

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 Chmelař, Ph.D.
NRL pro anaerobní bakterie, LF Ostravské Univerzity
Doc. RNDr. Jarmila Jelínková, CSc.
Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, Praha
Prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.
Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. LF UK v Praze
Prof. MUDr. Daniela Kotulová, Ph.D.
Čestná členka Slovenskej spoločnosti klinickej
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 Nemeček, Ph.D.
Státní zdravotní ústav, Praha
MUDr. Otakar Nyč, Ph.D.
Ústav lék. mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, Praha
MUDr. Hanuš Rožypal, CSc.
Infekční klinika 1. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha
Doc. MUDr. Luděk Rožnovský, CSc.
Klinika infekčního lékařství, FN Ostrava
MUDr. Josef Scharfen, CSc.
Odd. lék. mikrobiol. a imunol. Oblast. nemocnice Trutnov
Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.
Klinika pre infekčné choroby, LF UPJŠ, Košice
Doc. MUDr. Anna Součková, CSc.
Ústav lék. mikrobiologie 2. LF UK Praha
Doc. MUDr. Marie Staňková, CSc.
Infekční klinika 1. LF, Nemocnice Na Bulovce, Praha
Doc. MUDr. Karel Urbánek, Ph.D.
Ústav farmakologie, FN a LF UP v Olomouci
Prof. MUDr. Miroslav Votava, CSc.
Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny v Brně
MUDr. Eva Zampachová
Centrální laboratoře, laboratoř virologie, Nemocnice
České Budějovice, a. s.

OBSAH

ÚVODNÍK

S. Plíšek

67

PŮVODNÍ PRÁCE

Možnosti využití hmotnostní spektrometrie k subtypizaci kampylobakterů

I. Kolářčková, N. Štromerová, J. Bardoň, V. Pudová, R. Karpíšková

68

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Kandidová vulvovaginitida

L. Svobodová, P. Lysková, P. Hamal

74

DOPORUČENÝ POSTUP

Standardní diagnostický a terapeutický postup u chronické infekce virem hepatitidy C (HCV)

*P. Urbánek, P. Husa, J. Šperl, S. Fraňková,
S. Plíšek, L. Rožnovský, P. Kúmpel*

83

DOPIS REDAKCI

Možná zdravotní rizika u nově přichozích žadatelů o azyl z neevropských zemí

R. Baloun

100

ABSTRAKTA

Abstrakta kongresu klinické mikrobiologie, infekčních nemocí a epidemiologie – KMINE 2015: volná sdělení – lékaři (1. část)

104



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://kmiil.trios.cz
Redakce: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.
Mgr. Hedvíka Nevečeřalová

Inzerce: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

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

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. 3rd 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., 1st 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. 2nd Med. Fac. Prague

MUDr. Hanuš Rozsypal, CSc.
Dept. of Infect. Dis., 1st 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. 2nd Med. Fac., Prague

Doc. MUDr. Marie Staňková, CSc.
Dept. Infect. Dis., 1st 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://knil.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.

Lýskova 1594/33, 155 00 Praha 13-Stodůlky

CONTENTS

EDITORIAL

S. Plíšek

67

ORIGINAL ARTICLE

Potential use of mass spectrometry for subtyping of *Campylobacter*

I. Kolářková, N. Štromerová, J. Bardoň, V. Pudová, R. Karpíšková

68

REVIEWS

Vulvovaginal candidiasis

L. Svobodová, P. Lysková, P. Hamal

74

GUIDELINES

Standard diagnostic and therapeutic approach to chronic infection with hepatitis C virus (HCV)

*P. Urbánek, P. Husa, J. Šperl, S. Fraňková,
S. Plíšek, L. Rožnovský, P. Kämpel*

83

LETTER TO THE EDITOR

Potential health risks in new asylum seekers coming from non-European countries

R. Baloun

100

SUMMARY

104

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

Vážení čtenáři KMILu, milé kolegyně, milí kolegové, přátelé,

právě otevíráte stránky 3. čísla letošního ročníku našeho společného časopisu Klinická mikrobiologie a infekční lékařství. Toto číslo přináší jednu původní práci týkající se subtypizace kampylobakterů pomocí hmotnostní spektrometrie z pracoviště docenta Bardoně, jeden přehledový článek o kandidové vulvovaginitidě a jistě potřebný nový doporučený postup o diagnostice a terapii chronické infekce virem hepatitidy C.

S šéfredaktorem časopisu profesorem Kolářem jsme se rozhodli uveřejnit v tomto čísle část souhrnů přednášek



a posterů, které byly prezentovány na naší společné zářijové akci Kongresu klinické mikrobiologie, infekčních nemocí a epidemiologie – KMINE 2015, který se konal v hotelu Harmony ve Špindlerově Mlýně, aby i ti z Vás, kteří se nemohli kongresu zúčastnit, měli představu o odborných sděleních, která tam zazněla. Akce byla pořádána v rámci oslav 70. výročí založení Lékařské fakulty v Hradci Králové. Velmi příjemně mě překvapil váš zájem o kongres a hlavně vysoká aktivní účast. Na kongresu zaznělo 64 přednášek a bylo prezentováno 49 posterů. V sekci nelékařského zdravotního personálu (zdravotní sestry a laborantky) se jednalo o 21 sdělení. Domnívám se, že nezapomenutelné pro účastníky byly i přednášky pozvaných hostů – vědce, parazitologa profesora Lukeše a astrologa a velkého popularizátora vesmíru dr. Grygara. Dalším pozitivním zjištěním bylo, že se kongresu zúčastnilo mnoho mladých kolegů s kvalitní aktivní prezentací, což mě utvrdilo v přesvědčení, že naše obory mají perspektivu do budoucna. Závěrem bych rád vzpomenu na našeho milého kamaráda a kolegu MUDr. Jana Galského, Ph.D, který již mezi námi 2 roky není, a vím, že by se v Krkonoších s námi na KMINE cítil dobře.

Se srdečným pozdravem

doc. MUDr. Slávek Plíšek, Ph.D.
zástupce šéfredaktora

Možnosti využití hmotnostní spektrometrie k subtypizaci kampylobakterů

I. KOLÁČKOVÁ¹, N. ŠTROMEROVÁ³, J. BARDOŇ^{3,4}, V. PUDOVÁ⁴, R. KARPÍŠKOVÁ^{1,2}

¹Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno, ²Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno, ³Státní veterinární ústav, Olomouc, ⁴Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

SOUHRN

Koláčková I., Štromerová N., Bardoň J., Pudová V., Karpíšková R.: **Možnosti využití hmotnostní spektrometrie k subtypizaci kampylobakterů**

Cíl práce: Molekulární epidemiologie je oborem, který využívá výsledky typizačních technik k získání informací o detailní charakteristice bakteriálních kmenů umožňujících stanovit identitu, příbuznost nebo odlišnost bakterií stejného rodu, druhu, případně i sérotypu. V současnosti jsou nejvíce používány metody založené na sledování rozdílu v genotypu bakterií. Většina těchto technik je ovšem časově i finančně náročná. Do rutinní praxe mikrobiologických laboratoří se ale rozšiřuje i metoda založená na analýze bakteriálního proteomu – hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpční/ionizací za účasti matrice s použitím průletového analyzátoru (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF MS). Je využívána zejména k rychlému a přesnému zařazení bakterií do rodu i druhu.

Cílem naší práce proto bylo posoudit možnost využití této metody k typizaci kampylobakterů pod úroveň druhu a aplikaci výsledků při epidemiologických šetřeních.

Materiál a metody: Do studie bylo zahrnuto 39 kmenů *Campylobacter jejuni* izolovaných z potravin (16) nebo humánního původu (23). U kmenů bylo provedeno stanovení makrorestrikčních profilů metodou pulzní gelové elektroforézy (PFGE) a současně také analýza proteinových profilů s využitím metody MALDI-TOF MS.

Výsledky: Vyhodnocení míry podobnosti pulzních profilů prokázalo shody mezi izoláty pocházejícími ze stejné epidemie nebo z opakovaných odběrů jednoho pacienta. Dále byly detekovány stejné pulzní profily u kmenů bez známé spojitosti, ale se shodným místem původu a rokem izolace. Z porovnání shlukových analýz obou metod vyplývá, že kmeny označené metodou PFGE jako shodné se v dendrogramu MALDI-TOF MS objevují v jedné podskupině s výjimkou kmenů z opakovaného odběru stejného pacienta.

Závěr: Naše výsledky ukazují, že potvrzení identity nebo příbuznosti kmenů v souladu se zjištěnými epidemiologickými skutečnostmi se zatím metodou MALDI-TOF nepodařilo jednoznačně prokázat.

Klíčová slova: *C. jejuni*, MALDI-TOF MS, PFGE, dendrogram

SUMMARY

Koláčková I., Štromerová N., Bardoň J., Pudová V., Karpíšková R.: **Potential use of mass spectrometry for subtyping of *Campylobacter***

Objectives: Molecular epidemiology is a field that uses results of typing techniques to obtain information on detailed characterization of bacterial strains for determining the identity, similarity or difference in bacteria of the same genus, species or serotype. Nowadays, the most commonly used methods are based on monitoring differences in bacterial genotypes. However, most of these techniques are time-consuming and costly. A method increasingly used in routine microbiological testing is matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS), which is based on analysis of the bacterial proteome. It is mainly used for rapid and accurate classification of bacteria into genera and species.

The aims were to assess the potential use of this method for typing of *Campylobacter* below the species level and to apply these results in epidemiological investigations.

Material and Methods: The study comprised 39 strains of *Campylobacter jejuni* isolated from food (16) and humans (23). Macrorestriction fragment profiling by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and simultaneous protein profile analysis using MALDI-TOF MS were performed for all tested strains.

Results: Similar pulse profiles were found among isolates originating from the same outbreak or repeatedly collected from a single patient. The same pulse profiles were also detected in strains of unknown relationship but sharing the same place of origin and year of isolation. The comparison of dendrograms from both analyses showed that strains identified as identical by PFGE appeared in the same subgroups in dendrograms obtained by MALDI-TOF MS, the only exception being isolates repeatedly collected from a single patient.

Conclusion: The results suggest that confirmation of the identity or similarity of strains in accordance with the established epidemiological facts has not been clearly demonstrated using MALDI-TOF MS.

Keywords: *C. jejuni*, MALDI-TOF MS, PFGE, dendrogram

Klin mikrobiol inf lék 2015;21(3):68–73

Adresa: MVDr. Ivana Koláčková, Ph.D., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Hudcova 70, 621 00 Brno,
e-mail: kolackova@vri.cz

Došlo do redakce: 15. 10. 2015
Přijato k tisku: 20. 10. 2015

Úvod

Kampylobakterióza je celosvětově nejčastěji hlášeným bakteriálním onemocněním gastrointestinálního traktu s alimentární cestou přenosu. Ve většině případů se jedná o sporadická onemocnění, epidemie jsou hlášeny spíše vzácně. Dosledovat cesty přenosu je obtížné. Přispívá k tomu i samotný původce, který se vzhledem ke svým specifickým růstovým nárokům v potravinách nepomnožuje. Pro svůj růst vyžaduje sníženou tenzi kyslíku, vysokou aktivitu vody a teplotu v rozmezí 30–45 °C. Onemocnění lidí nejčastěji způsobují druhy *Campylobacter jejuni* a *C. coli*. Klinické příznaky gastroenteritidy však vyvolávají i další druhy, např. *C. lari*, *C. hyointestinalis* a *C. upsaliensis*.

Efektivní epidemiologické šetření je v současnosti založeno na identifikaci a typizaci původce. Laboratorní diagnostika kampylobakterů z klinického materiálu je dnes již zcela rutinním vyšetřením, které zvládá většina laboratoří bez problémů. Podílí se na tom jednak správně odebrané vzorky stěrů do transportních médií, ve kterých jsou bakterie chráněny před vysycháním, jednak celá řada komerčně dostupných selektivních kultivačních médií, včetně médií chromogenních.

Druhové určení kampylobakterů je složitější. Jejich zařazení na základě výsledků biochemických testů a rezistence k antimikrobiálním látkám je časově náročné a nespolehlivé [1]. S rozvojem moderních molekulárně-biologických metod, jako jsou polymerázová řetězová reakce (PCR), ale například i hmotnostní spektrometrie, se druhové určení bakteriálních kultur významně zefektivňuje. I když z pohledu infektologů zaznívají názory, že druhové určení kampylobakterů je zbytečné, výsledky monitorování rezistence k antimikrobiálním látkám demonstrují, že jednotlivé druhy často vykazují rozdílné vzorce rezistence a v případě nutnosti léčby je pak druhové určení původce onemocnění vhodným vodítkem pro volbu účinného antibiotika. Informace o druhovém zařazení kampylobakterů vkládané do EPIDATu naznačují, že velká část laboratoří se touto problematikou nezabývá a do hlásicích systémů se uvádí dominantní druh *C. jejuni*. Naznačuje to vysoký počet hlášených případů onemocnění v ČR vyvolaných tímto druhem (v roce 2014 – 89,7 %), zatímco v Rakousku to bylo 79,8 % a v Německu pouhých 48,3 %. Hlášený počet neznámých druhů je v ČR nízký (7,8 %), v Rakousku je 10,9 % a v Německu dokonce 45,3 %. V Rakousku i v Německu jsou kromě druhů *C. jejuni*, *C. coli* a *C. lari* hlášeny i druhy *C. upsaliensis* a *C. fetus* [2].

K správnému druhovému určení je možné použít metodu PCR nebo v klinických laboratořích stále častěji používanou metodu hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF MS. Ta je založena na analýze proteinů bakteriální buňky, které

jsou po ataku laseru ionizovány, uvolněné ionty jsou prostupem přes silné elektrické pole urychleny, zaostřeny a je analyzována délka jejich letu ve vakuové trubici hmotnostního analyzátoru. Pro každý rod či druh je vytvořeno referenční hmotnostní spektrum, neboli profil jeho proteomu. Toto hmotnostní spektrum je zobrazením četnosti ionizovaných částic buněčného proteomu. Profily proteinů jsou pro daný druh mikroorganismu vysoce charakteristické. Vlastní identifikace mikroorganismů následně spočívá ve srovnávání proteinového spektra analyzovaného izolátu se spektry referenčních kmenů uložených v knihovně spekter v databázi speciálního software. Z matice podobnosti spekter se provádí klastrová (shluková) analýza, na jejímž základě je založena klasifikace v rámci rodu, druhu a v některých případech i poddruhu či kmene [3].

V současnosti jsou testovány i další způsoby využití této metody, jako např. stanovení rezistence k antimikrobiálním látkám nebo subtypizace kmenů [4]. Na příkladu listerií bylo prokázáno, že typ kultivačního média, stejně jako délka inkubace, mají nezanedbatelný vliv na kvalitu naměřených hmotnostních spekter. Proto byla pro korelační analýzu vybrána pouze hmotnostní spektra *Listeria monocytogenes* naměřená z neselektivního krevního agaru. Korelační analýzou vytvořené klastry kmenů listerií byly srovnávány s daty naměřenými pomocí pulzní gelové elektroforézy. Jadhav a kol. (2015) pak pomocí statistických metod došli k závěru, že výsledky získané oběma metodami jsou srovnatelné a MALDI-TOF MS je vhodnou technologií k mapování epidemiologické situace listerióz. Na druhou stranu, pro studium epidemiologických vazeb jiných druhů bakterií – jako například *Acinetobacter baumannii* – se metoda korelačních dendrogramů MALDI-TOF MS ve srovnání s PFGE neosvědčila [6]. Ve většině studií tak jde zatím spíše o příslib možnosti využívat MALDI-TOF MS jako subtypizačního nástroje pro epidemiologické účely, jak bylo demonstrováno na druhu *Enterobacter cloacae* a *Neisseria gonorrhoeae* [7,8].

V případě termotolerantních kampylobakterů není zatím využití subtypizace metodou MALDI-TOF MS pro epidemiologické studie jednoznačně vyhodnoceno a jsou používány spíše molekulárně-genetické metody. Jednou z hojně využívaných metod je makrorestrikční analýza pomocí pulzní gelové elektroforézy (PFGE), která spočívá ve štěpení bakteriálního genomu (chromozomální i plazmidové DNA) restrikčními enzymy. Vznikají tak fragmenty o rozdílné velikosti, které jsou pro daný klon typické. Variabilita štěpných míst u jednotlivých klonů vede ke vzniku různých makrorestrikčních profilů, jejichž podobnost je následně vyhodnocována pomocí speciálních softwarů. Metoda umožňuje bezpečné rozpoznání shodných nebo velmi příbuzných

klonů a je využívána pro epidemiologická šetření, zejména se zaměřením na vyhledání zdroje nákazy. Současně však tato metoda, která je u dalších bakteriálních rodů považována za „zlatý standard“, odráží i náhodné či evoluční změny, ke kterým u kampylobakterů vzhledem k plasticitě jejich genomu často dochází [9]. Pro sledování fylogenetické příbuznosti se proto při typizaci kampylobakterů používají také metody založené na sekvenčních technikách, např. MLST (Multi locus sequence typing) [10].

Cílem naší práce bylo posoudit možnost využití metody MALDI-TOF MS k subtypizaci kampylobakterů v porovnání s metodou pulzní gelové elektroforézy a zhodnotit tak možnosti využití metody MALDI-TOF MS při epidemiologických šetřeních.

Materiál a metody

Do studie bylo zařazeno 23 kmenů *Campylobacter jejuni* humánního původu, z toho dva izoláty pocházely ze stejné epidemie, další dva izoláty byly odebrány od jednoho pacienta s časovým odstupem 14 dní. Soubor byl doplněn 16 izoláty získanými ve stejném období z drůbeže, které byly na základě makrorestrikční analýzy vytypovány jako příbuzné. Izoláty pocházely ze sbírek laboratoří Státního veterinárního ústavu Olomouc, Veterinární a farmaceutické univerzity Brno a Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně a byly uchovávány v kryobance při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. U všech výše uvedených kmenů bylo provedeno stanovení makrorestrikčních profilů metodou pulzní gelové elektroforézy a současně také analýza proteinových profilů s využitím metody MALDI-TOF MS.

Makrorestrikční analýza

Makrorestrikční analýza byla provedena podle autorů Ribot a kol. (2001). Separace DNA fragmentů získaných po štěpení restrikčním enzymem *Sma*I (Takara, Japonsko) probíhala v 1% agarózovém gelu v 0,5% TBE pufru s nastavením impulsů od 6,7 do 38,4 po dobu 19 h. Jako marker byl použit kmen *Salmonella* Braenderup štěpený enzymem *Xba*I (Takara, Japonsko). Klastrová analýza byla provedena v programu BioNumerics verze 6.5 (AppliedMaths, Belgie) s využitím Diceho koeficientu a metody nevážených průměrů párových skupin (unweighted pair group average method, UPGMA).

MALDI-TOF MS identifikace a subtypizace

Identifikace izolátů *Campylobacter* spp. a následná tvorba dendrogramů byla prováděna dle standardních postupů doporučených výrobcem (Bruker Daltonik GmbH, Německo). Rodová a druhová identifikace probíhala metodou přímého přenosu mikroorganismů. K identifikaci byly použity kultury kultivované při $41,5\text{ }^{\circ}\text{C}/48\text{ h}$ na Columbia krevním agaru (TRIOS, Česká republika). Biologický materiál z jednotlivých kolonií byl jednorázovou bakteriologickou kličkou nanesen v tenké vrstvě na terčík kovové destičky určené pro hmotnostní spektrometrii, následně byly takto připravené terčíky destičky převrstvené 1 μl speciální matrice

(čerstvě připravený roztok kyseliny skořicové). Po usušení bylo provedeno měření a identifikace izolátů přístrojem Microflex LT a programy flexControl, verze 3.4, a MALDI Biotyper, verze 3.1. Interpretace výsledků byla provedena na základě hodnot identifikačních skóre jednotlivých měření.

Pro vytvoření referenčních spekter k subtypizaci kampylobakterů byl každý izolát kultivován v triplikátu. Každý z těchto triplikátů byl následně extrahován v etanolu a kyseliny mravenčí. Do mikrozkušavky s obsahem 300 μl vody pro hmotnostní spektrometrii byl přenesen a následně resuspendován biologický materiál z čistých bakteriálních kultur pomocí sterilní jednorázové bakteriologické kličky (cca 20 μl). Po přidavku 900 μl absolutního etanolu a centrifugaci ($12\ 000 \times g/2$ minuty) byl supernatant odstraněn a po cca 15 minutách schnutí byla peleta resuspendována přiměřeným množstvím (cca 20 μl) 70% kyseliny mravenčí. Po důkladném promíchání byl přidán acetonitril ana partes a směs byla opět důkladně promíchána. Po centrifugaci ($12\ 000 \times g/2$ minuty) byl 1 μl supernatantu ihned přenesen na kovovou destičku, kde byl takto připravený terčík po zasnutí převrstven 1 μl speciální matrice. Každá jednotlivá extrakce byla na kovovou destičku nanášena osmkrát a měřena v programu flexControl (verze 3.4) v triplikátech, výsledně bylo tedy získáno 72 referenčních spekter od každého izolátu *Campylobacter jejuni*. Tato referenční spektra byla nejprve podrobena analýze kvality v programu flexAnalysis (verze 3.4) a následně sjednocená spektra zpracována programem MALDI Biotyper (verze 3.1) pomocí BioTyper MSP Creation Standard Method. Tato spektra kampylobakterů byla použita k tvorbě korelačních dendrogramů pomocí BioTyper MSP Dendrogram Creation Standard Method.

Výsledky

Přehled charakteristik analyzovaných kmenů a výsledky subtypizace obou použitých metod jsou uvedeny v *tabulce 1* a *schématu 1*. Makrorestrikční analýzou bylo v souboru 39 kmenů kampylobakterů detekováno 31 pulzních profilů, kdy 24 (62 %) se vyskytlo pouze jednou, 6 (15 %) vždy u dvou izolátů a pouze 1 pulzotyp se vyskytl u 3 izolátů současně. Tyto izoláty byly získány z chlazených kuřat z tržní sítě a pocházely z různých jatek. Pouze u jednoho pulzotypu (označen jako typ 25) byla prokázána shoda mezi kmenem z drůbeže a kmenem humánního původu. Shoda v pulzním profilu byla dále pozorována u humánních izolátů pocházejících z epidemie v Liberci, u dvou izolátů od stejného pacienta získaných při opakovaném odběru a dále u do studie náhodně vybraných kmenů, které ale spojuje místo a rok izolace.

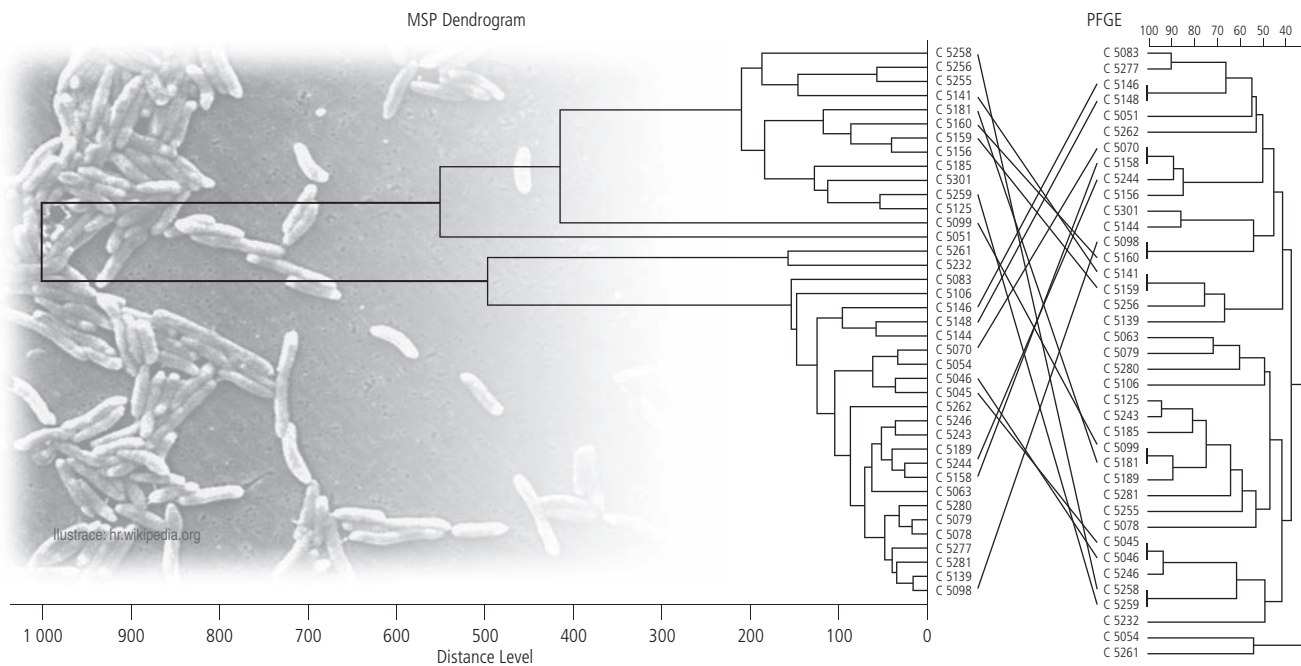
Metodou MALDI-TOF MS vznikla u všech sledovaných kmenů hmotnostní spektra proteinů v rozsahu velikostí od 3 do 15 kDa. Ve spektrech bylo možné pozorovat signály, na základě kterých se kmeny rozdělily do dalších podskupin. 35 testovaných kmenů vytvořilo dvě výrazně oddělené skupiny (12 a 23 izolátů), zbylé 4 kmeny představují v dendrogramu samostatné větve. Vytvořené skupiny ale neměly výrazný vztah ani k původu vzorků nebo místu izolace.

Tabulka 1
Charakteristika testovaných izolátů *Campylobacter jejuni*

Archivační číslo	Původ vzorku	Místo izolace	Výrobce	Rok izolace	PFGE typ	Poznámka
C 5045	HU	OL		2013	4	bez známé souvislosti
C 5046	HU	OL		2013	4	bez známé souvislosti
C 5051	PO	JM	VI	2013	32	
C 5054	PO	OL	V	2013	82	
C 5063	HU	OL		2013	27	
C 5070	PO	OL	III	2013	38	bez známé souvislosti
C 5078	HU	OL		2013	52	
C 5079	HU	OL		2013	68	
C 5083	HU	JM		2013	64	
C 5098	HU	JM		2013	30	opakovaný odběr
C 5099	HU	JM		2013	54	
C 5106	PO	OL	VII	2013	40	
C 5125	HU	OL		2013	1b	
C 5139	PO	JM	II	2013	71	
C 5141	PO	JM	VI	2013	25	
C 5144	HU	JM		2013	7	
C 5146	HU	JM		2013	63	bez známé souvislosti
C 5148	HU	JM		2013	63	bez známé souvislosti
C 5156	HU	JM		2013	78	
C 5158	PO	JM	VII	2013	38	bez známé souvislosti
C 5159	HU	JM		2013	25	
C 5160	HU	JM		2013	30	opakovaný odběr
C 5181	HU	OL		2013	54	
C 5185	HU	OL		2013	15	
C 5189	HU	OL		2013	53	
C 5232	PO	OL	IV	2013	50	
C 5243	PO	JM	VI	2014	1c	
C 5244	PO	JM	II	2014	38	bez známé souvislosti
C 5246	PO	JM	I	2014	4a	
C 5255	PO	JM	VIII	2014	69	
C 5256	PO	JM	IV	2014	19a	
C 5258	HU	LI		2014	44	epidemie
C 5259	HU	LI		2014	44	epidemie
C 5261	PO	JM	VII	2014	10	
C 5262	PO	OL	VII	2014	89	
C 5277	PO	OL	I	2014	64b	
C 5280	HU	OL		2014	70	
C 5281	HU	OL		2014	56	
C 5301	HU	OL		2014	7b	

Vysvětlivky: HU – humánní původ, PO – potravin, OL – Olomoucký kraj, JM – Jihomoravský kraj, LI – Liberecký kraj

Schéma 1
Srovnání dendrogramů vytvořených na základě metod MALDI-TOF MS a PFGE



Porovnání shlukových analýz obou metod ukazuje, že kmeny označené metodou PFGE jako shodné se v dendrogramu MALDI-TOF MS objevují ve stejné podskupině, s výjimkou kmenů z opakovaného odběru jednoho pacienta.

Diskuze

Bakteriální proteom představuje funkční podobu bakteriálního genomu. Měl by lépe odrážet složení, a tedy i vlastnosti bakterií. Identifikace mikroorganismů pomocí MALDI-TOF MS je založena na porovnání známého proteinového spektra uvedeného v referenční databázi software s analyzovaným vzorkem. Různé alelické formy těchto proteinů způsobují změny v detekovaných spektrech. Změny specifických iontů, tzv. „biomarkerů“, jsou pro daný bakteriální druh klonálně specifické. Na tomto principu je založena nová metoda typizace bakterií – fyloproteomická analýza (Mass spectrometry-based phyloproteomics, MSPP [10]). Tento přístup umožnil v minulosti rozlišit např. tyfoidní salmonely od klinicky méně závažných sérotypů *Salmonella enterica* ssp. *enterica*, případně detekovat další sérovary jako *S. Enteritidis*, *Typhimurium*, *Virchow*, *Infantis* nebo *Hadar* [12,13]. Autoři Fagerquist a kol. (2005) demonstrovali, že je možné na základě sledování změn spektra biomarkerů odlišit *C. jejuni* ssp. *jejuni* a *C. jejuni* ssp. *doylei*. Obdobně byla prokázána i možnost odlišení kmenů *C. jejuni* nesoucích specifický gen virulence *ggt* (periplazmatická gamma-glutamyl-transpeptidasa) nebo dva různé MLST sekvenční typy ST22 a ST45 izolátů *C. jejuni* ssp. *jejuni*, příslušníky klonálních komplexů, které jsou dominantní v humánní po-

pulaci a byla u nich prokázána vyšší invazivita či souvislost s rozvojem Guillian-Barré syndromu [15].

Pro zpracování naměřených dat je třeba využít matematické modely. Ty, které jsou standardním vybavením MALDI Biotyper software, sledují jednak přítomnost či absenci jednotlivých píků, ale současně také jejich intenzitu. Tím se ale částečně stávají závislémi na podmínkách kultivace, ať už s ohledem na použité médium, nebo dobu kultivace [10].

Zatímco metoda MLST a makrorestrikční analýza jsou při typizaci kamylobakterů izolovaných v souvislosti s možným epidemickým výskytem běžně používány, využití metody MALDI-TOF MS je v této oblasti ještě málo probádáno. Interpretace výsledků naší studie je nepochybně ovlivněna menším souborem zpracovaných vzorků. Prezentované výsledky však považujeme za pilotní studii, která přináší první dílčí poznatky o možnostech využití technologie MALDI-TOF MS i pro jiné účely, než je vlastní identifikace rodu či druhu. Námí využívaný přístroj Microflex LT je dnes běžným vybavením řady větších laboratoří a univerzitních pracovišť. Výsledky dosahované touto technologií při identifikaci bakterií (včetně kamylobakterů) jsou velmi dobré [16], přesto je třeba vzít do úvahy, že pořízení přístroje představuje velkou finanční investici, kterou by bylo vhodné zúročit širším využitím než jen identifikací bakteriálních kultur. Jedná se např. o identifikaci patogenů přímo z klinického materiálu, testování rezistence k antibiotikům nebo právě zmiňované epidemiologické studie. Využití výše zmíněných molekulárně-biologických technik označovaných jako „zlatý standard“ pro epidemiologickou subtypizaci bakterií většinou předpokládá na pracovišti další samostatnou laboratoř, případně specializovaný personál.

Případ, kdy by bylo možné nahradit tyto techniky metodou MALDI-TOF MS, která by vedle identifikace poskytla i základní subtypizaci pro epidemiologické účely, by znamenal zajímavý diagnostický posun.

Výsledky naší pilotní studie získané metodou MALDI-TOF MS u *C. jejuni* ukázaly u většiny testovaných vzorků jistou korelaci s výstupy shlukové analýzy metodou PFGE. Shoda se však při použití MALDI-TOF MS nepotvrdila u dvou izolátů *C. jejuni*, které byly získány opakovaným odběrem od téhož pacienta. Epidemiologický předpoklad, že se jedná o identický kmen metoda PFGE, na rozdíl od MALDI-TOF MS, potvrdila. Na základě získaných výsledků se domníváme, že je zapotřebí tuto pilotní studii rozšířit na větší soubor vzorků, který by pak bylo možno vyhodnotit více jednoznačně.

Závěr

Z porovnání shlukových analýz testovaných metod (MALDI-TOF MS a PFGE) vyplývá, že kmeny *C. jejuni* označené metodou PFGE jako shodné se v dendrogramu MALDI-TOF MS objevují v jedné podskupině s výjimkou kmenů z opakovaného odběru stejného pacienta.

Naše výsledky ukazují, že identita nebo příbuznost kmenů v souladu se zjištěnými epidemiologickými skutečnostmi se zatím metodou MALDI-TOF MS nepodařilo jednoznačně potvrdit.

Dřívější studie prokázaly, že mnoho faktorů virulence nebo rezistence je specifických pro určité fylogenetické nebo fyloproteomické skupiny bakteriálních kmenů. Fyloproteomická analýza má proto potenciál stát se užitečným nástrojem pro odlišení vysoce virulentních nebo rezistentních mikroorganismů. Zavedení těchto metod do rutinní praxe však musí předcházet další studie zaměřené na detailnější zmapování lokálně specifických referenčních spekter jednotlivých kmenů či vyhledání specifických biomarkerů.

Poděkování

Výsledky byly získány za finanční podpory grantu IGA MZ ČR č. NT/14392 a projektu LO1218 v rámci programu NPU I MŠMT.

Literatura:

- Koláčková I, Karpíšková R. Species level identification of thermotolerant campylobacters. *Vet. Med.-Czech.* 2005;50(12):543–547.
- TESSy The European Surveillance – European centre for disease prevention and control. [cited 2015 Oct 5] Available from: <https://extranet.ecdc.europa.eu> 2015.
- Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Viridi JS. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology.* 2015;6(791);doi:10.3389/fmicb.2015.00791.
- Hrabák J, Chudáčková E, Walková R. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (maldi-tof) mass spectrometry for detection of antibiotic resistance mechanisms: from research to routine diagnosis. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(1):103–114.
- Jadhav S, Gulati V, Fox EM, Karpe A, Beale DJ, Sevier D, Bhawe M, Palombo EA. Rapid identification and source-tracking of *Listeria monocytogenes* using MALDI-TOF mass spectrometry. *Int J Food Microbiol.* 2015;202:1–9.
- Rim JH, Lee Y, Hong SK, Park Y, Kim MS, D Souza R, Park ES, Yong D, Lee K. Insufficient discriminatory power of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry Dendrograms to determine the clonality of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from an intensive care unit. *BioMed Research International.* 2015;535027;doi:10.1155/2015/535027.
- Khenouchi NCEH, Loucif L, Boutefnouchet N, Allag H, Rolain JM. MALDI-TOF MS as a tool to detect a nosocomial outbreak of extended-spectrum-β-lactamase- and ArmA methyltransferase- producing *Enterobacter cloacae* clinical isolates in Algeria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59:6477–6483.
- Carannante A, De Carolis E, Vacca P, Vella A, Vocale C, De Francesco MA, Cusini M, Del Re S, Dal Conte I, Cristaudo A, Ober P, Sanguinetti M, Stefanelli P. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionisation-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for identification and clustering of *Neisseria gonorrhoeae*. *BMC Microbiology.* 2015;15:142;doi:10.1186/s12866-015-0480-y.
- Wilson MK, Lane AB, Law BF, Miller WG, Joens LA, Konkel ME, White BA. Analysis of the pan genome of *Campylobacter jejuni* isolates recovered from poultry by pulsed field gel electrophoresis, multilocus sequence typing (MLST), and repetitive sequence polymerase chain reaction (rep-PCR) reveals different discriminatory capabilities. *Microb. Ecol.* 2009;58:843–855.
- Zautner AE, Masanta WO, Weig M, Gross U, Bader O. Mass spectrometry-based phyloproteomics (MSPP): A novel microbial typing method. *Sci. Rep.* 2015; 5(13431); doi:10.1038/srep13431.
- Ribot EM, Fitzgerald, C, Kubota K, Swaminathan B, Barrett TJ. Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for subtyping of *Campylobacter jejuni*. *J. of Clinical Microb.* 2001;39(5):1889–1894.
- Kuhns M, Zautner AE, Rabsch W, Zimmermann O, Weig M, Bader O, Groß U. Rapid Discrimination of *Salmonella enterica* serovar Typhi from other serovars by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *PLoS ONE.* 2012;7(6):e40004. doi:10.1371/journal.pone.0040004.
- Dieckmann R, Malorny B. Rapid screening of epidemiologically important *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovars by whole-cell matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011;77(12):4136–4146.
- Fagerquist CK, Bates AH, Heath S, King BC, Garbus BR, Harden LA, Miller WG. Sub-speciating *Campylobacter jejuni* by proteomic analysis of its protein biomarkers and their post-translational modifications. *J Proteome Res.* 2006; 5(10):2527–2538.
- Zautner AE, Masanta WO, Tareen AM, Weig M, Lugert R, Groß U, Bader O. Discrimination of multilocus sequence typing-based *Campylobacter jejuni* subgroups by MALDI-TOF mass spectrometry. *BMC Microbiology.* 2013;13:247. doi:10.1186/1471-2180-13-247.
- Bardoň J, Štomerová N. Identifikace bakteriálních původců zoonóz metodou MALDI TOF MS. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství.* 2015;21(2):46–50.

