

# 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 Plíšek, 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 Chmelář, 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, PhD.  
Čestná členka Slovenskej spoločnosti klinickej  
mikrobiologie, 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.  
Klinika infekčního lékařství, FN Ostrava  
MUDr. Josef Scharfěn, CSc.  
Odd. lék. mikrobiol. a imunol. Oblast. nemocnice Trutnov  
Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.  
Klinika pro infekční 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 UK, 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.

## OBSAH

### ÚVODNÍK

*L. Rožnovský*

99

### PŮVODNÍ PRÁCE

#### Epidemiologie, etiologie a klinický obraz enterovirových meningitid u dětí na jižní Moravě

*A. Braunová, P. Rainetová, L. Krbková, I. Čapovová,  
L. Klapačová, V. Musil, M. Musílek, J. Bednářová*

100

### PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

#### Interpretace bakteriální citlivosti/rezistence k antibiotikům

*M. Kolář*

105

#### Tenofovir alafenamid fumarát – nová generace tenofoviru

*S. Snopková, K. Havlíčková, P. Husa*

111

#### Integrázové inhibitory II. generace

*D. Jilich*

119

#### Je nutno revakcinovat proti viru hepatitidy B při poklesu titru anti-HBs protilátek pod 10 IU/l?

*P. Polák, P. Husa, P. Smejkal, J. Kamelander,  
G. Chlupová, M. Penka*

125

### KRÁTKÉ SDĚLENÍ – KAZUISTIKA

#### Salmonelóza – reálná hrozba pro kojece

*V. Musil, L. Krbková, P. Mikolášek, L. Homola, A. Braunová*

121



## VYDAVATEL

### a adresa redakce:

TRIOS, spol. s r. o.,  
Zakouňova 142, 149 00 Praha 4-Chodov  
Tel.: +420 267 912 030, Fax: +420 267 915 563  
redakce@trios.cz, http://kml.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

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 540,- 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. of 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

### and 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

redakce@trios.cz, http://kml.trios.cz

Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

Mgr. Hedvika Nevečeřalová

Advertising: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

DTP: SILVA, s. r. o., Táborská 31, Praha 4

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

Lyskova 1594/33, 155 00 Praha 13-Stodůlky

## CONTENTS

### EDITORIAL

*L. Rožnovský*

99

### ORIGINAL ARTICLE

#### Epidemiology, etiology and clinical picture of enteroviral meningitis in children in South Moravia

*A. Braunová, P. Rainetová, L. Krbková, I. Čaparová,  
L. Klapačová, V. Musil, M. Musílek, J. Bednářová*

100

### REVIEWS

#### Interpretation of bacterial susceptibility/resistance to antibiotics

*M. Kolář*

105

#### Tenofovir alafenamide fumarate – a new generation of tenofovir

*S. Snopková, K. Havlíčková, P. Husa*

111

#### Second-generation integrase inhibitors

*D. Jilich*

119

#### Is it necessary to revaccinate against hepatitis B virus when the titer of anti-HBs drops below 10 IU/l?

*P. Polák, P. Husa, P. Smejkal, J. Kamelander,  
G. Chlupová, M. Penka*

125

### SHORT COMMUNICATION – CASE REPORT

#### Salmonellosis – a real threat for infants

*V. Musil, L. Krbková, P. Míkolášek, L. Homola, A. Braunová*

121

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,

v období sychravých podzimních večerů se Vám do rukou dostává nové číslo našeho společného mezioborového časopisu, jehož četba Vám umožní nejen příjemně strávit volné chvíle, ale současně i načerpat nové poznatky z našich krásných a zajímavých oborů.

Problematika neuroinfekcí patří mezi priority většiny infekčních oddělení a mikrobiologických laboratoří. Brněnští autoři ve své původní práci popisují soubor 88 dětí s enterovirovou meningitidou, u nichž byla etiologie prokázána metodou polymerázové řetězové reakce (PCR) v likvoru. Zajímavé poznatky přinesla genotypizace enterovirů, která byla provedena u 56 dětí v Národní referenční laboratoři pro enteroviry v Praze; nejčastějším původcem byl ECHO virus 30, u jediného dítěte byl prokázán enterovirus 71, který vyvolává závažné neuroinfekce zejména v Asii. Klinický průběh byl u všech dětí příznivý, což částečně nekoresponduje s relativně dlouhou dobou hospitalizace, která činila 10–14 dnů. Podle autora úvodníku může průkaz enterovirové meningitidy přispět ke zkrácení hospitalizace, neboť u mnoha pacientů obtíže odezní během 2–5 dnů. Trvalá dostupnost genotypizace enterovirů v naší republice je žádoucí; pokud klinici zaznamenají závažný průběh enterovirové meningitidy, měli by kontaktovat NRL pro enteroviry k upřesnění etiologie onemocnění, což může rozšířit naše znalosti o klinice a epidemiologii enterovirových onemocnění. Navíc PCR diagnostiku enterovirů je možno provádět i z kožních a slizničních puchýřků, což může usnadnit např. diferenciální diagnostiku enterovirových a herpetických onemocnění.

V zajímavém přehledném sdělení prof. Kolář upozorňuje na problémy s interpretací citlivosti a rezistence bakterií k antibiotikům. V bakteriální populaci je možno rozlišit izoláty bez rezistence, s nízkým a vysokým stupněm rezistence, přičemž mnohdy je možno úspěšně léčit antibiotiky i pacienti, jejichž bakteriální populace má nízký stupeň rezistence. Před léčbou pacienta je nezbytné posoudit mikrobiologickou rezistenci (primární a sekundární), možnost klinické rezistence při adekvátní antibiotické léčbě (ze-

jména u izolátů s nízkým stupněm rezistence) a možnost farmakologické rezistence, např. při volbě antibiotika nepronikajícího do místa infekce.

Následující dva články jsou věnovány novým lékům u pacientů s HIV infekcí, u nichž se v současné době klade velký zřetel na jednoduchost léčby (optimálně jediná tableta denně) a na minimální dlouhodobou toxicitu. Doktorka Snopková se spoluautory popisuje novou generaci tenofoviru, a to tenofovir alafenamid fumarát, který má nižší nefrotoxicitu oproti dlouhodobě užívanému léku tenofovir disoproxil fumarát. Kolega Jilich z pražského pracoviště informuje o dolutegraviru z druhé generace inhibitorů integráz, který má minimum nežádoucích účinků, vysokou odolnost vůči vzniku rezistence a nízký potenciál pro vznik lékových interakcí, což jej předurčuje k častému použití jak u dosud neléčených, tak i dříve léčených pacientů. Oba nové léky jsou dostupné v kombinovaných přípravcích, jejichž výhodou je podání jedné tablety denně.

Pestrou paletu článků doplňuje kazuistika brněnských autorů, v níž je popsána závažně probíhající salmonelová infekce u kojence včetně komplikace, která může provázet poskytování intenzivní péče.

V posledním přehledném sdělení se kolega Polák s dalšími autory věnuje revakcinaci proti virové hepatitidě B. Poukazuje na to, že se dlouhodobá strategie prakticky nezměnila, u osob bez imunodeficitu není nutné ani vyšetřování protilátek, ani revakcinace po poklesu hladiny anti-HBs pod 10 IU/l, naproti tomu pacienti s imunodeficitem se mají pravidelně vyšetřovat a revakcinovat po vymizení ochranné hladiny anti-HBs.

Přeji Vám příjemné zážitky při čtení nového čísla KMIL a současně Vás chci povzbudit, abyste i Vy aktivně přispívali do dalších čísel našeho společného časopisu.

Doc. MUDr. Luděk Rožnovský, CSc.  
člen redakční rady

## Epidemiologie, etiologie a klinický obraz enterovirových meningitid u dětí na jižní Moravě

A. BRAUNOVÁ<sup>1</sup>, P. RAINETOVÁ<sup>2</sup>, L. KRBKOVÁ<sup>1</sup>, I. ČAPOVOVÁ<sup>1</sup>, L. KLAPAČOVÁ<sup>1</sup>,  
V. MUSIL<sup>1</sup>, M. MUSÍLEK<sup>3</sup>, J. BEDNÁŘOVÁ<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Klinika dětských infekčních nemocí, FN Brno a LF MU, <sup>2</sup>Národní referenční laboratoř pro enteroviry, SZÚ, Praha, <sup>3</sup>Národní referenční laboratoř pro meningokokové nákazy, SZÚ, Praha, <sup>4</sup>Oddělení klinické mikrobiologie, FN Brno

### SOUHRN

Braunová A., Rainetová P., Krbková L., Čapovová I., Klapačová L., Musil V., Musílek M., Bednářová J.: **Epidemiologie, etiologie a klinický obraz enterovirových meningitid u dětí na jižní Moravě**

**Cíle práce:** Enteroviry (EV) jsou nejčastějším původcem aseptických virových meningitid. V některých případech mohou způsobit závažné meningoencefalitidy a akutní paralytická onemocnění – asociace s některými virulentními sérotypy. Obsahem sdělení je zmapování epidemiologické situace EV meningitid u dětí na jižní Moravě, objasnění etiologie včetně výskytu virulentních sérotypů a posouzení klinických projevů.

**Materiál a metody:** Prospektivně bylo hodnoceno 88 dětí s EV meningitidou. V případě aseptického zánětu v mozkomíšním moku byl EV detekován real-time PCR. Genotypizace proběhla u 56 vzorků pomocí opakované jednokrokové PCR a parciální sekvenace na genetickém analyzátoru v Národní referenční laboratoři pro EV v Praze.

**Výsledky:** Rozmezí věku pacientů bylo 3–17 let. Chlapci převažovali nad dívkami. Objevily se dvě epidemie – 17 dětí romského etnika; 8 návštěvníků koupaliště. Nejčastějšími symptomy byly bolesti hlavy, horečka a ztuhlá šíje. ECHO virus 30 byl detekován nejčastěji (59 %) a byl označen jako původce epidemií. EV 71 (virulentní sérotyp) byl nalezen u jednoho chlapce, klinický průběh se od ostatních sérotypů nelišil. Všechny 88 dětí se uzdravilo bez komplikací.

**Závěry:** EV jsou důležitou součástí diferenciální diagnostiky neuroinfekcí, přestože většina infekcí probíhá pod obrazem benigní aseptické meningitidy. Klinické projevy se u infekcí jednotlivými sérotypy nelišily. Zvýšený výskyt virulentních sérotypů nebyl zaznamenán. ECHO virus 30 byl detekován nejčastěji a byl opakovaně uváděn jako původce epidemií po celé České republice.

*Klíčová slova:* enterovirus, ECHO virus 30, aseptická meningitida, real-time PCR

### SUMMARY

Braunová A., Rainetová P., Krbková L., Čapovová I., Klapačová L., Musil V., Musílek M., Bednářová J.: **Epidemiology, etiology and clinical picture of enteroviral meningitis in children in South Moravia**

**Objectives:** Enteroviruses (EVs) are the most common cause of aseptic viral meningitis. In some cases, they can cause severe meningoencephalitis and acute flaccid paralysis – an association with some virulent serotypes. The objectives were to describe the epidemiological situation of EV meningitis in children in South Moravia, to elucidate the etiology including the incidence of virulent serotypes and to evaluate the clinical presentation.

**Material and methods:** A total of 88 children with EV meningitis were prospectively evaluated. In case of aseptic inflammation in the cerebrospinal fluid, EV was detected using real-time PCR. Genotyping was performed in 56 samples using repeated one-step PCR and partial sequencing on a genetic analyzer in the National Reference Laboratory for Enteroviruses in Prague.

**Results:** The patients' age range was 3–17 years; there were more boys than girls. Two epidemics occurred, one involving 17 Roma children and the other involving 8 swimming pool visitors. The most common symptoms were headache, fever and stiff neck. The most frequently (59%) detected agent was Echovirus 30 identified as the cause of the epidemics. In one boy, EV 71 (virulent serotype) was found. The clinical course did not vary from that in other serotypes. All 88 children recovered without complications.

**Conclusions:** EVs are an important part of the differential diagnosis of neuroinfections, although most infections are benign aseptic meningitis. The clinical presentation did not vary between infections with various serotypes. Higher incidence rates of virulent serotypes were not reported. Echovirus 30 was detected most frequently and was repeatedly identified as the cause of epidemics throughout the Czech Republic.

*Keywords:* enterovirus, echovirus 30, aseptic meningitis, real-time PCR

*Klin mikrobiol inf lék 2016;22(3):100–104*

**Adresa:** MUDr. Adriana Braunová, Klinika dětských infekčních nemocí, FN Brno, Černopolní 22a, 613 00 Brno, e-mail: Braunova.Adriana@fnbrno.cz

Došlo do redakce: 17. 8. 2016

Přijato k tisku: 21. 9. 2016

## Úvod

Enteroviry, patřící do čeledi Picornaviridae, jsou celosvětově původcem širokého spektra onemocnění [1]. Původně byly rozděleny do pěti skupin na základě jejich patogenity: polioviry, viry Coxsackie A-B, ECHO viry a nové číslované EV. S rozvojem molekulární biologie se zavedla nová klasifikace dělící EV patogenní pro člověka do 4 skupin dle strukturálních vlastností: lidské EV A-D. Aktuálně je známo více než 73 sérotypů patogenních pro člověka a každým rokem se toto spektrum rozšiřuje [2–4]. Původní ECHO viry 22 a 23 byly na základě odlišných vlastností reklasifikovány na lidské parechoviry [5]. EV jsou RNA viry s velikostí virionu 30 nm. Virion je složen ze 7 nestrukturálních (primery a RNA polymerázy) a 4 strukturálních (VP 1–4) proteinů. EV jsou vysoce rezistentní k vlivům vnějšího prostředí díky ikosaedrálnímu tvaru kapsidy a absenci lipidového obalu. Tolerují pH v rozsahu 3–10, jsou odolné vůči organickým rozpouštědlům a mrazu. Ke zneškodnění je možné použít UV a ionizující záření, formaldehyd, fenoly a teploty vyšší než 56 °C [6].

V oblastech s mírným podnebím vzrůstá počet EV onemocnění v létě a na podzim. V tropických oblastech se EV onemocnění vyskytují celoročně a jejich incidence graduje v období dešťů [7]. Poliovirus je ve vyspělých zemích eradikován vzhledem k plošné vakcinaci. Člověk je přirozeným rezervoárem. Nákaza je možná přímým kontaktem s infikovanou osobou (s asymptomatickým či symptomatickým průběhem) nebo nepřímým kontaktem (kontaminované prostředí – např. voda, hračky, strava). Inkubační doba se pohybuje mezi 2–14 dny (průměrně 3–5 dní). Fekálně-orální mechanismus přenosu dominuje. Kapénkový přenos je ojedinelý (sliny, sekret dýchacích cest, sekret ze spojivkového vaku). EV byly detekovány ve vezikulární tekutině EV exantému, v krvi, ve vaginálním sekretu a v mateřském mléku [8]. Běžně dochází ke kontaminaci prostředí odpadními vodami. EV se dostávají do povrchových vod, kde mohou přežívat měsíce. Koupání v nedostatečně čištěných bazénech, rybnících, jezerech a jiných přírodních nádržích je tedy rizikové. K alimentární nákaze může dojít po pozření kontaminovaných mořských plodů pěstovaných na pobřeží. Taiwanská studie popisuje snadné šíření EV v rodinách s malými dětmi [9]. Většina onemocnění se objevuje do 15 let věku [10,11]. Studie popisují nejvíce pacientů v dětském věku v rozmezí 1–10 let (s maximem do 5 let) a vyšší incidenci u chlapců (v dospělosti je situace opačná) [11–16]. Vědci tuto skutečnost vysvětlují bližším kontaktem žen s malými dětmi a jejich plenami. Imunokompromitovaní pacienti jsou rizikovou skupinou (těžký průběh infekce, možnost dlouhodobé perzistence viru) [7,12,15,18,19].

EV infekce probíhají převážně asymptomaticky. Mezi benigní onemocnění patří lehké respirační infekce (např. faryngitida, konjunktivitida, herpangína) a exantémová febrilní onemocnění (např. syndrom ruka, noha, ústa – HFMD). U některých pacientů se mohou objevit závažnější projevy (neuroinfekce, paralytická onemocnění, akutní transversální myelitidy, akutní cereberální ataxie, myokarditidy, hepatitidy, pleurodynie, benigní intrakraniální hypertenze, neonatální seps, respirační selhání) [17,18].

Klinický obraz EV meningitidy se může lišit v závislosti na věku pacienta a stavu imunitního systému [18–20].

Symptomy u novorozenců a batolat chybí nebo jsou vyjádřeny minimálně. Mohou se objevit potíže s krmením, podrážděnost, letargie (příp. vyklenutá velká fontanela, ztuhlá šíje nebo opistotonus) [12,18,19]. Příznaky EV meningitidy se u starších dětí objevují náhle a bývají spojeny s horečkou (76–100 %). Onemocnění může mít dvoufázový průběh. Po první fázi nespecifických příznaků (např. cefalea, slabost, myalgie) následuje období latence. Neurologické příznaky nastupují během několika dní (urputná cefalea, bolest za očima, zvracení, fotofobie, fonofobie, ztuhlá šíje a záda, vertigo, insomnie, nechutenství, atd.). Někteří pacienti přichází s exantémem, respiračními či gastrointestinálními příznaky (bolesti břicha, průjem). Ložisková neurologická symptomatika není běžná [21]. U dětí do 5 let se mohou objevit febrilní křeče [7,22]. Některé virulentní sérotypy jsou asociovány s těžkými meningoencefalitidami a paralytickými onemocněními spojenými s vyšší morbiditou a mortalitou (např. viry Coxsackie A 4, 7, 21, 24, EV 71, 76, 89) [18, 23–28]. Akutní chabá paralytická onemocnění mohou být způsobena vakcinačními kmeny – tzv. VDPV (vaccine-derived polioviruses) [29].

Tabulka 1

Charakteristika souboru pacientů s enterovirovou aseptickou meningitidou a jejich klinické příznaky (2012–2016, FN Brno, Klinika dětských infekčních nemocí)

	n = 88
dobu hospitalizace (dny)	12 (10–14)
věk	11 (3–17)
pohlaví (chlapec/dívka)	64/24
dobu trvání potíží před přijetím a lumbální punkcí (dny)	2,5 (1–14)
bolesti hlavy	87 (99 %)
zvýšená teplota**	84 (95 %)
ztuhlá šíje	81 (92 %)
únava	79 (90 %)
ztuhlá záda	77 (88 %)
zvracení a nauzea	70 (80 %)
ztuhlá záda	77 (88 %)
fotofobie	45 (51 %)
bolesti břicha, průjemové stolice	3 (3 %)
exantém (charakter ruka, noha, ústa)	4 (5 %)
fonofobie	3 (3 %)
poruchy vědomí, křeče*	3 (3 %)

\* Febrilní křeče, somnolence, apatie

\*\* TT > 37,5 °C

Pro diagnostiku je zásadní odběr mozkomíšního moku. Typickým biochemickým nálezem je pleocytóza; koncentrace celkové bílkoviny a laktátu fyziologická, či lehce zvýšená; glykorhachie bez poklesu [20]. Zlatým standardem v detekci EV se stala amplifikace nukleové kyseliny metodou polymerázové řetězové reakce (PCR) [12,30,31]. Virová kultivace na tkáňových médiích je v běžné klinické praxi obsoletní pro svoji zdoluhavost a nízkou senzitivitu.

Léčba EV meningitidy spočívá v symptomatické terapii (klidový režim, hydratace, léčba bolesti) [18]. V případě imunokompromitovaných pacientů mohou být podány intravenózní imunoglobuliny. Názory na jejich aplikaci jsou smíšené. Úspěšnost pravděpodobně závisí na množství specifických protilátek v preparátech [32]. Ve vývoji zůstává kauzální lék proti EV pleconaril a inhibitory RNA [33,34]. Prevence spočívá ve správném dodržování hygienických návyků a vyhýbání se kontaktu s nemocným či kontaminovaným prostředím. Od konce roku 2015 je v Číně možná vakcinace proti virulentnímu sérotypu EV 71 [35].

## Materiál a metody

Prospektivně bylo hodnoceno 88 dětí s EV meningitidou. Studie probíhala na Klinice dětských infekčních nemocí

v Brně od května 2012 do února 2016. U dětí byla sledována demografická data (věk, pohlaví), anamnestická data (doba trvání a charakter potíží), klinická data (symptomy, stav při přijetí, doba hospitalizace) a laboratorní data (výskyt pleocytózy, výsledky PCR a genotypizací EV z mozkomíšního moku). Do studie byly zařazeny děti s aseptickým nálezem a průkazem EV RNA v mozkomíšním moku (pleocytóza byla definována pro počet zánětlivých elementů v mozkomíšním moku > 5/μl).

Enterovirus byl detekován pomocí reverzně transkripční PCR v reálném čase (qRT-PCR; real-time PCR) – ENTEROVIRUS R-gene™ kit, Argene SA, France. Metoda je založena na klasické PCR s tím rozdílem, že speciální termocykly umožňují kontinuálně monitorovat přírůstky DNA během každého cyklu (u klasické PCR detekujeme až finální produkt). Pro tuto reakci je nutná přítomnost fluorescenčního substrátu, který se váže na syntetizovanou DNA. Úroveň detekované fluorescence odráží množství syntetizované nukleové kyseliny. Hlavním benefitem této metody je možnost kvantifikace produktu a vysoká specifita testu [36].

Genotypizace proběhla v Praze v Národní referenční laboratoři pro EV (Státní zdravotní ústav). K molekulární kontrolní detekci a typizaci byla použita klasická metoda RT-PCR. K typizaci byl vybrán úsek z nekódující oblasti

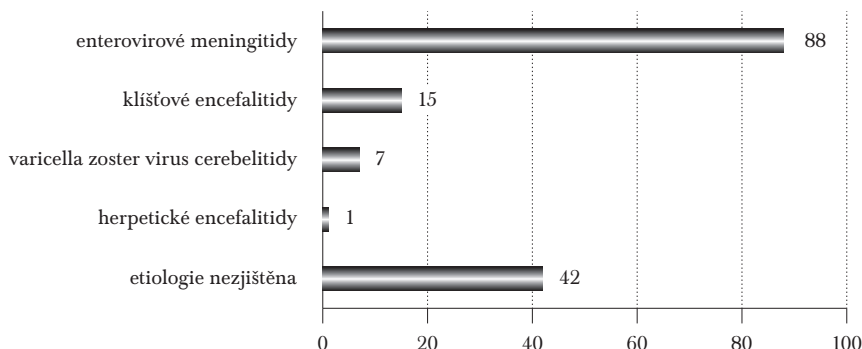
5' RNA. Vzorky byly amplifikovány se specifickými primery (E1-M13F, E2-M13R – GenериBiotech) – SuperScript III Platinum OneStep qRT-PCR kit, Invitrogen™, USA [37]. Pomocí elektroforézy bylo ověřeno, zda vzorky obsahují produkt o 197 bp. Následovalo pročištění, druhá amplifikace se stejnými primery a druhé pročištění. Parciální sekvenace proběhla na genetickém analyzátoru ABI PRISM 3130 xL (Applied Biosystems, USA). Editace a kvalitativní analýza sekvencí byla provedena pomocí programu LASERGENE (DiaStar™). Sekvence byly vyhodnoceny centrální databází sekvencí GenBank pomocí algoritmu BLAST [38].

U všech pacientů byly z mozkomíšního moku testovány herpetické viry metodou PCR – herpes simplex 1, 2 (HSV 1, 2); varicella zoster virus (VZV), lidský herpetický virus 6 (HHV 6) a klíšťová encefalitida (TBE) pomocí detekce specifických protilátek z mozkomíšního moku a séra. Neuroborrelióza byla vyloučena vyšetřením intratekální syntézy borreliových protilátek.

