity around parasitic lesions [13]. In recent years, there have been an increasing number of reports related to the use of contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in assessing the extent and activity of echinococcal lesions in the liver. However, the results obtained are ambiguous and so far CEUS has not been universally accepted as a diagnostic standard in hepatic AE [14]. CT allows for precise assessment of the location and extent of parasitic infiltration in the liver. In our study, CT turned out to be more sensitive in the assessment of extrahepatic lesions of AE, especially in adrenal glands, retroperitoneal space and pelvis. CT is sensitive tool in the assessment of

calcification [7,15 ,16], their number and localization within the parasitic infiltration changes during the natural course of the disease and is also modified by pharmacological treatment. Thus their appearance allows for indirect assessment of the dynamics of the parasitic disease [7,16]. MRI, which in turn allows for a more accurate assessment of alveolar structures, which are characteristic of AE [8, 13,16,17, 18].

Scientific hypothesis

The aim of this doctoral dissertation was analysis of AE patients in terms of the usefulness of imaging studies and serological diagnostics in diagnosis and monitoring of treatment based on the material of the Department of Tropical and Parasitic Diseases, UCMTM Gdynia, in the years 2000-2016. Three scientific hypotheses have been developed:

1. Commercially available serological tests being used in diagnosis and monitoring of treatment of AE patients are characterized by different usefulness depending on a kind of treatment used (pharmacological or surgical).
2. There is a correlation between the occurrence of a specific pattern of hepatic lesions on ultrasound imaging and clinical stage of AE determining the possibility of radical surgical treatment.
3. Prognosis in the group of AE patients after liver transplantation (LTx) is good.

Discussion

The retrospective analysis included the results of serological tests and imaging examinations of 72 patients with probable and certain (according to Brunetti et al.) [6] diagnosis of AE treated at the Department of Tropical Diseases and Parasitology, UCMTM in Gdynia between 2000-2016. Serological tests were performed in the Department of Tropical

Parasitology, Institute of Maritime and Tropical Medicine according to the manufacturers' instructions. The aim of the study was to assess the clinical usefulness of commercially available serological tests, *Echinococcus* Western Blot IgG (LDBIO Diagnostics, Lyon, France) and *Echinococcus multilocularis* ELISA (Bordier Affinity Products SA, Crissier, Switzerland) in the diagnosis and monitoring of treatment of patients with AE. Also, the study aimed to determine whether extended diagnostics including the ANTI-*Echinococcus* EUROLINE-WB (IgG) immunoblot assay, performed at the time of *Echinococcus multilocularis* ELISA negativization in the group of patients undergoing surgical treatment in whom the result of *Echinococcus* Western Blot IgG assay is still positive, enables a more accurate assessment of parasitic disease activity. The patients (n = 66) were assigned to one of four groups depending on the method of treatment used: receiving pharmacological treatment (n = 25), radical surgery (n = 21), non- radical surgery (n = 10) and liver transplantation (LTx) (n = 10). In all the patients both tests were performed at diagnosis. During the treatment, serum samples of all 66 patients were assessed using *Echinococcus multilocularis* ELISA. *Echinococcus* Western Blot IgG test was performed in 47 patients (71.2%). In 69.7% of the analysed patients, the result of the *Echinococcus* Western Blot IgG assay indicated AE at the time of diagnosis. *Echinococcus multilocularis* ELISA test results were positive in all patients at the time of diagnosis. During the two-year follow-up, statistically significant negativization of the results of this test was observed in the group of patients who underwent radical surgery or LTx. The negativization occurred one month to one year after surgical procedure. In the group of patients who underwent non-radical surgery the negativization occurred later. No change in test results was observed in the group of patients receiving pharmacological treatment, while the longest time of observation was 14 years. Negativization of *Echinococcus* Western Blot IgG (LDBIO Diagnostics) assay results was observed in some patients both who received conservative treatment and those who

