

# KLINICKÁ MIKROBIOLOGIE A INFEKČNÍ LÉKAŘSTVÍ

Interdisciplinární časopis vydávaný pod záštitou  
Společnosti infekčního lékařství, Společnosti pro lékařskou mikrobiologii  
a Společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně

## REDAKČNÍ RADA

### Šéfredaktor

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.  
Ústav mikrobiologie FNOL a LF UP v Olomouci

### Zástupci šéfredaktora

Doc. MUDr. Stanislav Plišek, Ph.D.  
Klinika infekčních nemocí LF UK a FN Hradec Králové  
Doc. MUDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA  
Státní veterinární ústav, Olomouc

### Redakční rada

Prof. MUDr. Jiří Beneš, CSc.  
Infekční klinika 3. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha  
Prof. MUDr. Jiří Beran, CSc.  
Centrum očkování a cestovní medicíny, Hradec Králové  
Doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.  
Ústav klinické mikrobiologie LF UK a FN Hradec Králové  
Doc. MUDr. Pavel Čermák, CSc.  
Odd. klinické mikrobiologie Thomayerova nemocnice, Praha  
MUDr. Pavel Dlouhý  
Infekční oddělení a AIDS centrum,  
Krajská zdravotní, a. s., Ústí nad Labem  
Doc. MUDr. Petr Hamal, Ph.D.  
Ústav mikrobiologie FNOL a LF UP v Olomouci  
Prof. MUDr. Petr Husa, CSc.  
Klinika infekčních chorob, LF MU a FN Brno  
RNDr. Dittmar Chmelař, Ph.D.  
NRL pro anaerobní bakterie, LF Ostravské Univerzity  
Doc. RNDr. Jarmila Jelínková, CSc.  
Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, Praha  
Prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.  
Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. LF UK v Praze  
Prof. MUDr. Daniela Kotulová, Ph.D.  
Čestná členka Slovenskej spoločnosti klinickej  
mikrobiológie, SLS  
MUDr. Pavla Křížová, CSc.  
Státní zdravotní ústav, Praha  
MUDr. Roman Kula, CSc.  
Anesteziologicko-resuscitační klinika, FN Ostrava  
Ing. Mgr. Tomáš Látal  
TRIOS, spol. s r. o., Praha  
Doc. RNDr. Alexandr Nemeč, Ph.D.  
Státní zdravotní ústav, Praha  
MUDr. Otakar Nyč, Ph.D.  
Ústav lék. mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, Praha  
MUDr. Hanuš Rozsypal, CSc.  
Infekční klinika 1. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha  
Doc. MUDr. Luděk Rožnovský, CSc.  
Infekční klinika, FNŠP Ostrava  
MUDr. Josef Scharfen, CSc.  
Odd. lék. mikrobiol. a imunol. Oblast. nemocnice Trutnov  
Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.  
Klinika pre infekčné choroby, LF UPJŠ, Košice  
Doc. MUDr. Anna Součková, CSc.  
Ústav lék. mikrobiologie 2. LF UK Praha  
Doc. MUDr. Marie Staňková, CSc.  
Infekční klinika 1. LF, Nemocnice Na Bulovce, Praha  
Doc. MUDr. Karel Urbánek, Ph.D.  
Ústav farmakologie, FN a LF UP v Olomouci  
Prof. MUDr. Miroslav Votava, CSc.  
Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny v Brně  
MUDr. Eva Zampachová  
Centrální laboratoře, laboratoř virologie, Nemocnice  
České Budějovice, a. s.

## VYDAVATEL

TRIOS, spol. s r. o.,  
Zakouňova 142, 149 00 Praha 4-Chodov

### Adresa redakce:

Redakce TRIOS, spol. s r. o.,  
Zakouňova 142, 149 00 Praha 4-Chodov  
Tel.: +420 267 912 030  
Fax: +420 267 915 563  
E-mail: redakce@trios.cz  
Internet: http://kmiil.trios.cz/  
Redakce: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.  
Mgr. Hedvíka Nevečeřalová

Inzerce: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

Sazba: SILVA, s. r. o., Táborská 31, Praha 4  
Tisk: GRAFOTECHNA Plus, s. r. o.  
Lýskova 1594/33, 155 00 Praha 13-Stodůlky

## OBSAH

### ÚVODNÍK

*J. Bardoň*

31

### PŮVODNÍ PRÁCE

**Antimikrobiální rezistence kmenů *Listeria monocytogenes*  
pocházejících od lidí a z potravin v České republice**

*T. Gelbíčová, R. Karpíšková*

32

**Vliv spotřeby kolistinu na výskyt kolistin-rezistentních bakterií**

*V. Hanulík, H. Suchánková, K. Urbánek, P. Imwensi,  
M. Htoutou Sedláková, V. Vojtová, M. Kolář*

52

### PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

**Novinky v problematice bartonelových infekcí**

*O. Melter*

36

**Bakterie tvořící drobné kolonie (small-colony variants)  
jako původci infekční endokarditidy a dalších závažných infekcí**

*J. Beneš, O. Džupová*

56

### KAZUISTIKA/KRÁTKÉ SDĚLENÍ

**Anisakóza – málo známá parazitární zoonóza**

*J. Bardoň, J. Harna, M. Pijáček*

45

**Toxoplazmóza v graviditě – otázky z klinické praxe**

*M. Gelineky*

48

### DOPORUČENÝ POSTUP

**Doporučený postup péče o dospělé infikované HIV  
a postexponiční profylaxe infekce HIV**

*H. Rozsypal, M. Staňková, D. Sedláček, S. Snopková, J. Kapla,  
V. Aster, L. Machala, D. Jilich, P. Dlouhý, J. Kolčáková,  
A. Zjevíková, Z. Jerhotová L. Olbrechtová*

62

### ZPRÁVA

**Novinky u sepse – zpráva z 23. evropského kongresu klinické  
mikrobiologie a infekčního lékařství**

*M. Holub*

72

**5<sup>th</sup> European Congress for Hospital Engineering**

*I. Matoušková*

74

Časopis je indexován a excerptován v databázích Medline/Index Medicus,  
Embase/Excerpta Medica Database a Scopus.

Všechny příspěvky kromě zpráv a dopisů redakci procházejí nezávislou recenzí.

Vychází 4x ročně, roční předplatné 520,- Kč.

Povoleno Ministerstvem kultury ČR pod č. MK ČR 7352.

ISSN 1211-264X

Podávání novinových zásilek povolila Česká pošta, s. p., odštěpný závod Praha, čj. nov. 5449/95 ze dne 7. 12. 1995. Vydavatel nese odpovědnost za údaje a názory autorů jednotlivých článků nebo inzerce. Současně si vyhrazuje právo na drobné stylistické úpravy článků. Žádná část tohoto časopisu nesmí být bez předchozího písemného souhlasu vlastníka autorských práv kopírována a rozmnožována za účelem dalšího rozšiřování v jakékoliv formě či jakýmkoliv způsobem (ať mechanickým, nebo elektronickým – včetně pořizování fotokopii, nahrávek či informačních databází).



# CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES

Interdisciplinary journal published under the auspices  
of the Societies for Clinical Microbiology, for Epidemiology and Microbiology and for Infectious Diseases,  
Members of the Czech Medical Association of Jan Evangelista Purkyně

## EDITORIAL BOARD

### Editor in Chief

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.  
Department of Microbiology, Faculty of Medicine  
and Dentistry, Palacký University in Olomouc

### Editors

Doc. MUDr. Stanislav Plíšek, Ph.D.  
Department of Infectious Diseases, Univ. Hospital Hradec  
Králové and Fac. of Medicine Hradec Králové, Charles Univ.

Doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA  
State Veterinary Institute, Olomouc

Prof. MUDr. Jiří Beneš, CSc.  
Dept. Infect. Dis. 3<sup>rd</sup> Med. Faculty, Charles Univ. Prague

Prof. MUDr. Jiří Beran, CSc.  
Vaccination Centre and Travel Medicine, Hradec Králové

Doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.  
Dept. of Clinical Microbiology, Univ. Hospital Hradec  
Králové and Fac. of Medicine Hradec Králové, Charles Univ.

Doc. MUDr. Pavel Čermák, CSc.  
Dept. of Clinical Microbiology, Thomayer Univ. Hospital,  
Prague

MUDr. Pavel Dlouhý  
Department of Infectious Diseases and AIDS Centre,  
Masaryk Hospital in Ústí nad Labem

Doc. MUDr. Petr Hamal, Ph.D.  
Department of Microbiology, Faculty of Medicine  
and Dentistry, Palacký University in Olomouc

Prof. MUDr. Petr Husa, CSc.  
Department of Infectious Diseases, Faculty of Medicine,  
Masaryk University and University Hospital in Brno

RNDr. Dittmar Chmelař, Ph.D.  
Dpt. of Biomedical Sciences, University  
of Ostrava's Faculty of Medicine

Doc. RNDr. Jarmila Jelínková, CSc.  
Institute for Postgraduate Medical Education, Prague

Prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.  
Inst. of Immunol. and Microbiol., 1<sup>st</sup> Fac. of Med., Charles  
Univ. in Prague and General Univ. Hosp. in Prague

Prof. MUDr. Daniela Kotulová, PhD.  
Honorary member of Slovak Society of Clinical Microbiology

MUDr. Pavla Křížová, CSc.  
National Institute of Public Health, Prague

MUDr. Roman Kula, CSc.  
Dept. of Anaesthesiology and Resuscit., Univ. Hosp. Ostrava  
Ing. Mgr. Tomáš Látal  
Trios, spol. s r. o., Prague

Doc. RNDr. Alexandr Nemeč, Ph.D.  
National Institute of Public Health, Prague

MUDr. Otakar Nyč, Ph.D.  
Inst. Med. Microbiol. Charles Univ. 2<sup>nd</sup> Med. Fac. Prague

MUDr. Hanuš Rozsypal, CSc.  
Dept. Infect. Dis, 1<sup>st</sup> Med. Faculty, Charles Univ. Prague

Doc. MUDr. Luděk Rožnovský, CSc.  
Dept. Infectious Diseases, University Hospital Ostrava

MUDr. Josef Scharfen, CSc.  
Dept. Med. Microbiol. Immunol. Regional Hospital Trutnov

Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.  
Clinic of Infectious Diseases, Medical faculty, Košice

Doc. MUDr. Anna Součková, CSc.  
Dept. Med. Microbiol. Charles Univ. 2<sup>nd</sup> Med. Fac., Prague

Doc. MUDr. Marie Staňková, CSc.  
Dept. Infect. Dis, 1<sup>st</sup> Med. Faculty, Charles Univ., Prague

Doc. MUDr. Karel Urbánek, Ph.D.  
Dept. of Pharmacology, Univ. Hospital Olomouc and Faculty  
of Medicine and Dentistry, Palacký Univ. Olomouc

Prof. MUDr. Miroslav Votava, CSc.  
Microbiol. Dept., Masaryk Univ. and St. Anna's Hosp. Brno

MUDr. Eva Žampachová  
Central Laboratories, The Laboratory of Virology,  
Hospital České Budějovice

## PUBLISHER

TRIOS, spol. s r. o.,  
Zakouřilova 142, 149 00 Praha 4-Chodov

### Editorial Office:

Redakce TRIOS, spol. s r. o.,  
Zakouřilova 142, 149 00 Praha 4-Chodov

Tel.: +420 267 912 030

Fax: +420 267 915 563

E-mail: redakce@trios.cz

Web: <http://kml.trios.cz/>

Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

Mgr. Hedvika Nevečeřalová

**Advertising:** Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

**DTP:** SILVA, s. r. o., Tábořská 31, Praha 4

**Printed by:** GRAFOTECHNA Plus, s. r. o.

Lýskova 1594/33, 155 00 Praha 13-Stodůlky

## CONTENTS

### EDITORIAL

*J. Bardoň*

31

### ORIGINAL ARTICLE

**Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes*  
strains of human and food origin in the Czech Republic**

*T. Gelbíčová, R. Karpíšková*

32

**Effect of colistin consumption and prevalence colistin-resistant bacteria**

*V. Hanulík, H. Suchánková, K. Urbánek, P. Imwensí,  
M. Htoutou Sedláková, V. Vojtová, M. Kolář*

52

### REVIEWS

**News on *Bartonella* infections**

*O. Melter*

36

**Bacteria cleaving small-colony variants as causative agents  
of infective endocarditis and other severe diseases**

*J. Beneš, O. Džupová*

56

### CASE REPORT/SHORT COMMUNICATION

**Anisakiasis – a little-known parasitic zoonosis**

*J. Bardoň, J. Harna, M. Pijáček*

45

**Toxoplasmosis in pregnancy – questions in clinical practice**

*M. Geleneky*

48

### GUIDELINE

**Guidelines for caring for HIV-infected adults and postexposure  
prophylaxis for HIV infection**

*H. Rozsypal, M. Staňková, D. Sedláček, S. Snopková, J. Kapla,  
V. Aster, L. Machala, D. Jilich, P. Dlouhý, J. Kolíčková,  
A. Zjevíková, Z. Jerhotová L. Olbrechtová*

62

### NEWS

**News on sepsis – a report from the 23<sup>rd</sup> European Congress  
of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**

*M. Holub*

72

**5<sup>th</sup> European Congress for Hospital Engineering**

*I. Matoušková*

74

This journal is indexed in Medline/Index Medicus, Embase/Excerpta Medica  
Database and Scopus.

A peer – reviewed journal

4 issues per volume.

ISSN 1211-264X

Copyright © Trios Ltd. All rights reserved.

The views expressed in this journal are not necessarily those of the Editor or Editorial Board.

## Úvodník

### Vážené kolegyně, vážení kolegové,

Jsem rád, že Vám díky vyřešení situace související s vydáváním našeho časopisu můžeme nabídnout druhé číslo KMILu, které je již tradičně věnováno infekcím přenosným ze zvířat na člověka, tedy zoonózám. Přestože se situaci kolem dalšího osudu našeho odborného periodika věnoval již v prvním čísle šéfredaktor, nedá mi to, abych znovu nezdůraznil význam skutečnosti, že se nám i v ekonomicky nepříznivém období podařilo časopis udržet. KMIL je časopis v řadě ohledů výjimečný. Přináší nejen potřebné informace, ale umožňuje mikrobiologům nahlédnout do klinické praxe a opačně klinikům zase do praxe laboratorní. Tento časopis přináší poznatky nezbytné pro kontinuální vzdělávání a je i nezanedbatelným zdrojem RIV bodů, což ocení zejména akademičtí pracovníci.

Rád bych upozornil čtenáře na dvě zajímavé odborné akce, konající se v závěru tohoto roku, na které se (s ohledem na termín, kdy toto číslo vyjde) ještě bude možno přihlásit. První akcí je „CHRO 2013 – 17<sup>th</sup> International Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms”, který se koná 15.–17. září 2013 v Aberdeenu. Druhou akcí je kongres s mezinárodní účastí „Zoonózy – společná ochrana zdraví lidí a zdraví zvířat“, který bude probíhat od 23. do 25. října 2013 v Bratislavě. Myslím, že obě akce budou zajímavé, vždyť kampylobakteriόza je nejčastější bakteriální

alimentární zoonόza v Evropě, a v Bratislavě zase bude prezentován komplexní pohled na zoonόzy jako takové.

Vrátím-li se zpět k tématu tohoto čísla, dovoluji si připomenout, že podle současných statistik tvoří 75 % nově se objevujících infekcí právě zoonόzy. Tato skupina infekčních onemocnění tvoří i samostatnou sekci v materiálu Ministerstva zdravotnictví, který se týká koncepce zdravotnického výzkumu do roku 2020.

Předkládané číslo časopisu přináší informace o rezistenci listerií izolovaných z člověka a potravin, upozorňuje na novinky v oblasti bartonelových infekcí. Parazitologickou problematiku reprezentuje v krátkém sdělení anisakόza a kazuistika toxoplazmόzy. Rezistenci bakterií je věnován článek o vlivu spotřeby kolistinu na výskyt rezistence k tomuto antibiotiku. Dále jsme zařadili práci o bakteriálních původcích infekční endokarditidy. Číslo uzavírá doporučený postup péče o dospělé infikované HIV a postexpoziční profylaxe infekce HIV.

Hodně zdraví a úspěchů Vám přeje

doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA  
zástupce šéfredaktora

# Antimikrobiální rezistence kmenů *Listeria monocytogenes* pocházejících od lidí a z potravin v České republice

T. GELBÍČOVÁ<sup>1</sup>, R. KARPÍŠKOVÁ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Masarykova univerzita, Ústav experimentální biologie, Česká sbírka mikroorganismů, Brno

<sup>2</sup>Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

## SOUHRN

Gelbíčová T., Karpíšková R.: **Antimikrobiální rezistence kmenů *Listeria monocytogenes* pocházejících od lidí a z potravin v České republice**

**Cíl práce:** Posoudit výskyt antimikrobiální rezistence u kmenů *L. monocytogenes* izolovaných od lidí a z potravin České republiky v období let 2001 až 2012.

**Materiál a metody:** Fenotypový projev antimikrobiální rezistence byl monitorován diskovou difúzní metodou a doplněn stanovením minimální inhibiční koncentrace metodou E-testu a genů rezistence metodou PCR.

**Výsledky:** Všechny testované kmeny (678) byly citlivé k ampicilinu, penicilinu, gentamicinu, trimetoprimu, vankomycinu a chloramfenikolu. Ojedinele byla u kmenů pocházejících z potravin prokázána rezistence k tetracyklinu (2/509) a erytromycinu (1/509).

**Závěr:** Ve sledovaném období byla zjištěna velmi dobrá a doposud stabilní citlivost testovaných kmenů *L. monocytogenes* izolovaných z člověka i potravin k antibiotikům využívaných v terapii listerióz. Sporadický výskyt rezistence byl zaznamenán pouze u kmenů z potravin.

**Klíčová slova:** listerie, antimikrobiální rezistence, humánní izoláty, izoláty z potravin, disková difúzní metoda, E-test, PCR

## SUMMARY

Gelbíčová T., Karpíšková R.: **Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* strains of human and food origin in the Czech Republic**

**Background:** To assess the incidence of antimicrobial resistance of *L. monocytogenes* strains isolated from humans and foods in the Czech Republic in the period of 2001 to 2012.

**Material and methods:** Phenotypic resistance testing has been monitored by the disk diffusion method and complemented by the assessment of minimum inhibitory concentration by E-test method and genes encoding resistance by the PCR method.

**Results:** All tested strains (678) were susceptible to ampicillin, penicillin, gentamicin, trimethoprim, vancomycin and chloramphenicol. Resistance to tetracycline (2/509) and erythromycin (1/509) was detected sporadically in strains of food origin.

**Conclusions:** Very good and so far stable susceptibility of tested strains of *L. monocytogenes* isolated from humans and foods to antibiotics used in the therapy of listeriosis was found in the monitoring period. Sporadic occurrence of resistance was detected only in strains from foods.

**Keywords:** listeria, antimicrobial resistance, human isolates, isolates from foods, disk diffusion method, E-test, PCR

*Klin mikrobiol inf lék 2013;19(2):32–35*

**Adresa:** Mgr. Tereza Gelbíčová, Ph.D., Česká sbírka mikroorganismů, ÚEB, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Tvrdeho 14, 602 00 Brno, e-mail: terezag@sci.muni.cz

Došlo do redakce: 20. 12. 2012

Přijato k tisku: 21. 5. 2013

## Úvod

*Listeria monocytogenes* je běžně se vyskytující saprofytická bakterie, ale také oportunní intracelulární patogen schopný vyvolat onemocnění lidí a zvířat [1]. Prevalence humánních listerióz je relativně nízká. V zemích EU bylo v roce 2011 potvrzeno 0,32 případů na 100 000 obyvatel. Význam této zoonózy s alimentární cestou přenosu spočívá především v těžkém průběhu invazivních forem onemocnění a vysoké mortalitě [2].

Bakterie *L. monocytogenes* jsou obvykle citlivé k širokému spektru antimikrobiálních látek, s výjimkou fosfomycinu, chinolonů a cefalosporinů třetí generace, ke kterým vykazují přirozenou rezistenci [3,4]. Zatímco většina antibiotik má na listerie inhibiční efekt, pouze některé na ně působí baktericidně. V mnoha případech také infekce postihuje mozek, kam antibiotika hůře pronikají. Dalším aspektem je výskyt listerióz u imunosupresivních jedinců, kde obranné mechanismy hostitele často nejsou schopny podpořit an-

tibiotika k překonání bakteriální infekce [4]. Lékem volby u listerióz je ampicilin, případně penicilin G kombinovaný s aminoglykosidy, obvykle gentamicinem. U jedinců alergických na penicilin je využíván ko-trimoxazol [5,6]. Někteří autoři řadí mezi antibiotika druhé volby také erytromycin, vankomycin a fluorochinolony [7] nebo meropenem [8]. Hof [4] uvádí jako nejlepší volbu v terapii listerióz kombinaci amoxicilinu a gentamicinu.

První humánní kmen *L. monocytogenes* s vícečetnou rezistencí byl popsán ve Francii v roce 1988 [9]. Výskyt rezistentních kmenů *L. monocytogenes* v humánní populaci byl od té doby zaznamenán nejen ve Francii [10], ale i v jiných zemích [11–13]. Kmeny *L. monocytogenes* rezistentní k jednomu či více antibiotikům byly izolovány rovněž z potravin [14–16] a prostředí potravinářských podniků [17–19]. Úroveň rezistence listerií se může v jednotlivých zemích lišit v závislosti na antimikrobiálních látkách používaných v humánní a veterinární medicíně [19]. Vliv na výskyt rezistentních kmenů listerií u potravinových zvířat a následně i v potravinách může mít také využívání antibiotik jako krmných doplňků. Zatímco v EU je použití antibiotik jako doplňkových látek v krmivech zakázáno [20], v Japonsku a některých asijských zemích je stále povoleno [12]. V současnosti již byly popsány i kmeny *L. monocytogenes* izolované z potravin či potravinářských podniků vykazující rezistenci k antimikrobiálním látkám využívaných v terapii listerióz [15,17,18]. Potraviny hrají významnou roli v etiologii listerióz a monitorování antimikrobiální rezistence kmenů *L. monocytogenes* v celém potravinovém řetězci má nezastupitelný význam.

Cílem této práce bylo:

- zjistit stav antimikrobiální rezistence kmenů *L. monocytogenes* humánního a potravinového původu v České republice a vyhodnotit trendy v období let 2001 až 2012;
- porovnat úroveň antimikrobiální rezistence kmenů *L. monocytogenes* pocházejících od lidí a z potravin;
- u rezistentních kmenů detekovat geny odpovědné za rezistenci k dané antimikrobiální látce.

## Materiál a metodika

### 1. Vyšetřované kmeny

Byl testován soubor 678 kmenů *L. monocytogenes* pocházejících ze sbírky Národní referenční laboratoře pro listerie. Vyšetřované humánní (169) a potravinové (509) kmeny byly izolovány v různých regionech České republiky v období let 2001 až 2012. Humánní kmeny pocházely z hemokultur (83), likvoru (28) a dalšího klinického materiálu (58), jako například placenty či novorozenců, punktátů z kloubů a dalších. Ze sbírky potravinových kmenů bylo vyšetřeno 225 kmenů z potravin určených k dalšímu zpracování: různé druhy masa a ryb (148), syrové mléko (41), mražená zelenina (26) a mražené polotovary (10). Kmeny (284) izolované z potravin k přímé spotřebě pocházely z masných (135), mléčných (66), lahůdkářských (55), rybích (17) a cukrářských (9) výrobků a syrové zeleniny (2). Počty vyšetřených a rezistentních kmenů v jednotlivých letech sledovaného období jsou uvedeny v tabulce 1. Kultury byly uchovávány v glycerinovém médiu při  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Před testová-

ním antimikrobiální rezistence byly kmeny oživeny vyočkováním na krevní agar (Bio-Rad, Francie) a inkubovány při  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  po dobu 24 hodin za aerobních podmínek.

## 2. Testování antimikrobiální citlivosti

### 2.1 Disková difúzní metoda

Fenotypový projev antimikrobiální rezistence byl sledován na Mueller-Hinton agaru (Bio-Rad, Francie) dle doporučení CLSI (the Clinical and Laboratory Standards Institute) [21]. Testovány byly následující antimikrobiální látky: ampicilin (10  $\mu\text{g}$ ), penicilin (10 U), erytromycin (15  $\mu\text{g}$ ), gentamicin (10  $\mu\text{g}$ ), trimetoprim (5  $\mu\text{g}$ ), vankomycin (30  $\mu\text{g}$ ), tetracyklin (30  $\mu\text{g}$ ) a chloramfenikol (30  $\mu\text{g}$ ). Do roku 2012 CLSI (s výjimkou MIC pro penicilin a ampicilin) nebo EUCAST (the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) nedoporučovaly žádná kritéria pro hodnocení antimikrobiální citlivosti listerií. V této studii byly výsledky interpretovány dle hraničních průměrů inhibičních zón pro *Staphylococcus* spp., s výjimkou ampicilinu a penicilinu, u nichž byla použita kritéria pro *Enterococcus* spp. [21].

### 2.2 E-test

Minimální inhibiční koncentrace (MIC) byla testována u kmenů s rezistencí prokázanou na základě diskové difúzní metody dle doporučení EUCAST (2012). Byly použity diagnostické proužky (Oxoid, UK) tetracyklinu (0,015–256  $\mu\text{g/ml}$ ) a erytromycinu (0,015–256  $\mu\text{g/ml}$ ). Výsledky MIC erytromycinu byly hodnoceny dle kritérií, které uvádí EUCAST [22]. Kritéria pro MIC tetracyklinu EUCAST neuvádí, a proto byla interpretace provedena dle kritérií pro *Staphylococcus* spp. [21].

## 3. Detekce genů antimikrobiální rezistence metodou PCR

U kmenů *L. monocytogenes*, u nichž byla prokázána rezistence k tetracyklinu a erytromycinu, byla sledována přítomnost genu *tet(M)* a *erm(B)* s využitím primerů popsaných Morvanem et al. [10]. Reakční směs byla připravena z PPP master mixu (Top-Bio, ČR) a primerů syntetizovaných firmou Generi Biotech (ČR). Jako pozitivní kontrola byl použit kmen *Enterococcus faecalis* 216 [*tet(M)*, *erm(B)*] poskytnutý Ústavem biologie a chorob volně žijících zvířat Veterinární a farmaceutické univerzity Brno.

## Výsledky a diskuze

Bakterie *L. monocytogenes* rezistentní k antibiotikům aplikovaných při léčbě listerióz představují z terapeutického hlediska vážný problém. Celosvětově je však výskyt rezistence *L. monocytogenes* u humánních izolátů relativně nízký, jak dokazují výsledky řady autorů [10–13]. Tuto skutečnost potvrdily rovněž výsledky naší studie. Všechny humánní kmeny byly citlivé k celému souboru testovaných antimikrobiálních látek. Ve Francii byla v období let 1989 až 2007 zaznamenána prevalence antimikrobiální rezistence humánních kmenů na úrovni 1,27 %. Nejčastěji byly zaznamenány kmeny rezistentní k tetracyklinu (34 rezistentních kmenů z 4 668 vyšetřených) a ciprofloxacinu (20/4 668). Ve sledovaném období byl detekován také jeden humánní kmen rezistentní k trimetoprimu, jeden k erytromycinu a jeden

multi-rezistentní kmen [10]. Rovněž v Brazílii byla detekována *L. monocytogenes* humánního původu rezistentní k trimetoprim-sulfametoxazolu, jež se využívá v terapii listerióz [13]. V dánské studii naopak nebyl od roku 1958 do roku 2001 zaznamenán žádný kmen rezistentní k antibiotikům běžně využívaných v léčbě listerióz ani kmen s vícečetnou rezistencí [11], podobně jako v naší práci. Autoři Hansen et al. [11] však prokázali jeden rezistentní kmen *L. monocytogenes* k ciprofloxacinu a další kmeny vykazující intermediální citlivost. Tento fakt, v souladu s francouzskou studií [10], poukazuje na omezené možnosti použití této antimikrobiální látky v terapii listerióz, přestože Temple a Nahata [7] řadí fluorochinolonová antibiotika mezi léky druhé volby. V Srbsku byl zaznamenán také případ selhání širokospektrého antibiotika meropenemu v léčbě listeriové meningitidy [23]. Z tohoto pohledu má monitorování antimikrobiální citlivosti *L. monocytogenes* v humánní populaci význam, i přes ojedinělý výskyt kmenů rezistentních k antibiotikům využívaných v klinické praxi.

Častěji je zaznamenáván výskyt antimikrobiální rezistence u kmenů *L. monocytogenes* pocházejících od hospodářských zvířat [24], z prostředí [25] a potravin [17,26]. Antimikrobiální rezistence potravinových kmenů *L. monocytogenes* testovaných v této studii byla od roku 2001 do roku 2012 prokázána na úrovni 0,59 % (3/509). Rozdíly v rezistenci mezi kmeny izolovanými z různých skupin potravin nebylo možné na základě dosažených výsledků potvrdit.

Naše výsledky ukázaly, že u bakterií *L. monocytogenes* pocházejících z potravin, není neobvyklý výskyt rezistence k tetracyklinu [19,26,27], stejně jako u lidí [5]. První kmen rezistentní k tetracyklinu byl izolován v roce 2001 a další v roce 2007, a to z mraženého rybího filé. Na základě E-tes-

tu byla stanovena hodnota MIC obou kmenů 32 µg/ml. Rezistence k tetracyklinu byla kódována genem *tet(M)*, který je podle řady studií nejčastější u tetracyklin rezistentních *L. monocytogenes* [14,15,19]. Na přenosu tohoto genu se mohou podílet zástupci rodů *Enterococcus* a *Streptococcus* přenosem konjugativního transpozonu [28], nebo kmeny *L. innocua*, u kterých je gen *tet(M)* také velmi často detekován [29].

U jednoho kmene *L. monocytogenes* izolovaného v roce 2009 z vařeného masného výrobku byla detekována rezistence k erytromycinu (MIC > 256 µg/ml). Fenotypový projev rezistence k erytromycinu byl potvrzen přítomností genu *erm(B)*, který byl u *L. monocytogenes* detekován i v jiné studii [15]. U žádného z testovaných kmenů *L. monocytogenes* izolovaných z potravin nebyla prokázána rezistence k antibiotikům první volby (ampicilinu, penicilinu a gentamicinu) či trimetoprimu. Rovněž k dalším testovaným antimikrobiálním látkám (s výjimkou tetracyklinu) byly všechny kmeny *L. monocytogenes* pocházející z potravin citlivé. Naše výsledky jsou srovnatelné s výsledky některých autorů [15,19,27], kteří zaznamenali velice dobrou citlivost potravinových izolátů *L. monocytogenes* k beta-laktamovým antibiotikům a aminoglykosidům. V zahraničí jsou však popisovány i potravinové kmeny *L. monocytogenes* vykazující rezistenci k antimikrobiálním látkám využívaných v terapii listerióz, a to ampicilinu, trimetoprim-sulfametoxazolu, vancomycinu [17], gentamicinu [18] či sulfonamidům [26].

Ve studii prováděné v USA byl u kmenů *L. monocytogenes* izolovaných z mléčných farem (např. rektálních výtěrů telat, podestýlky, pitné vody, syrového mléka a mléčných filtrů) prokázán vysoký výskyt rezistentních kmenů k ampicilinu (92 %), rifampicinu, rifamycinu a florfenicolu.

U všech kmenů byla in vitro zjištěna rezistence k cefalosporinu C, streptomycinu, ale také trimetoprimu [25]. V naší práci jsme mezi 41 kmeny *L. monocytogenes* pocházejících ze syrového mléka nezjistili rezistenci k žádnému z testovaných antimikrobiálních látek, včetně ampicilinu a trimetoprimu. Vysoká úroveň rezistentních kmenů *L. monocytogenes* u potravinových zvířat a v potravinách, popisovaná v některých studiích, může být výsledkem neuváženého používání antimikrobiálních látek v dané oblasti, ale může být dána také rozdíly v použitých interpretačních kritériích při hodnocení výsledků. Do roku 2012 pouze CLSI uváděla MIC pro penicilin a ampicilin u listerií. V současnosti EUCAST doporučuje MICs a hraniční průměry inhibičních zón pro některá antibiotika využívaná v humánní terapii: ampicilin, penicilin, erytromycin, trimetoprim-sulfametoxazol a meropenem. Řada antibiotik sledovaných ve veterinární oblasti však stále nemá stanovená jednotná kritéria pro hodnocení antimikrobiální citlivosti listerií.

