

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 FN OL 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. Olga Džupová, Ph.D.
Infekční klinika 3. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha
Doc. MUDr. Petr Hamal, Ph.D.
Ústav mikrobiologie FN OL a LF UP v Olomouci
Prof. MUDr. Petr Husa, CSc.
Klinika infekčních chorob, LF MU a FN Brno
Doc. RNDr. Dittmar Chmelář, Ph.D.
NRL pro anaerobní bakterie, LF Ostravské Univerzity
Prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.
Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. LF UK v Praze
Prof. MUDr. Daniela Kotulová, PhD.
Čestná členka Slovenskej spoločnosti klinickej
mikrobiologie, SLS
Doc. MUDr. Lenka Krávková, CSc.
Klinika dětských infekčních nemocí, LF MU a FN Brno
MUDr. Pavla Křížová, CSc.
Státní zdravotní ústav, Praha
MUDr. Roman Kula, CSc.
Anesteziologicko-resuscitační klinika, FN Ostrava
MUDr. Otakar Nyč, Ph.D.
Ústav lék. mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, Praha
Doc. MUDr. Hanuš Rozsypal, CSc.
Infekční klinika 1. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha
Doc. MUDr. Luděk Rožnovský, CSc.
Klinika infekčního lékařství, FN Ostrava
MUDr. Josef Scharfen, CSc.
Odd. lék. mikrobiol. a imunol. Oblast. nemocnice Trutnov
Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.
Klinika pro infekční choroby, LF UPJŠ, Košice
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

L. Rožnovský

91

PŮVODNÍ PRÁCE

Bakteriální komplikace při chirurgickém řešení karcinomu jícnu

R. Vrba, P. Kučová, L. Lubušská, K. Fišerová, M. Kolář

93

Návrh standardu pro přípravu kumulativních antibiogramů v České republice

V. Adámková

104

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Screening hepatitidy D je významný i v České republice

P. Husa, S. Snopková, P. Husa ml.

98

Dvojkombinace nebo trojkombinace antiretrovirotik?

S. Snopková, P. Husa

116



VYDAVATEL

a adresa redakce:

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

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. Olga Džupová, Ph.D.
Dept. Infect. Dis. 3rd Med. Faculty, Charles Univ. Prague

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

Doc. RNDr. Dittmar Chmelář, Ph.D.
Dept. of Biomedical Sciences, University
of Ostrava's Faculty of Medicine

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

Doc. MUDr. Lenka Krbková, CSc.
Clinic of Children's Infectious Diseases,
Masaryk University and University Hospital in Brno

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

MUDr. Roman Kula, CSc.
Dept. of Anaesthesiology and Resuscit., Univ. Hosp. Ostrava

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

Doc. 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. 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

CONTENTS

EDITORIAL

L. Rožnovský

91

ORIGINAL ARTICLE

Bacterial complications in surgical management of esophageal cancer

R. Vrba, P. Kučová, L. Lubušková, K. Fišerová, M. Kolář

93

Draft recommendation for preparation of cumulative antibiograms in the Czech Republic

V. Adámková

104

REVIEW

Hepatitis D screening is important in the Czech Republic as well

P. Husa, S. Snopková, P. Husa ml.

98

Dual or triple combination antiretrovirals?

S. Snopková, P. Husa

116



spol. s r. o.

PUBLISHER

and Editorial Office:

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

Tel.: +420 267 912 030, Fax: +420 267 915 563
redakce@trios.cz, http://kml.trios.cz

Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

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

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

A peer – reviewed journal

4 issues per volume.

ISSN 1211-264X

Copyright © Trios Ltd. All rights reserved.

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

Úvodník

Vážené kolegyně, vážení kolegové,

rovněž letošní třetí číslo našeho společného časopisu „Klinická mikrobiologie a infekční lékařství“ vznikalo v turbulentním prostředí další vlny pandemie covid-19, kdy se většina infektologů a mikrobiologů věnovala diagnostice a léčbě uvedeného onemocnění, navíc mnozí z Vás byli zapojeni i do vakcinace proti covid-19 a časově náročné aplikace monoklonálních protilátek. Přesto doufám, že i v této nelehké době budete mít chvilku času, abyste nahlédli do našeho časopisu, který přináší několik zajímavých sdělení.

Původní práce kolegy Vrby a olomouckých spoluautorů uvádí vlastní zkušenosti s ošetřováním pacientů s karcinomem jícnu a výstižně popisuje možnosti chirurgického řešení při rozdílných lokalizacích tumoru. Současně upozorňuje na časté pooperační infekční komplikace, zejména pneumonie provázené respiračním selháním, a zdůrazňuje nezbytnost úzké spolupráce chirurgů s mikrobiology.

