

Intrakardiálne pomnoženie plesní rodu *Mucor* v takmer totálne uhorenom torze tela muža po 10 dňoch od jeho zmiznutia

Silvia Farkašová Iannaccone¹, Jaroslav Klán², Laura W. Lamps³, Daniel Farkaš⁴, Marián Švajdler ml.⁵, Miroslav Szabo⁴

¹ Ústav súdneho lekárstva UPJŠ LF, Košice

² Ústav soudního lékařství a toxikologie 1. LF UK a VFN, Praha

³ Department of Pathology, University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock, AR

⁴ Úrad pre dohľad nad zdravotnou starostlivosťou, SLaPA pracovisko, Košice

⁵ Šiklův ústav patológie, Univerzita Karlova Praha, Lékařská fakulta Plzeň; Bioptická laboratoř s.r.o., Plzeň a Oddelenie patológie, Univerzitná nemocnica Louisa Pasteura, Košice

SÚHRN

Popri najčastejšie vyhodnocovaných posmrtných zmenách zistených pri obhliadke tiel sa sporadicky vyskytujú aj prípady, pri ktorých je možné vyhodnocovať aj menej často sa vyskytujúce nálezy. Medzi takéto patrí napríklad aj pomnoženie plesní. Znalosť pliesní ako aj ich vlastností by mohli prispieť k potvrdeniu respektíve vyvráteniu informácií zistených počas policajného vyšetrovania. V kazuistike autori popisujú intrakardiálne pomnoženie húb rodu *Mucor* u muža, ktorý bol len 10 dní nezvestný.

Kúčové slová: čas smrti – forenzná mykológia – *Mucor*

Intracardial fungal multiplication of order *Mucor* in an almost totally carbonised part of a male body found after ten days missing

SUMMARY

Determination of time of death belongs to the most difficult and also the most important issues for the medical examiners, especially those who deal with violent death. Besides the most frequently evaluated postmortal changes it is sometimes possible to perform the evaluation on the basis of less frequently observed findings. One of such findings is for example the fungal multiplication on the body or in the very close vicinity. Knowledge of moulds as well as information about their speed of growth should contribute to confirmation or negation of some information gained during police investigation. In this case report authors describe the macroscopically visible fungal intracardiac multiplication in heart chambers and aorta in an almost totally carbonised body which was missing for only ten days. Based on the molecular examination it was detected that the body belonged to the 64-year-old man who was repeatedly hospitalised in psychiatry for depression with suicidal tendencies. The last hospitalisation was six weeks before death and there was no organic disability. The cause of fire was a naked flame. The cause of death was burn injury or asphyxia. The almost total carbonisation did not allow to perform toxicological investigation. By histological investigation we found the presence of wide long non-septate moulds growing in the heart muscle, which belonged to the order *Mucor*. Since there was no obvious inflammatory response, we suppose their growth started on the congealed blood after death.

Keywords: time of death – forensic mycology – *Mucor*

Soud Lek 2016; 61(3): 35–38

Medzi hlavné výstupy posudzované v každodennej praxi v súdnom lekárstve patrí okrem posúdenia mechanizmu a bezprostrednej príčiny smrti aj stanovenie času úmrtia. Stanovenie času smrti patrí mnohokrát medzi najobtiažnejšie, najdôležitejšie a najkľúčovejšie údaje potrebné pre následné trestné konanie. Na rozdiel od najčastejšie vyhodnocovaných posmrtných zmien v súdnom lekárstve práve výsledky iných forenzných

a biologických odborov vyžadujúce znalosť úplne iných informácií umožňujú súdnym lekárom významne spresniť čas úmrtia, respektíve vylúčiť a vyvrátiť nepravdivé údaje zistené počas vyšetrovania. V kazuistike popisujeme intrakardiálne posmrtné pomnoženie húb rodu *Mucor* u muža, ktorý bol 10 dní nezvestný. Aj keď je kolonizácia tela plesňami vo všeobecnosti považovaná za neskoré zmeny (mesiace od úmrtia), niektoré druhy sú schopné vytvárať kolónie už po niekoľkých dňoch. Správna klasifikácia druhu plesní a znalosť dynamiky rastu kolónií, môžu v praxi pomôcť pri stanovovaní času úmrtia.