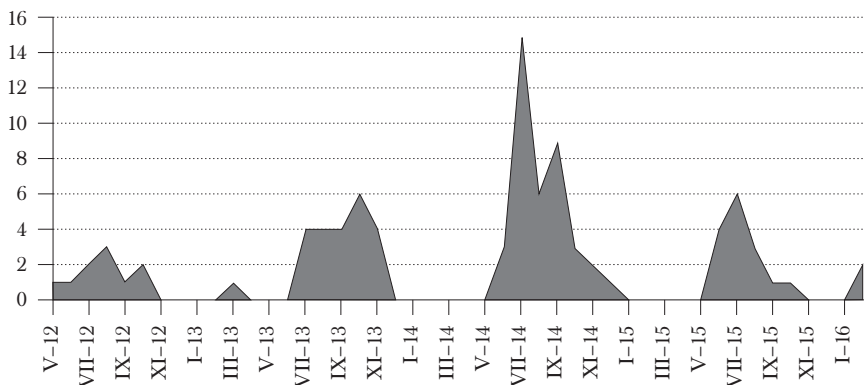
## Výsledky

V daném období bylo na Klinice dětských infekčních nemocí v Brně sledováno 88 dětí s EV meningitidou. Tito pacienti představovali 61 % všech

Graf 1  
Etiologie aseptických virových meningitid (n = 153)



Graf 2  
Rozložení enterovirových meningitid v časovém horizontu (n = 88)



aseptických virových meningitid (153). Mezi ostatní detekované agens patřil virus TBE (15; 10 %), VZV (7; 5 %), HSV 1 (1; 0,6 %) (viz *graf 1*). Věk pacientů se pohyboval od 3 do 17 let (průměr 11 let). Chlapci převažovali nad dívkami (64; 73 %). Objevily se dvě epidemie. V roce 2014 v centru Brna onemocnělo 17 pacientů romského etnika (příbuzní). V létě, o rok později, bylo hospitalizováno 8 dětí, které navštívily koupaliště v Blansku. Chlapci z různých sportovních týmů byli v období zvýšené fyzické zátěže také hospitalizováni s EV meningitidou (hokejisté, ragbisté). Incidence výrazně narostla v měsících červenec až listopad, sporadické případy se objevily na jaře a v zimě (viz *graf 2*).

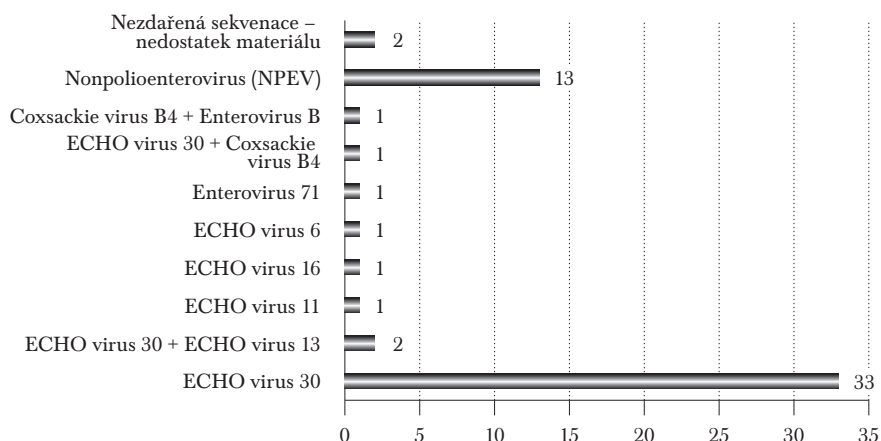
Mezi časté symptomy patřily bolesti hlavy (87; 99 %), horečka (84; 95 %), ztuhlá šíje (81; 92 %), únava (79; 90 %), ztuhlá záda (77; 88 %), zvracení a nauzea (70; 80 %) a fotofobie (45; 51 %). Ojedinelými příznaky byly bolesti břicha a průjmové stolice (20; 23 %), exantém charakteru HFMD (4; 5 %), fonofobie (3; 3 %), poruchy vědomí a křečové projevy – apatie, somnolence, febrilní křeče (3; 3 %) (viz *tabulka 1*). Dvoufázový průběh byl zaznamenán u 30 pacientů (34 %). Děti přicházely s 1–14 dny trvající anamnézou potíží (průměr 2,5 dne).

Vyšetření mozkomíšního moku potvrdilo aseptický zánět ve všech případech. EV RNA byla detekována pomocí real-time PCR. V Praze v Národní referenční laboratoři pro enteroviry proběhla typizace 56 vzorků – izolátů nukleových kyselin. Bylo nalezeno 8 různých sérotypů – ECHO virus 30 (33), 13 (1), 11 (1), 16 (1), 6 (1), EV 71 (1), EV B (1), virus Cocksackie B 4 (2) (viz *graf 3*). Nejčastějším detekovaným sérotypem byl ECHO virus 30 (59 %) – původce epidemií romských dětí a návštěvníků koupaliště. EV 71 (virulentní sérotyp) byl nalezen u jednoho chlapce, klinický průběh a laboratorní nálezy se od ostatních sérotypů nelišily. Doba hospitalizace byla 10–14 dní (průměrně 12 dní). Všechny 88 dětí se uzdravilo a bylo propuštěno do domácí péče.

## Diskuze

Enteroviry byly hlavním etiologickým agens virových meningitid (88; 61 %). Studie uvádí, že EV způsobí 85–95 % těchto onemocnění v dětské populaci [1,12,17,18]. Pravděpodobnost nižšího záhytu EV byla možná, vzhledem k počtu dětí s nezjištěnou etiologií aseptické meningitidy (42; 27 %). Nižší záhyt EV mohl být způsoben nižší senzitivitou ENTEROVIRUS R-gene™ kitů k některým sérotypům (viry Cocksackie A, EV 68, 71, 95–120) uváděnou výrobcem. Studie uvádějí nižší věk nemocných [10–12,17,18]. V souboru pacientů s EV meningitidou se nevyskytovali žádní novorozenci a kojenci, pouze 2 batolata (2 %). Rozdíly mohly být způsobeny odlišnými cirkulujícími sérotypy, které měly afinitu k starším dětem. Další hypotézou byl nižší

Graf 3  
Genotypizace enterovirů – vzorky mozkomíšního moku (n = 56)



ší počet novorozenců hospitalizovaných na infekčním oddělení. Převaha chlapců mezi pacienty je uváděna i jinými studiemi (Roda, Tkadlecová). Rozložení pacientů v časovém horizontu odpovídalo klasickému výskytu v oblastech s mírným podnebím (léto a podzim).

Klinické projevy byly typické a u všech pacientů srovnatelné. Nejčastějším příznakem byla cefalea (99 %). Horečka (95 %) a pozitivita meningeálních příznaků (88–92 %) byly také častými symptomy. Řecká studie z roku 2007 popisuje pozitivitu těchto příznaků pouze v 60 % případů [13]. U jednoho dítěte se objevily nekomplikované febrilní křeče ve 3 letech věku. Jiné studie uvádí více případů [7,13,22]. Nejdelší udávaná doba potíží byla 14 dní. Bylo však obtížné zjistit, zda příznaky neměly zcela jinou příčinu. Délka hospitalizace pacientů s EV meningitidou byla delší v porovnání s údaji z jiných studií [13,14,17].

Biochemický nálezy v mozkomíšním moku byl typický u všech pacientů (nálezy aseptické meningitidy). Dvě děti byly ze studie vyřazeny pro absenci zánětlivého likvorového nálezu při současné pozitivitě PCR EV z mozkomíšního moku (4 a 12 let). EV infekce tedy ještě nezpůsobila neuroinfekci. Studie popisují případy detekce EV RNA v mozkomíšním moku s absencí pleocytózy (kojenci, batolata) [10,17,39,40]. Mechanismy absence pleocytózy jsou vysvětlovány různě. První teorie ji vysvětluje časnou lumbální punkcí provedenou v iniciální fázi infekce [13,41]. Další teorie popisuje nezralost specifické imunity proti EV [17]. V našem případě se nabízí první teorie.

Nejčastějším detekovaným sérotypem byl ECHO virus 30 (59 %). Tento sérotyp byl hlášen po celé České republice jako původce drobných epidemií (např. v Plzni a Liberci) [38]. Byl častým původcem aseptických meningitid po celém světě [11,14,16,42,43]. V USA byl za posledních 7 let detekován pouze v 5 % případů EV infekcí [44]. Mezi pacienty na jižní Moravě nedošlo k žádnému komplikovanému průběhu či úmrtí. Brazílská studie popisuje 5 případů úmrtí dětských pacientů infikovaných tímto sérotypem [14]. Studie uvádí vyšší afinitu ECHO viru 30 ke starším dětem. Jeho aktivita se mění v nepravidelných intervalech trvají-

cích několik let v závislosti na probíhajících mutacích [44]. Virus Coxsackie B 4, ECHO virus 6, 11, 13 a 16 a EV 71 byly detekovány sporadicky. Virulentní sérotyp (EV 71) byl zachycen pouze jednou. EV 71 je spojován s vyšším rizikem závažných neuroinfekcí. Byl původcem epidemií na asijském kontinentu, při kterých zemřelo několik dětí s těžkou bulbární encefalitou [23,45]. Klinické projevy byly odlišné u australských dětí (Guillainův-Barrého syndrom, akutní transverzální myelitida, akutní cereberální ataxie, benigní intrakraniální hypertenze, febrilní křeče) [22]. Během ruské studie bylo zjištěno, že velké množství infekcí EV 71 probíhá subklinicky [28]. Klinické projevy a laboratorní nálezy tohoto se nelišily od ostatních. Je nutno uvést pravděpodobnost nižšího záchytu EV 71 z mozkomíšního moku vzhledem k nižší senzitivitě používaného kitu pro tento sérotyp (informace uváděná výrobcem).

Většina detekovaných sérotypů zachycených na území České republiky v posledních letech patřila do skupiny lidských EV B – nejčastějších původců aseptických meningitid [16,38].

## Závěr

EV zaujímají důležité postavení v diferenciální diagnostice neuroinfekcí a paralytických onemocnění, přestože většina infekcí probíhá pod obrazem nekomplikované aseptické meningitidy. Klinické příznaky se u infekcí jednotlivými sérotypy nelišily. Mezi nejčastější symptomy patřily bolesti hlavy, horečka a ztuhlá šíje. V daném období jsme neznamenali zvýšený výskyt virulentních sérotypů. ECHO virus 30 byl detekován nejčastěji a byl opakovaně uváděn jako původce epidemií po celé České republice.

## Literatura

- King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, et al. Virus taxonomy: Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses. USA: Elsevier; 2012.
- Oberste MS, Michele SM, Maher K, et al. Molecular identification and characterization of two proposed new enterovirus serotypes, EV74 and EV75. *J Gen Virol*. 2004;85:3205–3212.
- Lukashev A, Drexler JF, Kotova VO, et al. Novel serotypes 105 and 116 are members of distinct subgroups of Human enterovirus C. *J Gen Virol*. 2012;93:2357–2362.
- Yozwiak NL, Skewes-Cox P, Gordon, et al. A Human Enterovirus 109: a novel interspecies recombinant enterovirus isolated from a case of acute pediatric respiratory illness in Nicaragua. *J Virol*. 2010;84(18):9047–9058.
- Al-Sunaidi M, William CH, Hughes PJ, et al. Analysis of new human parechovirus allows the definition of parechovirus types and the identification of RNA structural domains. *J Virol*. 2007;81:1013.
- Bradrick SS, Romero JR. Polioviruses. In: Wiley-Blackwell (ed). *Encyclopedia of Life Sciences*. London: Nature Publishing Group; 2001. s. 1–7.
- Rasti M, Samarbaft-Zadeh A, Makvandi M, et al. Relative frequency of echovirus 30 in patients suffering from enterovirus meningitis in Ahvaz. *Jundishap J Microbiol*. 2013;6(2):157–161.
- Beneš J. Infekce vyvolané echoviry. In: Beneš J (ed). *Infekční lékařství*. 1. vyd. Praha: Galén; 2009. s. 119–120.
- Chang LY, Tsao KC, Hsia SH, et al. Transmission and clinical features of enterovirus 71 infections in household contact in Taiwan. *JAMA*. 2004;291(2):222–227.
- Mulford WS, Bulle RS, Arens MQ, et al. Correlation of cerebrospinal fluid (CSF) cell counts and elevated CSF protein levels with enterovirus reverse transcription-PCR results in pediatric and adult patients. *J Clin Microbiol*. 2004;42:4199–4203.
- Zhao YN, Jiang QW, Jiang RJ, et al. Echovirus 30, Jiangsu Province, China. *Emerg Infect Dis*. 2005;11(4):562–567.
- Rittichier KR, Bryan PA, Bassett KE, et al. Diagnosis and outcomes of enterovirus infections in infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2005; 24:546–550.
- Michos AG, Syriopoulou VP, Hadjichristoudoulou C, et al. Aseptic meningitis in children: Analysis of 506 cases. *PLoS ONE*. 2007;2(8):e674.
- Santos GPL, Skraba I, Oliveira D, et al. Enterovirus meningitis in Brazil, 1998–2003. *J Med Virol*. 2006;78:98–104.
- Roda D, Perez-Martinez E, Cabrerizo M, et al. Clinical characteristics and molecular epidemiology of enterovirus infection in infants > 3 months in a referral pediatric hospital of Barcelona. *Eur J Pediatr*. 2005;174:1249–1553.
- Tkadlecová H. Výskyt enterovirových meningitid v kolektivu. Příspěvek ze sborníku – 24. Pečenkovy epidemiologické dny: 15.–17. 9. 2010. České Budějovice. Jihlava; 2010:43.
- De Crom SCM, van Furth AM, Peeters MF, et al. Characteristics of pediatric patients with enterovirus meningitis and no cerebral fluid pleocytosis. *Eur J Pediatr*. 2012;171(5):795–800.
- Sawyer MH, Rotbart HA. Viral meningitis and the aseptic meningitis syndrome. In: Scheld WM, Whitley RJ, Marra CM (eds). *Infections of the Central Nervous System*. 3th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. s. 75–93.
- Romero JR. Diagnosis and management of enteroviral infections of the central nervous system. *Curr Infect Dis Rep*. 2002;4:309–316.
- Irani DN. Aseptic meningitis and viral myelitis. *Neurol Clin*. 2008;26(3):635–657.
- Pícha D, Honegr K, Habanec T, et al. Infekce nervového systému. In: Beneš J (ed). *Infekční lékařství*. 1. vyd. Praha: Galén; 2009. s. 524–527.
- McMinn P, Stratov I, Nagarajan L, et al. Neurological manifestations of enterovirus 71 infection in children during an outbreak of hand, foot, and mouth disease in western Australia. *Clin Infect Dis*. 2001;32:236–242.
- Huang CC, Liu CC, Chang YC, et al. Neurologic complications in children with enterovirus 71 infection. *N Eng J Med*. 1999;341:936–942.
- Chaves SS, Lobo S, Kennet M, et al. Coxsackie virus A 24 infection presenting as acute flaccid paralysis. *Lancet*. 2001;357:605.
- Ryu W-S, Kang B, Hong J, et al. Enterovirus 71 infection with central nervous system involvement, South Korea. *Emerg Infect Dis*. 2010;16(11):1764–1766.
- AbuBakar S, Sam IC, Yusof J, et al. Enterovirus 71 outbreak Brunei. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(1):79–82.
- Sapkal GN, Bondre VP, Fulmali PV, et al. Enteroviruses in patients with acute encephalitis, Uttar Pradesh, India. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(2):295–298.
- Akhmadishina LV, Govorukhina MV, Kovalec EV, et al. Enterovirus A71 meningoencephalitis outbreak, Rostov-on-Don, Russia, 2013. *Emerg Infect Dis*. 2015; 21(08):1440–1442.
- Centers for Disease Control and Prevention. Progress toward global eradication of poliomyelitis, 2001. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2002;51:253–256.
- Robinson CC, Willis M, Meagher A, et al. Impact of rapid polymerase chain reaction results on management of pediatric patients with enteroviral meningitis. *Pediatr Infect Dis*. 2002;21:283–286.
- De Crom SCM, Rossen JWA, van Furth AM, et al. Enterovirus and parechovirus infection in children: a brief overview. *Eur J Pediatr*. 2016;175:1023–1029.
- Fischmeister G, Wiesbauer P, Holzmann HM, et al. Enteroviral meningoencephalitis in immunocompromised children after matched unrelated donor-bone marrow transplantation. *Pediatr Hematol Oncol*. 2000;17:393–399.
- Pevear DC, Tull TM, Seipel ME, et al. Activity of pleconaril against enteroviruses. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43:2109–2115.
- Vaishnav AK, Gollob J, Gamba-Vitalo C, et al. A status report on RNAi therapeutics. *Silence*. 2010;1:14.
- Zhu F, Xu W, Xia J, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an enterovirus 71 vaccine in China. *N Engl J Med*. 2014;370:818–828.
- Hrstka R, Kolářová T, Michalová E, et al. Vývoj metod založených na PCR a jejich aplikace v onkologickém výzkumu a praxi. *Klin Onkol*. 2014;27(1):S69–S74.
- Takami T, Kawashima T, Takei Y, et al. Usefulness of nested PCR and cseque analysis in a nosocomial outbreak of neonatal enterovirus infection. *J Clin Virol*. 1998;11(1):67–75.
- Rainetová P, Jiřincová H, Musílek M, et al. Sekvence enterovirů jako nový přístup k laboratorní diagnostice pro klinické i epidemiologické účely. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*. 2015;64(2):102–106.
- Shah SS, Hodinka RL, Turnquist JL, et al. Cerebrospinal fluid mononuclear cell predominance is not related to symptom duration in children with enteroviral meningitis. *J Pediatr*. 2006;148:118–121.
- Graham AK, Murdoch DR. Association between cerebrospinal fluid pleocytosis and enteroviral meningitis. *J Clin Microbiol*. 2005;43:1491.
- Sato M, Hosoya M, Honzumi K, et al. Cytokine and cellular inflammatory sequence in enteroviral meningitis. *Pediatrics*. 2003;112:1103–1107.
- Logotheti M, Pogka V, Horefti E, et al. Laboratory investigation and phylogenetic analysis of enteroviruses involved in an aseptic meningitis outbreak in Greece during the summer of 2007. *J Clin Virol*. 2009;46(3):270–274.
- Roth B, Enders M, Arents A, et al. Epidemiologic aspects and laboratory features of enterovirus infections in Western Germany, 2000–2005. *J Med Virol*. 2007; 79:956–962.
- Centers for Disease Control and Prevention: Enterovirus and Human parechovirus surveillance – United States, 2009 – 2013. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2015;64(34): 940–943.
- Ho M. Enterovirus 71: the virus, its infections and outbreaks. *J Microbiol Immunol Infect*. 2000;33:205–216.



# Interpretace bakteriální citlivosti/rezistence k antibiotikům

M. KOLÁŘ

Ústav mikrobiologie, LF UP v Olomouci

## SOUHRN

Kolář M.: **Interpretace bakteriální citlivosti/rezistence k antibiotikům**

Bakteriální rezistenci je možné definovat z mikrobiologického, klinického a farmakologického pohledu. Mikrobiologická rezistence znamená přítomnost genetické informace, která kóduje příslušný mechanismus odolnosti bakterie k danému antibiotiku. V případě klinické interpretace jsou zásadní „breakpointy“, jejichž cílem je odlišit bakteriálních patogenů, u nichž je vysoká pravděpodobnost úspěchu léčby, od izolátů s vysokou pravděpodobností selhání. Je však vhodné si položit otázku, zdali je tento přístup vhodný u všech pacientů, především v intenzivní péči se život ohrožující infekcí. Jako komplexní lze chápat farmakodynamicko/farmakokinetickou definici rezistence, která umožňuje zvážení všech parametrů, především klinický stav pacienta, lokalizaci infekce, minimální inhibiční koncentraci antimikrobiálního přípravku a jeho koncentraci v příslušné tkáni. Určení bakteriální citlivosti či rezistence je v tomto případě více personalizované a umožňuje cílenější antibiotickou léčbu.

*Klíčová slova: bakterie, antibiotikum, rezistence, interpretace*

## SUMMARY

Kolář M.: **Interpretation of bacterial susceptibility/resistance to antibiotics**

Bacterial resistance may be defined from a microbiological, clinical and pharmacological perspective. Microbiological resistance refers to the presence of genetic information coding for the relevant mechanism of resistance of a bacterium to a particular antibiotic. In case of clinical interpretation, breakpoints are of key importance as their role is to distinguish bacterial pathogens in which successful therapy is highly probable from isolates with a high likelihood of failure. However, it is questionable whether this approach is suitable for all patients, particularly those receiving intensive care for life-threatening infections. A pharmacodynamic/pharmacokinetic definition of resistance may be understood as comprehensive since it allows consideration of all parameters, especially the patient's clinical condition, site of infection, minimum inhibitory concentration of a specific antimicrobial agent and its concentration in the relevant tissue. In that case, determination of bacterial susceptibility or resistance is more personalized and allows more targeted antibiotic therapy.

*Keywords: bacteria, antibiotic, resistance, interpretation*

*Klin mikrobiol inf lék 2016;22(3):105–109*

**Adresa:** prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D., Ústav mikrobiologie, LF UP v Olomouci, Hněvotínská 3, 779 00 Olomouc, e-mail: milan.kolar@fnol.cz

Došlo do redakce: 23. 2. 2016

Přijato k tisku: 20. 5. 2016

## Úvod

Důležitou charakteristikou současné medicíny je komplexní přístup k řešení mnoha onemocnění, a to především u pacientů v intenzivní péči. Multidisciplinární charakter má rovněž antibiotická léčba těžce probíhajících a život ohrožujících bakteriálních infekcí [1]. Konkrétním příkladem je interpretace výsledků bakteriální rezistence/citlivosti k antimikrobiálním přípravkům. Ke koncepci bakteriální rezistence je nutné přistupovat ze tří úhlů pohledu, a to z mikrobiologického, klinického a farmakologického. Lze považovat za vhodné jednotlivá východiska v následujícím textu krátce charakterizovat.

## Mikrobiologická definice rezistence

V tomto případě lze rezistenci definovat jako přítomnost genetické informace, která kóduje příslušný mechanismus odolnosti bakterie k danému antibiotiku. Vhodným parametrem je hodnota ECOFF (epidemiological cut off) rozlišující „wild type“ populaci (bez mechanismu rezistence) a populaci s příslušným mechanismem rezistence. Je nutné zdůraznit, že ECOFF není klinickým „breakpointem“ (BP) k určení citlivosti či rezistence testované bakterie a bakterie s nízkým stupněm rezistence mohou být klasifikovány jako citlivé. Aplikaci tohoto přístupu lze spatřovat v platných kritériích EUCAST [2]. Například v případě enterobakterií

s produkcí širokospektrých beta-laktamáz jsou příslušné geny přítomny a z mikrobiologického hlediska podle ECOFF by mohly být tyto izoláty definovány jako rezistentní k příslušným beta-laktamovým antibiotikům. Na základě stanovení minimálních inhibičních koncentrací (MIC) však mohou být izoláty interpretovány jako citlivé za předpokladu, že MIC je nižší nebo rovna stanovenému klinickému „BP“. Obr. 1 charakterizuje vztah mezi ECOFF a klinickou interpretací, resp. klinickým „BP“, a je tedy zřejmé, že produkce beta-laktamáz nemusí nutně znamenat selhání léčby širokospektrými peniciliny nebo cefalosporiny.

Z mikrobiologického pohledu lze bakteriální rezistenci klasifikovat jako:

- přirozenou či primární,
- získanou či sekundární.