Kandidová vulvovaginitida

L. SVOBODOVÁ, P. LYSKOVÁ, P. HAMAL

Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice, Olomouc

SOUHRN

Svobodová L., Lysková P., Hamal P.: **Kandidová vulvovaginitida**

Vulvovaginální kandidóza je po bakteriální vaginóze celosvětově druhým nejčastějším zánětlivým onemocněním pochvy. Etiologickým agens jsou kvasinkové mikroorganismy, spadající v naprosté většině případů do rodu *Candida*. Během fertilního období se s vulvovaginální kandidózou setká až 75 % žen, přičemž 40 % z nich má zkušenosti s rekurencí. Etiologicky převládá *Candida albicans*, izolovaná téměř v 90 % případů. Léčba kvasinkové infekce spočívá v podání lokálních a/nebo systémových antimykotik a v eliminaci rizikových faktorů, vedoucích k jejímu vzniku.

Klíčová slova: Candida, vaginitida, zánět, antimykotika

SUMMARY

Svobodová L., Lysková P., Hamal P.: **Vulvovaginal candidiasis**

Vulvovaginal candidiasis is the second most common vaginal infection after bacterial vaginosis. It is caused by yeasts, the vast majority of which belong to the genus *Candida*. Vulvovaginal candidiasis affects as many as 75% of women during their childbearing years and 40% of them experience recurrences. The most common etiological agent is *Candida albicans*, which is responsible for nearly 90% of cases. Vulvovaginal candidiasis can be treated with topical and/or systemic antifungals while risk factors for the infection must be eliminated.

Keywords: Candida, vaginitis, inflammation, antifungals

Klin mikrobiol inf lék 2015;21(3):74–81

Adresa: MDDr. Lucie Svobodová, Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc, Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc, e-mail: luciettasv@seznam.cz

Došlo do redakce: 21. 4. 2015

Přijato k tisku: 28. 8. 2015

Úvod

Vulvovaginální kandidóza je celosvětově rozšířené zánětlivé onemocnění pochvy, které zhoršuje kvalitu života mnoha žen. Je způsobena kvasinkovými mikromycetami, jež ve většině případů patří do rodu *Candida*. Rod zahrnuje téměř 200 druhů, z nichž více než 20 může působit jako patogen lidí a zvířat [1]. Absolutně nejčastěji zachyceným původcem je *Candida albicans*. V posledních letech však došlo k významnému nárůstu případů infekcí vyvolaných non-*albicans* druhy, a to hlavně v souvislosti s rekurentní formou kandidové vaginitidy. Tento epidemiologický trend je patrně důsledkem neadekvátní antimykotické léčby (dlouhodobá udržovací terapie, časté užívání antimykotik při léčbě opakujících se epizod kandidózy). Eradikace jinak dobře citlivé *C. albicans* tak vede k selekci rezistentnějších druhů [2].

Epidemiologie

Údaje o incidenci vulvovaginální kandidózy jsou neúplné, jelikož se nejedná o onemocnění podléhající centrální evi-

denční. Sběr dat je ztížen absencí spolehlivých diagnostických metod a také tím, že se mnoho žen vyhýbá návštěvě gynekologické ambulance a své obtíže si léčí pomocí volně prodejných přípravků. Podle dostupných zdrojů se s vulvovaginální kandidózou setká nejméně jedenkrát za život 70–75 % žen, z nichž u 40–50 % dochází k recidivám [3]. Kvasinky jsou druhým nejčastějším etiologickým agens pohlavních infekcí (po původcích bakteriálních vaginóz) a jejich incidence se celosvětově neustále zvyšuje. Jsou však i běžnou součástí fyziologické mikroflóry vaginální sliznice. Jejich bezpříznakové nosičství bylo zjištěno v průměru u 20 % zdravých žen [4]. Změna asymptomatické kolonizace v zánětlivé onemocnění zpravidla vzniká na základě souhry více různých faktorů.

Etiologie

Jak již bylo zmíněno, naprostá většina případů je způsobena *C. albicans*, která se vyskytuje u 85–95 % nemocných [5]. Z non-*albicans* druhů se lze nejčastěji setkat s *Candida glabrata*. Méně často bývají identifikovány *Candida tropicalis*

lis, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, případně *Saccharomyces cerevisiae* [6–8].

Vaginální kandidóza způsobená *C. albicans* se svým klinickým obrazem nijak zásadně neliší od infekcí vyvolaných non-*albicans* druhy. Je však nutné mít na paměti, že non-*albicans* kandidy mohou být méně citlivé vůči antimykotikům, zejména flukonazolu.

Faktory virulence

Aby mohly kvasinky kolonizovat poševní sliznici, což je jedna z podmínek pro rozvoj zánětu, musí mít schopnost adherence k vaginálním epitelialním buňkám. Uvedené mikromycety dokáží rozpoznat a navázat se na receptory hostitelské buňky. Tato vazba je zajištěna povrchovým manoproteinem, dříve označovaným jako adhezín [9]. Míra adherence je variabilní a je ovlivněna hladinou estrogenů a přítomností laktobacilů.

Dalším důležitým krokem je tvorba pseudohyfy. Jedná se o řetězky pučících kvasinkových buněk, které vzdáleně připomínají pravá vlákna (hyfy), tvořená vláknitými houbami. Pro soubor těchto nepravých vláken se pak používá označení pseudomycelium. K jeho formování může dojít vlivem některých exogenních faktorů, např. již zmíněných estrogenů, čímž se z komenzálních mikromycet stává patogen. Poté, co je vytvořeno pseudomycelium, mohou kvasinky invadovat do přilehlé tkáně. Z biochemického hlediska je proces invaze doprovázen produkcí hydrolytických enzymů, jako jsou sekreční aspartátová proteináza a fosfolipáza [10,11]. Předpokládá se, že v patogenезi zánětu hraje významnou roli i tzv. fenotypový switching. Jedná se o schopnost spontánní transformace kvasinkových buněk, s níž jsou spojeny změny některých jejich vlastností a aktivity genů. Díky zmíněnému fenoménu se kvasinky pravděpodobně mohou přizpůsobit rozdílným podmínkám v různých anatomických lokalitách lidského těla [10].

Patogeneze

Vulvovaginální kandidóza má obvykle charakter endogenní infekce. Zdrojem kvasinek bývá v těchto případech většinou perianální prostor, odkud se vzhledem k anatomickým souvislostem vývodů trávicího a urogenitálního traktu dostávají na sliznici vagíny poměrně snadno. Efektivní obranné mechanismy v pochvě udržují kandidy v avirulentní fázi a ty pak zde obvykle v malém počtu dlouhodobě perzistují [12]. Je známo, že mnoho žen má v pochvě přítomny kvasinky v nízkých koncentracích, aniž by měly jakékoliv symptomy vaginitidy; v malých kvantech jsou proto pokládány za součást přirozené slizniční mikroflóry. Změny ve vnitřním prostředí vagíny mohou vést ke zvýšení jejich počtu v poměru k průvodní mikroflóře a indukcii patologického procesu.

Z exogenních zdrojů se kvasinky nejčastěji dostávají na poševní sliznici při pohlavním styku, frekvence jejich přenosu touto cestou však zůstává nejasná.

Obranné mechanismy

Nejdůležitějším mechanismem, zabraňujícím rozvoji kvasinkové infekce, je přirozená poševní mikroflóra. Hlavní ro-

li zde hrají především laktobacily, působící na třech úrovních:

1. jako konkurence v kompetici o živiny;
2. blokádou receptorů epitelialních buněk a zabraňováním adheze blastospor;
3. produkcí peroxidu vodíku a látek, zamezujících tvorbě kvasinkového pseudomycelia [11].

Redukce normální bakteriální mikroflóry může podnítit rozvoj kvasinkové vaginitidy.

Další, rovněž velmi účinnou složkou, je buněčná imunita. U nemocných s infekcí HIV a u pacientek se sníženým počtem T-lymfocytů se orální a vaginální forma kandidózy vyskytuje mnohem častěji než u zdravých žen. Rovněž se předpokládá, že lymfocyty produkovaný interferon- γ může působit preventivně a bránit tvorbě pseudomycelia [13]. Pokles celulární imunity tak může být klíčovým faktorem pro větší náchylnost některých žen k vulvovaginální kandidóze.

V obraně proti mikromycetám se mohou uplatnit i protilátky, zejména sekreční IgA, dále IgM a IgG. Některé ženy s recidivující kandidózou měly zaznamenány vysoké hladiny IgE, což naznačuje možnou přecitlivělost na kvasinkové antigeny, projevující se zánětlivou odpovědí [14].

K dalším obranným mechanismům patří aktivovaný laktoferin s fungistatickým až fungicidním účinkem nebo manózu vázající lektin, schopný aktivovat komplement a inhibovat růst kandid [15,16].

Rizikové faktory

Na rozvoji infekce se podílí celá řada faktorů, z nichž některé vedou pouze k osídlení vaginální sliznice, jiné způsobují změnu asymptomatické kolonizace na manifestní zánět.

Studie, které se zabývaly rasovou náchylností k vaginální kandidóze, a experimenty prováděné na laboratorních zvířatech naznačují, že by mohla existovat genetická dispozice určitých jedinců k tomuto onemocnění [17].

Tabulka 1

Charakteristika nekomplikované a komplikované formy vulvovaginální kandidózy. Zpracováno podle Sobel JD, Faro S, Force RW, Foxman B [2]

Nekomplikovaná forma

- lehký nebo středně těžký průběh onemocnění
- méně než čtyři epizody za rok
- v mikroskopickém obraze pseudohyfy nebo hyfy
- celkově zdravá žena
- postačuje krátkodobá terapie

Komplikovaná forma

- středně těžký nebo těžký průběh onemocnění
- čtyři a více epizod ročně
- v mikroskopickém obraze nálezy pučící buňky
- přítomnost rizikových faktorů (těhotenství, dekompenzovaný DM, imunosuprese, AIDS, gravidita)
- vyžaduje intenzivní léčebný režim

Častým užíváním systémových nebo lokálních antibiotik dochází k narušení ochranné slizniční bariéry, která je tvořena normální bakteriální mikroflórou, a to nejen v pochvě, ale i v zažívacím traktu včetně střeva. Její nejvýznamnější součástí jsou laktobacily, které výše zmíněnými mechanismy inhibují tvorbu pseudomycelárních vláken a chrání tak poševní sliznici před rozvojem kvasinkové infekce. Antibioterapie je údajně příčinou 28–33% vzestupu frekvence vaginální kandidózy a riziko, že k jejímu rozvoji dojde, stoupá s délkou léčby [18,19]. Někteří autoři ale tvrdí, že zvýšení četnosti zmíněné infekce v návaznosti na léčbu antibiotiky bylo zaznamenáno pouze u žen s již dříve prokázanou kolonizací kvasinkami [20].

Navzdory rozporným literárním údajům je obecně přijímán názor, že orální antikoncepce predisponuje ke vzniku rekurentní vulvovaginální kandidózy. Riziko rozvoje infekce může být významnější při užívání orálních kontraceptiv první generace a u kombinovaných přípravků s vyšší hladinou estrogenů [21]. Podle Reeda [22] mají kandidy na svých povrchích receptory pro estrogeny a progesteron, jejichž stimulace může podpořit proliferaci kvasinkových buněk. Zvýšené nosičství kvasinek bylo zaznamenáno i u žen, které používají nitroděložní tělíška, antikoncepční houby, pesary nebo ženské kondomy [23]. Rovněž spermicidní krémy vedou k alteraci vaginální mikroflóry a usnadňují kandidám adherovat k poševnímu epitelu.

V těhotenství vzrůstá produkce pohlavních hormonů, což vede ke zvýšení hladiny glykogenu na poševní sliznici, čímž

je zajištěn zdroj uhlíkatých látek pro kvasinkové mikroorganismy [24]. Onemocnění se objevuje nejčastěji v období od 28. týdne gravidity a jeho léčba bývá zpravidla velmi obtížná.

Vulvovaginální kandidóza je považována za sexuálně přenosnou infekci, a to formou vaginálního i orálního styku. Důkazem je zvyšující se frekvence výskytu kvasinkové kolpidity zejména ve druhé a třetí dekádě života. Podle dostupných literárních údajů je vznik akutní vaginální kandidózy ovlivněn frekvencí pohlavních styků. Zvýšený výskyt byl zaznamenán u žen, které se svým partnerem provozovaly tzv. cunnilingus, a těch, které začaly intimně žít v časném věku [25].

Nekontrolovaný diabetes mellitus (DM) je rovněž považován za predisponující faktor vulvovaginální kandidózy, protože s ním spojená hyperglykemie umožňuje *C. albicans* vázat se na buňky poševního epitelu [26]. Pacientky s diabetem 2. typu jsou podle de Leona a spol. náchylnější ke kolonizaci druhem *C. glabrata* [27]. Pokud je však základní onemocnění kompenzováno a pravidelně monitorováno, je riziko rozvoje kvasinkové infekce minimální. U žen, které trpí opakovaným výskytem vulvovaginální kandidózy, se doporučuje provést glukózový toleranční test za účelem vyloučení diabetu, jelikož v ojedinělých případech může diabetes probíhat bez typických symptomů a právě rekurentní kandidóza může být jediným manifestním příznakem, který prozradí probíhající onemocnění.

Některé ženy také uváděly souvislost mezi exacerbací kvasinkového zánětu a požíváním sladkostí. Studie, která srovnávala rozdíly plazmatických koncentrací mezi souborem pacientek s recidivující kandidózou a kontrolní skupinou naznačila, že strava bohatá na rafinované sacharidy zvyšuje pravděpodobnost onemocnění [28].

Rekurentní forma kandidózy bývá v malém počtu případů spojena s imunodeficitem, jehož příčinou je např. systémový lupus erythematosus, lymfom nebo celková terapie kortikosteroidy. U těchto stavů se zánět může projevit v podobě chronické mukokutánní kandidózy, pouze však u žen s již dříve zaznamenanou slizniční nebo kožní infekcí, např. orofaryngeální, ezofageální nebo onychomykózou [29]. Některé studie zdokumentovaly zvýšenou kolonizaci poševní sliznice kvasinkami a častější výskyt rekurentní formy také u HIV-pozitivních žen, žádná z nich však neprokázala, že by byl průběh infekce u těchto pacientek závažnější [30,31]. Proto je i léčebná strategie vaginální kandidózy, včetně rekurentní, u HIV-pozitivních žen v podstatě stejná jako u ostatních. Z hlediska druhového spektra kvasinek se uvádí, že po delší době léčby AIDS stoupá podíl non-*albicans* kandid a kmenů rezistentních k flukonazolu [12].

Kvasinková kolonizace se údajně může změnit v symptomatickou vaginitidu i v souvislosti s lokální alergií, hypersenzitivní reakcí, atopickou dermatitidou, při nedostatku železa nebo po kontaktu s chemickými látkami [32].

Klinické příznaky a klasifikace vulvovaginální kandidózy

Kvasinková infekce může probíhat s příznaky nebo bez nich. Přibližně 20 % žen má ve stěru z pochvy kultivačně prokázané kvasinky, avšak bez doprovodných klinických symptomů [33]. K nejčastějším subjektivním projevům va-

Tabulka 2
Přehled možných příčin zánětu pochvy
(volně podle Sobel JD [36])

Vaginitida infekční etiologie
Časté příčiny
<ul style="list-style-type: none"> • bakteriální vaginitida (40–50 % případů) • vulvovaginální kandidóza (20–25 % případů) • trichomoniáza (15–20 % případů)
Méně časté příčiny
<ul style="list-style-type: none"> • atrofická vaginitida se sekundární bakteriální infekcí • cizí těleso se sekundární infekcí • ulcerativní vaginitida spojená se <i>Staphylococcus aureus</i> a syndromem toxického šoku • idiopatická vulvovaginální ulcerace v souvislosti s onemocněním HIV • vaginitida způsobená virem herpes simplex a varicella-zoster
Vaginitida neinfekční etiologie
<ul style="list-style-type: none"> • chemická iritace • alergická, hypersenzitivní a kontaktní dermatitida (lichen simplex) • traumatická vaginitida • atrofická vaginitida • dlaždicobuněčná hyperplázie • lichen planus erosiva • Behçetův syndrom • familiární pemfigus, bulózní a jizvící pemfigoid

ginální kandidózy patří pruritus, pálení a bolestivost pochvy, dyspareunie a dysurie.

Při gynekologickém vyšetření bývá zjišťován erytém a edém v oblasti vulvy, který může přecházet až na inguinální a perianální oblast, v okolí erytematózních ložisek mohou být přítomny drobné papulopustuly. Děložní hrdlo je rudé a bolestivé, cervix však bývá beze změn [10]. Při postižení perinea dochází v pokročilých případech až k tvorbě fisur a erozí, doprovázených inguinální lymfadenopatií. U některých žen se může objevit výtok, jehož intenzita a charakter bývá značně variabilní. V literatuře je obvykle popisován jako hojný s charakteristickou tvarohovitou konzistencí, ale u některých pacientek může být jen mírný a vodnatý. Příznaky se typicky zhoršují týden před menstruací, avšak během ní dochází k částečnému zlepšení obtíží.

Podle frekvence opakování lze kandidovou vaginitidu rozdělit na **sporadickou** a **rekurentní**, což má význam zejména z hlediska stanovení vhodné strategie léčby. Rekurentní forma je definována jako čtyři a více symptomatických epizod během 12 měsíců, přičemž její incidence u žen ve fertilním věku se podle literárních údajů pohybuje mezi 5–8 % [34,35].

Dalším možným dělením, od něhož se rovněž odvíjí terapeutický přístup, je klasifikace podle závažnosti. Z tohoto hlediska lze rozlišit **nekomplikovanou** a **komplikovanou** vulvovaginální kandidózu. Rozdíly jsou patrné v *tabulce 1*.

Diagnostika

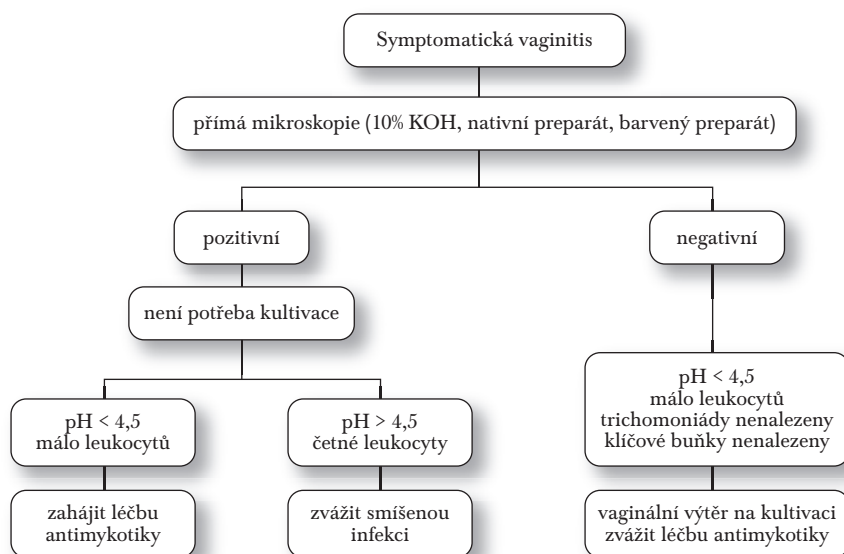
Správná diagnóza by měla být vzhledem k nespecifickým klinickým projevům stanovena na základě odebrání anamnézy a porovnání klinického nálezu s mikroskopickým a kultivačním vyšetřením [12].

Z hlediska klinických příznaků je třeba myslet na to, že svědění a pálení ve vulvovaginální oblasti může být příznakem infekce bakteriální či protozoální etiologie, kožního onemocnění či alergické reakce. V úvahu připadá i nežádoucí působení lokálních kortikoidů, extramamární Pagetova choroba, viry herpes simplex nebo varicella-zoster. Přehled možných příčin vaginitidy je uveden v *tabulce 2*.

Vhodným materiálem k vyšetření je stěr poševního sekretu ze zadní klenby a/nebo z oblasti vulvy, případně vaginální laváž [37]. Za tímto účelem se nejčastěji používají sterilní vatové tampony na plastové tyčince. Vlastní odběr se provádí pomocí poševních zrcadel, která přitom brání možné kontaminaci vzorku kožní flórou. K mikroskopickému vyšetření lze zhotovit nativní preparát ve fyziologickém roztoku nebo 10% KOH, který se obvykle posuzuje přímo v gynekologické ambulanci. Další možností jsou nátěry pro preparáty barvené podle Grama a Giemsky, které se většinou vyhodnocují v mikrobiologické laboratoři. V případě kulti-

Obr. 1

Algoritmus diagnostiky vaginální kandidózy (volně podle Sobel JD [38])



vačního vyšetření je vhodné použít odběrovou soupravu, jejíž součástí je transportní médium, které zabráni vyschnutí odebraného vzorku a zároveň zajistí zachování původního poměru mezi kvasinkami a průvodní bakteriální mikroflórou do doby, než dojde ke zpracování vzorku v mikrobiologické laboratoři. Tyto požadavky splňuje např. polotuhá transportní půda podle Stuarta nebo Amiese. Lze využít i tekuté půdy, např. odběrová souprava C.A.T. (*Candida* and *Trichomonas*) nebo pouze pro kvasinky určené Sabouraudovo médium. Nelze-li půdu se vzorkem okamžitě transportovat do laboratoře, uchovává se při teplotě 4 °C, doba skladování a transportu by neměla přesáhnout 24 hod [38].

Nejrychlejším diagnostickým přístupem je mikroskopické vyšetření za použití louhového preparátu zhotoveného z poševního výtoku, které vykazuje vyšší senzitivitu (65–85 %) než klasický nativní preparát. Většina zástupců rodu *Candida* se v něm může vyskytovat ve dvou mikromorfologických formách. Blastospor (tj. běžné kvasinkové buňky) slouží k šíření a přenosu infekce a většinou bývají spojeny s asymptomatickou kolonizací. Je-li vytvořeno pseudomycelium, mohou kandidy snáze invadovat do přilehlých tkání, což bývá doprovázeno symptomy signalizujícími probíhající kvasinkovou infekci [39]. Pomocí louhového preparátu lze většinou vyloučit bakteriální či trichomonádovou infekci. Při bakteriální vaginóze jsou v něm až v 90 % případů přítomny tzv. klíčové buňky, což jsou epitelie s neostrými okraji, na jejichž povrchu adherují bakterie [36]. V nátěru obarveném podle Grama je možné kvasinky snadno prokázat na základě jejich specifické morfologie. Mikroskopický nálezní v vaginální kandidóze navíc nebývá spojen s přítomností velkého počtu leukocytů, jako je tomu u bakteriální infekce. Infekci způsobenou *Trichomonas vaginalis* lze odlišit na základě pohybu tohoto prvku v nativním preparátu nebo jeho specifické morfologie v nátěru obarveném podle Giemsky.

Kultivace by měla být provedena v případě výskytu klinických příznaků typických pro kvasinkovou infekci, normálního pH poševního sekretu, které u kvasinkové infekce zůstává v rozmezí 3,8–4,5 a současného negativního nálezu

v mikroskopickém preparátu. Další indikací jsou přetrvávající či recidivující symptomy infekce navzdory probíhající léčbě antimykotiky [40]. Dalším pomocným ukazatelem probíhajícího zánětu je pH poševního sekretu, vyšší hodno-

Tabulka 3
Přehled všech látek, registrovaných v ČR, které jsou vhodné k léčbě vaginální kandidózy
Zdroj SÚKL: <http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php>

	Účinná látka	Obchodní název	Léková forma
antimykotika	ekonazol	GYNO-PEVARYL GYNO-PEVARYL COMBIPACK	vaginální čípky + krém
	fentikonazol	LOMEXIN	vaginální tobolky vaginální krém
	flukonazol	APO-FLUCONAZOL DIFLUCAN FLUCONAZOL FORCAN MYCOMAX MYCOSYST MYKOHXAL	perorální kapsle
	itrakonazol	ITRAKONAZOL PROKANAZOL SPORANOX	perorální kapsle
	klotrimazol	CANDIBENE CANDIMAX CANESTEN CANESTEN COMBIPACK CLOTRIMAZOL-AL CLOTRIMAZOL-HBF JENAMAZOL	vaginální tablety vaginální krém
	mikonazol	KLION D	vaginální tablety
	natamycin	PIMAFUCIN	vaginální globule vaginální krém
	nystatin	FUNGICIDIN MACMIROR COMPLEX POLYGYNAX	vaginální tobolky vaginální globule vaginální mast
	ciklopiroxolamin	BATRAFEN DAFNEGIN	vaginální globule vaginální krém
	antiseptika	benzydamin-hydrochlorid	ROSALGIN
nifuratel		MACMIROR	perorální tablety
dekahydrát tetraboritanu sodného		GLOBULUS CUM NATRIO TETRABORICO	vaginální globule
jodovaný povidon		BETADINE	vaginální čípky
antiinfektiva	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i>	FERMALAC VAGINAL	vaginální tobolky
estrogeny v kombinaci s jinými léčivy	<i>L. acidophilus cryodessicatus</i> estriol	GYNOFLOR	vaginální tablety

ty bývají spojeny s bakteriální vaginózou, trichomonádovou, případně smíšenou infekcí [11]. Algoritmus diagnostiky vaginální kandidózy je znázorněn na obr. 1. Kultivačně prokázané kvasinky nemusí být vždy zodpovědné za vaginální symptomy vzhledem k bezpříznakové kolonizaci pochvy u zhruba 10–15 % žen [41]. Při stanovení diagnózy je nutné kromě klinického obrazu, kultivačního a mikroskopického nálezu brát v úvahu také přítomnost rizikových faktorů.

Spolehlivá metoda sérologické detekce kvasinkových antigenů není v rámci diagnostiky kandidové vaginitidy v současné době k dispozici. Průkaz protilátek je sice možný, ale interpretaci výsledků výrazně omezuje fakt, že se kandidy běžně vyskytují na sliznicích jako součást mikroflóry, proto zde nebývá korelace mezi probíhající infekcí a jejich vzestupem. Detekce *Candida* spp. z materiálu z pochvy pomocí PCR zatím není dostupná v podobě diagnostických souprav, a proto ji nelze v rutinní diagnostice vaginálních kandidóz využít [42].

Terapie

K efektivní léčbě vulvovaginální kandidózy je k dispozici široké spektrum léčiv s různými účinnými látkami. Lokální přípravky zahrnují vaginální krémy, masti, globule, tablety a čípky. Nejsou zaznamenány klinicky relevantní rozdíly mezi těmito lékovými formami, navíc by měly být všechny bezpečné a dobře tolerované, proto záleží především na pacientce, kterému preparátu dá přednost. Lékové formy pro systémovou terapii zahrnují perorální kapsle a tablety.

Souhrnný přehled přípravků vhodných k léčbě kvasinkové vaginitidy, které jsou v současné době registrované v České republice Státním ústavem pro kontrolu léčiv, je uveden v tabulce 3. Z dalších lokálních preparátů, zmíněných v literárních zdrojích, lze uvést zejména azolové antimykotika – butokonazol, dostupný např. ve Slovenské republice ve formě vaginálního krému, tiokonazol a terkonazol, jež jsou k dispozici v některých evropských státech v podobě vaginálního krému nebo čípků [43]. Slibnou alternativou orální terapie by mohla být nová generace triazolů, např. albakonazol, u kterého byla experimentálně prokázána dobrá účinnost i proti kandidám rezistentním vůči stávajícím azolovým antimykotikům [44]. Při pokusech na zvířatech byl popsán i jeho déletrvající účinek, což významně redukuje frekvenci podávání.

Akutní symptomatická nekomplikovaná vulvovaginální kandidóza, postihující 90 % žen s kvasinkovým onemocněním pochvy, většinou velmi dobře odpovídá na terapii. Obecně platí, že ke zvládnutí infekce je dostačující krátkodobá léčba, přičemž se doporučuje použít některý z orálních přípravků: flukonazol 150 mg jednorázově nebo itraconazol 200 mg denně po dobu 3 dnů [39,45]. Dlouhý poločas eliminace flukonazolu z plazmy umožňuje u vaginální kandidózy léčbu pouze jedinou dávkou. Naopak poločas odstranění itraconazolu je po jednorázové dávce výrazně kratší (přibližně poloviční), opakovaným podáním však vzrůstá na dvojnásobek, čímž dosáhne hodnot blízkých flukonazolu.

Komplikovaná vaginitida se vyskytuje asi v 10 % případů a její terapie je složitější. Jednou z forem je rekurentní kandidóza, která vyžaduje dlouhodobé podávání antimykotik. V iniciační fázi se ke zvládnutí akutních příznaků doporu-

čuje některý z orálních nebo topických azolů, které se užívají až do úplného vymizení příznaků a negativní kultivace (obvykle 7–14 dní). Následná udržovací léčba, sloužící k zabránění relapsu, by měla trvat nejméně půl roku. Z neúčinnějších postupů lze uvést např. perorální podávání 150 mg flukonazolu jednou týdně po dobu 6 měsíců nebo 500 mg klotrimazolu lokálně ve formě vaginálních tablet či krému [46,39]. Úspěch byl zaznamenán i u sestupného dávkování flukonazolu: první týden 600 mg, poté 2 měsíce 200 mg týdně, 4 měsíce 200 mg jednou za dva týdny a nakonec 100 mg jednou měsíčně po dobu šesti měsíců [47]. I přesto však dochází u 50 % žen k relapsu do 3 měsíců po ukončení terapie [48].

V případech recidivujících a chronických infekcí je další možností zhotovení kvasinkové autovakcíny. Tyto preparáty s imunomodulačním účinkem obsahují směs kandidových antigenů získaných přímo z kmene či kmenů kvasinek způsobujících klinické obtíže. Vyrábějí se ve formě kapek pro orální aplikaci o různé koncentraci a mají minimální vedlejší účinky. Efektivita pasivní imunizace a systémového podání specifických protilátek v prevenci vaginální kandidózy byla zatím experimentálně prokázána pouze u hlodavců [49]. Dále je nutno myslet na eliminaci predispozičních faktorů, jako je kompenzace diabetu nebo omezení příjmu rafinovaných sacharidů. Pro podporu konvenční terapie se doporučují jogurty s živými kulturami nebo antihistaminika, jejich efektivita je však diskutabilní [12].

U gravidních žen připadá v úvahu pouze lokální terapie. Někteří autoři preferují sedmidenní léčbu lokálními azolovými antimykotiky, jiní uvádějí úspěšnost i při jednorázové aplikaci např. 500 mg klotrimazolu intravaginálně. Přestože jsou topické azoly považovány za bezpečné i v prvním trimestru těhotenství, vždy je nutné zajistit, aby riziko léčby a případné vedlejší účinky nepřevážily pozitivní efekt nasazeného antimykotika [46,50]. Proto by terapie měla být vždy indikována a kontrolována gynekologem. Úspěšnost léčby je v graviditě obvykle nižší. Na druhou stranu nemá kolonizace kvasinkami žádný vliv na četnost předčasných porodů ani nepostihuje plod [2].

Vulvovaginální kandidóza způsobená non-*albicans* druhy rezistentními k azolům je vzácná [51]. U žen s potvrzenou diagnózou rekurentní formy poševní infekce, která neodpovídá na terapii azolovými antimykotiky, se doporučuje použít přípravky s kyselinou boritou [52]. V České republice jsou tyto přípravky dostupné v podobě vaginálních kapslí s 600 mg léčivé látky. Užívá se jedna kapsle denně po dobu 14 dnů. Zahraniční autoři doporučují aplikaci vaginálního krému s terkonazolem, jiné zdroje udávají také pozitivní efekt globulí s amfotericinem, případně vaginální krém s flucytosinem [53,45]. Uvedené přípravky však nejsou na českém trhu dostupné.

Některá lokální antimykotika lze zakoupit v lékárnách i bez lékařského předpisu. Tato zdánlivá výhoda ale představuje spíše problém, protože mnoho žen si své obtíže vyhodnotí nesprávně a zbytečně tak dochází k časové prodlevě před stanovením odpovídající diagnózy [54]. Navíc může nadměrné užívání volně prodejných antimykotik vyústit v rezistenci vyvolávajícího kmene nebo v rozvoj alergických reakcí jako je kontaktní dermatitida či chronická vulvitida. Tento problém by mohl být vyřešen zavedením ry-

chlého, jednoduchého a levného testu, schopného detekce kandid v poševním sekretu [12].

Prevence vulvovaginální kandidózy

Pacientkám, které trpí opakovaným výskytem vulvovaginální kandidózy, se doporučuje omezit příjem rafinovaných sacharidů v potravě, přestože vliv diety na výskyt tohoto onemocnění nebyl dosud spolehlivě prokázán [55]. Je také vhodné vyhýbat se koupání v bazénech, nošení syntetického spodního prádla a těsného oblečení a používání dezinfekčních mýdel.

U pacientek s dekompenzovaným DM je nutná úprava hladiny glukózy v krvi na optimální hodnotu a kontrola základního onemocnění [46].

U žen užívajících hormonální antikoncepci je v některých případech nutno podávání přerušit nebo předepsat místo kombinovaných estrogenů přípravky čistě gestagenní.

Pokud je to možné, doporučuje se vysadit imunosupresiva nebo kortikoidy.

U žen s predispozičními faktory a u těch, které měly již v minulosti potvrzenou vulvovaginální kandidózu vzniklou následkem antibioterapie, doporučují někteří lékaři profylaktické podání jedné dávky 150 mg flukonazolu p.o. při zahájení a na konci léčby antibiotiky [2]. Kvasinky se mohou vyskytovat i jako součást normální poševní mikroflóry, a proto se terapie asymptomatické vaginální kolonizace běžně nedoporučuje.