OPIS PRÍPADU

V opisovanom prípade sa jednalo o zvyšky výrazne obhoreného torza ľudského tela (obr. 1), ktoré bolo nájdené v polovici augusta na zadnom pravom sedadle v zhorenom osobnom aute. K pitve bol okrem torza tela dodaný aj veľký počet výrazne

✉ Adresa pre korešpondenciu:

MUDr. Daniel Farkaš, PhD.

Úrad pre dohľad nad zdravotnou starostlivosťou

SLaPA pracovisko Košice

Letná 47, 041 01 Košice

tel.: +421552852660

fax: +421552852655

e-mail: farkas.dany@gmail.com

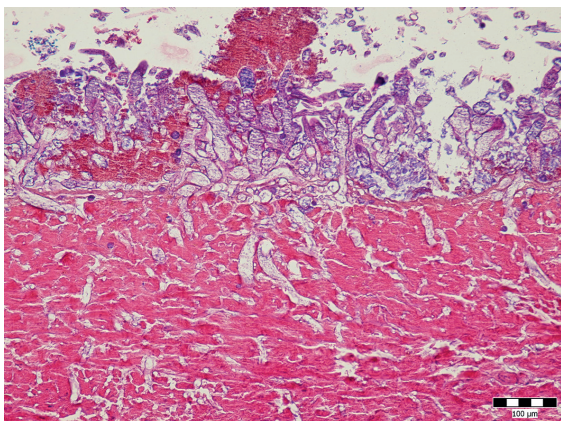


Obr. 1. Výrazne obhorené a zuhoľnatené torzo ľudského tela.



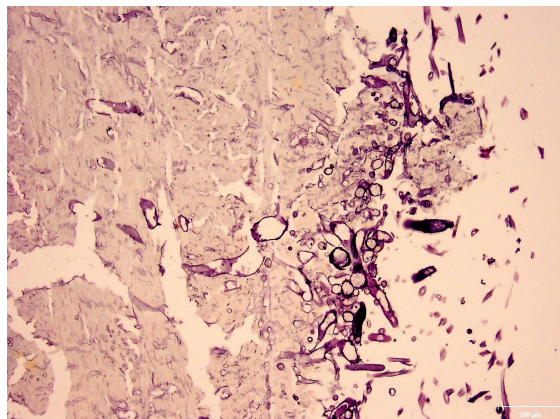
Obr. 2. Ložiskovo prítomné plesne prítomné medzi zrazenou krvou a endokardom (šípky).

uhorených častí kostí. Koža, podkožie, mäkké tkanivá takmer celého tela kompletne chýbali pre uhorenie. Kostí končatín a lebky boli v značnom štádiu obhorenia, sivočiernej až bielej farby, výrazne krehké. Hlavice stehnových kostí kryté zbytkami svaloviny boli relatívne dobre zachované. Niekoľko kostí bolo na povrchu zčasti pokrytých roztavenými bližšie neidentifikovanými kovmi (metalizácia). Na pravej stehnovej kosti bolo prítomné roztavené sklo bielej farby. Z vnútorných orgánov boli prítomné výrazne na povrchu obhorené a zuhoľnatené pľúca, srdce (300 g), veľké cievy vrátane aorty, pečeň, slezina a obličky s termickými zmenami v hĺbke parenchýmu. V relatívne zachovaných a nepoškodených prieduškách s termickými zmenami sa nachádzali živé larvy hmyzu. Veľké cievy v oblasti srdca (aorta, pľúcnic a ich vetvy), ako aj samotné predsieň a komory srdca obsahovali tehlovočervenú, vysušenú, drolivú krv. V srdci bola v oboch