underwent radical surgery or LTx during the two-year follow-up, however, no statistically significant differences were found between treatment groups. Among serum samples from 11 patients after radical surgery or LTx in whom *Echinococcus* Western Blot IgG assay remained positive, despite negative results of *Echinococcus multilocularis* ELISA test, that were additionally examined using ANTI-*Echinococcus* EUROLINE-WB (IgG) negative results were obtained in 6 samples (54.5%). In 2 samples (18.2%) test results were borderline, in 2 samples the results were still positive for AE infection, and in one sample the positive test result did not allow for differentiation between CE and AE. These results suggest that this assay is more "dynamic" and earlier becomes negative during effective treatment compared with *Echinococcus* Western Blot IgG assay. This hypothesis requires further research on a larger group of patients, including patients treated pharmacologically. In practice, it can be important in monitoring the activity of parasitic disease and making decisions about termination of pharmacological treatment. On the other hand, there are still patients in everyday practice undergoing surgical treatment due to a focal lesion in the liver, who appear at centers dealing with the treatment of echinococcosis late, even one year after surgery. In some of them, when after radical treatment *Echinococcus multilocularis* ELISA and ANTI-*Echinococcus* EUROLINE-WB (IgG) assays are negative, the *Echinococcus* Western Blot IgG test may prove useful in establishing further management of patients with suspected AE, including the implementation of antiparasitic treatment and continuation of follow-up. (Sulima M, Szostakowska B, Nahorski W, Sikorska K, Wołyniec W, Wąż P.: The usefulness of commercially available serological tests in the diagnosis and monitoring of treatment in patients with alveolar echinococcosis Clin. Exp. Hepatol. 2019; vol 5, nr 4, s. 327-333)

The second thesis concerned establishing whether there is a relationship between the clinical stage of AE determining the possibility of radical surgical treatment and the

occurrence of a specific pattern of hepatic lesions on ultrasound imaging. The stage of hepatic lesions was evaluated using US, CT and MRI. Finally, the study included 58 patients in whom a detailed analysis of ultrasound images was possible and who had one type of lesions. Excluded from the analysis were 13 patients who were followed-up in UCMTM after previous surgery or liver transplantation, and a patient with two different types of lesions occurring at the same time in both hepatic lobes. The study group included 39 patients with certain AE and 19 with probable diagnosis of AE. In the group with certain diagnosis, in seven patients the specimens for histopathological examination were collected without prior suspicion of AE or implementation of antiparasitic treatment. The probable diagnosis was based on the positive results of blood serological tests and characteristic appearance of the lesions on computed tomography. Abdominal ultrasound examinations were performed by two clinicians experienced in diagnosis and treatment of AE (IF, MS), initially with the Philips APOGEE800W ATL apparatus using the Convex Philips C5-2 probe and subsequently with the ALOKA α 10 Premier device using the ConvexUST probe 9130. The study analysed the findings of ultrasound examinations performed at diagnosis. The classification developed by researchers from the University Hospital in Ulm (Germany) was used for the assessment of ultrasound findings [19]. This classification is based on 5 types of lesions. Type 1 is a hailstorm pattern appearing as heterogeneously echogenic areas with irregular contours and visible scattered hyperechoic areas, in some cases calcifications can be seen. Type 2 is a pseudocystic pattern with an irregular hyperechoic rim that is not vascularized on power Doppler. Type 3 is a metastasis-like pattern. Type 4 is haemangioma-like pattern. Type 5 is ossification pattern with features of calcifications. In addition, the location of the lesions in the liver (right / left hepatic lobe), their size and number were analysed in the study. The stage of disease was assessed based on imaging examinations according to PNM classification [6], where P- defines the size of parasitic lesions in the liver,