Primární rezistence je vlastností všech, resp. téměř všech, izolátů daného bakteriálního druhu. Příslušné antibiotikum je klinicky neúčinné a nelze jej použít v antibiotické léčbě [3]. Laboratorní testování není v tomto případě nutné, a pokud je realizováno v rámci předem definované sestavy antimikrobních přípravků, výsledek by měl být uveden jako „rezistence“, nebo by neměl být součástí uvolněných výsledků. Pokud je stanovena citlivost, tak je nutné zvážit, zdali není chyba v identifikaci daného izolátu nebo v postupu určení rezistence/citlivosti. Je samozřejmé, že medicína není černobílá a po ověření správnosti identifikace a opakovaném stanovení citlivosti může být potvrzen i tento výsledek. Vysvětlení může spočívat ve skutečnosti, že přirozená rezistence může být vyjádřena v nízkém stupni a MIC je těsně pod klinickým „BP“. Ale v tomto případě stále platí, že pokud je k dispozici alternativní antibiotikum, neměl by anti-

Tabulka 1  
Příklady primární rezistence u nejčastějších bakteriálních původců nozokomiálních infekcí

Bakteriální původci nozokomiálních infekcí	Primární rezistence k antimikrobním přípravkům
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ampicilin, amoxicilin
<i>Enterobacter cloacae</i>	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ampicilin, amoxicilin, amoxicilin/kys. klavulanová, cefazolin
<i>Citrobacter freundii</i>	
<i>Citrobacter koseri</i>	ampicilin, amoxicilin
<i>Serratia marcescens</i>	ampicilin, amoxicilin, amoxicilin/kys. klavulanová, cefazolin, cefuroxim, kolistin
<i>Proteus mirabilis</i>	tetracyklin, kolistin, nitrofurantoin, tigecyklin
<i>Proteus vulgaris</i>	ampicilin, amoxicilin, cefazolin, cefuroxim, tetracyklin, kolistin, nitrofurantoin, tigecyklin
<i>Morganella morganii</i>	ampicilin, amoxicilin, amoxicilin/kys. klavulanová, cefazolin, cefuroxim, tetracyklin, kolistin, nitrofurantoin, tigecyklin
<i>Providencia rettgeri</i>	ampicilin, amoxicilin, amoxicilin/kys. klavulanová, cefazolin, tetracyklin, kolistin, nitrofurantoin, tigecyklin
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ampicilin, amoxicilin, amoxicilin/kys. klavulanová, ampicilin/sulbaktam, cefazolin, cefuroxim, cefotaxim, ceftriaxon, ertapenem, kotrimoxazol, tetracyklin, tigecyklin
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ampicilin, amoxicilin, amoxicilin/kys. klavulanová, cefazolin, cefuroxim, cefotaxim, ceftriaxon, ertapenem
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	ampicilin, amoxicilin, amoxicilin/kys. klavulanová, ampicilin/sulbaktam, cefazolin, cefuroxim, cefotaxim, ceftriaxon, ceftazidim, imipenem, meropenem, ertapenem, aminoglykosidy (např. gentamicin, tobramycin, amikacin)
<i>Burkholderia cepacia</i> komplex	ampicilin, amoxicilin, amoxicilin/kys. klavulanová, cefazolin, cefuroxim, kolistin, aminoglykosidy, ertapenem, imipenem
<i>Enterococcus faecalis</i>	cefalosporiny, erytromycin, klindamycin, quinupristin/dalfopristin, sulfonamidy, aminoglykosidy (nízká hladina rezistence)
<i>Enterococcus faecium</i>	cefalosporiny, erytromycin, klindamycin, sulfonamidy, aminoglykosidy
<i>Staphylococcus aureus</i>	ceftazidim

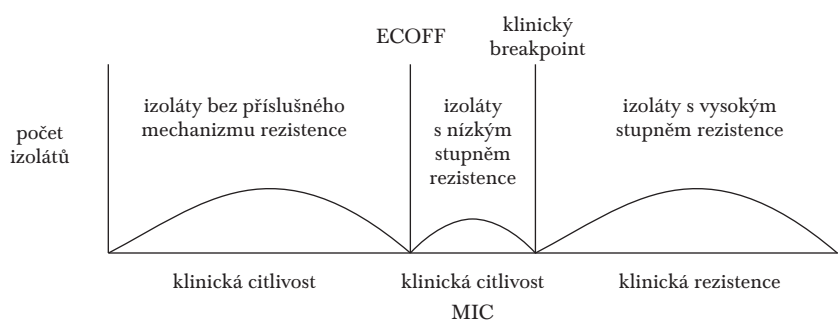
mikrobní přípravek s klasifikací primární rezistence u dané patogenní bakterie a příslušné infekce být použit.

Význam primární rezistence se v současné klinické mikrobiologii výrazně zvýšil. Tato skutečnost je podmíněna stále stoupajícím používáním hmotnostní spektroskopie (MALDI TOF) v identifikaci bakterií. V rutinní mikrobiologické praxi je možné přesně identifikovat bakteriální druh již z primokultivace, tedy 10–12 hodin po inokulaci klinického materiálu na příslušné agarové půdy. Přesná znalost bakteriálního původce a jeho primární rezistence k antimikrobním přípravkům umožňuje upřesnit příslušnou antibiotickou léčbu, která je u konkrétního pacienta realizována. Jako příklad lze použít časnou nozokomiální pneumonii, kdy byla zahájena léčba přípravkem amoxicilin/kys. klavulanová. Pokud je z adekvátního klinického materiálu, například tracheálního endosekretu, izolován kmen *Enterobacter cloacae*, je nutné antibiotickou léčbu změnit, protože je zde primární rezistence k použitému antibiotiku [3]. Stejný princip je nutné uplatňovat i při schvalování vázaných antibiotik, kdy v řadě případů ještě nejsou výsledky uvolněny ošetřujícím lékařům, a postupovat v souladu s výsledky identifikací bakteriálních patogenů a jejich přirozenou rezistencí. Tento postup nabývá na významu a naléhavosti v souvislosti s nutností aplikovat adekvátní antibiotickou léčbu co nejdříve [4]. Příklady primární rezistence jsou uvedeny v tabulce 1 a jejich znalost je pro klinické mikrobiology poskytující konzilia antibiotické léčby naprosto nezbytná [3].

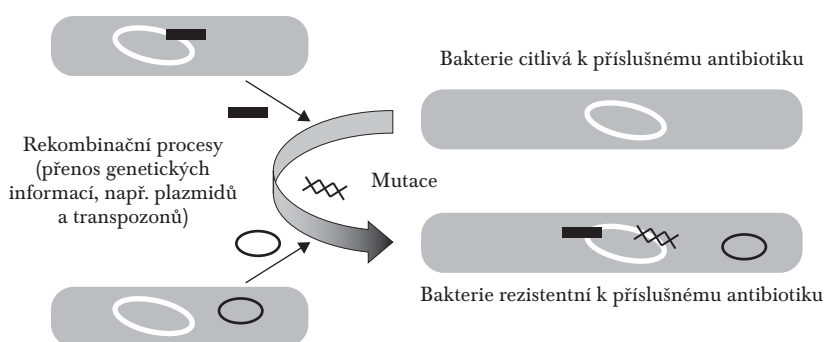
Závažným problémem současné medicíny je však sekundární bakteriální rezistence, kterou lze definovat jako změnu z původně citlivé bakterie na rezistentní. Nejdůležitější příčinou vzniku bakteriální rezistence jsou změny bakteriálního genotypu. Tyto změny lze definovat chromozomální mutací s následnou selekcí rezistentních buněk, na níž se může negativně projevit právě selekční tlak antimikrobních přípravků [5–8]. Významnějším mechanismem je však proces založený na převzetí genetického materiálu od rezistentních bakteriálních buněk rekombinačními procesy, tedy konjugací, transformací a transdukací (obr. 2).

Přítomnost sekundární bakteriální rezistence nelze v plném rozsahu předem definovat, i když je k dispozici přesná identifikace izolátu, a je nutná detekce příslušným mikrobiologickým vyšetřením. To vyžaduje určitý čas, který však především u těžce probíhajících bakteriálních infekcí (například pozdních nozokomiálních pneumonií a sepsí u pacientů v intenzivní péči) není k dispozici. Klinicky významné příklady sekundární rezistence u bakteriálních původců nozokomiálních infekcí jsou uvedeny v tabulce 2. Z výše uvedeného je zřejmé, že dalším nezbytným předpo-

Obr. 1  
Vztah mezi ECOFF a klinickou interpretací



Obr. 2  
Vznik sekundární bakteriální rezistence



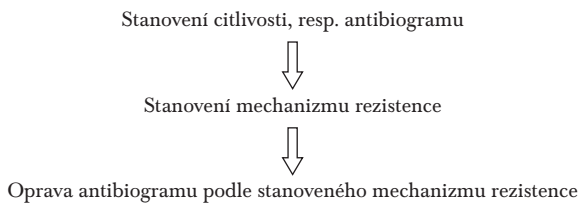
kladem pro antibiotickou léčbu a klinického mikrobiologa je podrobná znalost výsledků monitorování bakteriální rezistence v příslušných epidemiologických jednotkách a časových intervalech. Bez těchto informací nelze adekvátně rozhodovat o iniciální antibiotické léčbě závažných bakteriálních infekcí, včetně septických stavů, u pacientů v intenzivní péči. Uvedenou skutečnost lze doložit například u pacientů s nozokomiální pneumonií. Kolář et al. dokumentují, že ve skupině pacientů s neadekvátní antibiotickou léčbou byla 30denní letalita signifikantně vyšší (83 %) než ve skupině s adekvátní terapií (30 %) a riziko 30denní letality bylo v případě neadekvátní antibiotické léčby 2,78x vyšší [9].

V případě sekundární bakteriální rezistence je tedy problémem s časovou náročností fenotypového určení, které vyžaduje zhruba 48 hodin od přijetí klinického materiálu. PCR detekce příslušných genů sice nabízí určité řešení, ale jen v limitovaných případech, například průkaz *mecA* či *mecC* genu u *Staphylococcus aureus* nebo *vanA* či *vanB* genu u enterokoků znamená příslušnou rezistenci. Naproti tomu průkaz genů pro produkci beta-laktamázy ESBL či AmpC neznamena nutně rezistenci a klinický neúspěch léčby širokospektrými peniciliny nebo cefalosporiny.

### Klinická definice rezistence

Klinickou definici bakteriální rezistence lze charakterizovat jako absenci nebo neadekvátní klinický účinek antibio-

Obr. 3  
Interpretativní stanovení rezistence



tika ve vhodném dávkování a správné indikaci. V této souvislosti lze formulovat následující předpoklady:

- citlivost vyjadřuje vysokou pravděpodobnost účinku léčby daným antibiotikem,
- rezistence vyjadřuje vysokou pravděpodobnost selhání léčby daným antibiotikem.

Pro tuto interpretaci jsou zásadní klinické „BP“, jejichž cílem je odlišení bakteriálních patogenů, u nichž je vysoká pravděpodobnost úspěchu léčby od izolátů s vysokou pravděpodobností selhání. Je vhodné zdůraznit, že cílem je v tomto pohledu adekvátně léčit, ne identifikovat mechanismus rezistence. Pokud jsou klinické „BP“ dobře definovány, nejsou nutné další postupy, jako interpretativní stanovení rezistence (to však neplatí absolutně). Například v souladu s platnými doporučeními EUCAST není pro stanovení citlivosti či rezistence nutné identifikovat produkci širokospektrých beta-laktamáz typu ESBL, AmpC nebo karbapenemáz. Tuto produkci je však vhodné detekovat z epidemiologických důvodů. Na druhé straně v případě methicilin-rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* či vankomycin-re-

zistentních enterokoků znamená detekce příslušných genů i klinickou rezistenci [2]. Z uvedeného vyplývá, že tzv. interpretativní stanovení rezistence (obr. 3) již není podle doporučení EUCAST v řadě případů aktuální. V klinické praxi to například znamená, že pozitivní výsledek produkce ESBL či AmpC enzymů neznamená rezistenci k beta-laktamovým antibiotikům bez ohledu na hodnoty MIC. Je zřejmé, že doporučená kritéria EUCAST je nutné akceptovat a uplatňovat jednotný postup, především při monitorování bakteriální rezistence a jejího vývoje. Na druhé straně je vhodné uplatňovat racionální rozvahu. V případě těžké sepse s etiologickou rolí ESBL-pozitivního kmene *Klebsiella pneumoniae* s MIC cefotaximu 1mg/l (tedy podle kritérií EUCAST citlivý kmen) je možná vhodnější použít v terapii jiné antibiotikum, například karbapenem.

### Farmakologická (PD/PK) definice rezistence

Rezistenci lze z pohledu farmakologického definovat jako absenci antibakteriálního účinku (farmakodynamického – PD) a následně klinického (farmakokinetického – PK) efektu v souvislosti s koncentrací antibiotika v místě infekce. V tomto případě se uplatňuje vztah mezi PD/PK parametry ( $C_{max}/MIC$ ,  $T > MIC$ , plocha pod křivkou) a efektem léčby [10].

Z výše uvedeného vyplývá PD/PK definice rezistence, kterou lze chápat jako komplexní, umožňující zvážení všech parametrů, tedy klinického stavu pacienta, lokalizace infekce, minimální inhibiční koncentrace příslušného antimikrobiálního přípravku, koncentrace antibiotika v místě infekce atd. Určení bakteriální citlivosti či rezistence je v tomto případě více personalizované a umožňuje cílenější zaměření antibiotické léčby, včetně dávkování. Stanovení bakteriální rezistence neznamená nutně, že antibiotikum nemůže být účinné za určitých podmínek (způsob podání, dávkování)

Tabulka 2

Klinicky významné příklady sekundární rezistence u nejčastějších bakteriálních původců nozokomiálních infekcí

Bakteriální původci nozokomiálních infekcí	Sekundární rezistence k antimikrobiálním přípravkům
<i>Escherichia coli</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	aminoglykosidy, cefalosporiny III. a IV. generace (např. cefotaxim, ceftazidim, cefepim), karbapenemy (např. imipenem, meropenem, ertapenem), fluorochinolony (např. ofloxacin, ciprofloxacin), kolistin, piperacilin/tazobaktam
<i>Enterobacter cloacae</i>	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	
<i>Serratia marcescens</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	aminoglykosidy, ceftazidim, imipenem, meropenem, piperacilin/tazobaktam, ofloxacin, ciprofloxacin, kolistin
<i>Acinetobacter baumannii</i>	meropenem, imipenem, ceftazidim, piperacilin/tazobaktam, aminoglykosidy, kolistin
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	kotrimoxazol, kolistin
<i>Burkholderia cepacia</i> komplex	ceftazidim, meropenem, piperacilin/tazobaktam, ciprofloxacin, ofloxacin
<i>Enterococcus</i> sp.	glykopeptidy (vankomycin, teikoplanin), tigecyklin, linezolid
<i>Staphylococcus aureus</i>	oxacilin/methicilin, glykopeptidy, tigecyklin, linezolid

při aplikaci. Tento předpoklad platí v případě sekundární rezistence. Hlavními důvody jsou vyšší koncentrace antibiotika v místě infekce a případný synergní efekt při léčbě kombinací antimikrobních léčiv. V případě primární rezistence však nelze klinický efekt očekávat. Definice citlivé bakterie neznámá, že léčba musí být účinná ve všech případech a za určitých okolností může léčba selhat. Důvody mohou být falešná citlivost, nedostatečná koncentrace antibiotika (nevhodné dávkování či interval) nebo jiné etiologické agens.

Je zřejmé, že v běžné praxi nelze u všech pacientů přesně definovat příslušné PD/PK parametry. Jisté je však možné racionálně posoudit klinický stav pacienta (především typ, lokalizace a závažnost infekce, funkce ledvin a jater), stanovit etiologické agens a jeho citlivost/rezistenci na základě MIC jednotlivých antimikrobních přípravků. Za velmi vhodnou lze považovat antibiotickou léčbu vycházející z adekvátního zhodnocení MIC, která umožní:

- kvalitnější orientaci ve výběru nevhodnější antibiotické léčby,
- stanovení optimálního dávkování,
- využívání PD/PK interpretace.

Podpořeno grantem IGA UP LF-2016-022.

#### Literatura:

1. Kolář M. Problematika bakteriální rezistence k antibiotické léčbě. *Postgrad Med.* 2013;15:817–821.
2. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Available from: [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints).
3. Leclercq R, Canton R, Brown DFJ, et al. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19:141–160.
4. Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med.* 2006;34:1589–1596.
5. Kolář M, Štrbová P. Vývoj rezistence invazivních bakterií v souvislosti se spotřebou antibiotik. *Klin Farmakol Farm.* 2015;29:49–52.
6. Kolář M, Htoutou Sedláková M, Suchánková H, Hanulík V. Vliv selektivního tlaku karbapenemů na bakteriální rezistenci. *Klin Mikrobiol Inf Léč.* 2013;19:4–7.
7. Htoutou Sedláková M, Vojtová V, Hanulík V, Suchánková H, Kolář M. Rezistence enterobakterií k vybraným antibiotikům v souvislosti s jejich spotřebou. *Klin Farmakol Farm.* 2012;26:61–66.
8. Bosso JA, Mauldin PD, Salgado CD. The association between antibiotic use and resistance: the role of secondary antibiotics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2010;29:1125–1129.
9. Kolář M, Htoutou Sedláková M, et al. Antibiotická léčba nozokomiálních pneumonií a její farmakoekonomika. *Klin Mikrobiol Inf Léč.* 2016; 22(1):4–12.
10. Scaglione F, Paraboni L. Influence of pharmacokinetics/pharmacodynamics of antibacterials in their dosing regimen selection. *Expert Rev Antiinfect Ther.* 2006; 4:479–490.

# Tenofovir alafenamid fumarát – nová generace tenofoviru

S. SNOPOKOVÁ, K. HAVLÍČKOVÁ, P. HUSA

*Klinika infekčních chorob, Lékařská fakulta MU a FN Brno, pracoviště Bohunice*

## SOUHRN

Snopková S., Havlíčková K., Husa P.: **Tenofovir alafenamid fumarát – nová generace tenofoviru**

Antiretrovirová léčba jako léčba celoživotní musí splňovat ambice maximální účinnosti při zachování nejvyšší možné bezpečnosti a tolerance. Tenofovir disoproxil fumarát (TDF) je antiretrovirové léčivo s excelentním efektem z hlediska virové suprese. U některých pacientů se však může v průběhu času manifestovat klinicky významná nefrotoxicita či úbytek kostní minerální denzity. Tenofovir alafenamid fumarát (TAF) je nový prodrug tenofoviru (TFV), který je stabilnější v lidské plazmě a podstatně efektivněji proniká do cílových buněk než TFV. TFV konvertovaný z TAF dosahuje o 90 % nižší plazmatické koncentrace než TFV konvertovaný z TDF. Naopak intracelulárně v cílových buňkách farmakologicky aktivní metabolit konvertovaný z TAF dosahuje vyšší hladiny než z TDF. To umožňuje podstatně redukovat perorální dávku TAF a snížit riziko renální a kostní toxicity. Pokud je TAF podáván s kobicistatem (COBI), který ještě více zvyšuje absorpci, a tak optimalizuje jeho farmakokinetické vlastnosti, je možné dávku TAF snížit. Dalším faktorem, který zásadně ovlivňuje bezpečnostní profil TAF, je jeho farmakokinetika. TAF není substrát organických aniontových transportérů, a tudíž nevykazuje žádnou cytotoxicitu související s jejich expresí. Terapeutický efekt nízké dávky TAF 10 mg/COBI 150 mg byl prokázán u čtyř různých populačních skupin. Na základě výsledků klinických studií byl v listopadu 2015 ve Spojených státech amerických Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv schválen pro léčbu infekce HIV jedno-tabletový režim elvitegravir/kobicistat/emtricitabin/tenofovir alafenamid fumarát. Tento režim prokázal vyšší efektivitu, lepší bezpečnostní profil a toleranci než režimy založené na kombinacích s tenofovir disoproxil fumarátem. V současné době je již schválen i v zemích Evropské unie.

*Klíčová slova: prodrug, tenofovir, tenofovir disoproxol fumarát, tenofovir alafenamid fumarát, organické aniontové transportéry, kobicistat, antiretrovirová terapie, jedno-tabletový režim*

## SUMMARY

Snopková S., Havlíčková K., Husa P.: **Tenofovir alafenamide fumarate – a new generation of tenofovir**

Antiretroviral therapy as a life-long treatment has to meet the criteria of maximum efficiency while maintaining the highest possible level of safety and tolerance. Tenofovir disoproxil fumarate (TDF) is an antiretroviral drug with an excellent effect of virological suppression. However, some patients can over time develop clinically significant nephrotoxicity or bone loss. Tenofovir alafenamide fumarate (TAF) is a novel prodrug of tenofovir (TFV) that is more stable in human plasma and more efficiently penetrates into target cells than TFV. Tenofovir converted from TAF reaches plasma concentration which is 90% lower than that of TFV converted from TDF. Conversely, the active metabolite converted from TAF reaches a higher intracellular level in target cells than TFV from TDF. This allows a substantial reduction of its oral dose, decreasing the risk for renal and bone toxicity. It is even possible to reduce the dose of TAF in case it is administered concurrently with cobicistat further improving its absorption and optimizing its pharmacokinetic profile. Pharmacokinetic properties are another factor substantially influencing its safety profile. TAF is not a substrate for renal organic anion transporters and thus shows no cytotoxicity related to their expression. Based on clinical trials, a fixed-dose combination tablet (single-tablet regimen) containing elvitegravir/cobicistat/emtricitabine/tenofovir alafenamide fumarate was approved by the FDA in November 2015. This regimen showed higher efficacy, better safety profile and tolerance than TDF-based regimens. Recently, it has been approved in European Union countries.

*Keywords: prodrug, tenofovir, tenofovir disoproxil fumarate, tenofovir alafenamide fumarate, organic anion transporters, cobicistat, antiretroviral therapy, single-tablet regimen*

*Klin mikrobiol inf lék 2016;22(3):111–117*

**Adresa:** MUDr. Svatava Snopková, Ph.D., Klinika infekčních chorob, LF MU a FN Brno, pracoviště Bohunice, Jihlavská 20, 625 00 Brno, e-mail: svatava.snopkova@fnbrno.cz

Došlo do redakce: 20. 4. 2016

Přijato k tisku: 31. 8. 2016

## Úvod

V zemích se všeobecným přístupem k antiretrovirové terapii (antiretroviral therapy – ART) se prognóza infikovaných lidským virem imunodeficiency (human immunodeficiency

virus – HIV) podstatně změnila. V posledních dvou desetiletích dramaticky poklesla incidence smrtelných oportunních infekcí a stavů, které definují nejrozvinutější stadium selhání imunitního systému – syndrom získané

imunodeficiencie (acquired immunodeficiency syndrome – AIDS) [1,2]. U léčených HIV-pozitivních jedinců však ve srovnání s všeobecnou populací vzrostla incidence kardio-vaskulárních onemocnění (KVO), hypertenze, mozkových příhod, různých venózních i arteriálních trombotických stavů, diabetu mellitu, chronického onemocnění jater, ledvin a nádorů [1–4].

Neléčená infekce HIV je provázena imunitní aktivací, perzistencí zánětu a endoteliální dysfunkce. Většina abnormalit v důsledku efektivní ART postupně regreduje. Ve srovnání s neinfikovanými jedinci však nedosáhne fyziologických hodnot ani po letech vysoce účinné ART, která je nedokáže kompletně normalizovat [1,5–7].

Syndrom reziduální imunitní dysfunkce (residual immune dysregulation syndrome – RIDS) je charakterizován zvýšenou aktivací buněk vrozené i získané imunity, expresí prozánětlivých cytokinů a aktivací koagulační kaskády [8]. Epidemiologické studie ukazují, že RIDS a změny s ním spojené silně predikují riziko vzniku následných neinfekčních komplikací [6,9,10,11]. Patofyziologické mechanismy, které vedou k tomuto fenoménu, jsou zřejmě velmi komplexní a nejsou dosud přesně identifikovány a definovány [12]. Předpokládá se, že jistou nepříznivou roli budou hrát samotná antiretrovirová (antiretroviral – AR) léčiva a s nimi spojené některé nežádoucí jevy – alterace lipidového metabolismu, inzulinorezistence, mitochondriální toxicita a další.

V příštím desetiletí se očekává, že více než 50 % HIV-pozitivních pacientů bude ve věkové kategorii starších 50 let. Bude proto narůstat incidence nemocí a chorobných stavů, které jsou spojeny s věkem [1]. Kromě toho je již dnes známo, že u HIV-pozitivních dochází k akceleraci biologického procesu stárnutí a prevalence neinfekčních nemocí u těchto jedinců odpovídá HIV-negativní populaci, která je o 10–15 let starší [13].