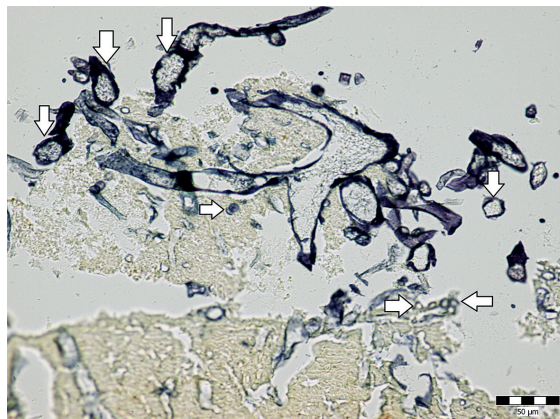


Obr. 3. Endokard srdca s pomnoženými plesňami prerastajúcimi do príľahlej svaloviny (hematoxylin-eozín, zväčšenie 200x).

predsieňach a komorách medzi uvarenou krvou a endokardom ložiskovo prítomná bielosivo sfarbená jemná vlákniť hmot (obr. 2), vpravo navyše aj larvy hmyzu. Ostatné orgány chýbali. Histologickým vyšetrením srdca bola zistená na endokarde predsieni a komôr, ako aj areálovite v príľahlej svalovine srdca avšak najviac do hĺbky 0,1 cm (obr. 3) masívna prítomnosť výrazne širokých, dlhých, neseptovaných hyf s rôznou hrúbkou steny (obr. 4). Miestami boli viditeľné hlavice sporangioforov s uvoľnenými malými, viacmenej guľovitými spórmi (sporangiospórmi) veľkosti cca 5 – 7 μm (obr. 5). Na základe týchto mikroskopických vlastností boli plesne identifikované ako rod *Mucor*. Samotné tkanivo srdca v mieste prítomnosti plesní nevykazovalo žiadne evidentné prejavy zápalovej reakcie,



Obr. 4. Endokard srdca s pomnoženými plesňami prerastajúcimi do príľahlej svaloviny (Grocott methenamin, zväčšenie 200x).



Obr. 5. Endokard srdca s pomnoženými plesňami (zvislé šípky – sporangium, vodorovné šípky – spóry) (Grocott methenamin, zväčšenie 400x).

svalovina vykazovala termické poškodenie. Kriminalisticko-expertíznym vyšetrením bolo na základe charakteristických stôp po šírení požiaru, rozmiestnenia horľavých materiálov a stupňa poškodenia jednotlivých častí vozidla zistené, že ohnisko vzniku požiaru sa nachádzalo v interiéri vozidla, pričom príčinou vzniku požiaru bola najpravdepodobnejšie manipulácia s otvoreným ohňom. Ďalším molekulárnogenetickým skúmaním DNA z tkaniva srdca odobratého pri pitve bolo zistené, že sa jedná o 10 dní nezvestného 64 ročného muža, ktorý bol opakovane hospitalizovaný na psychiatrii pre depresívne stavy so suicidálnymi sklonsmi. Počas poslednej hospitalizácie 6 týždňov pred smrťou, nebolo u muža zistené žiadne organické postihnutie mozgu, ani iných orgánov. Príčinou smrti mohol byť buď popáleninový šok

alebo udusenie v dôsledku horenia v uzavretom priestore pri samovražde alebo nedbanlivosti. Vzhľadom k výrazným termickým zmenám s chýbaním reprezentatívneho biologického materiálu (krv, moč, žlč, sklovec) toxikologické vyšetrenie nemohlo byť realizované.