Tabulka 1

Přehled vyšetřených a rezistentních kmenů v letech 2001 až 2012

Rok izolace	Počet humánních kmenů		Počet potravinových kmenů	
	vyšetřených	rezistentních	vyšetřených	rezistentních
2001	1	0	15	1 <i>tet(M)</i>
2002	0	0	17	0
2003	0	0	23	0
2004	1	0	54	0
2005	2	0	43	0
2006	26	0	40	0
2007	39	0	52	1 <i>tet(M)</i>
2008	20	0	56	0
2009	22	0	57	1 <i>erm(B)</i>
2010	17	0	54	0
2011	22	0	59	0
2012	19	0	39	0
Celkem	169	0	509	3

## Závěr

Výsledky naší studie prokázaly u všech humánních kmenů *L. monocytogenes* citlivost k celému souboru testovaných antimikrobiálních látek. Sporadický výskyt rezistentních kmenů *L. monocytogenes* byl potvrzen jen u potravinových izolátů. V průběhu dvanáctiletého období nebylo zjištěno zvýšení úrovně antimikrobiální rezistence *L. monocytogenes* v humánní populaci ani v potravinách. U potravinových kmenů byla detekována rezistence k tetracyklinu nesená genem *tet(M)* a erytromycinu kódovaná genem *erm(B)*. S výjimkou jednoho kmene izolovaného z masného výrobku určeného k přímé spotřebě s rezistencí k erytromycinu vykazovaly všechny kmeny citlivost k antimikrobiálním látkám využívaných v terapii listerióz.

## Poděkování

Práce vznikla za finanční podpory výzkumného záměru MZE0002716202, projektu *AdmireVet CZ 1.05/2.1.00/01.0006-ED0006/01/01* a *CEB projektu CZ.1.07/2.3.00/20.0183*.

## Literatura

- Gray MJ, Freitag NE, Boor KJ. How the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes* mediates the switch from environmental Dr. Jekyll to pathogenic Mr. Hyde. *Infect Immun*. 2006;74(5):2505–2512.
- EFSA: The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011. *EFSA Journal*. 2013;11(4):3129.
- Troxler R, Graevenitz A, Funke G, Wiedmann B, Stock I. Natural antibiotic susceptibility of *Listeria* species: *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* and *L. welshimeri* strains. *Clin Microbiol Infect*. 2000;6(10):525–535.
- Hof H. Listeriosis: therapeutic options. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2003;35(3):203–205.
- Charpentier E, Courvalin P. Antibiotic resistance in *Listeria* spp. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43(9):2103–2108.
- Poroš-Gluchowska J, Markiewicz Z. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes*. *Acta Microbiol Pol*. 2003;52(2):113–129.
- Temple ME, Nahata MC. Treatment of listeriosis. *Ann Pharmacother*. 2000;34(5):656–661.
- Matano S, Satoh S, Harada Y, Nagata H, Sugimoto T. Antibiotic treatment for bacterial meningitis caused by *Listeria monocytogenes* in a patient with multiple myeloma. *J Infect Chemother*. 2010;16(2):123–125.
- Poyart-Salmeron C, Carlier C, Trieu-Cuot P, Courtieu AL, Courvalin P. Transferable plasmid-mediated antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Lancet*. 1990;335(8703):1422–1426.
- Morvan A, Moubareck C, Leclercq A et al. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* strains isolated from humans in France. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(6):2728–2731.
- Hansen JM, Gerner-Smidt P, Bruun B. Antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* in Denmark 1958–2001. *APMIS*. 2005;113(1):31–36.
- Okada Y, Okutani A, Suzuki H, et al. Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* isolated in Japan. *J Vet Med Sci*. 2011;73(12):1681–1684.
- Reis CM, Barbosa AV, Rusak LA, Vallim DC, Hofer E. Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* human strains isolated from 1970 to 2008 in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2011;44(2):173–176.
- Yan H, Neogi SB, Mo Z, et al. Prevalence and characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes* isolates in Hebei province of Northern China, 2005–2007. *Int J Food Microbiol*. 2010;144(2):310–316.
- Graniér SA, Moubareck C, Colaneri C, et al. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolates from food and the environment in France over a 10-year period. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(8):2788–2790.
- Kovačević J, Mesak LR, Allen KJ. Occurrence and characterization of *Listeria* spp. in ready-to eat retail foods from Vancouver, British Columbia. *Food Microbiol*. 2012;30(2):372–378.
- Conter M, Paludi D, Zanardi E, et al. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol*. 2009; 128(3):497–500.
- O'Connor L, O'Leary M, Leonard N, et al. The characterization of *Listeria* spp. isolated from food products and the food-processing environment. *Lett Appl Microbiol*. 2010;51(5):490–498.
- Korsak D, Borek A, Daniluk S, Grabowska A, Pappelbaum K. Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* strains isolated from food and food processing environment in Poland. *Int J Food Microbiol*. 2012;158(3):203–208.
- Nariadení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 1831/2003 o doplňkových látkách používaných ve výživě zvířat.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. NCCLS document M100-S16. CLSI 2006;26:44–55.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST Clinical Breakpoint Table v. 2.0, valid from 2012-01-01 <http://www.eucast.org/clinical-breakpoints/>.
- Stepanović S, Lazarević G, Ješić M, Koš R. Meropenem therapy failure in *Listeria monocytogenes* infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004;23(6):484–486.
- Vela AI, Fernández-Garayzábal JF, Latre MV, et al. Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from meningococcal meningitis in sheep. *Int J Food Microbiol*. 2001;17(3):215–220.
- Srimvasan V, Nam HM, Nguyen LT, et al. Prevalence of antimicrobial resistance genes in *Listeria monocytogenes* isolated from dairy farms. *Foodborne Pathog Dis*. 2005;1(3):201–211.
- Zhang Y, Yeh E, Hall G, et al. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from retail foods. *Int J Food Microbiol*. 2007;113(1):47–53.
- Filiouis G, Johansson A, Frey J, Perreten F. Prevalence, genetic diversity and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from open-air food markets in Greece. *Food Control*. 2009;20(3):314–317.
- Poyart-Salmeron C, Trieu-Cuot P, Carlier C, et al. Genetic basis of tetracycline resistance in clinical isolates of *Listeria monocytogenes*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992;36(2):463–466.
- Davis JA, Jackson CR. Comparative antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes*, *L. innocua* and *L. welshimeri*. *Microb Drug Resist*. 2009;15(1):1–6.

# Novinky v problematice bartonelových infekcí

O. MELTER

Ústav lékařské mikrobiologie, 2. LF UK a FN Motol

## SOUHRN

Melter O.: **Novinky v problematice bartonelových infekcí**

Přehledový článek uvádí 25 dosud známých bartonelových druhů, epidemiologii a patogenезi infekcí, které jsou rozdělené podle symptomatologie, včetně kultivačně negativních endokarditid. Článek popisuje mikrobiologickou diagnostiku a specifika racionální antibiotické terapie bartonelových infekcí.

*Klíčová slova:* bartonela, bartonelové infekce, *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*

## SUMMARY

Melter O.: **News on *Bartonella* infections**

The review specifies 25 *Bartonella* species known so far and describes epidemiology and pathogenesis of *Bartonella* infections which are classified using patient symptomatology including culture-negative endocarditis. Microbiological diagnosis and significant principles of antibiotic therapy of *Bartonella* infections are also stated.

*Keywords:* *Bartonella*, *Bartonella* infections, *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*

*Klin mikrobiol inf lék 2013;19(2):36–44*

**Adresa:** MVDr. Oto Melter, Ph.D., Ústav lékařské mikrobiologie, 2. LF UK a FN Motole, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5, e-mail: oto.melter@lfmotol.cuni.cz

Došlo do redakce: 27. 8. 2012

Přijato k tisku: 21. 12. 2012

## Úvod

Bartonely jsou gramnegativní bakterie z čeledi *Bartonellaceae*. Do devadesátých let byl známý pouze jediný druh *Bartonella bacilliformis*, který se endemicky vyskytuje v Jižní Americe. Je původcem kožní eruptivní infekce anebo fatálního horečnatého onemocnění (Oroya fever). V současnosti je známo již 25 druhů a 3 poddruhy bartonel, které jsou prokazovány u různých druhů savců ve všech světadílech, kromě Antarktidy. Bartonely se obvykle nachází ve vysokém počtu v periferní krvi rezervoárových zvířat, nejčastěji intracelulárně v erytrocytech. Tato zvířata jsou, až na výjimky, v dobrém výživném stavu a bez klinických příznaků infekce. V případě infekce člověka, který je nespecifickým hostitelem naprosté většiny bartonel, dochází k rozvoji infekce doprovázené často výraznou klinickou symptomatologií, která odpovídá postiženému orgánu nebo orgánové soustavě. Specifické biologické vlastnosti bartonel, které bychom mohli řadit k pomalu rostoucím bakteriím, vyžadují specifické diagnostické přístupy a léčba bartonelových infekcí vyžaduje specifická antibiotika a dlouhodobou léčbu.

## Původci a epidemiologie onemocnění

Bartonely, pravděpodobně kvůli rezistenci ke komplexu [1] nebo změně povrchových antigenů [2,3], mohou

unikat nespecifickým a specifickým imunitním mechanismům hostitele a způsobovat perzistentní symptomatické infekce u hostitelských savců. Díky těmto výjimečným vlastnostem bartonely, jako snad jediné bakterie, tvoří výjimku v jednom z Kochových postulátů, který deklaruje, že bakterie nejsou přítomny v krvi nebo tkáni zdravých zvířat či člověka [4]. V případě infekce příležitostného hostitele, kterým je pro mnohé druhy bartonel člověk, dochází k infekci s postižením různých orgánů s celkovými projevy infekce. K přenosu infekce z hostitele dochází obecně trojím způsobem. První možností je poranění zvířetem, kdy v průběhu ataky dojde ke kolonizaci a infekci rány. Tento mechanismus je uváděn u přenosu téměř všech infekcí způsobených *Bartonella henselae*. Průkaz specifické DNA pro *B. henselae* ve slinách 10 % koček z domácnosti [5] a *B. bovis*, *B. henselae*, *B. quintana* a *B. vinsonii* subspecies *berkhoffii* ve slinách psů naznačuje, že bartonely by mohly kolonizovat a později infikovat ránu jiného zvířete nebo člověka [6]. Druhou možností přenosu bartonelové infekce je přenos vektory, kterými jsou ektoparazitové [7]. Třetí možností přenosu infekce na člověka je manipulace se zvířaty (např. stahování či vyvrhování), která jsou zdrojem této infekce [8]. Řadu těchto infekcí tedy můžeme klasifikovat i jako *arthropod-* nebo *vector-borne diseases*. Někteří autoři upozorňují rovněž na případnou možnost přenosu bartonelové infekce



transfuzí nebo transplantací [9]. Nejznámějšími vektory infekce jsou vši (např. *Pediculus humanus*), blechy (např. *Ctenocephalides canis*) a klíšťata (např. *Ixodes ricinus*). Bartonely jsou dále uvedeny v abecedním pořadí s výjimkou ekologicky příbuzných druhů, které jsou řazeny společně. *B. alsatica* byla izolovaná z divokých králíků ve Francii [10] a Španělsku [11]. Mezi zvířaty ji pravděpodobně přenášejí blechy nebo vši, kterými je často infestovaných až 50 % zvířat [10]. Riziko infekce pro lidi, kteří vyvrhují králíky, dokumentují dva případy endokarditidy pacientů, kteří byli s těmito zvířaty v kontaktu [8]. *B. bacilliformis*, o které referoval Strong v roce 1913 a 1915, se endemicky vyskytuje v oblastech Jižní Ameriky (Venezuela) [12]. Hostitelem je člověk a její výskyt je vázán na komára (*Lutzomyia verrucarum*), který se v Evropě nevyskytuje. *B. birtlesii* byla izolovaná z myšice v Německu a ve Velké Británii [13]. Byla prokázána v ektoparazitech (např. klíště), jež se podílejí na přenosu infekce mezi jinými hlodavci, a jsou tudíž rizikem pro přenos infekce na člověka. *B. grahamii*, *B. doshiae* a *B. taylorii*, *B. peromysci* a *B. talpae* byly reklasifikovány z rodu *Grahamella* [14]. Ekologicky jsou podobné s předcházejícím druhem. Způsobují pouze infekce hlodavců s výjimkou jediné zdokumentované infekce *B. grahamii* u člověka [15]. *B. bovis* [16] a *B. chomelii* [17] byly izolované z krve hovězího dobytka a *B. capreoli* byla prokázána u srny [16] ve Francii. U hovězího dobytka je *B. bovis* zdokumentována jako původce endokarditidy [18]. *B. clarridgeiae* byla prokázána v blechách [19] a v krvi koček [20] a je stejně jako *B. henselae* původcem felinózy (nemoc z kočičího škrábnutí). Specifická DNA byla prokázána rovněž v blechách koček a psů [21] a jako původce endokarditidy u psů [22]. *B. cooperi*, *B. queenslandensis*, *B. rattaus-traliani* byly izolovány dosud pouze z divokých potkanů rodů *Melomys*, *Uromys* a *Raptus* v Austrálii [23]. *B. elizabethae* je vzácně prokázána jako původce endokarditidy pacienta [24]. Zdrojem infekce mohou být jak hlodavci [25], tak kočka nebo pes [3] a vektorem ektoparazitů těchto zvířat [26]. *B. henselae* byla v roce 1993 Brennerem a kol. [27] reklasifikována z rodu *Rochalimaea* do rodu *Bartonella*. Tato infekce se manifestuje obvykle jako nespecifické horečnaté onemocnění dětí [28] nebo dospělých [29] a nebo jako infekce různých orgánových systémů. Zdrojem mohou být rovněž drobní savci [30] a dále hlavně kočka [31], pes [32] a ektoparazit těchto zvířat [33,34]. K přenosu infekcí způsobených *B. henselae*, na rozdíl od ostatních bartonelových infekcí, dochází většinou po poranění kočkou. Onemocnění je charakterizované nehojící se primární kožní afekcí a většinou regionální lymfadenitidou (CSD *cat scratch disease* – nemoc z kočičího škrábnutí neboli felinóza). Nejčastěji jsou postiženy axilární uzliny, což pravděpodobně souvisí s tím, že ruce jsou nejčastěji vystaveny přímému kontaktu nebo poranění rezervoárovým zvířetem. Nejčastějšími pacienty jsou děti a nejčastějším zdrojem infekce jsou kočky do věku jednoho roku, protože děti si stejně jako mladé kočky rády hrají, a tudíž riziko poranění je větší. Podle místa poranění mohou být postiženy regionální mízní uzliny a nebo různé orgány s celkovými příznaky infekce. U imunokompromitovaných pacientů (např. HIV pozitivní) se onemocnění manifestuje často jako bacilární angiomatóza, kterou je klinicky, ale i histologicky obtížné

diferencovat od hemangiomu nebo postižení orgánů – peliázy. *B. japonica* a *B. silvatica* byly dosud prokázány pouze v krvi hlodavců rodu *Apodemus* v Japonsku [35]. *B. kohlerae* [36] patří spolu s *B. henselae* a *B. clarridgeiae* k bartonelám izolovaným hlavně z koček a jejich blech [37]. Je původcem infekcí člověka s pestrou klinickou symptomatologií [38], včetně endokarditidy [39]. Je rovněž původcem infekcí psů [40]. *B. quintana* je známá od roku 1917 jako *Rochalimaea quintana*, kterou popsal Schmincke a která byla v roce 1993 byla reklasifikována Brennerem do rodu *Bartonella* [27]. Je původcem horečnatého onemocnění – zákopové horečky, kterou onemocnělo v průběhu 1. světové války zhruba milion lidí, hlavně vojáků [41]. Ve druhé světové válce šlo spíše o sporadické případy. Hostitelem je člověk a jako vektor se po desetiletí dogmaticky uvádí veš šatní (*Pediculus humanus*) [7], i když v některých případech informace o vektoru infekce schází. Průkaz *B. quintana* ve vši dětské (*Pediculus capitis*) [41a] ale možná nabízí logickou otázku, zda některá z horečnatých onemocnění dětí v našich podmínkách, kdy infestace dětí tímto ektoparazitem je v předškolních a školních kolektivech zcela běžná, nemohou být způsobena *B. quintana*. Jako vektor této infekce však veš dětská nebyla dosud popsána. Naše zjištění, že vektorem této infekce byli roztoči (čmelci) z rodu *Dermanyssus* napovídá, že snad i jiní ektoparazité se mohou podílet na přenosu infekce [42]. V současnosti se tato infekce u člověka manifestuje jako rekurentní horečnaté onemocnění – urbánní (městská) zákopová horečka, často s rickettsiálními petechiemi (*rash*) na kůži anebo jako bacilární angiomatóza kůže nebo orgánů (peliáza) anebo endokarditida [7]. *B. rochalimaea* byla pouze jednou prokázána z horečnatého onemocnění člověka [43], ale i z možných rezervoárových hlodavců [26] a vektorů [44]. *B. schoenberchensis* byla prokázána v krvi čerstvě střelených srnců v Německu [45]. K infekci by mohlo dojít při stahování a vyvrhování této lovné zvěře. Infekce člověka však dosud nebyla zdokumentována. *B. tribocorum* byla prokázána v krvi potkanů ve Francii [46] a taky u jiných drobných savců jinde v Evropě [30] a Japonsku [47], ale zatím nebyla potvrzena jako původce infekce u člověka. *B. vinsonii* je rozdělena do tří poddruhů. *B. vinsonii* subsp. *arupensis* byla prokázána jako původce horečnatého onemocnění u farmáře, u něhož v anamnéze scházela infestace ektoparazity nebo manipulace se zvířaty. V místě, kde pacient hospodařil (Montana, USA), bylo však prokázáno enormní množství hlodavců, kteří se považují za rezervoár infekce [48]. Rovněž byla prokázána ve Francii jako původce endokarditidy u pacienta s náhradou srdeční chlopně, jež neměl v anamnéze kontakt se zvířaty nebo infestaci ektoparazity [49]. *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* a *B. vinsonii* subsp. *vinsonii* byly poprvé v roce 1996 izolované Kordickem v USA z krve zdravého psa a psa s endokarditidou. Dodnes je popsána celá řada případů asymptomatické infekce *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* u psů nebo psovitých šelem [50]. Informace o infekci člověka *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* jsou omezené pouze na endokarditidu [51,52]. Další průkaz *B. vinsonii* subsp. *vinsonii* u vektorů nebo infekce zvířat a člověka nebyl dosud zdokumentován. Medicínsky nejdůležitější druhy bartonel, jejich hostitelé (rezervoár), příležitostní hostitelé a vektory jsou uvedeny v tabulce 1.

### Patogeneze bartonelových infekcí

Od devadesátých let přibýlo více než 20 nových druhů *Bartonella* spp., které byly izolované z obratlovců včetně člověka, již byli asymptomatictí anebo měli některé z pestrých klinických příznaků bartonelových infekcí. Z důvodu krátké historie (*emerging infekce*) však o biologii bartonel, **faktorech virulence** a **mechanismech patogenese** máme doposud pouze omezené informace, které nejkomplexněji shrnuje přehledná práce Harms a Dehio z roku 2012 [53]. **Adheze k hostitelské buňce** byla studovaná na kmenech *B. henselae* [54]. Zodpovědný za ni je **adhezin BadA**, který zprostředkuje adhezi k extracelulárním proteinům hostitelské buňky (fibronektin, kolagen). Tento adhezin aktivací (HIF)-1 (*hypoxia inducible factor*), který je klíčovým transkripčním faktorem v angiogenezi, indukuje tvorbu a sekreci endoteliálního cytokinu (VEGF – *vascular endothelial growth factor*). Tento adhezin má enormní délku – cca 240 nm – a jeho homologní adheziny se vyskytují rovněž u jiných bartonelových druhů (Vomps – *B. quintana*, BrpA – *B. vinsonii*). Jde o trimerní autotransporterový adhezin, který patří, stejně jako prototypový adhezin YadA *Yersinia enterocolitica*, k významným faktorům virulence gramnegativních bakterií. Analogicky existují NadA *Neisseria meningitidis*, Hia *Haemophilus influenzae*, BpaA *Burkholderia pseudomallei* a ubikvitární povrchové proteiny UspA1 a UspA2 *Moraxella catarrhalis*. Nejdůležitější je hlavička adhezinu, která přichází do přímého kontaktu s hostitelskou buňkou. **Vnější proteiny** (*outer membrane proteins* – OMP43, OMP89) se váží k fibronektinu, což souvisí s vazbou k endoteliálním buňkám a endokardu [55]. Lokalizace bartonel uvnitř hostitelských buněk, včetně erytrocytů [9,56] (nelze pozorovat v klinickém materiálu – poznámka autora), je pravděpodobně zásadní pro vznik a průběh infekce. Nespecifické a specifické obranné mecha-

nizmy hostitele tak pravděpodobně budou mít pouze omezený účinek. Bartonely, kromě *B. bacilliformis*, mají strategii nehemolytické intracelulární lokalizace bez poškození erytrocytu, která umožňuje jejich šíření krevsajícími ekto-parazity [57]. Internalizace bartonel do hostitelské buňky se uskutečňuje pomocí endocytózy nebo pomocí invazómu [58] a po 2–3násobném dělení zůstávají uvnitř erytrocytu po celou dobu jeho životnosti [59]. Na rozdíl od rickettsií obsahují bartonely všechny geny, které se podílejí na biosyntéze aminokyselin a nukleotidů, což jim umožňuje růst i v prostředí mimo hostitelskou buňku [60]. **Angioproliferace** v průběhu infekce může vést k vasoproliferativnímu kožnímu onemocnění (bacilární angiomatóza), které je charakterizováno četnými cystickými strukturami endotelového původu, jež jsou vyplněné krví. Je způsobena pravděpodobně účinkem cytokinů VEGF (viz Adheze) na cévní endotel, což je typické hlavně pro imunodeficitní pacienty s infekcí *B. henselae* i *B. quintana*. Patologické nálezy postižených parenchymatózních orgánů jsou charakteristické kavernózními změnami společně s poruchou jejich funkce. Nejčastěji jde o postižení jater (*peliosis hepatis*) nebo sleziny (*peliosis splenis*). Testy *in-vitro* prokázaly, že důležité pro tvorbu výrůstků v angiogenezi hostitelských buněk jsou proteiny Beps (*Bartonella effector proteins*) a hostitelské buňky chrání před následnou apoptózou další protein BepA [61]. **Suprese buněk imunitní odpovědi** je v průběhu bartonelové infekce zabezpečena zejména stimulací tvorby cytokinu IL-10 [53], který suprimuje funkci různých buněk, jež zahrnují T helper buňky, monocyty/makrofágy a dendritické buňky, které jsou důležité v přirozené i adaptivní imunologické odpovědi. Tento cytokin je klíčovým imunoregulátorem v průběhu virových, bakteriálních, mykotických a parazitárních infekcí [62]. **Rezistence ke komplementu**, která hraje významnou roli zejména u *Borrelia burgdorferi* pro

Tabulka 1

Medicínsky nejdůležitější druhy bartonel, jejich hostitelé (rezervoár), příležitostní hostitelé a vektory (modifikováno podle [32]). Tučně zvýrazněné druhy bartonel: podle jejich ekologie (přítomnost hostitele a vektorů) lze předpokládat, že se na území ČR vyskytují. Výskyt některých z nich – *B. henselae* a *B. quintana* a infekcí, které způsobují u člověka, byl již v ČR potvrzen.

Druh	Hostitel (rezervoár)	Vektor	Příležitostný hostitel
<i>B. bacilliformis</i>	člověk	„komár“ ( <i>Lutzomyia verrucarum</i> )	žádný
<i>B. quintana</i>	člověk	veš ( <i>Pediculus humanis</i> )	kočka, pes, opice
<i>B. elizabethae</i>	potkan ( <i>Rattus norvegicus</i> )	orientál. potkaní blecha ( <i>Xenopsylla cheopis</i> )	člověk, pes
<i>B. henselae</i>	kočka	kočičí blecha ( <i>Ctenocephalides felis</i> )	člověk, pes
<i>B. clarridgeiae</i>	kočka	kočičí blecha	člověk?, pes
<i>B. koehlerae</i>	kočka	kočičí blecha	člověk
<i>B. vinsonii</i> <i>berkhoffii</i>	kojot ( <i>Canis latrans</i> ), pes ( <i>C. familiaris</i> )	neznámý (klíšata?)	člověk
<i>B. vinsonii</i> <i>arupensis</i>	„Myš bělonohá“ ( <i>Peromyscus leucopus</i> )	neznámý (blechy?, klíšata?)	člověk
<i>B. alsatica</i>	králík	neznámý (blecha?)	člověk

hostitelskou specifitu, kdy membránové proteiny zabraňují formaci komplexu potřebnému k lýze bakteriální buňky, je dosud u bartonel málo prostudována [1]. **Antigenní variace** se předpokládá na základě změny mozaikovitě struktury populace *B. henselae*, která byla prokázána makrorestrikční analýzou DNA kultur pocházejících z jednoho bakteriálního kmene u většiny studovaných kmenů [63]. Tyto antigenní varianty jsou efektivnější v adaptaci na hostitele, jak je to známé u helikobakterů a bakteroidů, a mohla by vést k eliminaci specifické odpovědi z důvodu nerozpoznání B lymfocyty. Výsledkem může být dlouhotrvající bakteriémie a efektivní přenos infekce na jiného hostitele. Lindroos a kol. [64] rovněž vyslovili hypotézu, že variabilní genetický pool kmenů *B. henselae* podmiňuje jejich antigenní variaci, která chrání mikroorganismus před specifickými obrannými mechanismy hostitele a umožňuje dlouhodobou perzistentní infekci. **Sekreční systém IV (T4SS)** zahrnuje pilusové transportéry gramnegativních bakterií, které zprostředkují přenos bakteriální DNA mezi bakteriemi nebo hostitelskou buňkou. Bartonely používají tento sekreční systém k adhezi k erytrocytu [65] a přeprogramování funkcí endotelových hostitelských buněk. Dochází ke změně v cytoskeletu hostitelských buněk (vznik invazomu), k prozánětlivé aktivaci (cytokiny) a inhibici apoptózy [66]. Tyto pochody podmiňují vznik intracelulární, chronické infekce s vaskulární proliferací v kůži nebo orgánech nespecifického hostitele nebo člověka [53]. **Bičinky** mají pouze některé druhy bartonel, jako např. *B. bacilliformis* a *B. clarridgeiae*. Jsou ve větším počtu (lofotricha) lokalizované unipolárně a předpokládá se, že hrají významnou roli při adhezi a mechanickém pronikání bartonel do erytrocytu [67]. **Lipopolysacharidy** jsou stavební složkou většiny gramnegativních bakterií a jsou zodpovědné za jejich endotoxinovou aktivitu. Bartonely mají krátké lipopolysacharidy, které mají nízkou endotoxinovou aktivitu a jsou typické rovněž pro jiné chronické intracelulární patogeny (*Legionella*, *Chlamydia*) [68]. Dalšími faktory virulence jsou **proteiny vážící hemin (HBps – hemin binding proteins)**, což jsou porinové proteiny vnější bakteriální membrány, které váží železo na povrchu bakterie a rovněž zajišťují mikroaerobní intracelulární prostředí v hostitelské buňce [53]. Bartonely si nedovedou syntetizovat hem, a jsou tudíž hemin dependentní [69]. **Membránové transportéry ze skupiny ABC** jsou specifické a nespecifické pro přenos malých a středně velkých substrátů a mají klíčovou roli v importu aminokyselin jako klíčového zdroje uhlíku pro bartonely. Jsou rovněž součástí předpokládaného systému pro získávání nezbytného hemu (hem uptake system – HutABC/HmuV) a dvou systémů pro získávání železa (FatBCD/CeuD and Sit/YfeABCD). **Jiné faktory virulence** u bartonel, jako jsou např. hemolyziny, filamentózní hemaglutininy, byly prokázány na základě strukturální nebo sekvenční podobnosti s homologními strukturami, resp. jejich geny u jiných bakterií [70,71,53]. Jejich funkce a význam nejsou u bartonel dosud dostatečně prostudovány, a proto nejsou v článku uvedeny.

### Bartonelové infekce – anamnéza, infekce, diagnostika a léčba

Tato kapitola řeší infekce způsobené bartonelami, jež jsou běžné v rozvinutých zemích, s důrazem na *B. henselae*

a *B. quintana*, které jsou původci většiny bartonelových infekcí člověka. V *tabulce 2* je uvedena lokalizace a symptomatologie nejčastějších infekcí způsobených bartonelami u člověka a psa, jako nejčastěji chovaného zvířecího společníka, jehož infekce může být indikátorem bartonelové infekce člověka. Bartonelové infekce [72] jsou uvedeny dále podle jejich typické klinické symptomatologie.

### Anamnéza

Naprostá většina pacientů s bartonelovou infekcí má v anamnéza infestaci vektorem infekce (např. veš – *B. quintana*, klíště a blecha – *B. henselae*), poranění rezervoárovým zvířetem (např. pokousání nebo poškrábání kočkou – *B. henselae*) nebo kontakt se zvířaty (např. kontakt s králíkem – *B. alsatica*). Pouze výjimečně může být tato anamnéza (infestace ektoparazity, poranění nebo kontakt se zvířaty) negativní, což nevylučuje, že k infestaci nebo kontaktu nemohlo nevědomě dojít. Pozitivní anamnéza u bartonelových infekcí je ve většině případů zásadní pro stanovení správné diagnózy.

### Infekce

Klinická symptomatologie bartonelových infekcí závisí, více než u jiných infekcí, na imunologickém stavu pacienta. Felinóza – nekrotizující lymfadenitida (CSD – *cat scratch disease*, nemoc z kočičího škrábnutí) a endokarditida se vyskytují nejčastěji u imunokompetentních osob, na rozdíl od imunosuprimovaných pacientů, u kterých jde zejména o vážné infekce, jako je bacilární angiomatóza kůže a orgánu nebo horečnatá rekurentní bakteriémie [60]. Podrobně již o bartonelových infekcích referoval autor v Praktickém lékařství roce 1998 [73]. Tato kapitola tudíž osahuje souhrn se zaměřením na recentnější informace, které v devadesátých letech nebyly známy.

### Felinóza (nemoc z kočičího škrábnutí, CSD – *cat scratch disease*)

U imunokompetentních pacientů jde ve většině případů o regionální lymfadenitidu s postižením axilárních uzlin a pomalu se hojící kožní afekci. Většinou je původcem onemocnění *B. henselae* (viz kapitola Původci a epidemiologie infekcí), ale může jím být i *B. clarridgeiae* [20]. Je popsán případ tří pacientů, kteří zaznamenali zlepšení klinického stavu již po 48hodinové terapii gentamicinem [74,75]. Pacienti s imunodeficitem by však měli být léčeni dlouhodobě antibiotiky. Délka terapie se uvádí alespoň 2týdenní [74]. Margileth (1992) [76] uvádí informace o retrospektivní studii účinnosti léčby u 202 pacientů s 18 antibiotiky, z nichž jsou uvedena antibiotika a úspěšnost léčby: rifampicin (87 %), ciprofloxacin (84 %), gentamicin (73 %) a kotrimoxazol (58 %).

**Komplikace nemoci z kočičího škrábnutí.** Nejčastěji jde o postižení nervového systému [77], jako je encefalopatie, která se objevuje několik dnů až 2 měsíce po nástupu lymfadenopatie a projevuje se těmito klinickými symptomy – horečka, křeče, status epilepticus, bolest hlavy, únava, změny chování, letargie, kóma, respirační deprese, hemiplegie, afázie, ataxie, paralýza kranálních nervů a ztráta sluchu. Likvor může být normální nebo s pleiocytózou a zvýšenou

koncentrací proteinů. Dalšími infekcemi nervového systému mohou být neuroenititis, myelitis, radiculitis, polyneuritis, paraplegie a cerebrální artritida. Neuroenitida dětí i dospělých je způsobena zasažením makulární oblasti kapilárním exudátem. K vyléčení dochází spontánně po 1–3 měsících. Ke spontánnímu uzdravení dochází obvykle u imunokompetentních pacientů, na rozdíl od imunokompromitovaných pacientů, kdy může jít o dlouhodobě probíhající generalizovanou infekci.

**Horečnatá onemocnění** bartonelové etiologie postihují pacienty po poranění zvířetem, nejčastěji kočkou, nebo po infestaci ektoparazity [78–80]. Jedná se hlavně o dětské pacienty a infekci *B. henselae*, kdy se kvůli problematické diagnostice (negativní hemokultury) stanovuje diagnóza jako horečka neznámé etiologie [28]. Průkaz *B. quintana* u dětské vši, která se v kolektivech dětí u nás vyskytuje poměrně běžně, by měl být impulzem pro analýzu, zda by některá z horečnatých onemocnění u dětí nemohla být způsobena právě *B. quintana*. Rovněž dospělí mohou být postiženi rekurentním horečnatým onemocněním, které může projevit i po přísátí klíštěte, jež bylo vektorem infekce *B. henselae* [81].

**Bacilární angiomatóza – kožní infekce imunodeficitních pacientů** jsou vyvolané zejména *B. henselae*, ale také *B. quintana*, které se projeví na kůži jako angiomatózní změny. Klinicky tyto léze připomínají pyogenní granulom,

hemangiom nebo Kaposiho sarkom. Histologicky je rovněž nesnadné je od nich diferencovat a jako zásadní se jeví barvení bartonel stříbrem (metoda podle Warthin-Starry) v kožní lézi [82]. Lékem volby je erytromycin, který má výbornou účinnost [74]. Alternativou u pacientů, kteří netolerují erytromycin, je tetracyklin. U imunokompromitovaných pacientů s vážnou infekcí lze použít kombinaci doxycyklinu (100 mg p.o./i.v. po 12 hod) s rifampicinem (300 mg p.o. dvakrát denně).