Z hlediska další možné prevence se do budoucna jeví jako perspektivní lokální aplikace rekombinantního manózu vázajícího lektinu nebo intravaginální zavádění laktobacilů. Princip spočívá v tom, že exogenně podané laktobacily mají schopnost adsorpce k epiteliálnímu buňkám, a nichž mohou přetrvávat a následně produkovat protektivní faktory proti kandidám. Jejich dalším ochranným mechanismem je navození tzv. koagregačního procesu, kterým blokuji epiteliální receptory pro blastosporu, a tím zabraňují uchycení kvasinek na poševní epitel [11]. Zatím není zcela jasné, nakolik je preventivní užívání probiotik a podávání laktobacilů prospěšné. Výsledky studií zabývajících se touto problematikou jsou stále kontroverzní [56,57]. Probiotika, obsahující *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 a *Lactobacillus fermentum* RC-14, mohou být i díky svým minimálním vedlejším účinkům považovány za přípravky s možným preventivním působením zejména u žen, které trpí častými epizodami vulvovaginální kandidózy a u nichž je antimykotická terapie např. z důvodu přecitlivělosti na účinnou látku kontraindikována [57]. Teprve výsledky dalších experimentálních studií napoví, zda se jednou probiotika budou moci stát účinnou součástí prevence kvasinkové vulvovaginity.

Práce byla podpořena vnitřním grantem IGA_LF_2015_035.

Literatura

- Segal E. *Candida*, still number one – What do we know and where are we going from there? *Mycoses*. 2005;48(Suppl 1):3–11.
- Sobel JD, Faro S, Force RW, et al. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;178(2):203–211.

- Hurley R, De Louvois J. *Candida* vaginitis. *Postgrad Med J*. 1979;55(647):645–647.
- Odds F. Candidosis of the genitalia. In: Odds F. *Candida* and candidosis, a review and bibliography. 2. vyd. London: Baillière Tindall; 1988. s. 124.
- Landers DV, Wiesenfeld HC, Heine RP, Krohn MA, Hillier SL. Predictive value of the clinical diagnosis of lower genital tract infection in women. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;190(4):1004–1010.
- Spinillo A, Capuzzo E, Egbe TO, et al. *Torulopsis glabrata* vaginitis. *Obstet Gynecol*. 1995;85(6):993–998.
- Horowitz BJ, Giaquinta D, Ito S. Evolving pathogens in vulvovaginal candidiasis: implications for patient care. *J Clin Pharmacol*. 1992;32(3):248–255.
- Ventolini G, Baggish MS. Recurrent vulvovaginal candidiasis. *Clinical Microbiology Newsletter*. 2006;28(12):93–95.
- Douglas LJ. Adhesion of *Candida* species to epithelial surfaces. *Crit Rev Microbiol*. 1987;15(1):27–43.
- Košfálová M. Vaginální kandidóza. *Dermatol praxi*. 2012;6(2):81–83.
- Ferrer J. Vaginal candidosis: epidemiological and etiological factors. *Int J Gynaecol Obstet*. 2000;71(Suppl 1):21–27.
- Hamal P. Vulvovaginální kandidózy. *I-med*. 2013;3:1–23. Dostupné na www: <http://www.i-med.sk/moodle/course/view.php?id=1922>.
- Morton RS, Rashid S. Candidal vaginitis: natural history, predisposing factors and prevention. *Proc R Soc Med*. 1977;70(Suppl 4):3–12.
- Mathur S, Goust JM, Horger EO. Immunoglobulin E anti-*Candida* antibodies and candidiasis. *Infect Immun*. 1977;18(1):257–261.
- Ip WK, Lau YL. Role of mannose-binding lectin in the innate defense against *Candida albicans*: enhancement of complement activation, but lack of opsonic function, in phagocytosis by human dendritic cells. *J Infect Dis*. 2004;190(3):632–640.
- Naidu AS, Chen J, Martinez C, et al. Activated lactoferrin's ability to inhibit *Candida* growth and block yeast adhesion to the vaginal epithelial monolayer. *J Reprod Med*. 2004;49(11):859–866.
- Geiger AM, Foxman B. Risk factors for vulvovaginal candidiasis: a case-control study among university students. *Epidemiology*. 1996;7(2):182–187.
- Spinillo A, Capuzzo E, Acciano S, De Santolo A, Zara F. Effect of antibiotic use on the prevalence of symptomatic vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180(1):14–17.
- Pirotta MV, Gunn JM, Chondros P. „Not thrush again!“ Women's experience of post-antibiotic vulvovaginitis. *Med J Aust*. 2003;179(1):43–46.
- Pirotta MV, Garland SM. Genital *Candida* species detected in samples from women in Melbourne, Australia, before and after treatment with antibiotics. *J Clin Microbiol*. 2006;44(9):3213–3217.
- Barbone F, Austin H, Louw WC, Mexander WJ. A follow-up study of methods of contraception, sexual activity, and rates of trichomoniasis, candidiasis, and bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1990;163(2):510–514.
- Reed B. Risk factors for *Candida* vulvovaginitis. *Obstet Gynecol Surv*. 1992;47(8):551–560.
- Demirezen S, Dirlik OO, Beksac MS. The association of *Candida* infection with intrauterine contraceptive device. *Cent Eur J Public Health*. 2005;13(1):32–34.
- Dennerstein GJ, Ellis DH. Oestrogen, glycogen and vaginal candidiasis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2001;41(3):326–328.
- Reed BD, Zazove P, Pierson CL, Gorenflo DW, Horrocks J. *Candida* transmission and sexual behaviors as risks for a repeat episode of *Candida vulvovaginitis*. *J Women's Health (Larchmt)*. 2003;12(10):979–989.
- Bohannon NJ. Treatment of vulvovaginal candidiasis in patients with diabetes. *Diabetes Care*. 1998;21(3):451–456.
- de Leon EM, Jacober SJ, Sobel JD, Foxman B. Prevalence and risk factors for vaginal *Candida* colonization in women with type 1 and type 2 diabetes. *BMC Infect Dis*. 2002;2:1.
- Donders GG, Prenen H, Verbeke G, Reybrouck R. Impaired tolerance for glucose in women with recurrent vaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;187(4):989–993.
- Sobel JD. Pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Curr Infect Dis Rep*. 2002;4(6):514–519.
- Duerr A, Heilig CM, Meikle SF, et al. Incident and persistent vulvovaginal candidiasis among human immunodeficiency virus-infected women: Risk factors and severity. *Obstet Gynecol*. 2003;101(3):548–556.
- Ohmit SE, Sobel JD, Schuman P, et al. A longitudinal study of mucosal *Candida* colonization and candidiasis among HIV-seropositive and at risk HIV-seronegative women. *J Infect Dis*. 2003;188(1):118–127.
- Neves NA, Carvalho LP, De Oliveira MA, et al. Association between atopy and recurrent vaginal candidiasis. *Clin Exp Immunol*. 2005;142(1):167–171.
- Sobel JD. Genital candidiasis. *Medicine*. 2010;38(6):286–290.
- Sobel JD. Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol*. 1985;152(7):924–935.
- Foxman B, Marsh JV, Gillespie B, Sobel JD. Frequency and response to vaginal symptoms among white and African American women: Results of a random digit dialing survey. *J Women's Health*. 1998;7(9):1167–1174.
- Sobel JD. Vaginitis. *N Engl J Med*. 1997;337(26):1896–1903.
- Novikova N, Rodrigues A, Márdh PA. Can the diagnosis of recurrent vulvovaginal candidiasis be improved by use of vaginal lavage samples and cultures on chromogenic agar? *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2002;10(2):89–92.

38. Buchta V. Mikrobiologické diagnostické metody. In: Špaček J, Buchta V, Jílek P (eds). Vulvovaginální dyskomfort a poruchy poševního prostředí. 1. vyd. Praha: Grada Publishing; 2013. s. 113–139.
39. Sobel JD. Vulvovaginal candidosis. *Lancet*. 2007;369(9577):1961–1971.
40. Ringdahl EN. Treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am Fam Physician*. 2000 June 1;61(11):3306–3312.
41. Goldacre MJ, Watt B, Loudon N, et al. Vaginal microbial flora in normal young women. *BMJ*. 1979;1(6176):1450–1455.
42. Trama JP, Adelson ME, Raphaelli I, Stemmer SM, Mordechai E. Detection of *Candida* species in vaginal samples in a clinical laboratory setting. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2005;13(2):63–67.
43. Reef SE, Levine WC, McNeil MM, et al. Treatment options for vulvovaginal candidiasis, 1993. *Clin Infect Dis*. 1995;20(Suppl 1):80–90.
44. González GM, Robledo E, González EG, Elizondo M, Gonzáles JG. Efficacy of albaconazole against *Candida albicans* in a vaginitis model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(10):4540–4541.
45. Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, et al. Guidelines for treatment of candidiasis. *Clin Infect Dis*. 2004;38(2):161–189.
46. Horák P. Vulvovaginální kandidóza, farmakoterapie a prevence. *Praktické lékařství*. 2011;7(2):80–84.
47. Donders G, Bellen G, Byttebier G, et al. Individualized decreasing-dose maintenance fluconazole regimen for recurrent vulvovaginal candidiasis (ReCiDiF trial). *Am J Obstet Gynecol*. 2008;199(6):613 e1–e9.
48. Sobel JD, Wiesenfeld HC, Martens M, et al. Maintenance fluconazole therapy for recurrent vulvovaginal candidiasis. *N Engl J Med*. 2004;351(9):876–883.
49. Pietrella D, Rachini A, Torosantucci A, et al. A β -glucan-conjugate vaccine and anti- β -glucan antibodies are effective against murine vaginal candidiasis as assessed by a novel *in vivo* imaging technique. *Vaccine*. 2010;28(7):1717–1725.
50. Špaček J, Buchta V, Jílek P, Förstl M. Clinical aspects and luteal phase assessment in patients with recurrent vulvovaginal candidiasis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2007;131(2):198–202.
51. Bauters TG, Dhont MA, Temmerman MI, Nelis HJ. Prevalence of vulvovaginal candidiasis and susceptibility to fluconazole in women. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;187(3):569–574.
52. Guaschino S, De Seta F, Sartore A, et al. Efficacy of maintenance therapy with topical boric acid in comparison with oral itraconazole in the treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;184(4):598–602.
53. Phillips AJ. Treatment of non-*albicans* *Candida* vaginitis with amphotericin B vaginal suppositories. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;192(6):2009–2013.
54. Ferris DG, Nyirjesy P, Sobel JD, et al. Over-the-counter antifungal drug misuse associated with patient-diagnosed vulvovaginal candidiasis. *Obstet Gynecol*. 2002;99(3):419–425.
55. Nabhan A. Vulvovaginal candidiasis. *ASJOG*. 2006;3(2):73–79.
56. Jeavons HS. Prevention and treatment of vulvovaginal candidiasis using exogenous *Lactobacillus*. *JOGNN*. 2003;32(3):287–296.
57. Falagas ME, Betsi GI, Athanasiou S. Probiotics for prevention of recurrent vulvovaginal candidiasis: a review. *J Antimicrob Chemother*. 2006;58(2):266–272.

Standardní diagnostický a terapeutický postup u chronické infekce virem hepatitidy C (HCV)

Pracovní skupina pro virové hepatitidy České hepatologické společnosti České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně, Pracovní skupina pro virové hepatitidy Společnosti infekčního lékařství České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně

P. URBÁNEK¹, P. HUSA², J. ŠPERL³, S. FRAŇKOVÁ³, S. PLÍŠEK⁴,
L. ROŽNOVSKÝ⁵, P. KÜMPEL⁶

¹Interní klinika 1. lékařské fakulty UK a ÚVN, Praha, ²Klinika infekčních chorob Lékařské fakulty, MU a FN Brno,

³Klinika hepatogastroenterologie, IKEM Praha, ⁴Klinika infekčních nemocí, LF UK a FN Hradec Králové,

⁵Klinika infekčního lékařství, FN Ostrava, ⁶Infekční oddělení Slezské nemocnice Opava

Preambule

Níže uvedená doporučení pro diagnostiku a terapii infekce virem hepatitidy C byla vytvořena členy pracovních skupin pro virové hepatitidy České hepatologické společnosti ČLS JEP a Společnosti infekčního lékařství ČLS JEP. Jsou založena především na doporučeních vydaných Evropskou asociací pro studium jater (EASL) v dubnu 2015. Doporučení definují preferovaný přístup k řešení problematiky HCV infekce. V oblasti léčby chronické HCV infekce je vždy zmíněno několik variant postupu. Tato skutečnost je dána rychlým vývojem nových protivirových preparátů a jejich nerovnoměrným zaváděním do rutinní praxe v jednotlivých zemích. Dostupnost preparátů proto může být v konkrétním případě faktorem limitujícím užití optimálního postupu.

Maximální možné dodržování odborných doporučení je podmínkou dosažení efektivní péče o nemocné s virovou hepatitidou C v celostátním měřítku. Předkládaný dokument je oporou při jednání obou odborných společností se státními orgány a s plátcí zdravotní péče.

1 Epidemiologie HCV

Celosvětová prevalence infekce HCV se pohybuje v běžné populaci kolem 3 %. V roce 2001 bylo pomocí sérologického přehledu zjištěno, že prevalence protilátek anti-HCV v běžné populaci ČR je 0,2 %. HCV infekce je nejčastější příčinou jaterních onemocnění ve vyspělých zemích světa.

Infekce virem hepatitidy C patří mezi krví přenosné infekce. Hlavními cestami šíření HCV infekce jsou:

- přenos krevními deriváty,
- injekční aplikace drog,
- tetování a piercing neprováděné za aseptických podmínek (zejména amatérsky),
- pravidelné dialyzační léčení (PDL),
- profesionální riziko expozice HCV,
- sexuální kontakt s osobou HCV pozitivní (častější mezi muži, kteří mají styk s muži),
- rodinný kontakt s osobou HCV pozitivní,

- vertikální přenos z HCV pozitivní matky na novorozence (perinatální přenos),
- iatrogenní přenos,
- přenos orgánovým štěpem před rokem 1992.

Od zahájení rutinního testování krevních dárců na přítomnost infekce HCV (v roce 1992) je hlavní cestou šíření infekce sdílení infikovaných nástrojů při injekční aplikaci drog.

1.1 Prevence přenosu HCV

HCV pozitivní osoba musí být poučena jak zabránit přenosu HCV na další osoby, zejména:

- HCV pozitivní osoba nesmí darovat krev, krevní deriváty, orgány, tkáně či sperma.
- HCV pozitivní osoba by si měla řádně ošetřit každou otevřenou ránu tak, aby nedošlo k jakékoliv expozici jiné osoby infikovanou krví.
- HCV pozitivní injekční uživatelé drog by měli být zařazeni do programu kontrolované výměny injekčního instrumentaria a všech dalších potřeb, pokud nejsou indikováni k odvykací léčbě.
- HCV pozitivní osoba by měla být poučena, že riziko přenosu HCV sexuální cestou je malé a infekce sama o sobě není indikací k používání bariérové antikoncepce v dlouhodobém monogamním vztahu. Doporučení použití bariérové antikoncepce při náhodném sexu není tím dotčeno. Metody bezpečného sexu jsou dostatečnou prevencí přenosu.
- HCV pozitivní osoba by měla bránit i náhodnému použití svého zubního kartáčku, holicích potřeb ap. další osobou.

2 Přirozený průběh HCV infekce

Studie o přirozeném průběhu HCV infekce ukazují, že 55–85 % pacientů, kteří se infikují virem hepatitidy C, není schopno přirozeným způsobem virus eliminovat a infekce u nich tudíž přejde do chronického stadia. U 5–20 % osob z tohoto počtu dojde během 20–25 let k rozvoji jaterní cir-

hózy. Osoby s jaterní cirhózou při chronické HCV infekci mají riziko rozvoje end-stage-liver disease (cca 30 % během 10 let) a riziko vzniku hepatocelulárního karcinomu (HCC, 1–2 % ročně). Faktory asociované s progresí jaterního postižení při chronické HCV infekci jsou:

1. přenos infekce ve vyšším věku (riziko narůstá po 40.–45. roce věku),
2. konzumace alkoholu ≥ 50 g denně,
3. obezita a jaterní steatóza z jakéhokoliv jiného důvodu,
4. koinfekce HCV/HBV a HCV/HIV,
5. vyšší stupeň jaterního postižení nežli portální fibróza v iniciální jaterní biopsii (METAVIR ≥ 2 a Ishak ≥ 3).

Chronická HCV infekce je rovněž asociována s celou řadou tzv. extrahepatálních manifestací. Nejdůležitějším stavem z této skupiny je smíšená kryoglobulinémie. Symptomatická smíšená kryoglobulinémie je indikací k protivirové léčbě bez ohledu na stupeň jaterního postižení.

3 Laboratorní vyšetřovací metody

3.1 Sérologické detekční metody

Jedná se sérologickou detekci anti-HCV protilátek. Protilátky jsou markerem expozice – kontaktu dané osoby s virem hepatitidy C. Protilátky anti-HCV nemají neutralizační efekt, nejsou nositelem imunity organismu. Přetrvávají ve značném titru i u pacientů úspěšně vyléčených. Technicky se jedná o detekci protilátek metodou EIA či některých jejích variant. V současné době se používají metody III. generace, které mají senzitivitu 97 % a specifitu až 99 %.

Pro skrínigová stanovení anti-HCV lze nově využít i rychlé diagnostické testy. Tyto testy stanovují anti-HCV v různých tělních tekutinách, např. v séru, plazmě, kapilární krvi. Jsou dostupné testy i pro stanovení anti-HCV ve slinách. Všechny tyto rychlé diagnostické testy lze použít bez nutnosti odběru venózní krve a jejího dalšího zpracování. Další výhodou je jejich jednoduchost, proveditelnost při pokojové teplotě bez nutnosti speciálního vybavení, není třeba ani složitá výuka personálu, který s daným testem zachází.

3.2 Molekulárně genetické metody

Molekulárně genetické metody prokazují přítomnost virové nukleové kyseliny (HCV RNA) v séru či tkáních infikovaného jedince. Největšího rozšíření v současné době dosáhla metoda polymerázové řetězové reakce v reálném čase (RT-PCR). Dostupná je kvalitativní varianta, většinou se však používá ve variantě kvantitativní. Koncentrace HCV RNA se udává v IU/ml.

Za standardní detekční limit je považována citlivost použité techniky (polymerázové řetězové reakce) 15 IU/ml HCV RNA a méně. Protože řada laboratoří používá metody na stanovení HCV RNA, jejichž citlivost nedosahuje požadovaného standardního detekčního limitu, je třeba, aby lékař zadávající vyšetření v souvislosti s hodnocením terapie dle těchto standardních postupů požadoval na laboratoři informaci, že citlivost jejich stanovení splňuje uvedený limit.

Součástí molekulárního vyšetření by mělo být i stanovení genotypu a subtypu HCV. Genotypizace je důležitá z pohle-

du rozdílných léčebných postupů a rozdílné účinnosti léčby u jednotlivých genotypů HCV. Určení subtypu, zejména genotypu 1, je významné pro určení rizika vzniku virologické rezistence v případě podání simepreviru (viz dále).

4 Skrínig HCV infekce

Velká část osob infikovaných HCV v tuto chvíli vůbec neví, že by mohla být infikována. Identifikace infikovaných osob je přitom jednou ze základních podmínek efektivní péče o toto onemocnění. V České republice nejsou k dispozici data, která by mohla odůvodnit uskutečnění populačního skrínigu HCV infekce. Jedinou možností, jak efektivního skrínigu dosáhnout, je plná informovanost lékařů primární péče (praktičtí lékaři, gynekologové, porodníci) a specialistů, kteří se podílejí na péči o pacienty ve vysoce rizikových skupinách.

Skrínigovým vyšetřením HCV infekce je vyšetření anti-HCV protilátek. Reaktivita anti-HCV by měla být vyšetřena u všech osob, u kterých je podezření, že byly někdy v průběhu života exponovány některému z rizikových faktorů přenosu HCV. Na základě znalostí o možnostech přenosu je doporučováno testování HCV infekce zejména u těchto skupin osob:

- osoby s anamnézou injekční aplikace drog, a to i v případě jediné aplikace před více lety,
- osoby ve skupinách s vysokou prevalencí HCV infekce,
 - příjemci krevních derivátů či příjemci orgánových transplantátů před rokem 1992,
 - HIV pozitivní osoby,
 - hemofilici léčení před rokem 1987,
 - osoby s anamnézou hemodialýzy (i akutní a krátkodobé),
 - osoby s nevysvětlitelnou elevací aminotransferáz,
- děti narozené HCV pozitivním matkám (testování až po 18. měsíci věku),
- zdravotničtí pracovníci a další osoby s anamnézou poranění injekční jehlou (bez ohledu na sérologický stav, event. zdroje) nebo osoby se slizniční expozicí krvi HCV pozitivní osoby,
- sexuální partneři HCV pozitivní osoby,
- osoby vystavené invazivním lékařským zákrokům, osoby s anamnézou komplikovaného chirurgického výkonu nebo osoby s anamnézou dlouhodobější hospitalizace (rizika iatrogenního přenosu).

Je-li vyšetřovaná osoba anti-HCV pozitivní, není jakákoliv indikace k opakování vyšetření kdykoliv v budoucnosti. Sérologická pozitivita anti-HCV nekoreluje se žádnou z charakteristik onemocnění (s pokročilostí jaterního postižení, s pravděpodobností dosažení vyléčení apod.). Každá anti-HCV pozitivní osoba musí být vyšetřena specialistou.

5 Diagnostická kritéria

5.1 Akutní HCV infekce

Akutní HCV infekce je diagnostikována velmi vzácně pro častou absenci klinických příznaků v akutním stadiu HCV infekce.

Spolehlivě lze stanovit diagnózu akutní HCV infekce pouze tehdy, je-li dokumentována sérokonverze na anti-HCV reaktivitu. Příčinou je skutečnost, že neexistuje serologický marker akutní infekce HCV. O akutní HCV infekci lze také hovořit v případech, kdy jsou klinické příznaky v souladu s obrazem akutní hepatitidy. Jde především o tyto příznaky:

- sérová aktivita ALT > 10× horní hranice normy,
- ikterus,
- nejsou známky chronického jaterního onemocnění nebo jiné možné příčiny akutní hepatitidy.

Pozitivním momentem může být i identifikace možného rizikového faktoru přenosu infekce HCV. Ve fázi akutní infekce je pozitivní HCV RNA v krvi, nicméně během akutní fáze infekce byla popsána krátká období negativity HCV RNA v krvi. Jedno negativní vyšetření HCV RNA diagnózu HCV infekce nevyklučuje a také nemusí znamenat v konkrétním případě spontánní eliminaci viru. Stanovení HCV RNA je třeba opakovat. Vhodný interval mezi vyšetřeními HCV RNA k potvrzení eliminace viru je 12 týdnů.

5.2 Chronická HCV infekce

Diagnóza chronické HCV infekce je založena na pozitivním průkazu HCV RNA v krvi i anti-HCV protilátek v přítomnosti známek chronické hepatitidy, tj. elevaci sérové aktivity ALT nebo histologických známek chronické hepatitidy. V případech akutní HCV infekce prakticky nedochází k eliminaci viru po více než 4–6 měsících od přenosu, proto může být pro definici chronické HCV infekce užito i tento časový parametr.

5.3 Hodnocení léčebné odpovědi

Terminologii pro hodnocení virologické odpovědi uvádí tabulka 1.

6 Vyšetření před zahájením protivirové léčby

Před zahájením protivirové léčby by měla být stanovena pokročilost jaterního onemocnění. Důvodem je především snaha identifikovat osoby s jaterní cirhózou či pokročilou (přemostující) fibrózou, protože prognóza osob po protivirové léčbě je definována stadiem poškození jater před zahájením léčby. I pacienti s trvale normální aktivitou ALT mohou mít významnou fibrózu, i u těchto osob je proto indikováno vyšetření pokročilosti jaterního poškození. Znalost stadia jaterního poškození je rovněž důležitá pro načasování zahájení protivirové léčby. Tento moment se jeví v současné době rychlého rozvoje možností léčby jako velmi důležitý. Stejně tak před zahájením léčby musí být vyšetřeny vstupní virologické parametry, které mají vztah k volbě protivirové léčby.

6.1 Jiné příčiny jaterního onemocnění

U každého pacienta s chronickou HCV infekcí by měla být provedena vyšetření, která umožňují odhalit jiná jaterní onemocnění nebo faktory ovlivňující vývoj HCV infekce. Jedná se zejména o:

- vyšetření sérologie HBV a HIV (HBsAg, anti-HBs, anti-HBc, anti-HIV1 a anti-HIV2),
- posouzení vlivu příjmu alkoholu,
- základní vyšetření jaterních autoimunitních onemocnění,
- vyšetření možného podílu genetických a metabolických jaterních onemocnění (hereditární hemochromatóza, diabetes, nealkoholická steatohepatitida),
- posouzení možné hepatotoxicity současně podávaných léků.

6.2 Stanovení pokročilosti jaterního poškození

Před protivirovou léčbou by měl být stanoven stupeň pokročilosti jaterního poškození, tj. stupeň jaterní fibrózy (*stage*). Zvláštní důležitost má identifikace pacientů s jaterní cirhózou nebo přemostující fibrózou, protože jejich dlouho-

Tabulka 1
Definice virologické odpovědi v průběhu protivirové terapie a po jejím skončení

Rezistence, null response (NR)	Pokles HCV RNA ve 12. týdnu léčby o < 2log ₁₀ proti výchozím hodnotám.
Relaps	Znovuobjevení se HCV RNA v krvi po skončení terapie.
Breakthrough (fenomén průlomu)	Během léčby, po dosažení virologické odpovědi, dojde ke znovuobjevení HCV RNA v krvi.
Částečná odpověď	Ve 12. týdnu léčby je HCV RNA detekovatelná, ale proti výchozím hodnotám je ve 12. týdnu pokles HCV RNA > 2log. Ve 24. týdnu léčby je HCV RNA i nadále detekovatelná.
Virologická odpověď na konci léčby (ETVR)	Nedetekovatelná HCV RNA v krvi metodou PCR s detekčním limitem < 15 IU/ml v okamžiku ukončení protivirové léčby.
Setrvalá virologická odpověď (SVR)	Negativní HCV RNA v krvi metodou PCR s detekčním limitem < 15 IU/ml ve 12. (SVR12) nebo ve 24. týdnu po skončení terapie (SVR24).

SVR12 i SVR24 jsou akceptovaná kritéria vyléčení HCV infekce, jejich shoda je kolem 99 %. Dlouhodobé studie rovněž ukázaly, že SVR skutečně znamená trvalou eliminaci HCV infekce ve více než 99 % případů.

dobá prognóza po skončení léčby je dána právě tímto výchozím stupněm postižení. Pacienti s jaterní cirhózou jsou i po úspěšné protivirové léčbě indikováni k doživotní dispenzarizaci a surveillanci HCC. Průkaz absence fibrózy je však také důležitý, a to především z pohledu urgencye a načasování protivirové léčby s ohledem na rychle se měnící možnosti léčby. U pacientů s klinicky jasnou jaterní cirhózou není třeba verifikovat stupeň fibrózy. Normální hladiny ALT nevyklučují přítomnost významné jaterní fibrózy.

Referenční metodou pro stanovení pokročilosti onemocnění byla po mnoho let jaterní biopsie. Umožňuje hodnocení zánětlivé aktivity (grading) i stupně fibrózy (staging). V současné době již lze na základě mnoha publikovaných výsledků a studií přijmout jako alternativu provedení jaterní biopsie některou z metod neinvazivního stanovení stupně jaterní fibrózy. Nejširšího uplatnění na tomto poli dosáhly metody měření jaterní elasticity, které mají v případech chronické HCV infekce akceptovatelnou výpovědní hodnotu. Je nicméně třeba určitě zkušenosti při jejich použití, existuje řada faktorů, které mohou jejich výsledky negativně ovlivnit, např. obezita.

Ke stanovení pokročilosti lze užít i některé tzv. krevní biomarkery jaterní fibrózy. Tato vyšetření jsou však spolehlivá pouze v diskriminaci jaterní cirhóza vs. non-cirhóza. K hodnocení jednotlivých stadií jaterní fibrózy se nehodí.

Kombinace vyšetření jaterní elasticity a krevních biomarkerů jaterní fibrózy zvyšuje přesnost hodnocení pokročilosti jaterního procesu.

6.3 Virologické parametry

Před zahájením protivirové léčby by měly být vyšetřeny tyto parametry:

- virémie – kvantitativní stanovení HCV RNA v krvi v IU/ml,
- genotyp a subtyp viru.

Testování rezistenčních variant (RAV) HCV před první protivirovou léčbou není indikováno. Detekce rezistenčních variant přítomných před první terapií nemá větší klinický význam a tzv. populační sekvenace není dostatečně citlivá technika pro tento účel. Jedinou výjimku může tvořit snaha o detekci RAV Q80K oblasti NS3 genotypu HCV 1a ve vztahu k léčbě založené na simepreviru.

6.4 Vyšetření genetických parametrů hostitele

Určování genotypu *IL28B* ztratilo při používání vysoce účinných kombinací perorální virostatik svůj význam. Genotypizace *IL28B* je proto užitečná pouze tehdy, je-li jedinou dostupnou variantou léčby kombinace PEG-IFN + RBV, nebo tehdy, je-li třeba zvolit nákladově efektivní variantu léčby v zemích s limitovanými léčebnými i ekonomickými možnostmi.

6.5 Registrovaná virostatika

Podle dosavadních znalostí neexistují žádné absolutní kontraindikace podání jakéhokoliv přímo působícího virostatika registrovaného v EU k dubnu 2015. Otázky podání jednotlivých kombinací u pacientů s určitým stupněm renální insuficience jsou v současné době řešeny samostatnými klinickými studiemi. Stejně je řešena i otázka léčby pacientů s dekompenzovanou jaterní cirhózou.

7 Indikace zahájení terapie chronické HCV infekce

Všichni pacienti s chronickou HCV infekcí dosud protivirově neléčení, v minulosti léčení neúspěšně (tj. bez dosažení SVR), kteří léčení chtějí být a nemají žádnou kontraindikaci léčby, jsou kandidáty protivirové terapie. Léčba by měla být upřednostněna u pacientů s pokročilou fibrózou (METAVIR F3-F4) a u pacientů s projevy mimojaterního postižení (symptomatická kryoglobulinémie nebo HCV-asociovaná imunokomplexová nefropatie, HCV-asociované non-Hodgkinské lymfomy). U pacientů s projevy mimojaterního postižení by léčba měla být vedena bez ohledu na stupeň jaterní fibrózy. Přednostní léčba je indikována i u pacientů, kteří představují významné epidemiologické riziko šíření HCV infekce.

Léčba by dále měla být přednostně poskytnuta pacientům s dekompenzovanou jaterní cirhózou. Tato skupina osob má velmi často kontraindikace léčby založené na podání IFN, ale může být naopak bezpečně a vysoce účinně léčena kombinací perorálních virostatik. Data z klinických studií i reálné praxe podporují závěry, že právě tato skupina pacientů má největší krátkodobý přínos z úspěšné léčby HCV infekce. Tento spočívá v poklesu MELD skóre, Child-Pugh klasifikace a významně je i snížení incidence všech nežádoucích událostí, jako je například dekompenzace onemocnění, rozvoj hepatocelulárního karcinomu apod. Léčba těchto pokročilých pacientů by měla být vedena ve specializovaných centrech s rozsáhlými zkušenostmi s léčbou pomocí perorálních virostatik. Mezi další skupiny osob s HCV infekcí, u kterých je přednostní indikace zahájení moderními variantami léčby, patří osoby s HIV a HBV koinfekcí, pacienti PŘED transplantací jater a PO transplantaci jater.

Léčba je indikována také u pacientů se středně pokročilou fibrózou (METAVIR F2). Léčba pacientů s minimální fibrózou (METAVIR F0-F1) může být odložena. Odložení léčby by nicméně mělo být s pacientem diskutováno a finální rozhodnutí by mělo jeho názor zohlednit. Pacienti s odloženou léčbou by měli být sledováni v pravidelných intervalech za účelem včasného zachycení významné progresy onemocnění a diskuze o zahájení léčby s ohledem na rychlý vývoj a rozšiřování terapeutických možností. Skupiny pacientů s různým stupněm upřednostnění – prioritizace léčby ukazují *tabulka 2*.

8 Cíle terapie chronické infekce virem hepatitidy C

Cílem terapie je vyléčení HCV infekce – trvalá eliminace viru. Eliminace viru brání rozvoji jaterních i mimojaterních komplikací HCV infekce, včetně pokročilé jaterní fibrózy, cirhózy, dekompenzované cirhózy a hepatocelulárního karcinomu – HCC. Eliminací infekce je myšleno dosažení SVR ve smyslu výše uvedené definice (viz *tabulka 1*). SVR12 a SVR24 spolu korelují v 99 % případů. Podle dlouhodobých studií SVR v 99 % případů znamená trvalé vyléčení HCV infekce, tj. u osob se SVR nedochází k pozdním relapsům onemocnění.

U osob se SVR dochází k významnému snížení jaterní morbiditativy i mortality. Pacienti s jaterní cirhózou, u nichž bylo dosaženo eradikace HCV infekce, mají významně snížené riziko dekompenzace cirhózy a HCC. Minimální riziko

rozvoje HCC však trvá, proto je u těchto osob indikována standardní surveillance HCC.

9 Kontraindikace protivirové léčby

9.1 IFN- α a ribavirin

Protivirová léčba založená na podání pegylovaného IFN- α v kombinaci s ribavirinem je absolutně kontraindikovaná v následujících případech:

1. osoby s nekontrolovanou depresí, epilepsií či s nekontrolovaným psychotickým onemocněním,
2. těhotné ženy,
3. osoby s nekontrolovaným autoimunitním onemocněním štítné žlázy, sítnice,
4. osoby s dekompenzovanou jaterní cirhózou,
5. osoby po orgánových transplantacích kromě jater.

Použití pegylovaného IFN- α není doporučováno dále u osob s počtem trombocytů $\leq 90\ 000/\text{ml}$ a/nebo s absolutním počtem neutrofilů $< 1\ 500/\text{ml}$.

9.2 Přímé působící virostatika

Podle současných znalostí o DAA nejsou absolutní kontraindikace podání léků z této skupiny.

10 Protivirová léčiva

10.1 Úvod

V posledních 10–12 letech byla standardní terapie chronické infekce HCV založena na podání kombinace pegylovaných interferonů alfa (PEG-IFN) s ribavirinem (RBV).

V roce 2011 vstoupila léčba virové hepatitidy C do zcela nového období, které je charakterizováno rychlým průnikem tzv. přímo působících virostatik (DAA, Directly Acting Antivirals) do terapeutických kombinací HCV infekce. Přímé působící virostatika mají svůj název odvozen od mechanismu účinku. Látky této skupiny přímo inhibují některý z enzymů uplatňujících se v průběhu replikačního cyklu HCV. V rámci replikace HCV dochází k syntéze jediného prekurzorového proteinu, který je translačním produktem celého virového genomu. Jeho následné štěpení zahajuje virová proteáza, která postupně uvolňuje jednotlivé strukturální i nestrukturální proteiny. Posledním krokem procesu je uvolnění RNA polymerázy, která je klíčovým enzymem celé replikace. DAA jsou látky inhibující nejčastěji buď právě proteázu (produkt NS3/4 oblasti virového genomu), či RNA polymerázu (produkt NS5B).