DISKUSIA

Okrem všeobecne známych včasných posmrtných zmien popísaných takmer v každej učebnici súdneho lekárstva sa pri stanovení času úmrtia využívajú aj výsledky a skúmania hraničných forenzných vied, ako napríklad forenzná entomológia (1). Je všeobecne známe, že dôležitou fázou, ktorá prispieva k zániku mŕtvol sú plesne a larvy rôzneho množstva hmyzu. Plesne nachádzame väčšinou až za 2 mesiace po smrti, zriedka skôr. V prvom roku po smrti nachádzame *Penicillium digitatum*, *Aspergillus glaucus* a iné (2). Medzi najčastejšie posmrtné na tele zistené plesne v štádiu hniloby patria okrem vyššie uvedených druhov aj druhy rodu *Candida* (3,4), zriedkavo *Eurotium* (5). Čím dlhšia doba uplynie od úmrtia, čím viac sú rozvinuté posmrtné zmeny včítane hnilobných pochodov, tým je určenie času smrti obtiažnejšie. Zatiaľ čo využitie forenzej entomológie v súdnom lekárstve je viac rozšírené, aplikácia analýz forenzej mykológie a možnosti jej využitia sú menej známe (6). Výsledky novších prác forenzej entomológie a mykológie výrazne upresňujú stanovenie času smrti, na základe presného stanovenia druhu hmyzu a plesní v spojitosti so znalosťami ich správania, šírenia a množenia sa. Medzi prvými autormi poukazujúcimi na možnosť využitia stanovenia času smrti na základe prítomnosti plesní boli van de Voorde a van Dijck (7). Na základe veľkosti kolónií plesní prítomných na koži mihalnic a v inguinálnej oblasti obeť a následnej inkubácii a kultivácii plesní v laboratórnych podmienkach simulujúcich teplotu prostredia nálezu tela odhadli čas úmrtia na minimálne 18 dní, pričom vykonávali denné merania veľkosti kolónií plesní (7). Pomnoženie plesní na pohovke a koberci znečistenom priesakom telových tekutín bolo popísané v záverečnej správe pri policajnom vyšetrowaní násilného úmrtia, kde bola zistená prítomnosť plesne *Mucor plumbeus*, *Penicillium brevi-compactum* a *Penicillium citrinum*. V tomto prípade bol následnou kultiváciou čas úmrtia odhadnutý na 5 dní pred nálezom, čo bolo aj neskôr potvrdené obvineným (8). Tieto práce (7,8) výrazne posunuli čas posmrtnej kolonizácie tela plesňami bližšie k času smrti, čím sa pozmenila a skrátila často udávaná doba niekoľkých mesiacov (2). V našom prípade sa jednalo o 60 ročného muža, ktorého celková doba od zmiznutia po nájdenie uhoreného tela v osobnom motorovom vozidle bola 10 dní. Na základe histologického nálezu a charakteru plesne bolo stanovené, že sa jedná o plesňu rodu *Mucor*. Na podklade chýbania akejkoľvek reakcie organizmu voči plesňam, zmenšenia kardiomyocytov (nie samotných plesní rodu *Mucor*) v dôsledku pôsobenia tepla pri horení predpokladáme, že k ich pomnoženiu došlo až po úmrtí, teda posmrtnou kolonizáciou tela vzdušnou cestou až po jeho zuhoľhatení. Tento predpoklad potvrdzuje aj prítomnosť spór, ktoré poukazujú na vitalitu a prebiehajúcu klíčivosť plesní. Vzhľadom k tomu, že nemáme možnosť kultivácie húb v laboratórnych podmienkach, ako aj k nemožnosti vykonať molekulárne-genetickú ty-