#### Pelióza

Jde o pacienty s horečnatým onemocněním, kteří mají klinické příznaky postižení jater nebo sleziny (peliosis hepatis, peliosis splenis), ale postižen může být kterýkoli orgán [83]. Patologické léze vznikají v orgánech z důvodu angiogenního působení bartonel, které vede k tvorbě hemangiózních a kavernoálních ložisek v těchto orgánech. Jde o klinicky velmi závažná onemocnění, které mohou končit fatálně. V dlouhodobé léčbě peliόzy se nejlépe osvědčil erytromycin, klaritromycin a tetracyklin [74]. K vzácným manifestacím infekcí *B. henselae* patří např. erythema nodosum, trombocytopenie, reaktivní artritida, uveitida a lymfédem.

#### Endokarditidy

V devadesátých letech, kdy bylo v našem tisku referováno o infekcích *B. henselae* [37], nebyly známé bartonelové endokarditidy, kromě jediného případu endokarditidy způsobené *B. elizabethae*. Dnes již byla popsána celá řada barto-

Tabulka 2

Medicínsky nejdůležitější druhy bartonel u člověka a psa – nejrozšířenějšího zvířecího společníka, u kterého bartonely často vyvolávají podobnou klinickou symptomatologii, a tak pes může být "indikátorem" bartonelových infekcí člověka.

Druh	Infekce/symptomy člověk	Infekce/symptomy pes
<i>B. bacilliformis</i>	asymptomatická infekce akutní horečnatá infekce chronická kožní infekce	nediagnostikována
<i>B. clarridgeiae</i>	CSD	endokarditida, hepatitida
<i>B. elizabethae</i>	endokarditida, neuroretinitida	letargie, anemie, ztráta hmotnosti
<i>B. henselae</i>	CSD, endokarditida, bacilární angiomatóza, (peliosis hepatis), granulomatózní hepatitida, pseudotumoral. léze, artritida, artralgie, osteomyelitida, noduly, erytémy, kožní petechie, uveitida, neuroretinitida, purpura (Henoch-Schönlein), glomerulonefritida, perionyxitida, periodontitida	granulomatózní hepatitida, peliosis hepatis, epistaxis
<i>B. koehlerae</i>	endokarditida	endokarditida
<i>B. vinsonii arupensis</i>	bakteriémie, horečka, artralgie, neurologické poruchy, endokarditida	nediagnostikována
<i>B. vinsonii berkhoffii</i>	endokarditida	endokarditida, myokarditida, arytmie, uveitida, choroiditida, splenomegalie, polyartritida, epistaxis
<i>B. washoensis</i>	horečka, myokarditida	endokarditida
<i>B. quintana</i>	horečka, bakteriémie, endokarditida, bacilární angiomatóza	endokarditida

nelových endokarditid ve světě a první rovněž v České republice (Beneš a Džupová – ústní sdělení). Původci endokarditid jsou uvedeni v *tabulce 2*. K nejčastějším původcům těchto **kultivačně negativních endokarditid** u člověka patří *B. henselae* a *B. quintana*, u nichž se etiopatogeneze tohoto onemocnění pravděpodobně liší. Obecně totiž platí, že *B. henselae* je původcem endokarditidy člověka s již patologicky alterovaným endokardem (např. umělá srdeční chlopeň, vrozená srdeční vada), zatímco *B. quintana* je schopna vyvolat endokarditidu i v případě intaktního endokardu. Ojediněle kazuistiky však dokládají, že tomu může být i obráceně [84–87]. Je možné, že jakákoliv alterace srdce (např. srdeční vada, umělá chlopeň) může být spojena s rizikem bartonelové infekce, a to nejen těch způsobených *B. henselae* a *B. quintana*. **Endokarditidy (IE) způsobené jinými druhy bartonel** byly prokázány zatím vždy pouze u jednoho pacienta, s výjimkou *B. alsatica* se dvěma zdokumentovanými případy. Jde o kultivačně negativní endokarditidy způsobené *B. elizabethae* [88], *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* [51], *B. vinsonii* subsp. *arupensis* [49], *B. koehlerae* [39] a *B. alsatica* [8]. Původcem jediné dosud popsané bartonelové myokarditidy byla *B. washoensis* [89].

### Diagnostika bartonelových infekcí

**Mikroskopie** se osvědčila při průkazu bartonel ve tkáních pacientů. Nejčastěji jde o mikroskopii vegetací z endokardu postiženého IE nebo může jít o mizní uzlinu v případě nemoci z kočičího škrábnutí (felinózy) nebo patologicky změněnou tkáň v případě angiomatických změn v případě bacilární angiomatózy. Nejvhodnějším barvením je **barvení stříbrem – metoda podle Warthin-Starry** [90]. Někdy lze bartonely v těchto lézích prokázat i **barvením podle Grama**. Zdokumentovaný je i případ, kdy bylo účinné **barvení podle Gimenez**, jež se s úspěchem používá na barvení *Coxiella burnetii* [91] nebo jiných rickettsií [92] a pomalu rostoucích bakterií. Toto barvení lze použít na barvení bakterií ve tkáních, kde se gramnegativní i grampozitivní bakteriální buňky barví červeně a pozadí preparátu zeleně. **Elektronovou mikroskopii** lze využít jen na specializovaných pracovištích při průkazu bartonel ve tkáních, i když interpretace výsledku vzhledem k nespecifitě vyšetření bude vždy problematická, a sloužit může jen jako doplňující vyšetření [93], nebo jako metoda při analýze bartonelových struktur, které se mohou podílet v patogenezi onemocnění [54]. **Imunohistochemické vyšetření** na průkaz bartonel v klinickém materiálu se rutinně neprovádí a tuto diagnostiku lze provést pouze na specializovaných pracovištích pomocí vlastních diagnostik [94–97,97a].

**Kultivace** bartonel je reálná, pokud jde o analýzu klinického materiálu (krev, tkáň) hostitelských zvířat [98] nebo imunodeficientních pacientů [99]. Kultivace od imunokompetentních pacientů, jako je tomu např. v případě felinózy, je téměř nemožná kvůli nízké senzitivitě, a proto v praxi neosvědčila. Bartonely patří k mikroaerofilním bakteriím, které mají dlouhou generační dobu (okolo tří hodin), na čerstvě připravených kvalitních krevních nebo čokoládových agarrech vyrůstají nejdříve za 10–14 dnů. Nejlépe se osvědčila metoda, která kombinuje lýzu erytrocytů s centrifugací uvolněných bartonel [78]. Jako nejvhodnější krev do agarů se doporučuje králičí krev. Kultivace může být až do 30 dnů

nebo i delší. Ke kultivaci bartonel byly navrženy i definované tekuté půdy [6,101–103]. Ty se však používají na diagnostiku pouze na specializovaných pracovištích.

### Fenotypová druhová identifikace bartonel

Biochemická identifikace bartonelových izolátů do druhů pomocí zkumavkových testů nebo diagnostických souprav není možná z důvodu jejich pomalého růstu, nepropracovanosti této metody a neexistence vhodných diagnostických souprav. Identifikace kmenů 17 bartonelových druhů pomocí hmotnostní spektrometrie (MALDI-TOF) je v současnosti příslibem pro jejich levnou a reprodukovatelnou identifikaci jako dosud jediné fenotypové metody [104].

### Genotypová druhová identifikace bartonel

Nejčastěji využívaným strukturálním genem pro průkaz v klinickém materiálu a druhovou identifikaci je u bartonel citrát-syntetázový gen *gltA* [105,106]. Po amplifikaci se nejčastěji provádí restrikční analýza ampliconu s porovnáním profilu s profily jednotlivých bartonelových druhů. Další využívané možnosti jsou například amplifikace nebo sekvenace strukturálních genů pro chaperon – *groEL* [107] a stresový protein (HtrA) – *htrA* [108] nebo genu pro syntézu riboflavinu – *ribC* [109]. K amplifikaci se v současnosti využívá řada nových metod, často ve formátu real-time PCR, které prokazují již uvedené specifické geny nebo nově navržené úseky [110] specifické pro bartonely, jak popisuje např. práce Diaze a kol. [111]. Tento autor navrhuje pro identifikaci ribozomální gen *ssrA*, který se vyskytuje u prokaryot jako druhově specifický a je zodpovědný za konformační změny ribozomu v průběhu translace.

### Typizace bartonel

Typizace bartonel se provádí kvůli potvrzení přenosu infekce z rezervoáru, například domácího zvířete na pacienta. K tomuto účelu se hodí zejména makrorestrikční analýza DNA pomocí pulzní elektroforézy, restrikční analýza 16S rozlišující dva typy (I, II) kmenů *B. henselae* a multilokusová sekvenční analýza (MLST), která zařazuje klinické kmeny bartonel do sekvenčních typů (ST) na základě sekvence 7 metabolických genů [112,113].

### Sérologické vyšetření

Sérologické vyšetření je kvůli potížím při přímém průkazu bartonel kultivací a někdy obtížnou dostupností amplifikační diagnostiky jednou z nosných metod diagnostiky bartonelových infekcí. Jednoznačně největší význam má při diagnostice bartonelových IE, které tvoří část endokarditid, u nichž se původce nepodaří prokázat pomocí tradiční bakteriologické kultivace. Tito pacienti mají obvykle vysoké titry specifických bartonelových IgG protilátek. Nejrozšířenější metodou pro průkaz IgM a IgG protilátek je nepřímá imunofluorescenční metoda IFA [114] s celobuněčným antigenem *B. henselae* a *B. quintana*, která však nerozlišuje infekce jednotlivými původci a někdy může reagovat i s antigeny jiných gramnegativních bakterií, např. *Coxiella* [115]. Stanovení specifických IgM a IgG pomocí vlastních ELISA souprav však neposkytuje proti IFA výhody [116]. Zkušenosti se sérologickou diagnostikou infekcí jiných, než těch způsobených *B. henselae* a *B. quintana*, jsou

pouze omezené. Na specializovaných pracovištích lze provádět vyšetření pomocí Western-blotu s použitím vlastních antigenů, které prokazují protilátky specifické proti jednotlivým bartonelovým antigenům [86].

### Citlivost bartonel k antibiotikům a léčba infekcí

Stanovení citlivosti k antibiotikům u bartonel nelze kvůli dlouhé kultivaci a náročným podmínkám testovat standardizovaným postupem, proto se výsledky mohou lišit [117,118]. Třicet jedna kmenů bartonel, z nichž 21 bylo *B. henselae*, jež byly testovány na čokoládovém agaru v 5% CO<sub>2</sub> atmosféře po dobu 5 dnů, byly citlivé k těmto antibiotikům: telitromycin, makrolidy, doxycyklin a rifampicin. V této studii se gentamicin uvádí jako nejméně účinný, mohlo to být však způsobené vyšetřovanými kmeny, protože v jiných studiích se uvádí jako jediné baktericidní antibiotikum [119]. Gentamicin je i tak účinný pouze na extracelulární bartonelové buňky, a proto se jej doporučuje používat v kombinaci s jiným antibiotikem [37]. Ke stanovení citlivosti k antibiotikům a minimální inhibiční koncentrace (MIC mg/l) lze použít E-test (AB Biodisk, Sweden) [118,120,121]. Chinolony jsou vhodné hlavně z důvodu možnosti dosáhnout dostatečné koncentrace uvnitř hostitelských buněk. Při testování citlivosti *in-vitro* se však zjistila heterogenní citlivost bartonel s lepší citlivostí k ciprofloxacinu než ofloxacinu, kvůli přirozené mutaci bartonel v genu *gyrA* [122]. Někteří autoři nedoporučují fluorochinolony na léčbu bartonelových infekcí, protože druhá mutace, která se s vysokou pravděpodobností vyskytne, způsobí jejich rezistenci. Analýza kmenů *B. henselae* z koček a člověka prokázala jejich citlivost k minocyklinu a makrolidům [121]. Jeden z pacientů (31 let) po přenosu horečnaté infekce *B. henselae* způsobené klíštětem nereagoval na léčbu amoxicilinem, doxycyklinem a ceftriaxonem [81]. Pacient po dvou týdnech asymptomatické periody, kdy byl bakteriemiický, byl vyléčen až dvouměsíčním podáváním ceftriaxonu a gentamicinu a poté užíváním ciprofloxacinu po dobu 4 týdnů. Druhý pacient (30 let) trpěl relapsy horečky i po přeléčení tetracyklinem, následně chloramfenikolem a potom doxycyklinem.

V naprosté většině případů, kdy je potřeba léčit bartonelové infekce, se z důvodu nestandardnosti stanovení citlivosti k antibiotikům a časté nemožnosti kultivovat bartonelové kmeny nasazují antibiotika empiricky. Snad s výjimkou nemoci z kočičího škrábnutí (felinózy) a imunokompetentního pacienta, kdy jde o tzv. **self-limited disease**, tzn. nemoc končící bez léčby většinou do 2–4 měsíců [80], je nutné ostatní bartonelové infekce léčit antibiotiky, obvykle současně se symptomatickou léčbou pacienta. Délka antibiotické léčby je kvůli dlouhé generační době bakterií delší, než ji známe u běžných bakteriálních infekcí. U nekomplikovaných infekcí a imunokompetentních pacientů se obecně doporučuje léčit nejméně 2–3 týdny [74]. Komplikované infekce, endokarditidy a/nebo pacienti s imunodeficitem se doporučuje léčit dlouhodobě [74]. Většinou jde o několikaměsíční terapii antibiotiky a délka léčby se řídí klinickou symptomatologií, stavem pacienta, případně titrem IgG protilátek, který při úspěšné terapii většinou rychle klesá. Koehler [123] a Slater [79] popsali selhání terapie isoxazolpeniciliny (dikloxacin, nafcilin). Rovněž uvádějí, že pacienti s horečkou, bakteriemií, bacilární angiomatózou a peliosis hepatis

s bartonelovou etiologií byli úspěšně léčeni betalaktamy, jako je penicilin G a aminopeniciliny, cefalosporiny, erytromycinem, tetracyklinem, ciprofloxacinem, rifampicinem a isoniazidem. Účinnost léčby je těžké posoudit zejména u imunokompetentních pacientů vzhledem k tomu, že schází informace o tom, jak probíhají bartonelové infekce s léčbou a bez léčby [119]. Nejkomplexnější práci o terapii bartonelových infekcí, která shrnuje výsledky většiny publikovaných studií, podává Rolain a kol. v roce 2004 [74].

*Studie byla podpořena MZ-ČR-RVO, FN v Motole 00064203.*

### Literatura

- Vayssier-Taussat M, le Ruhn D, Bonnet S, et al. Insights in *Bartonella* Host Specificity. Rickettsiology and Rickettsial Diseases-Fifth International Conference: Ann. N.Y. Acad. Sci. 2009;1166:127–132.
- Kyme P, Dillon B, Iredell J. Phase variation in *Bartonella henselae*. *Microbiology*. 2003;149:621–629.
- Chomel BB, Boulouis HJ, Breitschwerdt EB, et al. Ecological fitness and strategies of adaptation of *Bartonella* species to their hosts and vectors. *Vet Res*. 2009; 40:29.
- Jacomo V, Kelly PJ, Raoult D, et al. Natural history of *Bartonella* Infections (an exception to Koch's postulate). *Clin Diagn Lab Immunol*. 2002;9:8–18.
- Oskouziadeh K, Zahraei-Salehi T, Aledavoud SJ. Detection of *Bartonella henselae* in domestic cats' saliva. *Iran J Microbiol*. 2010;2:80–84.
- Duncan AW, Maggi RG, Breitschwerdt EB. *Bartonella* in dog saliva. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:1948–1950.
- Comer JA, Paddock CD, Childs JE. Urban zoonoses caused by *Bartonella*, *Coxiella*, *Ehrlichia*, and *Rickettsia* species. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2001; 1:91–118.
- Raoult D, Roblot F, Rolain JM, et al. First isolation of *Bartonella alsatica* from a valve of a patient with endocarditis. *J Clin Microbiol*. 2006;44:278–279.
- Pitassi LH, Magalhães RF, Barjas-Castro ML, et al. *Bartonella henselae* infects human erythrocytes. *Ultrastruct Pathol*. 2007;31:369–372.
- Heller R, Kubina M, Mariet P, et al. *Bartonella alsatica* sp. nov., a new *Bartonella* species isolated from the blood of wild rabbits. *Int J Syst Bacteriol*. 1999;49: 283–288.
- Márquez FJ. Molecular Detection of *Bartonella alsatica* in European wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in Andalusia (Spain). *Vector-Borne Zoonot. Dis*. 2010; 10:731–734.
- Brenner DJ, O'Connor SP, Holis DG, et al. Molecular characterization and proposal of a neotype strain for *Bartonella bacilliformis*. *J Clin Microbiol*. 1991;29: 1299–1302.
- Bermond D, Heller R, Barrat F, et al. *Bartonella birtlesii* sp. nov., isolated from small mammals (*Apodemus* spp.). *Int J Syst Evol Micr*. 2000;50:1973–1979.
- Birtles RJ, Harrison TG, Saunders NA, et al. Proposals to unify the genera descriptions of *Bartonella talpae* comb. nov., and three new species, *Bartonella grahamii* sp. nov., *Bartonella taylorii* sp. nov., and *Bartonella doshiae* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol*. 1995;45:1–8.
- Kerkhoff FT, Bergmans AMC, Van der Zee A, et al. Demonstration of *Bartonella grahamii* DNA in ocular fluids of a patient with neuroretinitis. *J Clin Microbiol*. 1999;37:4034–4038.
- Bermond D, Boulouis HJ, Heller R, et al. *Bartonella bovis* Bermond et al. sp. nov. and *Bartonella capreoli* sp. nov., isolated from European ruminants. *Int J Syst Evol Micr*. 2002;52:383–390.
- Maillard R, Riegel P, Barrat F, et al. *Bartonella chomelii* sp. nov., isolated from French domestic cattle (*Bos taurus*). *Int J Syst Evol Micr*. 2004;54:215–220.
- Maillard R, Petit E, Chomel B, et al. Endocarditis in cattle caused by *Bartonella bovis*. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:1383–1385.
- Márquez FJ, Millán J, Rodríguez-Liebana JJ, et al. Detection and identification of *Bartonella* sp. in fleas from carnivorous mammals in Andalusia, Spain. *Med Vet Entomol*. 2009;23:393–398.
- Kordick DL, Hilyard EJ, Hadfield TL, et al. *Bartonella clarridgeiae*, a newly recognized zoonotic pathogen causing inoculation papules, fever, and lymphadenopathy. *J Clin Microbiol*. 1997;35:1813–1818.
- Mokhtar AS, Tay ST. Molecular detection of *Rickettsia felis*, *Bartonella henselae*, and *B. clarridgeiae* in fleas from domestic dogs and cats in Malaysia. *Am J Trop Med Hyg*. 2011;85:931–933.
- Chomel BB, Mac Donald KA, Kasten RW, et al. Aortic valve endocarditis in a dog due to *Bartonella clarridgeiae*. *J Clin Microbiol*. 2001;39:3548–3554.
- Gundi VAKB, Taylor C, Raoult D, et al. *Bartonella rattaaustraliani* sp. nov., *Bartonella queenslandensis* sp. nov. and *Bartonella coopersplainsensis* sp. nov., identified in Australian rats. *Int J Syst Evol Micr*. 2009;59:2956–2961.

24. Daly JS, Worthington MG, Brenner DJ, et al. *Rochalimaea elizabethae* sp. nov. Isolated from a patient with endocarditis. *J Clin Microbiol.* 1993;31:872–881.
25. Tsai YL, Chuang ST, Chang CC, et al. Bartonella Species in Small Mammals and Their Ectoparasites in Taiwan. *Am J Trop Med Hyg.* 2010; 83:917–923.
26. Bitam I, Rolain JM, Nicolas V, et al. A multi-gene analysis of diversity of *Bartonella* detected in fleas from Algeria. *Comp Immunol Microb.* 2012; 35:71–76.
27. Brenner DJ, O'Connor SP, Winkler HH, et al. Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *B. quintana* comb. nov., *B. vinsonii* comb. nov., *B. henselae* comb. nov. and *B. elizabethae* comb. nov. and to remove the family Bartonellaceae from the Order Rickettsiales. *Int J Syst Bacteriol.* 1993;43:777–786.
28. Welch DF, Hensel DM, Pickett DA, et al. Bacteremia due to *Rochalimaea henselae* in a child: practical identification of isolates in the clinical laboratory. *J Clin Microbiol.* 1993;31:2381–2386.
29. Zenone T. Systemic *Bartonella henselae* infection in immunocompetent adult presenting as fever of unknown origin. *Case Reports in Medicine.* 2011; Article ID 183937, doi:10.1155/2011/183937.
30. Engbaek K, Lawson PA. Identification of *Bartonella* species in rodents, shrews and cats in Denmark: detection of two *B. henselae* variants, one in cats and the other in the long-tailed field mouse 2004. *APMIS* 2004,112:336–341.
31. Ayllón T, Diniz PP, Breitschwerdt EB, et al. Vector-borne diseases in client-owned and stray cats from Madrid, Spain. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012; 12:143–150.
32. Chomel BB, Boulouis HJ, Muruyama S, et al. *Bartonella* spp. in pets and effect on human health. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:389–394.
33. Tijsee-Klassen E, Fonville M, Gassner F, et al. Absence of zoonotic *Bartonella* species in questing ticks: First detection of *Bartonella clarridgeae* and *Rickettsia felis* in cat fleas in the Netherlands. *Parasite Vector.* 2011;4:61.
34. Kosoy M, Bai Y, Sheff K, et al. Identification of *Bartonella* infections in febrile human patients from Thailand and their potential animal reservoirs. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;82:1140–1145.
35. Inoue K, Kabeya H, Shiratori H, et al. *Bartonella japonica* sp. nov. and *Bartonella silvatica* sp. nov., isolated from *Apodemus* mice. *Int J Syst Evol Micr.* 2010;60: 759–763.
36. Droz S, Chi B, Horn E, et al. *Bartonella koehlerae* sp. nov., isolated from cats. *J Clin Microbiol.* 1999;37:1117–1122.
37. Rolain JM, Maurin M, Mallet MN, et al. Culture and antibiotic susceptibility of *Bartonella quintana* in human erythrocytes. *Antimicrob Agents Ch.* 2003;47: 614–619.
38. Breitschwerdt EB, Maggi RG, Mozayeni BR, et al. PCR amplification of *Bartonella koehlerae* from human blood and enrichment blood cultures. *Parasite Vector.* 2010;3:76–85.
39. Avidor B, Graidly M, Efrat G, et al. *Bartonella koehlerae*, a new cat-associated agent of culture-negative human endocarditis. *J Clin Microbiol.* 2004;42: 3462–3468.
40. Ohad DG, Morick D, Avidoret B, et al. Molecular detection of *Bartonella henselae* and *Bartonella koehlerae* from aortic valves of Boxer dogs with infective endocarditis. *Vet Microbiol.* 2010;141(1–2):182–185.
41. Jackson LA, Spach DH. Emergence of *Bartonella quintana* infection among homeless persons. *Emerg Infect Dis.* 1996;2:141–144.
- 41a. Bonilla DL, Kabela H, Henn J, et al. *Bartonella quintana* in body lice and head lice from homeless persons, San Francisco, California, USA. *Emerg Infect Dis.* 2009;15:912–915.
42. Melter O, Arvand M, Votýpka J, et al. *Bartonella quintana* transmission from mite to family with high socioeconomic status. *Emerg Infect Dis.* 2012;18:163–165.
43. Eremeeva ME, Gerns HL, Lydy SL, et al. Bacteremia, fever, and splenomegaly caused by a newly recognized *Bartonella* species. *New Engl J Med.* 2007;356: 2381–2387.
44. Billeter SA, Cáceres AG, Gonzales-Hildago J, et al. Molecular detection of *Bartonella* species in ticks from Peru. *J Med Entomol.* 2011;48:1257–12560.
45. Dehio C, Lanz C, Pohl R, et al. *Bartonella schoenbuchii* sp. nov., isolated from the blood of wild roe deer. *Int J Syst Evol Micr.* 2001;51:1557–1565.
46. Heller R, Riegel P, Hansmann Y, et al. *Bartonella tribocorum* sp. nov., a new *Bartonella* species isolated from the blood of wild rats. *Int J Syst Bacteriol.* 1998; 48:1333–1339.
47. Inoue K, Maruyama S, Kabeya H, et al. prevalence and genetic diversity of *Bartonella* species isolated from wild rodents in Japan. *Appl Environ Microb.* 2008;74:5086–5092.
48. Bai Y, Calisher CH, Kosoy MY, et al. Persistent infection or successive reinfection of deer mice with *Bartonella vinsonii* subsp. *arupensis*. *Appl Environ Microb.* 2011;77:1728–1731.
49. Fenollar F, Sire S, Raoult D. *Bartonella vinsonii* subsp. *arupensis* as an agent of blood culture-negative endocarditis in a human. *J Clin Microbiol.* 2005;43: 945–947.
50. Kordick DL, Breitschwerdt EB. Persistent infection of pets within a household with three *Bartonella* species. *Emerg Infect Dis.* 1998;4:325–328.
51. Roux V, Eykyn SJ, Wyllie S, et al. *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* as an agent of afebrile blood culture-negative endocarditis in a human. *J Clin Microbiol.* 2000;38:1698–1700.
52. Olarte L, Ampofo K, Thorell EA, et al. *Bartonella vinsonii* endocarditis in an adolescent with congenital heart disease. *Pediatr Infect Dis. J* 2012;31:531–534.
53. Harms A, Dehio C. Intruders below the Radar: Molecular Pathogenesis of *Bartonella* spp. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25:42–78.
54. Müller NF, Kaiser PO, Linke D, et al. Trimeric autotransporter adhesin-dependent adherence of *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*, and *Yersinia enterocolitica* to matrix components and endothelial cells under static and dynamic flow conditions. *Infect Immun.* 2011;79:2544–2553.
55. Greub G, Raoult D. Bartonella: new explanations for old diseases. *J Med Microbiol.* 2002;51:915–923.
56. Kordick DL, Breitschwerdt EB. Intraerythrocytic presence of *Bartonella henselae*. *J Clin Microbiol.* 1995;33:1655–1656.
57. Schüle R, Seubert, Gille C, et al. Invasion and persistent intracellular colonization of erythrocytes: a unique parasitic strategy of the emerging pathogen *Bartonella*. *J Exp Med.* 2001;193:1077–1086.
58. Truttmann MC, Rhomberg TA, Dehio C. Combined action of the type IV secretion effector proteins BepC and BepF promotes invasome formation of *Bartonella henselae* on endothelial and epithelial cells. *Cell Microbiol.* 2011; 13:284–299.
59. Rolain JM, La Scola B, Liang Z, et al. Immunofluorescent detection of intraerythrocytic *Bartonella henselae* in naturally infected cats. *J Clin Microbiol.* 2001;39:2978–2980.
60. Anderson SG, Dehio C. *Rickettsia prowazekii* and *Bartonella henselae*: differences in the intracellular life styles revisited. *Int J Med Microbiol.* 2000; 290:135–141.
61. Scheidegger F, Ellner Y, Gueye P, et al. Distinct activities of *Bartonella henselae* type IV secretion effector proteins modulate capillary-like sprout formation. *Cell Microbiol.* 2009;11:1088–1101.
62. Couper KN, Blount DG, Rilez EM. IL-10: The Master Regulator of Immunity to Infection. *J Immunol.* 2008;180:5771–5777.
63. Berghoff J, Vievens J, Guptill L, et al. *Bartonella henselae* exists as a mosaic of different genetic variants in the infected host. *Microbiology.* 2007;153: 2045–2051.
64. Lindroos H, Vinnere O, Miraet A, et al. Genome Rearrangements, Deletions, and amplifications in the natural population of *Bartonella henselae*. *J Bacteriol.* 2006;188:7426–7439.
65. Nystedt B, Frank C, Tholleson M, et al. Diversifying selection and concerted evolution of a type iv secretion system in *Bartonella*. *Mol Biol Evol.* 2008; 25:287–300.
66. Dehio C. Infection-associated type IV secretion systems of *Bartonella* and their diverse roles in host cell interaction. *Cell Microbiol.* 2008;10:1591–1598.
67. Jonson AB, Normark S, Rhen M. Fimbriae, pili, flagella and bacterial virulence. *Contrib Microbiol.* 2005;12:67–89.
68. Zähringer U, Lindner B, Kniret Y, et al. Structure and biological activity of the short-chain lipopolysaccharide from *Bartonella henselae* ATCC 49882T. *J Biol Chem.* 2004;279:21046–21054.
69. Sander A, Kretzer S, Bredt W, et al. Hemin-dependent growth and hemin binding of *Bartonella henselae*. *FEMS Microbiol Lett.* 2000;189:55–59.
70. Pulliainen AT, Dehio C. Persistence of *Bartonella* spp. stealth pathogens: from subclinical infections to vasoproliferative tumor formation. *FEMS Microbiol Rev.* 2012;36:563–599.
71. Eicher SC, Dehio C. *Bartonella* entry mechanisms into mammalian host cells. *Cell Microbiol.* 2012; doi:10.1111/j.1462-5822.2012.01806.x.
72. Anderson BE, Neuman MA. *Bartonella* spp. as emerging human pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10:203–219.
73. Melter O. Infekce způsobené *B. henselae*. *Praktický lékař.* 1998;3:116–119.
74. Rolain JM, Brouqui P, Koehler JE, et al. Recommendations for treatment of human infections caused by *Bartonella* species. *Antimicrob Agents Ch.* 2004; 48:1921–1933.
75. Bogue CW, Wise JD, Gray GF, et al. Antibiotic for cat-scratch disease? *JAMA-J Am Med Assoc.* 1989;262:813–816.
76. Margileth AM. Antibiotic therapy for cat-scratch disease: clinical study of the therapeutic outcome in 268 patients and a review of the literature. *Pediatr Infect Dis J.* 1992;11:474–478.
77. Fournier PE, Raoult D. Cat-scratch disease and an overview of other *B. henselae*-related infections in Schmidt A. *Bartonella* and *Afiopia* species emphasizing *Bartonella henselae*. *Contrib Microbiol* 1998 Basel Karger;1:33–62.
78. Welch DF, Pickett DA, Slater LN, et al. *Rochalimaea henselae* sp. nov., a cause of septicemia, bacillary angiomatosis, and parenchymal bacillary peliosis. *J Clin Microbiol.* 1992;30:275–280.
79. Slater LN, Welch DF, Hensel D, et al. A newly recognized fastidious gram-negative pathogen as a cause of fever and bacteremia. *N Engl J Med.* 1990; 323:1587–1593.
80. Dangman BC, Albanese BA, Kacica MA, et al. Cat Scratch Disease in two children presenting with fever of unknown origin: imaging features and association with a new causative agent, *Rochalimaea henselae*. *Pediatrics.* 1994;95(5): 767–771.
81. Lucey D, Dolan MJ, Moss CW, et al. Relapsing illness due to *Rochalimaea henselae* in immunocompetent hosts: implication for therapy and new epidemiological associations. *Clin Infect Dis.* 1992;14:683–688.
82. Relman DA, Loutit JS, Schmidt TM, et al. The agent of bacillary angiomatosis. An approach to the identification of uncultured pathogens. *N Engl J Med.* 1990;323:1573–1580.