V kontextu všech těchto skutečností a aktuálně jednoznačně preferované co nejdříve zahájené AR terapie musí nové režimy a nová léčiva splňovat ambice maximální účinnosti při zachování nejvyšší možné bezpečnosti a tolerance.

## 1 Tenofovir a tenofovir disoproxil fumarát

Již od roku 1993 je známo, že nukleotidový analog tenofovir (TFV) a jeho farmakologicky aktivní metabolit je silným inhibitorem reverzní transkriptázy HIV a je účinný i proti některým rezistentním virovým izolátům. Kromě toho je velmi špatným substrátem a inhibitorem polymerázy mitochondriální deoxyribonukleové kyseliny (deoxyribonucleic acid – DNA) a má dlouhý intracelulární poločas, který dosahuje v periferních mononukleárních buňkách až 150 hodin. Přes tyto nepochybně velmi výhodné vlastnosti nebyla původní forma TFV nikdy použita jako perorální léčivo. Nukleotidový inhibitor reverzní transkriptázy (nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitor – NRTI) TFV je dianion a při fyziologickém pH je jeho biologická dostupnost a membránová permeabilita velmi nízká [14]. Nevstřebává se z gastrointestinálního traktu a plazmatická koncentrace po perorální aplikaci nemůže dosáhnout terapeuticky účinné hladiny [15].

Výsledky studií *in vitro* v roce 1998 ukázaly, že prodrug TFV – tenofovir disoproxil fumarát (tenofovir disoproxil fu-

marate – TDF) má lepší biologickou dostupnost a lepší permeabilitu přes membránu periferních mononukleárních buněk než TFV [14].

TDF je však relativně málo stabilní v plazmě, kde většina podané látky podléhá rychlé konverzi na volně cirkulující TFV [14,16]. TDF byl schválen pro klinické použití ve Spojených státech amerických Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration – FDA) v roce 2001 a Evropskou lékovou agenturou (European Medicines Agency – EMA) v roce 2002. TDF v dávce 300 mg denně je v současné době základní součástí většiny AR režimů. TDF vykazuje excelentní efekt z hlediska virologické suprese. U některých pacientů se však může po čase objevit významná nefrotoxicita či poruchy kostního metabolismu [16–18]. Vzácně může dojít až k závažnému poškození ledvin či k laktátové acidóze [17].

TDF představuje určité riziko zejména v kontextu možných klinických důsledků při mnohaleté (celoživotní) léčbě infekce HIV. Onemocnění ledvin je relativně častou příčinou morbidit a mortality HIV infikovaných pacientů. TDF může být podáván pacientům s odhadovanou hodnotou glomerulární filtrace (estimated glomerular filtration rate – eGFR) podle Cockcroft-Gaultovy metody > 60 ml/minutu [17]. Prevalence nefropatie je poměrně vysoká a narůstá se zvyšujícím se věkem. Pro pacienty s vysokým rizikem KVO není vhodný TDF ani velmi často užívaný další NRTI abakavir. Pro tyto pacienty jsou doporučovány tzv. nukleosidy-šetřící režimy [19]. Zejména z dlouhodobého hlediska není zatím účinnost a efektivita těchto režimů podepřena dostatečným počtem validních klinických studií. Měly by být určeny výhradně pro pacienty, u nichž jsou zásadní kontraindikace podání nukleosidových nebo nukleotidových inhibitorů reverzní transkriptázy [20].

TDF je také účinný proti viru hepatitidy B (hepatitis B virus – HBV) a je schválen pro léčbu chronické infekce HBV u dospělých a dětí [17,21]. U pacientů s chronickou hepatitidou B po přerušení léčby TDF může nastat těžká exacerbace onemocnění [17].

## 2 Tenofovir alafenamid fumarát

### 2.1 Farmakodynamické vlastnosti

Tenofovir alafenamid fumarát (tenofovir alafenamide fumarate – TAF) je stejně jako TDF prodrug nukleotidového analogu TFV. Na základě studií *in vitro* bylo zjištěno, že TAF je proti HIV 1 000× účinnější než mateřská molekula TFV a 10× účinnější než TDF [22]. TAF je v plazmě mnohonásobně stabilnější než TDF a podstatně lépe proniká do cílových buněk [14–16,23,24].

Po svém vstřebání ze zažívacího traktu a překonání kompartmentu enterocytů cirkuluje v systémovém řečišti jako neaktivní prodrug a jeho část je absorbována a extrahována játry. Podléhá různým serinovým a cysteinovým hydrolázám v buňkách střevního epitelu a v hepatocytech, které mohou významně limitovat jeho biologickou dostupnost. Přesto v cirkulaci zůstává dostatečné množství TAF, které zajistí efektivní průnik do cílových buněk [15]. Konverzi na tenofovir podléhá TAF převážně až intracelulárně v lym-

foidních orgánech a tkáních a v periferních mononukleárních buňkách, kde jako aktivní metabolit dosahuje signifikantně vyšší koncentrace než TDF [15,24–26] (*obr. 1*).

První krok intracelulární aktivace TAF v cílových buňkách zahajuje lysosomální karboxypeptidáza katepsin A (cathepsin A – CatA). CatA je všudypřítomný enzym, který se ve vysoké koncentraci nachází zejména v lymfoidních buňkách [15,23]. CatA katalyzuje TAF za vzniku intermediárního metabolitu tenofovir-alaninu (TAF-Ala) [25]. TAF-ala je konvertován na mateřský TFV, který podléhá následné fosforylaci, a vzniká aktivní metabolit tenofovir-difosfát (tenofovir diphosphate – TFV-DP) [16,24,27]. Při podstatně nižší dávce, dosahuje TAF ve srovnání s TDF intracelulárně 4x vyšší hladiny TFV-DP [16] a vyšší anti-HIV aktivity [14,16,26]. Intracelulární poločas TFV-DP je 150 až 180 hodin [24]. TFV-DP inhibuje aktivitu reverzní transkriptázy HIV, která je odpovědná za reverzní transkripci virové ribonukleové kyseliny (ribonucleic acid – RNA) na DNA. Kompeticí s přirozenými substráty TFV-DP ukončí syntézu řetězce DNA poté, co je inkorporován do virové DNA [24,28] (*obr. 2*).

Minimální konverze TAF na TFV přesto proběhne i v cirkulaci. Hladina TFV, který pochází z konverze TAF v cirkulaci, je přibližně o 90 % nižší než hladina TFV konvertovaného z TDF [14–16,18]. To se statisticky a klinicky signifikantně promítá do parametrů ledvinných funkcí a kostní minerální denzity, které indikují bezpečnost tohoto léčiva [16,18].

Katepsiny představují soubor hlavních proteolytických enzymů (proteáz). Jsou lokalizovány v lysozomech i v dalších buněčných kompartmentech. V různých kompartmentech plní odlišné a specifické fyziologické funkce. Jejich aktivita je přesně regulována a chyby v tomto kontrolním procesu jsou spojeny se vznikem řady patologií [29]. Inhibitory proteázy viru hepatitidy C (hepatitis C virus – HCV) telaprevir a boceprevir nespecificky inhibují katepsin A, na jehož aktivitě je in vitro v první fázi závislá intracelulární aktivace TAF. Současné podání telapreviru a bocepreviru s TAF je proto kontraindikováno.

Darunavir (DRV) ani jiné inhibitory proteázy HIV nebo HCV nevykazují farmakologický antagonismus s TAF [24,30,31]. Ve studiích in vitro byl prokázán aditivní až synergistický efekt různých tříd antiretrovirotik s TAF.

TAF je aktivní proti všem subtypům HIV-1 i HIV-2 [26]. TAF i TDF mají prakticky identický rezistenční profil [22]. Jelikož TAF dosahuje podstatně vyšší intracelulární koncentrace než TDF, je pravděpodobné, že in vivo může být TAF aktivní i proti rezistentním izolátům k TDF a díky jeho vyšší intracelulární koncentraci dojde méně často k rozvoji mutace v pozici K65R [32]. TAF vykazuje in vitro i in vivo aktivitu také proti HBV [24].

## 2.2 Farmakokinetické vlastnosti

TAF je poměrně intenzivně metabolizován (> 80 %), 47 % podané dávky je vyloučeno stolicí, 36 % močí, predominantně jako metabolity TFV glomerulární filtrací a aktivní tubulární sekrecí. Zcela minimální množství nezměněné látky je vyloučeno v moči (< 1 % dávky) [24].

Metabolismus TAF enzymatickým systémem cytochromu P450 3A (CYP3A) je minoritní. Také inhibice CYP3A in vitro prostřednictvím TAF je velmi slabá [33,34].

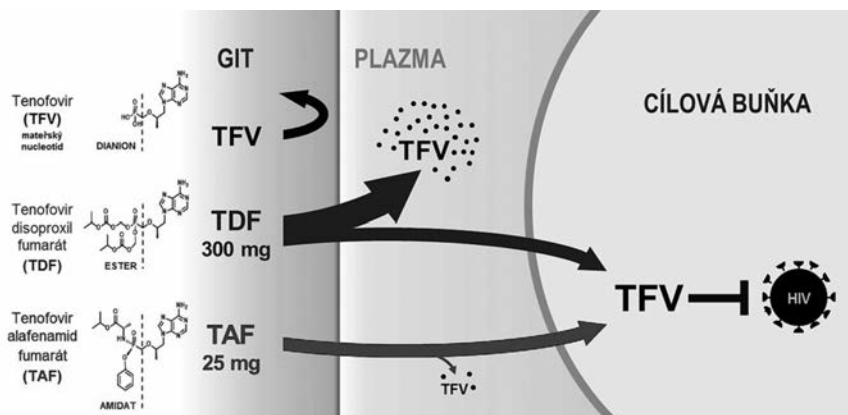
TAF je substrát transportních polypeptidů organických aniontů (organic anion transport polypeptide – OATP) OATP1B1 a OATP1B3, proteinu rezistence karcinomu prsu (breast cancer resistance protein – BCRP) a glykoproteinu P (P glycoprotein – P-gp) [33].

Organické aniontové transportéry (organic anion transporters – OAT) jsou schopny vychytávat z plazmy řadu endogenních i exogenních organických aniontů [32]. OAT1 a OAT3 jsou exprimovány na bazolaterální membráně buněk proximálního tubulu ledvin a zajišťují aktivní tubulární sekreci těchto aniontů [35]. TAF nevykazuje žádné interakce s renálními transportéry OAT1 nebo OAT3 [33,34]. Expresí organických kationtových transportérů (organic cation transporter – OCT) je značně ovlivněna genetickou predispozicí [36]. Pro ledviny je specifický OCT2, zatímco OCT1 je exprimován zejména v játrech [35]. TAF je velmi slabý inhibitor OCT1 [33,34].

Transportéry, které zajišťují vylučování řady léčiv a toxinů (multidrug and toxin extrusion transporters – MATE), jsou lokalizovány na luminální membráně proximálního tubulu ledvin. V ledvinách byly identifikovány MATE1 a MATE2. Pro MATE1 je typická úzká kooperace s OCT2, který je exprimován na bazolaterální membráně [35]. TAF je velmi slabý inhibitor MATE1 [33,34]. Proteiny, které mají vztah k rezistenci léčiv (multidrug resistance-related proteins – MRP), BCRP a P-gp jsou rovněž exprimovány na luminální membráně buněk proximálního tubulu a jsou mediátory sekrece různých léčiv [35]. Léčiva, která inhibu-

Obr. 1

Srovnání permeability tenofoviru a jeho prodrug  
Upraveno podle: Gupta SK, Pozniak A, Arribas J, et al. Subjects with renal impairment switching from tenofovir disoproxil fumarate to tenofovir alafenamide have improved renal and bone safety through 48 weeks. IAS 2015; Vancouver. Abstract # TUAB0103.





jí P-gp nebo BCRP jako právě kobicistat, mohou zvýšit absorpci TAF, zatímco léčiva, která indukují aktivitu P-gp, mohou jeho absorpci snížit [33,34].

Aktivní tubulární sekreci látek ovlivňuje jejich vychytávání OAT1 a OAT3 na bazolaterální membráně buněk proximálního tubulu a jejich následné vylučování MRP do moče na luminální membráně. Akumulace TFV v ledvinách a následný efekt na funkci buněk proximálního tubulu je způsobena jeho rychlým vychytáváním z plazmy a pomalým vylučováním do moče prostřednictvím MRP [37,38]. Na rozdíl od TFV nevykazuje TAF žádnou interakci s OAT1 nebo OAT3, a tudíž žádnou cytotoxicitu související s jejich expresí. Je proto nepravděpodobné, že by docházelo k aktivní akumulaci TAF v buňkách proximálních tubulů. Tento faktor zásadně zlepšuje bezpečnostní profil TAF [34].

Další faktor, který pozitivně ovlivňuje bezpečnostní profil TAF, je skutečnost, že TFV, který pochází z konverze TAF v cirkulaci je o 90 % nižší než hladina TFV konvertovaného z TDF. To znamená významné snížení možné expozice ledvin TFV. TAF je velmi rychle vychytáván cílovými buňkami a jeho hladina v cirkulaci je spíše jen tranzitní. Na rozdíl od hladiny intracelulární, kde jeho aktivní metabolity konvertované z TAF dosahují hladiny mnohonásobně vyšší než hladiny konvertované z TDF [14].

Ex vivo vazba TAF na lidské plazmatické proteiny u vzorků získaných během klinických studií byla přibližně 80 % [39].

### 2.3 Terapeutická dávka a způsob podávání

V původních studiích s TFV byla intravenózně podávána dávka 1 mg/kg. Standardní perorální terapeutická dávka TDF je 300 mg léčiva/den. Pro TAF byla stanovena dávka pro perorální příjem 25 mg/den. Pokud je TAF podáván s kobicistatem (cobicistat – COBI), který optimalizuje jeho

farmakokinetické vlastnosti, je možné dávku TAF snížit na 10 mg/den [14].

TAF je transportován pomocí P-gp a BCRP. Léčivé přípravky, které silně ovlivňují aktivitu P-gp a BCRP, mohou vést ke změnám absorpce TAF. Při současném podání COBI je dosaženo téměř maximální inhibice P-gp, což vede ke zvýšení dostupnosti TAF s následnými expozicemi srovnatelnými s dávkou 25 mg [39].

COBI zvyšuje absorpci TAF a inhibuje jeho vylučování zažívacím traktem [40]. Je také silný inhibitor cytochromu P450 3A (CYP 3A) [41] a inhibitor OCT2, MATE2-K, a dokonce silný inhibitor MATE1 [42]. COBI také inhibuje aktivní tubulární sekreci kreatininu, čímž dochází ke zvýšení jeho sérové hladiny a ke snížení kreatininové clearance, bez poklesu glomerulární filtrace. Tyto změny se typicky objevují v prvních dnech užívání COBI. Po vysazení léku dochází k jejich normalizaci [43]. COBI nevykazuje žádnou aktivitu vůči HIV [44].

### 2.4 Simplifikace léčebných režimů

Možnost uplatnění plného léčebného potenciálu AR léčiv souvisí nejen s otázkou účinnosti a bezpečnosti daných léčiv, ale také s otázkou složitosti, či spíše jednoduchosti příslušných AR režimů. Soustavným zjednodušováním AR režimů v posledních deseti letech bylo dosaženo menšího počtu tablet, menšího počtu denních dávek, nižšího rizika krátkodobé i dlouhodobé toxicity léčiv a v konečné fázi také zlepšení adherence. Nejvyšším stupněm zjednodušení jsou fixní kombinace léčiv pro celou denní dávku všech nezbytných složek daného režimu, označované jako jedno-tabletové režimy (single-tablet regimen – STR). Řada rozsáhlých epidemiologických studií prokázala, že STR vedou k významnému poklesu počtu případů, u kterých dochází k selhání léčebné strategie [45].

Z výše uvedených důvodů je prioritním požadavkem na nově zaváděná léčiva volit takovou formu, při níž by bylo možné dosáhnout maximální klinické efektivity. V současné době je obecně preferovanou praxí (tam, kde je to možné) přednostně volit fixní kombinace, v nichž jedna tableta představuje kompletní jednodenní dávku všech léčiv [46].

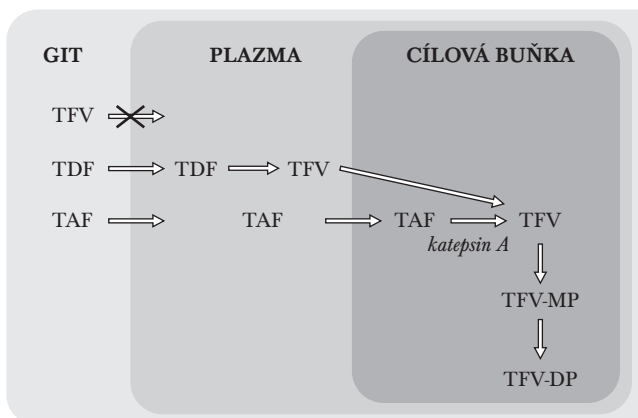
### 2.5 Klinické studie

V době, kdy byly zahajovány klinické studie exaktně sledující parametry efektivity, bezpečnosti a tolerance TAF, kritéria moderní léčby kompletní jednodenní dávkou léčiv v jedné tabletě splňovala kombinace elvitegraviru (EVG) 150 mg/cobicistat (COBI) 150 mg/emtricitabin (FTC) 200 mg/tenofovir disoproxil fumarát (TDF) 300 mg. COBI optimalizuje farmakokinetické vlastnosti řady léčiv, včetně EVG [44]. Tato příznivá shoda okolností umožnila nahradit pouze TAF za TDF a všechny ostatní složky komparátoru ponechat identické.

Terapeutický efekt nízké dávky TAF 10 mg/COBI 150 mg byl prokázán na základě výsledků 3. fáze klinických studií, kterých se účastnilo více než 3 500 pacientů z 21 zemí celého světa [47]. U čtyř různých populačních skupin (u pacientů dosud neléčených ART, u pacientů již léčených jinými režimy ART, kteří dosáhli úplné virologické suprese,

Obr. 2

Mechanismus konverze a aktivace prodrug tenofoviru  
Upraveno podle: Callebaut C, Stepan G, Tian Y, et al. In vitro virology profile of tenofovir alafenamide, a novel oral prodrug of tenofovir with improved antiviral activity compared to that of tenofovir disoproxil fumarate. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(10):5909–5916.



u pacientů s renální insuficiencí a u adolescentů) byla zjištěna srovnatelná virologická odpověď režimu EVG/COBI/FTC/TAF (v dávce 10 mg/den) s režimy, založenými na TDF 300 mg/den. Zcela konzistentní byly také výsledky ukazatelů renálního a kostního metabolismu [14,39,48].

### Studie GS-US-292-0104 a GS-US-292-0111

Tyto randomizované, dvojitě zaslepené, multicentrické studie byly vedeny u 1 733 dosud neléčených HIV-pozitivních jedinců starších než 18 let. Úplné virologické suprese (počet kopií RNA HIV-1 < 50 kopií/ml) bylo dosaženo ve 48. týdnu u 92,4 % pacientů, kteří užívali EVG/COBI/FTC/TAF a u 90,4 % pacientů, kteří užívali EVG/COBI/FTC/TDF. Pro režim EVG/COBI/FTC/TAF byla splněna kritéria non-inferiority [47,48]. Přerušeni léčby pro nežádoucí účinky bylo u obou léčiv < 1 % případů. TAF byl provázen menším snížením glomerulární filtrace, menší proteinurií a měl příznivější vliv na kostní minerální denzitu.

Při režimu s TAF byla zjištěna vyšší hladina všech lipidových frakcí než při terapii TDF, ale poměr celkový cholesterol/HDL-cholesterol zůstal nezměněn, což znamená, že míra celkového KV rizika zůstala u obou léčiv stejná [14,16]. Index celkový cholesterol/HDL-cholesterol zohledňuje fakt, že na vyšší individuálního rizika se významně podílí nejen koncentrace celkového cholesterolu, ale také koncentrace HDL-cholesterolu, který nese velmi silný antiaterogenní potenciál. Současné snížení koncentrace celkového i HDL-cholesterolu nemusí proto KV riziko snižovat [49]. Obdobně současné zvýšení koncentrace celkového i HDL-cholesterolu nemusí KV riziko zvyšovat.

V uvedených studiích nebyly identifikovány žádné nové vedlejší nežádoucí účinky [14].

### Studie GS-US-292-0109

Ve studii bylo sledováno 1 436 pacientů, u kterých bylo dosaženo úplné virologické suprese při režimu efavirenz (EFV)/FTC/TDF, FTC/TDF + atazanavir (ATV), který byl posílený kobicistatem nebo ritonavirem (RTV) nebo EVG/COBI/FTC/TDF. Pacienti byli randomizováni buď k převodu na EVG/COBI/FTC/TAF, nebo k setrvání na výchozím režimu.

V parametru virologické suprese byla ve 48. týdnu splněna kritéria non-inferiority pro režim EVG/COBI/FTC/TAF při srovnání s režimy, založenými na různých kombinacích s TDF [18,39,47,48]. Kritéria superiority byla splněna ve srovnání s režimy s EFV nebo ATV/c/r [50]. U parametrů sledujících funkce ledvin a kostní metabolismus bylo dokonce zaznamenáno zlepšení [18,47].

### Studie GS-US-292-0112

Studie hodnotila bezpečnost režimu EVG/COBI/FTC/TAF u 248 pacientů, kteří buď dosud nebyli léčeni, nebo byli virologicky suprimovaní a měli lehkou až středně těžkou poruchu funkce ledvin s eGFR 30–69 ml/minutu. Tato 24týdenní otevřená klinická studie prokázala podobný bezpečnostní profil jako u pacientů s normální funkcí ledvin [39,48].

Všechny závěry studií byly zcela konzistentně potvrzeny také studií u adolescentů ve věkové kategorii 12 až 17 let [39,47,48].

Začátkem tohoto roku byly FDA schváleny fixní kombinace FTC/TAF a rilpivirin (RPV) 25mg/FTC 300 mg/TAF 25 mg. Ve III. fázi klinických studií jsou fixní kombinace DRV/COBI/FTC/TAF a zcela nové léčivo s AR aktivitou GS-9883/FTC/TAF. Probíhá také III. fáze klinické studie, ve které je TAF jako samostatná látka podáván v indikaci chronické hepatitidy B.

### 3. Nové léčivo: elvitegravir 150 mg/cobicistat 150 mg/emtricitabin 200 mg/tenofovir alafenamid fumarát 10 mg

Přesvědčivé výsledky z klinických studií vedly FDA v listopadu 2015 ke schválení prvního léčiva s TAF – elvitegravir 150 mg/cobicistat 150 mg/emtricitabin 200 mg/tenofovir alafenamid fumarát 10 mg [24,47].

Jde o čtyřkombinaci EVG – inhibitoru HIV-1 integrázy, FTC – nukleosidového inhibitoru reverzní transkriptázy HIV-1, TAF – nukleotidového inhibitoru reverzní transkriptázy HIV-1 a COBI, který optimalizuje farmakokinetiku EVG i TAF [47].

Léčivo je indikováno k léčbě infekce virem lidské imunodeficiency typu 1 (HIV-1) u dospělých a dospívajících (ve věku 12 let a starších s tělesnou hmotností minimálně 35 kg) bez jakýchkoli známých mutací spojených s rezistencí na skupinu inhibitorů integrázy, emtricitabin nebo tenofovir. Užívá se jedna tableta jednou denně s jídlem [39].

U starších pacientů ani u pacientů s lehkou a středně těžkou poruchou funkce jater není nutná úprava dávkování [39]. Úprava dávky není nutná u pacientů s eGFR > 30 ml/minutu [48].

Klinicky signifikantní lékové interakce nebyly pozorovány při současné perorální aplikaci entekaviru, famcicloviru, antagonistů H<sub>2</sub> receptorů, ledipasviru, lorazepamu, methadonu, inhibitorů protonové pumpy, ribavirinu, sertralinu a sofosbuviru [48]. EVG/COBI/FTC/TAF může být podáván s anti-HCV fixní kombinací ledipasvir/sofosbuvir [24].