N- extrahepatic expansion to neighbouring tissues and M- presence of distant metastases. In a group of 58 patients subjected to ultrasound examination, there were 21 patients (36.2%) in whom hepatic lesions were located in the right lobe and four patients (6.9%) with lesions in the left lobe. Most often, in as many as 33 cases (56.9%), both hepatic lobes were affected. In ten cases, the infiltration extended beyond the liver hilum. The lesions of the largest dimensions were of pseudocystic type and were located in the right lobe. In seven cases, the presence of extrahepatic lesions was detected (including dissemination to the peritoneum, retroperitoneal space and pelvis, distant foci in the lungs and brain) at diagnosis based on a simultaneous CT imaging. Analysis of ultrasound findings according to the Ulm classification showed the hailstorm pattern (Fig. 1) in 33 cases (56.9%), pseudocystic pattern (Fig. 2) in 21 (36.2%) cases and haemangioma-like pattern (Fig. 3) in 2 (3.4%) cases. The ossification pattern was reported in two patients with multifocal lesions (three and five foci) occurring in both hepatic lobes. The stage of the disease was determined based on the PNM system mentioned above. Patients with stages I and II were considered as eligible for total resection. There was no statistically significant correlation between the two most common ultrasound patterns of hepatic AE lesions (a hailstorm and a pseudocystic patterns) and clinical stage of AE or the radicality of surgical treatment.

(Sulima M, Nahorski W, Gorycki T, Wołyniec W, Wąż P, Felczak-Korzybska I, Szostakowska B, Sikorska K.: Ultrasound images in hepatic alveolar echinococcosis and clinical stage of the disease. *Adv. Med. Sci* 2019;16;64(2); 324-330)

The third thesis concerned evaluating of prognosis in group of patients after liver transplantation (LTx).

According to WHO IWGE recommendations LTx is regarded as a salvage therapy in advanced hepatic AE, with severe liver insufficiency or recurring cholangitis for patients not qualified to radical resection, in the absence of extra-hepatic AE lesions [6]. Cases with

residual AE in lung or abdominal cavity should be qualified for LTx after rigorous evaluation pros and cons, only among patients without contraindications for long-term BMZ treatment. The number of LTx in AE patients in Poland is still high. This is due to the fact that AE is often diagnosed at advanced stage. As in group of patients who underwent radical resection WHO-IWGE recommends continuation of ABZ treatment for the next 2-years after surgery, in group of transplant patient there are no clear guidelines [6]. Due to an increased risk of reactivation of latent foci of AE during immunosuppressive treatment, long term ABZ therapy is recommended. In our study a group of nine patients (seven males and two females) after LTx was presented. This is the first such group described in Poland. Patients' ages at the time of LTx ranged from 32 to 64 (mean age 46,11) years. The time between diagnosis and LTx was eight to 64 (mean 28,78) months. All liver transplants were from cadaver donors, and all were performed in the Department of General, Transplant and Liver Surgery, Warsaw Medical University. The main indications for LTx were recurrent life-threatening cholangitis (in five out of nine cases) and progression of the disease despite pharmacological treatment, carrying a risk of expansion of parasitic infiltration beyond a liver hilum. In two cases LTx was preceded by liver failure. In one case surgical procedure was extended for partial resection of infiltrated diaphragm and right atrium. The clinical stage of disease was evaluated based on WHO-IWGE PNM classification [6]. At the time of qualification for LTx six patients were P3N0 and three were P4N1M0. In one case, as mentioned above, there was no compatibility between PNM classification and an extension of disease ascertained during surgery. Five patients underwent surgery before transplantation. In two cases hemihepatectomy was performed. Three patients underwent explorative laparotomy because questionable diagnosis. Follow-up time after LTx ranged from seven months to 155 months (average 6,4 years). One patient was lost to follow-up and one patient died. It was patient with advanced disease (P4N1M0) and a history of previous nonradical hemihepatectomy. After