pizáciu bližšia druhová identifikácia rodu *Mucor* nebola možná. Plesne rádu *Mucorales* patria do triedy *Zygomycetes*. *Mucorales* sú vlákňité huby, mycelium je neseptované. Spóry sú uzavreté v guľovitom sporangiu (endospóry), z ktorého sa dozrievaním uvoľňujú. V infikovanom tkanive sa nachádzajú hrubé hýfy (4-15 μm), nepravidelné, až deformované. Človek sa môže infikovať najčastejšie vdýchnutím spór, menej často alimentárnej cestou alebo kožným poranením (9). Rastová rýchlosť závisí predovšetkým na množstve a druhu dostupných živín v prostredí a na genetických faktoroch. Rýchlosť rastu saprofytických hýf rodu *Mucor* na sladínovom agare pri kultivačnej teplote 22 °C je 0,60 – 0,80 mm.h⁻¹ (10). Veľkosť populácie zistená v danom prípade pri pitve, ako aj pri histologickom vyšetrení nie je v rozpore s vyšetrenými údajmi, že menovaný bol nezvestný 10 dní. Vo všeobecnosti neseptované hýfy patriace do skupiny *Mucorales* rastú omnoho rýchlejšie ako ostatné septované plesne (6). Mukormykóza je život ohrozujúca infekcia spôsobená plesňami rádu *Mucorales*. Niektorí autori infekcie spôsobené týmto mikroorganizmom už nepopisujú ako zygomykózy, ale mukormykózy (11). Medzi tri najčastejšie klinicky primárne manifestácie mukormykózy patrí rinocerebrálna, pulmonálna a kutánná infekcia. Všetky typy môžu spôsobiť disemináciu ochorenia (12). Rinocerebrálna forma sa klasicky vyskytuje pri diabetickej ketoacidóze (13). Najmladším opísaným pacientom s mukormykózou postihujúcou gastrointestinálny trakt s perforáciou ilea bolo 15 dňové dieťa narodené v 27. týždni gestácie (14). Všetky uvedené jednotky predstavujú zriedkavo sa vyskytujúce ochorenia.

Vo forenzej medicíne sú len extrémne zriedkavo publikované diagnostikované prípady posmrtnej kolonizácie hubami rodu *Mucor*. Okrem vyššie uvedeného literárneho zdroja (8), kde bol určený typ *Mucor plumbeus* u 5 dňového nálezu mŕtveho tela, bol popísaný prípad posmrtnej kolonizácie kože druhom *Mucor hiemalis*, ktorý môže pripomínať popáleniny alebo krvné podliatiny. V opísanom prípade sa jednalo o ženu nájdenú po 14 dňoch nezvestnosti (15).

ZÁVER

V opísanom prípade sme prezentovali prípad posmrtnej intrakardiálnej kolonizácie plesňami rodu *Mucor* s inváziou do myokardu u 60 ročného muža po 10 dňoch od jeho zmiznutia. Znalosť morfológie plesní a dynamiky ich rastu by nielen teoreticky, ale aj prakticky mohla dopomôcť k presnejšiemu stanoveniu posmrtného času a tým aj prispieť k vyriešeniu niektorých forenzných prípadov. V takýchto prípadoch je vždy nutná úzka spolupráca medzi súdnym lekárom, forezným entomológom alebo forezným biológom. Daný prípad taktiež poukazuje na nutnosť byť obozretný pri vykonávaní všetkých pitiev, nakoľko nie je možné jednoznačne eliminovať možnosť nakazenia sa raritnými mikroorganizmami ani pri výkone zdanlivo „sterilných a neinfekčných“ pitiev.

PREHLÁSENIE

Autor práce prehlasuje, že v súvislosti s témou, vznikom a publikáciou tohto článku nie v konflikte záujmov a vznik ani publikácia článku neboli podporené žiadnou farmaceutickou firmou. Toto prehlásenie sa týka i všetkých spoluautorov.

LITERATURA

1. Suláková H, Markvartová J, Beran M. Hmyz a mŕtvý muž v byt. Kazuistika. *Soud Lek* 2013; 58(1): 2-5.
2. Tesáří J. Soudní lékařství (3 vyd). Praha: Avicenum; 1985: 237.
3. Sidrim JJ, Moreira Filho RE, Cordeiro RA, Rocha MF, Caetano EP, Monteiro AJ, Brilhante RS. Fungal microbiota dynamics as a postmortem investigation tool: focus on *Aspergillus*, *Penicillium* and *Candida* species. *J Appl Microbiol* 2010; 108(5): 1751-1756.
4. Hitosugi M, Ishii K, Yaguchi T, Chigusa Y, Kurossu A, Kido M, Nagai T, Tokudome S. Fungi can be a useful forensic tool. *Leg Med (Tokyo)* 2006; 8(4): 240-242.