Současné podávání s některými léčivými přípravky vede k možnosti vzniku závažných nebo život ohrožujících nežádoucích účinků nebo ke ztrátě virologické odpovědi a možnému vzniku rezistence. K těmto přípravkům patří alfu-zosil, amiodaron, chinidin, karbamazepim, fenobarbital, fenytoin, rifampicin, námelové alkaloidy, cisaprid, třezalka tečkovaná, lovastatin, simvastatin, pimozid, sildenafil, perorálně podaný midazolam, triazolam. Možné riziko nefrotoxicity vyplývající z chronické expozice nízkým dávkám TFV v důsledku dávkování TAF nelze vyloučit [39]. Nejběžnější nežádoucí účinek je nauzea. Zcela vzácně mohou vést NRTI k laktátové acidóze a těžké hepatomegalii se steatózou, včetně fatálního průběhu [47,48]. Nebyl pozorován žádný vliv léčiva na interval QT na EKG [48].

TAF je také aktivní proti HBV. Jeho klinická účinnost proti tomuto viru je v současné době předmětem hodnocení a dosud nebyla kompletně stanovena [39]. Léčivo zatím není schváleno k léčbě chronické hepatitidy B [47].

**Závěr**

Vysoká dlouhodobá efektivita a bezpečnostní profil jsou prioritními požadavky na nově zaváděná léčiva. Stárnutí HIV-pozitivní populace a narůstající incidence komorbidit s další chronickou terapií tento požadavek ještě více umocňuje.

TAF dosahuje velmi silné antivirové aktivity díky rychlé intracelulární aktivaci v cílových buňkách při zřetelně nižší terapeutické dávce a signifikantně nižší plazmatické hladině TFV, které je vystaven ledvinový parenchym.

Nový jedno-tabletový režim EVG/COBI/FTC/TAF splňuje parametry a ambice vysoce efektivního léku, který může být podáván pacientům dosud neléčeným s rizikem nebo bez rizika alterace ledvinových funkcí nebo kostního metabolismu. Jeho potenciál se může uplatnit také při změně dosavadní léčby. Pokud je doposud užíván režim s TDF, režim s TAF představuje výhodnou alternativu, kde TAF redukuje riziko renální nebo kostní toxicity, která je spojena s TDF.

**Seznam zkratk**

AIDS	syndrom získané imunodeficiency (acquired immunodeficiency syndrome)
AR	antiretrovirový (antiretroviral)
ART	antiretrovirová terapie (antiretroviral therapy)
ATV	atazanavir
BCRP	protein rezistence karcinomu prsu (breast cancer resistance protein)
CatA	katepsin A (cathepsin A)
COBI	kobicistat (cobicistat)
DNA	deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleic acid)
DRV	darunavir
EFV	efavirenz
eGFR	odhadovaná hodnota glomerulární filtrace (estimated glomerular filtration rate)
EKG	elektrokardiogram
EMA	Evropská léková agentura (European Medicines Agency)
EVG	elvitegravir
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration)
FTC	emtricitabin
HBV	virus hepatitidy B (hepatitis B virus)
HCV	virus hepatitidy C (hepatitis C virus)
HIV	lidský virus imunodeficiency (human immunodeficiency virus)
KV	kardiovaskulární
KVO	kardiovaskulární onemocnění
MATE	transportéry zajišťující vylučování řady léčiv a toxinů (multidrug and toxin extrusion transporters)
MRP	proteiny mající vztah k rezistenci léčiv (multidrug resistance-related proteins)
NRTI	nukleosidový/nukleotidový inhibitor reverzní transkriptázy (nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitor)
OAT	organický aniontový transportér (organic anion transporter)
OATP	transportní polypeptid organických aniontů (organic anion transport polypeptide)

OCT	organický kationtový transportér (organic cation transporter)
P-gp	glykoprotein P (P glycoprotein)
RIDS	syndrom reziduální imunitní dysfunkce (residual immune dysregulation syndrome)
RNA	ribonukleová kyselina (ribonucleic acid)
RNA HIV-1	počet kopií ribonukleové kyseliny viru HIV-1
RPV	rilpivirin
RTV	ritonavir
STR	jedno-tabletový režim (single-tablet regimen)
TAF	tenofovir alafenamid fumarát (tenofovir alafenamide fumarate)
TAF-Ala	tenofovir-alanin
TDF	tenofovir disoproxil fumarát (tenofovir disoproxil fumarate)
TFV	tenofovir
TFV-DP	tenofovir-difosfát (tenofovir diphosphate)

**Literatura:**

- Beltrán LM, Rubio-Navarro A, Amaro-Villalobos JM, et al. Influence of immune activation and inflammatory response on cardiovascular risk associated with the human immunodeficiency virus. *Vasc Health Risk Manag.* 2015;11:35–48.
- Mocroft A, Reiss P, Gasiorowski J, et al. Serious fatal and nonfatal non-AIDS-defining illnesses in Europe. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010;55(2):262–270.
- Freiberg MS, Chang CC, Kuller LH, et al. HIV infection and the risk of acute myocardial infarction. *JAMA internal medicine.* 2013;173(8):614–622.
- Grulich AE, van Leeuwen MT, Falster MO, et al. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis. *Lancet.* 2007;370:59–67.
- Lederman MM, Calabrese L, Funderburg NT, et al. Immunologic failure despite suppressive antiretroviral therapy is related to activation and turnover of memory CD4 cells. *J Infect Dis.* 2011;204(8):1217–1226.
- Neuhaus J, Jacobs DR Jr., Baker JV, et al. Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection. *J Infect Dis.* 2010;201(12):1788–1795.
- Hearps AC, Maisa A, Cheng WJ, et al. HIV infection induces age-related changes to monocytes and innate immune activation in young men that persist despite combination antiretroviral therapy. *Aids.* 2012;26(7):843–853.
- Funderburg NT, Lederman MM. Coagulation and morbidity in treated HIV infection. *Thromb Res.* 2014;133 (01): S21–S24.
- Baker JV. Chronic HIV disease and activation of the coagulation system. *Thromb Res.* 2013;132(5):495–499.
- Kuller LH, Tracy R, Belloso W, et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med.* 2008;5(10):e203 [cited 20 Mar 2016]; Available from: <http://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.0050203>.
- Duprez DA, Neuhaus J, Kuller LH, et al. Inflammation, coagulation and cardiovascular disease in HIV-infected individuals. *PLoS One.* 2012;7(9):e44454 [cited 2016 Mar 10]; Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0044454>.
- Armah KA, McGinnis K, Baker J, et al. HIV status, burden of comorbid disease and biomarkers of inflammation, altered coagulation and monocyte activation. *Clin Infect Dis.* 2012; 55(1):126–136.
- Guaraldi G, Orlando G, Zona S, et al. Premature age-related comorbidities among HIV-infected persons compared with the general population. *Clin Infect Dis.* 2011; 53(11):1120–1126.
- Ray AS, Fordyce MW, Hitchcock MJM. Tenofovir alafenamid: A novel prodrug of tenofovir for the treatment of Human Immunodeficiency Virus. *Antiviral Research.* 2016;125:63–70.
- Babusis D, Phan TK, Lee WA, et al. Mechanism for effective lymphoid cell and tissue loading following oral administration of nucleotide prodrug GS-7340. *Mol Pharmaceutics.* 2013;10:459–466.
- Sax PE, Wohl D, Yin MT, et al. Tenofovir alafenamide versus tenofovir disoproxil fumarate, coformulated with elvitegravir, cobicistat, and emtricitabine, for initial treatment of HIV-1 infection: two randomised, double-blind, phase 3, non-inferiority trials. *Lancet.* 2015;385:2606–2615.
- FDA Professional Drug Information. Tenofovir disoproxil-fumarate. [cited 2016 Mar 27]. Available from: <http://www.drugs.com/ppa/tenofovir-disoproxil-fumarate.html>.
- Mills A, Arribas JR, Andrade-Villanueva J, et al. Switching from tenofovir disoproxil fumarate to tenofovir alafenamide in antiretroviral regimens for virologically suppressed adults with HIV-1 infection: a randomised, active-controlled, multi-centre, open-label, phase 3, non-inferiority study. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(1): 43–52.
- Pozniak A, Arribas JR, Gathe J, et al. Switching to tenofovir alafenamide, coformulated with elvitegravir, cobicistat, and emtricitabine, in HIV-infected patients

- with renal impairment: 48-week results from a single-arm, multicentre, open-label phase 3 study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2016;71:530–537.
20. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents. January 28, 2016. Developed by the DHHS Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents – A Working Group of the Office of AIDS Research Advisory Council (OARAC). Available from: <https://aidsinfo.nih.gov/guidelines/html/1/adult-and-adolescent-treatment-guidelines/0>.
  21. AIDS info Drug Database. Tenofovir disoproxil-fumarate. [updated 2015 Nov 16; cited 2016 Mar 27]. Available from: <https://aidsinfo.nih.gov/drugs/290/tenofovir-disoproxil-fumarate/0/patient>.
  22. Margot NA, Johnson A, Mill MD, et al. Characterization of HIV-1 resistance of tenofovir alafenamide in vitro. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59:5917–5924.
  23. Birkus G, Wang R, Liu X, et al. Cathepsin A is the major hydrolase catalysing the intracellular hydrolysis of the antiretroviral nucleotide phosphonoamidate prodrugs GS-7340 and GS-9131. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:543–550.
  24. AIDS info Drug Database. Tenofovir Alafenamide. [updated 2015 Dec 17; cited 2016 Mar 27]. Available from: <https://aidsinfo.nih.gov/drugs/print/514/tenofovir-alafenamide/0/1/professional>.
  25. Ruane PJ, DeJesus E, Berger D et al. Antiviral activity, safety, and pharmacokinetics/pharmacodynamics of tenofovir alafenamide as 10-day monotherapy in HIV-1-positive adults. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2013;63(4):449–455.
  26. Callebaut C, Stepan G, Tian Y, et al. In vitro virology profile of tenofovir alafenamide, a novel oral prodrug of tenofovir with improved antiviral activity compared to tenofovir disoproxil fumarate. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(10):5909–5916.
  27. Sax PE, Zolopa A, Brar I, et al. Tenofovir alafenamide vs. tenofovir disoproxil fumarate in single tablet regimens for initial HIV-1 therapy: a randomized phase 2 study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2014;67(1):52–58.
  28. García-Lerma JG, Aung W, Cong ME, et al. Natural substrate concentrations can modulate the prophylactic efficacy of nucleotide HIV reverse transcriptase inhibitors. *J Virol*. 2011;85(13):6610–6617.
  29. Horn M, Jílková A, Mareš M. Katepsinové proteazy v patologii. *Chem listy*. 2014;108:358–363.
  30. Birkus G, Bam RA, Willkom M, et al. Intracellular activation of tenofovir alafenamide (TAF) and the effect of viral and host protease inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;60(1):316–322.
  31. Callebaut C, Stepan G, Tian Y, et al. In vitro virology profile of tenofovir alafenamide, a novel oral prodrug of tenofovir with improved antiviral activity compared to that of tenofovir disoproxil fumarate. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59:5909–5916.
  32. Wang L, Sweet D. Renal organic anion transporters (SLC22 family): expression, regulation, roles in toxicity, and impact on injury and disease. *AAPS J*. 2013;15:53–69.
  33. Gilead Sciences, Inc. Genvoya – elvitegravir, cobicistat, emtricitabine and tenofovir alafenamide fumarate tablet: Full Prescribing Information, November 2015. [cited 2016 Mar 27]. Available from: [http://www.gilead.com/~media/files/pdfs/medicines/hiv/genvoya/genvoya\\_pi.pdf](http://www.gilead.com/~media/files/pdfs/medicines/hiv/genvoya/genvoya_pi.pdf).
  34. Bam RA, Yant SR, Cihlar T. Tenofovir alafenamide is not a substrate for renal organic anion transporters (OATs) and does not exhibit OAT-dependent cytotoxicity. *Antivir Ther*. 2014;19(7):687–692.
  35. Gutiérrez F, Fulladosa X, Barril G, et al. Renal tubular transporter-mediated interactions of HIV drugs: Implications for patient management. *AIDS Rev*. 2014;16:199–212.
  36. Koepsell H. Polyspecific organic cation transporters and their biomedical relevance in kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2013;22:533–538.
  37. Cihlar T, Ho ES, Lin DC, et al. Human renal organic anion transporter 1 (hOAT1) and its role in the nephrotoxicity of antiviral nucleotide analogs. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2001;20:641–648.
  38. Ray AS, Cihlar T, Robinson KL, et al. Mechanism of active renal tubular efflux of tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:3297–3304.
  39. European Medicines Agency\_Genvoya. [cited 2016 Mar 27]. Available from: [http://www.ema.europa.eu/docs/cs\\_CZ/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/004042/WC500197861.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/cs_CZ/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/004042/WC500197861.pdf).
  40. Lepist EI, Phan TK, Roy A, et al. Cobicistat boosts the intestinal absorption of transport substrates, including HIV protease inhibitors and GS-7340, in vitro. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:5409–5413.
  41. Xu L, Liu H, Murray B, et al. Cobicistat (GS-9350): A potent and selective inhibitor of human CYP3A as a novel pharmacoenhancer. *ACS Med Chem Lett*. 2010;1:209–213.
  42. Stray K, Bam R, Birkus G, et al. Evaluation of the effect of cobicistat on the in vitro renal transport and cytotoxicity potential of tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57:4982–4989.
  43. Libbre J, Clotet B. Once-daily single-tablet regimens: A long and winding road to excellence in antiretroviral treatment. *AIDS Rev*. 2012;14(3):168–78.
  44. Mathias A, German P, Marray B, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of GS-9350: a novel pharmacokinetic enhancer without anti-HIV activity. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;87:322–329.
  45. Snopková S. Simplifikace – vyšší efektivita antiretrovirové léčby. *Klin mikrobiol inf lék*. 2013;19(4):137–140.
  46. Snopková S, Rozsypal H, Aster V, et al. Doporučený postup péče o dospělé infikované HIV a postexpoziciční profylaxe infekce HIV. *Klin mikrobiol inf lék*. 2016;22(1):33–51.
  47. CenterWatch – drug information: Genvoya New FDA Drug Approval. [cited 2016 Mar 27]. Available from: <http://www.centerwatch.com/drug-information/fda-approved-drugs/drug/100111/genvoya-elvitegravir-cobicistat-emtricitabine-and-tenofovir-alafenamide>.
  48. FDA Professional Drug Information. Genvoya. [cited 2016 Mar 27]. Available from: <http://www.drugs.com/pro/genvoya.html>.
  49. Snopková S, Havlíčková K, Polák P, et al. Rilpivirin – nový nenukleosidový inhibitor reverzní transkriptázy. *Klin mikrobiol inf lék*. 2013;19(1):10–22.
  50. Mills A, Andrade-Villanueva J, DiPerri G, et al. Switching from a tenofovir disoproxil fumarate (TDF)-based regimen to a tenofovir alafenamide (TAF)-based regimen: data in virologically suppressed adults through 48 weeks of treatment. IAS 2015, Vancouver. Abstract #TUAB0102. Available from: [http://www.natap.org/2015/IAS/IAS\\_24.htm](http://www.natap.org/2015/IAS/IAS_24.htm).

# Integrázové inhibitory II. generace

D. JILICH

*Klinika infekčních, tropických a parazitárních nemocí, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Nemocnice Na Bulovce, Praha*

## SOUHRN

Jilich D.: **Integrázové inhibitory II. generace**

Antiretrovirální terapie je jediným prokazatelně účinným způsobem léčby HIV infekce. Na základě dat prokazující její prospěšnost, narůstá v posledních letech procento léčených osob. Důležitou roli v moderní léčbě hrají inhibitory HIV integrázy.

*Klíčová slova: HIV, antiretrovirální léčba, integrázové inhibitory, účinnost*

## SUMMARY

Jilich D.: **Second-generation integrase inhibitors**

Antiretroviral therapy is the only effective treatment of HIV infection. Based on data demonstrating the beneficial effect of therapy in all HIV patients, the percentage of persons receiving treatment has increased in recent years. HIV integrase inhibitors play an important role in modern therapy.

*Keywords: HIV, antiretroviral therapy, integrase inhibitors, effectiveness*

*Klin mikrobiol inf lék 2016;22(3):119–120*

**Adresa:** MUDr. David Jilich, Klinika infekčních, tropických a parazitárních nemocí, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Nemocnice Na Bulovce, Budínova 67/2, 180 81 Praha 8, e-mail: david.jilich@centrum.cz

Došlo do redakce: 16. 8. 2016

Přijato k tisku: 21. 9. 2016

## Úvod

Integrázové inhibitory (INSTI- Integrase Strand-Transfer Inhibitors) jsou jednou z nejmladších lékových skupin používaných v léčbě HIV infekce. Její zástupci jsou v současnosti naprostou většinou doporučených postupů uváděny jako součást preferované kombinace v léčbě dosud neléčených i již předléčených pacientů infikovaných HIV [1–3]. Ve španělských doporučených postupech GESIDA jsou INSTI u dosud neléčených osob dokonce jedinou léčebnou alternativou [2]. Někdy jsou INSTI děleny na zástupce první a druhé generace. Charakteristické pro druhou generaci je podávání jedenkrát denně nevyžadující současné podávání tzv. boosteru a vysoká odolnost vůči vzniku virové rezistence. Zástupcem druhé generace je dosud neregistrovaný GS-9883 a dolutegravir, který je dostupný samostatně i jako součást fixní kombinace spolu s abacavirem a lamivudinem.

## Účinnost

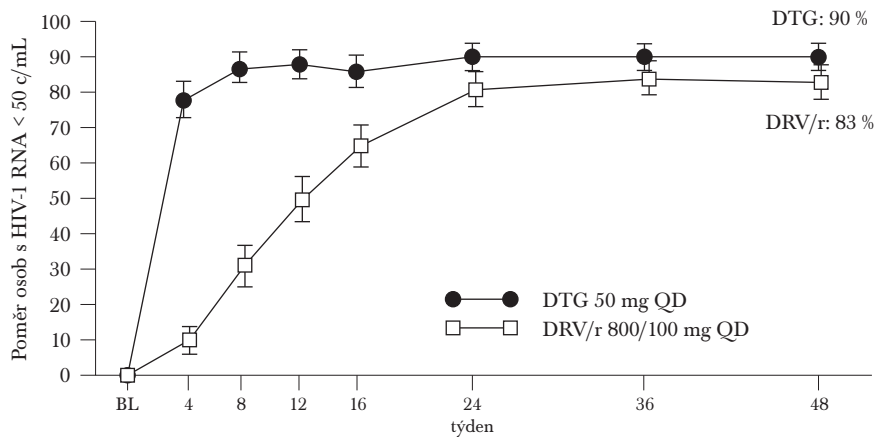
Vysokou míru účinnosti prokázaly již zástupci I. generace INSTI, konkrétně raltegravir. Ve studii ACTG 5257 byl porovnáván se dvěma zástupci skupiny inhibitorů HIV proteázy. Lepších výsledků dosahoval raltegravir jak v procentu

tu osob, které dosáhly dostatečný protivirový účinek, tak i v nárůstu počtu CD4 T-pozitivních lymfocytů [4].

Za klíčovou studii hodnotící virologický účinek dolutegraviru je považována studie SINGLE. Tato randomizovaná, dvojitě zaslepená studie fáze 3 porovnávala dolutegravir podávaný spolu s abacavirem/lamivudinem a nenukleosidový inhibitor reverzní transkriptázy efavirenz podávaný spolu s emtricitabinem/tenofovir disoproxillem. Pacientský soubor tvořilo celkem 833 osob dosud neléčených antiretrovirovými. Kritériem účinnosti bylo definováno jako dosažení hodnoty virové nálože HIV RNA nižší než 50 kopií/ml. Toto bylo splněno v 96. týdnu sledování u 88 % osob léčených dolutegravirem a 81 % léčených efavirenzem.

Dalším sledovaným ukazatelem účinnosti byla změna hladiny CD4+ T-lymfocytů. V týdnu 96 byl v rameni s dolutegravirem zaznamenán průměrný vzestup o 325 buněk/μl, u komparátoru o 281 buněk/μl [5]. Ve studii SAILING byly porovnávány u předléčených osob dva integrázové inhibitory, raltegravir a dolutegravir. V této studii fáze 3 bylo na souboru 715 osob dosaženo superiority dolutegraviru na základě 7,4% rozdílu účinnosti v týdnu 48 [6]. Důležitou vlastností, která je společná pro všechny INSTI, je rychlost účinku charakterizovaná poklesem hodnoty HIV RNA. Jako

Obr. 1

Upraveno dle Clotet B, et al. *Lancet* 2015 Jun 27, 385(9987):2576.

příklad lze použít data ze studie FLAMINGO (viz obr. 1) porovnávající účinek dolutegraviru a proteázového inhibitoru darunaviru. Ve 4. týdnu sledování dosáhlo dostatečné virové suprese pouze 10 % osob léčených darunavirem a téměř 80 % osob užívajících dolutegravir. Pro dosažení maximální objektivity byl počet zařazených osob s HIV RNA vyšší než 100 000 kopií/ml v obou ramenech srovnatelný [7].

### Nežádoucí účinky

Nejčastěji zaznamenaným nežádoucím účinkem v již zmiňované studii SINGLE byla závrať, která se vyskytla u 7 % osob léčených dolutegravirem a u 33 % léčených kombinací efavirenz, tenofovir disoproxil, emtricitabin. Abnormální sny byly zaznamenány u 7 %, respektive u 16 % v rameni s komparátorem, exantém u méně než 1 % v porovnání s 8 % u komparátoru. V rameni s dolutegravirem byla častěji popisována nespavost, konkrétně u 10 % sledovaných osob a pouze 7 % osob léčených komparátorem. Celkový výskyt nežádoucích účinků byl v obou ramenech relativně nízký, konkrétně 11 %, resp. 12 % v 96. týdnu. Závažných nežádoucích účinků (stupeň 3 a 4) bylo celkem 9 v rameni s komparátorem a pouze 2 v rameni s dolutegravirem. Závažných nežádoucích účinků přímo souvisejících s léčbou bylo zaznamenáno po jednom případě v každém rameni. Ve skupině osob léčených kombinací efavirenz, tenofovir disoproxil, emtricitabin se vyskytlo renál-

ní selhání. V rameni s dolutegravirem to byla osteonekróza. Ve studii nebyly zaznamenány závažnější abnormity v laboratorních parametrech. U osob léčených dolutegravirem byla v týdnu 96 zaznamenána klinicky nevýznamná elevace sérového kreatininu bez další tendence k progresi. U několika osob v obou ramenech byla patrná významnější elevace jaterních transamináz (stupeň 3 a 4), ale ve všech případech se jednalo o osoby koinfikované virovou hepatitidou typu C nebo užívající další farmakoterapii, nejčastěji anaboli-cké steroidy [5].

### Lékové interakce

Nízký potenciál pro vznik lékových interakcí je charakteristický pro celou skupinu INSTI. Dle interakční databáze hiv-druginteractions.org je užívání dolutegraviru kontraindikováno spolu s třezalkou tečkovanou, phenytoinem, fenobarbitalem a oxacarbamazepinem. U naprosté většiny z 656 sledovaných léků nebyla zjištěna žádná interakce [8].

### Závěr

Integrázové inhibitory si za dobu svého klinického používání získaly pevnou pozici u lékařů i pacientů ve většině rozvinutých zemí včetně České republiky. Toto reflektuje i poslední verze Doporučeného postupu publikovaného v letošním roce [9]. Je to především díky skvělému účinku, nízkému riziku nežádoucích účinků a minimu lékových interakcí.