LTx recurrent cholangitis with formation of an abscess and liver failure were observed. The treatment with ABZ at average daily dosage of 10 mg/kg was implemented in all patients before LTx. In three cases ABZ treatment was suspended because of poor tolerability and elevated transaminase levels. Mean time of ABZ treatment before LTx was 16,3 months (range 6,5-59,5 months). After LTx all patients were receiving ABZ treatment. Seven patients started an intermittent treatment, two were treated continuously from the beginning. Two patients did not follow the medical recommendations. One of them stopped ABZ therapy after two years and was lost for observation. The second patient (classified as P4N1M0) decided to stop therapy after one year of ABZ intermittent treatment. In this case, 12 years after LTx relapse of AE in the left lobe of the transplanted liver passing through the diaphragm to the pericardium was detected. In one case latent tuberculosis infection was diagnosed and successfully treated. The average time between diagnosis and LTx was relatively short (28 months). Survival of our patients was good. Only one patient died. (Sulima M, Wołyniec W, Ołdakowska-Jedynak U, Patkowski W, Wasielak N, Witzczak-Malinowska K, Borys S, Nahorski W, Wroczyńska A, Szostakowska B, Lass A. Krawczyk M.: Liver Transplantation for Incurable Alveolar Echinococcosis: An Analysis of Patients Hospitalized in Department of Tropical and Parasitic Diseases in Gdynia. Transplantation Proceeding, 2016;48(5): 1708-1712)

Summary

Analysis of the clinical stage at diagnosis in 86 patients hospitalized in UCMTM between 2000-2018 (under the extended time of clinical observation), presented in Figure 4. shows that AE is usually diagnosed when the disease is very advanced. Of the 16 new cases of AE registered in 2016-2018, in seven cases serological diagnosis and inclusion of BMZ treatment were preceded by a biopsy of the liver lesions, and in four cases by exploratory laparotomy with tissue sampling for histopathological evaluation. In one case, in which a biopsy was

performed prior to radical surgical treatment, the patient required prolonged treatment with BMZ due to the peritoneal dissemination of AE found intraoperatively. Imaging diagnostics was based on ultrasound, CT and MRI. The assessment of lesions was descriptive, taking into account presence of liquid necrotic fraction or calcification, but none of the proposed in literature classifications of AE lesions was systematically used. CT and MRI were found to be more useful in assessing the stage of AE and qualifying patients for surgical treatment, especially in the case of expansion of the infiltration beyond the liver hilum or retroperitoneal space involvement. None of the patients underwent 18F-FDG-PET-CT or evaluation of liver lesions in the CEUS, because these procedures are not reimbursed in Poland. Only in 28 patients (32,5%), the clinical stage at diagnosis allowed the use of radical surgical treatment. This indicates the need to disseminate knowledge among medical personnel as well as conducting screening tests in endemic areas. This study supports the view that serological tests should always be evaluated in conjunction with imaging studies and data on the clinical course of AE, including previous surgical treatment. This applies to tests performed in order to confirm *Echinococcus* spp. infection or to differentiate between AE and CE. Although in most cases the radiological pictures of these two diseases are different, sometimes differentiation can be difficult. In such cases, a serological testing can be helpful. However, it should be remembered that effective surgical treatment or pharmacological therapy resulting in reduced parasitic disease activity affects the results of serological tests, making the differentiation between echinococcosis species during treatment less likely.

The drug of choice in AE treatment was ABZ, initially used in cyclic therapy (28 days treatment / 14 days drug-free interval) and then in accordance with the WHO-IWGE recommendations [6] on a continuous basis. Adverse effects requiring temporary or permanent cessation of treatment were observed in 22 cases (25.6%). The most common reason for treatment cessation was the observed increase in transaminase activity (18.6%).