V průběhu roku 2013, 2014 a první poloviny roku 2015 byly schváleny k užití u chronické HCV infekce i další preparáty, především sofosbuvir, simeprevir, daclatasvir a kombinace dasabuvir, paritaprevir/ritonavir a ombitasvir. U řady dalších probíhají schvalovací procedury na úrovni FDA a EMA v současné době. Předkládané standardy se podrobně věnují použití preparátů registrovaných k použití u HCV infekce k 30. 5. 2015. V ČR jsou v době vydání těchto doporučení ze skupiny DAA v běžném užití s definovanou úhradou pouze boceprevir, telaprevir a simeprevir. U většiny dalších zmiňovaných preparátů byla zahájena správní řízení o stanovení úhrady. Vzhledem k této situaci, rychlému vývoji a obtížně odhadnutelnému okamžiku ukončení správních řízení, je v předkládaných doporučeních (stejně jako v doporučeních EASL) uvedeno vždy několik racionálních variant léčby v daných podskupinách pacientů

Tabulka 2
Skupiny pacientů podle stupně urgency zahájení protivirové léčby

Stupeň urgency	Skupina pacientů
Léčba je indikována	Všichni dosud neléčení a v minulosti léčení pacienti s kompenzovaným i dekompenzovaným jaterním onemocněním
	Pacienti s významnou fibrózou (F3) či cirhózou (F4) včetně dekompenzované cirhózy
	HIV koinfekce
	HBV koinfekce
Léčba by měla být upřednostněna	Pacienti indikovaní k transplantaci jater
	Pacient s HCV rekurencí po transplantaci jater
	Pacienti s klinicky významnými extrahepatálními manifestacemi
	Pacienti s vysilující únavou
	Osoby představující epidemiologické riziko (aktivní intravenózní toxikomani, homosexuálové, ženy ve fertilním věku plánující graviditu, hemodialyzované osoby)
Léčba je odůvodněna	Pacienti se středně pokročilou fibrózou (F2)
Léčba může být odložena	Pacienti bez fibrózy nebo s minimální fibrózou (F0-F1), kteří nemají žádnou z extrahepatálních manifestací
Léčba není indikována	Pacienti s přežitím limitovaným jiným než jaterním onemocněním

Tabulka 3
Dávkování pegylovaných interferonů a ribavirinu

Generické jméno (firemní název)	Doporučené dávkování
Kombinované režimy peginterferon + ribavirin	
Peginterferon alfa-2a (40 kD) (Pegasys, Hoffmann-La Roche)	180 µg s.c. 1× týdně bez ohledu na tělesnou hmotnost
Peginterferon alfa-2b (12 kD) (Pegintron, MSD)	1,5 µg/kg s.c. 1× týdně
Ribavirin (Rebetol, Schering-Plough CEAG), (Copegus, Hoffmann-La Roche)	800–1 400 mg p.o. denně (ve 2 dávkách); denní dávka závislá na genotypu HCV a tělesné hmotnosti

s chronickou HCV infekcí. Při rozhodování o optimálním léčebném postupu je třeba individuálně zohlednit především skutečně dostupné preparáty a načasování zahájení léčby.

Jednoznačným trendem léčby chronické HCV infekce je preference tzv. bezinterferonových režimů, ideálně i režimů bez podání ribavirinu. Tyto režimy však v současné době představují ekonomicky nejnáročnější variantu terapie. Zástupci České hepatologické společnosti a Společnosti infekčního lékařství se ve spolupráci s účastníky každého jednotlivého správného řízení snaží o nalezení optimálního řešení této složité situace, které by zpřístupnilo moderní varianty léčby i pacientům v ČR.

10.2 Pegylované interferony, ribavirin

Účinnost kombinační terapie pegylovaných interferonů s ribavirinem (setrvalá virologická odpověď, SVR) u genotypu 1 je 40–60 %, u genotypu 2 a 3 kolem 80 %. Dávkování těchto preparátů ukazuje *tabulka 3*.

10.3 Simeprevir

Simeprevir (SMV) je specifický inhibitor virové NS3/4A serinové proteázy. Někdy bývá označován jako virostatikum „druhé vlny první generace“ DAA. SMV je transformován pomocí systému CYP3A4, a proto může jeho podání podléhat interakcím s inhibitory či induktory tohoto systému. Inhibitory CYP3A4 hladinu SMV zvyšují, hrozí proto vzrůst jeho sérové hladiny, které vede k vyššímu výskytu závažnějších NÚ. Podání induktorů CYP3A4 naopak zvyšuje odbourávání SMV, plazmatické hladiny klesají a důsledkem je ztráta protivirové účinnosti. Z důvodu tohoto potenciálu lékových interakcí je proto potřeba vždy zkontrolovat souběžně užívanou medikaci se seznamem kontraindikovaných a rizikových léčiv, který je součástí SPC SMV.

SMV (Olysio, výrobce Janssen-Cilag, Belgie) je dostupný ve formě tobolky obsahující 150 mg účinné látky. Celková denní dávka je 150 mg, tj. 1 tobolka denně.

10.4 Sofosbuvir

Sofosbuvir (SOF) je syntetický nukleotidový inhibitor (analog uridinu) virové RNA dependentní RNA polymerázy (RdRp, produkt NS5B oblasti virové genomu). Sofosbuvir je prodrug, který je intracelulárně trifosforylován, a následně je pomocí RdRp inkorporován do HCV RNA. Mecha-

nizmem účinku je tzv. ukončení řetězce, kdy po navázání aktivní látky (v našem případě SOF) nemůže pokračovat další řetězení dceřině virové RNA. SOF je účinný u všech hlavních nejrozšířenějších genotypů HCV (1–6), neinterferuje se syntézou lidské DNA či RNA, neinhibuje ani mitochondriální RNA polymerázy.

SOF není metabolizován systémem cytochromu, potenciál lékových interakcí je tedy mnohem omezenější nežli u virostatik nižších generací. SOF je substrátem lékového transportéru P-gp a „breast cancer resistance protein“ (BCRP), jeho aktivní metabolit však nikoliv. Potentní induktory P-gp ve střevě (rifampicin, karbamazepin a fenytoin) snižují plazmatickou hladinu SOF, snižuje se tedy i intracelulární přítomnost aktivního metabolitu a dochází ke snížení protivirové účinnosti SOF. Naopak inhibitory P-gp/BCRP zvyšují plazmatickou hladinu SOF, avšak nikoliv aktivního metabolitu, takže SOF může být s inhibitory podáván současně.

SOF (Sovaldi, výrobce Gilead Sciences, USA) je dostupný ve formě potahované tablety obsahující 400 mg účinné látky. Celková denní dávka je 400 mg, tj. 1 tableta denně.

10.5 Fixní kombinace sofosbuviru a ledipasviru

Tato kombinace je dostupná ve formě jedné tablety obsahující 400 mg sofosbuviru a 90 mg ledipasviru (LDV). Celková denní dávka je 1 tableta denně.

Ledipasvir je transportován podobně jako sofosbuvir, tj. na jeho transportu se účastní P-gp a „breast cancer resistance protein“ (BCRP). Lékové interakce jsou proto velmi podobné. Ledipasvir je v nezměněné podobě vylučován žlučí, ledvinami je vyloučeno pouze 1 % celkového množství. V případě fixní kombinace sofosbuviru a ledipasviru není třeba redukce dávky u pacientů s mírnou či středně závažnou renální insuficiencí. Bezpečnost podání nebyla dosud zkoumána u pacientů s poklesem eGFR < 30 ml/min/1,73 m² a u pacientů se selháním ledvin vyžadujícím hemodialýzu.

10.6 Dasabuvir, ombitasvir, paritaprevir/ritonavir (kombinace 3D)

Dasabuvir je nenukleosidovým inhibitorem RdRp, produktu NS5B virového genomu. Není určen k podávání v monoterapii, striktně je třeba jej kombinovat s ombitasvirem/paritaprevirem/ritonavirem (viz dále). Kombinací do-

cháží ke spojení tří přímo působících antivirotik s různými mechanismy účinku, mezi nimiž není zkřížená rezistence. Dasabuvir je metabolizován systémem cytochromu, především pomocí CYP2C8 a CYP3A. Proto se při kombinaci dasabuviru s induktory těchto systémů očekává snížení jeho plazmatické koncentrace a snížení jeho protivirového účinku. Níže jsou uvedeny příklady induktorů, které jsou považovány z tohoto důvodu za kontraindikované k současnému podání s dasabuvirem. Naopak podání silných inhibitorů CYP2C8 může vést ke vzestupu plazmatické koncentrace dasabuviru, a v důsledku toho ke zvýšení množství a závažnosti možných nežádoucích účinků.

Ombitasvir je inhibitorem NS5A proteázy, **paritaprevir** je inhibitorem NS3/4 proteázy viru. Ombitasvir i paritaprevir jsou metabolizovány přes složky cytochromu CYP3A. Další součástí kombinace ritonavir není látkou s protivirovou účinností na HCV. Je silným inhibitorem CYP3A. Jeho zařazení do 3D kombinace umožnilo snížení použité dávky paritapreviru. Při současném zachování optimální protivirové účinnosti paritapreviru tak došlo ke snížení počtu a závažnosti nežádoucích účinků.

Dostupné preparáty: Exviera (výrobce AbbVie, USA) potahovaná tableta obsahující dasabuvir 250 mg. Preparát

Viekirax (AbbVie, USA) obsahuje v potahované tabletě ombitasvir 12,5 mg, paritaprevir 75 mg a ritonavir 50 mg.

10.7 Daclatasvir

Daclatasvir (DCV) je inhibitor replikačního komplexu NS5A. Blokuje dvě fáze virového replikačního cyklu, a to sice syntézu RNA, ale také kompletaci virionu a pravděpodobně i proces jeho uvolnění z hepatocytu. Daclatasvir je metabolizován pomocí CYP3A4, je inhibitorem P-gp. Má proto rovněž potenciál lékových interakcí, i když významně nižší než např. proteázové inhibitory první generace.

Daclatasvir (Daklinza, výrobce BristolMyers-Squibb, USA) je dostupný ve formě tablety obsahující 60 nebo 30 mg účinné látky. Obvyklá denní dávka je 60 mg, tj. 1 tableta denně, dávka se upravuje při léčbě HIV koinfekce z důvodu lékových interakcí.

11 Terapie HCV infekce

V současné době je pro pacienty s chronickou HCV infekcí dostupná celá řada léčebných kombinací, ze kterých budou mít užitek jak pacienti dosud neléčení, tak osoby s neúspěšnou léčbou v minulosti. Indikace a podání jednot-

Tabulka 4

Doporučené režimy léčby chronické HCV infekce a koinfekce HCV/HIV u pacientů bez jaterní cirhózy, pacienti dosud neléčení a pacienti s neúspěšnou léčbou PEG-IFN + RBV

	PEG-IFN + RBV + SOF	PEG-IFN + RBV + SMV	SOF + RBV	SOF + LDV	3D	2D	SOF + SMV	SOF + DCV
Genotyp 1a Genotyp 1b	12 týdnů	12 t., poté P/R 12 t. nebo 36 týdnů ¹	NE	8–12 t. bez RBV	12 týdnů s RBV 12 týdnů bez RBV	NE	12 týdnů bez RBV	12 týdnů bez RBV
Genotyp 2	12 týdnů	NE	12 týdnů	NE	NE	NE	NE	12 týdnů bez RBV
Genotyp 3	12 týdnů	NE	24 týdnů	NE	NE	NE	NE	12 týdnů bez RBV
Genotyp 4	12 týdnů	12 t., poté P/R 12 t. nebo 36 týdnů ¹	NE	12 týdnů bez RBV	NE	12 týdnů s RBV	12 týdnů bez RBV	12 týdnů bez RBV
Genotyp 5/6	12 týdnů	NE	NE	12 týdnů bez RBV	NE	NE	NE	12 týdnů bez RBV

Poznámka: PEG-IFN – pegylovaný interferon alfa, RBV – ribavirin, P/R – kombinace PEG-IFN + RBV, SOF – sofosbuvir, LDV – ledipasvir, 3D – ombitasvir + paritaprevir/ritonavir + dasabuvir, 2D – paritaprevir/ritonavir + ombitasvir, SMV – simeprevir, DCV – daclatasvir.

¹Celková doba léčby 24 týdnů (12 + 12) je doporučována pro dosud neléčené osoby a pro pacienty s relapsem po předchozí kombinaci PEG-IFN + RBV. Celková doba 48 týdnů (12 + 36) je doporučována pro pacienty s částečnou odpovědí a s null response na předchozí protivirovou léčbu kombinací PEG-IFN + RBV (Je nutno ale mít na paměti, že účinnost u těchto pacientů je velmi nízká i při prodloužení léčby.)

livých léčebných variant je závislé na genotypu HCV, případně i subtypu HCV a na stupni pokročilosti jaterního postižení. Indikace jsou stejné pro HCV monoinfikované pacienty i pro pacienty s HCV/HIV koinfekcí.

Tabulka 4 a tabulka 5 ukazují přehledně dostupné možnosti protivirové léčby pro jednotlivé indikace. V dalším textu jsou popsány u každého genotypu všechny dostupné možnosti protivirové léčby se stručným přehledem dostupných klinických dat ke každé variantě.

11.1 Genotyp HCV 1

11.1.1 Léčebná varianta 1: PEG-IFN + RBV + sofosbuvir

Dávkování PEG-IFN a RBV uvádí tabulka 3. Sofosbuvir je podáván v dávce 400 mg denně. Délka léčby je 12 týdnů.

Tato varianta se jeví jako nejúčinnější a nejjednodušší u pacientů, kteří mohou být léčeni režimem obsahujícím PEG-IFN. Tento postup nemá riziko selekce rezistentních variant viru. Účinnost kombinace zkoumala studie NEUTRI-

NO. SVR bylo dosaženo celkem v 89 % případů, u subtypu 1a v 92 % a u subtypu 1b v 82 % případů. Pacienti s jaterní cirhózou měli SVR v 80 %, pacienti bez jaterní cirhózy v 92 % případů. Žádné selhání léčby nebylo spojeno se vznikem rezistence na sofosbuvir.

V posledním roce byla publikována data z běžné praxe („real life“) ze Spojených států amerických (projekty TARGET a TRIO). V projektu TARGET byla celková SVR4 85%. Mezi pacienty bez jaterní cirhózy byla SVR4 90%, mezi cirhotiky 70%. V projektu TRIO byla SVR12 81% mezi dosud neléčenými pacienty bez cirhózy, 81% mezi dosud neléčenými cirhotiky, 77% mezi opakovaně léčenými pacienty bez cirhózy a 62% mezi pacienty opakovaně léčenými s jaterní cirhózou.

11.1.2 Léčebná varianta 2: PEG-IFN + RBV + simeprevir

Dávkování PEG-IFN a RBV uvádí tabulka 3. Simeprevir je podáván v dávce 150 mg denně.

Tabulka 5

Doporučené režimy léčby chronické HCV infekce a koinfekce HCV/HIV u pacientů s kompenzovanou jaterní cirhózou (Child-Pugh A), pacienty dosud neléčené a pacienty s neúspěšnou léčbou PEG-IFN + RBV

	PEG-IFN + RBV + SOF	PEG-IFN + RBV + SMV	SOF + RBV	SOF + LDV	3D	2D	SOF + SMV	SOF + DCV
Genotyp 1a	12 týdnů	12 t., poté P/R 12 t.	NE	12 t. s RBV nebo 24 t., bez RBV nebo 24 t. s RBV ²	24 týdnů s RBV	NE	24 týdnů s RBV	12 týdnů s RBV
Genotyp 1b	12 týdnů	nebo 36 týdnů ¹	NE	24 t., bez RBV nebo 24 t. s RBV ²	12 týdnů s RBV	NE	24 týdnů bez RBV	nebo 24 týdnů bez RBV
Genotyp 2	12 týdnů	NE	16–20 týdnů	NE	NE	NE	NE	12 týdnů bez RBV
Genotyp 3	12 týdnů	NE	NE	NE	NE	NE	NE	24 týdnů s RBV
Genotyp 4	12 týdnů	12 t., poté P/R 12 t. nebo 36 týdnů ¹	NE	12 t. s RBV nebo 24 t. bez RBV nebo 24 t. s RBV ²	NE	24 týdnů s RBV	12 týdnů s RBV nebo 24 týdnů bez RBV	12 týdnů s RBV nebo 24 týdnů bez RBV
Genotyp 5/6	12 týdnů	NE	NE	12 t. s RBV nebo 24 t. bez RBV nebo 24 t. s RBV ²	NE	NE	NE	12 týdnů s RBV nebo 24 týdnů bez RBV

Poznámka: PEG-IFN – pegylovaný interferon alfa, RBV – ribavirin, SOF – sofosbuvir, LDV – ledipasvir, 3D – ombitasvir + paritaprevir/ritonavir + dasobuvir, 2D – paritaprevir/ritonavir + ombitasvir, SMV – simeprevir, DCV – daclatasvir.

¹Celková doba léčby 24 týdnů (12+12) je doporučována pro dosud neléčené osoby a pro pacienty s relapsem po předchozí kombinaci PEG-IFN + RBV. Celková doba 48 týdnů (12 + 36) je doporučována pro pacienty s částečnou odpovědí a s null response na předchozí protivirovou léčbu kombinací PEG-IFN + RBV (Je nutno ale mít na paměti, že účinnost léčby je velmi nízká i při prodloužení léčby.)

²Léčba by měla trvat 24 týdnů, pokud jsou přítomny tradiční negativní prediktory efektu léčby.

Simeprevir v kombinaci s dalšími dvěma preparáty by měl být podáván po dobu 12 týdnů. Další pokračování léčby se liší podle stupně jaterního postižení a efektu případné předchozí léčby:

- Dosud neléčené osoby a osoby s relapsem po předchozí terapii (včetně kompenzovaných cirhotiků) by měly být léčeny kombinací PEG-IFN + RBV po dobu dalších 12 týdnů. Celková doba léčby je tedy 24 týdnů.
- Osoby s částečnou odpovědí a předchozí null-respondeři (včetně kompenzovaných cirhotiků) by měli být léčeni kombinací PEG-IFN + RBV po dobu dalších 36 týdnů. Celková doba léčby je tedy 48 týdnů.

Ve všech případech by měla být léčba ukončena, pokud v týdnech 4, 12 nebo 24 je HCV RNA \geq 25 IU/ml. Pokud dojde k naplnění těchto pravidel předčasného ukončení, je třeba zvážit bezprostřední přechod na jiný režim obsahující IFN a přímo působící virostatikum nebo na režim léčby bez interferonu.

Kombinace PEG-IFN + RBV + SMV není doporučována u pacientů infikovaných subtypem HCV 1a s prokazatelnou rezistentní variantou Q80K oblasti NS3 proteázy před zahájením léčby. U pacientů s genotypem 1a s průkazem této varianty či v případech, kdy nelze z různých důvodů provést vyšetření přítomnosti této varianty, lze použít k terapii kombinaci PEG-IFN + RBV + boceprevir nebo telaprevir.

Kombinace se simeprevirem byla u dosud neléčených pacientů zkoumána ve studiích QUEST-1 a QUEST-2 celková SVR byla 80 % a 81 %. Kumulovaná data z obou studií ukázala, že u subtypu 1b byla SVR 85 %. U subtypu 1a bez varianty Q80K byla SVR 84 %, v případě pozitivního průkazu pouze 58 %. Při hodnocení podle stupně jaterního postižení bylo dosaženo těchto výsledků:

- METAVIR F0-F2 SVR 84 %,
- METAVIR F3 SVR 73 %,
- METAVIR F4 (cirhóza) SVR 60 %.

U dosud neléčených pacientů s koinfekcí HCV/HIV byla SVR 79 %. U pacientů s monoinfekcí HCV, kteří relabovali po předchozí léčbě IFN- α + RBV, bylo SVR dosaženo v 86 % případů u subtypu 1b a v 70 % u subtypu 1a (bez Q80K 78 %, při pozitivitě Q80K ve 47 %). Ve studii ATTAIN bylo SVR dosaženo u 70 % parciálních responderů a u 43 % null-responderů na předchozí terapii kombinací IFN- α + RBV. Tato úspěšnost byla v přímém srovnání významně vyšší nežli účinnost kombinace s telaprevirem ve stejných skupinách osob.

11.1.3 Léčebná varianta 3: sofosbuvir/ledipasvir

SOF/LDV je dostupná jako fixní kombinace v jedné tabletě obsahující SOF 400 mg a LDV 90 mg. Standardní dávkování je 1 tableta denně.

Uvedená kombinace byla zkoumána v rozsáhlém programu fáze III. Ve studii ION-1 (dosud neléčené osoby, 16 % pacientů s kompenzovanou jaterní cirhózou) byla SVR12 99 % ve skupině pacientů bez RBV a 97 % ve skupině s RBV. Léčba byla stejně účinná při délce podávání 12 a 24 týdnů. Ve studii ION-3 mezi dosud neléčenými pacienty bez cirhózy byla SVR12 94 % bez RBV při délce podávání 8 týdnů, 93 % s RBV při stejné délce léčby. Při léčbě bez RBV po dobu 12 týdnů byla SVR12 95 %. V ramenech s 8týdenní léčbou bylo však zaznamenáno větší množství

relapsů. Bližší pozdější analýzy ukázaly, že faktorem negativně determinujícím efekt léčby trvající 8 týdnů byla virémie \geq 6 mil IU/ml. Data však ani v tuto chvíli nelze hodnotit jako definitivní a je třeba vyčkat ověření, že tato kombinace podávaná u dosud neléčených osob po dobu 8 týdnů je dostatečně efektivní.

Studie ION-2 zkoumala účinek této kombinace u pacientů v minulosti neúspěšně léčených. Zahrnuti byli pacienti léčení kombinací PEG-IFN + RBV, ale i PEG-IFN + RBV + boceprevir nebo telaprevir. 20 % pacientů mělo jaterní cirhózu. SVR12 byla ve skupině s kombinací s RBV 94 %, bez RBV 96 %. Po 24 týdnech byla SVR12 v obou případech 99 %. Ve studii SIRIUS byla zkoumána účinnost SOF/LDV s RBV po dobu 12 týdnů vs. SOF/LDV bez RBV po dobu 24 týdnů u pacientů s kompenzovanou jaterní cirhózou, kteří byli neúspěšně léčení kombinací PEG-IFN + RBV + boceprevir nebo telaprevir. SVR12 byla 96 % a 97 %.

11.1.4 Léčebná varianta 4: ombitasvir + paritaprevir/ritonavir + dasabuvir (3D)

Tato léčebná kombinace se skládá z ombitasviru 12,5 mg, paritapreviru 75 mg a ritonaviru 50 mg v jedné tabletě (dávkování: 2 tablety 1× denně spolu s jídlem) a dasabuviru 250 mg (dávkování: 1 tableta 2× denně).

Pacienti infikovaní genotypem HCV 1b bez jaterní cirhózy by měli být léčeni touto kombinací po dobu 12 týdnů bez ribavirinu.

Pacienti infikovaní genotypem HCV 1b s jaterní cirhózou by měli být léčeni touto kombinací po dobu 12 týdnů s ribavirinem ve standardním váhově definovaném dávkování.

Pacienti infikovaní genotypem HCV 1a bez jaterní cirhózy by měli být léčeni touto kombinací po dobu 12 týdnů s ribavirinem ve standardním váhově definovaném dávkování.

Pacienti infikovaní genotypem HCV 1a s jaterní cirhózou by měli být léčeni touto kombinací po dobu 24 týdnů s ribavirinem ve standardním váhově definovaném dávkování.

Uvedená doporučení jsou opřena o výsledky 7 studií fáze III.

Studie SAPHIRE-I zkoumala SVR u pacientů dosud neléčených bez jaterní cirhózy. Léčení byli kombinací 3D s ribavirinem po dobu 12 týdnů a SVR12 byla 95 % u genotypu 1a a 98 % u genotypu 1b. Ve studii PEARL-IV byla SVR12 bez RBV 90 % a 97 % s RBV. Ve studii PEARL-III u pacientů dosud neléčených bez jaterní cirhózy infikovaných genotypem 1b byla SVR12 bez RBV 99 % a s RBV rovněž 99 %. Ve studii TURQUOISE-1 u dosud neléčených osob bez jaterní cirhózy koinfikovaných HIV a stabilizovaných na režimech s atazanavirem nebo raltegravirem byla SVR12 po 12 týdnech 93 %, po 24 týdnech 91 %. U osob infikovaných genotypem 1a byla SVR12 91 % a u infekcí genotypem 1b byla SVR12 100 %.

U osob bez jaterní cirhózy v minulosti neúspěšně léčených PEG-IFN a RBV léčených kombinací 3D s RBV ve studii SAPHIRE-II byla SVR12 u genotypu 1a 96 % a u genotypu 1b 97 %. Souhrnně u relapserů byla SVR12 95 %, 100 % u pacientů s částečnou odpovědí a 95 % u předchozích null-responderů. Ve studii PEARL-II byla SVR12 100 % u osob infikovaných genotypem 1b a léčených 3D bez RBV a 97 % u osob léčených 3D s RBV. U dosud ne-

lčených osob a osob v minulosti neúspěšně lčených s kompenzovanou cirhózou byla SVR12 92 % po 12týdenní léčbě a 96 % po 24týdenní léčbě s ribavirinem (studie TURQUOISE-II). U osob infikovaných genotypem 1a byla SVR12 92% a u genotypu 1b byla SVR12 99%. U osob s koncentrací AFP < 20 ng/ml, počtem trombocytů $\geq 90 \times 10^9/l$ a koncentrací albuminu ≥ 35 g/l bylo množství relapsu 1 % po 12 týdnech a 0 % po 24 týdnech léčby. U pokročilejších pacientů s hodnotami AFP > 20 ng/ml, množstvím trombocytů < $90 \times 10^9/l$ a koncentrací albuminu < 35 g/l bylo množství relapsů 21 % po 12týdenní léčbě a 2 % po 24týdenní léčbě.

11.1.5 Léčebná varianta 5: sofosbuvir + simeprevir

Dávkování: sofosbuvir 400 mg denně a simeprevir 150 mg denně po dobu 12 týdnů. U pacientů s jaterní cirhózou je doporučeno doplnit kombinaci o podání RBV ve standardním váhově definovaném dávkování. U pacientů s jaterní cirhózou s kontraindikací RBV musí být uvaženo prodloužení této léčby na 24 týdnů.

Toto doporučení je založeno na výsledcích studie fáze IIb COSMOS. Studie měla dvě kohorty:

Kohorta 1 byla tvořena osobami s null-response na předchozí léčbu PEG-IFN + RBV s METAVIR skóre F0-F2. Tyto osoby byly léčeny 12 nebo 24 týdnů, s RBV nebo bez RBV. SVR12 byla 93 % pro variantu BEZ RBV po dobu 12 týdnů, 96 % pro variantu S RBV po dobu 12 týdnů. A 93 % pro variantu BEZ RBV po dobu 24 týdnů a 79 % pro variantu S RBV po dobu 24 týdnů.

Kohorta 2 byla tvořena osobami dosud neléčeným a předchozími null-respondery s METAVIR skóre F3-F4 léčenými opět s RBV a bez RBV po dobu 12 nebo 24 týdnů. SVR12 byla 93 % pro variantu BEZ RBV po dobu 12 týdnů, 93 % pro variantu S RBV po dobu 12 týdnů. A 100 % pro variantu BEZ RBV po dobu 24 týdnů a 93 % pro variantu S RBV po dobu 24 týdnů.

Předběžné výsledky dvou rozsáhlých „real life“ studií ze Spojených států amerických svědčí pro skutečnost, že tato varianta je dobře tolerována a že hodnoty SVR12 jsou sice vysoké, ale nižší nežli SVR12 dosažené ve studii COSMOS. Ze závěru těchto studií nelze učinit žádné terapeutické doporučení.

11.1.6 Léčebná varianta: sofosbuvir + daclatasvir

Dávkování: sofosbuvir 400 mg denně a daclatasvir 60 mg denně po dobu 12 týdnů. Tato kombinace by měla být doplněna o ribavirin v obvyklém dávkování (1 000 nebo 1 200 mg denně) u pacientů s jaterní cirhózou. Pacienti s jaterní cirhózou, u kterých je kontraindikace podání ribavirinu, by měli být léčeni po dobu 24 týdnů.

Uvedené doporučení se opírá o výsledky studií fáze IIb. 24týdenní léčba vedla k SVR ve 100 % případů bez ribavirinu i s ribavirinem u dosud neléčených pacientů. U pacientů léčených neúspěšně kombinací PEG-IFN, ribavirinu a bocepreviru nebo telapreviru byla SVR 100 % bez ribavirinu a 95 % s ribavirinem. Dosud neléčení pacienti, kteří byli léčeni 12 týdnů kombinací bez ribavirinu, dosáhli SVR v 98 % případů. Jedná se o výsledky studií fáze IIb s malými počty pacientů v jednotlivých skupinách.

11.2 Genotyp HCV 2

Ideální léčebnou variantou se jeví kombinace sofosbuviru s ribavirinem. Pokud není tato léčebná varianta dostupná, pacienti infikovaní genotypem HCV 2 mohou být léčeni kombinací PEG-IFN a ribavirinu.

11.2.1 Léčebná varianta 1: sofosbuvir + ribavirin

Sofosbuvir je podáván v dávce 400 mg denně a ribavirin ve standardním dávkování. Délka léčby je 12 týdnů.

Při použití této kombinace bylo dosaženo po 12 týdnech léčby SVR v 95 % případů. Léčba byla účinnější u pacientů bez jaterní cirhózy (97 % vs. 83 %). Pacienti s jaterní cirhózou mohou dle dosavadních znalostí profitovat z léčby prodloužené na 16 týdnů (studie FISSION) zejména pokud jde o pacienty opakovaně léčené. Navýšení SVR při takto vedené léčbě bylo proti 12 týdnům o 18 % (60 % vs. 78 %). Studie POSITRON měla léčenou skupinu osob tvořenou pacienty, kteří nebyli vhodní pro léčbu s podáním IFN nebo tuto léčbu netolerovali. Léčba v rámci studie POSITRON trvala 12 týdnů. SVR byla 93 %. Při srovnání 12 a 16týdenní léčby byla SVR 82 % a 89 %, mezi cirhotiky pak kratší režim vedl k SVR v 60 % případů a delší režim v 78 %. Pacienti s jaterní cirhózou mají proto větší přínos z léčby trvající 16 týdnů. Studie VALENCE dosáhla SVR po 12 týdnech léčby u dosud neléčených pacientů bez jaterní cirhózy v 97 % případů, 100 % u neléčených cirhotiků, 91 % u opakovaně léčených osob bez jaterní cirhózy a 88 % u opakovaně léčených cirhotiků. Kombinace SOF + RBV byla ve všech studiích dobře tolerována a nebyl zaznamenán žádný virologický breakthrough během léčby. Relapsy nebyly asociovány se vznikem rezistenčních variant.

11.2.2 Léčebná varianta 2: PEG-IFN + RBV + sofosbuvir

Dávkování PEG-IFN a RBV je obvyklé. Sofosbuvir je podáván v dávce 400 mg denně. Délka léčby je 12 týdnů.

Tato varianta může být užita u pacientů s jaterní cirhózou a/nebo neúspěšnou léčbou v minulosti. Tato kombinace byla studována ve studii LONESTAR-2, kde ve skupině cirhotiků bylo dosaženo SVR v 96 % případů.

11.2.3 Léčebná varianta 3: sofosbuvir + daclatasvir

Tato kombinace podávaná po dobu 12 týdnů je indikována u pacientů s jaterní cirhózou nebo u opakovaně léčených pacientů.

Ve studii fáze II s podáváním této kombinace po dobu 24 týdnů byla SVR 92 %. V souvislosti s ostatními výsledky u genotypů obtížněji léčitelnými než je genotyp 2, je pravděpodobné, že délka léčby 12 týdnů je v této indikaci dostatečná.

11.3 Genotyp HCV 3

Pro genotyp 3 jsou dostupné 3 varianty léčby. Kombinace sofosbuviru a ribavirinu se jeví jako suboptimální, zejména u pacientů s jaterní cirhózou, kteří byli neúspěšně léčeni kombinací PEG-IFN + RBV. Jako ideální se jeví kombinace PEG-IFN + ribavirin + sofosbuvir. Ledipasvir je ve studiích in vitro méně účinný proti genotypu 3 nežli daclatasvir. Tato kombinace byla sice zkoumána, nicméně na malém počtu osob, a protože jsou výsledky větších studií dosud očekávány, není tato kombinace aktuálně doporučována. V ob-

lastech, kde žádná z těchto léčebných kombinací není dostupná, zůstává akceptovatelnou variantou léčby PEG-IFN + RBV.

11.3.1 Léčebná varianta 1: PEG-IFN + RBV + sofosbuvir

Dávkování PEG-IFN a RBV je obvyklé. Sofosbuvir je podáván v dávce 400 mg denně. Délka léčby je 12 týdnů.

Tato kombinace se jeví jako nejúčinnější varianta při nejkratší délce trvání terapie. Znalosti o účinnosti této léčby pocházejí ze studie fáze IIB LONESTAR-2, kde bylo dosaženo SVR u 83 % pacientů (20/24 pacientů). Do studie vstoupilo 12 cirhotiků a 10 z nich dosáhlo SVR. Touto léčebnou kombinací bylo také dosaženo SVR 91 % u pacientů neúspěšně léčených kombinací sofosbuvir + ribavirin.

11.3.2 Léčebná varianta 2: sofosbuvir + ribavirin

Sofosbuvir je podáván v dávce 400 mg denně, ribavirin v obvyklém dávkování. Délka léčby je 24 týdnů.

Tato terapie je považována za suboptimální, zejména u pacientů neúspěšně léčených v minulosti s jaterní cirhózou.

Účinnost této varianty léčby ve studii VALENCE (24 týdnů) byla následující:

- pacienti dosud neléčení bez jaterní cirhózy SVR 94 %,
- pacienti dosud neléčení s jaterní cirhózou SVR 92 %,
- pacienti opakovaně léčení bez jaterní cirhózy SVR 87 %,
- pacienti opakovaně léčení s jaterní cirhózou SVR 60 %.

Kombinace SOF + RBV podávaný po dobu 12 týdnů byl zkoumán ve studii FISSION. SVR byla 56 %. Lepší léčebná odpověď byla dosažena u pacientů bez jaterní cirhózy (61 % vs. 34 % u cirhotiků). Kombinace sofosbuviru a ribavirinu po dobu 24 týdnů byla zkoumána i u osob, které relabovaly po stejném režimu podávaném po dobu 12 týdnů. SVR v tomto případě byla pouze 63 %. Ve všech studiích byla léčba dobře tolerována a relapsy nebyly spojeny se vznikem rezistenčních variant.

11.3.3 Léčebná varianta 3: sofosbuvir + daclatasvir

Sofosbuvir je podáván v dávce 400 mg denně, daclatasvir 60 mg denně. Délka léčby pacientů bez jaterní cirhózy je 12 týdnů. Pacienti neúspěšně léčení v minulosti a pacienti s jaterní cirhózou by měli být léčeni 24 týdnů. Dosud nebyla zveřejněna data o významu doplnění ribavirinu do tohoto léčebného režimu nebo o zkrácení léčby s ribavirinem na 12 týdnů v případě pacientů s cirhózou či neúspěšně léčených v minulosti.

Ve studii fáze IIB s touto kombinací podávanou po 24 týdnů byla SVR 89 % u dosud neléčených pacientů bez jaterní cirhózy. Ve studii fáze III ALLY-3 byli pacienti léčení touto kombinací po dobu 12 týdnů. SVR12 byla 97 % mezi dosud neléčenými ne-cirhotiky a 58 % mezi dosud neléčenými cirhotiky. Mezi opakovaně léčenými ne-cirhotiky byla SVR12 94 % a mezi opakovaně léčenými pacienty s jaterní cirhózou byla SVR12 69 %. Léčba byla dobře tolerována, nežádoucí účinky nikdy nevedly k ukončení léčby. Nejasný zůstává význam preexistujících rezistenčních variant oblasti NS5A vedoucích k rezistenci na daclatasvir.

11.4 Genotypy HCV 4

11.4.1 Léčebná varianta 1: PEG-IFN + RBV + sofosbuvir

Dávkování PEG-IFN a RBV je obvyklé. Sofosbuvir je podáván v dávce 400 mg denně. Délka léčby je 12 týdnů.

Léčba dosud neléčených pacientů infikovaných genotypem HCV 4 byla součástí studie fáze III NEUTRINO. SVR12 v této skupině byla 96 %. Jediný pacient, který relaboval, nevyvinul žádnou z možných rezistenčních variant. Žádná další data nejsou v tuto chvíli dostupná (opakovaně léčené osoby, HCV/HIV koinfekce apod.).