83. Perkocha LA, Geagham SD, Benedict Yen TS, et al. Clinical and pathological features of bacillary peliosis hepatic with association with human immunodeficiency virus infection. *New Engl J Med*. 1990;323:1581–1586.
84. Drancourt M, Birtles R, Chaumentin G, et al. New serotype of *Bartonella henselae* in endocarditis and cat-scratch disease. *Lancet*. 1996;347:441–443.
85. Houpiakian P, Raoult D. Western immunoblotting for *Bartonella* endocarditis. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2003;10:95–102.
86. Gouriet F, Lepidi H, Habib G, et al. From cat scratch disease to endocarditis, the possible natural history of *Bartonella henselae* infection. *BMC Infect Dis*. 2007;7:30 doi:10.1186/1471-2334-7-30.
87. Hajj-Chanine J, Houmaida H, Plouzeau C, et al. Bartonella as a cause of mechanical prosthetic aortic root endocarditis. *Ann Thorac Surg*. 2012;93:e93–95.
88. Daly JS, Worthington MG, Brenner DJ, et al. *Rochalimaea elizabethae* sp. nov. Isolated from a patient with endocarditis. *J Clin Microbiol*. 1993;31:872–881.
89. Kosoy M, Murray M, Gilmore RD et al. Bartonella strains from ground squirrels are identical to *Bartonella washoensis* isolated from a human patient. *J Clin Microbiol*. 2003;41:645–650.
90. Chan JK, Lewin KJ, Lombard CM, et al. Histopathology of bacillary angiomatosis of lymph node. *Am J Surg Pathol*. 1991;15:430–437.
91. Spyridaki I, Gikas A, Kofteridis D, et al. Q Fever in the Greek island of Crete: Detection, isolation, and molecular identification of eight strains of *Coxiella burnetii* from clinical samples. *J Clin Microbiol*. 1998;36:2063–2067.
92. Boldiš V, Kocišová E, Štrus J, et al. Rickettsial agents in slovakian ticks (Acarina, Ixodidae) and their ability to grow in Vero and L929 cell lines. *Animal Biodiversity And Emerging Diseases*. 2008;1149:281–285.
93. Dreier J, Vollmer T, Freytag CC, et al. Culture-negative infectious endocarditis caused by *Bartonella* spp.: 2 case reports and a review of the literature. *Diagn Microb Infect Dis*. 2008;61:476–483.
94. Lydy SL, Eremeeva ME, Asnis D, et al. Isolation and characterization of *Bartonella bacilliformis* from an expatriate Ecuadorian. *J Clin Microbiol*. 2008;46:627–637.
95. Daybell D, Paddock CD, Yaki SR, et al. Disseminated infection with *Bartonella henselae* as a cause of spontaneous splenic rupture. *Clin Infect Dis*. 2004;39:e21–24.
96. Min KW, Reed JA, Welch DF, Slater LN. Morphologically variable bacilli of cat scratch disease are identified by immunocytochemical labeling with antibodies to *Rochalimaea henselae*. *Am J Clin Pathol*. 1994;101:607–610.
97. Reed JA, Brigati DJ, Flynn SD, et al. Immunocytochemical identification of *Rochalimaea henselae* in bacillary angiomatosis, parenchymal bacillary peliosis, and persistent fever with bacteremia. *Am J Surg Pathol*. 1992;16:650–657.
- 97a. Hercík K, Melter O, Janeček J et al. In situ detection of *Bartonella henselae* cells. *Mol Cell Probes*. 2002;16:49–56.
98. Melter O, Hercík K, Weyant RS. Detection and characterization of feline *Bartonella henselae* in the Czech Republic. *Vet Microbiol*. 2003;93:261–273.
99. Koehler JE, Quinn FD, Berger TG, et al. Isolation of *Rochalimaea* species from cutaneous and osseous lesions of bacillary angiomatosis. *New Engl J Med*. 1992;327:1625–1631.
100. Regnery RL, Anderson BE, Clarridge JE, et al. Characterization of a novel *Rochalimaea* species, *R. henselae* sp. nov., isolated from blood of a febrile, human immunodeficiency virus-positive patient. *J Clin Microbiol*. 1992;30:265–274.
101. Chenoweth MR, Somerville GA, Krause DC, et al. Growth characteristics of *Bartonella henselae* in a novel liquid medium: primary isolation, growth-phase-dependent phage induction, and metabolic studies. *Appl Environ Microb*. 2004;70:656–663.
102. Maggi RG, Duncan AW, Breitschwerdt EB. Novel chemically modified liquid medium that will support the growth of seven *Bartonella* species. *J Clin Microbiol*. 2005;43:2651–2655.
103. Wong MT, Thornton DC, Kennedy RC, et al. A Chemically defined liquid medium that supports primary isolation of *Rochalimaea henselae* from a Chemically defined liquid medium that supports primary isolation of *Rochalimaea henselae* from blood and tissue specimen blood and tissue specimen. *J Clin Microbiol*. 1995;33:742–744.
104. Fournier PE, Courdec C, Buffet S, et al. Rapid and cost-effective identification of *Bartonella* species using mass spectrometry. *J Med Microbiol*. 2009;58:1154–1159.
105. Regnery RL, Spruill CL, Plikaytis BD. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. *J Bacteriol*. 1991;173:1576–1589.
106. Joblet C, Roux V, Drancourt M, et al. Identification of *Bartonella* (*Rochalimaea*) species among fastidious gram-negative bacteria on the basis of the partial sequence of the citrate-synthase gene. *J Clin Microbiol*. 1995;33:1879–1883.
107. Zeaiter Y, Fournier PE, Ogata H, et al. Phylogenetic classification of *Bartonella* species by comparing *groEL* sequences. *Int J Syst Evol Micro*. 2002;52:165–171.
108. Anderson B, Jones D, Burgess A. Cloning, expression and sequence analysis of the *Bartonella henselae* gene encoding the HtrA stress-response protein. *Gene*. 1996;178:35–38.
109. Bereswill S, Hinkelmann S, Kist M, et al. Molecular analysis of riboflavin synthesis genes in *Bartonella henselae* and use of the *ribC* gene for differentiation of *Bartonella* species by PCR. *J Clin Microbiol*. 1999;37:3159–3166.
110. Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, et al. Real-Time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19:165–256.
111. Diaz MH, Bai Y, Malajka L, et al. Development of a novel genus-specific Real-Time PCR assay for detection and differentiation of *Bartonella* species and genotypes. *J Clin Microbiol*. 2012;50:1645–1649.
112. Arvand M, Kloese AJ, Schwarz-Porsche D, et al. Genetic variability and prevalence of *Bartonella henselae* in cats in Berlin, Germany, and analysis of its genetic relatedness to a strain from Berlin that is pathogenic for humans. *J Clin Microbiol*. 2001;39:743–746.
113. Iredell J, Blanckenberg D, Arvand M, et al. characterization of the natural population of *Bartonella henselae* by multilocus sequence typing. *J Clin Microbiol*. 2003;41:5071–5079.
114. Sander A, Berner R, Ruess M. Serodiagnosis of cat scratch disease: response to *Bartonella henselae* in children and a review of diagnostic methods. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2001;20:392–401.
115. La Scola B, Raoult D. Serological cross-reactions between *Bartonella quintana*, *Bartonella henselae*, and *Coxiella burnetii*. *J Clin Microbiol*. 1996;34:2270–2274.
116. Vermeulen MJ, Herremans M, Verbakeet H, et al. Serological testing for *Bartonella henselae* infections in the Netherlands: clinical evaluation of immunofluorescence assay and ELISA. *Clin Microbiol Infect*. 2007;13:627–634.
117. CLSI, National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard M2–A8, 8<sup>th</sup> ed. NCCLS, Wayne, Pa, 2003.
118. Dorbercker C, Sander A, Oberle K, et al. In vitro susceptibility of *Bartonella* species to 17 antimicrobial compounds: comparison of Etest and agar dilution. *J Antimicrob Chemoth*. 2006;58:784–788.
119. Maurin M, Gasquet S, Ducocq C, et al. MICs of 28 antibiotic compounds for 14 *Bartonella* (formerly *Rochalimaea*) isolates. *Antimicrob Agents Ch*. 1995;39:2387–2391.
120. Pendle S, Ginn A, Iredell J. Antimicrobial susceptibility of *Bartonella henselae* using Etest methodology. *J Antimicrob Chemoth*. 2006;57:761–763.
121. Tsuneoka H, Yanagihara M, Nojimaet J, et al. Antimicrobial susceptibility by Etest of *Bartonella henselae* isolated from cats and human in Japan. *J Infect Chemother*. 2010;16:446–448.
122. Angelakis E, Biswas S, Tailor C, et al. Heterogeneity of susceptibility to fluoroquinolones in *Bartonella* isolates from Australia reveals a natural mutation in *gyrA*. *J Antimicrob Chemother*. 2008;61:1252–1255.
123. Koehler JE, LeBoit PE, Egbert BM et al. Cutaneous vascular lesions and disseminated cat-scratch disease in patients with the AIDS and AIDS-related complex. *Ann Intern Med*. 1988;109:449–455.



# Anisakóza – málo známá parazitární zoonóza

J. BARDOŇ<sup>1,2</sup>, J. HARNA<sup>1</sup>, M. PIJÁČEK<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Státní veterinární ústav Olomouc, <sup>2</sup>Ústav mikrobiologie Lékařské fakulty UP v Olomouci

## SOUHRN

Bardoň J., Harna J., Pijáček M.: **Anisakóza – málo známá parazitární zoonóza**

Paraziti z čeledi *Anisakidae* jsou původci parazitárních alimentárních zoonóz vznikajících po konzumaci nedostatečně tepelně opra- covaných mořských ryb. Toto onemocnění člověka je hlášeno zejména z Japonska, případně dalších států, kde je konzumace syrových a tepelně neopracovaných ryb tradiční. Předkládané stručné sdělení popisuje nález larev parazita rodu *Pseudoterranova* z čeledi *Anisakidae* v čerstvě chlazené rybě mořský đas (*Lophius piscatorius*) zakoupené v tržní síti ČR.

**Klíčová slova:** zoonóza, parazitóza, mořský đas, *Pseudoterranova* spp.

## SUMMARY

Bardoň J., Harna J., Pijáček M.: **Anisakiasis – a little-known parasitic zoonosis**

Parasites of the family *Anisakidae* cause enteric parasitic zoonoses developing after consumption of inadequately cooked marine fish. Cases of such diseases are reported mainly from Japan or other countries where raw or uncooked fish are traditionally consumed. The presented short communication briefly reports detection of larvae of *Pseudoterranova* spp., parasites of the family *Anisakidae*, in a fresh chilled angler-fish (*Lophius piscatorius*) bought at a retail store in the Czech Republic.

**Keywords:** zoonosis, parasitosis, *Lophius piscatorius*, *Pseudoterranova* spp.

*Klin mikrobiol inf lék 2013;19(2):45–47*

**Adresa:** doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA, Státní veterinární ústav Olomouc, Jakoubka ze Stříbra 1, 779 00 Olomouc, e-mail: jbardon@svuol.cz

Došlo do redakce: 29. 1. 2013

Přijato k tisku: 6. 6. 2013

## Úvod

Infekční onemocnění přenosná ze zvířat na člověka (zoonózy) znamenají i ve 21. století závažný medicínský problém. Představy o tom, že pomocí chemoterapeutik, vakcinačních a eradikačních programů se jich lidstvo zbaví, nebo je výrazně potlačí, se nenaplnily. Naopak nově se objevující zoonózy, společně s nárůstem rezistence bakterií či parazitů k antibiotikům a antiparazitikům v globalizovaném prostředí, jsou významnou hrozbou pro zdraví lidí i zvířat. V současné době je evidováno cca 300 původců parazitárních zoonóz, z toho představují větší část helminti [1].

Závažná parazitární onemocnění přenosná z ryb na člověka mají spíše původ v subtropických a tropických oblastech, kde představuje nemalý medicínský problém. Výskyt některých exotických parazitů však přichází v úvahu i v České republice vzhledem k dovozu mořských ryb, případně tzv. darů moře, jejichž obliba stále vzrůstá. Riziková je zejména konzumace těchto produktů bez předcházející tepelné úpravy, ohrožení jsou pochopitelně také cestovatelé do exotických oblastí. K častým parazitózám sladkovodních i mořských ryb patří nematodózy. V rybách parazitují jak hlístice, tak larvální stadia těchto parazitů, jejichž vývojový cyklus

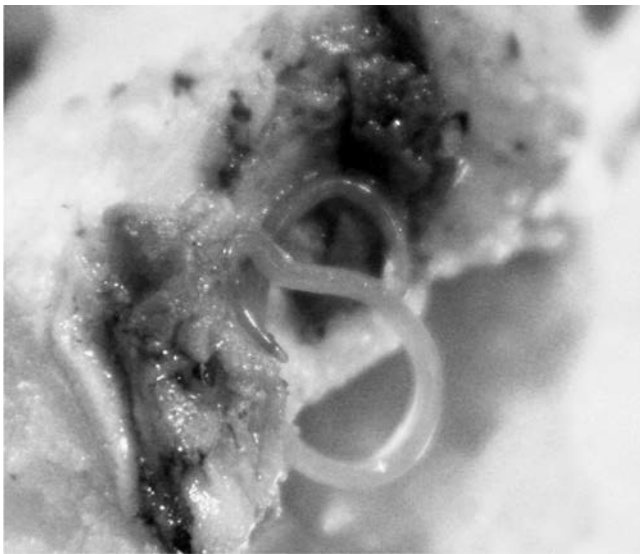
je značně složitý a probíhá za účasti mezipřenositelů. K významným původcům parazitárních zoonóz z třídy *Nematoda* patří příslušníci čeledi *Anisakidae*, zejména rody *Anisakis* a *Pseudoterranova*. Uvedené rody se vyskytují v mořských rybách a vyvolávají onemocnění člověka společně označované jako anisakóza (také anisakióza či anisakiáza) [2,3].

Toto onemocnění bylo poprvé popsáno v roce 1960. Každý rok je hlášeno po celém světě přibližně 50 000 případů z toho více než 90 % z Japonska, dále ze Španělska, Nizozemí, Německa, Francie, Itálie a USA, většinou v závislosti na stravovacích zvyklostech obyvatel při konzumaci ryb bez odpovídající tepelné úpravy. Larvy parazitů (česky označované rovněž jako tzv. „sledový červ“) vyvolávají u člověka infekce zažívacího traktu, případně dalších orgánů. Pacienti si stěžují na akutní bolesti břicha, nechutenství, projevuje se u nich nauzea a zvracení, případně ascites. Symptomy imitují kliniku žaludečního vředu, apendicitidu nebo peritonitidu. Anisakóza může vyvolat u postižených konzumentů alergické reakce od lehkých urtikárií a angioedému až po život ohrožující anafylaktický šok. Terapie tohoto parazitárního onemocnění spočívá zejména v endosko-

pickém odstranění živých larev. Efektivita farmakoterapie (albendazol, ivermectin) nebyla v praxi jednoznačně potvrzena. Prevence spočívá ve výběru konzumace dobře tepelně opracovaných ryb a pokrmů z darů moře, případně pozornému prohlédnutí konzumovaných soust, kde jsou případní červi viditelní pouhým okem. Rizikové jsou zejména národní speciality obsahující syrové, nedostatečně tepelně opracované nebo marinované ryby typu japonských *sushi*, *sahimi*, *ikasashi*, dánské solené či uzené herinky, havajské *lomi-lomi* nebo latinskoamerické *ceviche* [2,3].

Obr. 1

Larvy *Pseudoterranova* spp. v dutině tělní mořského ěasa  
(Foto dr. Pijáček)



Obr. 2

Larvy *Pseudoterranova* spp. po preparaci  
(Foto dr. Pijáček)



### Popis případu

V prosinci 2012 doručil do Národní referenční laboratoře pro parazity ve Státním veterinárním ústavu Olomouc (SVÚ Olomouc) spotřebitel cca 300 gramů ryby mořského ěasa (*Lophius piscatorius*) s žádostí o potvrzení výskytu a identifikaci parazitů ve vzorku. V anamnéze k vyšetření uvedl, že zakoupil v tržní síti chlazeného mořského ěasa, kterého následně doma upravil jako steak. Vzhledem k tomu, že preferuje kulinářskou úpravu rare/medium, rybu dokonale nepropekl. Při následné konzumaci ryby zaznamenal na řezu dvě živé, pohyblivé se larvy velikosti cca 3–4 cm. Vše zabalil a doručil následně k vyšetření do laboratoře na SVÚ Olomouc.

V laboratoři byl vzorek důkladně prohlédnut a na povázkách svaloviny dutiny tělní ryby byly lokalizovány dvě larvy. Po preparaci byly larvy prohlédnuty stereomikroskopem Nikon SMZ 1500 se zaměřením na vnější morfologické znaky. Vzhledem k velikosti larev 3,8 a 3,6 cm, ale zejména k jejich původu (mořský ěas), bylo vysloveno podezření na invazi larev z čeledi *Anisakidae*. Po provedené fotodokumentaci (viz obr. 1 a 2), byly larvy odeslány do Evropské referenční laboratoře pro parazity na Istituto Superiore di Sanita v Římě s žádostí o konfirmaci nálezů molekulárně genetickým testem. Evropská referenční laboratoř potvrdila metodou PCR-RFLP v doručeném materiálu zoonotického parazita *Pseudoterranova* spp. z čeledi *Anisakidae*.

Spotřebitel byl informován o výsledku šetření a vzhledem k zoonotickému potenciálu parazita byla mu doporučena konzultace dalšího postupu na spádovém infekčním oddělení. Domníváme se, že se jedná o první popis nálezů zoonotického parazita *Pseudoterranova* spp. u ryby v tržní síti v ČR.

### Diskuze a závěr

Vzhledem k tomu, že Česká republika je ve vnitrozemí a konzumace mořských ryb, zejména syrových, zde nemá tradici, jsou případy alimentárních parazitóz člověka původem z mořských živočichů velmi vzácné. Lze se domnívat, že i v případě klinických příznaků onemocnění člověka s negativní cestovatelskou anamnézou by na zoonózu, typu anisakózy, pomyslel asi málokdo. Kromě Japonska, kde se vzhledem ke stravovacím návykům tato zoonóza vyskytuje relativně často, popisují klinické případy např. francouzští autoři. Většina nemocných si stěžovala na akutní příznaky, které se objevily během 12 hodin po konzumaci mořských produktů. Jednalo se zejména o bolesti v epigastriu, případně difuzní bolesti břicha. Larvy byly přichyceny k žaludeční sliznici, makroskopicky byla při gastroskopii patrná závažná reakce (erytém, edém), případně ulcerace v okolí uchycení larvy. Diagnostika pomocí gastroskopie umožnila zároveň odstranění larev. U chronických infekcí udávali nemocní nespecifické potíže s bolestmi břicha, které trvaly od několika týdnů do několika měsíců. Tyto případy byly často chybně diagnostikovány jako jiná střevní onemocnění. Lze využít i sérologickou diagnostiku [4]. Ugenti a kol. popisují tři případy infekcí v Itálii. Jednalo se o ženy, které byly hospitalizovány pro intenzivní bolest v epigastriu a zvracení, které následovalo po požití syrové ryby. Pacientky podstoupily během několika hodin gastroskopii. Ve všech pří-

padech byl červ ze žaludeční sliznice odstraněn sondou pomocí biopsie. Následovalo klinické zlepšení všech pacientek. Parazit byl identifikován na základě makroskopických a mikroskopických vlastností jako *Anisakis* spp. Ve 2 případech laboratorní testy prokázaly leukocytózu a eozinofilii za cca 3–4 dny po požití syrových ryb [5].

Zajímavá kazuistika popisuje první zadokumentovaný případ anisakózy v Rakousku. Jednalo o 67letého pacienta mužského pohlaví s žaludečním vředem, který užíval inhibitory protonové pumpy. Při endoskopické kontrole žaludku byla náhodně nalezena larva parazita, který byl odstraněn a následně identifikován jako *Anisakis* spp. Sérologické vyšetření bylo negativní ani výsledky hematologie nenavštěňovaly pro tuto parazitózu. Pacient žádné klinické problémy neudával. Absenci kliniky i alterace laboratorních testů autoři přičítají skutečnosti, že parazit byl objeven a odstraněn v časně fázi infekce. Pacient neuváděl žádné cesty do zahraničí, udával však častou konzumaci zavináčů [6].

Většinu popisovaných případů onemocnění způsobil *Anisakis* spp. Námí popisovaný případ prokázal ve vyšetřované rybě příslušníka rodu *Pseudoterranova*, který se vyskytuje u ryb méně často a podle Steinhäuserové způsobuje pouze 3 % onemocnění [2]. Např. Skírnisson dokumentuje dva zajímavé případy infekce způsobené zástupcem rodu *Pseudoterranova*, a to po konzumaci nedostatečně propečeného filetu ze sumců [7].

Potencionální zdroj parazitózy byl v našem případě identifikován v čerstvém, chlazeném mořském řásovi (*Lophius piscatorius*) z čeledi řásovití (*Lophiidae*), který patří k nejdůležitějším z cca 25 druhů těchto ryb. V luxusních restauracích je znám hlavně pod francouzským jménem „lotte“ nebo „baudroile“. Má jemné a pevné maso, které se hodí zejména ke smažení a dušení. Patří k vybraným delikatesám a konzumenti oceňují i fakt, že kromě páteře nemá prakticky žádné kosti [8].

V našem případě se zřejmě jedná o první potvrzený nález zoonotického parazita z rodu *Pseudoterranova* v mase mořské ryby přímo z tržní sítě v ČR. Tato kauza dokládá význam řádné tepelné úpravy ryb před jejich konzumací spotřebitelem. Maso by mělo být ošetřeno teplotou nejméně 70 °C, nebo zamražením na –20 °C po dobu alespoň 72 hodin [4]. Popsaný případ podtrhuje zásadní význam důkladné anamnézy při řešení gastrointestinálních potíží pacientů (stravovací návyky, cestovní anamnéza). Zároveň však přináší informaci i pro gastroenterology, kteří mohou být při gastrokopii konfrontováni se zcela nečekaným nálezem larv přichycených na žaludeční sliznici.

### Poděkování

Autoři článku děkují dr. Poziovi, dr. Rosovi a jejich spolupracovníkům z Evropské referenční laboratoře pro parazity v Římě za laskavou confirmaci identifikace zaslané larvy parazita.

### Literatura

1. Taylor LH, Latham SM, Woolhouse MEJ. Risk factors for human disease emergence. *Phil Trans R Soc Lond B*. 2001;356: 983–989.
2. Steinhäuserová I. Anisakiasis. In: Pipová M. a kol. Hygiena a technológia spracovania sladkovodných a morských rýb. 1 vyd. Košice: Univerzita veterinárneho lekárstva v Košiciach; 2006. s. 369.
3. Sohn WM, Chai JY. Anisakiasis. In: Palmer SR a kol. Oxford Textbook of Zoonoses. 2. vyd. Oxford: Oxford University Press; 2011. s. 774–786.
4. Bouree P, Paugam A, Petithory JC. Anisakidosis: report of 25 cases and review of the literature. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 1995;18:75–84.
5. Ugenti I, Lattarulo S, Ferrarese F, De Ceglie A, Manta R, Brandonisio O. Acute gastric anisakiasis: an Italian experience. *Minerva Chir*. 2007;62:51–60.
6. Kapral C, Haditsch M, Wewalka F, Schatzlmayr W, Lenz K, Auer H. The first case of anisakiasis acquired in Austria. *Z Gastroenterol*. 2009;47:1059–1061.
7. Skírnisson K. *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Anisakidae) larvae reported from humans in Iceland after consumption of insufficiently cooked fish. *Laeknabladid*. 2006;92:21–25.
8. Seeliger D, Haumaier M, Türkay M a kol. Ryby a mořské plody. 1. vyd. Mnichov: Teubner; 2005. s. 37.

# Toxoplazmóza v graviditě – otazníky z klinické praxe

M. GELENEKY

*Klinika infekčních, tropických a parazitárních nemocí, 3. LF UK a NNB Praha*

## SOUHRN

Geleneky M.: **Toxoplazmóza v graviditě – otazníky z klinické praxe**

Toxoplazmóza získaná v graviditě je závažným onemocněním, které může významně ovlivnit vývoj plodu a způsobit nevratné či terapeuticky málo ovlivnitelné poškození novorozence. Včasná a správná diagnostika nákazy u matky je podstatná pro určení prognózy onemocnění a následného diagnosticko-terapeutického postupu. Uvedená kazuistika v sobě slučuje několik faktorů, se kterými se v klinické praxi můžeme setkat a které nám mohou naše diagnostické rozvahy komplikovat. Jedním z nich je existence zřídka se vyskytujícího jevu reinfekce – jeho možný vliv na prenatální screening v těhotenství i jiné interpretace takového nálezu. Dalším problémem je pak vyhodnocení původu sonograficky verifikované fetopatie ve vztahu k toxoplazmové etiologii a volba dalšího postupu, který by měl v takové situaci následovat. Nakonec se text dotýká i výběru poporodních vyšetření, která by měla být volena tak, aby dostatečně přispěla k rozhodování o zahájení postnatální terapie novorozence.

*Klíčová slova: toxoplazmóza v graviditě, kongenitální toxoplazmóza, reinfekce, fetopatie, vyšetření novorozence*

## SUMMARY

Geleneky M.: **Toxoplasmosis in pregnancy – questions in clinical practice**

Toxoplasmosis acquired during pregnancy is a serious disease that may significantly affect fetal development and cause irreversible or therapeutically hardly influenced damage to the newborn. Early and correct diagnosis of the disease in the mother is essential for determining prognosis and further diagnostic and therapeutic procedures. The case study combines a number of factors to be encountered in clinical practice which may complicate diagnostic considerations. One of them is the existence of a rare phenomenon of reinfection – its possible effects on prenatal screening and other interpretations of such findings. Another problem is the evaluation of the origin of sonographically confirmed fetopathy in relation to *Toxoplasma* etiology and the choice of next steps that should follow in this situation. Finally, the text discusses the selection of postnatal examinations so that they sufficiently contribute to decision-making about the newborn's treatment initiation.

*Keywords: toxoplasmosis in pregnancy, congenital toxoplasmosis, reinfection, fetopathy, examination of the newborn*

*Klin mikrobiol inf lék 2013;19(2):48–51*

**Adresa:** MUDr. Markéta Geleneky, Klinika infekčních, tropických a parazitárních nemocí, 3. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Budínova 2, 180 81 Praha 8, e-mail: marketa.geleneky@gmail.com

Došlo do redakce: 4. 3. 2013

Přijato k tisku: 7. 6. 2013

## Úvod

Toxoplazmóza ohrožuje cca 0,5 % gravidních žen v ČR [1]. Zkušenosti z okolních zemí, kde je dlouhodobě zaveden povinný prenatální screening toxoplazmózy, ukazují, jak významně lze ovlivnit prevalenci kongenitální toxoplazmózy při včasné diagnostice nákazy u gravidních žen [2]. Kongenitální toxoplazmóza je jednou z mála intrauterinních infekcí, kterou můžeme již prenatálně terapeuticky ovlivnit, a to jednak preventivně – redukcí možnosti transplacentárního přenosu nákazy, a jednak i kauzálně – v případě verifikované fetální nákazy [3]. Mezi základní diagnostické metody patří: sérologie (celkové protilátky i jednotlivé třídy specifických Ig), PCR DNA *Toxoplasma gondii* (T.g.), pokus na zvířeti a zobrazovací metody (sonografie, případně MRI). Vyšetřovaným materiálem je pak nejčastěji periferní

krev, plodová voda a likvor [4]. Základními antiinfektivy jsou pyrimethamin, sulfadiazin, sulfadoxin a spiramycin v různých schématech [5].

## Kazuistika

Pacientka 41 let, po několikaletém úsilí otěhotněla cestou IVF, první gravidita. Sama pracuje jako zdravotní sestra, otec dítěte je lékař. Pacientka byla zdravá, bez jakýchkoliv obtíží či příznaků, které by bylo možno dát do souvislosti s toxoplazmózou (uzlinový syndrom, subfebrilie, únava...). Ve 20 letech byla v rámci vyšetřování pro akutní uzlinový syndrom nabírána i na toxoplazmózu, byly prokázány protilátky třídy IgM a IgG. Následně byla přeléčena antibiotiky a poté několik let sledována. Poslední odběry vykazovaly

obraz anamnestických titrů. Po otěhotnění byla i přes výše uvedenou anamnézu znovu vyšetřena s tím, že „člověk nikdy neví“. První výsledky překvapivě ukazují pozitivitu všech akutních markerů infekce a obratem je provedena confirmace v Národní referenční laboratoři pro toxoplazmózu v Praze (NRL), kde je nález potvrzen včetně nízké avidity IgG (viz *tabulka 1*). V této fázi jsem byla gynekoložkou kontaktována se žádostí o vyjádření k nastalé situaci. Byl proveden kontrolní odběr, preventivně nasazen spiramycin (v dávkování 3MIU 1 tableta po 8 hodinách) a doporučeno častější sonografické kontroly plodu. Riziko fetální infekce bylo stanoveno na méně než 5 % vzhledem k předpokládané době nákazy kolem otěhotnění. Byla navržena prenatalní diagnostika ve smyslu amniocentézy, se kterou pacientka souhlasila. Další průběh těhotenství až do odběru plodové vody v 18. tt byl bez komplikací, dle sonografie beze známek jakékoliv patologie, pacientka byla sledována ve zkušeném centru klinické genetiky a fetální medicíny. Kontrolní sonografie v 20. tt však ukazuje hraniční polyhydramnion a přítomnou hyperechogenitu střev, která může být příznakem fetopatie infekčního i neinfekčního původu. V rámci diferenciální diagnostiky bylo provedeno vyšetření na CMV, parvovirus B19 a cystickou fibrózu, plodová voda se také použila na podrobnější genetické testy. Vše bylo hodnoceno jako negativní.

#### **Výsledky prenatalního vyšetření pro susp. fetopatii – souhrn :**

- PCR DNA T.g. z plodové vody: negativní, protilátky nedělány pro nedostatek materiálu.
- Sérologie (krev): Parvovirus B19, CMV – séronegativní.
- Cystická fibróza z plodové vody negativní.
- Karyotyp bez odchylek.

Ve shodě s dispenzarizujícím genetikem jsem pacientce doporučila vyčkat na kontrolní sonografické vyšetření s odstupem 2 týdnů beze změny terapeutického schématu. Kontrolní ultrazukové vyšetření již neprokázalo žádný patologický nález, bylo přiměřené množství plodové vody a hyperechogenita střev nebyla přítomna. Těhotenství pokračovalo až do porodu již bez komplikací. Porod byl v termínu, pro akutní asfyxii řešen operativně, komplikován poporodním krvácením rodičky. Během pobytu v porodnici byla provedena klinická vyšetření dítěte (ultrazvuk mozku a oční vyšetření), která byla bez patologického nálezu. Doporučovaný byl také odběr na PCR DNA T.g. a komparativní WB IgG matka/dítě, ani jedno vyšetření však nebylo provedeno. Ošetřující lékaři (pediatři) ani spádová laboratorní diagnostici k nim neshledali důvod, a tak byla provedena jen základní sérologie novorozence s níže uvedenými výsledky.

#### **Výsledky poporodních vyšetření novorozence ve spádu – souhrn:**

- Sérologie toxoplazmózy dítěte: IgG 3,25 IP pozitivní, IgA 1,095 IP hraniční, IgM 0,595 IP negativní.
- Klinická vyšetření dítěte: oční pozadí a ultrazvuk mozku – vše v normě, beze známek kongenitální toxoplazmózy.

Vzhledem ke zdravotnickému vzdělání rodičů výsledek sérologického vyšetření (zejména přítomnost IgA protilátek) způsobil velké obavy o zdraví dítěte. Po dohodě se mnou byla matka i s týdním novorozencem obratem vyšetřena na naší klinice (300 km od místa bydliště). Všechna vyšetření (komparativní WB IgG i PCR DNA T.g. z periferní krve dítěte) byla bez jakýchkoliv známek vrozené nákazy. Komparativní WB IgG byl opakován s měsíčním odstupem. Výsledek ani tentokrát nepotvrdil kongenitální nákazu novorozence. Došlo k poklesu IgG i KFR, akutní protilátky IgM a IgA byly i v nižším ředění opakovaně negativní, profil neprokázal odlišnosti IgG u matky od novorozeneckých (viz *tabulka 2*). V současnosti je dítě 6 měsíců staré. V plánu je ještě kontrolní sérologie k definitivnímu vyloučení vrozené nákazy. Postnatální terapie nebyla indikována. Dítě výborně prospívá a nevykazuje jakékoliv odchylky od fyziologického stavu.

#### **Otazníky z praxe – interpretace nálezů z uvedené kazuistiky**

##### **Jednalo se skutečně o reinfekci?**

Riziko reinfekce antigenně odlišným kmenem T.g. či v situaci, kdy hladina anamnestických protilátek klesla pod mez protektivity, je sice známo [6], ale v klinické praxi je považováno za nečetné [7]. U naší pacientky se jednalo zřejmě o vymizení ochranných titrů a „ignorování“ anamnestického údaje o infekci prodělané v minulosti se v této souvislosti jeví jako přínosné. K diskuzi je spíše riziko reinfekce antigenně odlišným kmenem T.g. a jeho zohlednění v prenatalním screeningu. Přílišné zviditelňování této skutečnosti by – domnívám se – spíše vedlo k dalšímu stresování gravidních pacientek. Diskutovat však můžeme o opakování vyšetření u žen rizikových s anamnestickými protilátkami (např. cestovatelky pobývající část gravidity na jiném kontinentě, ženy pracující během těhotenství v úzkém kontaktu s rizikovými zvířaty – pracovnice zoologických zahrad, veterinárních center, jatek apod.). Vzhledem k neobvyklosti nálezu jsem u naší pacientky zvažovala i další možnosti vysvětlení tohoto jevu – validitu anamnestických dat (pacientka dokladovala výsledky lékařských zpráv) i možnou záměnu vzorků, která se ale nepotvrdila. Confirmace je v tomto případě důležitým verifikačním mezníkem [8]. V úvahu by se měla vzít i možnost nespecifické positivity akutních markerů, v našem případě byl nález ale výrazný (pozitivita IgM, IgA, vysoký titer celkových protilátek a nízkavidní IgG) a tuto variantu jsem tedy nezvažovala. Reinfekci v našem případě považuji za velmi pravděpodobné vysvětlení celé situace.

##### **Jak postupovat v případě patologického sonografického nálezu u plodu? Jak určit souvislost s toxoplazmózou?**

Toxoplazmová fetopatie má velmi širokou škálu podob a dá se říci, že vyloučit nelze snad žádný symptom odrážející možné poškození vývoje plodu. Její konkrétní podoba je ale vždy vázána na období, kdy k přenosu infekce na plod došlo. V tomto případě by se tedy mělo jednat spíše o embryopatii (zásah v prvním trimestru) a očekávali bychom poněkud jiný obraz, zejména těžké vývojové vady a teratogenní malformace mozku, smyslových orgánů, srdce apod.