### Literatura

- Ryom L, Boesecke C, Gisler V, Manzardo C, Rockstroh JK, Puoti M, Furrer H, Miro JM, Gatell JM, Pozniak A, Behrens G, Battegay M, Lundgren JD; EACS Governing Board. Essentials from the 2015 European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the treatment of adult HIV-positive persons. *HIV Med*. 2016 Feb;17(2):83-8.
- Available from: [gesida-seimc.org/contenidos/guiasclinicas/2016/gesida-guiasclinicas-2016-tar.pdf](http://gesida-seimc.org/contenidos/guiasclinicas/2016/gesida-guiasclinicas-2016-tar.pdf).
- Available from: <http://bhiva.org/guidelines.aspx>.
- Ototokun I, Na LH, Landowitz RJ, et al. *Clin Infect Dis*. 2015;60(12):1842-1851.
- Walmsley S, Antela A, Clumeck N, et al. *N Engl J Med*. 2013;369:1807-1818.
- Cahn P, Pozniak AL, Minqrone H, et al. *Lancet*. 2013;382:700-708.
- Molina JM, Clotet B, van Lunzen J, et al. *Lancet*. 2015;385(9987):2576.
- Available from: [www.hiv-druginteractions.org](http://www.hiv-druginteractions.org).
- Snopková S, Rozsypal H, Aster V, et al. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*. 2016; 22(1):20-38.

## Salmonelóza – reálná hrozba pro kojence

V. MUSIL, L. KRBKOVÁ, P. MIKOLÁŠEK, L. HOMOLA, A. BRAUNOVÁ

*Klinika dětských infekčních nemocí, LF MU Brno a FN Brno*

### SOUHRN

Musil V., Krbková L., Mikolášek P., Homola L., Braunová A.: **Salmonelóza – reálná hrozba pro kojence**

Salmonely patří k běžným příčinám bakteriálních gastroenteritid. U kojenců jsou infekce méně časté s vyšším rizikem závažnějšího průběhu. Prezentován případ tříměsíčního kojence se sepsi pravděpodobně salmonelové etiologie. Je diskutována rovněž otázka správného přístupu k léčbě a možných chyb v léčebném postupu u nejmladších věkových skupin.

*Klíčová slova: salmonela, kojeneček, sepsis, antibiotická terapie, komplikace*

### SUMMARY

Musil V., Krbková L., Mikolášek P., Homola L., Braunová A.: **Salmonellosis – a real threat for infants**

Salmonella spp. are a common cause of bacterial gastroenteritis. In infants, Salmonella infection is uncommon, posing a higher risk for a severe course. The authors present a case of a 3-month-old infant with suspected Salmonella sepsis. Also discussed are the correct approach to therapy and potential errors in the treatment of the youngest age groups.

*Keywords: Salmonella, infant, sepsis, antibiotic therapy, complication*

*Klin mikrobiol inf lék 2016;22(3):121–124*

**Adresa:** MUDr. Václav Musil, Klinika dětských infekčních nemocí, LF MU Brno a FN Brno, Jihlavská 20, 625 00 Brno, e-mail: vencamusil@email.cz

Došlo do redakce: 3. 5. 2016

Přijato k tisku: 7. 9. 2016

### Úvod

Salmonely jsou pohyblivé fakultativně anaerobní gramnegativní tyčinky, které žijí jako komenzálové a příležitostně parazitují ve střevním traktu různých obratlovců. Některé druhy jsou virulentní, dokáží přežívat uvnitř makrofágů, v prostředí bohatém na bílkoviny mohou žít jako saprofyty [1].

Salmonelózy, infekce způsobené zoopatoenními sérovary, patří k druhým nejčastějším bakteriálním střevním infekcím ve světě. Člověk se nakazí častěji nepřímo konzumací infikovaných potravin. Vzácnější je přímý přenos od asymptomatických nosičů nebo zvířat, jehož incidence se zvyšuje v souvislosti s narůstajícím počtem rizikových pacientů [1–3].

Salmonelové infekce jsou charakteristické širokým spektrem klinickým symptomů, od asymptomatického průběhu, gastroenteritidy po extraintestinální projevy vznikající jako důsledek bakteriémie. Průběh infekce závisí na virulenci bakterie a odpovědi imunitního systému hostitele [1,2].

Prezentován případ tříměsíčního kojence s podezřením na salmonelovou sepsi komplikovanou rozvojem fluidotoraxu.

### Kazuistika

Tříměsíční dobře prospívající kojeneček, ženského pohlaví, pochází z II. fyziologické gravidity, byl narozen v termínu,

spontánně záhlavím. Byl porozen bez komplikací s porodními mírami 3 800 g, 53 cm. Po narození bylo dítě plně kojeno, doposud si neprodělalo žádné onemocnění. Očkováno I. dávkou Infanrix hexa. U dvanáctileté sestry dítěte toho času probíhala gastroenteritida.

Týden před hospitalizací se u dítěte objevily vysoké teploty a průjemovitě potíže, proto dítě vyšetřeno na lékařské službě první pomoci ve FN Brno a v dobrém klinickém stavu bylo odesláno domů. V dalších dnech došlo k přechodnému zlepšení zdravotního stavu, teploty poklesly, frekvence stolic se snížila. Při kontrole u praktického dětského lékaře (PLDD) o 3 dny později byla odebrána stolice na kultivaci, krevní odběr nebyl proveden. Pro odmítání tekutin, přetrvávání zelených průjemovitých stolic, teplot a pozitivní nález ve stolici (*Salmonella* Enteritidis) praktický lékař odeslal dítě k přijetí na Klinikou dětských infekčních onemocnění (KDIN) FN Brno.

Při příjmu dítěte febrilní (38,7 °C rektálně), septické, dehydratované, v odběrech leukemoidní reakce a vysoká koncentrace proteinů akutní fáze. Byla odebrána hemokultura, moč a stolice na kultivaci, zavedena intenzivní péče a nasazena terapie cefotaximem. V dalším dni pro febrilie, anemizaci a přetrvávající leukocytózu přidán gentamicin. Laboratorní parametry dítěte jsou uvedeny v *tabulce 1* (při opakovaných výsledcích uvedeny vstupní, průběžné a vý-

stupní hodnoty). V rámci diferenciální diagnostiky bylo provedeno vyšetření likvoru s negativním biochemickým nálezem. Ve vstupním biochemickém vyšetření moči byla detekována mírná leukocyturie. Vzhledem k problémům s opakovaným zajištěním periferie při intenzivní terapii bylo rozhodnuto druhý den o zavedení centrálního venózního katetru. Asi hodinu po zajištění přístupu do centrální žíly došlo k rozvoji dušnosti s desaturací. Proto bylo úspěšeno provedení kontrolního RTG hrudníku, kde popsán levostranný fluidotorax, ale centrální venózní katetr (CVK) in situ. Pro postupnou progresi stavu byl přivolán anesteziolog, který rozhodl o překladu na Kliniku dětské anesteziologie a resuscitace (KDAR).

Za hospitalizace na KDAR byla provedena punkce výpotku a v místě ponechán drén. Stav se dále upravoval, oběhově bylo dítě kompenzované, afebrilní, dýchání oboustranně slyšitelné. Na kontrolním RTG plic radiologové popsali provzdušněnou levou plíci s podezřením na mírný pneumotorax. Po stabilizaci stavu bylo dítě při sepsi a po punkci fluidotoraxu druhý den přeloženo k doléčení na KDIN.

Po překladu zpět na KDIN čtvrtý den hospitalizace v Dětské nemocnici již bylo dítě ventilačně stabilní bez nutnosti oxygenoterapie, bez teploty. Zpočátku mělo ještě zelené průjmovitě stolice s postupnou úpravou. Stravu dítě tolerovalo dobře. Z dalších výsledků byla ve stolici opakovaně potvrzena *Salmonella* Enteritidis, s dobrou citlivostí na použitou kombinaci antibiotik. V moči nebyly vykultivovány žádné mikroby. Odebraný pleurální výpotek vyšel cytologicky a mikrobiologicky negativní. Pátý den byl drén extrahován a odeslán na kultivaci s negativním výsledkem. V hemokultuře nevyrostly žádné mikroby. CVK byl po extrakci rovněž odeslán na kultivaci s negativním výsledkem. Osmý den hospitalizace bylo doplněno k detailnějšímu došetření CT vyšetření plic, kde byl popsán vlevo fluidotorax a pneumotorax, v oblastech S6 a částečně 9,10 patrné podezření na infiltraci s podílem atelektatických změn. Terapie zahrnovala 10 dnů kombinace cefotaximu s gentamicinem a následná monoterapie cefotaximem 7 dnů. Na kontrolním ultrazvuku (UZ) a RTG plic před propuštěním byla popsána regrese a reziduální výpotek, na UZ břicha normální nález. Dítě bylo propuštěno v klinicky dobrém stavu a po úpravě laboratorních hodnot do ambulantní péče. Celková doba hospitalizace zahrnovala 22 dnů.

V rámci celkového došetření byla odebrána i Widalova reakce 17. den od prvních příznaků (10. den hospitalizace) s titrem 1 : 100 proti O-9,12 antigenu a 3 200 proti H-gm antigenu, dva týdny po propuštění byl při kontrole holčičky odebrán rekonvalescentní vzorek s výsledným titrem 1 : 50 proti O-9,12 a 1 : 1 600 proti antigenu H-gm.

## Diskuze

Salmonely patří ve světě k nejčastějším příčinám bakteriálních gastroenteritid. V ČR se incidence v posledních letech pohybuje kolem 100 případů/100 tisíc obyvatel. Dle evropských dat publikovaných ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) je u dětí do čtyř let věku incidence až 5× vyšší [3]. V novorozeneckém a kojeneckém věku jsou infekce méně časté, ale s vyšším rizikem závažnějšího průběhu [4].

Podle současných znalostí jsou salmonely příčinou lehce probíhajících střevních infekcí obvykle bez nutnosti kauzální terapie. Mají schopnost invazivity do tkání organismu, následně vyvolávají mezenterální lymfadenitidu s rizikem sepse a dalších extraintestinálních komplikací souvisejících s hematogenním rozsevem. Ten je zčásti podmíněn jak socioekonomickými a hygienickými faktory, tak i věkem a zřejmě i samotným sérovarem. Invaze mimo gastrointestinální trakt je podle některých zahraničních studií pozorována v rozvinutých zemích u 3,5 % imunokompetentních a 21,4 % imunokompromitovaných dětí. [4,5].

O salmonelách je obecně známo, že hynou v prostředí s nízkým pH. U zdravých jedinců je k propuknutí infekce nutná vysoká infekční dávka  $10^7$  až  $10^9$  [1]. U vnímavých jedinců, mezi něž patří děti v novorozeneckém a kojeneckém věku pro jejich fyziologickou žaludeční hypoaciditu, se infekční dávka pohybuje okolo  $10^4$ , s čímž souvisí i vyšší pravděpodobnost přímého přenosu nákazy [4]. Další z rizikových faktorů je mléko, jehož složky neutralizují pH žaludku, a tekutý charakter stravy zrychlující pasáž žaludkem. Vyšší citlivost je dávana do souvislosti i s podáváním umělých mléčných formulí, tedy vyšším rizikem kontaminace při jejich přípravě a absencí protektivních substancí v mateřském mléku [1,4,6,7].

Klinicky není možné spolehlivě odlišit salmonelózu od průjmů jiné infekční etiologie. Diagnózu definitivně potvrdíme kultivačním záchytem salmonel v rektálním výtěru. U podezření na septickou formu podle klinického nálezu a následných laboratorních odběrů je rozhodující opakovaný odběr hemokultury, u lokálních infekcí se snažíme odebrat vhodný materiál pro kultivaci a to nejlépe vždy před nasazením antibiotik [1]. Obecně u gastroenteritické formy není doporučováno empirické nasazování antibiotik, neovlivní trvání nemoci, zvyšuje riziko relapsů a postantibiotických kolitid a riziko rezistence na antibiotika, prodlužuje rekonvalescentní nosičství. Naopak u septické formy a ložiskových infekcí je léčba antibiotiky indikovaná vždy [1,8,9]. Enterorrhagie je projevem závažnějšího poškození střevní sliznice zánětem, není sama o sobě příznakem invazivní formy, a tedy indikací k nasazení antibiotik [8]. Pro lékaře je rozhodování o správném terapeutickém postupu komplikované trváním kultivace stolice, výsledek můžeme očekávat nejdříve po 48 hodinách, do té doby je terapie empirická. ESPGHAN (The European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition) navrhuje kauzální terapii u dětských pacientů s gastrointestinální formou ve vysokém riziku ke snížení nebezpečí přechodu do bakteriémie a extraintestinální formy infekce [10]. Patří mezi ně novorozenci a kojenci mladší 3 měsíců, děti s premorbidním stavem (imunodeficit, anatomická a funkční asplenie, imunosupresivní terapie, chemoterapie, porucha střevní epiteliální bariéry) [8,10]. Naopak odrazuje od antimikrobiální terapie u gastroenterické formy u jinak zdravých dětí, kde účinnost není prokázána a nese s sebou vyšší riziko výše zmíněných komplikací. Je nutno brát na vědomí aktuální stav nemocného (délka trvání vysokých teplot, celkový stav, příznaky SIRS) [8]. Obecně leukocytóza s neutrofilii první den onemocnění je jevem běžným, normalizace v průběhu dalších dnů pak jevem příznivým. Zvýšenou pozornost bychom měli věnovat přetrvávající leukocytóze i po několika



dnech terapie, svědčí pro přetrvávající zánětlivý proces. Často zdůrazňovaná vysoká hodnota C-reaktivního proteinu jako jednoho z rozhodujících faktorů pro indikaci antibiotik je brněnskými autory zpochybňována a je kladen důraz na komplexní hodnocení a potřebu zohlednění dynamiky sledovaných parametrů zánětu [8].

Epidemiologická studie, ze které brněnští autoři vycházejí, ovšem nezahrnuje pediatrické pacienty. Navíc doporučení ESPGHAN pro nejmladší věkové skupiny vychází z limitovaných zdrojů [10]. Jsou publikované menší práce, které u nejmladších věkových kategorií přiznávají u gastroenterické formy zkrácení nemocnosti po adekvátně řízené antibiotické terapii a doporučují navýšit věk podávání antibiotik [11,12]. V konečném důsledku po celkovém zhodnocení stavu pacienta i s ohledem na možný sociální dopad bývá v praxi přístup lékaře k mladším dětským pacientům opatrnější.

V rámci léčby invazivních forem jsou preferovány cefalosporiny III. generace a fluorochinolony (u dětí je indikace omezená). U gastroenterické formy při terapii rizikových pacientů je výhodný cotrimoxazol [11,12]. U imunodeficitů a relapsů je zásadní použití antibiotik s intracelulárním průnikem [1,8].

U prezentovaného dítěte se průběh infekce významně nelišoval od popisu v literatuře. Postupný rozvoj horečnatého stavu, průjemovitých zelených stolic, anorexie s následkem dehydratace a rozvojem septické formy komplikovaný rozvojem fluidothoraxu a pneumothoraxu, které se klinicky projeví dušností krátce po zavedení centrálního venózního katétru. Vzhledem k okolnostem se nabízí iatrogenní vznik, ačkoliv na CT plic bylo s odstupem popsáno i podezření na infiltraci, nezářetlivý výpotek s negativní mikrobiologií a negativními stěry z hrudního a z venózního katétru podporují první hypotézu. Ne zcela však vylučuje možný podíl infekce včetně salmonelové – stěry provedeny po nasazené antibiotické terapii. Vysoké hodnoty zánětlivých parametrů byly v přímé korelaci s délkou trvání potíží a klinickým stavem dítěte.

Autoři jsou si vědomi, že bez prokázané bakteriémie nebo průniku patogenu do orgánů nelze označit stav za salmonelovou sepsi či jinou formu invazivní infekce. Účelem popisu případu je upozornit na možný vývoj infekce při kombinaci určitých faktorů.

## Závěr

Popsaná kazuistika se snaží poukázat na možný závažnější průběh salmonelových infekcí u kojenců, zdůraznit rizikové faktory zvyšující jejich vnímavost k infekci a opatrnosti při hodnocení jejich stavu v praxi.

## Literatura

1. Beneš J. Salmonelové infekce. In: Beneš J. Infekční lékařství. 1. vyd. Praha: Galén; 2009. 651, s 236–238.
2. Preziosi MJ, Kandel SM, Guiney DG, et al. Microbiological analysis of nontyphoidal Salmonella strains causing distinct syndromes of bacteremia or enteritis in HIV/AIDS patients in San Diego, California. *J Clin Microbiol.* 2012;50(11): 3598–3603.
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report 2014 – food- and waterborne diseases and zoonoses. Stockholm: ECDC; 2014.

Tabulka 1

Hematologie			
Vyšetřované parametry	Vstupní	Průběžné	Výstupní
Leukocyty ( $\times 10^9/l$ )	78,96	49,19	9,54
Erytrocyty ( $\times 10^{12}/l$ )	3,35	2,24	3,6
Hemoglobin (g/l)	98	82	101
Trombocyty ( $\times 10^9/l$ )	767	489	347
Neutrofily %	70,9	/	10,6
Lymfocyty %	10,1	/	75,9
Monocyty %	13,7	/	9,3
Eosinofily %	0	/	3,7
Basofily %	0,3	/	0,4
Nezralé granulocyty %	5	/	0,1
Tyče mikroskopicky %	8	/	/
Protrombinový čas (INR)	1,69	1,47	1,32
Fibrinogen (g/l)	3,92	2,55	2,19
saturace %	88	84	95
aPTT (R)	1,57	1,33	2,7
Antitrombin III %	54	43	61
Ethanolová gelifikace	negativní	/	/
D-dimery ( $\mu\text{g/ml}$ )	1,64	1,73	3,01
Biochemie			
CRP (mg/l)	171	153	< 1
Albumin (g/l)	33,8	26,6	38,1
urea (mmol/l)	2,7	/	< 0,8
kreatinin ( $\mu\text{mol/l}$ )	22	/	16
Natrium (mmol/l)	129	137	135
Kalium (mmol/l)	4,5	4	5
Chloridy (mmol/l)	97	108	104
Vápník (mmol/l)	2,29	2,1	2,56
celk. bilirubin, ALT, AST, GGT, ALP	v mezích normy		
Glukóza (mmol/l)	5,7	4,3	4,2
Laktát (mmol/l)	2,9	2,8	1,1
Astrup			
pH	7,41	7,37	7,44
saturace %	88	84	95
pO <sub>2</sub> kPa	7,2	6,7	10
pCO <sub>2</sub>	4,3	4,5	4,8
BE (mmol/l)	-3,8	-5,1	0,3
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/l)	20,3	19,7	24,5

4. Galanakis E, Bitsori M, Maraki S, et al. Invasive non-typhoidal salmonellosis in immunocompetent infants and children. *Int J Infect Dis.* 2007;11(1):36–39.
5. Weinberger M, Andorn N, Agmon V, et al. Blood invasiveness of *Salmonella enterica* as a function of age and serotype. *Epidemiol Infect.* 2004;132(6):1023–1028.
6. Rowe SY, Rocourt JR, Shiferaw B, et al. Breast-feeding decreases the risk of sporadic salmonellosis among infants in FoodNet sites. *Clin Infect Dis.* 2004;15;38 Suppl 3:S262–70.
7. Bar-Meir M, Raveh D, Yinnon AM, et al. Non-Typhi *Salmonella* gastroenteritis in children presenting to the emergency department: characteristics of patients with associated bacteraemia. *Clin Microbiol Infect.* 2005;11(8):651–655.
8. Polák P, Bortlíček Z, Vrba M, et al. Kdy indikovat empirickou antibiotickou léčbu u akutní komunitní gastroenterokolitidy suspektní bakteriální etiologie? *Klin mikrobiol inf lék.* 2015;21(1):24–28.
9. Onwuezobe IA, Oshun PO, Odigwe CC. Antimicrobials for treating symptomatic non-typhoidal *Salmonella* infection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;11:CD001167.
10. Guarino G, Ashkenazi A, Gendrel D, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases Evidence-Based Guidelines for the Management of Acute Gastroenteritis in Children in Europe: Update 2014. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014;46(5):619–621.
11. Shkalim V, Amir A, Samra Z, et al. Characteristics of non-typhi *Salmonella* gastroenteritis associated with bacteremia in infants and young children. *Infection.* 2012 ;40(3):285–289.
12. Tsai M-H, Huang Y-C, Lin T-Y, et al. Reappraisal of parenteral antimicrobial therapy for nontyphoidal *Salmonella enterica* infection in children. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(2):300–305.

## Je nutno revakcinovat proti viru hepatitidy B při poklesu titru anti-HBs protilátek pod 10 IU/l?

P. POLÁK<sup>1</sup>, P. HUSA<sup>2,3</sup>, P. SMEJKAL<sup>1,2,4</sup>, J. KAMELANDER<sup>1</sup>, G. CHLUPOVÁ<sup>1,2</sup>, M. PENKA<sup>1,2,4,5</sup>

<sup>1</sup>Oddělení klinické hematologie, FN nemocnice Brno, <sup>2</sup>Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno,

<sup>3</sup>Klinika infekčních chorob, FN Brno, <sup>4</sup>Katedra laboratorních metod, Lékařská Fakulta, Masarykova univerzita Brno,

<sup>5</sup>Interní hemato-onkologická klinika, FN Brno

### SOUHRN

Polák P., Husa P., Smejkal P., Kamelander J., Chlupová G., Penka M.: **Je nutno revakcinovat proti viru hepatitidy B při poklesu titru anti-HBs protilátek pod 10 IU/l?**

Virová hepatitida B představuje závažný epidemiologický problém celosvětově. Při očkování rekombinantními vakcínami se za dosažení séroprotektive dlouhodobě považuje titer anti-HBs protilátek  $\geq 10$  IU/l. Osoby, u nichž není tohoto titru kompletním vakcinačním schématem dosaženo, se označují za non-respondery. I u responderů dochází během let k poklesu titru anti-HBs protilátek. V posledních letech přibývá důkazů, že samotná výše titru anti-HBs protilátek  $\geq 10$  IU/l neznamena 100% ochranu před nákazou či manifestním onemocněním. Dále se ukazuje, že v imunitní paměti se velmi uplatňuje i buněčná složka imunity – a to bez korelace s titrem anti-HBs protilátek. Na základě dostupných poznatků není u imunokompetentních jedinců doporučeno sledování titru anti-HBs protilátek ani revakcinace při poklesu  $\leq 10$  IU/l. Pravidelné sérologické testování a případná revakcinace s cílem udržení titru anti-HBs protilátek  $\geq 10$  IU/l se v současnosti doporučuje u imunokompromitovaných jedinců a po transplantaci jater.

*Klíčová slova: virová hepatitida B, revakcinace, titer anti-HBs*

### SUMMARY

Polák P., Husa P., Smejkal P., Kamelander J., Chlupová G., Penka M.: **Is it necessary to revaccinate against hepatitis B virus when the titer of anti-HBs drops below 10 IU/L?**

Viral hepatitis B still represents a major epidemiological issue worldwide. After recombinant vaccine administration, a titer of anti-HBs antibodies  $\geq 10$  IU/L has long been considered to be seroprotective. Persons without this antibody level after complete vaccination are referred to as non-responders. A progressive decline in anti-HBs levels over years is also commonly seen in responders. Recently, there has been increasing evidence that the titer of anti-HBs  $\geq 10$  IU/L does not provide 100% protection against infection and clinically manifest illness. Additionally, an important role of cellular immune memory has been demonstrated – without any correlation with anti-HBs titer. Based on current knowledge, there is no need for regular anti-HBs titer testing or booster vaccination in immunocompetent individuals with anti-HBs  $\leq 10$  IU/L. At present, regular serological testing and, if need be, revaccination to maintain anti-HBs  $\geq 10$  IU/L are recommended in immunocompromised persons and after liver transplantation.