11.4.2 Léčebná varianta 2: PEG-IFN + RBV + simeprevir

Dávkování PEG-IFN a RBV uvádí *tabulka 3*. Simeprevir je podáván v dávce 150 mg denně. Délka podávání simepreviru v kombinaci s PEG-IFN a RBV je 12 týdnů. U dosud neléčených pacientů, relapserů po předchozí léčbě (včetně cirhotiků) následuje dalších 12 týdnů léčby kombinací PEG-IFN + RBV. Celková doba léčby je tedy u dosud neléčených a u relapserů 24 týdnů. U pacientů hodnocených při předchozí léčbě jako „partial response“ a „null response“ (včetně cirhotiků) následuje po 12 týdnech léčby se simeprevirem ještě 36 týdnů léčby kombinací PEG-IFN + ribavirin. Celková doba léčby je tedy 48 týdnů. Léčba by měla být ukončena, pokud je HCV RNA > 25 IU/ml v týdnech 4, 12 nebo 24.

Dosavadní výsledky studie fáze III na 107 pacientech infikovaných genotypem 4 jsou následující:

- | | | |
|---------------------------|-------|------|
| • dosud neléčení pacienti | SVR12 | 83 % |
| • relapseři | SVR12 | 86 % |
| • částečná odpověď | SVR12 | 60 % |
| • null response | SVR12 | 40 % |

Žádný z léčených pacientů neměl před vstupem do léčby prokazatelnou mutaci NS3 Q80K, která je asociována s rezistencí na simeprevir.

11.4.3 Léčebná varianta 3: sofosbuvir/ledipasvir

Kombinace SOF/LDV je dostupná jako fixní kombinace v jedné tabletě obsahující SOF 400 mg a LDV 90 mg. Standardní dávkování je 1 tableta denně.

Pacienti bez jaterní cirhózy, dosud neléčení i opakovaně léčení, by měli být léčeni touto kombinací po dobu 12 týdnů bez ribavirinu. Ribavirin by měl být součástí léčby trvajících 12 týdnů pacientů dosud neléčených i opakovaně léčených, pokud mají jaterní cirhózu. Ribavirin je v tomto případě podáván v obvyklém dávkování. Osoby mající kontraindikaci podání ribavirinu by měly být léčeny fixní kombinací po dobu 24 týdnů. Léčba fixní kombinací s ribavirinem by měla být prodloužena na 24 týdnů u pacientů opakovaně léčených s kompenzovanou jaterní cirhózou a negativními prediktory odpovědi, jako je např. počet krevních destiček ≤ 75 tis./ μ l.

Doporučení se opírá především o výsledky studie SYNERGY. SVR12 byla 95 % (20/21 – jeden pacient ukončil studii předčasně). Nejasné zůstává, zda by u dosud neléčených osob léčba mohla být zkrácena na 8 týdnů.

11.4.4 Léčebná varianta 4: ombitasvir + paritaprevir/ritonavir (2D)

Pacienti infikovaní genotypem HCV 4 bez jaterní cirhózy mohou být léčeni kombinací ombitasviru (12,5 mg), paritapreviru (75 mg) a ritonaviru (50 mg) v jedné tabletě (den-

ní dávka je 2 tableta denně) po dobu 12 týdnů. Kombinace 2D je u genotypu HCV4 standardně doplněna o ribavirin v obvyklém dávkování. Součástí léčby není dasabuvir. Pacienti s jaterní cirhózou infikovaní genotypem HCV 4 mají být léčeni stejnou kombinací po dobu 24 týdnů.

Tato doporučení se opírají o výsledky studie PEARL-I. Tato studie zahrnovala pacienty dosud neléčené i opakovaně léčené, bez jaterní cirhózy. Délka léčby s ribavirinem byla 12 týdnů. SVR12 byla v obou skupinách 100 %. Studie s cirhotiky v tuto chvíli probíhá a dosud nebyly zveřejněny její výsledky.

11.4.5 Léčebná varianta 5: sofosbuvir + simeprevir

Dávkování: sofosbuvir 400 mg denně a simeprevir 150 mg denně po dobu 12 týdnů. Kombinace by u pacientů s jaterní cirhózou měla být doplněna o ribavirin ve standardním dávkování (*tabulka 3*). Pokud je ribavirin kontraindikován, léčba by měla trvat 24 týdnů.

Tato kombinace nebyla dosud zkoumána v žádné klinické studii pokročilé fáze. Její doporučení se opírá o *in vitro* prokázanou účinnost obou složek kombinace u genotypu HCV 4 a o extrapolaci výsledků studie COSMOS.

11.4.6 Léčebná varianta 6: sofosbuvir + daclatasvir

Sofosbuvir je podáván v dávce 400 mg denně, daclatasvir 60 mg denně. Délka léčby je 12 týdnů. U pacientů s jaterní cirhózou by léčba měla být doplněna o podání ribavirinu ve standardním dávkování (viz *tabulka 3*). Pokud je ribavirin kontraindikován, léčba by měla trvat 24 týdnů.

Tato kombinace nebyla dosud zkoumána v žádné klinické studii pokročilé fáze. Její doporučení se opírá o *in vitro* prokázanou účinnost obou složek kombinace u genotypu HCV 4 a o extrapolaci výsledků dosažených u genotypu HCV 1.

11.5 Genotypy HCV 5 a 6

Tyto genotypy se v České republice prakticky nevyskytují, léčebné varianty proto nebudou rozebírány. V případě nutnosti lze všechny léčebné možnosti nalézt v textu standardních doporučení vydaných Evropskou asociací pro studium jater na www.easl.eu.

12 Monitorování léčby HCV infekce

12.1 Monitorování účinnosti léčby

Monitorování účinnosti léčby je založeno na opakovaném sledování koncentrace HCV RNA v krvi. K tomuto účelu je třeba užívat metody o standardní citlivosti ≤ 15 IU/ml. Nutné je dbát na to, aby při sledování jednoho konkrétního pacienta byla využívána stejná metoda, ideálně stejná laboratoř. Pro účely monitorování účinnosti léčby a pro kvalifikované rozhodování o pokračování, či naopak o ukončení protivirové léčby je třeba respektovat definované časové body, kdy je vyšetření HCV RNA indikováno. Časové body, kdy je vhodné vyšetření HCV RNA, se můžou u jednotlivých léčebných variant lišit, vždy byly však určeny tak, aby znalost HCV RNA v daném okamžiku měla vliv na předepsaný léčebný režim. Obecně jde o tyto indikace:

- ověření adherence pacienta k léčbě (týden 2 léčby) – u bezinterferonových režimů,

- rozhodnutí o ukončení či pokračování léčby, tzv. „futility rules“,
- rozhodnutí o případném zkrácení protivirové léčby, tzv. léčba vedená podle odpovědi (RGT, Response Guided Therapy),
- rozhodnutí o úspěchu léčby, tj. v okamžiku ukončení léčby a ve 12. a/nebo 24. týdnu po skončení léčby (SVR).

12.1.1 Monitorování účinnosti léčby u jednotlivých léčebných variant

PEG-IFN + RBV + sofosbuvir:

- zahájení léčby, týdny 4, 12 během léčby,
- týdny 12 a/nebo 24 po skončení léčby.

PEG-IFN + RBV + simeprevir:

- zahájení léčby, týdny 4, 12, 24 (konec léčby u dosud neléčených a přechodných relapsérů), + týden 48 (konec léčby u předchozích parciálních responderů a null-responderů),
- týdny 12 a/nebo 24 po skončení léčby,
- týdny 12 a/nebo 24 po skončení léčby.

Bezinterferonové režimy:

(SOF + SMV \pm RBV 12 týdnů, SOF + DCV \pm RBV 12/24 týdnů, SOF + RBV 12/24 týdnů)

- zahájení léčby, týdny 2, 4, 12, 24,
- týdny 12 a/nebo 24 po skončení léčby.

Pravidla **předčasného ukončení** („futility rules“) z důvodu minimální/nulové pravděpodobnosti dosažení SVR byla definována pouze pro trojkombinaci PEG-IFN + RBV + SMV: Léčba tímto režimem by měla být ukončena, pokud je HCV RNA ≥ 25 IU/ml v týdnu 4, 12 nebo 24.

Pro žádný jiný léčebný režim s novými DAA nebyla podobná pravidla definována.

12.2 Monitorování bezpečnosti léčby HCV infekce

Dosud nebyly definovány vhodné intervaly klinických kontrol z pohledu monitorování možných nežádoucích účinků léčby. Tyto je třeba individualizovat s ohledem na dostupná data o výskytu možných vážnějších nežádoucích reakcí.

Pacienti léčení protivirovými režimy se sofosbuvirem by měli mít pravidelně kontrolovány renální funkce. Simeprevir může být příčinou zvýšení sérové koncentrace nepřímého bilirubinu a kožních reakcí. 3D kombinace rovněž může vést ke vzestupu koncentrace nepřímého bilirubinu. Dosud bylo prokázáno, že u pacientů se mírnou, střední a těžkou renální insuficiencí není třeba redukovat dávky simepreviru, ledipasviru a daclatasviru. Vhodná redukce sofosbuviru u pacientů s eGFR ≤ 30 ml/min/1,73 m² nebyla dosud stanovena. Redukce dávek není třeba u kombinace sofosbuvir/ledipasvir ani u daclatasviru u pacientů s jaterní cirhózou funkční klasifikace Child-Pugh C. Vyšší sérové hladiny účinných látek byly pozorovány u 3D kombinace u cirhózy s jaterní dysfunkcí, a proto v této skupině je potřeba získat další data před vydáním finálních doporučení.

12.3 Monitorování lékových interakcí během léčby HCV infekce

Dostupné nové protivirové léky často přinášejí množství lékových interakcí. Proto je třeba během podávání nových

léčebných režimů opakovaně kontrolovat současné podávanou medikaci. V indikovaných případech je třeba konkomitantní léčbu přerušit (pokud lze) nebo zvolit alternativu s menším rizikem interakcí. Významnost interakcí si lze ověřit na www.hep-druginteractions.org.

13 Metody zvýšení adherence pacientů k léčbě

Plná adherence ke všem podávaným a výše diskutovaným preparátům je základní podmínkou dosažení vysoké úspěšnosti léčby, tj. vysoké SVR. Není-li tato podmínka splněna, je vysoké riziko selhání léčby, ať už ve formě breakthrough fenoménu, či relapsu HCV po skončení protivirové léčby, v případě podání DAA se dále zvyšuje také riziko vzniku virologické rezistence. Existuje několik základních opatření, jak adherenci zvýšit:

1. Před zahájením léčby je nutno s pacienty diskutovat veškeré možné a očekávané vedlejší účinky léčby. Je potřeba pacientům vysvětlit, že řadě z nich lze účinně zabránit či je terapeuticky ovlivnit v případě jejich rozvoje během protivirové léčby.
2. Klíčovým opatřením je přístup pacientů ke specialistům multidisciplinárního týmu s maximem zkušeností s terapií HCV infekce a se zvládnutím všech nežádoucích účinků, s monitoringem účinnosti a bezpečnosti protivirové léčby.
3. Alkohol negativně ovlivňuje výsledky protivirové léčby. Během léčby by proto měla být pacientům doporučována abstinence či maximální možná redukce jeho příjmu. Pacientům s pokračující konzumací alkoholu, kteří jinak dobře spolupracují, by protivirová léčba neměla být odmítnuta.

14 Péče o pacienty s dosaženou SVR

Pacienti bez jaterní cirhózy, kteří dosáhli SVR, by měli být znovu testováni ve 48. týdnu po skončení léčby. Pokud je v tomto okamžiku HCV RNA v krvi nedetekovatelná, je možno považovat HCV infekci za vyléčenou v daném případě a HCV RNA již dále nemusí být vyšetřována. V období 1 a 2 let po skončení protivirové léčby s režimy obsahujícími PEG-IFN je třeba kontrolovat funkci štítné žlázy. Pacienti se SVR, u nichž ale byly před zahájením protivirové léčby přítomny ještě jiné možné příčiny jaterního onemocnění (DM, zvýšený příjem alkoholu), by měli být dále sledováni v odborných poradnách. Interval sledování nebyl stanoven.

Pacienti s jaterní cirhózou, kteří dosáhnou SVR, by měli být zařazeni do programů surveillance HCC a měla by být u nich monitorována možná progresse portální hypertenze. U této skupiny nemocných je proto indikována abdominální sonografie v intervalu 6 měsíců, a pokud byly přítomny jícnové varixy před zahájením léčby, je třeba provádět endoskopické vyšetření v intervalu 1 roku. Další faktory, DM typu 2 či anamnéza abúzu alkoholu může tento navrhovaný postup modifikovat.

U osob s vysoce rizikovým chováním, jako jsou např. intravenózní uživatelé drog či homosexuálové, je třeba uvažovat i o riziku reinfekce. Riziko reinfekce je nicméně ma-

lé, publikovaná data se pohybují v rozmezí 1 až 5 % ročně. Reinfekci lze prokázat jen opakovaným vyšetřením HCV RNA v krvi.

15 Opakovaná léčba pacientů bez dosažení SVR

U pacientů infikovaných genotypem HCV 1, kteří byli léčení kombinací PEG-IFN + RBV + telaprevir či boceprevir, lze zvážit podání kombinace sofosbuviru a simepreviru. Zkušenosti s touto léčebnou variantou jsou dané pouze „real-life“ programem TRIO. SVR12 v tomto programu byla 83 %, což jsou stejné výsledky jako pro pacienty s neúspěchem kombinace PEG-IFN + RBV. SVR12 ve stejném programu při užití režimu PEG-IFN + RBV + SOF po dobu 12 týdnů byla 73 %.

Další variantou postupu je kombinace sofosbuviru a dclatasviru. Účinnost tohoto režimu (SVR) byla 100 % s ribavirinem a 95 % bez ribavirinu. V této populaci dosud nebyla zkoušena kombinace PEG-IFN + SOF + RBV. Na základě předběžných výsledků lze považovat v této indikaci za slibnou i kombinaci sofosbuviru a ledipasviru.

16 Léčba pacientů s hepatocelulárním karcinomem bez indikace k transplantaci jater

Pravidla léčby této skupiny pacientů se nijak neliší od pravidel probraných v předchozích kapitolách. U pacientů s možností jiné radikální léčby (resekce) je léčba jednoznačně indikovaná. U pacientů bez možnosti radikální léčby je nutno vždy individuálně zhodnotit prognózu pacienta a přínos léčby.

17 Léčba pacientů s pokročilým jaterním onemocněním

17.1 Kompenzovaná jaterní cirhóza

Pacienti s kompenzovanou jaterní cirhózou představují skupinu osob, u kterých by měla být protivirová léčba zahájena co nejdříve. Všechny komplikace jaterní cirhózy, dekompenzace, rozvoj HCC, se v této skupině může objevit v krátkém časovém horizontu. Snížení incidence dekompenzace a HCC v případech úspěšné léčby bylo prokázáno opakovaně meta-analýzami. Na druhou stranu je léčba těchto pokročilých stadií onemocnění spojena s nižší pravděpodobností dosažení SVR, a to i při použití režimů s DAA. Tito pokročilí pacienti rovněž vyžadují zvláštní péči ve smyslu prevence a včasné léčby závažných nebo potenciálně závažných nežádoucích účinků léčby. Jde většinou o pacienty, kteří jsou ve srovnání s pacienty bez cirhózy starší, mající řadu souběžné medikace, a tudíž také léčbu hůře snášejí. Preferovanými režimy v této skupině jsou v současné době bezinterferonové režimy. Použití režimů založených na interferonu se v současné době jeví jako racionální pouze v situaci, že bezinterferonové režimy nejsou dostupné.

17.2 Dekompenzovaná jaterní cirhóza

Pacienti s genotypem 1

Jediným režimem s prokázanou účinností a bezpečností u pacientů s dekompenzovanou jaterní cirhózou je fixní kom-

binace sofosbuviru (400 mg denně) s ledipasvirem (90 mg denně) po dobu 12 týdnů.

Pacienti s genotypy 2 a 3

Bezpečnost a účinnost byla prokázána pouze v menších studiích pro kombinaci sofosbuviru s ribavirinem po dobu 24 týdnů.

17.3 Pacienti indikovaní k transplantaci jater

Transplantace jater (Tx) je postupem volby u pacientů s konečným stadiem jaterního onemocnění. Rekurence HCV infekce s reinfekcí štěpu po Tx je prakticky 100%, což negativně ovlivňuje přežití příjemců i štěpů. U pacientů, kteří se připravují na Tx jater, musí být protivirová léčba vždy zvažována. Dosažení SVR před transplantací spolehlivě zabrání rekurenci HCV po transplantaci. V současné době je ale k dispozici účinná léčba i pro pacienty po transplantaci. Zahájení léčby před transplantací je nutno zvažovat i s ohledem na předpokládanou dobu čekání na transplantaci a pokročilost cirhózy. Účinnost léčby po transplantaci je totiž vyšší ve srovnání s pokročilými cirhotiky klasifikace C dle Child-Pugha. Léčbu před transplantací je nutno časovat tak, aby ji pacient mohl absolvovat pokud možno celou, transplantaci při léčbě lze připustit nejdříve po 30 dnech negativní virémie (HCV RNA).

Pacienti před transplantací jater mohou být léčeni kombinacemi antivirotik, která jsou výše popsána v odstavcích týkajících se léčby pacientů s kompenzovanou a dekompenzovanou cirhózou jater. Většina pacientů, kteří se připravují k transplantaci jater, jsou pacienti s dekompenzovanou cirhózou, jen asi 20 % z nich jsou kompenzovaní cirhotici, kteří jsou k transplantaci indikováni pro malý HCC v cirhóze.

17.4 Pacienti po transplantaci jater

Rekurence HCV infekce po Tx jater postihuje téměř všechny pacienty. Průběh infekce po Tx je akcelerován a přibližně u 1/3 pacientů se rozvine jaterní cirhóza během 5 let po Tx. V posledních letech se podařilo prokázat, že úspěšná protivirová léčba má velmi pozitivní vliv na přežití štěpu i pacienta.

Pacienti s potransplantační rekurencí infekce jsou proto kandidáty protivirové léčby. Dostupná data o účinnosti léčby v této skupině jsou omezená. Kombinace sofosbuvir + ribavirin po dobu 24 týdnů vedla k dosažení SVR12 u 70 % pacientů s lehkou formou rekurentní hepatitidy C (nebyli zařazováni pacienti s dekompenzovanou cirhózou štěpu a fibrotizující cholestatickou hepatitidou). Kombinace sofosbuviru a simepreviru byla účinná i u pacientů s těžkou rekurentní cholestatickou hepatitidou po Tx jater. Těžká forma rekurence byla úspěšně léčena i kombinací sofosbuviru s daclatasvirem.

17.4.1 Léčebné varianty po transplantaci jater

1. Pacienti s infekcí vyvolanou HCV genotypem 2 musí být léčeni kombinací ribavirinu ve standardním dávkování se sofosbuvirem 400 mg denně po dobu 12–24 týdnů.
2. Pacienti s infekcí vyvolanou HCV genotypem 1 mohou být léčeni fixní kombinací sofosbuviru 400 mg denně a ledipasvirem 90 mg denně po dobu 12–24 týdnů. K této kombinaci může být doplněn ribavirin v obvyklém dávkování.

U této kombinace není třeba změna dávkování tacrolimu a cyklosporinu.

3. Pacienti s infekcí vyvolanou HCV genotypy 1 a 3–6 mohou být léčeni kombinací sofosbuviru 400 mg denně a daclatasvirem 60 mg denně po dobu 12–24 týdnů. K této kombinaci může být doplněn ribavirin v obvyklém dávkování. U této kombinace není třeba změna dávkování tacrolimu a cyklosporinu.
4. Pacienti s HCV genotypem 1 nebo 4 mohou být léčeni kombinací sofosbuvir 400 mg denně, simeprevir 150 mg denně po dobu 12–24 týdnů. K této kombinaci může být doplněn ribavirin v obvyklém dávkování. Kombinace se simeprevirem se nedoporučuje u pacientů užívajících cyklosporin, dávkování tacrolimu není třeba měnit.
5. Pacienti s genotypem 1b mohou být léčeni kombinací paritapreviru, ombitasviru a dasabuviru s ribavirinem 12 týdnů, u genotypu 1a u pacientů s cirhózou by měla být délka léčby prodloužena na 24 týdnů. Při užití této kombinace je třeba redukovat dávku tacrolimu i cyklosporinu a respektovat i ostatní lékové interakce.

18 Léčba pacientů s komorbiditami

18.1 Koinfekce HBV/HCV

Neexistují zatím žádná obecně platná doporučení pro léčbu pacientů s koinfekcí HBV/HCV. Je nutný individuální přístup a postupné uplatňování nových zkušeností s léčbou těchto pacientů. U naprosté většiny těchto pacientů replikace HCV tlumí replikaci HBV, proto lze zpravidla v séru prokázat HCV RNA, zatímco sérová koncentrace HBV DNA je pod hranici detekovatelnosti. HCV je pak hlavním nositelem a příčinou jaterního postižení. Z uvedeného vyplývá, že u těchto osob je zapotřebí stanovit replikační aktivitu obou virů, tj. stanovit sérové hladiny HBV DNA i HCV RNA. Indikováno je i vyšetření sérologie HDV (případně i HDV RNA). Pokud je hlavním patogenetickým činitelem HCV, je třeba v případech koinfekce postupovat stejně jako u monoinfekce HCV. Po dosažení eliminace HCV je určité riziko reaktivace HBV. Pokud k této situaci dojde a objeví se významná replikace HBV, je indikováno zahájení léčby nukleotidovými analogy. Nukleotidová analoga jsou indikována jako součást protivirové léčby i v případě, že významná replikace HBV je přítomna i před zahájením protivirové léčby HCV infekce.

18.2 Pacienti v pravidelném dialyzačním léčení

Pacienti zařazení do pravidelného dialyzačního léčení (PDL) představují velmi speciální skupinu nemocných s chronickou HCV infekcí. HCV infekce je u pacientů v PDL asociována s vyšší všeobecnou i jaterní mortalitou. Hlavním faktorem limitujícím přežití těchto nemocných však zůstává kardiovaskulární morbidita. Největším rizikem vyplývajícím z HCV infekce je reaktivace infekce po transplantaci ledviny při imunosupresivní léčbě. K protivirové léčbě by měli proto být indikováni zejména hemodialyzovaní pacienti, kteří jsou vhodnými kandidáty transplantace ledviny.

V ostatních případech je třeba zcela individuální přístup, zvážení závažnosti jaterního postižení, celkové prognózy

nemocného a především možných rizik vyplývajících z podání protiviroidové léčby. Léčba pacientů v PDL by měla být vedena na pracovišti majícím s touto skupinou nemocných zkušenosti.

Použití ribavirinu u této populace je limitováno, dávkování je třeba individualizovat. Zprávy jsou o podávání ribavirinu 200 mg denně, 200 mg obden nebo 200 mg 3× týdně (vždy po hemodialýze). Z těchto důvodů by pacienti zařazení do PDL měli být léčeni preferenčně režimy bez interferonu a ideálně i bez ribavirinu. U pacientů bez jaterní cirhózy by léčba měla trvat 12 týdnů, u pacientů s jaterní cirhózou pak 24 týdnů.

Simeprevir, daclatasvir a 3D kombinace jsou eliminovány především játry, a proto se jeví jako rozumná varianta léčby u pacientů v PDL. Sofosbuvir by neměl být užit u pacientů s eGFR ≤ 30 ml/min/1,73 m². Důvodem tohoto doporučení je absence dat u takto pokročilé renální insuficience. U většiny dosud registrovaných DAA nejsou dostupná data umožňující definovat potřebné redukce dávek u pacientů s renální insuficiencí. Tyto léky by proto měly být užívány pouze s velkou opatrností a léčba by měla být vedena ve specializovaných centrech s velkou zkušeností s touto specifickou podskupinou nemocných.

18.3 Příjemci orgánových štěpů*

HCV infikovaní příjemci transplantované ledviny jsou ohroženi rychlým průběhem jaterní fibrózy. HCV přitom negativně ovlivňuje přežití štěpu i pacienta. Přežití pacienta je ovlivněno i dalšími faktory asociovanými s HCV (HCV asociovanou glomerulonefritidou), ale i faktory bez vztahu k HCV. I v této skupině nemocných je hlavním limitujícím faktorem kardiovaskulární morbidita. Přítomnost jaterní cirhózy v okamžiku Tx ledviny je jedním z nejvýznamnějších negativních faktorů asociovaných se špatnou prognózou po Tx. Z tohoto důvodu by u všech HCV RNA pozitivních kandidátů Tx ledviny měl být určen stupeň jaterní fibrózy před provedením Tx. U pacientů s jaterní cirhózou a portální hypertenzí, u kterých je léčba založená na podání PEG-IFN považována za kontraindikovanou, je možno považovat za kontraindikovanou i izolovanou Tx ledviny. Zvážena by měla být kombinovaná Tx jater a ledviny. Podání PEG-IFN po Tx ledviny je kontraindikováno pro riziko rejekce štěpu, proto existuje urgentní potřeba získat data o použití bezinterferonových režimů v této indikaci. Tato data nejsou dosud dostupná. Odmítnutí protiviroidové terapie pacientem není absolutní kontraindikací první transplantace ledviny. Podmínkou je nepřítomnost pokročilé fibrózy jater a nízká zánětlivá aktivita.

Data o HCV infekci u pacientů před nebo po transplantaci srdce jsou kontroverzní. Z možností protiviroidové léčby by měly být preferovány bezinterferonové režimy, zvážení rizik a přínosu je přísně individuální.

HCV infekce je považována v řadě center za kontraindikaci transplantace plic, perspektiva bezinterferonové léčby po transplantaci ale takovou kontraindikaci činí jen relativně.

18.4 Hemofilici

Charakteristiky HCV infekce u pacientů s různými typy hemofilií se nijak neliší od pacientů HCV pozitivních bez hemofilie. Metodou volby pro určení stadia jaterního postižení jsou v této skupině neinvazivní metody, v případech, kdy je indikováno měření portosystémového gradientu, lze provést současně i jaterní biopsii transjugulárním přístupem. Úmrtí z jaterních příčin patří v této skupině pacientů mezi nejčastější příčiny úmrtí. S výjimkou omezení pro jaterní biopsii je péče o HCV pozitivní hemofiliky stejná jako pro ostatní populaci. Nová DAA lze proto u této skupiny použít podle stejných pravidel.

18.5 Aktivní uživatelé drog

Drogová závislost je uvedena v Mezinárodní statistické klasifikaci nemocí a přidružených zdravotních problémů. Na pacienta drogově závislého je proto nutné pohlížet jako na člověka nemocného. Ani medicínsky, ani eticky není tedy odůvodnitelné odmítnutí jakékoliv léčby uživatelům drog. Rozhodující je vždy zvážení přínosu a rizika pro individuálního pacienta.

Aktivní abúzus alkoholu a drog negativně ovlivňuje adherenci k léčbě. Drogově závislí mají častější výskyt poruch mentálního zdraví, častější psychiatrické onemocnění. Obojí dále zhoršuje adherenci k terapii. Studie léčených pacientů s aktivní drogovou závislostí ukazují srovnatelný efekt terapie chronické HCV infekce s jinými skupinami infikovaných osob. Rychlá inhibice replikace viru hepatitidy C (již během 8 hodin po aplikaci interferonu) zabraňuje dalšímu šíření infekce.

Zcela zásadní podmínkou pro zahájení terapie je motivace pacienta a jeho adherence k terapii. Předčasné ukončení terapie na základě špatné adherence je častější v prvních 12 týdnech. Kontrolou pomůcek a další intervencí u uživatelů drog lze snížit riziko reinfekce.

K léčbě musí být pacient motivován a musí spolupracovat, aby bylo možno snížit riziko rozvoje závažných nežádoucích účinků terapie. Tyto často souvisejí se současným užíváním drog a kombinované protiviroidové terapie. Léčba drogově závislých je multifaktoriální a multioborová. Předpokládá zajištění psychiatrické intervence, sociálního šetření. Drogově závislý musí být před léčbou vyšetřen psychiatrem nebo lékařem pro léčbu závislosti. K uživatelům drog musí být vždy individuální přístup.

Pacienti na substituční léčbě jsou považováni za pacienty s kontrolovaným psychiatrickým onemocněním. Postup, diagnostika a terapie virové hepatitidy C u spolupracujícího pacienta, u pacienta s aktivní drogovou závislostí (nebo na substituční terapii) je shodný s doporučeným postupem u pacientů bez závislosti.

18.6 Akutní HCV infekce

Průběh akutní HCV infekce je ve většině případů asymptomatický, ale ke chronickému průběhu onemocnění dochází v 50–90 % případů. Symptomatický průběh, ženské pohlaví, nižší věk a genotyp *IL28B CC* jsou faktory asocio-

* S výjimkou jater

vané se spontánní eliminací viru. Žádný z těchto parametrů však nemá dostatečnou individuální prediktivní hodnotu. Pacienti s diagnostikovanou akutní hepatitidou C by měli být považováni za kandidáty protivirotické léčby. V této skupině pacientů bylo dosaženo SVR > 90 % při podání monoterapie PEG-IFN alfa. Doplnění ribavirinu do kombinace v této indikaci nijak nenavýšuje SVR. Data s novými DAA v indikaci akutní HCV infekce nebyla dosud publikována.

Ideální okamžik zahájení protivirotické léčby nebyl u akutní HCV infekce definován. Někteří autoři považují za ideální okamžik k zahájení léčby okamžik vzniku elevace ALT, a to bez ohledu na přítomnost či absenci dalších klinických příznaků. Alternativou postupu je vyčkat do 12. týdne od vzniku příznaků a léčbu zahájit pouze u osob, které jsou i v tomto okamžiku HCV RNA pozitivní. Tento postup se jeví racionální především v symptomatických případech u osob s genotypem CC lokusu rs12979860 genu *IL28B*.

19 Sledování pacientů neléčených a pacientů s neúspěšnou léčbou

Pacienti neléčení a pacienti s prodělanou neúspěšnou terapií (tj. bez SVR) by měli být dále pravidelně sledováni. Základním pravidlem má být zdokumentování důvodu nepodání protivirotické léčby v daném okamžiku a případně typu odpovědi na předchozí protivirotickou léčbu a pravděpodobného důvodu selhání předchozí léčby (zejména při suspekci na špatnou adherenci k léčbě). Neléčení pacienti by měli podstoupit kompletní vyšetření každých 12–24 měsíců, v intervalu 2 let může být provedeno i neinvazivní měření stadia jaterní fibrózy. Pacienti s jaterní cirhózou by měli absolvovat program surveillance HCC, tj. abdominální ultrasonografii každých 6 měsíců.

20 Vakcinace proti ostatním virovým infekcím jater

Všichni pacienti s chronickou HCV infekcí by měli být očkováni proti virové hepatitidě A. Séronegativní pacienti (tj. HBsAg a anti-HBs negativní) by měli být očkováni i proti virové hepatitidě B.

Literatura

1. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2015, www.easl.eu
2. Jensen DM, O'Leary JG, Pockros PJ, Sherman KE, Kwo PY, Mailliard ME, et al. Safety and efficacy of sofosbuvir-containing regimens for hepatitis C: realworld experience in a diverse, longitudinal observational cohort. *Hepatology.* 2014;60:219A.
3. Dieterich D, Bacon BR, Flamm SL, Kowdley KV, Milligan S, Tsai N, et al. Evaluation of sofosbuvir and simeprevir-based regimens in the TRIO network: academic and community treatment of a real-world, heterogeneous population. *Hepatology.* 2014;60:220A.
4. Lawitz E, Sulkowski MS, Ghalib R, Rodriguez-Torres M, Younossi ZM, Corregidor A, et al. Simeprevir plus sofosbuvir, with or without ribavirin, to treat chronic infection with hepatitis C virus genotype 1 in non-responders to pegylated interferon and ribavirin and treatment-naive patients: the COSMOS randomized study. *Lancet.* 2014;384:1756–1765.
5. Sulkowski MS, Gardiner DF, Rodriguez-Torres M, Reddy KR, Hassanein T, Jacobson I, et al. Daclatasvir plus sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. *N Engl J Med.* 2014;370:211–221.
6. Afzal N, Zeuzem S, Kwo P, Chojkier M, Gitlin N, Puoti M, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 2014;370:1889–1898.

7. Bourliere M, Bronowicki JP, de Ledinghen V, Hézode C, Zoulim F, Mathurin P, et al. Ledipasvir/sofosbuvir fixed dose combination is safe and efficacious in cirrhotic patients who have previously failed protease-inhibitor based triple therapy. *Hepatology.* 2014;60:1271A.
8. Feld JJ, Kowdley KV, Coakley E, Sigal S, Nelson DR, Crawford D, et al. Treatment of HCV with ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin. *N Engl J Med.* 2014;370:1594–1603.
9. Ferenci P, Bernstein D, Lalezari J, Cohen D, Luo Y, Cooper C, et al. ABT-450/ombitasvir and dasabuvir with or without ribavirin for HCV. *N Engl J Med.* 2014;370:1983–1992.
10. Wyles DL, Sulkowski MS, Eron JJ, Trinh R, Lalezari J, Slim J, et al. TURQUOISE-I: 94% SVR12 in HCV/HIV-1 coinfecting patients treated with ABT-450/r-ombitasvir, dasabuvir and ribavirin. *Hepatology.* 2014;60:1136A.
11. Zeuzem S, Jacobson IM, Baykal T, Marinho RT, Poordad F, Bourliere M, et al. Retreatment of HCV with ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin. *N Engl J Med.* 2014;370:1604–1614.
12. Andreone P, Colombo MG, Enejosa JV, Koksai I, Ferenci P, Maieron A, et al. ABT-450, ritonavir, ombitasvir, and dasabuvir achieves 97% and 100% sustained virologic response with or without ribavirin in treatment experienced patients with HCV genotype 1b infection. *Gastroenterology.* 2014;147:359–365.
13. Poordad F, Hezode C, Trinh R, Kowdley KV, Zeuzem S, Agarwal K, et al. ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin for hepatitis C with cirrhosis. *N Engl J Med.* 2014;370:1973–1982.
14. Jacobson IM, Gordon SC, Kowdley KV, Yoshida EM, Rodriguez-Torres M, Sulkowski MS, et al. Sofosbuvir for hepatitis C genotype 2 or 3 in patients without treatment options. *N Engl J Med.* 2013;368:1867–1877.
15. Zeuzem S, Dusheiko GM, Salupere R, Mangia A, Flisiak R, Hyland RH, et al. Sofosbuvir and ribavirin in HCV genotypes 2 and 3. *N Engl J Med.* 2014;370:1993–2001.
16. Esteban R, Nyberg L, Lalezari J, Ni L, Doehe B, Kanwar B, et al. Successful retreatment with sofosbuvir-containing regimens for HCV genotype 2 or 3 infected patients who failed prior sofosbuvir plus ribavirin therapy. *J Hepatol.* 2014;60:S4.
17. Lawitz E, Poordad F, Brainard DM, Hyland RH, An D, Symonds WT, et al. Sofosbuvir in combination with PegIFN and ribavirin for 12 weeks provides high SVR rates in HCV-infected genotype 2 or 3 treatment-experienced patients with and without compensated cirrhosis: results from the LONESTAR-2 study. *Hepatology.* 2013;58:1380A.
18. Lawitz E, Mangia A, Wyles D, Rodriguez-Torres M, Hassanein T, Gordon SC, et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med.* 2013;368:1878–1887.
19. Nelson DR, Cooper JN, Lalezari JP, Lawitz E, Pockros PJ, Gitlin N, et al. Alloral 12-week treatment with daclatasvir plus sofosbuvir in patients with hepatitis C virus genotype 3 infection: ALLY-3 phase 3 study. *Hepatology.* 2015;61:1127–1135.
20. Moreno C, Hezode C, Marcellin P, Bourgeois S, Francque S, Samuel D, et al. Efficacy and safety of simeprevir with PegIFN/ribavirin in naive or experienced patients infected with chronic HCV genotype 4. *J Hepatol.* 2015, v tisku.
21. Kapoor R, Kohli A, Sidharthan S, Sims Z, Petersen TL, Osinusi A, et al. All-oral treatment for genotype 4 chronic hepatitis C infection with sofosbuvir and ledipasvir: interim results from the NIAID SYNERGY trial. *Hepatology.* 2014;60:321A.
22. Pol S, Reddy KR, Baykal T, Hezode C, Hassanein T, Marcellin P, et al. Interferon-free regimens of ombitasvir and ABT-450/r with or without ribavirin in patients with HCV genotype 4 infection: PEARL-I study results. *Hepatology.* 2014;60:1129A.
23. Castera L, Sebastiani G, Le Bail B, de Ledinghen V, Couzigou P, Alberti A. Prospective comparison of two algorithms combining non-invasive methods for staging liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2010;52:191–198.
24. Castera L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 2005;128:343–350.
25. Lawitz E, Forns X, Zeuzem S, Gane E, Bronowicki JP, Andreone P, et al. Simeprevir (TMC435) with peginterferon/ribavirin for treatment of chronic HCV genotype 1 infection in patients who relapsed after previous interferon-based therapy: results from PROMISE, a Phase III trial. *Gastroenterology.* 2013;144:S151–S151.
26. Gane EJ, Stedman CA, Hyland RH, Ding X, Svarovskaia E, Symonds WT, et al. Nucleotide polymerase inhibitor sofosbuvir plus ribavirin for hepatitis C. *N Engl J Med.* 2013;368:34–44.
27. Sulkowski MS, Rodriguez-Torres M, Lalezari JP, Fessel WJ, Mounzer K, Shuhart MC, et al. All-Oral therapy with sofosbuvir plus ribavirin for the treatment of HCV genotype 1, 2, and 3 infection in patients co-infected with HIV (PHOTON-1). *Hepatology.* 2013;58(Suppl. 1):313A–314A.
28. Fontana RJ, Hughes EA, Bifano M, Appelman H, Dimitrova D, Hinds R, et al. Sofosbuvir and daclatasvir combination therapy in a liver transplant recipient with severe recurrent cholestatic hepatitis C. *Am J Transplant.* 2013;13:1601–1605.
29. Zeuzem S, Dusheiko G, Salupere R, Mangia A, Flisiak R, Hyland RH, et al. Sofosbuvir plus ribavirin for 12 or 24 weeks for patients with HCV genotype 2 or 3: the VALENCE trial. *Hepatology.* 2013;58(Suppl. 1):733A.
30. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep.* 1998;47(RR-19):1–39.