Half of the cases were patients with cholestasis and in this group treatment with ABZ could be continued after normalization of transaminase activity due to effective endoscopic interventions. In the remaining 8 cases, in patients with initially normal transaminase levels and enzyme indicators of cholestasis, transaminase levels increased within one to three months after initiating ABZ treatment. This was related to the toxicity of ABZ and was a contraindication to its further use. In these cases, the treatment was continued with MBZ. The second factor resulting in the reduction of ABZ doses was neutropenia (4.7%). It was most frequently observed in patients with portal hypertension and hypersplenism and initially reduced number of white blood cells. In Poland, pharmacological treatment of AE is associated with high financial burden to the patients. In addition, AE is not listed as a specific indication for use in the Summary of Medicinal Product Characteristics of ABZ or MBZ (off label use). Treatment with ABZ and MBZ is not reimbursed so for many patients the only chance for continuing pharmacological treatment is to buy medicines abroad or from online sellers, where the origin and composition of medicines are uncertain and may pose a health risk. Biliary complications in AE are the ones of the most relevant issues. A European survey of perendoscopic treatment of biliary complications in patients with AE [20] was created based on collected data on the current usage of perendoscopic interventions in AE patients from medical centers dealing with AE problems. UCMTM took a part in the study. The main conclusions from the multicenter survey concern usage of multiple plastic stents that leads to effective and prolonged patency of obstructed bile ducts and recommendation of intensive lavage of the bile ducts during the procedure with full removal of parasitic debris what in combinations with antibiotics prevent cholangitis [20]. A difficult moment in the treatment of patients with AE is to make a decision on termination of pharmacological therapy, especially in patients who did not undergo surgical treatment or underwent non-radical surgery, and in those after LTx. Decision shall be taken based on serologic tests and imaging studies results.

The high cost of 18F-FDG-PET-CT is a barrier to its widespread use, whereas CEUS, a less expensive diagnostic method to evaluate the activity of AE lesions in the liver, is not included in the recommendations of expert groups. Our experience shows that treatment of patients with AE requires involvement of an experienced multidisciplinary team, and should be based on sharing experience between centres dealing with echinococcosis.

(Sulima M, Sikorska K, Nahorski W, Borys S.: Clinical aspects and treatment of alveolar echinococcosis- current state of the art and difficulties in the diagnosis and management of cases in Poland. *Postepy Hig Med Dosw.* 2020; 74: 49-56)

Piśmiennictwo:

1. Vuitton D.A., Zhou H., Bresson-Hadni S., Wang Q., Piarroux M., Raoul F., et al. Epidemiology of alveolar echinococcosis with particular reference to China and Europe. *Parasitology* 2003;127(S1):87-107.
2. Conraths F.J., Probst C., Possenti A., Boufana B., Saulle R., La Torre G., et al. Potential risk factors associated with human alveolar echinococcosis: Systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11(7): e0005801
3. Gawor J. Alveolar echinococcosis in Europe and Poland- Threats to humans. *Przeegl Epidemiol.* 2016;70(2):281-288
4. Nahorski W.L., Knap J.P., Pawłowski Z.S., Krawczyk M., Polański J., Stefaniak J., Patkowski W., Szostakowska B., Pietkiewicz H., Grzeszczuk A., Felczak-Korzybska I., Gołąb E., Wnukowska N., Paul M., Kacprzak E., et al.: Human Alveolar Echinococcosis in Poland: 1990-2011. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2013; 7: e1986