Důležitým vodítkem je také výsledek prenatální diagnostiky, pokud je dělána, a samozřejmostí je konzultace se sonografistou, který fetopatii popsal. Ke každému takovému nálezu je nutno přistupovat velmi zodpovědně. V případě pravděpodobnosti toxoplazmové etiologie je potřeba zvážit změnu prenatální terapie z preventivní (spiramycin) na kauzální (pyrimethamin + sulfadiazin) [9]. Je nutno se vyjádřit i k případnému přerušení těhotenství (prognóza nákazy z prvního trimestru by byla vážná). Na druhou stranu i sonografie má své nespecifické nálezy a toto byl zřejmě jeden z nich, odrážející spíše vývojový proces či artefakt než patologii v oblasti stěv.

**Která vyšetření by měla být provedena u novorozenců v riziku kongenitální toxoplazmózy a proč?**

Kongenitální toxoplazmóza je jedno z mála infekčních onemocnění, u kterých lze kauzální postnatální terapii

v mnohých případech významně ovlivnit prognózu onemocnění [5]. Její indikace ale vychází především z důsledné diagnostiky onemocnění u novorozence. Mezi doporučená poporodní vyšetření patří: komparativní WB IgG matka/dítě k posouzení přítomnosti a původu protilátek (odlišení mateřských a novorozeneckých protilátek), PCR DNA T.g. z periferní krve novorozence jako přímý průkaz parazitárního agens a klinická vyšetření dítěte (oční pozadí, ultrazvuk mozku, případně i neurologické vyšetření – všechna se zaměřením na symptomy případné nákazy). Vyšetření se dle konkrétní situace opakují (klinická), u sérologických je pak kontrolní odběr nutnou rutinou (riziko opožděné tvorby protilátek, možnost atypické dynamiky) [10]. V případě naší pacientky došlo k odběru jen základní sérologie novorozence z periferní krve. Jak ale interpretovat přítomné protilátky? Jak je možno tímto vyšetřením odlišit původ mateřských a novorozeneckých IgG? Již nízká hladina

Tabulka 1

Vývoj sérologie toxoplazmózy u matky. Výsledky stanovení protitříd specifických protilátek jsou uvedeny v indexech pozitivity (IP), které se počítají jako poměr absorbance vyšetřovaného séra k absorbanci hraničního (cut-off) séra. Protilátky IgG, IgA, IgM v IP – cut off 0,9.

	KFR	IgG	IgM	IgA	Avidita IgG	PCR DNA T.g.
r. 1991		+	+			
r. 1993	1 : 32	+	-			
8. tt (r. 2012, ve spádu)		5,21	2,96	2,37	0,13 nízká	negativní
8. tt potvrzení NRL Praha	1 : 512	3,8	2,7	2,1	0,07 nízká	
11. tt NRL	1 : 1024	3,9	2,8	1,9	0,11 nízká	
18. tt AMC						VP-negativní
po porodu	1 : 64	3,17	0,68	0,53		
1 měsíc po porodu	1 : 64	2,91	0,60	0,52		

Vysvětlivky: NRL – Národní referenční laboratoř pro toxoplazmózu Praha, AMC – amniocentéza, VP – voda plodová, tt – týden těhotenství

Tabulka 2

Vývoj poporodních sérologií a PCR DNA T.g. u dítěte. IgM, IgA hodnocena v IP, cut off 0,9. Oboje vyšetřeno i v nižším ředění 1 : 20 s negativním výsledkem.

	KFR	IgG	WB IgG/komparace s mateřskými IgG	IgM	IgA	PCR DNA T.g.
Krev po porodu ve spádu		3,25		0,595 negativní	<b>1,095 hraniční</b>	
Krev týden po porodu: NRL	1 : 32	2,53	slabě pozitivní/ /plná shoda	0,1 negativní i v nižším ředění	0,23 negativní i v nižším ředění	
Krev týden po porodu: KM FNHK						negativní
Krev v 5 týdnech věku dítěte: NRL	1 : 16	2,23	slabě pozitivní/ /plná shoda	0,18 negativní i v nižším ředění	0,09 negativní i v nižším ředění	

Vysvětlivky: NRL – Národní referenční laboratoř pro toxoplazmózu Praha, KM FNHK – Klinika mikrobiologie Fakultní nemocnice Hradec Králové

na IgA protilátka může být známkou kongenitální nákazy, na druhou stranu ji vždy musíme posuzovat v kontextu ostatních vyšetření a je potřeba počítat i s možností falešné pozitivita – jak si poradit s tímto faktem? Proč nebyl proveden přímý průkaz agens (PCR DNA T.g.), který je celosvětově považován za jeden z pilířů diagnostiky infekce u novorozenců [11] – je možno ho snad nahradit průkazem nepřímým? Domnívám se, že nikoliv. Na základě výsledku poporodních vyšetření je rozhodováno o zahájení postnatální terapie, která by měla být nasazena co nejdříve a pouze „prostá“ sérologie nám k tomu příliš nepomůže. Vzhledem k faktu, že v našem případě konfirmací nebyla hraniční pozitivita IgA potvrzena, jednalo se s největší pravděpodobností o falešnou pozitivitu, která byla při vyšetřování novorozence více než zavádějící a obtížně hodnotitelná.

### Kdy je kongenitální toxoplazmóza u dítěte definitivně vyloučena?

Definitivní vyloučení vrozené nákazy nastává až v případě plné séronegativity, zhruba kolem 9.–12. měsíce věku dítěte. V praxi se ale potvrzuje, že tento závěr lze s vysokou pravděpodobností udělat již dříve a jako nejdůležitější faktory jsou uváděny: negativita PCR DNA T.g. v periferní krvi novorozence [11], opakovaná shoda v komparativním WB IgG u matky a dítěte, dynamika protilátek ve smyslu poklesu hladin zejména celkových titrů a IgG v kontrolních odběrech, nevytvoření protilátek akutní fáze (IgM, IgA) ani s několikátýdenním odstupem od narození, normální výsledky klinických vyšetření novorozence. V našem případě je tedy kongenitální toxoplazmóza považována za nepravděpodobnou (splňuje všechna z výše uvedených kritérií a k tomu přihlížíme i k době nákazy, a tedy samotnému riziku fetální infekce), a z tohoto důvodu nebyla zahájena postnatální terapie novorozence.

### Závěr

- Reinfekce je sice jevem vzácným, ale rozhodně by neměl být zcela opomíjen.

- Při hodnocení jakéhokoliv patologického (ultrazvukového či laboratorního) nálezu je vhodné posuzovat vždy výsledky všech provedených vyšetření současně, a to v kontextu dosavadního průběhu onemocnění. Často to vyžaduje značnou zkušenost.
- V případě nejasností je vhodným řešením vyšetření zopakovat či konfirmovat, množství atypických laboratorních nálezů i klinických průběhů je vysoké.
- Pokud se klinik rozhodne nerespektovat doporučení klinického specialisty, měl by mít pro své rozhodnutí dostatečné argumenty a samozřejmostí by měla být orientace v problematice. Komunikaci mezi kliniky pak považují za nezbytnou nutnost.

### Literatura

1. Palička P, Slabá H, Zitek K. Active control of congenital toxoplasmosis in the population. *Centr Eur J Publ Hlth*. 1998;6:265–268.
2. Villena I, Ancelle T, Delmas C, Garcia P, Brezin AP, Thulliez P, Wallon M, King L, Goulet V. Toxosurv network and National Reference Centre for Toxoplasmosis. Congenital toxoplasmosis in France in 2007: first results from a national surveillance system. *Euro Surveill*. 2010;15(25):pii=19600.
3. Thiébaud R, Leproust S, Chêne G, Gilbert R. Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data. *Lancet*. 2007;369(9556):115–122.
4. Kodým P, Geleneky M. Prevence, diagnostika a léčba toxoplazmózy v graviditě. *Actual Gyn*. 2012;4:31–38.
5. Montoya JG, Kovacs JA, Remington JS. *Toxoplasma gondii*. In: Mandell GL(eds.), et al. Principles and Practice of Infectious Diseases 6th edition. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2005:3170–3193.
6. Elbez-Rubinstein A, Ajzenberg D, Dardé ML, Cohen R, Dumètre A, Yera H, Gondon E, Janaud JC, Thulliez P. Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection, and review. *J Infect Dis*. 2009;199(2):280–285.
7. Valdès V, Legagneur H, Watrin V, Paris L, Hascoët JM. Congenital toxoplasmosis due to maternal reinfection during pregnancy. *Arch Pediatr*. 2011;18(7):761–763.
8. Kodým P, Tolarová V. Návrh standardních diagnostických metodik: schéma postupů vyšetřování na toxoplazmózu. *Zprávy CEM*. 1997;6:27–28.
9. Moncada PA, Montoya JG. Toxoplasmosis in the fetus and newborn: an update on prevalence, diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2012;10(7):815–828.
10. Gras L, et al. Association between prenatal treatment and clinical manifestation of congenital toxoplasmosis in infancy: A cohort study in 13 European centres. *Acta Paediatrica*. 2005(94):1721–1731.
11. Prášil P, Čermáková Z, Plíšek S. Význam dynamiky sérologií a PCR diagnostiky k pravděpodobnosti vrozené toxoplazmózy u dětí séropozitivních matek. *Cesk Pediatr*. 2010;65(7–8):432–440.

# Vliv spotřeby kolistinu na výskyt kolistin-rezistentních bakterií

V. HANULÍK<sup>1</sup>, H. SUCHÁNKOVÁ<sup>2</sup>, K. URBÁNEK<sup>2</sup>, P. IMWENSI<sup>1</sup>,  
M. HTOUTOU SEDLÁKOVÁ<sup>1</sup>, V. VOJTOVÁ<sup>2</sup>, M. KOLÁŘ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc,

<sup>2</sup>Ústav farmakologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

## SOUHRN

Hanulík V., Suchánková H., Urbánek K., Imwensi P., Htoutou Sedláková M., Vojtová V., Kolář M.: **Vliv spotřeby kolistinu na výskyt kolistin-rezistentních bakterií**

**Cíl práce:** Kolistin je antibiotikum, které v poslední době zažívá renesanci z důvodu stoupající odolnosti bakteriálních patogenů, především u pacientů v intenzivní péči. Cílem práce bylo zjistit vliv spotřeby kolistinu na výskyt kolistin-rezistentních bakterií ve Fakultní nemocnici Olomouc (FNOL).

**Metodika:** V laboratorní databázi byly retrospektivně vyhledány všechny klinicky významné kolistin-rezistentní bakteriální kmeny izolované v období od roku 2007 do roku 2011. Tyto údaje byly srovnány se spotřebou kolistinu ve stejném období a výsledky byly statisticky zpracovány.

**Výsledky:** Ve sledovaném období se celkem vyskytlo 6 338 klinicky významných kolistin-rezistentních kmenů (*Acinetobacter* sp., *Burkholderia cepacia* komplex, *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Morganella morganii*, *Proteus* sp., *Providencia* sp., *Pseudomonas* sp., *Serratia marcescens* a *Stenotrophomonas maltophilia*). Spotřeba kolistinu v uvedeném období vzrostla téměř desetinásobně. S narůstající spotřebou kolistinu došlo ke snížení výskytu kolistin-rezistentních kmenů *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter* sp., naproti tomu ale došlo ke zvýšení počtu přirozeně kolistin-rezistentních kmenů *Burkholderia cepacia* komplex. Alarmujícím zjištěním je zvýšení výskytu kolistin-rezistentních kmenů *Klebsiella pneumoniae* v posledních letech sledovaného období, především u pacientů v intenzivní péči.

**Závěr:** Společně s nárůstem spotřeby kolistinu došlo ve FNOL ke zvýšení počtu kolistin-rezistentních izolátů, především kmenů *Burkholderia cepacia* komplex, a v poslední době došlo k statisticky nevýznamnému, ale alarmujícímu vzestupu kolistin-rezistentních kmenů *Klebsiella pneumoniae*.

*Klíčová slova:* kolistin, spotřeba, rezistence, RDDD

## SUMMARY

Hanulík V., Suchánková H., Urbánek K., Imwensi P., Htoutou Sedláková M., Vojtová V., Kolář M.: **Effect of colistin consumption and prevalence of colistin-resistant bacteria**

**Objective:** Recently, there has been a renaissance of the use of the antibiotic colistin resulting from increasing resistance of bacterial pathogens, particularly in intensive care patients. The study aimed at assessing the impact of colistin consumption on the prevalence of colistin-resistant bacteria in the University Hospital Olomouc (UHO).

**Methods:** A laboratory database was retrospectively searched to identify all clinically significant colistin-resistant bacterial strains isolated between 2007 and 2011. These data were compared with colistin consumption over the same period and the results were statistically processed.

**Results:** Over the study period, a total of 6 338 clinically significant colistin-resistant strains were detected in the UHO (*Acinetobacter* spp., *Burkholderia cepacia* complex, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Morganella morganii*, *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia marcescens* and *Stenotrophomonas maltophilia*). Over the same period, the consumption of colistin increased nearly 10-fold. With the increasing colistin consumption, the numbers of colistin-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. decreased over that period of time. By contrast, there was an increase in the rates of naturally *Burkholderia cepacia* complex strains naturally resistant to colistin. An alarming finding is that the prevalence of colistin-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae* increased in the last years of the study period, especially in intensive care patients.

**Conclusions:** In the UHO, higher consumption of colistin was accompanied by increased numbers of colistin-resistant strains. There was a marked increase of *Burkholderia cepacia* complex strains and, recently, a statistically insignificant but alarming increase in colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains.

*Keywords:* colistin, consumption, resistance, RDDD

*Klin mikrobiol inf lék 2013;19(2):52–55*

**Adresa:** MUDr. Vojtěch Hanulík, Ústav mikrobiologie LF UP v Olomouci, FN Olomouc, Hněvotínská 3, 779 00 Olomouc, e-mail: hanulik.vojtech@seznam.cz

Došlo do redakce: 14. 5. 2013

Přijato k tisku: 6. 6. 2013



## Úvod

Kolistin je polymyxinové antibiotikum, jehož spotřeba v současné době narůstá. Na základě spektra účinku, zahrnujícího multirezistentní gramnegativní bakterie, a farmakologických vlastností je využíván především pro léčbu nozokomiálních infekcí, například infekcí dolních cest dýchacích.

Objev kolistinu se datuje ke konci padesátých let minulého století, kdy byl nalezen u bakterie *Bacillus polymyxa* subsp. *colistinus* [1]. Skupina polymyxinů zahrnuje polymyxin A až E, přičemž v současné době se v terapii užívá pouze polymyxin B (lokální použití) a polymyxin E (parenterální a inhalační podání). Jeho molekula je relativně velká a kladně nabitá. Účinek je způsoben destabilizací bakteriální stěny gramnegativních mikroorganismů vazbou kolistinu na záporně nabitě lipopolysacharidové struktury (LPS) bakteriální stěny a vytlačení kladně nabitých vápenatých a hořečnatých iontů, které za normálních okolností bakteriální stěnu stabilizují. Bakterie s takto poškozenou stěnou není schopna přežít a hyne. Mechanizmy rezistence ke kolistinu nejsou dostatečně známy. Předpokládá se vliv více faktorů. Pravděpodobně se jedná o kombinaci snížení LPS, vápenatých a hořečnatých iontů, snížení množství specifických proteinů v bakteriální stěně a efluxový mechanismus. Jediný známý enzym štěpící kolistin byl nalezen u kmene

*Bacillus polymyxa* subsp. *colistinus*, ale nebyl zatím popsán u jiných bakterií [1,2]. V současné době dochází ke snaze zjistit nové skutečnosti o mechanismech účinku polymyxinů a vyhledat nové molekuly s menšími nežádoucími účinky, vhodné k léčbě pacientů [3].

Kmeny rezistentní ke kolistinu lze dělit na přirozeně rezistentní a kmeny s rezistencí získanou. Mezi přirozeně rezistentní bakterie patří především kmeny *Proteus* sp., *Providentia* sp., *Morganella* sp., *Serratia marcescens* a zástupci *Burkholderia cepacia* komplex (BCC). Získaná rezistence ke kolistinu je u klinicky významných bakterií popisována především u kmenů *Klebsiella* sp., *Pseudomonas aeruginosa* a *Stenotrophomonas maltophilia* [4].

Kolistin se již dlouhou dobu používá u pacientů trpících cystickou fibrózou, u nichž se vyskytují multirezistentní kmeny *Pseudomonas aeruginosa*. Nicméně i v běžné klinické praxi se stále častěji setkáváme se situací, kdy je citlivost etiologického agens zachována pouze ke kolistinu nebo je kolistin poslední vhodnou volbou k léčbě. Jedná se zejména o případy pozdních nozokomiálních pneumonií s etiologickou rolí kmenů *Pseudomonas aeruginosa* se zachovanou citlivostí pouze k účinku amikacinu a kolistinu. V těchto případech se kolistin zdá být stejně účinný a bezpečný jako jiná antibiotika [5,6].

Tabulka 1  
Počet vybraných kolistin rezistentních kmenů v letech 2007 až 2011 zachycených ve FNOL

	2007	2008	2009	2010	2011	trend	R	p-value
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	5	6	2	0	↓	-0,9	0,072
<i>Acinetobacter</i> sp.	38	17	9	6	1	↓	-1,0	0,000
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	42	31	51	83	35	↑	0,2	0,689
<i>Burkholderia cepacia</i> komplex	34	86	100	122	114	↑	0,9	0,072
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	22	22	19	41	97	↑	0,7	0,182
<i>Serratia marcescens</i>	128	96	117	93	177	↑	0,1	0,841

Vysvětlivky: R – Spearmanův korelační koeficient, p-value – hodnota statistické signifikance

Tabulka 2  
Počet vybraných kolistin-rezistentních kmenů izolovaných z dolních cest dýchacích pacientů hospitalizovaných v letech 2007 až 2011 na JIP FNOL

	2007	2008	2009	2010	2011	trend	R	p-value
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	1	1	1	0	↓	-0,9	0,074
<i>Acinetobacter</i> sp.	6	3	1	0	0	↓	-0,9	0,081
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	13	6	5	12	1	↓	-0,6	0,230
<i>Burkholderia cepacia</i> komplex	3	19	21	38	31	↑	0,8	0,109
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	1	3	6	30	↑	0,7	0,182
<i>Serratia marcescens</i>	11	8	7	12	20	↑	0,7	0,161

Vysvětlivky: R – Spearmanův korelační koeficient, p-value – hodnota statistické signifikance

Cílem této retrospektivní studie bylo zjistit vliv spotřeby kolistinu na výskyt kolistin-rezistentních, klinicky významných patogenů ve Fakultní nemocnici Olomouc (FNOL).

### Materiál a metody

V počítačové databázi laboratorního systému Envis® LIMS (DS Soft, Olomouc) byly vyhledány klinicky významné kolistin-rezistentní kmeny izolované od pacientů hospitalizovaných v letech 2007 až 2011 ve FNOL. Za klinicky významné kmeny byly považovány tyto: *Acinetobacter* sp., *BCC*, *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Morganella morganii*, *Proteus* sp., *Providencia* sp., *Pseudomonas* sp., *Serratia marcescens* a *Stenotrophomonas maltophilia*. Aby se omezilo zpracování duplicitních vzorků, byl do studie zahrnut stejný kmen jednoho pacienta vždy až po 90 dnech od předchozí izolace. Výsledná data byla srovnána s údaji o spotřebě kolistinu ve FNOL pro stejné období. Rezistence ke kolistinu byla stanovena standardní diluční mikrometodou a hodnocena dle doporučení EUCAST [7].

Aplikace kolistinu byla hodnocena v uvedeném období na základě definovaných denních dávek (DDD) podle ATC/DDD klasifikace [8]. Relativní roční spotřeba antibiotik (RDDD) byla určena jako počet definovaných denních dávek na 100 ošetřovacích dnů/lůžkodnů podle následujícího vzorce:  $RDDDatb = (DDD \times 100) / \text{počet lůžkodnů}$  [9].

Vztah mezi četností kmenů rezistentních ke kolistinu a jeho celkovou spotřebou byl analyzován lineární regresní analýzou pomocí Spearmanovy korelace (R). Statistická významnost byla stanovena pro  $p < 0,05$ .

### Výsledky

V období od 1. 1. 2007 do 31. 12. 2011 bylo v Ústavu mikrobiologie FNOL zpracováno 6 543 kolistin-rezistentních izolátů, z nichž 6 338 bylo klinicky významných.

Spotřeba kolistinu vyjádřená v DDD a RDDD zaznamenala ve FNOL v letech 2007 až 2011 téměř desetinásobný

růst. Vzestupný trend, s výjimkou roku 2011, měl ve stejném období i počet klinicky významných bakterií rezistentních ke kolistinu (graf 1). Korelace vyjádřena Spearmanovým koeficientem je mezi těmito údaji vysoká ( $R = 0,9$ ) nicméně statisticky pod hranicí signifikance ( $p < 0,0719$ ).

Protože se kolistin ve FNOL používá inhalačně především k léčbě nozokomiálních pneumonií pacientů hospitalizovaných na jednotkách intenzivní péče (JIP), byla provedena analýza dat těchto pacientů. I v této skupině byl zaznamenán vzestupný trend výskytu kolistin-rezistentních kmenů (graf 2). Tentýž graf dále ukazuje poměr přirozeně kolistin-rezistentních kmenů a kmenů se získanou rezistencí ke kolistinu. Z uvedeného vyplývá, že počet kmenů se získanou rezistencí rostl ve sledovaném období více, než kmenů přirozeně rezistentních. Výsledky ukazují pozitivní korelaci mezi výskytem kolistin-rezistentních kmenů a RDDD jak pro tyto kmeny celkově, tak pro kmeny primárně rezistentní i kmeny s rezistencí získanou ( $R = 0,9$ ;  $0,9$  a  $0,7$ ). Nicméně v žádném případě se nejednalo o statisticky významnou korelaci ( $p = 0,0719$ ;  $0,0719$  a  $0,1615$ ). Podívali jsme se pouze na výskyt kolistin-rezistentních patogenů v dolních cestách dýchacích (endosekret, bronchoalveolární laváž, sputum) pacientů hospitalizovaných na JIP, je zde situace téměř totožná (graf 3). I zde byla prokázána pozitivní korelace výskytu kolistin-rezistentních kmenů celkem, kmenů primárně rezistentních a kmenů s rezistencí ke kolistinu získanou s RDDD ( $R = 0,7$ ;  $0,7$  a  $0,7$ ), avšak bez statistické významnosti ( $p = 0,1615$ ;  $0,1615$  a  $0,1615$ ).

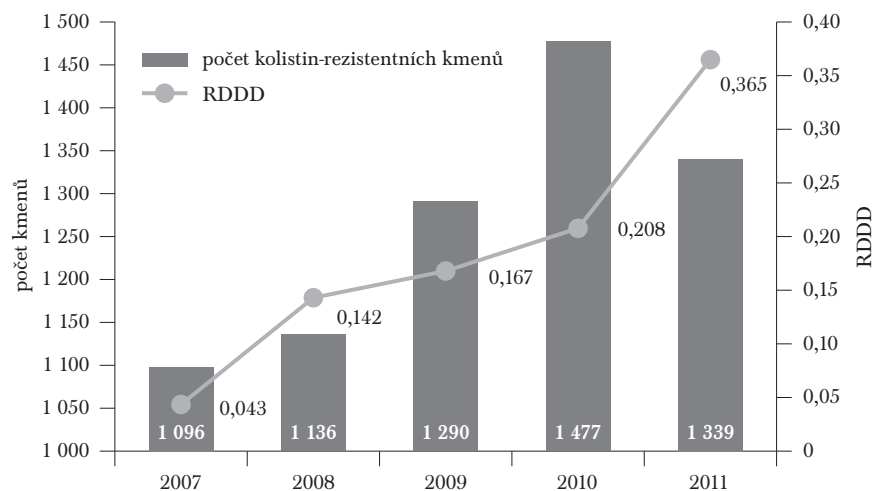
Zajímavým zjištěním je srovnání výskytu jednotlivých bakteriálních patogenů. V počtu kolistin-rezistentních kmenů izolovaných v letech 2007 až 2011 ve FNOL došlo k nárůstu výskytu kmenů *BCC*, snížení počtu kolistin-rezistentních kmenů *Pseudomonas aeruginosa* a statisticky signifikantnímu snížení kmenů *Acinetobacter* sp. (tabulka 1). Statisticky nevýznamný, nicméně reálný vzestup počtu kolistin-rezistentních kmenů *Klebsiella pneumoniae* je zřejmý v letech 2010 a 2011. Kmeny *Serratia marcescens* a *Stenotrophomonas maltophilia* se ve sledovaném období vyskytovaly přibližně ve stejném počtu.

Podobné závěry můžeme formulovat na souboru kolistin-rezistentních kmenů získaných z dolních cest dýchacích pacientů hospitalizovaných na JIP FNOL (tabulka 2). I zde došlo k snížení kolistin-rezistentních kmenů *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter* sp. a vzestupu počtu kmenů *BCC* a kolistin-rezistentních kmenů *Klebsiella pneumoniae*, který je oproti roku 2007 desetkrát vyšší. Nicméně tyto změny nebyly statisticky významné a výsledky mohou být ovlivněny chybou malých čísel.

### Diskuze

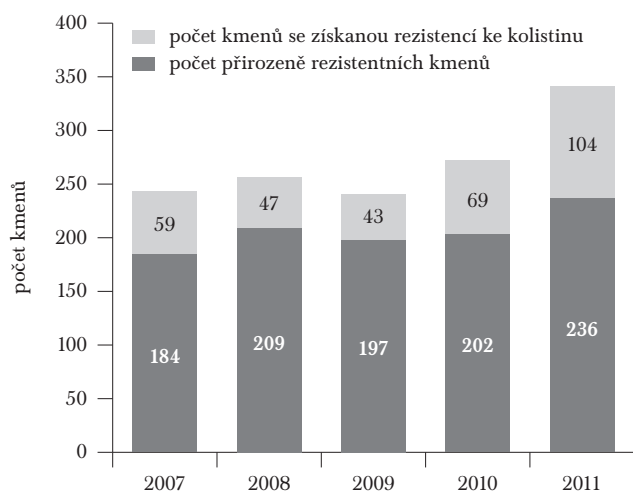
V poslední době se stále častěji setkáváme s terapeutickým použitím kolistinu, inhalačně i parenterálně, což

Graf 1  
Spotřeba kolistinu a výskyt kolistin-rezistentních kmenů ve FNOL



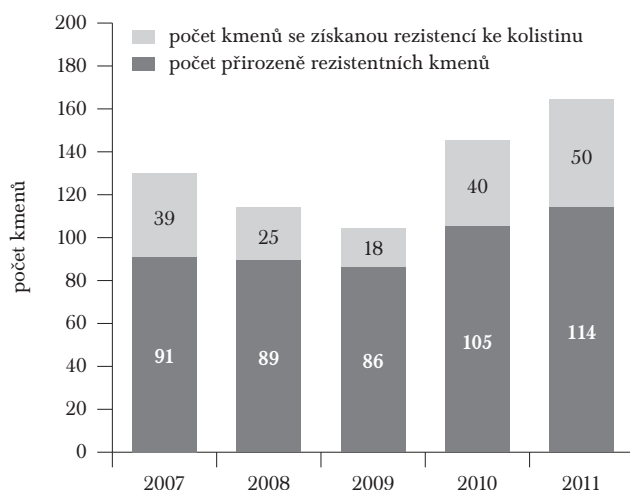
Graf 2

Počet kolistin-rezistentních kmenů na JIP FNOL



Graf 3

Počet kolistin-rezistentních kmenů izolovaných z DCD pacientů hospitalizovaných na JIP FNOL



může vytvářet pozitivní selekční tlak na kolistin-rezistentní bakterie. Statisticky nevýznamná korelace mezi spotřebou kolistinu a výskytem jednotlivých kolistin-rezistentních bakterií ve FNOL je dána poklesem jejich počtu v roce 2011 a svou roli hraje i skutečnost, že máme k dispozici data pouze za období pěti let. Trend výskytu ale přesto zůstává rostoucí a je nutné jej sledovat i v následujících letech. Nárůst počtu ke kolistinu přirozeně rezistentních kmenů BCC lze v podmínkách FNOL do jisté míry vysvětlit klonálním šířením, které bylo popsáno v jedné z našich předchozích prací [10]. Pokles výskytu kolistin-rezistentních kmenů *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter* sp. je zřejmý, ale příčinu lze jen těžko najít.

Je třeba mít na paměti, že nárůst rezistence ke kolistinu se může týkat i kmenů *Klebsiella pneumoniae*. Z našich výsledků sice nevyplývá statisticky signifikantní trend v růstu počtu těchto kmenů za sledované období, nicméně jejich výskyt se v posledních letech několikanásobně zvýšil v celé FNOL, a především na jednotkách intenzivní péče. Protože byla *Klebsiella pneumoniae* v naší předchozí studii shledána jako nejčastější původce pozdních nemocničních pneumonií u pacientů hospitalizovaných na JIP FNOL, nelze tuto situaci brát na lehkou váhu [11]. Větší význam tomuto sdělení přináší i práce Capone et al. ve které je popsána až 36% rezistence ke kolistinu u karbapenem-rezistentních kmenů *Klebsiella pneumoniae* [12].

Vzhledem k tomu, že FNOL patří svou spádovostí mezi největší nemocniční zařízení v České republice, lze předpokládat, že i v jiných částech České republiky bude v celkových číslech situace podobná, může se ale lišit v zastoupení jednotlivých kolistin-rezistentních kmenů.

### Závěr

Kolistin je v poslední době relativně často používaným antibiotikem. V předkládané retrospektivní studii přinášíme nová zjištění o spotřebě kolistinu a počtu rezistentních bakteriálních kmenů ke kolistinu. Z výsledků vyplývá pozitivní trend výskytu některých kolistin-rezistentních kmenů a ukazují na vyšší výskyt kolistin-rezistentních kmenů *Klebsiella pneumoniae* v posledních dvou letech.

Práce byla podpořena vnitřním grantem LF\_2013\_012 a MZ ČR-RVO (FNOL-00098892).

### Literatura:

- Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin – the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis*. 2005;40:1333–1341.
- Nation RL, Li J. Colistin in the 21<sup>st</sup> century. *Curr Opin Infect Dis*. 2009;22:535–543.
- Vaara M. Novel derivatives of polymyxins. *J Antimicrob Chemother* 2013;68(6):1213–1219.
- Boisson M, Grégoire N, Couet W, Mimoz O. Colistin in critically ill patients. *Minerva Anesthesiol*. 2013;79:200–208.
- Florescu DF, Qui F, McCartan MA, et al. What is the efficacy and safety of colistin for the treatment of ventilator-associated pneumonia? A systematic review and meta-regression. *Clin Infect Dis*. 2012;54:670–680.
- Giamarellou H. Multidrug-resistant Gram-negative bacteria: how to treat and for how long. *Int J Antimicrob Agents*. 2010;36:S50–54.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoints tables for interpretation of MICs and zone diameters. Available from: [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints).
- Anatomical therapeutic chemical (ATC) index (including defined daily doses (DDDs) for plain substances) Oslo: WHO collaboration centre for drug statistics methodology, 1996.
- Bergman U, Christerson I, Jansson B, Wiholm BE. Auditing drug utilization by means of defined daily dose per bed-day. A methodological study. *Eur J Clin Pharmacol*. 1980;17:183–187.
- Hanulík V, Chromá M, Webber MA, et al. Záchyt kmenů *Burkholderia cepacia* komplex ve Fakultní nemocnici Olomouc. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*. 2012;18:4–8.
- Uvizl R, Hanulík V, Husickova V, et al. Hospital-acquired pneumonia in ICU patients. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Republ*. 2011;155:373–378.
- Capone A, Giannella M, Fortini D, et al. High rate of colistin resistance among patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection accounts for an excess of mortality. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:E23–30.

# Bakterie tvořící drobné kolonie (small-colony variants) jako původci infekční endokarditidy a dalších závažných infekcí

J. BENEŠ, O. DŽUPOVÁ

Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta, Klinika infekčních nemocí, Nemocnice Na Bulovce, Praha

## SOUHRN

Beneš J., Džupová O.: **Bakterie tvořící drobné kolonie (small-colony variants) jako původci infekční endokarditidy a dalších závažných infekcí**

Tvorba malých kolonií (SCV) se specifickými biochemickými vlastnostmi byla zjištěna u celé řady bakteriálních druhů. Bakterie s SCV fenotypem mají vyřazeny metabolické dráhy, které zajišťují aerobní respiraci, a chovají se proto jako striktní anaeroby. To je sice znevýhodňuje při kompetici o zdroje živin, ale na druhé straně jim umožňuje odolávat účinku některých antibiotik a přežít uvnitř eukaryotických buněk. Infekce způsobené SCV mají proto často chronický a/nebo rekurentní průběh. Vyléčení obvykle není možné bez chirurgického zásahu.

Zdá se, že vznik SCV fenotypu je široce rozšířenou životní strategií bakteriálních buněk, svým výskytem i klinickým významem srovnatelnou s tvorbou biofilmu.