Možná zdravotní rizika u nově příchozích žadatelů o azyl z neevropských zemí

RUDOLF BALOUN

Interní ambulance Neureichenau, SRN a Záchraná služba Bayerisches Rotes Kreuz KV Freyung-Grafenau, Bavorsko, SRN

Vážená redakce,

dovoluji si, na základě prvních zkušeností se zdravotní péčí o žadatele o azyl ve Spolkové republice Německo a na základě podnětů a četných kuloárních diskuzí s kolegy na posledním Kongresu klinické mikrobiologie, infekčních nemocí a epidemiologie, zaslat několik bodů k další interní oborové diskuzi. Téměř jakákoliv zmínka ohledně žadatelů o azyl v rámci zemí Evropské unie je velmi sledovaným tématem, a proto se velmi lehce může stát (a pravidelně stává) terčem nejen odborné, ale i politické či veřejné kritiky. V tomto smyslu je, dle mého názoru a dosavadních zkušeností, potřeba vést odbornou diskuzi interně, a to zejména s ohledem na možnost vyvolání zbytečné paniky veřejnosti při nesprávné interpretaci dat. Na druhou stranu je potřeba se připravit v rámci národních plánů při poskytování zdravotní péče uprchlíkům na možná hygienicko-epidemiologická rizika, která mohou přicházet v úvahu.

Jaký kolektiv pacientů máme před sebou?

Dle statistiky ze září 2015 se žadatelé o azyl v SRN nejčastěji rekrutují z následujících zemí („top ten“): Sýrie, Albánie, Kosovo, Afganistan, Irák, Srbsko, Makedonie, Eritrea, Pákistán, kategorie „země původu nezjištěna“ (seřazeno sestupně dle četnosti žádostí o azyl) [1]. Při kontaktu s uprchlíky v rámci dobrovolných služeb se setkáváme s pacienty, kteří jsou již často mnoho měsíců na cestě do cílové země, dále nezřídka s pacienty, kteří dle zjevných známek násilí prošli útrapami mučení. Další skupinou jsou těhotné pacientky bez zdravotnické dokumentace a pacienti vyššího věku s přidruženými chronickými chorobami v běžném spektru. Zpravidla všem společný je pobyt mnoha osob v jedné místnosti s omezenými možnostmi osobní hygieny a těsným kontaktem osob. Očkovací průkazy častokrát nelze dohledat. Lze tedy shrnout, že v popsáných případech se jedná o osoby, na něž lze z výše popsáných důvodů a kombinovaných příčin nahlížet jako na náchylnější k infekčním nemocem.

Diferenciálně diagnostický přístup

Především je, dle mého názoru, potřeba poskytnout zdravotníkům první linie a neinfektologům stručný diferenciálně diagnostický přehled infekčních onemocnění, u nichž je pravděpodobné, že by se mohla u uprchlíků vyskytnout a jejichž výskyt je v západní a střední Evropě t. č. raritní nebo se vyskytují sporadicky jen u importovaných nákaz. Velmi stručný přehled těchto infekčních onemocnění a bližší komentář přináší *tabulka 1* [4]. Nelze totiž předpokládat, že vzhledem k všeobecnému nedostatku infektologů a dále

vzhledem k obrovskému množství nově příchozích uprchlíků do Evropy budou tito pacienti léčeni odborníky na infekční nemoci. Dle dosavadní vlastní zkušenosti je zatím medicínská péče v SRN o uprchlíky provizorně zajištěna, převážně však na dobrovolné bázi (dobrovolníci z řad lékařů různých odborností i zdravotnický personál drží „služby“ a poskytují primární péči ve stanech a velkých halách či ubytovnách), což už nyní naráží na osobní limity jednotlivců.

Tuberkulóza

V případech většiny přenosných nemocí uprchlíků obvykle nehrozí při zajištění dostatečných hygienicko-epidemiologických opatření rozsáhlejší epidemie ani zvýšené riziko pro domácí populaci. Problémem by však mohla do budoucna být tuberkulóza. Oficiálně dostupná data z národních registrů sahají pouze do roku 2013, kdy lze pozorovat pozvolný nárůst incidence tuberkulózy. Zejména znepokojující je nárůst multirezistentní tuberkulózy v SRN (MDR-TB) mezi roky 2012 (2,1 %) a 2013 (3,4 %), přičemž tento nárůst je vyšší než ve většině ostatních evropských zemí s nízkou incidencí tuberkulózy [3]. Současně lze od roku 2007 pozorovat rychlejší nárůst cizinců na území SRN, přičemž podíl tohoto obyvatelstva na celkovém počtu hlášených případů TBC je více než poloviční [3]. Vyšší výskyt tuberkulózy byl přitom zaznamenán také u druhé generace uprchlíků, kteří se natrvalo usadili v SRN [2]. Pokud se jedná o nejnovější nepublikovanou německou statistiku ohledně incidence tuberkulózy, ústním sdělením od prof. T. Weltheho (Medizinische Hochschule Hannover) bylo prezentováno číslo nárůstu incidence TBC 2,5× od začátku roku 2014. Kromě toho jsou lůžkové kapacity pro léčbu TBC v SRN t. č. (9/2015) téměř 100% vytíženy (i po rozšíření kapacit v Heidelbergu).

Multirezistentní původci a zdravotnická zařízení

Dalším kuloárním tématem mezi infektology se také v souvislosti s uprchlickou krizí v SRN stala problematika nosičství ESBL (*Extended spectrum beta-lactamase*) multirezistentních bakterií včetně obávaného New Delhi metalo- β -laktamázy-1 (NDM-1) mezi uprchlíky. Při výše uvedeném spektru národností je více než pravděpodobné, že promořeni asymptomaticí nosiči s ESBL kmeny budou hojně zastoupeni. Také po mnohatýdenní cestě uprchlíků jednou z tras vedoucích ze Sýrie do Iráku přes Turecko lodí do Řecka lze očekávat možnost dalšího akvírování multirezistentních bakterií, například z potravního řetězce. Jak jednodu-

Tabulka 1: Infekční choroby vyskytující se vzácně v západní a střední Evropě, které mívají akutní průběh a mohou imponovat již při prvním vyšetření, neléčené mohou být spojeny s vysokou letalitou a mají delší inkubační dobu nebo delší průběh či mohou být akvirovány na útku (tabulka modifikována a přeložena autorem článku s laskavým svolením Robert Koch – Institutu v Berlíně.)

Stáří	Onemocnění / Původce	Inkubační doba	Symptomy, klinické příznaky			Interhumánní přenos	Riziko přenosu v hromadných ubytovnách	Akvizice na útku	Výskyt, endemické oblasti				Země západního Balkánu			
			Horečka, celková alterace	Kožní projevy	Jiné příznaky a symptomy				Eritrea/ Africký roh	Subsaharská Afrika	Ruská federace a Gruzie	Pákistán a Afghánistán		Syrie a Irák		
Všechny věkové skupiny	Malárie (<i>m.j. Plasmodium falciparum</i>)	7 – 50 dní a více, dle původce	ano, horečka ve špičkách	ne	často také gastrointestinální symptomy ev. akutní napadení vsí šatní, často neurot. příznaky, ikterus	ne	ne	jen endemické země	ano	ne	ne	ano	ne	ne		
	Návratný tyfus (<i>Borrelia recurrentis</i>)	5 -15 dní	ano, horečka ve špičkách	pruritus; event. petechie	ev. akutní napadení vsí šatní, často neurot. příznaky, ikterus	ne	malé (veš šatní)	ano	ano	ne	vzácně	vzácně	ne	ne		
	Skvrnitý tyfus (<i>Rickettsia prowazekii</i>)	1 - 2 týdny	ano, horečka ve špičkách	pruritus, makul. exantém, část. splyňující (především trup)	ev. akutní napadení vsí šatní, v průběhu somnolence	ne	malé (veš šatní)	ano	ano	vzácně, jen Súdán	vzácně	ano	vzácně	ne	ne	
	Tyfus (<i>Salmonella Typhi</i>)	3 – 60 dní, nejčastěji 8 – 14 dní	ano, kontinuální horečka	zřídka roseola (většinou na břiše)	meteorismus, zácpa, somnolence, relativní bradykardie	přes fekálně kontaminované potraviny	fekálně kontaminované potraviny	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ne	ne	
	Amébový jaterní absces (<i>Eitamoeba histolytica</i>)	dny až týdny	ano	ne	bolesti v krajní jaterní	přes fekálně kontaminované potraviny	fekálně kontaminované potraviny	ano	ano	ano	vzácně, jen Gruzie	ano	vzácně	vzácně	vzácně	
	Viscerální leishmanióza (<i>Leishmania spp.</i>)	2 – 6 měsíců nebo déle	ano	ne	akutní či subak. průběh, hepatosplenomegalie, pancytopenie	ne	ne	ano	ano	ano	vzácně, jen Gruzie	vzácně	především Irák	vzácně	ne	
	Horečka Lassa (<i>Lassavirus</i>)	6 – 21 dní	ano	spíše ne	možné krvácivé projevy	ano, i nozokomiální	možné (především při péči o nemocné)	jen endemické země	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne
	Krymsko-konžská horečka (CCHF- <i>Virus</i>)	1 – 12 dní	ano, většinou kontinuální vysoká horečka	často petechie	relativní bradykardie, možný i průjem	ano, i nozokomiální	možné (především při péči o nemocné)	jen endemické země	jen Etiopie	ano	ano	ano	ano	jen Irák	ano	ano
	Meningitida (<i>Neisseria meningitidis</i>)	1 – 12 dní	ano	často petechie, ekchymózy	meningeální příznaky, somnolence	ano	ano	ano	obecný výskyt	především Sahel	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt
	Leptospiroza (<i>Leptospira interrogans</i>)	nejč. 5 – 14 dní	ano	zřídka	ikterus s injekcí spojivek, mening. příznaky, hemoptýza	ne	ne	ano	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt
Tetanus (<i>Clostridium tetani</i>)	nejč. 3 – 14 dní	horečka zřídka	ne	bolestivé spazmy, risus sardonicus, trismus, dystagie	ne	ne	ano	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	
Tuberkulózní meningitida (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>)	týdny až měsíce	ano	ne	somnolence, bolesti hlavy, poruchy vědomí, mening. příznaky	ano (malé děti většinou nejsou infekční)	ano (malé děti většinou nejsou infekční)	ano	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	
Jiné bakteriální meningitidy (<i>např. Haemophilus influenzae b</i>)	několik dní	ano	ne	mening. příznaky, somnolence	mezi neočkovanými dětmi	mezi neočkovanými dětmi	ano	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	obecný výskyt	

V tabulce dále nejsou uvedeny tyto choroby (které se však mohou mezi uprchlíky vyskytovat, a je také nutné na ně diferencially diagnosticky brát zřetel): a) se subakutním průběhem nebo bez rizika interhum. přenosu – polio, brucelóza, endemický tyfus, febrivirozy, zákopová horečka, bilharzióza, filarióza, klíšťový návratný tyfus; b) choroby běžné se u nás vyskytující – plícní tuberkulóza, tularémie, shigelóza, paratyfus, hepatitida A, klíšťová meningoencefalitida, spalničky, varicela, ramné infekce (vč. sněh slizinné), giardiáza, jakož i ostatní gastroenteritidy; c) choroby, jejichž inkubační doba je příliš krátká a přenos na útku je nepravděpodobný nebo nemožný – horečka Dengue, Chikungunya, žlutá zimnice, cholera, ebola, horečka Marburg, mor; d) neléčaná infekce HIV a s ní spojené oportunní infekce; e) infekce kůže – lepra, mykózy, skabies.

ché je přivést si s sebou po dvoutýdenním pobytu například v Indii nechtěný „suvénýr“ v podobě ESBL kolonizace, dokládá například práce z roku 2012 [6]. Pro Sýrii ESBL – epidemiologická data chybějí, nicméně lze dohledat řadu prací na toto téma z okolních zemí, recentně publikovaná práce například upozorňuje na možnost šíření NDM-1 kmenů ze Sýrie do Turecka [5]. Ohrožení pro obecnou populaci je zde nejspíše minimální, nicméně problém může nastat při nutnosti hospitalizace takovýchto pacientů v nemocnicích, a to zejména na jednotkách intenzivní péče. Je také otázkou, nakolik jsou nemocniční zařízení v SRN na takovou situaci připravena a také nakolik je rozšířeno povědomí u neinfektologů ohledně této problematiky. Pro nekonzistentnost dat je také obtížné validně stanovit, jaká bariérová opatření je potřeba přijmout při příjmu pacientů kolonizovaných ESBL. Více evidence o opatřeních ohledně hospitalizovaných ESBL-kolonizovaných pacientů se dozvíme z evropského projektu „R-GNOSIS“, který ještě probíhá (<http://www.r-gnosis.eu>). Při uvažované migraci cca 800 000 lidí do SRN jen pro rok 2015 se určitě nutnosti hospitalizace těchto pacientů nelze vyhnout.

Závěr

1. Největším zdravotnickým úkolem bude při péči o uprchlíky jistě i u nás běžné spektrum chorob jak neinfekčních, tak infekčních.
2. Znalost základní problematiky cestovní medicíny – dobře odebraná anamnéza (obvykle jsou k dispozici tlumočníci, jsou vydávány anamnestické dotazníky ve více arabských jazycích...) a vysoký stupeň podezření pomohou při stanovení správné diagnózy, v případě nejasností je vždy možné kontaktovat odborníky s erudicí v přenosných, tropických a parazitárních chorobách. Tyto případy jsou spíše výjimečné.
3. Daleko větším logistickým i zdravotnickým problémem se mohou stát pacienti kolonizovaní ESBL kmeny a dále pacienti s tuberkulózou. V souvislosti s jasným nárůstem incidence tuberkulózy v SRN musí být vyvíjen tlak zejména na včasnou a přesnou diagnostiku, dobrou depistáž hygienické služby, zvýšení kapacit ftizeologických pracovišť a v neposlední řadě také na správnou lékovou (a antibiotickou) politiku: Například na semináři „Gram-negative Superbugs – Wie richtig reagieren?“ v září t. r.

v Hamburku se rozvinula diskuze, vedená prof. Grangerem z Vídně, na téma dalšího používání rifampicinu (ale třeba i moxifloxacinu) v léčbě netuberkulózních pacientů (osteomyelitida, infekční endokarditida...). Padlo zde jasné doporučení zcela vyřadit rifampicin z lékového arzenálu mimo tuberkulózu.

4. Panika a hysterie mezi odbornou i laickou veřejností nikdy nepřispěje k řešení problému. I přes tlak médií, radiálních skupin, populistů a dalších zájmových skupin nejlépe přispěje ke kvalitní medicínské péči navázání dobrého kontaktu s pacientem, profesionalita a co nejvíce lidský přístup.
5. Kompletní a co nejčasnější očkování (nejen) nově přichozích nás jistě ušetří zbytečných medicínských zásahů a přispěje snížením nemocnosti k rychlejší integraci uprchlíků.
6. Vzhledem k zatím malému počtu uprchlíků v ČR bychom se mohli lépe na nastíněné problémy připravit a v rámci interní oborové diskuze navrhnout společnou národní medicínskou strategii. Německé zkušenosti by nám mohly být v tomto směru užitečné.
7. Další restriktce antibiotické léčby, například dle vzoru skandinávských zemí.

Literatura:

1. BAMF. Asylgeschäftsstatistik für den Monat September 2015. Available from: http://www.bamf.de/SharedDocs/Anlagen/DE/Downloads/Infothek/Statistik/Asyl/201509-statistik-anlage-asyl-geschaeftsbericht.pdf?__blob=publicationFile
2. Marx FM, Fiebig L, Hauer B, et al. Higher Rate of Tuberculosis in Second Generation Migrants Compared to Native Residents in a Metropolitan Setting in Western Europe. Hill PC, ed. PLoS ONE. 2015;10(6):e0119693. doi:10.1371/journal.pone.0119693.
3. Brodhun B, Altmann D, Hauer B, Fiebig L, Haas W. Current epidemiology of tuberculosis in Germany. Pneumologie. 2015 May;69(5):263–70. doi:10.1055/s-0034-1391922. Epub 2015 May 13. German. PubMed PMID: 25970119.
4. Robert Koch – Institut. Epidemiologisches Bulletin 2015;38:414.
5. Heydari F, Mammina C, Koksai F. NDM-1-producing *Acinetobacter baumannii* ST85 now in Turkey, including one isolate from a Syrian refugee. *J Med Microbiol*. 2015;64(9):1027–1029. doi: 10.1099/jmm.0.000132.
6. Islam S. High rates of ESBL-producing *Escherichia coli* in young children who traveled recently to India. *Pediatr Infect Dis J*. 2012;31(10):1103.

MUDr. Rudolf Baloun
Dreisesselstr. 43, 940 89 Neureichenau
Spolková republika Německo
e-mail: rudolf.baloun@email.cz

Erratum

Redakce KMILu se tímto omlouvá autorkám přehledového článku – D. Smíšková, O. Džupová: **Invazivní infekce vyvolané *Pasteurella multocida*: popis dvou případů a přehled literatury** a zároveň i čtenářům za chybu, která vznikla při jazykové korektuře. Došlo k záměně pojmu ranná infekce za raná infekce.

Děkujeme

ABSTRAKTA

Kongresu klinické mikrobiologie, infekčních nemocí a epidemiologie – KMINE 2015 23.–25. září 2015, Špindlerův mlýn

Volná sdělení – lékaři (1. část)

Botulismus – co nového? Kazuistika dalšího případu botulismu na infekční klinice Nemocnice Na Bulovce

Ambrožová H., Smíšková D.

Klinika infekčních nemocí, 2. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha

Výskyt botulismu, potenciálně život ohrožující alimentární intoxikace vyvolané neurotoxigenními klostridii *Clostridium botulinum*, případně *Clostridium butyricum* či *Clostridium baratii*, je v České republice ojedinělý. Od r. 2005 do letošního července bylo hlášeno jen 13 případů, přičemž v některých letech se nevyskytl ani jeden. Na naší klinice jsme zaznamenali v posledních třech letech čtyři z celkem šesti hlášených. Uvádíme kazuistiku posledního (a zatím v ČR jediného) letošního případu. Jednalo se o 32letou ženu, která byla hospitalizována na infekční klinice Nemocnice Na Bulovce od 27. 3. do 9. 4. 2015. Onemocnění začalo 21. 3. bolestmi v zádech a pocitem rozostřeného vidění, v dalších dnech se přidala větší žízeň, dysfagie s potížemi při polykání tuhého sousta, obtíže a dvojité vidění. Čtvrtý den onemocnění byla pacientka vyšetřena ambulantně na neurologické klinice Fakultní nemocnice v Motole, CT hlavy negativní, další den v okresní nemocnici provedená MR byla rovněž negativní. Pro progredující obtíže (dysarthrie, poruchy mikce) byla přijata na neurologickou kliniku Fakultní nemocnice v Motole, provedená LP s negativním nálezem; po celou dobu afebrilní. K nám byla přeložena 27. 3. 2015 s podezřením na botulismus. Klinický obraz při přijetí byl typický – pocit sucha v ústech, diplopie, mydriáza, ptóza víček, paréza n. VI a symetrická paréza n. VII, hypomimie, dysfagie, dysarthrie, celková slabost, obtíže a porucha mikce. Po podání antitoxinu Botulism – Antitoxin Behring došlo postupně k ústupu příznaků. Nebylo nutné zavedení nazogastrické sondy ani umělá plicní ventilace a pacientka byla po čtyřech dnech pobytu na JIP přeložena na standardní oddělení. Diagnóza byla potvrzena průkazem botulotoxinu pokusem na myších v laboratoři bakteriologie Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě. Zdroj onemocnění zůstává nejasný, v epidemiologické anamnéze pacientka uvedla postupně od 18. 3. do 21. 3. 2015 požití sushi ve vlaku, párků v plastovém obalu a nakládané zeleniny zakoupených v obchodním řetězci. Na onemocnění upozorňujeme proto, že vzhledem k jeho ojedinělému výskytu se na něj nemyslí a diagnostika trvá někdy

zbytečně dlouho – v daném případě týden od prvních příznaků.

Využití IGRA testů v nepřímé diagnostice tuberkulózy

Amlerová J.

Ústav mikrobiologie, Fakultní nemocnice v Plzni

Česká republika patří mezi země s nízkým výskytem tuberkulózy (TB). V roce 2014 byla incidence TB v ČR 4,9 nových případů na 100 000 obyvatel (zdroj: ÚZIS).

Proces diagnostiky TB vyžaduje spolupráci mnoha lékařských oborů. Jednoznačným potvrzením diagnózy je pouze přímý průkaz bakterií komplexu *Mycobacterium tuberculosis* ve vzorku klinického materiálu. Ostatní metody, například metody nepřímého průkazu, mohou pomoci stanovit diagnózu TB tam, kde je přímý průkaz neúspěšný nebo nemožný.

Ve sdělení je uveden přehled výsledků vyšetření 270 pacientů. U všech byly provedeny obě metody IGRA – QuantiFERON®-TB Gold In-Tube (Cellestis, Chadstone, Victoria, Australia) (QFT) a T-SPOT®.TB (Oxford Immunotec, Abingdon, Oxfordshire, UK). Do souboru byly zařazeny vzorky krve odebrané z jedné venepunkce nebo s odstupem maximálně 14 dnů (průměr 2,3 dne). Shoda výsledků obou metod byla prokázána u 224 pacientů (90,4 %). 25 výsledků QFT bylo neurčených, z nich pak byl T-SPOT®.TB test negativní u 23 vzorků.

Ze sdělení je zřejmé, že klíčový význam mají IGRA metody v diagnostice latentní tuberkulózy. Mohou umožnit včasnou intervenci u pacienta a zabránit rozvoji aktivní formy nemoci.

Ze zjištěných závěrů vyplývá, že každá z těchto metod má svoje výhody i omezení. QuantiFERON®-TB Gold In-Tube je metodou méně náročnou na provedení a na provoz laboratoře, T-SPOT®.TB umožňuje přesnější interpretaci vzhledem ke standardnímu počtu aktivních lymfocytů v reakci. Volba používané metody závisí na provozu laboratoře a také na spektru vyšetřovaných pacientů.

Zásadní zůstává interpretace výsledku v souvislosti s ostatními nálezy a stavem pacienta. V případě hraničních hodnot výsledků a při diskrepanci výsledku s dalšími nálezy je vhodná confirmace druhou metodou nebo opakování vyšetření.

HIV/hepatitis koinfekce: současná situace v České republice

Aster V., Snopková S., Poláková A., Chlábek R., Malý M., Němeček V., König J.

Infekční klinika Nemocnice Na Bulovce, 1. LF UK, Praha, Infekční oddělení, Krajská Nemocnice Liberec, s. r. o.

Východiska: K nejzávažnějším komorbiditám u HIV infikovaných osob patří v současnosti koinfekce virovými hepatitidami B a C. Vzhledem k rychlejší progresi onemocnění je léčba virových hepatitid u HIV infikovaných pacientů preferována. Nové léčebné možnosti znamenají zejména pro HIV/HCV koinfikované pacienty díky nastupující éře přímo působících antivirotik významnou šanci na delší přežívání a zlepšení kvality života. Současné možnosti léčby hepatitidy C jsou v České republice omezené zejména z důvodu vysokých léčebných nákladů. Vzhledem k současným významným změnám v léčebných strategiích si autoři vybrali za cíl sdělení zjistit současnou situaci výskytu HIV/HSV a HIV/HCV koinfekcí v ČR, distribuci jednotlivých HCV genotypů a dosavadní výsledky léčby VHC.

Soubor a jeho definování: Pro zjištění situace HIV/HSV a HIV/HCV koinfekcí byla použita data ze dvou center v České republice: z AIDS-Centra Praha a z AIDS-Centra Brno. V pražském AIDS-Centru byly zjišťovány markery VHB u 961 pacientů, markery VHC u 935 pacientů. V brněnském centru byly markery obou virových hepatitid zjišťovány u 162 pacientů. Distribuce jednotlivých HCV genotypů a výsledky léčby byly zjišťovány u 35 pacientů, léčených pro HCV infekci v AIDS-Centru Praha v letech 2003–2015.

Použitá metodika: Výskyt anti-HCV protilátek, HBsAg a anti-HBc IgG byl v obou centrech hodnocen retrospektivně ze zdravotnické dokumentace. Data byla následně kolektivována a celkově hodnocena v NRL pro AIDS. Z dostupných dat byl kalkulován pravděpodobný výskyt VHC u osob se známou HIV infekcí v ČR k 30. 4. 2015. VHC byla léčena u 35 pacientů celkem 38× (u 3 pacientů došlo po úspěšné léčbě k reinfekci). Všichni měli HIV/HCV koinfekci a všichni byli léčeni kombinací pegylovaného interferonu s ribavirinem.

Výsledky, závěr: Z celkového počtu 1 123 HIV infikovaných byla zjištěna HbsAg pozitivita u 24 (2,1 %) a anti-HBcIgG pozitivita u 421 (37,5 %) osob. Anti-HCV pozitivita byla zjištěna u 119 (10,9 %) z celkového počtu 1 097 osob. Naše výsledky výskytu koinfekcí HIV/HSV a HIV/HCV lze považovat za reprezentativní, neboť data byla zjišťována u více než poloviny HIV infikovaných osob v celé ČR. Autoři se proto rozhodli kalkulovat pravděpodobný výskyt HIV/HCV koinfekcí v celé ČR. U anti-HCV pozitivních osob lze recentní HCV infekci očekávat přibližně v 75 %. Při námi zjištěném 11% výskytu anti-HCV pozitivit předpokládáme, že z celkového počtu 2 113 žijících HIV infikovaných v ČR má virovou hepatitidu C v současnosti přibližně 170–180 osob. Při léčbě virové hepatitidy C byl v rámci 38 terapeutických cyklů zastoupen GT1 21× (55 %), GT3 8× (21 %) a GT4 9× (24 %). SVR bylo dosaženo u GT1 u 9 z 21 (43 %), u GT3 u 4 z 8 (50 %) a u GT4 u 3 z 9 (33 %) léčených pacientů. Průměrná úspěšnost léčby bez ohledu na HCV genotyp byla v rámci souboru 42 %. HCV GT4 se vyskytuje u HIV infikovaných osob v ČR častěji než v běžné populaci a při užití kombinace pegylovaného interferonu s ribavirinem je nejhůře léčitelný.

Význam masa a masných výrobků v epidemiologii alimentárních infekcí a intoxikací

Bardoň J.¹, Ondrušková J.², Ambrož P.², Pudová V.², Röderová M.²

¹Státní veterinární ústav, Olomouc, ²Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta UP, Olomouc

Úvod: Alimentární infekce jsou velkým problémem veřejného zdravotnictví na celém světě. Tento problém se nevyhýbá ani rozvinutým zemím Evropy, Českou republiku nevyjímá. Podle poslední zprávy Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA – European Food Safety Authority) bylo v roce 2013 v EU oficiálně evidováno 5 196 alimentárních epidemií. Alimentární infekce v tomto roce postihly 43 183 lidí, z nichž bylo pro těžký průběh 5 946 hospitalizováno a 11 zemřelo. Na uvedených epidemiích se jako kauzální agens podílela nejvíce *Salmonella* spp. (22,5 %), viry (18,1 %) a bakteriální toxiny (16,1 %). Za významný zdroj alimentárních infekcí člověka je považováno maso a masné výrobky, které představují vhodný substrát pro přežívání a množení řady bakterií. Vedle původců každé masa mohou být přítomny i bakterie a toxiny schopné vyvolávat u člověka alimentární infekce a intoxikace. Z epidemiologického hlediska hraje svou roli také fakt, že maso a masné výrobky jsou neodmyslitelnou součástí jídelníčku většiny lidí.

Metodika: Za období 2010 a 2014 bylo na SVÚ Olomouc doručeno k mikrobiologickému vyšetření celkem 68 321 vzorků masa a masných výrobků. Mikrobiologické analýzy byly zaměřené na *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* a stafylokokové enterotoxiny (SET).

Výsledky: *Salmonella* spp.: V letech 2010 až 2014 bylo na SVÚ Olomouc vyšetřeno celkem 45 006 vzorků na průkaz přítomnosti bakterií rodu *Salmonella*. Z tohoto souboru bylo v 977 vzorků pozitivních, což představuje prevalenci 2,2 %. Naprostá většina salmonel ze 45 006 vyšetřených vzorků byla izolována z drůbežního masa a polotovarů. Z hlediska diagnostikovaných sérovarů u drůbežního masa byl patrný významný podíl *Salmonella Infantis* (34 %). Sérovar *S. Enteritidis* se u této komodity vzorků podílel na pozitivních nálezech pouze v 7,4 %.

Campylobacter spp.: Na přítomnost termotolerantních kampylobakterů bylo vyšetřeno 209 vzorků drůbeže a 103 vzorků chlazených vepřových jater. Vzorky byly odebrány ve vybraných supermarketech. V případě chlazené drůbeže bylo 68 % vzorků pozitivních, u mražené drůbeže to bylo 44 % a u chlazených vepřových jater 24 %.

Listeria monocytogenes: V hodnoceném období bylo vyšetřeno celkem 26 150 vzorků se zaměřením na průkaz a počty *Listeria monocytogenes*. Nevyhovující nález byl zjištěn u 1,5 % vzorků (405 případů). Nejvyšší podíl v souboru nevyhovujících vzorků v rámci sledovaných komodit připadl na marinované rybí výrobky.

Staphylococcus aureus a SET: Prevalence nevyhovujících nálezů *S. aureus* u sledovaných komodit byla v období let 2010 až 2014 nízká, z celkem vyšetřených 433 vzorků to by-

lo pouze 0,5 %. Ve dvou případech byla navíc prokázána přítomnost SET, a to u vzorků pečeného kolene bez kosti.

Práce byla podpořena grantem MZd IGA č. NT/14392 a Státní veterinární správou ČR.

Stanovení individuálního ATB režimu pro konkrétního pacienta

Beneš J.

Infekční klinika, 3. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha

Při výběru ATB režimu je možné postupovat v zásadě třemi způsoby:

a) Plně respektovat oficiální Údaje o přípravku (SPC) a příbalovou informaci. Tento postup je právně nenapadnutelný, jeho skutečná využitelnost však naráží na dvojí omezení: Údaje vycházejí z výsledků studií a ty mohou být konstruovány tak, že neodpovídají situacím, s nimiž se klinik reálně setkává. Druhým problémem je fakt, že oficiální doporučení slouží jako návod pro vedení léčby za běžných podmínek, takže při neobvyklých okolnostech mohou být zavádějící.

b) Využívat doporučené postupy vydávané tuzemskými nebo zahraničními odbornými společnostmi. Doporučené postupy mnohem lépe odpovídají klinickým potřebám, ani ony ale nejsou určeny k řešení nestandardních situací. Při přebírání zahraničních guidelines je nutné si zachovat kritický pohled: V zemi, pro kterou je doporučený postup primárně určen, může být jiné spektrum původců nemoci, jiná citlivost na antibiotika, jiný rozsah registrovaných/dostupných léků a jiný systém poskytování zdravotní péče – proto např. guidelines platná pro USA mohou být v našich podmínkách irelevantní. Rovněž je dobré vědět, že doporučené postupy mohou obsahovat návody, které jsou z formálního hlediska off-label.

c) Zvolit individuální léčebnou strategii podle vlastní rozvahy. Tento přístup přichází v úvahu v nestandardních situacích, a těch v reálné praxi není málo. Jestliže za standardní situace budeme považovat ty, u nichž můžeme s dobrým svědomím použít preformované léčebné postupy, pak mezi nestandardní situace budou patřit stavy, kdy:

- neznáme příčinu nemoci (horečka nejasné etiologie nebo diferenciálně diagnosticky musíme uvažovat o několika různých možných diagnózách);
- původce nemoci má atypické vlastnosti (např. je polyrezistentní nebo mimořádně virulentní);
- pacient má neobvyklé farmakokinetické parametry (dlouhodobě – např. obezita, ale i krátkodobě – např. při selhání orgánů po prodělaném septickém šoku);
- pacient patří do mimořádné kategorie nemocných (gravidní ženy, novorozenci, osoby s těžkou poruchou imunity, ale také nepojištění jedinci);
- nelze použít obvyklé léky (alergie, lékové interakce, výpadek léčiv na trhu atd.);
- standardní léčba selhává.

Je zřejmé, že k individualizaci antibiotické léčby se lékař musí uchýlit poměrně často. Zároveň je jasné, že tento způsob uvažování není možné žádat od příslušníků všech lékařských profesí. Bylo by proto velice žádoucí, kdyby ve všech nemocnicích bylo zavedeno antibiotické poradenství. Nemocnice, kde působí mikrobiologické nebo infektologic-

ké oddělení, jsou v tomto ohledu bezproblémové. Nadějí pro ostatní nemocnice by mohly být samostatné infekční ambulance, které by kromě běžné činnosti mohly zajišťovat i poradenství a konziliární služby pro lůžková oddělení.

Bakteriémie MRSA ve Fakultní nemocnici Plzeň v roce 2015

Bergerová T.

Ústav mikrobiologie, FN Plzeň

Problematika výskytu meticilin-rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* (MRSA) je ve FN v Plzni sledována již od roku 1998. Laboratoř se od r. 2000 účastní sledování v rámci EARS-Net a lze tak objektivně sledovat stav rezistence invazivních izolátů.