*Keywords: viral hepatitis B, revaccination, anti-HBs titer*

*Klin mikrobiol inf lék 2016;22(3):125–130*

**Adresa:** MUDr. Pavel Polák, Ph.D., Oddělení klinické hematologie FN Brno, Jihlavská 20, 625 00 Brno, e-mail: pavel.polak@fnbrno.cz

Došlo do redakce: 29. 2. 2016

Přijato k tisku: 2. 9. 2016

### Úvod

Virová hepatitida B představuje nadále závažný zdravotnický problém. Světová zdravotnická organizace (World Health Organization, WHO) odhaduje celosvětový počet nakažených na 400 milionů osob [1]. Virus hepatitidy B (VHB) byl objeven Blumbergem v roce 1962, za což následně obdržel Nobelovu cenu [2]. Vizualizace viru se podařila Daneovi v roce 1970. Dle prevalence virové hepatitidy B v populaci rozlišujeme země s nízkou (0,0–2,0 %), střední

(2,0–8,0 %) a vysokou ( $\geq 8,0$  %) endemicitou [3]. Česká republika patří dlouhodobě k zemím s endemicitou nízkou (méně než 0,06 %) [4,5].

Pasivní imunizace pomocí specifického lidského imunoglobulinu získaného ze séra osob po prodělané virové hepatitidě B byla do klinické praxe zavedena v 80. letech 20. století. Použití těchto vakcín vedlo k dramatickému poklesu perinatálního přenosu VHB na novorozence od matek s HBsAg pozitivitou (o dvě třetiny). Účinnost tohoto typu

vakcíny je však omezena krátkým poločasem imunoglobulinu (21 dnů) [3].

Radikální přelom v prevenci virové hepatitidy B představoval vývoj rekombinantních vakcín připravených na kvasinkových kulturách na přelomu 80.–90. let 20. století. Tyto vakcíny vykazují více než 90% účinnost i bezpečnost. Plošnou vakcinaci doporučuje WHO od roku 1992 a tento program je nyní aplikován ve více než 190 zemích světa. Dlouhodobě je za marker účinnosti vakcinace považována hodnota titru protilátek anti-HBs převyšující 10 IU/l, tzv. séroprotektivita (měřeno za 1–3 měsíce po aplikaci třetí dávky vakcíny; ve starší literatuře uváděno v mIU/ml). Těto séroprotektivity dosahuje více než 95 % očkovaných jedinců [1]. Otázka, zda je nutno revakcinovat osoby s titrem anti-HBs protilátek  $\leq 10$  IU/l, dosud nebyla spolehlivě vyřešena, v každodenní klinické praxi na ni přesto neustále narážíme. V české literatuře nebylo toto téma v poslední době detailněji diskutováno, a proto autoři nabízejí přehled aktuální literatury a argumenty pro i proti aplikaci přídatných dávek vakcíny. Práce se nezabývá účinností jednotlivých vakcín. Vakcinační schémata u imunokompromitovaných jsou zmíněna okrajově.

### Titri anti-HBs protilátek 10 IU/l jako jednoznačný marker protektivity?

Hodnota titru anti-HBs 10 IU/l a vyšší jako virtuální známka všeobecné séroprotektivity byla stanovena na základě několika velkých studií na počátku 90. let 20. století. Nejranější autory vyhledaná práce pochází z roku 1997 a přímo uvádí, že při poklesu titru anti-HBs protilátek získaných pasivní (!) imunizací pod 10 IU/l je daný jedinec opět vnímavý k nákaze [6]. Jack ve své práci z roku 1999 uvádí: „Riziko infekce u dětí očkovaných proti hepatitidě B není fenoménem podléhajícím zákonitostem vše, anebo nic, ale souvisí s dosaženým titrem postvakcinačních protilátek. Nicméně (v naší studii) byly pozorovány případy 2 dětí se setrvalou pozitivitou HBsAg (nosiči), u nichž nikdy nedošlo k překročení titru postvakcinačních protilátek nad 10 IU/l. Tato hodnota je proto vhodná k měření postvakcinační odpovědi. Jelikož nebyla vytvořena kontrolní skupina, nebylo možno stanovit případnou míru protektivity před infekcí při titrech protilátek pod 10 IU/l.“ V samotné diskuzi se přesto autoři přiklánějí k respektování titru protilátek 10 IU/l jako známky adekvátní postvakcinační reakce [7].

Další publikace rovněž zmiňuje, že mezní hodnota postvakcinační protektivity 10 IU/l anti-HBs protilátek byla prapůvodně stanovena ve studiích s pasivní imunizací [8].

Četnými pracemi je jednoznačně dokázáno, že titri anti-HBs protilátek po vakcinaci během let klesá u významného procenta očkovaných jedinců [1,3,6–9].

### Definice non-respondera

V případě vakcinace proti VHB se za non-respondera označuje ta osoba, u níž nedojde k vzestupu titru anti-HBs nad 10 IU/l po aplikaci 3 dávek vakcíny ve standardním schématu. Tento jev je pozorován přibližně u 10 % očkovaných. Mezi hlavní rizikové faktory pro nedostatečnou proti-

látkovou odpověď po vakcinaci proti viru hepatitidy B patří mimo polymorfizmy genů kódujících cytokiny a chemokiny či HLA-haplotypy i chronická virová hepatitida B, nákaza lidským virem imunitní nedostatečnosti (HIV), celiakie, hemodialyzační léčba, očkování nezralého novorozence, intragluteální aplikace vakcíny a špatné skladování vakcín [1,3,6–9].

### Kdo revakcinaci paušálně doporučuje

Již v roce 1993 reagoval Tedder na práci poukazující na přemrštěný důraz kladený na vyšší titri anti-HBs protilátek, což přináší ekonomickou zátěž zdravotnickému systému pravidelnými sérologickými kontrolami a případnou aplikací přídatných dávek vakcíny. Tedder, ostatně jako většina dalších autorů, přiznal, že buněčná imunitní paměť může hrát významnou roli, nicméně pro nedostatek populačních studií na ni nebylo možno jednoznačně spoléhat. Významným a nepochybnitelným argumentem Teddera pro snahu o udržení titru anti-HBs  $\geq 10$  IU/l bylo riziko nákazy zdravotnického personálu při práci s biologickým materiálem (a z toho plynoucí konsekvence i pro zaměstnavatele) a riziko šíření virové hepatitidy B v populaci. Mladší generace lékařů, které již nebyly přímo konfrontovány s epidemickými rozměry virové hepatitidy B, nemusí dnes již jeho rozhořčení plně rozumět [10].

Chambost zmiňuje paušální revakcinaci proti virové hepatitidě B s cílem udržení titru anti-HBs  $\geq 10$  IU/l u hemofiliků pouze okrajově [11].

Autoři z vysoce endemické oblasti s otázkou paušální revakcinace mírně polemizují, v zásadě ji však doporučují pro rizika fulminantního průběhu virové hepatitidy. Konstatují, že přibližně 10–27 % kompletně očkovaných jedinců nemá po letech protektivní titri anti-HBs protilátek. Na souboru 127 mladých dospělých jedinců, kteří byli prokazatelně kompletně očkovaní v dětství a následně měli po letech titri anti-HBs protilátek  $\leq 10$  IU/l prokázali více než 99% účinnost revakcinace 3 dávkami rekombinantní vakcíny pro dosažení titru anti-HBs nad tuto hranici. Jelikož dosud není definitivně vyřešena otázka paměťové celulární odpovědi, přiklání se ke strategii udržovat titri anti-HBs  $\geq 10$  IU/l [12].

Carrerová se zaměřila na vakcinaci jedinců s idiopatickými střevními záněty (IBD – inflammatory bowel disease) a paušálně doporučuje udržet titri anti-HBs protilátek  $\geq 10$  IU/l (lépe však  $\geq 100$  IU/l) u všech nemocných bez ohledu na závažnost základního onemocnění a na probíhající léčbu. Současně zdůrazňuje výsledky epidemiologických přehledů, v nichž je základním schématem vakcinace dosaženo titru anti-HBs  $\geq 10$  IU/l pouze u 25–50 % jedinců s IBD; po aplikaci přídatných dávek vakcíny se procento jedinců s vyšším titrem zvyšuje [13].

Gasim se věnoval doporučení vakcinace proti VHB u pacientů s chronickým onemocněním ledvin. Tito jedinci, pokud jsou dialyzováni, trpí chronickou virovou hepatitidou výrazně častěji než běžná populace, a proto je u nich adekvátní prevence naprosto zásadní. Přitom je dokázáno, že postvakcinační odpověď je horší u pacientů s pokročilejším renálním onemocněním. Autor jednoznačně doporučuje aplikaci přídatných dávek vakcíny při poklesu titrů anti-HBs protilátek  $\leq 10$  IU/l [14].

Sit ve své práci zaměřené na prevenci virové hepatitidy B u dialyzovaných doporučuje stanovovat titr anti-HBs každoročně a při poklesu  $\leq 10$  IU/l aplikovat přídatnou dávku vakcíny [15].

Významným argumentem pro revakcinaci je skutečnost, že riziko přenosu VHB je sice nízké, ale očkování je jednoduché, bezpečné a efektivní.

Jistě není nezajímavé, že mezi zmíněnými autory je pouze Tedder klinický virolog, ostatní mají ve svých afiliacích jinou odbornost (Chambost hematolog, Carrera gastroenteroložka, Gasim zaměstnanec lékařské fakulty, Sit nefrolog a Jan internista).

### Kdo revakcinaci paušálně nedoporučuje

Zřejmě nejvýznamnějším dokumentem zabývajícím se zvoleným tématem je zpráva WHO z roku 2009. V textu je jednoznačně uvedeno, že navzdory poklesu titru anti-HBs pod protektivní hladinu je u naprosté většiny očkováných jedinců dlouhodobá imunita zajištěna buněčnou složkou, což se opírá o nálezy z různých rozsáhlých longitudinálních studií. Odstavec zabývající se nutností paušální revakcinace je ukončen následujícím postulátem: „Ačkoli dosud není definitivně známa doba protekce před infekcí a nákazou po očkování proti virové hepatitidě B, a to i s přihlédnutím k možné přirozené subklinické stimulaci imunitní paměti, není dostatek přesvědčivých důkazů pro rutinní aplikaci přídatných dávek vakcíny ve standardních imunizačních programech.“ Současně je dále doporučeno, že u imunokompromitovaných jedinců by mělo být každoročně provedeno stanovení titru anti-HBs protilátek a při poklesu titru  $\leq 10$  IU/l aplikovat 3 přídatné dávky vakcíny. Za 1–3 měsíce po dokončení přídatného očkovacího schématu by se měl opět stanovit titr anti-HBs, a pokud je stále  $\leq 10$  IU/l, pak je nutno vyloučit latentní virovou hepatitidu B [1].

Steelová se věnovala otázce vakcinace proti virovým hepatitidám A a B u pacientů s vrozenými poruchami krevního srážení. Stanovení titru anti-HBs protilátek za 1–6 měsíců po dokončení základního imunizačního schématu doporučuje pouze u jedinců s opakovaným či setrvalým rizikem nákazy a u imunokompromitovaných. U imunokompromitovaných doporučuje stanovení titru anti-HBs v pětiletých intervalech a případnou aplikaci přídatné dávky vakcíny při poklesu titru  $\leq 10$  IU/l. U hematologických pacientů doporučuje snahu o udržení titru anti-HBs  $\geq 10$  IU/l s ohledem na možný iatrogenní přenos VHB krevními deriváty [16]. Obdobné závěry publikoval van Damme a kol. [17] a Evropská skupina zabývající se imunitou proti virové hepatitidě B [18].

Leuridanová provedla na toto téma rozsáhlou rešerši a metaanalýzu. Mimo jiné zdůrazňuje, že přídatná dávka vakcíny není indikována ani u uživatelů nitrožilních drog, osob s rizikovým sexuálním chováním, cestovatelů, osob v zařízeních dlouhodobé péče či žijících v těsném kontaktu s nosičem VHB. Dále na základě dostupných pramenů postuluje, že dosud nebyly podány přesvědčivé důkazy pro nezbytnost aplikace přídatné dávky vakcíny, a to ani po 20 letech od původní vakcinace: různí autoři prokázali adekvátní imunitní odpověď krátce po aplikaci přídatné dávky vakcíny, a to bez ohledu na geografickou oblast a endemici-

tu a přirozenou stimulaci imunity. Ačkoli se během let může nákaza virem hepatitidy B vyskytnout až u 18 % očkováných jedinců a asi u 1/3 dětí narozených HBs-pozitivním matkám, probíhá naprostá většina těchto infekcí bez klinické manifestace a zřídka vyústí do stavu chronického nosičství. Je zapotřebí rozlišovat mezi nákazou (která může probíhat bez klinických příznaků) a onemocněním (s klinickými příznaky). Z provedených studií vyplývá, že protekce před nákazou je zajištěna vyšší titru postvakcinačních protilátek, naopak protekce před onemocněním (akutní či chronickou hepatitidou a nosičstvím) je zajištěna buněčnou imunitní pamětí, která přetrvává déle než titr postvakcinačních protilátek. V prevenci virové hepatitidy B u imunokompromitovaných se doporučení neliší od výše zmíněného doporučení WHO [19].

Saffar studoval reakci buněčné imunity po aplikaci přídatné dávky vakcíny u 176 mladých dospělých očkováných před 20 lety. U 43 % z nich byl ještě přítomen titr anti-HBs  $\geq 10$  IU/l. U séronegativních osob (anti-HBs  $\leq 10$  IU/l) byla zaznamenána výrazná buněčná imunitní odpověď ve více než 80 % případů. Necelých 20 % všech séronegativních osob však zůstává setrvale v riziku nákazy HBV. Problémem je, že k jejich detekci by bylo nutné provést testy buněčné imunity, které dosud nejsou v klinické praxi rutinně prováděny. Proto v tuto chvíli není ani u séronegativních osob jednoznačné doporučení revakcinace. Celkem bylo po 20 letech od primárního očkování chráněno 90 % jedinců zařazených do studie. Hodnoty titru anti-HBs protilátek a parametry buněčné imunity mezi sebou často nekorelovaly [120].

Další rozsáhlou studii recentně publikovala Chiarová. U mladých dospělých došla k několika závěrům: a) není potřeba aplikovat přídatnou dávku vakcíny při poklesu anti-HBs protilátek  $\leq 10$  IU/l u osob ve standardním riziku nákazy; b) pokles titru anti-HBs protilátek není funkcí času uplynulého od aplikace poslední dávky vakcíny, ale spíše závisí na maximální výši dosaženého titru těchto protilátek; c) u osob s nízkým titrem anti-HBs protilátek je po přídatné dávce vakcíny pozorován výrazně nižší vzestup protilátek oproti ostatním. Každopádně pokles titru anti-HBs  $\leq 10$  IU/l neznamená nutně ztrátu protekce před nákazou/infekcí [21].

Chang provedl studii na téměř 7 tisících probandů a neprokázal příznivý vliv paušální revakcinace na snížení počtu chronického nosičství [22].

V recentně publikovaném komentáři shrnuje van Damme aktuální poznatky týkající se postvakcinační imunity proti viru hepatitidy B na základě 30leté observační studie Bruceho, v níž bylo potvrzeno dlouhodobé přetrvávání postvakcinační imunity navzdory poklesu titru protilátek anti-HBs pod 10 IU/l. U jedinců s titrem anti-HBs protilátek pod 10 IU/l byla pozorována výrazná protilátková odpověď v 88 % případů po aplikaci jedné přídatné dávky vakcíny. Chybějící protilátková odpověď u zbývajících jedinců ve studii nemusí přesto nutně znamenat vnímavost k infekci, tento předpoklad však bude nutno doložit dalšími studiemi [23,24].

Opět jsou jistě zajímavé odbornosti zmíněných autorů: Steelová – hematoložka, van Damme – vakcinolog, Leuridan – vakcinoložka a Saffar – pediater/infektolog, Chiara – molekulární bioložka, Chang – pediater.

## Revakcinace zdravotníků/non-responderů

Přibližně 20 % zdravotníků patří mezi non-responderů po očkování proti VHB, a to i když jsou zcela zdraví. V loňském roce publikovali italská autoři studii provedenou na 45 zdravotnících potenciálně vystavených riziku nákazy HBV, u kterých byl titer anti-HBs protilátek  $\leq 10$  IU/l. U těchto non-responderů byl obdobný počet paměťových B-lymfocytů jako u responderů. Aplikace přídatné dávky vakcíny z důvodu nízké hladiny anti-HBs nemusí nutně vést k vzestupu titru protilátek; pro klinickou praxi může být významné, že byl pozorován dokonce pokles počtu paměťových B-lymfocytů. Jelikož závěry dosud nejsou jednoznačné, doporučují autoři standardní postexpoziční profylaxi u zdravotníků/non-responderů [25].

Naopak Tajiri doporučuje jednorázovou aplikaci přídatné dávky vakcíny všem zdravotníkům a příslušníkům veřejných služeb a imunokompromitovaným při titru anti-HBs  $\leq 10$  IU/l [3].

## Přehled vybraných národních doporučení týkajících se revakcinace proti viru hepatitidy B

### a) Německo

Dle recentního doporučení německé národní imunizační komise Ständige Impfkommission (STIKO) by měl být za 4–8 týdnů od dokončení základního schématu vakcinace zkontrolován titer protilátek anti-HBs s cílovou hodnotou  $\geq 100$  IU/l. U tzv. low-responderů (titer anti-HBs 10–99 IU/l) je doporučeno ihned aplikovat jednu přídatnou dávku vakcíny a v odstupu 4–8 týdnů opět zkontrolovat titer protilátek anti-HBs. Pokud není dokumentován vzestup titru protilátek nad 100 IU/l, lze takto aplikovat až 3 přídatné dávky vakcíny – další dávky jsou však kontroverzní. U non-responderů je doporučeno v první řadě vyloučit chronickou virovou hepatitidu B, jinak je postup obdobný jako u low-responderů. U imunokompetentních jedinců, kteří dosáhli titru protilátek anti-HBs  $\geq 100$  IU/l již není nutno aplikovat přídatné dávky vakcíny a kontrola titru protilátek je doporučena jen u osob ve vysokém profesním riziku 1× za 10 let s případnou revakcinací při poklesu  $\leq 100$  IU/l. Pravidelné kontroly titru protilátek anti-HBs s případnou revakcinací jsou naopak doporučeny u osob s deficitem humorální imunity. V případě, že byl daný jedinec očkován dávno v minulosti a není znám titer protilátek anti-HBs dosažený primární vakcinací, je při vysokém riziku expozice doporučena aplikace jedné přídatné dávky vakcíny s následnou kontrolou titru protilátek [26].

### b) Velká Británie

Dle doporučení uvedených v tzv. Zelené knize (Green book) z února 2016 je u osob v setrvalém riziku expozice viru doporučena kontrola titru protilátek anti-HBs za 1–4 měsíce od ukončení základní vakcinace, přičemž za protektivní se považují hodnoty  $\geq 10$  IU/l (za ideální stav je považován titer  $\geq 100$  IU/l). U imunokompetentních jedinců, u nichž byl dokumentován titer protilátek anti-HBs  $\geq 100$  IU/l, již nejsou další sérologické kontroly nutné, je však doporučena jedna přídatná dávka vakcíny v odstupu 5 let od základní vakcinace. V případě titru protilátek

anti-HBs v rozmezí 10–99 IU/l po základní vakcinaci je doporučeno ihned aplikovat jednu přídatnou dávku vakcíny (bez nutnosti další sérologické kontroly u imunokompetentních) a v odstupu 5 let ještě jedna revakcinace. U non-responderů je nutno vyloučit chronickou virovou hepatitidu B a poté opakovat celé vakcinační schéma s kontrolou titru postvakcinačních protilátek v odstupu 1–4 měsíců. Pokud se nepodaří dosáhnout titru anti-HBs  $\geq 10$  IU/l, je při expozici viru doporučena aplikace specifického gamaglobulinu. U osob s chronickým selháním ledvin je doporučena kontrola titru protilátek anti-HBs každoročně s nutností revakcinace při poklesu  $\leq 10$  IU/l. Přídatná dávka vakcíny je doporučena i všem dialyzovaným pacientům cestujícím do zemí s vysokou endemicitou virové hepatitidy B, pokud dříve vykazovali postvakcinační odpověď [27].

### c) Kanada

Sérologické testy po vakcinaci ani aplikace přídatné dávky vakcíny nejsou u imunokompetentních jedinců paušálně doporučovány. Stanovení titru postvakcinačních protilátek se doporučuje u imunokompromitovaných (případně dle tíže imunodeficitu a rizika expozice viru i cyklicky opakovaně) a dále u dětí matek nemocných virovou hepatitidou B, u osob ve vysokém profesním či osobním riziku (např. uživatelé nitrožilních drog či homosexuálové) a u gravidních ve vysokém riziku expozice, každoročně pak u pacientů s chronickým selháním ledvin a u dialyzovaných. U osob očkových dávno v minulosti, které se nově ocitají ve zvýšeném riziku expozice (např. nitrožilní uživatelé drog, sexuální kontakty apod.) je doporučena aplikace jedné přídatné dávky vakcíny s následným stanovením titru anti-HBs. U pacientů s chronickým selháním ledvin či podstupujících chemoterapii, kteří dříve vykazovali titer protilátek anti-HBs  $\geq 10$  IU/l, je doporučeno aplikovat přídatné dávky vakcíny se snahou udržet titry anti-HBs nad touto hranicí (pokud však není sérologická odpověď po 3. přídatné dávce vakcíny, není již další revakcinace indikována). Tato doporučení byla aktualizována v březnu 2016 [28].

### d) Spojené státy americké

Dle doporučení z roku 2006 je sérologické stanovení titru postvakcinačních protilátek doporučeno jen u osob ve vysokém riziku včetně některých vybraných zdravotníků (nespecifikováno), dialyzovaných, imunokompromitovaných, uživatelů nitrožilních drog a nakažených HIV. U imunokompetentních jedinců, u nichž byla v minulosti dokumentována sérokonverze po základní vakcinaci, není doporučeno provádět další sérologické testy ani aplikovat postexpoziční profylaxi. U imunokompromitovaných je doporučena 1 přídatná dávka vakcíny v případě rizikové expozice – do 7 dnů od poranění jehlou a do 14 dnů od rizikového sexuálního kontaktu. Ostatní možnosti diskutovány nejsou [29].

## Nové imunologické poznatky

Pro zásadní roli paměťových B-lymfocytů v ochraně před virovou hepatitidou B svědčí riziko reaktivace VHB po depresi B-lymfocytů léčbou monoklonální protilátkou proti po-

vrchovému buněčnému znaku lymfocytů CD20 rituximabem (během této léčby nejsou eliminovány plazmatické buňky), a to navzdory perzistenci titru anti-HBs protilátek. Titr sérových postvakcinačních protilátek odráží přítomnost a aktivitu dlouho žijících plazmatických buněk. Tyto buňky vznikají v rámci primární postvakcinační odpovědi za spolupráce s T<sub>H</sub>-lymfocyty a sídlí v kostní dřeni. Plazmatické buňky však nejsou vybaveny B-lymfocytárním receptorem a nemohou tedy rozpoznávat antigen. Pro rozvinutí paměťové imunity jsou tedy nezbytné paměťové B-lymfocyty, které sídlí v germinálních centrech lymfatických uzlin. Po stimulaci daným antigenem (včetně přídatné dávky vakcíny) rychle proliferují a diferencují se v plazmatické buňky, které tvoří specifické protilátky. Regulace dlouho žijících plazmatických buněk a B-lymfocytů je vzájemně odlišná, a proto není korelace mezi humorální (protilátkovou) odpovědí měřenou pomocí titru anti-HBs protilátek a buněčnou postvakcinační odpovědí [25]. Roli T<sub>H</sub> lymfocytů v postvakcinační odpovědi v malém souboru pacientů s chronickým onemocněním ledvin studoval i Matthew se svým kolektivem [30].

### Specifické subpopulace pacientů

U pacientů s kongenitální a-/hypo-gamaglobulinémií nemá aktivní očkování žádný význam, je třeba použít strategie adekvátní prevence kontaktu a případně postexpozici profylaxe. Ze získaných chorob je jedna z nejhorších odpovědí (30–70 %) na aktivní vakcinaci všeobecně pozorována u jedinců trpících mnohočetným myelomem, přičemž stupeň účinnosti jednotlivých vakcín se může velmi lišit dle typu a stadia onemocnění [31,32]. Přesto by měl ošetřující lékař zvážit i vakcinaci proti VHB v poměru přínosu a rizika expozice.