5. Mihmanli M., Idiz U.O., Kaya C., Demir U., Bostanci O., Omeroglu S., Bozkurt E.:
Current status of diagnosis and treatment of hepatic echinococcosis. *World J.Hepatol.*, 2016;
8 : 1169-1181
6. Brunetti, E.; Kern, P.; Vuitton, D.A. Writing Panel for the WHO-IWGE. Expert consensus
for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta
Tropica*. 2010, 114, 1-16
7. Graeter T., Kratzer W., Oeztuerk S., Haenle M.M., Mason R.A., Hillenbrand A., Kull T.,
Barth T.F., Kern P., Gruener B.: Proposal of a computed tomography classification for
hepatic alveolar echinococcosis. *World J. Gastroenterol.*, 2016; 22: 3621-3631
8. Coşkun A., Öztürk M., Karahan O.I., Erdogan N., Isin S., Güleç M.: Alveolar
Echinococcosis of the liver: Correlative Color Doppler US, CT, and MRI Study. *Acta Radiol.*,
2004; 45: 492-498
9. Bresson-Hadni S., Vuitton D.A., Bartholomot B., Heyd B., Godart D., Meyer J.P.,
Hrusovsky S., Becker M.C., Manton G., Lenys D., Miguet J.P.: A twenty-year history of
alveolar echinococcosis: analysis of series of 117 patients from eastern France. *Eur. J.
Gastroenterol.Hepatol.*, 2000; 12: 327-336
10. Kern P., Bardonnnet K., Renner E., Auer H., Pawlowski Z., Ammann R.W., Vuitton D.A.,
Kern P.: European echinococcosis registry: human alveolar echinococcosis, Europe, 1982-
2000. *Emerg. Infect. Dis.*, 2003; 9: 343-349
11. Eckert J., Deplazes P.: Biological, epidemiological and clinical aspects of echinococcosis,
a zoonosis of increasing concern. *Clin.Microbiol. Rev.*, 2004; 17: 107-135
12. Ammann R.W., Hoffmann A.F., Eckert J.: Swiss study of chemotherapy of alveolar
echinococcosis-review of a 20-year clinical research project. *Schweiz. Med. Wochenschr.*,
1999; 129: 323-232
13. Azizi A., Blagosklonov O., Lounis A., Berthet L., Vuitton D.A., Bresson- Hadni S.,

- Delabrousse E.: Alveolar echinococcosis: correlation between hepatic MRI findings and FDG-PET/CT metabolic activity. *Abdom. Imaging.*, 2015; 40: 56-63
14. Kratzer W., Reuter S., Hirschbuehl K., Ehrhardt A.R., Mason R.A., Haenle M.M., Kern P., Gabelmann A.: Comparison of contrast-enhanced power Doppler ultrasound (Levovist) and computed tomography in alveolar echinococcosis. *Abdom. Imaging.*, 2005; 30: 286-90
15. Liu W., Delabrousse E., Blagosklonov O., Wang J., Zeng H., Jiang Y., Wang J., Qin Y., Vuitton D.A., Wen H.: Innovation in hepatic alveolar echinococcosis imaging: best use of old tools, and necessary evaluation of new ones. *Parasite*, 2014; 21: 74
16. Bulakçi M., Kartal M.G., Yilmaz S., Yilmaz E., Yilmaz R., Sahin D., Asik M., Erol O.B.: Multimodality imaging in diagnosis and management of alveolar echinococcosis: an update. *Diagn.Interv. Radiol.*, 2016; 22: 247-256
17. Balci N.C., Tunaci A., Semelka R.C., Tunaci M., Ozden I., Rozanes I., Acunas B.: Hepatic alveolar echinococcosis: MRI findings. *Magn. Reson. Imaging.*, 2000; 18: 537-541
18. Becce F., Pomoni A., Uldry E., Halkic N., Yan P., Meuli R., Schmidt S.: Alveolar echinococcosis of the liver: Diffusion-weighted MRI findings and potential role in lesion characterisation. *Eur. J. Radiol.*, 2014; 83: 625-631
19. Kratzer W., Gruener B., Kaltenbach T.E., Ansari- Bitzenberger S., Kern P., Fuchs M., Mason R.A., Barth T.F., Haenle M.M., Hillenbrand A., Oeztuerk S., Graeter T.: Proposal of an ultrasonographic classification for hepatic alveolar echinococcosis: *Echinococcosis multilocularis* Ulm classification-ultrasound. *World J. Gastroenterol.*, 2015; 21: 12392-12402
20. Ambregna S., Koch S., Sulz M. C., Gruner B., Ozturk S., Chevaux J.-B., Sulima M. et al.: A European survey of perendoscopic treatment of biliary complications in patients with alveolar echinococcosis. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 2016, ISSN:1478-7210