Do roku 2008 byla frekvence invazivních kmenů MRSA ve FN v Plzni vždy výrazně pod celostátním průměrem, od roku 2009 dochází k vyrovnání – rezistence v letech 2010–2013 se pohybovala mezi 13–16 %.

Dosud nejsou zveřejněna data za rok 2014, kdy ve FN Plzeň bylo 12 % MRSA.

V letošním roce došlo ve FN v Plzni k nečekanému nárůstu MRSA bakteriemií – k 31. 7. bylo potvrzeno 22 případů, tj. 29 % ze všech stafylokokových bakteriemií (*Staphylococcus aureus*). Znepokojivý je zejména počet případů končících fatálně. Pokusili jsme se o analýzu možných příčin tak výrazného vzestupu během krátké doby. Nermalou roli hraje import neodhalených nosičů i již bakteriémických pacientů, selhání screeningu i kontaktních opatření na přeplněných odděleních.

Novinky ve studiu vaginální mikrobioty: Je čas na změnu paradigmatu?

Buchta V.

Ústav klinické mikrobiologie, Lékařská fakulta UK a FN Hradec Králové

Studium poševní mikrobioty v posledních letech, zvláště díky moderním molekulárním metodám, jako je pyrosequencing nové generace, odhalilo řadu překvapivých zjištění, pokud jde o její složení a fungování. Dominantním druhem není *Lactobacillus acidophilus*, ale hned čtyři druhy laktobacilů, z nichž jeho pozitivní roli převzal zejména *L. crispatus*. Rozšířily se a prohloubily poznatky o dalších druzích mikrobioty (*Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*) a také o významu biochemismu pochvy v důsledku působení mikrobiálních produktů, jako je kyselina mléčná či peroxid vodíku. Fyziologie poševního prostředí je klíčem k normálnímu fungování vaginálního ekosystému. Prostedí pochvy je přitom mnohem komplexnější, než se soudilo, je výsledkem vzájemného působení imunity, pohlavních hormonů a mikrobioty. Mikroorganismy charakterizující pochvu můžeme rozdělit do několika základních typů vaginálního společenství, které je částečně navázáno na etnický původ. Ve svém výsledku vaginální mikrobiota výrazně ovlivňuje poměry v pochvě a přímo či nepřímo souvisí s řadou negativních dopadů na zdraví ženy – od vaginálního dyskomfortu po dysbiózu a mikrobiální záněty, které souvisí s komplikacemi během těhotenství a po porodu. Zda a do jaké míry budou mít novinky v oblasti vaginálního mikro-

biomu dopad na diagnózu a léčbu poševního dyskomfortu, zůstává výzvou pro mikrobiologii i gynekologii.

Práce byla podpořena grantem AZV 15-29225A MZ ČR.

Jaká je skutečná šíře využití univerzální panbakteriální PCR v diagnostice infekcí

Tkadlec J.¹, Antušková M.¹, Jahoda D.², Šrámková L.³, Rohn V.⁴, Dřevínek P.¹

¹Ústav lékařské mikrobiologie, 2. LF UK a FN Motol, ²I. ortopedická klinika, 1. LF UK a FN Motol, ³Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, ⁴Klinika kardiovaskulární chirurgie, 2. LF UK a FN Motol, Praha

Úvod: Použití metod molekulární genetiky v detekci bakteriálních agens se obecně pokládá za přínosné v situacích, kde nepostačuje kultivační vyšetření z důvodu i) klinicky významné časové prodlevy do získání výsledku, ii) přítomnosti nekultivovatelného či špatně identifikovatelného agens v materiálu, iii) nízké citlivosti nebo iv) současně podávané antibiotické léčby. Vedle cíleného vyšetření, které vyhledává konkrétní mikroorganismus na základě jeho jedinečné nukleotidové sekvence, lze aplikovat i univerzální přístup, jenž pátrá po oblastech DNA společné všem bakteriím. Hledání předem nespécifikovaného patogena cestou panbakteriální PCR je tak přednostně vyhrazeno pro primárně sterilní materiál. Cílem této studie bylo stanovit přidanou hodnotu PCR v detekci bakterií z krve, srdečních chlopní, ortopedického materiálu a z likvoru.

Metody: Standardním kultivačním vyšetřením a metodou PCR, zaměřenou na detekci a případnou sekvenaci genu 16S rDNA z DNA živých bakteriálních buněk (UMD SelectNA, Molzym), jsme vyšetřili 101 vzorků z ortopedie (57 punktátů, 44 vzorků tkáně z kloubu), 117 vzorků krve (od 69 pacientů dětské hematologie a onkologie; pro účely PCR odebrané v objemu 2 až 10 ml), 21 srdečních chlopní a 22 vzorků likvoru.

Výsledky: Pozitivita PCR byla zaznamenána u 49 ortopedických vzorků, zatímco kultivačně pozitivních bylo jen 25 vzorků. Ve 21 ze 49 případů se výsledek PCR shodoval s kultivačním nálezem, ovšem u dalších 23 vzorků (43 % všech pozitivit) se agens podařilo zachytit pouze metodou PCR, přitom takový výsledek byl zhodnocen jako klinicky významný (zbývajících 5 ze 49 pozitivních nálezů PCR nebylo pokládáno za klinicky významné). Naopak u 4 vzorků byl pozitivní nález zjištěn pouze kultivačně (7,5 % pozitivit). V krvi byla přítomnost bakteriálního agens zachycena pomocí PCR ve 25 vzorcích, z toho 12 případů identifikovaných výlučně metodou PCR bylo vnímáno v možné souvislosti s infekcí krevního řečiště (36 % všech pozitivit). Pozitivita u 7 z 25 vzorků byla potvrzena zároveň hemokultivací. Výsledek PCR se u 4 vzorků neshodoval s kultivačním nálezem agens a u 8 pozitivních hemokultur zůstal PCR výsledek negativní (24 % všech pozitivit). Původce infekční endokarditidy byl odhalen jen metodou PCR u 15 z 21 chlopní (83 % všech pozitivit); u 3 kultivačně negativních případů suspektní bakteriální meningitis byl určen patogen pouze přes PCR.

Závěr: Metoda panbakteriální PCR zvyšuje zachytlost infekčních agens, její smysluplná indikace stejně jako inter-

pretace nálezu se však odvíjí přísně od typu vyšetřovaného materiálu. Zatímco se osvědčuje coby vhodná součást rutinního mikrobiologického vyšetření srdečních chlopní či suspektně infekčního ortopedického materiálu, v diagnostice infekcí krevního řečiště zůstává zatížena vysokým výskytem falešně negativních nálezů.

Podpořeno grantem AZV 15-28157A.

Hnisavé infekce páteře a přilehlých tkání: výsledky pětileté studie

Džupová O., Cihlářová R.

Klinika infekčních nemocí, 3. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha

Úvod: Hnisavé infekce obratlů, meziobratlových disků a kloubů představují závažný medicínský problém. Diagnostika je nesnadná, vyžadují dlouhodobou a nákladnou léčbu a výsledky jsou v mnoha případech neuspokojivé.

Cíl studie: Cílem studie bylo popsat epidemiologické a klinické charakteristiky hnisavých infekcí páteře u pacientů hospitalizovaných na Klinice infekčních nemocí Nemocnice Na Bulovce v letech 2010–2014 a zhodnotit léčebné výsledky v závislosti na typu léčby.

Materiál a metoda: Do retrospektivní studie byli zařazeni pacienti s diagnózou akutní spondylodiscitida a spondylartritida. Sledovanými parametry byly věk, pohlaví, chronická komorbidita, obezita, interval příznaky–léčba, diagnostické metody, lokalizace postižení páteře, etiologické agens, komplikace, způsob a délka léčby a léčebné výsledky.

Výsledky: Ve sledovaném období bylo hospitalizováno 54 pacientů, 35 mužů (65 %) a 19 žen (35 %), ve věkovém rozmezí 33–90 let, s mediánem 65,5 roku. 49 pacientů (91 %) mělo spondylodiscitidu, 10 pacientů (18 %) spondylartritidu a 5 pacientů (9 %) obě diagnózy. U 40 pacientů (74 %) byla přítomna významná chronická komorbidita, 20 pacientů (37 %) bylo obeztních. Průměrná doba mezi prvními příznaky a zahájením léčby byla 16 dní. Diagnóza byla stanovena pomocí magnetické rezonance u 45 (83 %) a CT u 7 pacientů (13 %). Lumbosakrální páteř byla postižena u 38 (70 %), hrudní u 14 (26 %) a krční páteř u 8 pacientů (15 %), vícečetnou lokalizaci mělo 6 pacientů (11 %). Epidurální absces se vyskytl u 28 (5 %), absces nebo edém paravertebrálních tkání u 41 pacientů (76 %). Osm pacientů (15 %) mělo současně endokarditidu. Etiologie byla určena u 45 pacientů (83 %), nejčastějším původcem byl *Staphylococcus aureus* u 29 pacientů (54 %). Třicet dva pacientů (59 %) bylo léčeno konzervativně, 22 (41 %) bylo operováno. Ve skupině konzervativně léčených vs. operovaných pacientů byla průměrná délka antibiotické léčby 68 vs. 74 dní ($p = 0,407$), průměrná délka hospitalizace 45 vs. 53 dní ($p = 0,225$). Třicet pět pacientů (65 %) se uzdravilo bez následků nebo s lehkými následky (65 %), 8 pacientů (15 %) s těžkými následky a 11 pacientů (20 %) zemřelo. Ve skupině konzervativně léčených se uzdravilo 23 pacientů (68 %), ve skupině operovaných 12 pacientů (55 %) ($p = 0,250$).

Závěr: Hnisavé infekce páteře postihly především starší osoby s chronickými komorbiditami a obezitou. Nejcitlivější diagnostickou metodou byla magnetická rezonance. Infekce byla lokalizována převážně v lumbosakrální páteři a dominantním etiologickým agens byl *Staphylococcus*

aureus. Letalita a frekvence následků byly vysoké. Délka hospitalizace i antibiotické léčby byla kratší u pacientů léčených konzervativně, rovněž léčebné výsledky byly v této skupině lepší, avšak žádný z ukazatelů nedosáhl statistické významnosti. Počet léčených pacientů měl v jednotlivých letech studie vzestupný trend.

Pohled na parazitární onemocnění v ČR v posledním desetiletí

Fajfrlík K.

Ústav mikrobiologie, LF a FN v Plzni

Trend výskytu parazitóz v České republice je v posledních desetiletích trvale sestupný. Platí to u všech sledovaných autochtonních onemocnění, snad s výjimkou svrabu. Tento výsledek je záležitostí multifaktoriální od zlepšujících se hygienických podmínek, zlepšující se informovanosti obyvatelstva, po zvyšující se životní úroveň většiny naší populace atd. Odlišné podmínky, a tudíž vývoj mohou nastat u některých nepřizpůsobivých občanů, sociálně slabších nebo sociálně vyčleněných. Žádná data to ale nepotvrzují. V krátké budoucnosti může tento trend ovlivnit i problematika běženců v Evropě. Výsledky současného stavu přinášejí i negativní dopady, ale logicky pochopitelné (zasílání stále menšího počtu vzorků na vyšetření, nedostatek antiparazitik na našem trhu atd.). I přes tyto nedostatky se tedy dá shrnout, že všichni zainteresovaní zdravotničtí pracovníci (infekcionisté, parazitologové, epidemiologové) dělají svoji práci velmi dobře a sklízí úspěchy v podobě stále zdravější populace ve vztahu k parazitárním infekcím.

Importované parazitózy jsou spíše výjimkou. Je to pravděpodobně opět výsledek zvýšené osvěty a informovanosti cestovatelů a rozdíl od 90. let minulého století, kdy se zdálo, že po umožnění cestování se chováme sami k sobě velmi nezodpovědně. Cestovalo se velmi často bez jakéhokoliv očkování, bez jakékoliv profylaxe. Je třeba si ale uvědomit, že popisujeme situaci ve střední Evropě. Celosvětově není stále situace s výskytem parazitóz uspokojivá.

Toto uspokojení kazí v současnosti skupina lidí šířící podivné diagnostické metody a přesvědčující určitou část populace (tu, která jejich služby vyhledá), že naopak každý člověk má ve svém těle minimálně jednoho parazita (spíše však několik) a že parazité mohou za všechny naše potíže i ty nejzávažnější. Této skupině lidí sdružených pod různé instituce (detoxikační centra, centra zdravého životního stylu atd.) anebo pracujících jako jedinci, tzv. poradci, není cizí „diagnostikovat“ v těle člověka i parazity, kteří se u nás nikdy nevyskytovali a vzhledem k životnímu cyklu ani vyskytovat nemohou. Jistě už se každý z nás setkal s pacienty s výsledky z tzv. biorezonanční diagnostiky, s výsledky vyšetření tzv. živé kapky krve nebo suché kapky krve. Jde jen o holý byznys bez jakékoliv návaznosti na racionální podklad. Bohužel na tuto diagnostiku navazuje doporučení „antiparazitární megaterapie“, která již může opravdu poškozovat lidské zdraví. (Na rozdíl od přítomnosti neexistujících parazitů.) Na jedné straně tedy uspokojení odborníků ze stále se snižujícího počtu výskytu parazitóz, na druhé straně poplašné zprávy „pseudoparazitologů“. Stále častěji se ale objevují názory, že parazité, jako součást mikrobiomu člověka, se výrazným způsobem podléhají na modulaci našeho imunitního systému. Jeho optimální funkci zaručuje přítom-

nost parazita v těle. Při jeho nepřítomnosti může být jeho určitá složka hyperaktivní a může způsobit alergické reakce. Tento stav se údajně vyvinul díky dlouhodobé koevoluci člověka s parazity. Objevují se tak první studie testující pozitivní vliv vybraných parazitů na některé alergické stavy člověka.

Koronaviry – vyvolavatelé vysoce nebezpečných humánních infekcí

Havlíčková M., Jiřincová H.

Státní zdravotní ústav, Praha

Významným rezervoárem a případně zdrojem různých virů včetně koronavirů jsou netopýři. Ti představují téměř jednu pětinu všech známých savců a jsou jedinými, kteří mohou létat. Mají i další výjimečné vlastnosti – např. schopnost echolokace a hibernace. Přenosy infekcí jsou evidovány především v posledních zhruba 20 letech, a to opakovaně. Není pravděpodobné, že by se netopýři „náhle“ stali zdrojem dalších virů, spíše se začaly kumulovat situace, které umožňují překonání druhové bariéry. Tyto kritické momenty neumíme zatím identifikovat, a tedy jim ani neumíme předcházet.

Zoonotický původ koronavirů je obecně znám, do objevu prvních lidských koronavirů v šedesátých letech 20. století představovaly tyto viry především veterinární problém. SARS koronavirus, jehož první výskyt byl zjištěn v Guandongu v Číně v listopadu 2002, způsobil 8 096 případů lidských infekcí a 774 úmrtí. Prapůvodní zdroj infekce byl nejspíše v netopýrech, mezihostitel a faktický zdroj infekce pro člověka pak byla cibetka palmová. Novým zoonotickým koronavirem, který představuje stále reálnou hrozbu a jehož výskyt je průběžně zaznamenáván, je tzv. MERS-CoV, který byl poprvé diagnostikován v červnu 2012. Od té doby byl virus evidován ve více jak 20 zemích, avšak mimo Arabský poloostrov se jednalo vždy o importovanou infekci. I zde se zdá pravděpodobné, že původcem jsou opět netopýři, mezihostitelem pak velbloudi. Vzorek trusu netopýra slujového (*Taphozous perforatus*) obsahoval krátkou sekvenci nukleotidů, která se 100% shodovala s genetickým materiálem viru MERS-CoV. Netopýr se vyskytoval jen pár kilometrů od místa, ze kterého pocházel vůbec první známý případ syndromu MERS. Naznačuje to, že právě netopýři slujoví mohou být zdrojem viru. Stále je zde ale řada nezodpovězených otázek, např. jakou cestou se velbloudi mohou nakazit, a tedy proč by se stávali zdrojem infekce pro člověka právě nyní, když koexistence velbloudů s lidmi má v arabském světě mnohasetletou tradici. Vyšší incidence infekcí vždy na jaře může souviset s aktivitou netopýrů po období hibernace, kdy se probouzí hladoví a živí se různými plodinami, které mohou ovšem kontaminovat infikovaným trusem. Vůbec největší ohnisko infekce MERS koronavirem mimo Arabský poloostrov bylo evidováno v Jižní Koreji. Tzv. „index case“ byl 68letý muž, který před svým návratem do Koreje cestoval po Bahrajnu a Kataru. V Jižní Koreji bylo následně evidováno 186 případů onemocnění (u jednoho pacienta šlo o infekci importovanou do Číny) a 36 úmrtí. Celkově se virem MERS ke dni 24. 8. 2015 nakazilo 1 432 osob, přičemž 507 z nich nemoci podlehl. V rámci ČR bylo od května 2013 do srpna 2015 pro-

vedeno vyšetření u 23 osob s pozitivní cestovní anamnézou a vesměs mírnými respiračními příznaky. Ani u jednoho pacienta nebyla infekce potvrzena.

Mykobakteriální krční lymfadenitidy u dětí

Hlaváčová A.¹, Holčíková A.¹, Svobodová J.², Helešic J.¹, Krbková L.¹

¹Klinika dětských infekčních nemocí, FN Brno a LF MU, ²IFCOR-99, s. r. o., Brno

Nejčastějším původcem mykobakteriálních lymfadenitid je v našich zeměpisných podmínkách *Mycobacterium avium*. Tato bakterie patří do skupiny netuberkulózních mykobakterií (NTM). NTM jsou acidorezistentní tyčinkovité bakterie. Vyznačují se obtížnou kultivovatelností a značnou rezistencí k běžně užívaným antibiotikům. Vyskytují se ubikvitárně, zejména v půdě, vodě a u zvířat, nejsou mezilidsky přenosné. Některé z těchto bakterií jsou primárně zvířecími patogeny (pro člověka oportunně patogenní), jiné jsou saprofyty. *Mycobacterium avium* patří do skupiny oportunně patogenních pomalu rostoucích mykobakterií.

V roce 2015 jsme zachytili větší množství pacientů s podezřením na mykobakteriální krční lymfadenitidu. Mikroskopicky a kultivačně bylo toto onemocnění potvrzeno u dvou dětí. Další čtyři děti byly diagnostikovány na základě klinického obrazu, histologického nálezu granulomatózně nekrotizujícího zánětu a rezistence k antibiotické terapii, přestože kultivace mykobakterií byla negativní. Onemocnělo pět dvouletých dětí a jeden tříletý chlapec. Postižení krčních lymfatických uzlin bylo jednostranné. Typickým nálezem bylo týdnů až měsíců trvající zduření s minimální bolestivostí, ve většině případů fluktuace, často s lividním zbarvením kůže. V laboratorním vyšetření nebyla významná elevace markerů zánětu. Vzhledem ke kolikvací na ultrazvukovém vyšetření byla nasazena empirická antibiotická terapie. Pro nelepšící se lokální nález byly uzliny incidovány, čtyři děti podstoupily extirpaci. U žádného pacienta nebyly incize kurativní – rány se nehojily, u všech dětí došlo k vytvoření píštěle a krusty na povrchu s intermitentní hnisavou sekrecí a byla indikována extirpace útvaru. Po potvrzení diagnózy byla u čtyř dětí nasazena kauzální terapie – dvojkombinace antibiotik (klaritromycin, rifampicin). V případě pacientky s nejdelší anamnézou potíží postačila extirpace útvaru. V antibiotické terapii šesté pacientky se vyčkává vzhledem k uspokojivému lokálnímu nález – rozhodující bude vývoj klinického obrazu a kultivace. Diagnostika byla zdlouhavá vzhledem k pomalu se vyvíjejícímu klinickému stavu a obtížnosti kultivačního vyšetření. Polovina dětí se zcela uzdravila, druhá část pokračuje v terapii a dochází do specializované ambulance.

Onemocnění se nejčastěji vyskytuje u dětí předškolního věku. Jednotka podléhá hlášení do Registru tuberkulózy. Modernizací diagnostických metod a zrušením plošné kalmetizace incidence mykobakteriálních infekcí vzrůstá a zaujímá tak nově významné postavení v diferenciální diagnostice uzlinového syndromu. Z dosavadních zkušeností vyplývá, že pro kultivační průkaz je dostačující punkce uzliny, incize vede ke komplikacím, kurativní je extirpace nebo dlouhodobá léčba kombinací antibiotik. O tom je třeba informovat především kolegy chirurgických oborů.

Bezinterferonová léčba VHC – zkušenosti s AbbVie 3D režimem

Hobstová J.

Infekční stanice Interní kliniky, 2. LF UK, FN Motol

Prezentovány tři kazuistiky pacientů, kteří byli již dříve neúspěšně léčeni pro chronickou hepatitidu C a SVR dosáhli až teprve na léčbě 3D. Abbvie 3 D je kombinace NS35/4A proteázového inhibitoru paritapreviru a NS5A inhibitoru ombitasviru s NS5B polymerázovým inhibitorem dasabuvirem. Léčba u všech prezentovaných pacientů trvala 12 týdnů a nebyly zaznamenány žádné vážné nežádoucí účinky.

Žena 62 let, profesionální infekce, GT 1b, F 0-1, vysokovirémická. Léčena s nulovou odpovědí v roce 1999 Roferonem a RBV s parciální odpovědí. V průběhu obou léčeb měla řadu nežádoucích účinků, průjem, nauzeu, váhový úbytek 13 kg, resp. 7kg, významnou anémii, která si vyžádala snížení dávky RBV. V roce 2013 v rámci studie Sapphire II léčena 12 týdnů 3D kombinací, od 4. týdne virologicky bez aktivity a dosažena SVR. Ve studii Sapphire II byla Abbvie 3D kombinována s RBV a i nyní bylo třeba v 8. týdnu léčby snížit přechodně dávku RBV pro anémii. Jiné NÚ nebyly pozorovány.

Žena 42 let GT 1a, F 0-1. Virémie 213 000 IU/ml. V roce 2009 léčena P/R, ve 4. týdnu zvýšení virémie na dvojnásobek, totéž ve 12. týdnu, proto léčba ukončena a konstatována null response. V roce 2013 podána Abbvie 3D + RBV v rámci studie Sapphire II, pacientka je od 1. týdne léčby již trvale virologicky bez aktivity, dosaženo SVR. Nežádoucí účinky nebyly pozorovány.

Muž 52 let, GT 1b, vysokovirémický, F 0-1, s výraznou biochemickou aktivitou. Kontraindikace podání interferonu: psoriáza na biologické léčbě. Dvakrát léčen mimo naše pracoviště P/R, léčba vždy přerušena pro výrazné zhoršení psoriázy, která si vyžádala v roce 2014 zahájení biologické léčby (Humira). V rámci specifického léčebného programu léčen v roce 2015 Abbvie 3D kombinací (bez RBV) a dosaženo SVR. Protože nejsou žádné studie na současně podávanou biologickou léčbu a léčbu 3D, byla na 12 týdnů biologická léčba přerušena a došlo opět k výraznému zhoršení kožního nálezu. Kožní nález po znovuzahájení biologické léčby se jen pomalu zlepšuje. Doporučujeme proto léčit nemocné, kteří jsou adepti na biologickou léčbu bezinterferonovým režimem ještě před plánovaným zahájením biologické léčby. Na závěr konstatujeme, že Abbvie 3D je léčba vysoce účinná a poslední studie prokazují, že u pacientů bez cirhózy je stejně účinná i bez podání RBV.

Epidemický výskyt gentamycin rezistentního stafylokoka

Hobzová L.

FN Hradec Králové

Staphylococcus aureus (SA) patří k významným původcům infekcí spojených se zdravotní péčí. Vlastnosti nemocničních bakteriálních kmenů SA se liší od vlastností téhož druhu zachycených mimo zdravotnické zařízení. Běžné bakteriální kmeny SA následkem dlouhodobé cirkulace mezi pacienty, ošetřujícím personálem a selekčním tlakem antibiotické léčby se stávají kmeny rezistentními. Tyto kmeny ohrožují oslabené jedince, ke kterým patří novorozenci, zejména předčasně narození.

Sledování výskytu rezistentních bakteriálních kmenů patří k jedné z priorit nemocničního epidemiologa. Včasná diagnostika, přesná identifikace původce, znalost rezistence k antimikrobiálním látkám mají význam terapeutický, epidemiologický a přispívají k racionální antibiotické politice ve zdravotnickém zařízení.

V roce 2014 jsme šetřili epidemický výskyt SA gentamycin rezistentního na jednotce intenzivní resuscitační péče pro novorozence. Výsledkem šetření bylo získání přehledu o výskytu SA gentamycin rezistentního u hospitalizovaných novorozenců, personálu a v nemocničním prostředí, byl zpřísněn hygienicko-protepidemický režim pracoviště a přehodnocena antimikrobiální terapie.

Vírusové gastroenteritidy – stále aktuální problém

Holečková K.¹, Dobiašová Z.²

¹KIGM LF SZU, Bratislava; ²KIGM LF UK, Bratislava

Vo vyspelých krajinách sveta je hnačka najčastejšou príčinou pracovnej neschopnosti dospelých. V rozvojových zemiach je najčastejšou príčinou smrti, hlavne detí. Závažnejšie priebehy hnačkových ochorení môžu končiť letálne aj v krajinách s vysokým socioekonomickým štandardom, hlavne u pacientov z okrajových vekových skupín alebo u imunodeficientných pacientov.

Najčastejším patogénom zapríčiňujúcim gastroenteritidy detí na celom svete je rotavírus, ktorý zodpovedá až za 125 miliónov prípadov detských gastroenteritíd ročne. Je ubiquitárny – celosvetovo až 95 % detí je infikovaných do 3–5 roka života. Najvyššia incidencia ochorení je vo veku 6–24 mesiacov a u detí do 5 rokov veku dieťaťa. V posledných rokoch sa na vírusových hnačkách podieľajú aj norovírusy a adenovírusy, ktoré môžu spôsobovať problémy u detí staršieho veku, ale aj u dospelých pacientov.

Na klinike infektológie a geografickej medicíny ročne hospitalizujeme 1 500 a viac detí vo veku od 0–15 rokov. S hnačkou je hospitalizovaných 40–45 % detí. Vďaka zlepšenej diagnostike nám klesá počet hnačiek s nezachyteným etiologickým agens – v posledných 2 rokoch iba 8 % a až 75 % hnačiek detí je spôsobených vírusovou etiológiou (rotavírusy 51 % a norovírusy 21 %).

Autori v prezentácii popisujú jednu kazuistiku nozokomiálnej rotavírusovej infekcie. V druhej kazuistike poukazujú na závažný priebeh infekcie s tranzitornou, reverzibilnou encefalopatiou s nešpecifickými zmenami v mozgovom kmeni a bazálnych gangliách s poruchou vedomia a metabolickou poruchou.

Prírodný výskyt a priebeh rotavírusovej infekcie možno ovplyvniť očkovaním. Zavedenie vakcinácie bolo vysokou prioritou WHO.

V bratislavskom kraji je preočkovanosť proti RV infekcii za posledné 2 roky 34–39 %.

Detekce respiračních virů u dětských a dospělých pacientů vyšetřovaných ve Fakultní nemocnici v Motole mezi roky 2012–2015

Hubáček P.^{1,2}, Krausová B.¹, Richterová L.¹, Šumová J.¹, Chramostová P.¹, Janečková D.², Briksi A.¹, Kouba M.³, Kolář M.³, Vydra J.³, Cetkovský P.³, Šrámková L.², Sedláček P.², Zajac M.¹

¹Ústav lékařské mikrobiologie, FN v Motole, Praha, ²Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN v Motole, Praha, ³Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

Úvod: Respirační viry jsou běžnou příčinou lidských onemocnění různé závažnosti v průběhu celého roku. Respirační infekce způsobuje velké množství RNA a DNA respiračních virů, a tak i virostatická léčba, je-li k dispozici, by měla být cílená. Přestože je většina infekcí pouze mírná, mohou tyto infekce zejména u imunosuprimovaných pacientů progredovat až do život ohrožujících stavů.

Metody: Od podzimu 2012 do května 2015 jsme obdrželi 2 279 vzorků respiračního traktu (1 622 nasofaryngeálních stěrů, 335 vzorků BAL, 200 aspirátů dýchacích cest apod.) od 1 421 symptomatických pacientů FN Motol a Ústavu hematologie a krevní transfúze. Nejčastěji byli vyšetřováni pacienti Pediatrické kliniky FN Motol a následně pacienti po různých typech transplantací a léčení pro maligní onemocnění pomocí chemoterapie. Vzorky byly extrahovány a detekovány pomocí kitů firmy Seegene (Seeprep 12 a Anyplex II RV16 kit) detekující 16 respiračních virů ve dvou PCR reakcích (v reakci A-Influenza virus A a B (IFA a IFB), Parainfluenza virus 1–4 (PIV), adenovirus (AdV), lidský rinovirus (HRV); v reakci B – respirační syncytiální virus (RSV) A a B, lidský metapneumovirus (hMPV), koronaviry 229E, OC43, NL63, lidský bocavirus (HBoV) a lidský enterovirus (HEV). U 1 247 vyšetřovaných vzorků byla provedena také antigenní detekce pomocí VIDIA Rapid test pro RSV/Adenovirus a Influenza A/B.

Výsledky: Validní výsledky byly získány u 2 059 vzorků (pro viry A) a 2014 (pro viry B) a virové infekce byly detekovány v 1 234 vzorcích (54,1 % testovaných) od 909 pacientů. Ve většině vzorků byl detekován HRV (385 vzorků; 18,7 % z validně vyšetřených), RSV-A (211 vzorků; 10,5 %), RSV-B (165 vzorků; 8,2 %), IFA (167 vzorků; 8,1 %), AdV (155 vzorků; 7,5 %), HBoV (147 vzorků; 7,3 %), koronaviry 229E, OC43 a NL63 (107 vzorků; 5,3 %), PIV1–4 (89 vzorků; 4,3 %), hMPV (59 vzorků; 2,9 %), IFB (48 vzorků; 2,3 %) a HEV (34 vzorků; 1,7 %). Více jak jeden virus byl detekován u 278 vzorků od 243 pacientů. Antigen byl detekován pouze u 108 vzorků (9,4 % testovaných) u RSV, 14 vzorků (1,2 %) u AdV, 35 vzorků (2,9 %) IFA, 5 vzorků (0,4 %) IFB. Ve srovnání s PCR pozitivitou se jedná o záchyt 40 % u RSV, 14 % u AdV, 34 % u IFA a 16 % u IFB.

U 23 vysoce rizikových hematologických pacientů s respirační symptomatologií byla zahájena léčba oseltamivirem pro chřipku, p.o. ribavirinem v dávce 10–30 mg/kg ve třech dávkách a palivizumabem. U jednoho dítěte s těžkou kombinovanou imunodeficiencí a influenzovou pneumonií selhala léčba oseltamivirem a následně byla prokázána rezistence k terapii. U zbylých léčených pacientů bylo následně pozorováno zlepšení klinického stavu.

Závěr: Přestože je molekulárně-biologická detekce dražší ve srovnání s detekcí antigenu, široké spektrum detekovaných virů dává více možností pro léčbu těžce nemocných pacientů včetně imunosuprimovaných.

Podpořeno projektem rozvoje výzkumné organizace 00064203 a v letech 2012–2013 také částečně grantem firmy Seegene.

Impetigo – jednoznačná diagnóza?**Hudáčková D., Urbančíková I., Ostró R.***Detské infekčné oddelenie, Detská fakultná nemocnica Košice, Slovenská republika*

Úvod: Impetigo je pomerne časté infekčné ochorenie kože v detskom veku. Väčšinou ide o sekundárnu infekciu rôznych primárnych ložísk (napr. scabies, ekzematózne dermatitídy, varicelové eflorescencie, po poštipaní hmyzom). Najčastejšími pôvodcami ochorenia sú *Streptococcus pyogenes* a *Staphylococcus aureus*. Rozsiahle plošné buly sa tvoria hlavne u infekcií vyvolaných patogénmi, ktoré produkujú epidermolytické toxíny. Typická je rýchla úprava kožného nálezu pri správnej antibiotickej liečbe.

Vlastný text: Autori prezentujú kazuistiku 13-ročného chlapca so 4-mesačnou anamnézou recidivujúceho kožného nálezu v zmysle generalizovaného výsevu erózií so sýtočervenou spodinou, s tvorbou putridne zapáchajúcich búl s mokvaním a s lokalizáciou na sliznici ústnej dutiny a v oblasti genitálu. V laboratórnych parametroch bola prítomná iba mierne zvýšená zápalová aktivita (CRP do 38 mg/l) a mierna eozinofília. Ordinované boli antibiotiká a antimykotiká, antihistaminiká a lokálna liečba. Antibiotická liečba bola pre nezlepšovanie kožného nálezu opakovane menená podľa kultivačných nálezov. Imunologické vyšetrenie nepotvrdilo supponovaný imunodeficit, vyšetrenia autoprotilátok boli negatívne. Histologické a priame imunofluorescenčné vyšetrenie z biopsie kože nakoniec potvrdilo diagnózu pemphigus vulgaris. Ordinovaná bola pulzná liečba methylprednisolonom a následne prechod na dlhodobú perorálnu liečbu prednisonom a azathioprimom, po ktorej sa kožný nálež začal postupne zlepšovať.

Záver: Pemphigus vulgaris je potenciálne život ohrozujúce autoimúnne ochorenie kože a slizníc s histologickým nálezom intraepidermálnych pluzgierov a imunopatologickým nálezom viazaných a cirkulujúcich protilátok IgG proti bunkovému povrchu keratinocytov. Vzhľadom na vzácny výskyt tohto ochorenia v detskom veku sa na neho v diferenciálnej diagnostike myslí zriedka a tak môže dôjsť k oneskoreniu diagnostiky a správnej liečby.

Entecavir – neustály vývoj liečebného použitia**Husa P.***Klinika infekčných chorob, LF MU a FN Brno*

Nákaza virem hepatitidy B (HBV) je jednou z najvýznamnejších infekcií, ktorá celosvetovo postihuje okolo 400 miliónů jedinců a jejimiž najväčšími rizikami je progresie ochorenia do stadia pokročilej fibrózy či cirhózy s rizikom jej dekompenzácie a rozvojom hepatocelulárneho karcinomu.

Vzhľadom k tomu, že HBV infekcie je kvôli integrácii cccDNA HBV do hostiteľa genomu v podstate nevyléčiteľným ochorením, hlavným terapeutickým cieľom je supresie viremie, pokiaľ možno pod detekovateľnou hranicou. Udrzenie negatívnej viremie tak tiež zvyšuje šancu na HBeAg sérokonverziu a elimináciu HBsAg.

V súčasnej dobe sú preferovanými liekmi pri liečbe chronickej HBV infekcie pegylovaný interferón alfa (ve špeciálnych indikáciách, s časovo obmedzenou liečbou) a antivirotika (pro dlhodobou liečbu) – entecavir či tenofovir. Entecavir je perorálne podávaný nukleosidový analog guanosinu, ktorý interferuje s činnosťou HBV DNA-polymerázy a účinne

blokuje všetky 3 kroky HBV DNA-polymerázy vedúcej k replikácii viru. Liečba entecavírom je účinná, efektívna, veľmi bezpečná a vedie k významnému poklesu viremie (resp. jej negatívizácii) u väčšiny liečených pacientů počas prvého roku liečby, pričom táto negatívna viremie trvá minimálne nasledujúcich 5 rokov liečby. Ve štúdiách bola rovnako preukázaná regresie nekroinflammatory aktivity a zlepšenie histologického nálezu (regrese stupňa fibrózy); zlepšenie histologického nálezu po 48 týždňoch liečby bolo zaznamenané v 72 % prípadů.

Jako veľice nadajná sa javí možnosť kombinovanej terapie entecavírom s pegylovaným interferónom alfa. Súdajú sa, že táto terapia by mohla aspoň čiastočne obnoviť adaptívnu imunitnú odpoveď.