Naprostou zásadní je případný vliv chemoterapie či biologické léčby na účinnost vakcinace. V případě vakcinace proti virové hepatitidě B je vhodné aplikovat alespoň 2 dávky vakcíny 14 dnů před zahájením chemoterapie s následnou kontrolou titru anti-HBs protilátek. U těchto nemocných je vhodné udržovat titer těchto protilátek  $\geq 10$  IU/l pomocí přídatných dávek vakcíny.

U pacientů léčených rituximabem dochází ke kompletní depleci B-lymfocytů včetně paměťových, uchovány jsou prolymfocyty a plazmatické buňky. Efekt rituximabu na zmíněné buněčné populace přetrvává 2–12 měsíců. Proto, pokud byli tyto pacienti dříve očkovaní proti VHB, je nutno u nich zkontrolovat výši titru postvakcinačních protilátek (u této subpopulace opět cíl anti-HBs  $\geq 10$  IU/l) a není-li dostatečná séroprotektivita, pak po odeznění účinku rituximabu revakcinovat přídatnou dávkou vakcíny. Současně je po dobu léčby rituximabem a během následujících měsíců nutná preemptivní antivirová terapie u jedinců se sérologickými známkami dříve prodělané virové hepatitidy B [33].

U jedinců po transplantaci jater je pro rizika fulminantní virové hepatitidy B vždy nezbytná kompletní revakcinace, pravidelné sérologické kontroly a maximální snaha o udržení titru anti-HBs protilátek  $\geq 10$  IU/l [34].

Jedince nakažené HIV je všeobecně doporučeno očkovat proti viru hepatitidy B s následnými sérologickými kontrolami titru postvakcinačních protilátek za 4–8 týdnů od ukon-

čení základní vakcinace, a pokud není dosaženo titru anti-HBs  $\geq 10$  IU/l, je doporučena revakcinace. Kontroly titru anti-HBs jsou doporučeny 1× ročně [35].

### Závěr

Jak je výše dokumentováno, není v současnosti platný konsenzus ohledně sérologického sledování titrů postvakcinačních protilátek ani ohledně revakcinace. V posledních letech nicméně přibývá epidemiologických, klinických i imunologických důkazů pro přetrvávající imunitní paměť zajištěnou buněčnou složkou imunitního systému po očkování imunokompetentních jedinců rekombinantní vakcínou proti VHB, a to navzdory nízkému či neměřitelnému titru anti-HBs protilátek. Na základě prostudované literatury se autoři práce přiklání k následujícímu:

- a) titer anti-HBs  $\geq 10$  IU/l neznamená 100% ochranu před nákazou či manifestním onemocněním,
- b) paušální aplikace přídatné dávky vakcíny při poklesu titru anti-HBs  $\leq 10$  IU/l není u imunokompetentních jedinců (včetně zdravotníků) indikováno,
- c) přídatné dávky vakcíny se v současnosti doporučují u imunokompromitovaných osob s titrem anti-HBs  $\leq 10$  IU/l,
- d) non-respondery ve vysokém riziku nákazy je lepší očkovat vakcínou 3. generace [36].

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).

### Literatura:

1. World Health Organization. Weekly epidemiological record. 2009;84:405–420.
2. Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S. A "new" antigen in leukemia sera. *J Am Med Assoc.* 1965;191:541–546.
3. Tajiri K, Shimizu Y. Unsolved problems and future perspectives of hepatitis B virus vaccination. *World J Gastroenterol.* 2015; 21(23):7074–7083.
4. Husa P. Chronická hepatitida B. *Postgrad gastroenterol hepatol.* 2015;1(3): 180–184.
5. Bílková-Fránková H, Kloudová A, Zelená H, et al. Víceúčelový sérologický přehled (spalnice, příušnice, pertuse, virová hepatitida B) SP 2013, ČR: Závěrečná zpráva. *Zprávy CEM.* 2014;23(Příloha 1):1–152.
6. West DJ, Calandra GB. Vaccine induced immunologic memory for hepatitis B surface antigen: implications for policy on booster vaccination. *Vaccine.* 1996; 14(11):1019–1027.
7. Jack AD, Hall AJ, Maine N, et al. What level of hepatitis B antibody is protective? *J Inf Dis.* 1999;179:489–192.
8. Han K, Shao X, Zheng H, et al. Revaccination of non- and low-responders after a standard three dose hepatitis B vaccine schedule. *Human Vaccines Immunother.* 2012;8(12):1845–1849.
9. Gerlich WH. Medical Virology of Hepatitis B: how it began and where we are now. *Virology J.* 2013;10:239. doi: 10.1186/1743-422X-10-239.
10. Tedder RS. Hepatitis B vaccination. Non-responders must be detected... *BMJ.* 1993;307:732.
11. Chambost H, Doncarli A, Bertrand MA, et al. Implementation of a hepatitis A prevention policy in haemophiliacs: results from the French cohort. *Haemophilia.* 2007;13(6):712–721.
12. Jan ChF, Huang KCh, Chien YCh, et al. Determination of immune memory to hepatitis B vaccination through early booster response in college students. *Hepatology.* 2010;51(5):1547–1554.
13. Carrera E, Manzano R, Garrido E. Efficacy of the vaccination in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2013;19(9):1349–1953.
14. Gasim GI, Bella A, Adam I. Immune response to hepatitis B vaccine among patients on hemodialysis. *World J Hepatol.* 2015;7(2):270–275.
15. Sit D, Esen B, Atay AE, et al. Is hemodialysis a reason for unresponsiveness to hepatitis B vaccine? Hepatitis B virus and dialysis therapy. *World J Hepatol.* 2015; 7(5):761–768.
16. Steele M, Cochrane A, Wakefield C, et al. Hepatitis A and B immunization for individuals with inherited bleeding disorders. *Haemophilia.* 2009;15(2):437–447.
17. Van Damme P, Van Herck K. A review of the long-term protection after hepatitis A and B vaccination. *Trav Med Inf Dis.* 2007;5(2):79–84.

18. European consensus group on hepatitis B immunity. *Lancet*. 2000;355:561–565.
19. Leuridan E, Van Damme P. Hepatitis B and the need for a booster dose. *Clin Infect Dis*. 2011;53(1):68–75.
20. Saffar H, Saffar MJ, Ajami A, et al. Long-term T-cell-mediated immunologic memory to hepatitis B vaccine in young adults following neonatal vaccination. *Hepat Mon*. 2014;14(9):e22223.
21. Chiara F, Bartolucci GB, Cattai M, et al. Hepatitis B vaccination of adolescents: significance of non-protective antibodies. *Vaccine*. 2014;32:62–68.
22. Chang Y-Ch, Wang J-H, Chen Y-S, et al. Hepatitis B virus vaccination booster does not provide additional protection in adolescents: a cross-sectional school based study. *BMC Public Health*. 2014;14:991. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2458/14/991>.
23. Van Damme P. Long-term protection after hepatitis B vaccine. *J Inf Dis*. 2016; 214:1–3.
24. Bruce MG, Bruden D, Hurlburt D, et al. Antibody levels and protection after hepatitis B vaccine: results of a 30-year follow-up study and response to a booster dose. *J Infect Dis*. 2016;214:16–22.
25. Zaffina S, Marcellini V, Santoro AP, et al. Repeated vaccinations do not improve specific immune defenses against hepatitis B in non-responder health care workers. *Vaccine*. 2014;32:6902–6910.
26. Robert-Koch-Institut, Epidemiologisches Bulletin 2016;34:306. Available from: [http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2016/Ausgaben/34\\_16.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2016/Ausgaben/34_16.pdf?__blob=publicationFile).
27. [https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/503768/2905115\\_Green\\_Book\\_Chapter\\_18\\_v3\\_0W.PDF](https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/503768/2905115_Green_Book_Chapter_18_v3_0W.PDF)
28. <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/cig-gci/p04-hepb-fra.php#doses>
29. <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5516a1.htm>
30. Mathew RO, Mason DL, Song R, et al. Role of T-regulatory cells in the response to hepatitis B vaccine in hemodialysis patients. *Hemodial Int*. 2015 Jun 23. doi: 10.1111/hdi.12326. [Epub ahead of print]
31. Ljungman P. Vaccination of immunocompromised patients. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(Suppl 5):93–99.
32. Litterman AJ, Zellmer DM, Grinnen KL, et al. Profound impairment of adaptive immune responses by alkylating chemotherapy. *J Immunol*. 2013;190(12):6259–6268.
33. Andrade P, Santos-Antunes J, Rodrigues S, et al. Treatment with infliximab or azathioprine negatively impact the efficacy of hepatitis B vaccine in inflammatory bowel disease patient's. *J Gastroenterol Hepatol*. 2015;30(11):1591–1595.
34. Yoshizawa A, Yamashiki N, Ueda Y, et al. Long-term efficacy of hepatitis B vaccination as post-transplant prophylaxis in HBsAg positive recipients and HBsAg negative recipients of anti-HBc positive grafts. *Hepatol Res*. 2015; Sep 8. doi: 10.1111/hepr.12586. [Epub ahead of print]
35. Mena G, García-Basteiro AL, Bayas JM. Hepatitis B and A vaccination in HIV-infected adults: a review. *Hum Vaccin Immunother*. 2015;11(11):2582–2598.
36. Eng NF, Bhardwaj N, Mulligan R, et al. The potential of 1018 ISS adjuvant in hepatitis B vaccines: HEPLISAV™ review. *Hum Vaccin Immunother*. 2013;9(8): 1661–1672.



## Pokyny pro autory

### Profil časopisu:

Klinická mikrobiologie a infekční lékařství je periodikum, zabývající se klinickou a laboratorní problematikou infekčního procesu v celé šíři, jak ve vlastních základních, tak i hraničních lékařských, případně, pokud je třeba, i v nelékařských oborech. Přednost se dává informacím s praktickým výstupem.

### Zásady vztahu mezi autory a redakcí:

Redakce přijímá příspěvky v češtině nebo ve slovenštině, které odpovídají odbornému profilu časopisu. Kromě dopisů redakci, diskuzí, zpráv a společenské rubriky jsou všechny přijaté příspěvky podrobeny nezávislé recenzí, přičemž se zachovává oboustranná anonymita. O výsledcích recenzního řízení je autor zpraven dopisem redakce současně s názorem redakce na konečnou úpravu článku. Redakce si vyhrazuje právo provádět drobné stylistické úpravy textu a upravovat pravopis podle progresivní verze. Redakce ve vlastní režii doplní překlad názvu a souhrnu příspěvku do angličtiny, pokud autor tyto podklady nedodá v potřebné kvalitě sám.

Před definitivním odevzdáním do tisku bude autorovi (hlavnímu autorovi) zaslán provizorní výtisk práce k autorské korektuře. Při autorské korektuře nelze bez předchozí dohody s redakcí provádět změny textu v rozsahu větším než 5 řádků. Užívejte obvyklých korektorských značek. Korekturu odešlete neprodleně zpět, nedostane-li ji redakce do 5 pracovních dnů od odeslání, bude to považováno za souhlas autora s textem (je možné použít i faxu nebo e-mailu s naskenovanou přílohou).

Uveřejněná práce se stává majetkem časopisu a přetisknout její část, přesahující rozsah abstraktu nebo použít obrázky v jiné publikaci lze jen se souhlasem vydavatele. Rukopis se archivuje v redakci; autorům se vrací jen, byl-li odmítnut nebo na zvláštní vyžádání.

### Zasílání rukopisů:

Všechny rukopisy zasílejte výhradně na dále uvedenou adresu redakce, a to zásadně ve dvojí formě:

- jeden kompletní výtisk s veškerou obrazovou dokumentací, opatřený titulní stranou s podpisem hlavního autora,
- text rukopisu v elektronické podobě (na disketě, CD) včetně titulní strany (viz dále, samozřejmě bez autentického podpisu) spolu s tabulkami, grafy a schémata, pokud byly vyrobeny pomocí počítačového programu. Tabulky, grafy, obrázky a schémata připojte jako samostatné soubory mimo textový soubor. Velmi tím usnadníte konečné zpracování.

### Titulní strana obsahuje:

- Název práce, který musí být stručný a výstižný, musí odpovídat skutečnému obsahu sdělení a bez použití zkratk.
- Typ sdělení (viz níže).
- Jména autora a spoluautorů ve zkrácené podobě bez titulů (J. Xyz, B. Yxz, ...), s odkazy na názvy jejich pracovišť.
- V samostatném odstavci celá jména autorů a spoluautorů včetně titulů a vědeckých hodností. Názvy pracovišť, na něž se u jmen odkazuje.
- U prvního (hlavního) autora bude uvedena úplná kontaktní adresa pro další styk s redakcí včetně e-mailové adresy.
- U prvního (hlavního) autora uveďte rovněž telefonní, případně faxové spojení, rodné číslo a číslo konta (tyto údaje nebudou zveřejňovány, slouží pro další komunikaci mezi hlavním autorem a redakcí a pro vyplacení honoráře).
- Prohlášení, že zasláný text je určen pro otištění v časopise Klinická mikrobiologie a Infekční lékařství a nebyl ani nebude jinde publikován a klauzuli, že spoluautoři souhlasí s textem zasláného sdělení a s uveřejněním v tomto časopise.
- U původních a přehledných prací a u krátkých sdělení připojí autor prohlášení (a to i v negativním případě) o sponzorování či střetu zájmů; je-li 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 popisované-ho patentu apod.), musí být tato skutečnost v závěru sdělení uvedena.

- U klinických studií připojí autor čestné prohlášení, že studie byla před zahájením schválena místně příslušnou etickou komisí. Prováděly-li se pokusy na zvířatech, vyžaduje se prohlášení, že byly dodrženy ústavní nebo národní předpisy a směrnice pro chov a experimentální užití zvířat.
- Pod prohlášením (body g, h, i), opatřeným datem, je třeba vlastnoručně podpis hlavního autora.
- Redakce netrvá na „imprimatur“ přednosty pracoviště autora/autorů.

### Typy sdělení:

Každý příspěvek musí být samotnými autory označen jako jedna z následujících variant; podle tohoto zařazení bude v redakci posuzován, v nejasných případech bude konečně zařazení provedeno po dohodě redakce s autorem. Má-li předkládaná práce atypické charakteristiky, je vhodné kontaktovat předem redakci (redakce@trios.cz)

### 1. Původní práce (Original article)

Práce obsahuje výsledky vlastního laboratorního, klinického nebo epidemiologického výzkumu. Obvyklý rozsah 8–16 normostran; souhrnný počet tabulek, grafů a obrázků 2–10; literárních odkazů 10–20. Souhrn (Summary) v rozsahu 10–20 řádků musí být strukturovaný, tj. dělený na oddíly: Cíl práce, popř. východisko (Background/ Objective[s]) – Materiál a metody (Material and Methods) – Výsledky (Results) – Závěr (Conclusions). Ze souhrnu musí vyplývat, jakou výchozí otázku si autor položil, k jakým výsledkům došel a jaký je praktický výstup jeho sdělení. K souhrnu jsou připojena klíčová slova v počtu 3–10. Vlastní text se standardně rozděluje na oddíly (uniform requirements): Úvod – Materiál a metody – Výsledky – Diskuse – Závěr. Práce je posuzována dvěma nezávislými recenzenty.

### 2. Přehledná práce (Review)

Tato sdělení podávají přehled současných znalostí o určité problematice. Zpravidla neobsahují vlastní výsledky, mohou však být doplněny krátkou kazuistikou. Jestliže obsahují vlastní názory či komentář (vítáno), musí být tyto názory jasně odděleny od objektivního výkladu. Obvyklý rozsah 10–20 normostran; souhrnný počet tabulek, grafů a obrázků 2–10; literárních odkazů 20–50, přičemž alespoň 50 % z nich není starší než 3 roky. Souhrn v rozsahu 10–20 řádků musí být výstižný a obsahovat nejdůležitější myšlenky textu. Připojuje se 3–10 klíčových slov. Práce je posuzována dvěma nezávislými recenzenty.

### 3. Krátké sdělení (Short communication)

Může se jednat o kazuistiku či jiné zajímavé pozorování z klinické či laboratorní praxe, výsledky pilotní studie, krátký souhrn poznatků o málo známém problému a podobně. Obvyklý rozsah 3–6 normostran; souhrnný počet tabulek, grafů a obrázků 1–4; literárních odkazů 3–10. Souhrn i v tomto případě musí být výstižný v rozsahu 5–10 řádků. Vlastní text obsahuje úvodní část, vlastní pozorování, diskuzi a závěr. Prochází recenzním řízením.

### 4. Dopis redakci (Letter-to-the-editor)

Subjektivní názor čtenáře na určitý odborný problém, komentář či polemika k dříve otištěnému sdělení a podobně. Rozsah 1–5 normostran, včetně eventuálních tabulek, grafů, obrázků a literárních odkazů. Žádný souhrn. Text neprochází recenzním řízením, redakce nemusí sdílet stanovisko autora.

### 5. Zpráva (Report)

Zpráva z kongresu, ze zahraničního pobytu apod. Redakce přijímá odborně zajímavá sdělení. U zprávy z kongresu jde zpravidla o jedno podrobně zpracované a komentované téma. Naopak není žádoucí uvádět vy-

čet přednášek či událostí a o každé z nich se zmínit jednou větou. Rozsah je 1–5 normostran. Žádný souhrn. Text neprochází recenzním řízením.

## 6. Recenze knihy (Book review)

Recenze knihy nebo skript vydaných v ČR nebo SR, které pojednávají o problematice klinické mikrobiologie nebo infekčních nemocí. Kritické pojetí je žádoucí. Rozsah 1–2 normostrany.

## 7. Oznámení (Announcement)

Informace o události, jednání či rozhodnutí, které jsou významné pro čtenářskou odbornou komunitu a/nebo mají nadčasový charakter. V případech hodných zřetele může být použit i jiný typ sdělení.

## 8. Doporučený postup (Guidelines)

Doporučený diagnostický a léčebný postup popisuje, jak postupovat při diagnostice, léčbě a ošetřování nemocného s konkrétní chorobou. Standard navíc obsahuje exaktně definované podmínky a k postupu jsou připojena měřitelná kritéria a indikátory kvality a efektivity. Otiskuje se ve znění, jak byl vydán garantující odbornou společností.

## 9. Životní jubileum a nekrolog (Biography, obituary)

Biografický článek ke kulatému jubileu nebo úmrtí významné osobnosti.

### Formální náležitosti příspěvků:

Rozsah rukopisu je určen typem sdělení (viz výše). Při úpravě na normostrany se text formátuje tak, aby na stranu formátu A4 vycházelo přibližně 60 úhozů na řádek a 30 řádek na stránku. Stránky je třeba číslovat.

Každý graf, schéma, tabulka, vzorec či obrázek musí být připojen na zvláštním listě, na rubu s uvedením prvního autora a názvu práce. V textu je třeba označit místa, kam mají být příslušné tabulky, grafy či obrázky umístěny. Každá příloha (tabulka, graf, schéma) má být srozumitelná sama o sobě, bez čtení textu. Jsou-li v ní uvedeny zkratky, které se běžně nepoužívají, musí být připojeny vysvětlivky. Redakce si vyhrazuje právo odmítnout rozsáhlé nepřehledné tabulky, stejně jako tabulky v počtu, nepřiměřeném k rozsahu a obsahu textu.

Výsledky vyšetření v číselné podobě uvádějte v jednotkách SI normy, pouze hodnoty pulzu, teploty a krevního tlaku je možné uvádět v konvenčních jednotkách.

K počítačové tvorbě textu, tabulek a grafů lze použít kterýkoliv běžný textový a tabulkový editor; používejte přitom běžných typů písma a před odesláním zkontrolujte vytisknutím zkušební stránku, souhlasí-li písmo na obrazovce s interpretací písma tiskárnou. Pokud by byl autor nucen příspěvek vytvořit v méně běžném či neobvyklém počítačovém programu (např. na bázi MacOs či Unix), doporučuje se to předem s redakcí konzultovat. U grafů je vhodné dodat redakci i výchozí údaje ve formě tabulky; umožní to znovu vytvořit graf způsobem vyhovujícím technologii přípravy časopisu pro tisk. V technicky složitých či nejasných případech konzultujte grafické studio (Mgr. P. Fučík, pfck@bohem-net.cz).

Je-li k rukopisu připojena obrazová dokumentace, je nejvhodnější použít originální fotografie, pérovky nebo diapositivy (uveďte vždy jméno autora snímku, obrázku apod.). Připomínáme, že s výjimkou obálky se veškeré ilustrace tisknou černobíle (ve stupních šedi), pro lepší výsledek jsou však s výhodou jako vstupní informace zpracovávány barevné podklady. Fotografie i další ilustrace lze dodat i v elektronické podobě. Před jejich zasláním však doporučujeme konzultovat s grafickým studiem, připravujícím časopis pro tisk (viz výše) zejména charakter zpracovávaných podkladů, způsob přípravy dat, rozměry ilustrace, barevný prostor, rozlišení, formát dat, velikost souboru, metodu ev. komprimace a způsob zaslání. Zásadně nevhodná forma pro obrazovou i jinou dokumentaci jsou prezentace ve formátu MS PowerPoint nebo z podobných programů.

Zařadí-li autor do rukopisu jakoukoliv dokumentaci nebo významnou partii textu, převzatou z jiné publikace, musí být pramen výslovně uveden

a předložen písemný souhlas autora a vydavatele původního pramene. Je výhradně záležitostí autora opatřit si potřebný souhlas a autor za to nese právní odpovědnost. Nejasnosti v tomto ohledu mohou být důvodem k odmítnutí práce.

Použije-li autor v textu zkratky, musí být příslušné výrazy poprvé použity v plném znění a následovány zkratkou uvedenou v závorce. Obsahuje-li text zkratek více, je alternativní možnost připojit jako zvláštní přílohu seznam použitých zkratek.

Názvy mikroorganismů se píší kurzívou, podle platného taxonomického zařazení. Poprvé uváděný název mikroorganismu musí být uveden v ne-zkrácené podobě (*Staphylococcus aureus*), při jeho opakování se použije zkrácená forma (*S. aureus*).

Názvy léků se uvádějí v generické formě; pouze v případě, chtějí-li autoři z jakéhokoliv důvodu zdůraznit, že šlo o konkrétní přípravek (např. při popisu nežádoucích účinků), uvede se kromě generického názvu též firemní označení a jméno výrobce.

Sdělení (platí pro klinické i laboratorní práce, pro psaný text, tabulky i obrazovou část) nesmí porušit anonymitu pacienta. Neuvádějte proto v textu jména ani iniciály nemocných, nemocniční a protokolová čísla apod.

### Literární odkazy

Mají být číslovány v pořadí, v němž byly uvedeny poprvé v textu. Odkazy se udávají pomocí arabských číslic v hranaté závorce. Citace obsahuje a) příjmení a zkratky jmen prvních pěti autorů (je-li autorů šest a více, uvádí se jen první tři a zkratka „et al.“), b) plný název a případně podnázev práce v jazyku originálu, c) standardním způsobem zkrácený název časopisu, rok, svazek a stránkový rozsah. Inicialy prvních jmen autorů a zkratky názvu časopisu se píší bez teček, za znaky oddělovacími rok, ročník a stránky se nedělá mezera. Při úpravě citací jednotlivých typů dokumentů se řídte následujícími příklady:

Standardní článek v časopisu: Dlouhý P, Herold I, Kolář M, et al. Postavení linezolidu v léčbě rezistentních grampozitivních infekcí. *Klin Mikrobiol Inf Lék.* 2006;12(1):4–9.

Článek v supplementu časopisu: Křemen st J, Stříbrná J, Pavlíková A, et al. Metody molekulární biologie v dermatovenerologické diagnostice. *Prakt Lék.* 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>.

### Příspěvky zasílejte na adresu:

Redakce časopisu KMIL, TRIOS, s. r. o.,  
Zakouřilova 142, 149 00 Praha 4-Chodov  
E-mail: [redakce@trios.cz](mailto:redakce@trios.cz)  
Telefon: 267 912 030, fax: 267 915 563