*Klíčová slova:* SCV fenotyp, buněčná respirace, chronické infekce, rekurentní infekce

## SUMMARY

Beneš J., Džupová O.: **Bacteria cleaving small-colony variants as causative agents of infective endocarditis and other severe diseases**  
Small-colony variants (SCV) associated with specific biochemical features were described in many bacterial species. Bacteria with SCV phenotype have knocked out metabolic pathways for aerobic respiration, thus they behave like strict anaerobes. They are handicapped in competition for nutrients with other microbes but on the other hand they are able to resist some antibiotics and survive inside eucaryotic cells. Therefore they use to cause chronic and/or recurrent infections. Recovery of these infections is not possible without surgery.

SCV phenotype seems to be a common life strategy for many bacteria. Its occurrence and clinical importance is similar to that of biofilm formation.

*Keywords:* SCV phenotype, cell respiration, chronic infections, recurrent infections

*Klin mikrobiol inf lék 2013;19(2):56–61*

**Adresa:** Prof. MUDr. Jiří Beneš, CSc., Klinika infekčních nemocí, 3. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Budínova 2, 180 81 Praha 8, e-mail: benes.infekce@seznam.cz

Došlo do redakce: 1. 4. 2013

Přijato k tisku: 18. 6. 2013

## Historie

Fenomén malých kolonií (dále SCV, small-colony variants) byl poprvé posán v roce 1910 u aberantních forem *Eberthella typhosa* (nyní *Salmonella enterica* sérovar Typhi) [1]. Nejdříve šlo o prostý morfologický popis těchto malých kolonií, které se vyskytovaly vedle obvyklých forem. V literatuře se používalo i alternativní označení dwarf colony variants, které bylo do češtiny překládáno jako trpasličí kolonie.

Brzy se ukázalo, že bakterie tvořící malé kolonie jsou autotrofní, čili mají v porovnání s původním (wild) kmenem defocentní metabolismus vyžadující speciální přídatné růstové faktory. V roce 1951 byla poprvé publikována práce prokazující klinický význam SCV [2].

V devadesátých letech minulého století byly provedeny analýzy SCV fenoménu na molekulární úrovni. Z nich vyplynulo, že pomalé množení SCV linií je způsobenou poruchou bakteriálního metabolismu na úrovni dýchacího řetězce [3]. Současně se prokázala souvislost SCV s perzistujícími či rekurentními infekcemi [4] a od té doby se počet sdělení k tomuto tématu začal rychle zvyšovat.

V české literatuře se informace o SCV dosud nevyskytují. Nicméně v knize vydané v roce 1981 upozorňoval prof. Vacek na úlohu tzv. perzistorů u chronických a recidivujících infekcí. Fenomén perzistence se v té době vysvětloval tak, že malá část bakteriální populace zůstává ve stavu minimální metabolické aktivity a v tomto stavu není citlivá k antibiotikům, zejména k přípravkům, které interferují se

syntézou buněčné stěny [5]. V poslední době se problematice SCV soustavněji věnoval Oto Melter. Jeho přehledný článek z roku 2010 však byl publikován v anglickojazyčném časopise [6] a v české odborné komunitě je bohužel jen málo známý.

### Definice

Kolonie splňující kritéria SCV jsou především drobné, velikosti špendlíkové špičky (pinpoint), čili přibližně 10x menší, než odpovídá běžnému vzhledu [1,6,7]. Tvorba drobných kolonií je důsledkem pomalého růstu, resp. pomalého množení bakterií. Někteří autoři jako alternativu hodnotí i kolonie ve tvaru sázeného vejce [1,5].

Kromě toho by SCV měly vykazovat i další somatické, enzymatické a molekulárně biologické charakteristiky (*tabulka 1*). Většina těchto vlastností bude podrobněji rozebrána v následujících odstavcích.

### Výskyt SCV v bakteriálních populacích

Fenomén SCV byl nejvíce studován u kmenů *S. aureus*. *S. aureus* je tedy jakýmsi modelovým organismem a většina přehledových prací popisuje vlastnosti SCV právě u tohoto druhu [1,6–8]. SCV fenotyp však byl popsán u mnoha druhů grampozitivních i gramnegativních bakterií (*tabulka 2*).

O častosti výskytu SCV není k dispozici mnoho informací. Ve studii z roku 1978 bylo zjištěno, že přibližně 1 % kmenů *S. aureus*, které byly izolovány v rutinně pracujících mikrobiologické laboratoři, morfologicky odpovídá SCV [12]. V jiné studii byly SCV formy přítomny u čtyř ze 14 případů stafylokokové osteomyelitidy, tj. u 29 % [13]. Konečně u 52 pacientů s cystickou fibrózou a chronickou kolonizací dýchacích cest zlatými stafylokoky byly SCV nalezeny ve 24 případech (46 %) [14]. Je zřejmé, že velmi záleží na výchozí skladbě pacientů. S nálezem SCV fenotypu jsou podle literatury nejčastěji spjaty následující klinické diagnózy [1,6,7]:

- infekční komplikace cystické fibrózy (etiologie *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cepacia*),
- subakutní a chronická osteomyelitida, případně septická artritida (*S. aureus*),
- infekce implantovaných cizích těles (*S. aureus* a koagulaza-negativní stafylokoky).

Etiologická úloha SCV však byla ojedinele prokázána i u dalších nemocí, např. u chronické pyodermie nebo chronického hlubokého abscesu v měkkých tkáních. Endokarditidy způsobené SCV byly zatím popsány jen vzácně, přičemž většinou šlo o pacienty s implantovaným pacemakerem nebo defibrilátorem. V etiologii převažovaly stafylokoky [10,15–19].

### Biochemická podstata fenoménu SCV

Vznik SCV se vysvětluje změnou funkce bakteriálního cytochromu c a s tím související poruchou transportu vodíkového iontu přes buněčnou membránu [1,5,6].

Cytochrom c je fylogeneticky velmi starý enzym, který využívají všechny živé organismy, od bakterií až po savce. Tento enzym je součástí buněčného dýchacího řetězce (*obr. 1*), který lze ve stručnosti popsat následovně: Při spalování uhlovodíkových substrátů, které se většinou odehrává

v Krebsově cyklu, se uvolněné atomy vodíku ( $H^+$ ) navazují na přenašeče ( $NAD^+/NADH$  a  $FAD/FADH_2$ ) a poté jsou prostřednictvím komplexu cytochromů transportovány přes buněčnou membránu do vnějšího prostoru. Na membráně se tak vytvoří protonový gradient. Ionty  $H^+$  mají tendenci vyrovnávat rozdíly v koncentracích, proto se tlačí zpět do buňky. Cesta zpět je ale možná jedině prostřednictvím transportního systému ATP syntázy, což je enzym, který z každého průchodu vodíkového iontu získá energii na konverzi jedné molekuly ADP na ATP. Tímto způsobem je zajištěna tvorba ATP, základního energetického substrátu v každé živé buňce.

U eukaryotních buněk (například lidských) je celý děj soustředěn na vnitřní membránu mitochondrií. U bakterií probíhá na cytoplazmatické membráně – je to ostatně jediná membrána, kterou bakteriální buňka má.

Na *obr. 1* je dobře patrné funkční propojení mezi Krebsovým cyklem (= cyklem kyseliny citronové) a soustavou membránových cytochromů. Jestliže je funkce cytochromu c porušena, a tedy nejsou odebírány vodíkové ionty z  $NADH$  a  $FADH_2$ , zastaví se i Krebsův cyklus a buňka může nadále získávat energii jen fermentací nebo anaerobní respirací [20].

Porucha funkce cytochromu c u bakterií vytvářejících SCV kolonie je obvykle způsobena nedostatečnou tvorbou heminu nebo menachinonu (vitamin K<sub>2</sub>); obě tyto látky působí jako koenzymy. Stejný efekt má i postižení přívodných metabolických drah vedoucích k těmto koenzymům, tj. nedostatek thiaminu nebo menadionu (*obr. 2*). Kromě blokování cytochromu c může SCV fenotyp vzniknout i jinými poruchami univerzálních metabolických drah, například poruchou syntézy thymidinu nebo poruchou metabolismu  $CO_2$  [1,6]. Inhibice cytochromu c je však zřejmě nejčastější.

### Důsledky SCV fenotypu pro metabolismus bakteriální buňky

Změněná nebo nedostatečná funkce cytochromu c se projeví především sníženou aktivitou dýchacího řetězce a z toho vyplývající sníženou tvorbou ATP. Fermentace i anaerobní respirace jsou energeticky poměrně málo výtěžné. Navíc se v prostředí mohou začít hromadit nežádoucí meta-

Tabulka 1  
Charakteristické vlastnosti small-colony variants (SCV), platné pro *Staphylococcus aureus* jako modelový mikroorganismus [1,8,9]

drobné kolonie na krevním agaru a pomalý růst v tekutém médiu
auxotrofie vyžadující suplementaci růstovými faktory
snížená tvorba pigmentu
snížená hemolytická aktivita
snížená tvorba alfa toxinu
snížená aktivita plazmakoagulázy
snížená citlivost k některým antibiotikům
zvýšená exprese adhezínů (např. fibronectin-binding proteinu)

bolity, které posléze působí toxicky, například kyselina mléčná. Důsledkem je zpomalení metabolismu a snížení rychlosti růstu a množení bakterií.

Ztráta funkce cytochromu c znamená také absenci protonového gradientu na plazmatické membráně. Jedním z typických důsledků tohoto děje je rezistence k aminoglykosidům, která se vysvětluje neschopností transportovat tato antibiotika z vnějšího prostředí do cytoplazmy [1]. SCV bakterie se tedy chovají podobně jako anaerobní mikroby, jejichž rezistence k aminoglykosidům má stejnou příčinu.

Tabulka 2  
Přehled bakterií, u nichž byl popsán výskyt SCV mutant

Grampozitivní bakterie	Odkaz	Gramnegativní bakterie	Odkaz
<i>Staphylococcus aureus</i>	[1,6,7]	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	[1,6]
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	[1,6,7]	<i>Escherichia coli</i>	[1,6,7]
<i>Staphylococcus capitis</i>	[1,6,7]	<i>Shigella</i> sp.	[1,6]
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	[6,7]	<i>Salmonella enterica</i>	[1,6]
<i>Enterococcus faecalis</i>	[10]	<i>Citrobacter freundii</i>	[1]
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	[11]	<i>Proteus</i> sp.	[1]
<i>Corynebacterium</i> sp.	[6]	<i>Providencia stuartii</i>	[1]
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	[1]	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	[1]
<i>Bacillus subtilis</i>	[1,6]	<i>Enterobacter cloacae</i>	[1]
		<i>Serratia marcescens</i>	[1,6]
		<i>Vibrio cholerae</i>	[1,6]
		<i>Brucella melitensis</i>	[1]
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[1,6,7]
		<i>Burkholderia cepacia</i>	[1,6,7]
		<i>Burkholderia pseudomallei</i>	[1]
		<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	[6]

Pozn.: Je poněkud překvapivé, že ve výčtu mikrobusů, u nichž byl popsán SCV fenotyp, chybí zástupci viridujících a nehemolytických streptokoků. Vysvětlení je možné hledat ve skutečnosti, že streptokoky mají v porovnání se stafylokoky a většinou gramnegativních bakterií poměrně malý genom, který nevytváří podmínky pro zajišťování komplexnějších funkcí. Streptokoky proto nedokáží tak snadno střídat své životní projevy. Jestliže u nich dojde ke změně metabolismu odpovídající SCV fenotypu, bývá tato změna fixní, a ne reverzibilní a příslušná linie pak bývá popsána jako nový druh. Tato úvaha může zdůvodnit, proč taxonomie streptokoků zahrnuje mnoho druhů a je mimořádně spleťtá.

Tabulka 3  
Nevýhody a výhody SCV fenotypu oproti původním (wild) kmenům [1,5,26]

Nevýhody SCV fenotypu	Výhody SCV fenotypu
• málo výkonný metabolismus	• schopnost intracelulárního přežívání
• pomalý růst a množení	• menší aktivace imunitních mechanismů
• větší nároky na životní prostředí (auxotrofie)	• rezistence k některým antibiotikům
	• schopnost koexistence s dalšími mikroby

Analogie s anaerobními mikroby se projevuje i v tom, že SCV více exprimují na svém povrchu adheziny, a tedy snadněji se vážou na různé struktury ve svém okolí. Zdá se, že jde o logickou adaptaci, neboť nízká metabolická aktivita není výhodná pro život v planktonické fázi.

Snížení aktivity dýchacího řetězce má dopady i na metabolismus aminokyselin. Jestliže bakteriální buňka není schopna spalovat cukry v Krebsově cyklu, může získávat energii štěpením některých aminokyselin. Tak lze vysvětlit zvýšenou tvorbu proteáz SCV buňkami. V jedné studii produkovaly SCV až dvacetinásobně množství proteáz v porovnání s běžnou mikrobiální populací [22]. Zvýšená je také tvorba adhezínů. Naopak ostatní proteosyntetické děje jsou v SCV buňkách utlumeny. Snížená proteosyntéza se například u *S. aureus* projevuje sníženou produkcí alfa-toxinu a dalších hemolyzinů [5,6].

S celkově sníženou metabolickou aktivitou souvisí i omezená tvorba pigmentů, která byla popsána u SCV kolonií *S. aureus* [5] a *P. aeruginosa* [1].

S celkově sníženou metabolickou aktivitou souvisí i omezená tvorba pigmentů, která byla popsána u SCV kolonií *S. aureus* [5] a *P. aeruginosa* [1].

### Výhody SCV fenotypu při rozvoji infekce

Z předchozí kapitoly vyplývá, že SCV fenotyp je pro bakteriální buňku nevýhodný, protože znamená větší náročnost na dodávku substrátů a současně nižší výkonnost metabolismu. V důsledku svého pomalého růstu mohou být SCV snadno vytlačeny aktivnějšími rodčovskými či přirozenými (wild) kmeny. Nicméně SCV fenotyp s sebou přináší i některé výhody, které se zvláště dobře uplatní při přežívání v lidském nebo zvířecím hostiteli (tabulka 3).

V literatuře je asi nejvíce pozornosti věnováno schopnosti SCV přežít uvnitř eukaryotních buněk [1,5,6,23]. SCV mohou perzistovat zejména v tzv. neprofesionálních fagocytech, což jsou například endoteliální a epiteliální buňky, fibroblasty, osteoblasty nebo keratinocyty [1]. Přežívání v těchto buňkách je zajištěno několika mechanismy. Bakterie s SCV fenotypem nemají pouzdro [24], zato však exprimují na svém povrchu podstatně větší množství receptorů pro integrin a fibronektin a to jim umožňuje mnohem účinnější adhezi k hostitelským eukaryotním buňkám [1].

Dojde-li k fagocytóze, je důležité, že SCV netvoří exotoxiny. Při absenci exotoxinů totiž chybí podněty pro spuštění obvyklých imunitních reakcí. Při zkoumání stafylokokových infekcí

se ukázalo, že wild kmeny *S. aureus* rychle usmrtí neprofesionální fagocyty, do nichž proniknou. Infikované buňky zahynou v důsledku přímého poškození stafylokokovým alfa-toxinem (nekróza) anebo je zahubí imunitní reakce (cytotoxické lymfocyty rozpoznají intracelulární infekci a napadenou buňku přimějí k programované smrti – apoptóze).

Při infekci způsobené SCV nedochází k žádnému z těchto dějů a bakterie může uvnitř eukaryotní buňky perzistovat po dobu několika týdnů [1,23]. Uvnitř hostitelských buněk jsou bakterie chráněny před působením opsonizujících proteinů, komplementu a profesionálních fagocytů a také před působením některých antibiotik, zejména beta-laktamů, glykopeptidů a aminoglykosidů. Pro plné pochopení významu intracelulárního přežívání bakterií je potřeba si uvědomit, že všechny hlavní nevýhody SCV fenotypu popsané v tabulce 3 přestávají být při nitrobuněčné infekci důležitými.

Zajímavé výsledky ukázal pokus, při němž byla laboratorním myším po intravenózním podání kultury *S. aureus* indukována hnisavá artritida [22]. V tomto pokusu vyvolávaly SCV hnisavou artritidu častěji a infekce jimi vyvolané měly horší průběh než kontrolní infekce způsobené wild kmeny. Autoři tak prokázali, že SCV mohou být v některých ohledech stejně nebo i více patogenní než běžné kmeny [1,6]. Zdá se tedy, že SCV sice nejsou vybavené k průniku do neporušených tkání, jsou však dobře přizpůsobeny k tomu, aby se po průniku do krevního řečiště uchytily v místě, které je pro vznik infekce predisponováno (locus minoris resistentiae), a zde vyvolaly torpidní infekci. I v tomto ohledu chování SCV připomíná průběh anaerobních infekcí [25].

### SCV fenotyp jako integrální součást života bakterií

Jednou z charakteristických vlastností SCV klonů je reverzibilita. Bakteriální buňky tvořící malé kolonie se za určitých okolností mohou vracet k původnímu rodičovskému fenotypu [1,5,6,23]. Tato skutečnost prakticky vylučuje představu, že by SCV vznikaly jako důsledek mutací strukturálních genů – takové mutace se jistě mohou vyskytnout, nebudou však vratné. Pravděpodobnější je představa, podle níž SCV vznikají na základě mutací regulačních genů [16]. Nicméně v poslední době se objevilo ještě jiné vysvětlení, které se jeví jako nejelegantnější: Ke vzniku SCV nemusí být potřebné žádné mutace, protože výpadek příslušných metabolických drah může být geneticky naprogramován jako alternativní růstová strategie, kterou bakteriální buňka využívá podle okolností [21,23].

SCV strategie může být pro bakterie výhodná v několika různých situacích. První z nich jsou již zmíněné infekce lidí a zvířat. SCV mají obecně nižší patogenitu než bakterie s wild fenoty-

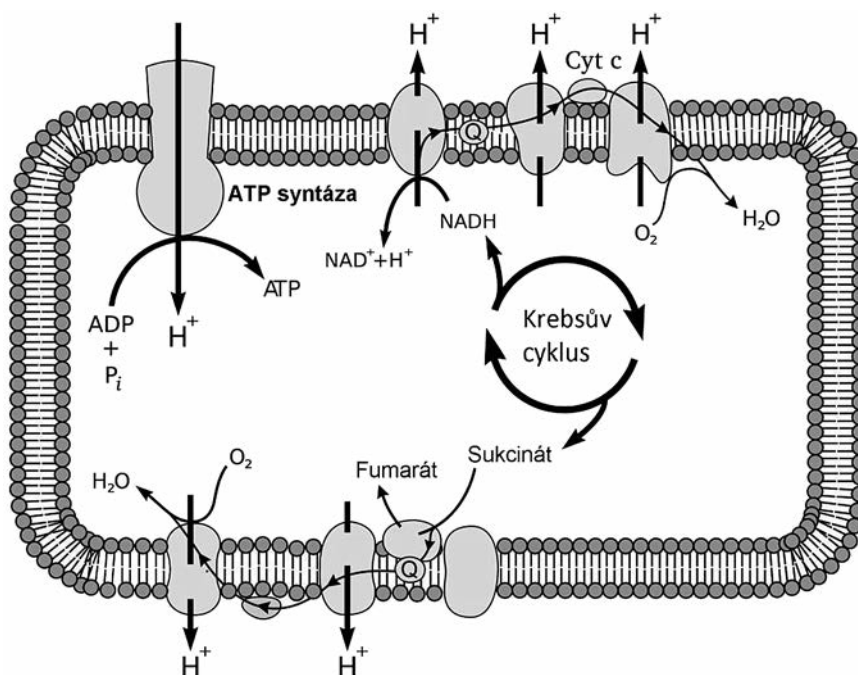
pem, mají však schopnost perzistovat v organismu po dobu týdnů, měsíců, a dokonce i let po zdánlivém vyléčení a vyvolávat relapsy nemoci [23]. Bakteriální klony, které odštěpují SCV, používají vlastně dvojí strategii: Wild fenotyp umožní invazi do tkání hostitelského organismu a rozvoj akutní infekce. Imunitní systém proti této infekci zahájí odpovídající reakci, která v ideálním případě invadující bakterie zničí. Mezitím ale odštěpené SCV linie zůstanou ukryté uvnitř některých hostitelských buněk a odtud se mohou znovu aktivovat [23]. Zvláštní výhodou tohoto uspořádání je skutečnost, že imunitní systém pracuje tak, že vždy používá jednu hlavní formu imunitní odpovědi. V daném případě se imunita nasměruje přednostně proti extracelulárně se množícím bakteriím s wild fenotypem, které jsou bezprostředně nebezpečnější, a intracelulárně lokalizované SCV linie zůstanou stranou pozornosti.

Význam SCV jako prostředku k odvrácení účinku antibiotik bude rozebrán níže.

Fenomén SCV byl popsán i u bakterií, které nejsou primárně patogenní (viz tabulka 2), je tedy pravděpodobné, že jeho přínos pro bakteriální populace bude mnohem širší. Jedním z možných vysvětlení je, že SCV fenotyp umožňuje koexistenci různých bakteriálních druhů, které se za normálních okolností chovají antagonisticky. *Pseudomonas aeruginosa* například produkuje pyocyanin a další toxiny, které inhibují elektronový transport u *S. aureus* [26]. Stafylokoky se mohou účinně bránit tím, že přejdou do SCV fenotypu, při němž jsou příslušné metabolické dráhy zablokovány, a pyocyanin jim tedy neuškodí [26]. Podobně může SCV fenotyp chránit volně žijící bakterie i před účinkem antibiotik tvořených streptomycetami nebo houbami.

SCV fenotyp vykazuje podobné rysy jako růst v biofilmu (pomalý růst, adaptace na přisedlý, a nikoli planktonický

Obr. 1  
Úloha cytochromu c při tvorbě ATB [1,36 – původní schéma upraveno]



způsob života, větší odolnost k antibiotikům i jiným škodlivým vlivům). Není vyloučené, že obě tyto vlastnosti se *in vivo* obvykle kombinují. Vztah mezi růstem v biofilmu a výskytem SCV fenotypu byl prokázán v několika studiích [27–29].

Někteří autoři, kteří se zabývali studiem biofilmu u pseudomonádových infekcí, pozorovali závislost výskytu SCV fenotypu na přítomnosti vláknitého fága Pf4 [30,31]. Jiný výzkumný tým však jejich výsledky nepodpořil [32]. Je pravděpodobné, že v mikrobiálních populacích existují obě možnosti, čili že u některých klonů je schopnost odštěpovat SCV závislá na přítomnosti externích genů, které do bakterií vnese fág, zatímco u jiných klonů jde o součást jejich standardní genetické výbavy.

## Diagnostické problémy související s SCV fenotypem

### a) určení izolovaného mikroba

Klasická kultivace spolu s obvyklými identifikačními testy může u SCV selhávat. Bakterie nejenže rostou pomalu, ale mění se i vzhled kolonií, protože SCV tvoří pigmenty jen v omezené míře. Rovněž biochemické reakce přestávají být spolehlivé: u stafylokoků s SCV fenotypem byla popsána snížená fermentace laktózy, turanózy a manitolu a také vymizení redukce nitrátů [9].

*Staphylococcus aureus* může být poměrně snadno zaměněn za *S. epidermidis*, nebo dokonce za komenzální korynebakteria či nehemolytické streptokoky, protože jeho kolonie jsou nepigmentované, nehemolyzují a v testu na koagulázu pozitivně reagují až po 18–72 hodinách kultivace [1,5,6]. K urychlení růstu a potlačení SCV fenotypu se doporučuje kultivovat stafylokoky na obohacených médiích, např. Schädlerově agaru [5] nebo chromogenním agaru „S. aureus ID agar“ firmy bioMérieux [6]. Mikrobi rychleji rostou v mikroaerofilním nebo anaerobním prostředí.

Podobně SCV kolonie *P. aeruginosa* postrádají charakteristické zbarvení, protože bakterie málo tvoří pyocyanin [1].

### b) stanovení citlivosti na antibiotika

Důvodů, proč standardní testy citlivosti mohou selhat, existuje několik [6]:

- SCV často rostou ve smíšených populacích s rodičovskými (wild) klony. SCV však rostou pomalu, a proto je bakterie s wild fenotypem přerostou;
  - pomalý růst SCV komplikuje odečítání (nepoměr mezi rychlostí růstu kolonií a difúzí antibiotik z disku nebo stripu do média);
  - pomalé množení omezuje efekt stěnových antibiotik.
- V praxi může být problém s rozpoznáním meticilin-rezistentních kmenů *S. aureus*; pro rychlou identifikaci MRSA kmenů v klinickém materiálu se doporučuje využít genetické metody nebo případně latexaglutinační test s anti-PBP2a [5,6,33].

## Terapeutické problémy související s SCV fenotypem

### a) rezistence k antibiotikům

Rezistence způsobená SCV fenotypem může mít několik příčin [1,5,6]:

- Rezistence k aminoglykosidům je způsobena metabolickým blokem na úrovni cytochromu c a následnou absencí protonového gradientu na plazmatické membráně.
- Rezistence ke kotrimoxazolu vzniká u klonů, které nedokáží syntetizovat thymin, respektive thymidin (viz obr. 2). Kotrimoxazol blokuje tvorbu kyseliny listové, která je nezbytná pro syntézu thyminu – tyto bakterie však thymin nevytvářejí, berou ho ze svého okolí. Kotrimoxazol tedy zůstává bez účinku.
- Snížená účinnost stěnových antibiotik se vysvětluje nižší rychlostí růstu bakterií.

Všechny tyto vlastnosti se podle okolností sčítají s mechanismy rezistence, kterými disponuje původní rodičovská populace daného mikroba (např. přítomnost *mecA* genu a tomu odpovídající MRSA fenotyp).

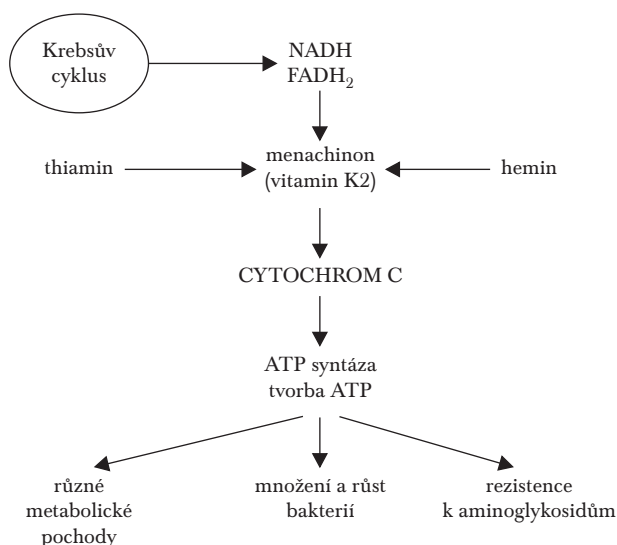
V literatuře jsou popsány četné příklady, kdy SCV fenotyp byl vyselektován předchozí léčbou antibiotiky (aminoglykosidy, kotrimoxazolem nebo tetracykliny) [1,11,34]. Také lokální podávání může mít podobný dopad: Používání gentamicinových kuliček pro antibiotické krytí ortopedických operací podporovalo vznik SCV infekcí [35].

### b) praktické dopady na léčbu

V ložisku chronické infekce je často smíšená populace obsahující původní rodičovský kmen a současně SCV. Při kultivaci hnisu či krve jsou v odebraném vzorku přítomny oboje bakterie, ale protože wild linie rostou rychleji, odečte se antibiogram podle nich. Citlivost bakterií s wild fenotypem je obvykle lepší než citlivost SCV. Léčba vycházející z výsledků antibiogramu pak sice vyhubí citlivou část populace, avšak SCV přežijí, a mohou se stát příčinou perzistující infekce nebo relapsu.

Optimální antibiotická terapie infekcí vyvolaných SCV dosud nebyla nalezena [6]. Jedinou spolehlivou léčebnou možností je chirurgické odstranění infikovaných tkání, samozřejmě pod antibiotickým krytím. Přístup k infekci způsobené SCV je tedy analogický přístupu k infekcím spoje-

Obr. 2  
Metabolické dráhy, jejichž výpadek způsobuje SCV fenotyp  
[1,37 – původní schéma upraveno]





ným s tvorbou biofilmu; obě tyto formy v mnoha případech splývají.

## Závěry

K optimálnímu zvládnutí SCV infekce je potřebná souhra mezi mikrobiologem a klinikem. V ideálním případě by měl klinik informovat mikrobiologa, jestliže je materiál na kultivaci odebírán od pacienta s chronickou a/nebo recidivující infekcí. Mikrobiolog by naopak při nálezu heterogenity bakteriální populace měl upozornit klinika, že výsledky testů citlivosti nemusejí být spolehlivé a že i řádně nastavená antibiotická léčba může selhat.

Zároveň je zřejmé, jak důležité je manuální odečítání izolatů, aspoň u komplikovaných případů. Plně automatizované provozy, které se v některých laboratorních začínají zavádět, nejsou vybaveny na to, aby postihly některé detaily, které mohou mít pro léčbu zásadní význam. Lidská práce a zkušenost je v určitých oblastech stále ještě nenahraditelná.