Hepatitída C je vyléčiteľná u naprosté väčšiny nemocných Husa P.*Klinika infekčných chorob, LF MU a FN Brno*

Na rozdiel od infekcie virem hepatitidy B (HBV) a virem ľudskeho imunodeficitu (HIV) je infekcia virem hepatitidy C (HCV) trvale vyléčiteľná, a to i v chronickom stadiu. Chronická hepatitída C je jediné dosiaľ známé chronické ochorenie, ktoré je možné vyléčiť. V súčasnosti sú komerčne dostupné priamo pôsobivé antivirotika (Direct-Acting Antivirals – DAA), zamierené proti rôznym fázam replikačného cyklu HCV. Jedná sa o proteázové inhibitory, blokátory NS5A komplexu a polymerázové inhibitory (nukleotidové a nenukleotidové). Jejich kombinácia umožňuje vyřazenie pegylovaného interferónu, a často i ribavirinu, z liečebných schém chronickej infekcie HCV. Bezinterferónové, a veľmi pravdepodobne i bezribavirínové, režimy predstavujú jednoznačnú prioritu liečby podľa amerických, evropských a českých doporučených postupů. Jejich najväčšou výhodou je vysoká účinnosť – dosaženie setrvalé virologické odpovedi (SVR) v minimálne 90 % prípadů je považované za naprostou nutnosť, často je to viac než 95 % a u niektorých skupin pacientů sa úspešnosť liečby blíži 100 %. Ďalšou výhodou je kratšia doba podávania, väčšinou 12 týždňů, v niektorých prípadoch len 8 týždňů, u komplikovaných pacientů maximálne 24 týždňů, absence závažných nežádúcich účinků a kontraindikácií liečby. Jejich jedinou nevýhodou je zatiaľ relatívne vysoká cena, ktorá zásadným spôsobom snižuje ich dostupnosť v rade zemí sveta, vrátane Českej republiky. Je však treba vziať do úvahy, že vyléčením pacienta s chronickou infekciou HCV pred prechodom ochorenia do stadia jaterného cirhózy a hepatocelulárneho karcinomu (HCC) sa ušetrí obrovská časť peňazí potrebných pre liečbu dekompenzovaného cirhózy alebo pacienta s HCC, vrátane nákladů za transplantáciu jater a následnú celoživotnú péču po transplantácii. Nemenej dôležitá je i nesrovnateľne vyššia kvalita života vyléčeného pacienta.

Výsledky liečby prvých 80 pacientů s klostridiovou kolitídou Fidaxomicínom**Husa P.¹, Freibergová M.¹, Polák P.^{2,3}, Svačina R.¹***¹Klinika infekčných chorob, LF MU a FN Brno, ²Klinika interné, geriatrickej, ošetrovateľskej a praktického lékařství, LF MU a FN Brno, ³Oddělení klinické hematologie, FN Brno*

Fidaxomicin je moderní makrocyclické perorální antibiotikum s vysokou baktericidní účinností proti *Clostridium*

difficile a současně úzkým antimikrobiálním spektrem umožňující minimální ovlivnění fyziologické střevní flóry. Podle aktuálních doporučení European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) a Společnosti infekčního lékařství ČLS JEP má fidaxomicin významné postavení v léčbě závažných forem klostridiové kolitidy (CDI), v léčbě pacientů s první rekurencí nebo vysokým rizikem recurence onemocnění. Od počátku roku 2013, kdy jsme zahájili léčbu tímto preparátem, bylo na Klinice infekčních chorob Fakultní nemocnice Brno hospitalizováno celkem 760 s diagnózou CDI. Fidaxomicin byl použit k terapii 80 pacientů a celkem 82 atak onemocnění (2 pacienti byli léčeni fidaxomicinem 2×). Věkové rozpětí pacientů bylo od 27 do 91 let, nejčastěji léčenou věkovou kategorií byla skupina od 80–89 let (40 %). Zastoupení mužů a žen bylo obdobné (38 : 42). Nejčastěji byli léčeni pacienti s první rekurencí 41 (50 %) a druhou rekurencí 23 (28 %) onemocnění. U 9 (11 %) pacientů byl fidaxomicin podáván již k terapii prvního vzplanutí onemocnění – převážně se jednalo o pacienty s pokračující onkologickou léčbou nebo pacienty s nutností dlouhodobé antibiotické léčby jiného infekčního onemocnění. Devět pacientů (10 %) mělo fidaxomicin nasazen k léčbě 3.–5. recurence onemocnění.

U všech pacientů došlo při léčbě fidaxomicinem k vyléčení s úplnou regresí klinických projevů CDI, 62 pacientů (78 %) bylo ve sledovaném období vyléčeno trvale. U 4 pacientů (5 %) došlo v rozmezí od 3 do 11 měsíců k pozdní rekurenci CDI. 14 pacientů (17 %) mělo po ukončení léčby fidaxomicinem v rozmezí od 2 do 32 dnů časnou rekurenci onemocnění, ve 3 případech u nich bylo v mezidobí mezi rekurencemi opět podáváno širokospektré antibiotikum.

Naše dosavadní klinické zkušenosti potvrdily léčebný efekt fidaxomicinu jako vysoce účinného a bezpečného antibiotika, které významně snižuje riziko recurence CDI.

Nevyřešené otázky v očkování dospělých

Chlábek R., Smetana J.

Katedra epidemiologie, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Hradec Králové

Očkování v dospělosti má svoji nezastupitelnou úlohu v celoživotní prevenci infekčních onemocnění. Česká republika jako jedna z prvních ve střední a východní Evropě, již v roce 2009, vytvořila a přijala svůj očkovací kalendář pro dospělé. Mezi odborná doporučení, která vznikla pro dospělé, patří zejména doporučení k očkování proti meningokokovým a pneumokokovým onemocněním, proti tetanu, proti pertusi, doporučení pro chronicky nemocné a rizikové skupiny, jako je doporučení pro očkování pacientů s porušenou či zaniklou funkcí sleziny, doporučení pro pacienty s chronickým renálním selháváním nebo doporučení k očkování proti meningokokovým onemocněním u mužů praktikujících sex s muži. Nedostatečná imunita z dětství se projevuje návratem některých nemocí do dospělé populace (pertuse, parotitida, spalničky). Proto vznikají doporučení očkování pro kontakty se spalničkami. Při výskytu spalniček jsou v riziku zejména v minulosti neočkované dospělé osoby (ročník narození 1969 a starší), osoby nedostatečně očkované v dětství (ročníky narozené v roce 1970–1975), s aplikací pouze jedné dávky MMR vakcíny, nebo zdravotničtí pracovníci.

I přes narůstající možnosti a zapojení většího počtu lékařských odborností do vakcinace, nebo možná právě proto, zůstává v očkování dospělých řada nevyřešených otázek. Není zcela jasně známo, jak přidružená chronická onemocnění mohou ovlivnit imunitní odpověď na vakcinaci, jaká je účinnost a délka protekce. Registrační a klinické studie jsou většinou prováděny se zdravými dobrovolníky. Je také jenom minimální množství studií se seniory, s osobami ve věku 65 let a více nebo s těhotnými ženami. Další otázkou zůstává vliv věku na očkování. Fenomén imunosenescence (pokles imunity) ve stáří může významně ovlivnit postvaccinační odpověď a celkovou účinnost očkování, což potvrzuje nízká účinnost vakcinace proti chřipce nebo pásovému oparu u seniorů. Jednou z možností je větší využívání konjugovaných, adjuvantních a rekombinantních vakcín.

Nevyřešenou otázkou také zůstává účinnost a bezpečnost řady vakcín během gravidity a kojení. Přitom se stále více objevují doporučení očkování těhotných žen (proti chřipce, pertusi). Přístup řady lékařů k očkování v těhotenství není jednoznačný. U některých očkování stále čekáme na data potvrzující/vyvracející dlouhodobost postvaccinační protekce. Dosud není známo, zda očkování proti hepatitidě B provedené v kojeneckém věku bude přetrvávat i bez přeočkování až do dospělosti či stáří. Otázkou také zůstává, zda člověk očkovaný v dětství proti varicele je v riziku onemocnění pásovým oparem a měl by se proti němu nechat ve věku 60 let očkovat, či nikoli. Víme, že situace s pertusí se stále nelepší, a proto další otázkou je, zda přeočkování dospělých proti pertusi je tou správnou cestou.

V neposlední řadě další nevyřešenou otázkou zůstává, jak více se postupně budou zdravotní pojišťovny podílet na úhradě očkování dospělých.

Práce byla podpořena dlouhodobým záměrem rozvoje organizace 1011.

Nový pohled na testování HIV – informovaný souhlas, incidentní choroby, epidemiologické indikace

Chrdle A.¹, Jerhotová Z.², Chmelík V.¹

¹*Infekční oddělení, Nemocnice České Budějovice, a. s.,*
²*Tropical and Infectious Disease Unit, Royal Liverpool University Hospital, Liverpool, Velká Británie*

Úvod: Infekce HIV je dobře léčitelná chronická nemoc a při včasné léčbě a dobré compliance pacienta lze předpokládat zkrácení doby dožití o cca 1 rok oproti zdravému jedinci. Diagnostika a bezplatná péče ve specializovaných centrech je v ČR dostupná pro všechny občany ČR a osoby s trvalým pobytem. Přesto incidence nově diagnostikovaných infekcí HIV v ČR mezitím narůstá o 10 % a každý rok je diagnostikováno 25–30 osob ve stádiu AIDS, s 30–50% mortalitou. Časnější diagnóza umožňuje včasnější zahájení antiretrovirové léčby, což je spojené s významně nižší morbiditou i mortalitou.

Metody: Porovnání použití písemné či ústní formy informovaného souhlasu a testování při výskytu incidentních chorob v zemích Evropy a v USA.

Výsledky: V současné době je v ČR pro testování HIV platná legislativa z roku 2003. V roce 2006 vydalo americké CDC doporučení pro rozsáhlejší a volnější pojetí testování na HIV (opt-out). Porovnání před zavedením a po zavedení programu opt-out v USA ukazuje jednoznačně ve

prospěch tohoto přístupu. Současná evropská doporučení obsahují ústní informovaný souhlas s testováním na HIV s možností test odmítnout. Toto pojetí převzala většina evropských zemí. Výzvou celosvětově zůstává častější testování na HIV u nemocí s vyšší incidencí při infekci HIV (incidentní či indikátorové choroby) včetně stavů definujících AIDS jak infektology, tak ostatními odbornostmi včetně lékařů primární péče.

Diskuze: Písemná forma informovaného souhlasu je bariérou pro častější testování na HIV u osob s klinickými projevy kompatibilními s infekcí HIV, a proto je zapotřebí buď změnit stávající 12 let starou legislativu, nebo zajistit publicitu jejímu novému výkladu. Dále je zapotřebí spolupráce s dalšími odbornými společnostmi, které pečují o pacienty s incidentními chorobami, aby se v jejich léčebných doporučeních stalo testování HIV součástí rutinního vyšetření, bez nutnosti precounselingu a bez bariéry písemnou formou informovaného souhlasu. Etické a epidemiologické dilema zůstává u nepojištěných osob. Epidemiologické přehledy by měly poskytovat krom kumulativních dat i podrobnější meziroční data a také informace o pozdě diagnostikovaných, byť i asymptomatických případech (počet CD4+ T lymfocytů nižší než 350/mm³).

Havárie vodovodního řadu Dejvice Jágrová Z., Čermák M.

Hygienická stanice hl. města Prahy

V květnu 2015 došlo k havárii vodovodního řadu na území hl. města Prahy v lokalitě Praha 6-Dejvice. Havárií bylo zasaženo 17 000 odběrových míst, což je přibližně 32 000 obyvatel. Lékaře v souvislosti s onemocněním navštívilo 4 144 nemocných, celkem 33 osob bylo hospitalizováno. Obyvatel, kteří si zažádali PVaK o kompenzaci, je k dnešnímu datu přibližně 5 500. Z dotazníkové studie, ve které bylo náhodným výběrem vybráno 3 000 respondentů, obtíže uváděla téměř třetina. Lze tedy odvodit, že havárie zasáhla téměř 10 000 osob. Pracovníci Hygienické stanice hl. města Prahy začali havárii řešit již v nočních hodinách (ze soboty na neděli 24. 5.) po nahlášení prvních případů onemocnění (hlásila ZZS a emergency ÚVN Praha). Podařilo se včas zajistit mimo jiné i virologické vyšetření biologického materiálu pacientů a virologické vyšetření vody. Z vyšetření vzorků vody i biologického materiálu byly prokázány noroviry, které, přestože nebyla provedena genotypizace, lze považovat za původce epidemie. Posléze bylo zjištěno, že došlo k průsaku kanalizace do porušeného vodovodního řadu a po napuštění vodovodního řadu po plánované opravě došlo ke kontaminaci pitné vody. Skutečnost, že kanalizace je umístěna nad vodovodním řadem, nebyla nikde uvedena. Sdělení popisuje průběh řešení celé epidemie.

Odečítání v bakteriologii dnes – 2015

Janečková J., Podivínská H.

Odd. infekční diagnostiky a ATB stř., Litomyšlská nemocnice NPK

Rekonstrukce laboratorních procesů v bakteriologii může být velkou budoucností v oblasti diagnostiky a následně terapie infekčních onemocnění. Analýza stávajícího provozu laboratoře a novodobé instrumentace nám poskytuje řadu variant, jak provozně uspořádat laboratorní postupy, jak

konkretizovat pracovní pozice materiálovými potřebami, kde implementovat přístroje apod. Výsledkem je nejen odborná výtěžnost, ale i racionalizace lidských zdrojů. Nastavení a zapracování upgradovaných laboratorních postupů ukazuje na přínos v měřítku výkonového systému, ale především v řízení Centra prescripcie antiinfektiv (CPA), tak lze skutečně pojmenovat novodobé možnosti ATB středisek.

Pracovní průběh odečítání v bakteriologii začíná nově od čárových kódů na všech Petriho miskách, následně v dokumentační stanici a používání PACS. Analytické procesy obrazů poskytují možnosti dalších kroků. Nyní je možné výstupní výsledek laboratorního vyšetření kompletizovat z několika různých pohledů a tím zkvalitňovat doporučení pro event. terapii. Lze říci, že lze nazvat diagnostiku infekčních onemocnění za kvalifikovanou a odpovědnou. Také získaný digitální archiv je neskutečným zdrojem dat, nejcennější kartotékou pacientů s infekčním onemocněním. To je výzva do budoucna. Potenciál digitálních archivů je velký, jde o vědecká data k použití. Archivovaná zdravotní data pacienta lze organizovat, ukládat podle klíče.

Workflow je rozděleno do následujících pěti hlavních kroků: Nafocení prostřednictvím PACS modulu kultivace z laboratorních bloků, u kterých je potřebná identifikace hmotnostní spektrometrií následným postupem. Odečítající pracovník v bakteriologii sejme čtečkou kód na nakultivované Petričce k odečtení, a tím se zobrazí na monitoru počítače kultivační výsledek. Prostřednictvím specializovaného software označí jednotlivé bakteriální kolonie pointry, které je zapotřebí identifikovat. Při identifikaci na hmotnostním spektrometru si laborantka opět čtečkou kódu vyvolá obraz s pointry a inokuluje na matrici. Po proběhlé identifikaci následuje validace identifikovaných kmenů opět pracovníkem, který načtením kódu znovu otevírá původní obraz kultivace, tentokrát s identifikačním hodnocením včetně score. Kontrolou morfologie a dalších náležitostí potvrdí nebo zamítne výsledek identifikace a tedy i to, zda bude výsledek komunikován dále do LIMS.

Vědecký pokrok posledních let přinesl mnoho nového v oblasti mikrobiologie a význam pokroku spočívá až ve využití vědy v reálné rutinní praxi laboratoře.

Proč je důležité hodnocení rizika infekce v nemocnici? Jindrák V.

Národní referenční centrum pro infekce spojené se zdravotní péčí, Státní zdravotní ústav, Praha

Hrozba nových a nově se objevujících infekčních nemocí vyvolaných původci nebezpečných vlastností se dnes považuje za globální problém, kterému se v ochraně veřejného zdraví věnuje značná pozornost. Pro agendu hodnocení infekčních rizik byla dokonce ustanovena významná evropská instituce – ECDC. Postupy hodnocení rizika (risk assessment) jsou v současné medicíně stále významnější a stávají se integrální součástí běžné praxe, včetně programů prevence a kontroly infekcí v nemocnicích. V příspěvku jsou na několika příkladech dokumentovány aktuální přístupy k hodnocení rizika vzniku infekce při poskytování zdravotní péče v nemocnici, ať už je podmíněno klinickým stavem pacienta, specifickou zdravotnickou technologií, prostředím nemocnice, nebo souvisí se zavlečením infekce z jiného zdravotnického zařízení nebo z komunity. Z příkladů vyplý-

vá nezbytnost začlenění kvalifikovaných metod risk assessmentu do preventivních programů nemocnic, včetně funkčního systému časného varování. Pouze takový přístup umožňuje provádění neodkladných, cílených intervencí, které účinně přispívají ke zvýšení bezpečnosti pacientů.

Problematika bakteriální rezistence k antibiotikům

Kolář M.

Ústav mikrobiologie, FNOL a LF UP v Olomouci

Současný nárůst lékařských poznatků, přinášející stále nové postupy v diagnostice i terapii, bezesporu vede ke zvyšování úspěšnosti léčby lidských onemocnění. Tento pozitivní vývoj má však stinnou stránku, a to související bakteriální infekce, jejichž význam se v posledních letech neustále zvyšuje. Například stoupá počet pacientů na umělé plicní ventilaci a tím se zvyšuje riziko vzniku komplikující ventilátorové pneumonie. Nedílnou součástí léčby infekcí vyvolaných bakteriemi je aplikace antibiotik, která cíleně zasahují etiologická agens.

Základní požadavky lze formulovat následujícími body:

- včasné zahájení antibiotické léčby,
- optimální výběr konkrétního antimikrobního přípravku, event. jejich kombinací,
- dostatečné dávkování,
- odpovídající délka antibioterapie.

Antimikrobní přípravky, tak jak je známe v současné medicíně, jsou používány více než 70 let. Přes jejich velký rozmach v 60. a 70. letech minulého století, dokumentovaný vývojem a zavedením do praxe celé řady antimikrobních léčiv, představují bakteriální infekce stále velký problém.

Hlavní důvody této skutečnosti lze definovat následujícími body:

- bakteriální infekce jsou velmi často endogenního charakteru, resp. původce pochází z primární nebo sekundární mikroflóry lidského těla,
- stoupá počet imunokompromitovaných pacientů a osob s umělými materiály,
- stále více se používají invazivní diagnostické i léčebné postupy.

Dalším významným problémem je stoupající rezistence bakterií k účinku antibiotické léčby. Aplikace antimikrobních přípravků, resp. jejich selekční tlak, je důležitým faktorem tohoto nepříznivého účinku a v odborné literatuře je k dispozici řada sdělení dokladujících uvedenou skutečnost. Je však nutné poukázat na stoupající rezistenci i v případě snižování spotřeby antibiotik. Vysvětlení tohoto jevu spočívá v šíření mobilních genetických elementů (především plazmidů a transpozonů) v bakteriálních populacích. Je zřejmé, že více jak 70letá éra masivního, v řadě případů nekontrolovaného a zbytečného, podávání antibiotik způsobila současnou alarmující situaci, kterou je nutné neodkladně řešit. Velmi důležitým požadavkem je spolupráce mikrobiologů, farmakologů a klinických lékařů. Mikrobiologové mohou aktivně zasahovat do řízení antibiotické politiky a racionální antibioterapie na základě znalosti frekvence bakteriálních patogenů a jejich rezistence v přesně vymezených epidemiologických jednotkách. Dále je nutné pečlivě zvážit interpretaci mikrobiologických kultivačních výsledků a sdělování citlivosti či rezistence bakterií k antibiotikům. Správnost interpretace možné patogenní úlohy izolo-

vané bakterie a její citlivosti, včetně mechanismu, event. rezistence, je z pohledu antimikrobní léčby vhodným způsobem spolupráce mezi mikrobiologem a klinickým lékařem.

Podpořeno grantem IGA MZ ČR č. NT14263.

Praktické aspekty vakcinace – současné možnosti a realizace v klinické praxi infektologa

Kosina P., Rumlarová Š., Pellantová V., Krausová J.

Klinika infekčních nemocí, Centrum pro očkování a cestovní medicínu, LF UK a FN v Hradci Králové

Z pohledu infektologa je očkování významné nejen v oblasti cestovní medicíny, ale i v prevenci infekčních chorob u vybraných rizikových skupin populace. V posledních letech dochází k prolínání obou skupin, neboť počet cestovatelů s přidruženými chorobami narůstá. Důsledkem je snaha o vytváření mezioborových přístupů, tj. nacházení společných stanovisek, která vyplývají ze spolupráce očkujícího lékaře s dalšími odborníky z mnoha medicínských oborů – onkologie, revmatologie, gastroenterologie, hematologie, neurologie, chirurgie, gynekologie atp.

Náplň práce očkovacích center při infekčních odděleních a klinikách bývá obvykle poradenství a očkování cestovatelů (včetně další péče v případě zdravotních obtíží po návratu ze zahraničí), a dále vakcinace chirurgických pacientů po odnětí sleziny, resp. všech pacientů s hyposplenismem podle Doporučeného postupu z roku 2013, podání odpovídající profylaxe vztekliny, varicely nebo tetanu – aktivní, pasivní nebo kombinované. Součástí běžné praxe je i komplexní vakcinace pacientů dispenzarizovaných v konkrétním zdravotnickém zařízení – tento způsob vykazuje výrazně vyšší compliance pacientů než pouze písemná doporučení pro praktické lékaře bez důsledné kontroly realizace provedeného očkování. Například hematologické pacienty (včetně osob po transplantaci krvetvorných buněk) je takto možné očkovat se znalostí aktuálního zdravotního stavu a krevních parametrů obvykle v týž den, kdy probíhá kontrola hematologem. Pacienti dispenzarizovaní pro plicní choroby jsou ve spolupráci s pneumology motivováni k očkování proti respiračním infekcím – chřipce, pneumokoku a pertusi – a daří se zvyšovat jejich proočkovanost i přes limitovanou úhradu od zdravotních pojišťoven. Za výhodu integrální péče v konkrétním zdravotnickém zařízení lze považovat dostupnost výsledků komplementárních vyšetření a znalost přesné medicíny, což pomáhá optimalizovat načasování vakcinace např. u pacientů s onkologickými a autoimunitními onemocněními, která ve vybraných centrech probíhá. Specifickou náplň práce některých očkovacích center při infekčních klinikách (Brno, Hradec Králové) je také pediatriká vakcinologie. Jde o vysoce specializovanou oblast oboru, která zahrnuje vakcinaci dětských pacientů s neurologickými, autoimunitními, hematologickými a metabolickými chorobami a vakcinaci předčasně narozených dětí. Součástí práce je také konzultační činnost a zajišťování očkovacích látek pro děti, které z jakéhokoliv důvodu nemohou být očkovány běžně používanými kombinovanými vakcínami (nežádoucí reakce po vakcinaci, základní onemocnění kontrindikující některou ze složek aj.).

Rozsah a náplň činnosti jednotlivých očkovacích ambulancí, resp. center se regionálně liší, ale znalost klinické, vakcinologické a epidemiologické problematiky infekčních

onemocnění, návaznost na ostatní oddělení a pediatrická, resp. interní specializace v rámci oboru infekčního lékařství dává prostor k poskytování komplexní vakcinační péče.

Méně obvyklé klinické obrazy parvovirové infekce Kračmarová R., Hermanová Z., Rumlarová Š., Plíšek S.

Klinika infekčních nemocí, LF UK a FN Hradec Králové

Parvovirus B19 je obvyklým patogenem především dětského věku. Ve své typické podobě nepředstavuje parvovirová infekce obvykle diferenciálně diagnostický problém a s výjimkou intrauterinní infekce a rovněž známého rizika komplikací u pacientů s hematologickým či nefrologickým onemocněním ani problém klinický. Vzácně se ale i mimo tyto skupiny můžeme setkat s méně obvyklými projevy vedoucími k diagnostickým rozpakům, případně i s rozvojem závažného stavu. Na našem pracovišti jsme od roku 2008 hospitalizovali celkem 4 pacienty ve věku 9–34 let s obrazem horečnatého infektu s krvácivými projevy na kůži. Klinický obraz vedl k podezření na invazivní meningokokové onemocnění, které bylo v dalším průběhu vyloučeno a u všech pacientů byla prokázána parvovirová infekce. *Parvovirus B19* považujeme za etiologické agens i v případě mladé ženy (lékařky) hospitalizované pro febrilní stav se závažnou leukopenií. Dominující klinickou obtíží byla svalová slabost znemožňující vertikalizaci, k výsevu exantému nedošlo. U desetiletého chlapce s náhodnou koincidencí parvovirové infekce a infekce virem klíšřové meningoencefalitidy jsme zaznamenali agranulocytózu bez postižení červené krevní řady a klinicky i laboratorně vyjádřenou myositidu, ani v tomto případě nebyl pozorován exantém. Společným rysem všech předkládaných případů byla nápadně vysoká kvantita DNA *Parvoviru B19* v séru, řádově 10^9 – 10^{10} kopií/ml (PCR). Závažnou orgánovou komplikací infekce byl rozvoj fulminantní myokarditidy, bezprostředně navazující na typický klinický obraz erythema infectiosum u dvouleté dívky. *Parvovirus B19* jako etiologické agens lze dle literárních pramenů očekávat asi u 5 % atypických kožních projevů u dětí a dospělých. Myokarditida je velmi vzácnou komplikací, většinou u mladých dospělých. V některých publikovaných případech je etiologie verifikována průkazem viru v endomyokardiálním bioptátu, v našem případě byla etiologie pouze sérologicky ověřena v době výsevu exantému.

Aktuální stav a perspektivy chronické hepatitidy C na Slovensku

Kristian P., Schréter I.

Klinika infektologie a cestovnej medicíny, LF UPJŠ a UNLP Košice, Slovenská republika

Úvod: Chronická hepatitída C (CHC) má okrem medicínskeho významu aj značný ekonomický dopad pre spoločnosť. Zlepšenie epidemiologickej situácie v mnohých krajinách možno pripisovať zavedeniu účinných preventívnych opatrení ako aj významnému pokroku v antivírusovej liečbe. Problémom ostáva naďalej veľké množstvo nediagnostikovaných osôb a obmedzená dostupnosť liečby.

Cieľ: Zhodnotiť aktuálny stav a odhadnúť predpokladaný vývoj epidemiologickej situácie CHC na Slovensku.

Metodika: Prevalenciu CHC na Slovensku je možné hodnotiť na základe údajov z dvoch rozsiahlych epidemiologic-

kých prieskumov a počtu hlásených prípadov CHC. Predpokladaný vývoj epidemiologickej situácie a predpoklad prevalencie CHC, jej rôznych štádií podľa fibrózy, počet prípadov cirrhózy, HCC ako aj úmrtí v súvislosti s CHC boli stanovené pomocou špeciálneho epidemiologicko-farmaceutického modelu. Tento zohľadňuje rôzne liečebné stratégie, dostupnosť liečby aj kvalitu skríningu.

Výsledky: Na základe dvoch epidemiologických štúdií, ktoré sa opierajú o vyšetrené vzorky osôb z rokov 1997 a 2002 (3 608 vzoriek) resp. 2010 a 2011 (4 598 vzoriek), je možné predpokladať anti-HCV prevalenciu asi u 1,4 % populácie. HCV RNA pozitivita sa potvrdila približne v 0,7 % vyšetrených, čo vedie k celkovému odhadu asi 35 000 infikovaných osôb na Slovensku.

V posledných rokoch je hlásených priemerne asi 300 prípadov novozistenej infekcie ročne, pričom sumárne za celé obdobie hlásenia (r. 1990–2014) bolo zachytených 3 834 osôb, čo predstavuje len asi 11 % z celkového predpokladaného počtu infikovaných.

Pri zachovaní súčasnej prevencie, skríningu a dostupnosti liečby je možné sice očakávať pomalý pokles počtu infikovaných v SR, bude však narastať počet prípadov s pokročilým štádiom fibrózy. Počet pacientov s dekompenzovanou cirhózou, HCC a počet úmrtí z hepatálnych príčin pri HC dosiahne vrchol až po r. 2030 (25 %, 45 % resp. 35 % nárast medzi r. 2013–2030). Očakávaný nárast účinnosti a dostupnosti liečby môže znížiť úmrtnosť asi o 10 %. Radikálne zlepšenie môže nastať len pri výrazne zlepšenom skríningu hepatitídy C (asi 8-násobný nárast počtu novodiagnostikovaných prípadov ročne by znamenal pokles úmrtnosti o vyše 80 %).

Záver: Počet pacientov s CHC s pokročilým ochorením pečene bude v SR naďalej stúpať. Liečba novými terapeutickými stratégiami bez skvalitnenia skríningu a dostupnosti liečby prinesie len relatívne malé zlepšenie epidemiologickej situácie, preto je potrebné vyvinúť úsilie na dosiahnutie pokroku aj v tejto oblasti.

Vyšetření mutace Q80K v genu pro proteázu NS3 HCV – první zkušenosti

Kutová R.¹, Plíšková L.¹, Plíšek S.²

¹Ústav klinické biochemie a diagnostiky – úsek molekulární biologie, FN Hradec Králové, ²Klinika infekčních nemocí, FN Hradec Králové

Kombinace vysoké rychlosti HCV replikace, nízké přesnosti a špatné korektury HCV polymerázy a selektivního tlaku preparáty k léčbě HCV infekce, vede k rozvoji vysoce variabilních virů, souhrnně nazývaných „quasispecies“ s vysokou sekvenční diverzitou mezi různými genotypy a subtypy. Dochází tak k akumulaci variant viru s mutacemi (substituce aminokyselin) s různým stupněm rezistence k DAA (directly acting antivirals). Nicméně byly pozorovány i přirozené změny HCV NS3/4, NS5A a NS5B aminokyselin ve spojitosti s nižší citlivostí na léky, dosud neléčených pacientů těmito preparáty – tzv. před léčebné rezistenční varianty RAV (resistance associated amino acid variants) [1,2].

Mezi RAV patří i NS3 polymorfismus Q80K, který se vyskytuje nejčastěji u pacientů s HCV genotypem 1a. Je

spojován se sníženou léčebnou odpovědí na DAA preparát simeprevir. Prevalence Q80K u pacientů s HCV genotypem 1a se liší dle geografických podmínek, např. u severoamerické populace s HCV genotypem 1 se dle nedávné studie jedná o prevalenci Q80K v 34 %. Studie zaměřená na prevalenci Q80K u evropské populace uvádí, že u pacientů s genotypem 1a je Q80K v 19,8 % a u pacientů s genotypem 1b v 0,5 % [4].

V současné době jsou pacienti s HCV infekcí genotypem 1a před zahájením léčby simeprevirem podrobeni vyšetření na přítomnost či nepřítomnost mutace v kodonu Q80K, způsobující rezistenci přibližně ve 14 %. Další klinicky významné mutace v kodonech 36, 43, 122, 138, 155, 156, 158, 168 se vyskytují v 1–2 % [1,3,5].

Na našem pracovišti molekulární biologie Fakultní nemocnice v Hradci Králové jsme zavedli v roce 2015 detekci mutací v genu pro proteázu NS3 metodou sekvenční analýzy. Návrh primerů byl proveden pomocí softwaru Custom Primers – OligoPerfect™ Designer. Metoda byla optimalizována pro genotyp 1a viru hepatitidy C. Provozně bylo doposud vyšetřeno 9 pacientů, u 3 z nich byla mutace Q80K prokázána.

Literatura:

- Ogishi M, Yotsuyanagi H, Tsutsumi T, et al. Deconvoluting the Composition of Low-Frequency Hepatitis C Viral Quasispecies: Comparison of Genotypes and NS3 Resistance-Associated Variants between HCV/HIV Coinfected Hemophiliacs and HCV Monoinfected Patients in Japan. *PLoS ONE*. 2015;10:1–28.
- Paolucci S, Fiorina L, Mariani B, et al. Naturally occurring resistance mutations to inhibitors of HCV NS5A region and NS5B polymerase in DAA treatment-naïve patients. *Virology Journal*. 2013;10:355–361.
- Leggiewie M, Green V, Abdelrahman T, et al. Natural NS3 resistance polymorphisms occur frequently prior to treatment in HIV-positive patients with acute hepatitis C. *AIDS*. 2013;27:2485–2488.
- Sarrazin C, Lathouwers E, Peeters M, et al. Prevalence of the hepatitis C virus NS3 polymorphism Q80K in genotype 1 patients in the European region. *Antiviral Research*. 2015;116:10–16.
- Bae A, Sun SC, Qi X, et al. Susceptibility of treatment-naïve hepatitis C virus (HCV) clinical isolates to HCV protease inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2010;54:5288–5297.

Příušnice – epidemiologická situace a aktuální poznatky z laboratorní diagnostiky

Limberková R.¹, Smíšková D.², Havlíčková M.¹, Herrmannová K.², Marešová V.², Lexová P.¹, Kynčl J.¹

¹Státní zdravotní ústav, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Praha, ²Klinika infekčních, parazitárních a tropických nemocí, Nemocnice Na Bulovce, Praha

V České republice je dlouhodobě pozorován zvýšený počet onemocnění příušnicemi, a to zejména v očkované populaci, která tvoří přibližně 80 % nemocných. Sérologické přehledy 2013 ukázaly, že navzdory vysoké proočkovanosti je průměrná postvakcinační séropozitivita velmi nízká, čemuž odpovídá i nemocnost. Charakteristické znaky výskytu onemocnění příušnicemi v ČR zůstávají i nadále nezměněné. Jedná se spíše o sporadické případy, z nichž přibližně polovinu tvoří osoby mezi 10 a 19 lety. Nejčastější komplikace jsou orchitida a meningitida a jejich výskyt je vyšší u nevakcinovaných osob. Sekvenční analýzou cirkulujících kmenů z roku 2013/2014 byla zjištěna příslušnost ke genotypu G, jehož výskyt je na našem území pozorován již od roku 2005. Aktuální evropská data ukazují, že ačkoli je ve většině zemí EU/EEA druhá dávka MMR vakcíny aplikována až v předškolním nebo školním věku, tak i zde se epidemie příušnic vyskytují. Stejně jako u nás jsou nejpostiženějšími mladí dospělí (15–24) a děti (5–14) a výskyt komplikací je také podobný našemu. Zda je důvodem vyššího výskytu onemocnění v ČR primární (PVF), nebo sekundární selhání vakcinace (SVF), bylo testováno pomocí avidity IgG protilátek, ale i hemaglutinačně inhibičním testem. Záměrem bylo zjistit, zda je titr protilátek proti hemaglutininu, povrchovému antigenu, který se podílí na stimulaci tvorby neutralizačních protilátek, ovlivněn genotypem. Výsledky ukázaly, že u všech vakcinovaných byly detekovány pouze vysokoavidní protilátky, což svědčí pro SVF. Toto tvrzení podporují i výsledky hemaglutinačně inhibičního testu, kde nebyly shledány žádné rozdíly ve výši titrů protilátek mezi genotypem A laboratorního kmene a genotypem G cirkulujícího kmene, které by mohly svědčit pro PVS v důsledku genotypové neshody. Laboratorní průkaz onemocnění, založený na IgM protilátkách v akutním vzorku séra, je u vakcinovaných osob poměrně komplikovaný, proto byl posuzován možný diagnostický přínos IgA protilátek. Srovnáním ELISA IgM a IgA protilátek bylo zjištěno, že vyšší průkaznosti infekce virem příušnic bylo dosaženo na základě positivity IgA protilátek. Zařazení této sérologické metody výrazně zefektivnilo laboratorní diagnostiku příušnic, a to zejména u vakcinovaných osob.

Podpořeno grantem IGA MZČR NT 14059-3/2013.