5. **Ishii K, Hitosugi M, Kido M, Yaguchi T, Nishimura K, Hosoya T, Tokudome S.** Analysis of fungi detected in human cadavers. *Leg Med (Tokyo)* 2006; 8(3): 188-190.
6. **Hawksworth DL, Wiltshire PE.** Forensic mycology: the use of fungi in criminal investigations. *Forensic Sci Int.* 2011; 206(1-3): 1-11.
7. **van de Voorde H, van Dijk PJ.** Determination of the time of death by fungal growth. *Z Rechtsmed* 1982; 89(2): 75-80.
8. **Hawksworth DL.** Final Report on Mycological Findings Associated with Operation Lynx. *Report for Tayside Police, Dundee*; 2009: 1-5.
9. **Bednář M, Fraňková V, Schindler J, Souček A, Vávra J.** Lékařská mikrobiologie. Praha: Marvil; 1996: 357.
10. **Klán J.** Co víme o houbách Praha: SPN; 1989: 89.
11. **Lamps LW, Lai KK, Milner DA Jr.** Fungal infections of the gastrointestinal tract in the immunocompromised host: an update. *Adv Anat Pathol* 2014; 21(4): 217-227.
12. **Guarner J, Brandt ME.** Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st century. *Clin Microbiol Rev* 2011; 24(2): 247-280.
13. **Prayson AR.** Neuropathology Elsevier Churchill Livingstone 2005: 305-307.
14. **Siu KL, Lee WH.** A rare cause of intestinal perforation in an extreme low birth weight infant-gastrointestinal mucormycosis: a case report. *J Perinatol* 2004; 24(5): 319-321.
15. **Byard RW.** Unusual patterned skin lesions caused by postmortem fungal activity. *Forensic Sci Med Pathol* 2014; 10(4): 651-653.

ZPRÁVA ZE SJEZDU

Pracovní den soudního lékařství a toxikologie

Dne 27. 4. 2016 se konal v Ústřední vojenské nemocnici – Vojenské fakultní nemocnici v Praze – Střešovicích (ÚVN) Pracovní den soudního lékařství a toxikologie. V předvečer proběhlo v hotelu Dům armády Praha rozšířené zasedání výboru České společnosti soudního lékařství a soudní toxikologie ČLS JEP za účasti nejen členů výboru a revizní komise, ale též akreditační komise pro specializační vzdělávání v oboru soudní lékařství MZ a pozvaných přednostů a primářů ústavů či oddělení soudního lékařství z celé ČR.

Pracovního dne v ÚVN se zúčastnilo více než 110 odborníků z řad soudních lékařů a toxikologů, radiologů, laborantů a studentů. Akce byla zahájena předáním významných ocenění Společnosti soudního lékařství a soudní toxikologie ČLS, a to čestné členství naší společnosti doc. MUDr. Jozefu Šidlovi, Ph.D., MPH a medaile Společnosti doc. MUDr. Františku Vorlovi, CSc. a prim. MUDr. Michalu Beranovi, Ph.D. Slavnostního předání se ujal prof. MUDr. Miroslav Hirt, CSc.

Dopolední program Pracovního dne byl společný, konal se v kongresovém centru ÚVN. Ve třech blocích zaznělo 10 vynikajících přednášek českých i slovenských autorů na vybraná témata – zobrazovací metody v soudním lékařství, imunohistochemické metody v soudním lékařství a nové trendy ve forenzní toxikologii. Odpolední část byla organizována formou workshopů v sekcích dle výše uvedených témat. Živou a velmi příjemnou diskusi doplnily přednášky sponzorujících firem, bez jejichž pomoci by bylo obtížné akci uskutečnit v rozsahu, který jistě uspokojil naprostou většinu účastníků. Všichni účastníci měli možnost si prohlédnout nové pracoviště Vojenského ústavu soudního lékařství – Pavilon forenzní medicíny a patologie ÚVN včetně CT pracoviště.

MUDr. Bc. Milan Votava