*Práce byla podporována projektem Univerzitního výzkumného centra kardiiovaskulárních chorob Univerzity Karlovy Praha, UNCE204010.*

## Literatura

- Proctor RA, von Eiff C, Kahl BC, Becker K, McNamara P, Herrmann M, Peters G. Small colony variants: a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections. *Nat Rev Microbiol.* 2006;4(4):295–305.
- Hale JH. Studies on staphylococcus mutation: a naturally occurring "G" gonidial variant and its carbon dioxide requirements. *Br J Exp Pathol.* 1951;32(4):307–313.
- Proctor RA, Balwit JM, Vesga O. Variant subpopulations of *Staphylococcus aureus* as cause of persistent and recurrent infections. *Infect Agents Dis.* 1994; 3(6):302–312.
- Proctor RA, van Langevelde P, Kristjansson M, Maslow JN, Arbeit RD. Persistent and relapsing infections associated with small-colony variants of *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 1995;20(1):95–102.
- Vacek V. Rezistentní bakteriální infekce v klinické praxi. In: Krčméry V, Vacek V, Modr Z, Výmola F (eds): *Rezistencia na antibiotiká. Zásady racionální chemoterapie.* Martin: Osveta, 1981; pp 441–442.
- Melter O, Radojević B. Small colony variants of *Staphylococcus aureus* – review. *Folia Microbiol (Praha).* 2010;55(6):548–558.
- von Eiff C, Peters G, Becker K. The small colony variant (SCV) concept – the role of staphylococcal SCVs in persistent infections. *Injury.* 2006; 37 Suppl 2: S26–33.
- Tuchscher L, Medina E, Hussain M, et al. *Staphylococcus aureus* phenotype switching: an effective bacterial strategy to escape host immune response and establish a chronic infection. *EMBO Mol Med.* 2011;3:129–141.
- von Eiff C, Heilmann C, Proctor RA, Woltz C, Peters G, Götz F. A site-directed *Staphylococcus aureus* hemB mutant is a small-colony variant which persists intracellularly. *J Bacteriol.* 1997;179(15):4706–4712.
- Wellinghausen N, Chatterjee I, Berger A, Niederfuehr A, Proctor RA, Kahl BC. Characterization of clinical *Enterococcus faecalis* small-colony variants. *J Clin Microbiol.* 2009;47(9):2802–2811.
- Allegrucci M, Sauer K. Formation of *Streptococcus pneumoniae* non-phase-variable colony variants is due to increased mutation frequency present under biofilm growth conditions. *J Bacteriol.* 2008;190(19):6330–6339.
- Acar JF, Goldstein FW, Lagrange P. Human infections caused by thiamine- or menadione-requiring *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 1978;8(2):142–147.
- von Eiff C, Bettin D, Proctor RA, Rolauffs B, Lindner N, Winkelmann W, Peters G. Recovery of small colony variants of *Staphylococcus aureus* following gentamicin bead placement for osteomyelitis. *Clin Infect Dis.* 1997;25(5): 1250–1251.
- Kahl BC, Duebbers A, Lubritz G, Haerberle J, Koch HG, Ritzerfeld B, Reilly M, Harms E, Proctor RA, Herrmann M, Peters G. Population dynamics of persistent *Staphylococcus aureus* isolated from the airways of cystic fibrosis patients during a 6-year prospective study. *J Clin Microbiol.* 2003;41(9):4424–4427.
- Seifert H, Wisplinghoff H, Schnabel P, von Eiff C. Small colony variants of *Staphylococcus aureus* and pacemaker-related infection. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9(10):1316–1318.
- Baddour LM, Christensen GD. Prosthetic valve endocarditis due to small-colony staphylococcal variants. *Rev Infect Dis.* 1987;9(6):1168–1174.
- Gomez-Gonzalez C, Acosta J, Villa J, Barrado L, Sanz F, Orellana MA, Otero JR, Chaves F. Clinical and molecular characteristics of infections with CO<sub>2</sub>-dependent small-colony variants of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2010;48(8): 2878–2884.
- Tumbarello M, Pelargonio G, Trecarichi EM, Narducci ML, Fiori B, Bellocci F, Spanu T. High-dose daptomycin for cardiac implantable electronic device-related infective endocarditis caused by staphylococcal small-colony variants. *Clin Infect Dis.* 2012;54(10):1516–1517.
- Maduka-Ezeh A, Seville MT, Kusne S, Vikram HR, Blair JE, Greenwood-Quaintance K, Arabia F, Patel R. Thymidine auxotrophic *Staphylococcus aureus* small-colony variant endocarditis and left ventricular assist device infection. *J Clin Microbiol.* 2012; 50(3):1102–1105.
- Kaprálková F. Metabolismus bakterií. In: Bednář M, et al. *Lékařská mikrobiologie.* Praha: Marvil 1999; pp 89–113.
- Abu-Qatouseh LF, Chinni SV, Seggewiss J, Proctor RA, Brosius J, Rozhdestvensky TS, Peters G, von Eiff C, Becker K. Identification of differentially expressed small non-protein-coding RNAs in *Staphylococcus aureus* displaying both the normal and the small-colony variant phenotype. *J Mol Med (Berl).* 2010; 88(6):565–575.
- Jonsson IM, von Eiff C, Proctor RA, Peters G, Rydén C, Tarkowski A. Virulence of a hemB mutant displaying the phenotype of a *Staphylococcus aureus* small colony variant in a murine model of septic arthritis. *Microb Pathog.* 2003; 34(2):73–79.
- Tuchscher L, Heitmann V, Hussain M, Viemann D, Roth J, von Eiff C, Peters G, Becker K, Löffler B. *Staphylococcus aureus* small-colony variants are adapted phenotypes for intracellular persistence. *J Infect Dis.* 2010;202(7):1031–1040.
- Tuchscher L, Löffler B, Buzzola FR, Sordelli DO. *Staphylococcus aureus* adaptation to the host and persistence: role of loss of capsular polysaccharide expression. *Future Microbiol.* 2010;5(12):1823–1832.
- Beneš J. Infekce vyvolané anaerobními bakteriemi. In: Beneš J a kol: *Infekční lékařství.* Praha: Galén, 2009; pp 264–266.
- Biswas L, Biswas R, Schlag M, Bertram R, Götz F. Small-colony variant selection as a survival strategy for *Staphylococcus aureus* in the presence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol.* 2009;75(21):6910–6912.
- Singh R, Ray P, Das A, Sharma M. Role of persisters and small-colony variants in antibiotic resistance of planktonic and biofilm-associated *Staphylococcus aureus*: an in vitro study. *J Med Microbiol.* 2009;58(Pt 8):1067–1073.
- Neut D, van der Mei HC, Bulstra SK, Busscher HJ. The role of small-colony variants to diagnose and treat biofilm infections in orthopedics. *Acta Orthop.* 2007; 78(3):299–308.
- Starkey M, Hickman JH, Ma L, Zhang N, De Long S, Hinz A, Palacios S, Manoel K, Kirisits MJ, Starner TD, Wozniak DJ, Harwood CS, Parsek MR. *Pseudomonas aeruginosa* rugose small-colony variants have adaptations that likely promote persistence in the cystic fibrosis lung. *J Bacteriol.* 2009;191(11): 3492–3503.
- Webb JS, Lau M, Kjelleberg S. Bacteriophage and phenotypic variation in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *J Bacteriol.* 2004; 186(23): 8066–8073.
- Rice SA, Tan CH, Mikkelsen PJ, Kung V, Woo J, Tay M, Hauser A, McDougald D, Webb JS, Kjelleberg S. The biofilm life cycle and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* are dependent on a filamentous prophage. *ISME J.* 2009;3(3):271–282.
- Mooij MJ, Drenkard E, Llamas MA, Vandenbroucke-Grauls CM, Savelkoul PH, Ausubel FM, Bitter W. Characterization of the integrated filamentous phage Pf5 and its involvement in small-colony formation. *Microbiology.* 2007;153(Pt 6): 1790–1798.
- Kipp F, Becker K, Peters G, von Eiff C. Evaluation of different methods to detect methicillin resistance in small-colony variants of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2004;42(3):1277–1279.
- Seifert H, Wisplinghoff H, Schnabel P, von Eiff C. Small colony variants of *Staphylococcus aureus* and pacemaker-related infection. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9(10):1316–1318.
- von Eiff C, Bettin D, Proctor RA, Rolauffs B, Lindner N, Winkelmann W, Peters G. Recovery of small colony variants of *Staphylococcus aureus* following gentamicin bead placement for osteomyelitis. *Clin Infect Dis.* 1997;25(5): 1250–1251.
- wikipedia: heslo „dýchací řetězec“.
- Proctor RA, Peters G. Small colony variants in staphylococcal infections: diagnostic and therapeutic implications. *Clin Infect Dis.* 1998;27(3):419–422.

## Doporučený postup péče o dospělé infikované HIV a postexpoziční profylaxe infekce HIV

Doporučený postup Společnosti infekčního lékařství České lékařské společnosti J. E. Purkyně

H. ROZSYPAL<sup>1</sup>, M. STAŇKOVÁ<sup>1</sup>, D. SEDLÁČEK<sup>4</sup>, S. SNOPKOVÁ<sup>5</sup>, J. KAPLA<sup>6</sup>,  
V. ASTER<sup>1</sup>, L. MACHALA<sup>2</sup>, D. JILICH<sup>3</sup>, P. DLOUHÝ<sup>7</sup>, J. KOLČÁKOVÁ<sup>5</sup>,  
A. ZJEVÍKOVÁ<sup>8</sup>, Z. JERHOTOVÁ<sup>9</sup>, L. OLBRECHTOVÁ<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Klinika infekčních a tropických nemocí, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a Nemocnice Na Bulovce, Praha;

<sup>2</sup>Klinika infekčních, parazitárních a tropických nemocí 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a Nemocnice Na Bulovce, Praha;

<sup>3</sup>Klinika infekčních, parazitárních a tropických nemocí, Nemocnice Na Bulovce, Praha;

<sup>4</sup>Infekční klinika, Fakultní nemocnice Plzeň;

<sup>5</sup>Klinika infekčních chorob, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Brno-Bohunice;

<sup>6</sup>Klinika infekčních nemocí, Fakultní nemocnice Hradec Králové;

<sup>7</sup>Infekční oddělení, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.;

<sup>8</sup>Klinika infekčního lékařství, Fakultní nemocnice Ostrava-Poruba;

<sup>9</sup>Infekční oddělení, Nemocnice České Budějovice, a. s.

**Odborný garant:** Terapeutická skupina Národní komise pro řešení problematiky HIV/AIDS v ČR

**Schváleno:** výborem Společnosti infekčního lékařství 25. 9. 2012

**Datum vydání:** listopad 2012

**Verze:** 1

### SOUHRN

#### Doporučený postup péče o dospělé infikované HIV a postexpoziční profylaxe infekce HIV

Autoři předkládají návod k provádění antiretrovirové terapie v podmínkách českého zdravotnictví, přičemž čerpají jednak ze zahraničních doporučení, jednak z vlastních zkušeností v péči o pacienty s HIV/AIDS. Strukturou a obsahem navazuje na vydání z roku 2010, zohledňuje nové výsledky studií a moderní trendy v strategii a taktice léčby. Doporučení vychází ze systematického vyšetření pacienta, vede k preciznímu zhodnocení diagnózy a formulaci doporučení podle jednotných kritérií. Dokument poskytuje konkrétní návod k rozhodnutí o zahájení antiretrovirové léčby, k volbě jednotlivých léků a k postupu při sledování efektu léčby, nežádoucích účinků a k reakci na případné selhání léčby. Zvláštní pozornost je věnována aplikaci antiretrovirotik gravidním ženám a pacientům s komorbiditou, zejména tuberkulózou, hepatitidami nebo s nedostatečností ledvin. Nová verze zahrnuje rámcový postup pro podání postexpoziční profylaxe infekce HIV. Doporučený postup je doplněn tabelárním přehledem jednotlivých antiretrovirotik. Předkládaný dokument je oporou pro jednání odborné společnosti se státními orgány a s plátcí zdravotní péče.

*Klíčová slova:* infekce HIV, lidský virus imunodeficiency (HIV), kombinovaná antiretrovirová terapie, cART, antiretrovirotika, postexpoziční profylaxe (PEP)

### SUMMARY

#### Guidelines for caring for HIV-infected adults and postexposure prophylaxis for HIV infection

The authors present instructions for providing antiretroviral therapy in the Czech health care system, based partly on recommendations from abroad and partly on their own experiences of caring for HIV/AIDS patients. The structure and content are similar to those in the 2010 edition, with new study outcomes and modern trends in treatment strategy being taken into consideration. The guidelines are based on systematic patient assessment and aimed at making an accurate diagnosis and formulating recommendations according to individual criteria. The document provides specific instructions for decisions on initiating antiretroviral therapy, selection of individual drugs, monitoring of treatment effect and adverse reactions, and reaction to potential therapy failure. Special attention is paid to administration of antiretroviral drugs to pregnant women and patients with comorbidities, especially tuberculosis, hepatitis or renal insufficiency. The new version includes procedures for postexposure prophylaxis for HIV infection. The guidelines are supplemented by a table summary of antiretroviral drugs. The presented document is to be used in negotiations between the association, state authorities and health care payers.

*Keywords:* HIV infection, human immunodeficiency virus (HIV), combined antiretroviral therapy (cART), antiretroviral drugs, postexposure prophylaxis (PEP)

## 1. Úvod

I když infekci lidským virem imunodeficiencie (*Human Immunodeficiency Virus*, HIV) nelze vyléčit, dnešní terapeutické možnosti dovolují významně omezit dopad infekce na zdravotní stav nakažených, snížit nemocnost, zlepšit kvalitu života a prodloužit délku života. Základem efektivní péče je kombinovaná antiretrovirová terapie (*Combination Antiretroviral Therapy*, cART), spočívající v důmyslné aplikaci kombinace antiretrovirových léků a vycházející z pravidelně získávaných anamnestických a laboratorních údajů o pacientovi a viru. Primární účinek cART tkví v potlačení virové replikace, což se odrazí ve snížení virové nálože HIV, v nejlepším případě až k nedetekovatelným hodnotám.

S blokováním množení viru se obnovuje funkce buněčné imunity, projevující se vzestupem počtu CD4+ lymfocytů. Konečným cílem léčby je zlepšení zdravotního stavu a příznivé ovlivnění jeho ukazatelů. Vedle antiretrovirové léčby jsou dalšími součástmi léčebně preventivní péče profylaxe oportunních infekcí, očkování, diagnostika a léčba komplikujících oportunních infekcí i nesouvisejících komorbidit. Zdravotní péče se uskutečňuje v AIDS centrech ve spolupráci se specialisty různých oborů a praktickými lékaři. Ambulantní péče je organizována formou zdravotních prohlídek zahrnujících klinické vyšetření a laboratorní testy. Pokud to vyžaduje zdravotní stav, popřípadě epidemiologické okolnosti, pacient je umístěn na lůžkové infekční odděle-

Tabulka 1  
Laboratorní testy a pomocná rutinní vyšetření

Vyšetření	Frekvence	Podmínka, poznámka
krevní obraz a diferenciál	1 × /3–6 měsíců*	
moč chemicky (a sediment)	1 × /3–6 měsíců*	
základní biochemické vyšetření séra (plazmy): glykémie, urea, kreatinin, bilirubin, laktát, ionty, jaterní enzymy, amylasa, LDH, CRP, cholesterol (i frakce), triacylglyceroly	1 × /3–6 měsíců*	
cystatin C	vstupně a 1 × /rok	opakovaně při léčbě tenofovirem
CK	1 × /6 měsíců	při léčbě statiny
Ca <sup>++</sup> , PO <sub>4</sub>	1 × /rok	při rizikových faktorech osteoporózy**
PSA	1 × /6 měsíců	muži > 45 r.
imunologické vyšetření: CD4+ (a CD8+)	1 × /3–6 měsíců*	
virová nálož (VL) HIV RNA PCR	1 × /3–6 měsíců*	zamrazit k případnému vyšetření rezistence
sérologické markery VHA, VHB, VHC	1 × /rok	opakovaná vyšetření lze za určitých okolností omezit i vyloučit
virémie HCV RNA	výběrově	u IV toxikomanů s hepatopatií
α-fetoprotein (α-FP)	1 × /rok	při cirhóze
sérologie syfilidy – screening: RPR, TPHA	1 × /6 měsíců	
sérologie toxoplazmózy	1 × /rok	vstupně u všech, dále u negativních
sérologie cytomegaloviru (CMV)	výběrově	CD4+ < 100/μl
protilátky ke kontrole očkování	výběrově	
haplotyp HLA B*5701	vstupně	
tropismus R5	výběrově	
stolice na okultní krvácení	1 × /2 roky	> 50 r.
elektrokardiogram (EKG)	vstupní, dále výběrově	
skiagram plic	1 × /2 roky	dle uvážení lze opakovaná vyšetření vynechat
sonografie břicha	1 × /1–2 roky	u hepatopatie
echokardiografie	vhodně vstupně	

\* delší interval je přípustný u pacientů s nesignifikantním nebo mírným imunodeficitem a stabilizovanými hodnotami,

\*\* starší ženy, hypogonadismus, zlomenina krčku femuru v anamnéze, astenický habitus, kouření, tělesná inaktivita, snadná zlomenina v anamnéze, užívání steroidů, konzumace alkoholu.

ní. Specializovanou léčebnou pomoc však musí v případě nutnosti poskytnout jakékoli zdravotnické zařízení.

**2. Náplň vstupního a kontrolních vyšetření**

Vstupní vyšetření zahrnuje získání anamnestických údajů se zaměřením na:

- pravděpodobný způsob přenosu, poslední negativní test HIV, známky možné primoinfekce;
- pohlavně přenosné nemoci;
- hepatitidy;
- očkování: TAT, proti VH;
- psychické problémy (úzkost, depresi, suicidiální myšlenky);
- škodlivé návyky: kouření, alkohol, drogy.

Tabulka 2  
Konziliární vyšetření

Vyšetření	Frekvence	Podmínka, poznámka
gynekologické (+ onkologická cytologie)	1 × /rok	
mamografie	1 × /2 roky	ženy > 45 r.
venerologické	výběrově	
stomatologické	1 × /rok	
oftalmologické (oční pozadí)	1 × /rok	CD4+ < 100/μl
psychiatrické a psychologické	výběrově	

Opakovaná ambulantní kontrola zahrnuje i otázky na psychický stav, škodlivé návyky, nežádoucí účinky léčby, adherenci (kolikrát pacient vynechal léky za poslední měsíc).

Ve fyzikálním nálezu odpovídajícím kompletnímu internímu vyšetření nesmí chybět měřené parametry: m (BMI), P, TK a pečlivé vyšetření kůže, dutiny ústní a lymfatických uzlin.

Rozsah a frekvenci laboratorních testů a pomocných vyšetření uvádí *tabulka 1*.

Výběrově se ordinují odběry biologického materiálu na další laboratorní testy. Navrhovanou frekvenci vyšetření přizvanými specialisty uvádí *tabulka 2*.

Výběrově lze zařadit screening:

- neurokognitivních nemocí;
- afektivních poruch (deprese);

Tabulka 3  
Přehled nukleosidových a nukleotidových inhibitorů reverzní transkriptasy

Generický název Zkratka Obchodní název	Dávkování	Hlavní nežádoucí účinek	Poznámka
tenofovir TDF Viread	1 × 300 mg/d	nauzea, zvracení, průjem renální insuficience	užívat s jídly kontroly renálních funkcí (s ddI, ATV)
abacavir ABV Ziagen	2 × 300 mg/d nebo 1 × 600 mg/d	hypersenzitivní reakce (5 %)	nebezpečí hypersenzitivní reakce, lze anticipovat po průkazu haplotypu HLA-B*5701, opětovné zahájení léčby může být život ohrožující
zidovudin (azidothymidin) ZDV (AZT) Retrovir	2 × 250–300 mg/d	anémie, méně neutropenie, nauzea, xerostomie, pigmentace nehtů, myopatie	kontroly krevního obrazu
emtricitabin FTC Emtriva	1 × 200 mg/d	průjem, nauzea, cefalgie, hyperpigmentace dlaní, plosek a nehtů	
lamivudin 3TC EpiVir	2 × 150 mg/d nebo 1 × 300 mg/d	výjimečně cefalgie únava	
didanosin ddI Videx EC	< 60 kg: 1 × 250 mg/d, > 60 kg: 1 × 400 mg/d	pankreatitida (6 %) periferní neuropatie, průjem, nauzea, cefalgie	nalačno
stavudin d4T Zerit	< 60 kg: 1 × 30 mg/d, > 60 kg: 1 × 40 mg/d	periferní neuropatie, pankreatitida, nauzea, zvracení, průjem, elevace aminotransferas	užívat s jídly vyšší riziko lipoatrofie

- kostních nemocí (osteoporózy, osteomalacie) – při známých rizikových faktorech – s doplněním kostní denzimetrie.

### 3. Iniciální zhodnocení a doporučení

Výsledkem vyšetření je zhodnocení stavu, stupně imuno-deficitu, potřeby antiretrovirové léčby a profylaxe oportunních infekcí a dalších postupů. V dokumentaci musí být zřetelně zdůrazněno, že byl pacient informován o stavu, možnostech léčby a potřebě protiepidemických opatření. Musí být vybita k vyšetření sexuálního partnera/partnerky. Po první návštěvě se posílá hlášení Národní referenční laboratoři pro AIDS. Přesná formulace diagnostického závěru a doporučení slouží k sdělení výstižné a spolehlivé informace ostatním lékařům a přispívá k racionálnímu vedení léčby.

**Diagnostický závěr** musí obsahovat upřesňující údaje o:

- trvání positivity HIV – alespoň rok diagnózy (např. „diagnostikovaná II/07“);
- klinickém a laboratorním stadiu dle CDC 1993, popř. dle WHO 2007, u AIDS definující diagnózu (např. „A3“ nebo „C3 pro pneumocystovou pneumonii IX/08“);
- vývoji počtu CD4+ lymfocytů (iniciální – [nadír –] poslední: např. „CD4+ 55..20..170/μl“);
- aktuální virové náloži HIV (např. „VL HIV 38 000 kopií/ml“);
- dosavadní léčbě (např. „cART od ...“ nebo „bez cART“), případně stručné zhodnocení adherence (např. „užívá nespolehlivě, opakované svévolné přerušování léčby“);
- aktuální komplikaci (např. „orofaryngeální kandidóza“);
- důležité komorbidity (např. „syphilis latens recens“, „chronická hepatitida C“, „dyslipidémie“);
- dalších stavech ovlivňujících prognózu, výběr léčby apod. (např. „alergie na ...“, „syndrom závislosti na pervitinu“).

V **doporučení** je nutné vyjádřit se k:

- antiretrovirové léčbě;

- profylaxi oportunních infekcí (např. „profylaxe oportunních infekcí není indikovaná“);
- očkování, která je nutné doplnit, naléhavě doporučit, výhledově doplnit (upravuje samostatný doporučený postup [4]);
- životosprávě – abstinenci alkoholu, drog ...;
- poučení o bezpečnějším sexu, o významu adherence, o režimových omezeních atd.

Je třeba explicitně uvést „Poučení podepsal(a), hlášení odesláno“, aby se předešlo nedorozuměním a následným duplicitním krokům.

Při předávání pacienta do péče jiného AIDS centra se uvádí mj. zejména:

- předchozí použítá antiretrovirotika a vyšetření rezistence;
- nesnášenlivost či alergie proti použitým lékům;
- předchozí léčba interferonem;
- přeléčení syfilidy;
- případné neúspěšné očkování proti hepatitidám (non-responder);
- zjištěný haplotyp HLA B\*5701.

Tím se předejde zbytečnému opakování vyšetření a léčebných postupů.

### 4. Indikace AR léčby

Antiretrovirotika se podávají v léčbě akutní (primární) infekce HIV i v dalším průběhu, rovněž za účelem profylaxe infekce HIV.

#### Primární infekce HIV:

1. Probíhající symptomatická primární infekce HIV kliniky a laboratorně jednoznačná (pro níž svědčí věrohodný údaj o expozici, klinický obraz, vysoká virová nálož HIV, popř. zachycená sérokonverze).
2. Probíhající nebo právě proběhlá pravděpodobná primární infekce HIV s CD4+ opakovaně (za 3 měsíce) < 350/μl.
3. Probíhající nebo právě proběhlá pravděpodobná primární infekce HIV s těžkými či prolongovanými příznaky.

Tabulka 4  
Přehled nenukleosidových inhibitorů reverzní transkriptasy

Generický název Zkratka Obchodní název	Dávkování	Hlavní nežádoucí účinek	Poznámka
etravirin ETV Intelence	2 × 200 mg/d (2 × 2 tablety/d)	exantém hypersenzitivní syndrom	užívat s jídly
efavirenz EFV Stocrin, (Sustiva)	1 × 600 mg/d (večer)	vertigo, nespavost, „živé“ sny, zmatenost, exantém	užívat nalačno a před spaním kontraindikován v graviditě neúčinný u subtypu O a HIV typu 2
nevirapin NVP Viramune	1 × 200 mg/d 14 dní, dále 2 × 200 mg/d	exantém (37 %), hepatitida, jaterní selhání – častěji u žen, vyššího počtu CD4+ a chronických hepatopatií	relativní kontraindikace u žen s CD4+ >250/μl a u mužů s CD4+ > 400/μl neúčinný u subtypu O a HIV typu 2

**Chronická infekce HIV:**

1. Symptomatická HIV infekce (kategorie B a C dle CDC, nefropatie asociovaná s infekcí HIV, neurokognitivní postižení vázané na infekci HIV).
2. Asymptomatická HIV infekce pokud:
  - CD4+ < 350/μl,
  - CD4+ 350–500/μl pokud je současně: významný pokles CD4+ (o > 100/μl za rok), VL >100 000 kopií/ml, koinfekce VHB nebo VHC, věk > 50 let, gravidita, významná komorbidita (kardiovaskulární onemocnění, nádorové onemocnění apod.), intenzivní sexuální život s HIV negativním partnerem,
  - CD4+ > 500/μl – za specifických okolností.

**Riziko infekce HIV:** Profylaxe vertikálního přenosu a postexpoziční profylaxe jsou uvedeny na jiném místě.

**Obecné podmínky** pro zahájení léčby: Než se nově zahájí

antiretrovirová léčba, musí být splněny tyto podmínky:

- vyšetření CD4+ lymfocytů, při hodnotách CD4+ > 200/μl i opakovaně (pro získání věrohodnějších údajů, kdy nehrozí nebezpečí z prodlení);
- provedený odběr krve k stanovení VL (alespoň zamrazit pro následné vyšetření);
- zahájená profylaxe oportunních infekcí u pacientů s těžkým imunodeficitem CD4+ < 200/μl (obecně alespoň 2–8 týdnů);
- vysvětlení důležitosti léčby a významu adherence;
- připravenost (ochota) pacienta k léčbě;
- momentální dostupnost konkrétních léků na trhu.

**Speciální podmínky** pro zahájení léčby: Před zahájením cART konkrétními léky a u pacientů s významnou komorbiditou musí být splněny některé další podmínky, zejména:

- vyšetření HLA B\*5701 při volbě ABV;
- vyšetření tropotypu při volbě MVC;
- případná antituberkulózní léčba podávaná při CD4+ < 100/μl: > 2 týdny  
při CD4+ 100–350/μl: > 8 týdnů

Tabulka 5  
Přehled inhibitorů proteínázy

Generický název Zkratka Obchodní název	Dávkování (s RTV = potencování malou dávkou RTV)	Hlavní nežádoucí účinek	Poznámka
lopinavir/ritonavir LPV/r Kaletra	2 × 400/100 mg/d (2 × 2 tablety/d) s EFV či NVP: 2 × 600/150 mg/d (2 × 3 tablety/d)	průjem, hyperlipidémie elevace, aminotransferas	
darunavir DRV Prezista	s RTV: 1 × 800/100 mg/d (u naivních pacientů), 2 × 600/100 mg/d (u předléčených pacientů)	exantém, průjem, nauzea	užívat s jídly, odlišný profil rezistence
atazanavir ATV Reyataz	1 × 400 mg/d, s RTV: 1 × 300/100 mg/d	nepřímá hyperbilirubinémie až viditelný ikterus prodloužení PR na EKG	užívat s jídly, nepodávat současně s H2 inhibitory a inhibitory protonové pumpy
nelfinavir NFV Viracept	2 × 1 250 mg/d	průjem (20 %), někdy těžký	užívat s jídly
fosamprenavir FPV Telzir	2 × 1 400 mg/d, s RTV: 2 × 700/100 mg/d nebo 1 × 1 400/200 mg/d	exantém, průjmky	
tipranavir TPV Aptivus	s RTV: 2 × 500/200 mg/d	nauzea, zvracení, průjem, exantém (více u žen), hepatitida, hyperlipémie	užívat s jídly pozor u alergie na sulfonamidy
saquinavir SQV Invirase	3 × 600-1 200 mg/d, s RTV: 2 × 1 000/100 mg/d	nauzea, bolesti břicha, plynatost, bolesti břicha, cefalgie	užívat s jídly
indinavir IDV Crixivan	3 × 400 mg/d, s RTV: 1 × 800/100 mg/d	krystalurie, nefrolitiáza, renální kolika, intersticiální nefritida, xerodermie, alopecie, abnormality nehtů, nepřímá hyperbilirubinémie	nalačno, vysoký příjem tekutin (> 1,5 l/d)

(vzhledem k možné progresi manifestní či reaktivaci latentní tuberkulózy v rámci syndromu imunitní obnovy [IRIS]).

#### Akceptovatelná prodleva:

Indikovaná antiretrovirová léčba se u pacientů s definujícím onemocněním pro AIDS zahajuje ihned po splnění výše uvedených podmínek, u některých onemocnění je vhodnější zahájit léčbu oportunní infekce a s ohledem na nežádoucí účinky léků, lékové interakce a syndrom imunitní obnovy (IRIS) zahájit antiretrovirovou léčbu za 2–8 týdnů.

Antiretrovirotika podaná z indikace postexpoziciční profylaxe a při pozdním záchytu infekce HIV před porodem se musí podat ihned, bez jakéhokoli prodlení, odklad zahájení léčby řádově v hodinách významně snižuje účinnost profylaxe.

#### 5. Délka AR léčby

Předpokládané trvání léčby:

- primární infekce HIV: 6 měsíců až neomezeně;
- chronická infekce HIV: časově neomezené (obecně celoživotně);
- profylaxe vertikálního přenosu (ne léčba ženy): do porodu;

- postexpoziciční profylaxe: 4 týdny.  
Strukturované přerušení léčby (*structured therapy interruption*, STI) není obecně doporučováno.

#### 6. Volba antiretrovirových léků

##### Doporučená kombinace 1. volby

([1 NRTI + 1 NtRTI] nebo 2 NRTI) + (NNRTI nebo IP/r nebo II) \*)

NtRTI: TDF

NRTI: FTC, 3TC, ABV

NNRTI: EFV

IP/r: LPV/r, DRV/r, ATV/r

II: RLV

\*) Vzájemně se nekombinují zejména FTC + 3TC, ABV + NVP, TDF + ATV (pokud nelze podávat ATV boostovaný ritonavirem), EFV + ATV/r.

##### Alternativní kombinace 1. volby

2 NRTI + (IP/r nebo NNRTI nebo II)

NRTI: ZDV

NNRTI: ETV, NVP

IP/r: FPV, SQV

**Další kombinace** – vyšší volby po selhání režimu až po záchrannou (salvage) terapii:

Tabulka 6

Přehled zástupců dalších skupin (inhibitorů integrasy, inhibitorů vstupu [antagonistů CCR5], inhibitorů fúze)

Generický název Zkratka Obchodní název	Dávkování	Hlavní nežádoucí účinek	Poznámka
raltegravir RLV Isentress	2 × 400 mg/d	průjem, nauzea, bolest hlavy, horečka	
maraviroc MVC Celsentri, (Selzentry)	2 × 300 mg/d, s inhibitory CYP3A4: 2 × 150 mg/d, s induktory CYP3A4: 2 × 600 mg/d *)		vyžaduje vyšetření tropismu ke koreceptoru CCR5 (tropotypu C5)
enfuvirtid T-20 Fuzeon	2 × 90 mg/1ml/d s.c.	kožní iritace v místě vpichu – bolest a zarudnutí po aplikaci periferní neuropatie (2 %), záněty horních dýchacích cest až pneumonie	náročná příprava (ředění) a vlastní aplikace

\*) Přehled léčiv potenciálně ovlivňujících hladinu maravirocu je uveden v tabulce 7.

Tabulka 7

Interakce na úrovni jaterních cytochromových enzymů

Skupina	Zástupci	Výsledek
Inhibitory CYP3A4	inhibitory proteinázy (kromě tipranaviru a fosamprenaviru), ketokonazol, itraconazol, clarithromycin, telithromycin	zvýšené hladiny léků, které jsou substráty
Induktory CYP3A4	efavirenz, rifampicin	snížené hladiny léků, které jsou substráty

Krom uvedených léků přichází v úvahu léčba těmito anti-virotiky: MVC, T20, TPV, IDV, ddI, d4T.

Při výběru léků se zohledňuje:

- předpokládaná dobrá tolerance;
- dávkování (přednost mají jednoduché režimy 1–2×/d a s nižším počtem tablet);
- neuroprotektivní efekt (sekundární prevence neurokognitivní poruchy vázané na infekci HIV [*HIV-associated neurocognitive disorders*, HAND]: z tohoto pohledu je vhodný dostatečný podíl AR léků s penetrací do CNS – dobrou [ABV, FTC, ZDV, NVP, LPV/r, IDV] nebo alespoň uspokojivou [3TC, d4T, EFV, DRV, ATV, FPV]);
- poruchy tukového metabolismu před léčbou (z PI méně vhodné LPV/r, FPV, SQV);
- psychické poruchy (nevhodný EFV);
- hepatopatie (nevhodný NVP, méně vhodné PI);
- nefropatie (nevhodný TDF);
- periferní neuropatie (nevhodný ddI, d4T);
- anémie nebo současné podání hematotoxických léků (nevhodný ZDV);
- alergie na sulfonamidy (nevhodný TPV) atd.

Přehled antiretrovirotik a jejich dávkování uvádí *tabulky 3–6* a *tabulka 8*. Při stanovení dávek je třeba zohlednit interakce na úrovni cytochromových enzymů (*tabulka 7*) a nedostatečnost ledvin (*tabulka 9*).

## 7. Sledování efektu a toxicity léčby a adherence

### 7.1 Hodnocení nežádoucích účinků a efektu léčby

#### Hodnocení nežádoucích účinků léčby:

- časné nežádoucí účinky do 4–6 týdnů na základě: anamnézy; (fyzikálního vyšetření – např. exantém); laboratorních testů: KO, kreatinin, JT, AMS; známky hypersenzitivního syndromu při léčbě ABV;
- pozdní nežádoucí účinky za > 6 týdnů – v klinickém nálezu a odběrech za 3, 6 a více měsíců: laboratorní testy: KO, kreatinin, blr, JT, AMS, cholesterol, TG; ikterus (ukončení léčby ATV je indikováno při opakovaném zvýšení aminotransferas nebo bilirubinémie > 90 μmol/l); morfologické a/nebo antropometrické známky lipodystrofie.

Tabulka 8  
Kombinované antiretrovirové preparáty

Složení	Obchodní název	Dávkování
ABV + 3TC	Kivexa, (Epicom)	1 × (600/300) mg/d
FTC + TDF	Truvada	1 × (200/300) mg/d
ZDV + 3TC	Combivir	2 × (300/150) mg/d
ZDV + 3TC + ABV	Trizivir	2 × (300/150/300) mg/d
FTC + TDF + EFV	Atripla	1 × (200/300/600) mg/d

#### Hodnocení efektu léčby:

- za 3 měsíce:  
VL HIV RNA < 400 kopií/ml (zvýšení CD4+);
- za 6 měsíců:  
VL HIV RNA < 50 kopií/ml.

### 7.2 Selhání AR léčby

#### Virologické ukazatele selhání léčby:

VL HIV RNA > 50 kopií/ml 6 měsíců po zahájení léčby.

Zhodnocení příčiny:

Prověřit:

- náhodu (překontrolovat za 1–2 měsíce);
- non-complianci (z důvodu intolerance, toxicity, non-adherence);
- možnost lékové interakce;
- rezistence (testování in vitro).

### 7.3 Nová kombinace AR léků

Po vyloučení non-adherence, vytvoření přehledu dosavadní léčby, obdržení výsledku testování rezistence následuje:

- změna AR kombinace: nahradit alespoň 2–3 léky v trojkombinaci;
- zhodnocení nového režimu;
- optimalizace nového režimu (s ohledem na obdržené výsledky testování rezistence).

## 8. Antiretrovirová léčba za specifických okolností

### 8.1. Těhotenství

#### Indikace

Na základě klinických a laboratorních údajů je třeba rozlišit, zda sama těhotná žena:

1) vyžaduje léčbu HIV infekce

- již léčená:  
pokračovat v cART (bez EFV)
- dříve léčená:  
znovu zahájit (event. s vyšetřením rezistence HIV)
- dosud neléčená:  
zahájit léčbu v 2. trimestru [do 28. gestačního týdne] – 3kombinací

2) nevyžaduje léčbu:

zahájit léčbu v 3. trimestru – 2–3kombinací.

#### Volba antiretrovirových léků

U těhotné ženy nevyžadující léčbu podat 3kombinaci, i když lze vystačit s 2kombinací.

Antiretrovirotika v těhotenství:

- preferovaná:  
ZDV + (3TC nebo ABV) + PI
- nevhodná:  
3 NNRTI nebo 2 NNRTI + 1 NtRTI  
NVP při CD4+ > 250/μl  
RLV, DRV, ETV – nedostatek zkušeností



- kontraindikovaná:  
EFV – teratogenita  
ddI + d4T – laktátová acidóza (mitochondriální toxicita).

**Porod**

- se uskuteční na specializovaném pracovišti;
- provází aplikace infúze zidovudinu;
- vede se císařským řezem (lze opominout, pokud VL HIV RNA < 50 kopií/ml).  
Po porodu se zastavuje laktace (antagonisty prolaktinu) a dítě se od narození nekojí.

**8.2 Současná infekce tuberkulózou**

Koinfekce tuberkulózou vyžaduje současné užívání anti-tuberkulotik.

**Volba AR léků:** Preferované AR kombinace zahrnují:

TDF + FTC + EFV (event. v upraveném dávkování);  
TDF + FTC + PI (pokud je místo rifampicinu použit rifabutin);  
ZDV + 3TC + ABV ± TDF (pokud je VL HIV < 100 000 kopií/ml).

Tabulka 9  
Úprava dávkování antiretrovirotik u nedostatečnosti ledvin

Léčivo	eGFR (mL/min.)				HD
	≥ 50	30–49	10–29	< 10	
tenofovir, TDF	300 mg/24 hod.	300 mg/48 hod.	nedoporučuje se, není-li alternativa: 300 mg/72–96 hod.	nedoporučuje se, není-li alternativa: 300 mg/7 dní	300 mg/7 dní po HD
abacavir, ABV	300 mg/12 hod.				
zidovudin, ZDV	300 mg/12 hod.			100 mg/8 hod.	
emtricitabin, FTC	200 mg/24 hod.	200 mg/48 hod.	200 mg/72 hod.	200 mg/96 hod.	200 mg/96 hod.
lamivudin, 3TC	300 mg/24 hod.	150 mg/24 hod.	100 mg/24 hod.	25–50 mg/24 hod.	25–50 mg/24 hod. po HD
didanosin, ddI	≥ 60 kg: 400 mg/24 hod. < 60 kg: 250 mg/24 hod.	≥ 60 kg: 200 mg/24 hod. < 60 kg: 125 mg/24 hod.	≥ 60 kg: 150 mg/24 hod. < 60 kg: 100 mg/24 hod.	≥ 60 kg: 100 mg/24 hod. < 60 kg: 75 mg/24 hod.	
stavudin, d4T	> 60 kg: 40 mg/12 hod. < 60 kg: 30 mg/12 hod.	> 60 kg: 20 mg/12 hod. < 60 kg: 15 mg/12 hod.	> 60 kg: 20 mg/24 hod. < 60 kg: 15 mg/24 hod.	> 60 kg: 20 mg/24 hod. < 60 kg: 15 mg/24 hod.	> 60 kg: 20 mg/24 hod. po HD < 60 kg: 15 mg/24 hod. po HD
etravirin, ETV	200 mg/12 hod.				
nevirapin, NVP	200 mg/12 hod.				
efavirenz, EFV	600 mg/24 hod.				
lopinavir/ ritonavir, LPV/r	400/100 mg/12 hod.				
darunavir/ ritonavir, DRV/r	800/100 mg/24 hod.				
atazanavir/ ritonavir, ATV/r	nedoporučuje se, není-li alternativa: 300/100 mg/24 hod.				
saquinavir/ ritonavir, SQV/r	1 000/100 mg/12 hod.				
fosamprenavir/ ritonavir, FPV/r	700/100 mg/12 hod.				
fosamprenavir/ ritonavir, FPV/r	500/200 mg/12 hod.				
indinavir, IDV	kontraindikováno				
raltegravir, RLV	400 mg/12 hod.				400 mg/12 hod. po HD
maraviroc, MVC	bez inhibitorů CYP3A4: 300 mg/12 hod. s inhibitory CYP3A4: při eGFR < 80 ml/min. redukce dávky				

**Dávkování AR léků při léčbě AT kombinací:**

- s rifampicinem:  
NRTI a NtRTI: úpravy dávky netřeba  
EFV: > 60 kg: 800mg/d, < 60 kg: 600 mg/d  
NVP a ETV: se nedoporučují  
PI/r: kontraindikovány  
RLV: 2 × 800 mg/d  
MVC: 2 × 600 mg/d (nevhodné)  
T-20: normální dávky
- s rifabutinem:  
NRTI a NtRTI: úpravy dávky netřeba  
EFV: normální dávka (však rifabutin 450 mg/d)  
NVP a ETV: se nedoporučují  
PI/r: normální dávka, rifabutin 3 × 150 mg/týden  
RLV: nejsou údaje  
MVC: normální dávka  
T-20: normální dávky  
Doporučuje se monitorování hladin antituberkulotik.

**8.3 Současná infekce hepatitidou**

**Koinfekce HIV + VHB**

Kombinace AR léků při současné chronické hepatitidě B:

- preferované:  
TDF + (FTC nebo 3TC) + ...
- nevhodné a u cirhózy kontraindikované:  
NRTI: ddI, d4T, ZDV  
NNRTI: NVP.

**Koinfekce HIV + VHC**

Kombinace AR léků při současné chronické hepatitidě C:

- nevhodné a u cirhózy kontraindikované:  
NRTI: ddI, d4T, ZDV  
NNRTI: NVP.

Podrobnosti léčby chronických virových hepatitid uvádí samostatné doporučené postupy [6,7].

**8.4 Další komorbidity**

**Dyslipidémie**

V léčbě statiny při podávání potencovaných inhibitorů HIV proteinázy, tj. s přidavkem ritonaviru (PI/r), se musí brát v úvahu lékové interakce na úrovni cytochromových enzymů. Potencované inhibitory HIV proteinázy (PI/r) zvyšují hladiny některých statinů, čímž se zvyšuje riziko rhabdomyolýzy, event. až renální insuficience. Důležité je sledování klinického stavu a kontrola CK, LDH, event. myoglobinu.

Ze statinů jsou

- vhodné:  
fluvastatin (Lescol),  
atorvastatin (Sortis, Torvacard, Tulip),  
rosuvastatin (Crestor, Rosucard) – v nižší dávce (≤ 20 mg/d);
- nevhodné:  
lovastatin (Mevacor, Lovacard);
- kontraindikované:  
simvastatin (Siocor, Simgal, Simvacard, Simvor, Vasilip).  
Z racionální léčby byly vyřazeny pravastatin (Lipostat) a cerivastatin (Lipobay).

**Vážné poruchy ledvin a jater**

Renální onemocnění a hepatopatie vyžadují zodpovědný výběr léků a případně úpravu jejich dávkování.

**9. Postexpoziční profylaxe infekce HIV**

**9.1. Profesionální expozice a akcidentální neprofesionální poranění s kontaminací HIV**

Kontaminované poranění zdravotníků a podobné expozice HIV infikované krvi jsou za jistých okolností důvodem k podání postexpoziční profylaxe (PEP) infekce HIV.

**Indikace**

Bere se v úvahu:

- biologický materiál: vysoce infekční krev vs. méně infekční jiné tělní tekutiny (plodová voda, zvratky, sliny, moč);
- množství kontaminujícího materiálu: viditelná krev v duté jehle nebo na nástroji, po intravenózní aplikaci vs. nepatrné množství krve na nástroji, jehla po i.m. nebo s.c. aplikaci;
- povaha zranění: vysoce rizikový hluboký vpich nebo řeznutí při operaci, méně rizikové škrábnutí, potřísnění neintaktní kůže, delší kontaminace sliznice, prakticky bez rizika: potřísnění intaktní kůže a krátká kontaminace sliznice (< 15 min.);
- stav zdrojové osoby: jistá infekce HIV neléčená (s vysokou virémií), léčená (s předpokládanou nebo stanovenou nízkou nebo nedetekovatelnou virémií), možná infekce HIV u osoby s rizikovými faktory;

PEP indikována:

- u vysoce rizikového poranění od zdrojové osoby HIV pozitivní nebo podezřelé z infekce;
- u méně rizikového poranění od zdrojové osoby HIV pozitivní. Hraniční situace možno řešit podáním 2kombinace antiretrovirotik.

**Provedení PEP**

Standardní kombinace:

TDF/FTC nebo ZDV/3TC + LPV/r

Individualizovaný režim: podle nežádoucích účinků léků; odlišné AR léky, než užívá zdrojová osoba.

Zahájení PEP: ideálně < 4 hod., akceptovatelné < 48 hod.

Trvání PEP: 4 týdny.

**Sledování a poradenství**

- Testování zdrojové osoby na HIV (předběžně možno i rychlotestem), HBV, HCV, popř. syfilis (co nejdříve, pokud lze).
- Případné přehodnocení expertem (do 2–3 dnů).
- Poučení o reálném riziku, příznacích primoinfekce, potřebě sexuální abstinence.
- Testování HIV, HBV, HCV, těhotenský test (v prvních dnech).
- Vyšetření krevního obrazu, aminotransferas, případně HCV-PCR a syfilidy (za měsíc).
- Testování HIV, HCV (za 2 a 4 měsíce, popř. 6 měsíců).
- Hlášení AIDS centru Na Bulovce.

## 9.2. Koitální expozice

### Indikace

PEP indikována:

- u análního nebo vaginálního styku s osobou HIV pozitivní nebo podezřelou z infekce;
- u receptivního orálního styku s ejakulací s osobou HIV pozitivní.

Hraniční situace možno řešit podáním 2kombinace antiretrovirotik.

### Provedení PEP

Zásadně se neliší od PEP u poranění, ale je nadstandardním postupem, který hradí klient.

### Zkratky

ABV	abacavir
AIDS	acquired immunodeficiency syndrome, syndrom získané imunodeficiencie
AMS	amylasa
AR	antiretrovirový
AT	antitubekulózní
ATV	atazanavir
BMI	Body Mass Index
cART	combination antiretroviral therapy
CK	kreatinfosfokinasa
CNS	centrální nervový systém
dId	didanosin
d4T	stavudin
DRV	darunavir
EA	epidemiologická anamnéza
EFV	efavirenz
eGFR	estimated glomerular filtration rate, odhadnutá hodnota glomerulární filtrace
ETV	etravirin
FPV	fosamprenavir
FTC	emtricitabin
HBV	virus hepatitidy B
HCV	virus hepatitidy C
HIV	human immunodeficiency virus, lidský virus imunodeficiencie
II	inhibitor integrasy
IRIS	immune restore inflammatory syndrome, syndrom imunitní obnovy
KO	krevní obraz
LDH	laktátdehydrogenasa
LPV/r	lopinavir/ritonavir
MVC	maraviroc
NFV	nelfinavir
NNRTI	nenukleosidový inhibitor reverzní transkriptasy

NRTI	nukleosidový inhibitor reverzní transkriptasy
NtRTI	nukleotidový inhibitor reverzní transkriptasy
NVP	nevirapin
P	puls
PCR	polymerázová řetězová reakce
PEP	postexpoziční profylaxe
PI	inhibitor prote(in)asy
PI/r	inhibitor prote(in)asy „boostovaný“ ritonavirem
RLV	raltegravir
RNA	ribonukleová kyselina
RPR	rychlý plazmatický reagin (netreponemový test na syfilis)
STD's	sexuálně přenosné nemoci
SQV	saquinavir
TAT	tetanový anatoxin
TDF	tenofovir
TK	arteriální krevní tlak
TPHA	Treponema pallidum hemaglutinační test (treponemový test na syfilis)
TPV	tipranavir
T-20	enfuvirtid
VH	virová hepatitida
VHA	virová hepatitida A
VHB	virová hepatitida B
VHC	virová hepatitida C
VL	viral load, virová nálož
ZDV	zidovudin
3TC	lamivudin

### Literatura

1. Sedláček D, Staňková M, Machala L, Rozsypal H, Snopková S, Dostál V, Kolčáková J, Dlouhý P, Jerhotová J. Komplexní postup antiretrovirové léčby osob infikovaných virem lidské imunodeficiencie (HIV) v České republice. *Klin mikrobiol inf lék.* 2007;13(1):28–34. On-line: <http://kmil.trios.cz/dopcart1.htm>.
2. Rozsypal H, Staňková M, Sedláček D, Snopková S, Kapla J, Aster V, Machala L, Jilich D, Dlouhý P, Kolčáková J, Zjevčiková A, Jerhotová J, Olbrechtová L. Doporučený postup komplexní péče o dospělé infikované HIV. Vydán: červen 2010. Verze 1. On-line: Doporučený postup komplexní péče o dospělé infikované HIV (na stránce [www.infekce.cz](http://www.infekce.cz)).
3. EACS Guidelines. Version 6.1 – November 2012. On-line: <http://www.europeanaidsclinicalociety.org/>.
4. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents. March 27, 2012. Developed by the HHS Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents – A Working Group of the Office of AIDS Research Advisory Council (OARAC). On-line: <http://www.aidsinfo.nih.gov/>.
5. Jilich D, Machala L, Rozsypal H, Aster V, Staňková M. Návrh doporučeného postupu očkování u dospělých osob infikovaných virem HIV-1. *Klin mikrobiol inf lék.* 2008;14(2):59–64. On-line: <http://kmil.trios.cz/kmil08023c.htm>.
6. Husa P, Plíšek S, Šperl J, Urbánek P, Galský J, Hůlek P, Kumpel P, Němeček V, Volfová M. Diagnostika a léčba chronické hepatitidy B. *Klin mikrobiol inf lék.* 2008;14(1):36–44. On-line: <http://www.infekce.cz/DoporVHB09.htm>.
7. Galský J, Husa P, Hejda V, Kumpel P, Němeček V, Plíšek S, Šperl J, Urbánek P, Volfová M. Standardní diagnostický a terapeutický postup chronické infekce virem hepatitidy C (HCV). *Klin mikrobiol inf lék.* 2012;18(3):75–89. On-line: Pracovní verze, obrazová příloha pracovní verze (ve formátu .pdf).

## 5<sup>th</sup> European Congress for Hospital Engineering

Dne 10.–12. dubna 2013 se konal ve švýcarském Bernu 5<sup>th</sup> European Congress for Hospital Engineering. Přednášky a prezentace firem byly soustředěny do budovy Kursaal Bern. Tato kruhová prosklená budova je umístěna v jednom z mnoha svahů v Bernu a je z ní velmi pěkný výhled na řeku Aare a velkou část centra města. Přednášky probíhaly ve třech různě velkých halách – „Arena“, „Mezzo“ a „Scenario“.

První den (úterý 9. 4. 2013) se uskutečnilo setkání představitelů nemocničních společností z některých evropských států. Ve středu se pak v odpoledních hodinách konaly přednášky v sále „Aréna“; jednalo se o pozdravy prezidenta IHS (Ingenieur Hospital Schweiz), prezidenta nemocnic Švýcarska a ekonoma Dr. Willyho Oggiera. Následovala zajímavá přednáška Prof. Dr. T. Stockera o změnách a ochraně klimatu a problematice produkce kyslíčnicku uhličitého. Ve večerních hodinách se konala uvítací večeře.

Ve čtvrtek (11. 4. 2013) po celý den probíhaly souběžně ve všech třech sálech přednášky. V dopoledních hodinách, v sále „Aréna“, se sdělení věnovala problematice optimálního využívání lidských zdrojů a nakládání s energiemi v současné době, kdy stoupají veškeré výdaje za provoz nemocnic. Odpolední přednášky byly zaměřeny na architekturu a plánování zdravotnických zařízení, a to jak rekonstrukce, tak i stavbu na zelené louce. Velmi zajímavá přednáška pocházela z ateliéru Buro Happold Ltd. z Londýna. Na matematickém modelu bylo názorně představeno, co by mělo předcházet výstavbě nemocnic. Vše začínalo příchodem a následujícími směry pohybujících se příchozích podle zdravotního problému a dalších vyšetření. Zajímavé bylo sdělení o technologii stavebních modulů, které představují „stavební kostky“ pro realizaci výstavby celých budov různých typů zdravotnických zařízení. Paralelně v sále „Mezzo“ v době do oběda odeznělo sedm přednášek věnovaných udržitelnosti současného stavu spotřeby energie. V této sekci za nejlepší přednášku považuji sdělení Dr. B. Vazqueze o významu analýzy mikroklimatu pro hlavní plánování nemocnic. V odpoledním programu pro-

běhlo také sedm přednášek; ty se věnovaly stavebním technologiím. Velkým otazníkem pro mne však byla přednáška Ing. M. Corrado z Milána. Její příspěvek pojednával o rekonstrukci neurochirurgické JIP a použití materiálu, který snižuje riziko přítomnosti mikrobů. Ty se ovšem objevily pouze v nadpisu a dále o nich již nepadla ani zmínka. Nepochopila jsem, co tím chtěl básník říci. V sále „Scenario“ se konaly přednášky, které byly věnovány nemocničním technologiím, od problematiky operačních sálů až po riziko ředění cytostatik v nemocničních lékárnách. Toto sdělení uvedl pan D. Meyer z Getinge Life Sciences a celkově to byla, dle mého mínění, nejlepší přednáška po všech stránkách. Odpoledních sedm přednášek bylo věnováno ochraně budov a pacientů především před ohněm, úrazy elektrickým proudem a propojení celých komplexů nemocnic a personálu pomocí počítačových programů. Příspěvky určené pro páteční dopoledne proběhly v sále „Arena“. Velmi mne zaujalo sdělení Prof. Dr. R. Mullera z ETHZ (Die Eidgenössische Technische Hochschule Zürich) o významu a uplatnění nelékařských odborníků v nemocnicích. V odpoledních hodinách se uskutečnila exkurze do jedné z bernských nemocnic, kde jsme si prohlédli nově budované pracoviště pro vyšetřovací metody v gastroenterologii a hrubou stavbu aseptického operačního sálu. Většina přednášejících hovořila německým jazykem, bylo však k dispozici simultánní tlumočení do angličtiny a francouzštiny.

Počasí ve dnech mého pobytu v Bernu bylo skutečně dubnové, nicméně při pověstné čistotě Švýcarska byla i voda v kalužích čirá. Překvapilo mne, že na tomto sjezdu nebyl žádný zástupce z České republiky.

Na závěr mi nedá poznamenat, že vše po celou dobu kongresu klapalo jako švýcarské hodinky.

doc. RNDr. Ivanka Matoušková, Ph.D.  
Ústav preventivního lékařství LF UP v Olomouci

## Novinky u sepse – zpráva z 23. evropského kongresu klinické mikrobiologie a infekčního lékařství

Letošní Evropský kongres klinické mikrobiologie a infekčního lékařství (23rd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), který se konal od 27. do 30. dubna v Berlíně, přinesl celou řadu zajímavých novinek. K nejzajímavějším přednáškám pak patřily ty, které byly zaměřeny na život ohrožující stavy, mezi kterými zaujímají přední místo sepse a bakteriémie. Zdůrazněny byly nové diagnostické postupy, antimikrobiální i imunomodulační terapie a v neposlední řadě také některé pokroky v chápání patogeneze.

V přednáškovém bloku, který byl zaměřen na problematiku molekulárně-biologické diagnostiky tří nejdůležitějších infekcí vedoucích k hospitalizaci (tj. infekcí respiračního traktu, zažívacího traktu a sepse), byla pro klinické lékaře velmi zajímavá prezentace dr. Jatonové ze švýcarského Lausanne, která se zaměřila na velmi citlivé téma standardně užívaných mikrobiologických metod a nových diagnostických postupů založených na využití molekulárně-biologických metod i hmotnostní spektrometrie. V didakticky velmi pěkné přednášce dr. Jatonová zhodnotila výtečnost standardní hemokultivace, jejíž senzitivita se v průměru pohybuje mezi 5 až 10 % při použití systému BACTECT<sup>TM</sup>. Současně bylo uvedeno, že v 90 % případů pozitivní kultura je růst bakterií detekován již během prvních 24 hodin. Otázkou, která by měla být do budoucna vyřešena, je zvýšení senzitivity a rychlosti diagnostiky bakteriémie. Určitou nadějí pro dosažení pokroku v této oblasti představuje použití metod molekulární diagnostiky sloužících k detekci bakteriální DNA. Metody molekulární diagnostiky jsou totiž schopny detekovat bakteriální DNA i při nízké hustotě bakterií v krvi (tj. 1 až 10 kolonie-formujících jednotek). Problémem v případě pozitivní detekce bakteriální DNA však je (a to i přes značnou oblibu těchto metod), že může jít o materiál z mrtvých bakterií, kontaminaci z kůže, nebo dokonce o důsledek bakteriální translokace ze střeva při jeho ischemii při těžkých stavech. Dr. Jatonová zdůraznila, že v procesu detekce bakterií, jejich identifikace a určení citlivosti k antibiotikům se jako nespolehlivější nová metoda jeví MALDI-TOF, která urychluje identifikaci.

V přednáškovém bloku nazvaném „What is new in sepsis“ se sešly čtyři velmi uznávané autority v oblasti výzkumu sepse: Tom van der Poll (Amsterdam), Steven Opal (Pawtucket, USA), Jean-Daniel Chiche (Paříž) a Thierry Calandra (Lausanne). Blok začal přednáškou, která byla oceněna cenou International Forum for Sepsis. Šlo o problematiku polymorfismu chemokinu – faktoru inhibujícího makrofágy (MIF, macrophage inhibitory factor), který je produkován imunitními i endotelovými buňkami. Je známo, že vysoká hladina MIF v krvi u sepse je prognosticky nepříznivá, a proto byly u 426 pacientů s pneumokokovou me-

ningitidou studovány funkční polymorfismy genu pro tento chemokin. Bylo prokázáno, že funkční polymorfismus označovaný jako CATT 7, jenž vede k vyšší produkci MIF při infekci, je asociován s horší prognózou pneumokokové meningitidy. Současně byly u zemřelých pacientů nalezeny vyšší koncentrace MIF v mozkomíšním moku oproti nemocným, kteří toto závažné onemocnění přežili. Následná experimentální studie u myši s pneumokokovou pneumonií a blokádu MIF pak vedla k lepšímu přežití, což dokládá význam tohoto chemokinu u těžkých bakteriálních infekcí.

Přehledné přednášky v tomto bloku byly soustředěny na novinky v oblasti epidemiologie, diagnostiky a terapie sepse. Například bylo poukázáno na pravidelný meziroční vzestup incidence sepse, který se pohybuje kolem 13 %; uvedena byla i průměrná smrtnost, pohybující se v posledních letech mezi 14,7 až 29,9 %. Diskutována byla také problematika použití rekombinantního lidského aktivovaného proteinu C (rhAPC, recombinant human activated protein C), kterému byla loni odebrána registrace na základě negativního výsledku studie PROWESS-Shock. Přes tento negativní výsledek je snaha využít vhodné vlastnosti APC, které nezasahují do koagulační kaskády. Takto modifikovaný APC vedl k lepšímu přežití sepse u myši. Současně byl naznačen zajímavý důvod, proč studie PROWESS-Shock s 1 680 zařazenými pacienty nevedla k pozitivnímu výsledku. V původní studii PROWESS s rhAPC a 1 690 zařazenými pacienty se sepsí, která proběhla v roce 2001, byla v placebo skupině smrtnost 30,8 %, oproti smrtnosti sepse 24,2 % zjištěné v placebo skupině ve studii PROWESS-Shock, která byla ukončena v roce 2011. Možným vysvětlením je celkové zlepšení prognózy sepse, k němuž došlo v desetiletí, které uběhlo mezi oběma studii. Hlavní roli v tomto příznivém trendu pak nejspíše měla nespécifická opatření, jako jsou adekvátní objemová náhrada, včasná antibiotická terapie, kontrola glykémie a další, která jsou uvedena v doporučení pro terapii těžké sepse a septického šoku prosazovaném v rámci Surviving Sepsis Campaign.

Diskutovány byly i další terapeutické molekuly zahrnující rozpustný trombomodulin (tento je ve fázi 3. klinického hodnocení) a hemoperfúze s kapslí s polymyxinem B, který váže endotoxin. Nadějným směrem vývoje jsou i monoklonální protilátky proti komplementovému štěpu C5a, jež by však mělo smysl podat pouze u septických pacientů se zvýšenými hladinami C5a v krvi. Z nových cílů pak byly zmíněny možnosti blokády molekuly CD28, která je důležitým koreceptorem toxinu syndromu toxického šoku a prozánětlivé terapie zaměřené na modulaci protizánětlivé odpovědi, jako je například blokáda molekuly PD-1, jež je odpovědná za apoptózu imunitních buněk. Zájem o imunitní systém u septických pacientů byl podtržen v přednášce věnované

dysregulaci buněk přirozené i získané imunity, v níž byla opakovaně zdůrazněna role různých subpopulací dendritických buněk při sepsi. Je například již prokázáno, že jejich počty v krvi jsou při sepsi sníženy a že neschopnost počet i funkce dendritických buněk rychle obnovit zvyšuje vnímavost k sekundární bakteriální infekci u kriticky nemocných pacientů.

V souvislosti s prováděním klinických hodnocení nových terapií sepse bylo upozorněno také na jejich četná rizika. V nedávné době byla například zastavena studie s talactoferrinem ve fázi 2, protože podávání této látky významně zvyšovalo smrtelnost sepse u zařazených nemocných (!). Zajímavý byl i přehled téměř tří desítek multicentrických klinických hodnocení nových terapií sepse, které byly zkoušeny v posledních dvou desetiletích a které nepřinesly pozitivní výsledek. Osobně za nejzajímavější považuji posun paradigmatu chápání zánětlivé odpovědi při sepsi. Do současné doby byla převážně představována časová konsekvence,

kdy nejdříve se rozvine syndrom systémové zánětlivé odpovědi (SIRS, Systemic Inflammatory Response Syndrome), a teprve poté dojde k rozvoji syndromu kompenzační protizánětlivé odpovědi (CARS, Compensatory Anti-Inflammatory Response Syndrome). V přednáškách v této sekci poprvé opakovaně zaznělo, že SIRS i CARS se rozvíjejí i probíhají současně. Zdá se tedy, že průkopnická práce, jejímiž autory jsou Pugin a Munford, publikovaná v roce 2001 v *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, konečně došla svému zaslouženému ocenění.

*Práce byla podpořena grantem IGA NT/1139-5.*

prof. MUDr. Michal Holub, Ph.D.  
Klinika infekčních a tropických nemocí, 1. LF UK  
a Nemocnice Na Bulovce  
e-mail: michal.holub@lf1.cuni.cz

## Stručné pokyny pro autory

Redakce přijímá příspěvky v češtině nebo ve slovenštině, které odpovídají odbornému profilu časopisu. Kromě dopisů redakci, diskuzí, zpráv a společenské rubriky jsou všechny přijaté práce recenzovány (*peer review*), přičemž se zachovává oboustranná anonymita. O výsledcích recenzního řízení a názoru redakce na konečnou úpravu článku je autor informován. Před definitivním odevzdáním do tisku bude autorovi zaslán provizorní výtisk práce k autorské korektuře, která musí být zaslána zpět do redakce do pěti pracovních dnů.

Některé články jsou uváděny v plném znění i na internetové stránce časopisu.

Příspěvky se zasílají do redakce časopisu jednak ve formě kompletního výtisku s obrazovou dokumentací a podpisy hlavního autora, jednak v elektronické podobě na CD nebo e-mailem na adresu redakce.

Titulní list obsahuje (a) údaje pro uvedení do časopisu: název, jména autorů ve zkrácené podobě a s odkazy na pracoviště, názvy pracovišť, typ sdělení a kontaktní adresu (včetně e-mailu) korespondujícího autora, (b) celá jména autorů, (c) údaje sloužící ke komunikaci autora s redakcí: telefon, fax, rodné číslo, bankovní spojení, (d) prohlášení, že zasláný text je určen pro otištění v časopisu *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství* a nebyl ani nebude jinde publikován (vyloučení duplicitních publikací), a klauzuli, že spoluautoři souhlasí s textem zasláného sdělení a s uveřejněním v tomto časopisu, (e) negativní prohlášení o sponzorování či střetu zájmů; v opačném případě, kdy je práce sponzorována (grantem, jinou organizací, výrobcem apod.) nebo dochází-li ke střetu zájmů (např. autor je přímo či nepřímo zainteresován na výsledcích výroby či prodeje, je majitelem popisovaného patentu apod.), musí být tato skutečnost v závěru sdělení uvedena, (f) u klinických studií čestné prohlášení o schválení místní etickou komisí a (g) u pokusů na zvířatech prohlášení, že byly dodrženy ústavní nebo národní předpisy a směrnice pro chov a experimentální užití zvířat. Formulář s podpisy autora a všech spoluautorů lze doplnit i během recenzního řízení.

Každý příspěvek musí být přiřazen k některému typu sdělení a podle toho je v redakci posuzován. Musí splňovat určité obsahové a formální požadavky: musí mít předepsaný rozsah, počet literárních odkazů a odpovídající souhrn v češtině (popř. slovenštině) a angličtině (viz tabulka). Původní práce se standardně rozdělují na oddíly Úvod – Materiál a metody – Výsledky – Diskuze – Závěr a má strukturovaný abstrakt rozdělený do odstavců Cíl práce, popř. východisko – (Materiál a) metody – Výsledky – Závěr, anglicky Background nebo Objective(s) – (Material and) Methods – Results – Conclusions. Přehledový článek má volnější formu, důraz je kladen na přehlednost a aktuálnost. Jednoduššími typy příspěvků jsou krátké sdělení, dopis redakci, zpráva, recenze knihy a oznámení. Doporučený postup se otiskuje ve znění, jak byl vydán garantující odbornou společností.

Grafy, schémata, tabulky, vzorce či obrázky musí být připojeny na zvláštním listu, na rubu s uvedením prvního autora a názvu práce. V textu je třeba na ně na příslušných místech uvádět odkazy. Digitální fotografie, tabulky, grafy a další ilustrace v elektronické podobě je vhodné zasílat v příloze textového souboru vždy jako samostatné dokumenty v původním formátu.

Formát bibliografických referencí je popsán a vysvětlen v podrobných pokynech, základní vzory citování literárních pramenů vyplývají z příkladů:

- Standardní článek v časopisu:  
Dlouhý P, Herold I, Kolář M, et al. Postavení linezolidu v léčbě rezistentních gram pozitivních infekcí. *Klin Mikrobiol Inf Lek.* 2006;12(1):4–9.
- Článek v suplementu časopisu:  
Křemen st J, Stříbrná J, Pavlíková A, et al. Metody molekulární biologie v dermatovenerologické diagnostice. *Prakt Léč.* 2005;85(Suppl 1):40–2.
- Monografie (kniha):  
Wilson SJ. Blood cultures. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone; 1992.
- Kapitola v knize:  
Modr Z. Základy farmakokinetiky antibiotik. In: Vacek V, Hejzlar M (eds). Chemoterapie infekčních nemocí v klinické praxi. 1. vyd. Praha: Avicenum; 1988. s. 42–52.
- Článek ve sborníku:  
Leib SL, Leppert D, Clements J, Lindberg RLP, Pfister LA, Täuber MG. Combined inhibition of tumor necrosis alpha converting enzyme and matrix metalloproteinases by BB1101 attenuates disease, mortality and brain damage in experimental bacterial meningitis (Paper 2044). Abstracts of the 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 1999 September 26–29; San Francisco, USA. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1999.
- CD-ROM (1 CD ze sady):  
Mildvan D. (editor). AIDS (Vol. I). In: Mandell GL (editor-in-chief). Atlas of Infectious Diseases on CD-ROM [CD-ROM]. London: Electronic Press Ltd.; 1996.
- Článek z internetu:  
Scott LA, Stone MS. Viral exanthems. *Dermatol Online J.* 2003 Nov [cited 2004 Jan 10];9(3):4. Available from: <http://dermatology.cdlib.org/93/reviews/viral/scott.html>.

Převzaté rozsáhlejší partie textu a dokumentace musí být doloženy souhlasem autora a vydavatele původní publikace s otištěním. Sdělení nesmí porušit anonymitu pacienta.

Podrobné návody k členění textu a formální úpravě rukopisu, stejně jako některá pravopisná a názvoslovná doporučení, se nachází v úplných pokynech autorům na internetové stránce časopisu <http://kmil.trios.cz/>.

Tabulka: Přehled jednotlivých typů sdělení

Typ sdělení	Obvyklý rozsah	Počet literárních odkazů	Souhrn	Recenzní řízení
původní práce	8–16 normostran	10–20 referencí	strukturovaný	2 recenzenti
přehledový článek	10–20 normostran	20–50 referencí	nestrukturovaný	2 recenzenti
krátké sdělení	3–6 normostran	3–10 referencí	nestrukturovaný	1–2 recenzenti
dopis redakci	1–5 normostran	0–5 referencí	není	neprobíhá
zpráva	1–5 normostran	obvykle nejsou	není	neprobíhá