Přehledová práce brněnských autorů pod vedením prof. Husy upozorňuje na opomíjenou hepatitidu D, která je pravděpodobně i v naší republice častější, než se dosud diagnostikuje. Článek poskytuje ucelené informace o epidemiologii, klinickém průběhu, diagnostice a léčbě uvedeného onemocnění, v závěru je doplněn o výstižnou kazuistiku ukrajinského pacienta s chronickou hepatitidou D.

Kolegyně Adámková z Olomouce ve své původní práci upozorňuje na nezbytnost vytvoření jasných a jednotných

pravidel pro tvorbu kumulativních antibiogramů, které pomáhají při racionální úvodní empirické léčbě. Poukazuje na to, že existují jen americká doporučení pro tvorbu kumulativních antibiogramů, rozsáhle diskutuje problémové pasáže v tomto doporučení, které se týkají např. adekvátního posouzení stafylokoků a enterokoků, opakovaných izolátů od jednoho pacienta či významu bakterií kolonizujících pacienty.

Ve čtvrtém článku tohoto čísla brněnští autoři Snopková a Husa v přehledové práci podrobně rozebírají možnosti léčby HIV infekce nově dostupnou dvojkombinací nebo standardní trojkombinací antiretrovirotik. Upozorňují na to, že dlouhodobá protivirová léčba je provázena předčasným stárnutím s časnějším rozvojem kardiiovaskulárních a dalších „civilizačních“ chorob, což by snad mohla zpomalit dvojkombinační léčba s novými přípravky pro léčbu HIV.

Pestrá paleta článků vypovídá o životaschopnosti našeho časopisu. Přesto Vás chci znovu požádat o zasílání Vašich rukopisů do redakce KMIL, což zajistí vysokou úroveň časopisu i v dalších letech.

Luděk Rožnovský
člen redakční rady

Bakteriální komplikace při chirurgickém řešení karcinomu jícnu

R. VRBA¹, P. KUČOVÁ², L. LUBUŠKÁ³, K. FIŠEROVÁ², M. KOLÁŘ²

¹I. chirurgická klinika, Fakultní nemocnice Olomouc; ²Ústav mikrobiologie, Fakultní nemocnice Olomouc;
³Oddělení intenzivní péče chirurgických oborů, Fakultní nemocnice Olomouc

SOUHRN

Vrba R., Kučová P., Lubušská L., Fišerová K., Kolář M.: **Bakteriální komplikace při chirurgickém řešení karcinomu jícnu**

K nejčastějším nádorovým onemocněním patří karcinom jícnu. Základním terapeutickým přístupem je ezofagektomie, která představuje jeden z nejrozsáhlejších operačních výkonů všeobecné chirurgie s možným rozvojem závažných pooperačních komplikací, především respiračních. Cílem předložené studie byla klinická a mikrobiologická charakteristika souboru pacientů po exstirpaci jícnu pro karcinom.

V roce 2020 bylo operováno celkem 14 nemocných. Respirační komplikace se vyskytly u 57 % pacientů, přičemž pneumonie s rozvojem respiračního selhání a ARDS byly zaznamenány u 21 %. Jako bakteriální patogeny byly prokázány kmeny *Acinetobacter johnsonii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* a *Enterococcus faecium*. U jednoho pacienta byl stav komplikován i mykotickou infekcí vyvolanou kmenem *Candida krusei*.

Výsledky studie potvrzují nutnost úzké spolupráce mezi mikrobiologem a ošetřujícím lékařem, která musí být kontinuální a vycházet z každodenního posouzení výsledků mikrobiologických vyšetření i klinického stavu pacienta.

Klíčová slova: karcinom, jícen, bakterie, infekce

SUMMARY

Vrba R., Kučová P., Lubušská L., Fišerová K., Kolář M.: **Bacterial complications in surgical management of esophageal cancer**

One of the most common cancers is esophageal carcinoma. The basic therapeutic approach is esophagectomy, one of the most extensive procedures in general surgery, potentially leading to serious postoperative complications, in particular respiratory complications. The objective was clinical and microbiological characterization of patients after the surgical removal of the esophagus for carcinoma. In 2020, a total of 14 patients underwent the surgery. Respiratory complications occurred in 57 % of them, with pneumonia leading to respiratory failure and acute respiratory distress syndrome being noted in 21 %. The identified bacterial pathogens were strains of *Acinetobacter johnsonii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Enterococcus faecium*. In one case, the patient's condition was complicated by fungal infection caused by *Candida krusei*.

The study results warrant the need for close collaboration between the physician caring for a particular patient and a microbiologist that must be continuous and based on daily assessment of both microbiology test results and the patient's clinical condition.

Keywords: carcinoma, esophagus, bacteria, infection

Klin mikrobiol inf lék 2021;27(3):93–97

Adresa: Mgr. Pavla Kučová, Ústav mikrobiologie FNOL, I. P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc, e-mail: pavla.kucova@fnol.cz

Došlo do redakce: 19. 4. 2021

Schváleno k tisku: 27. 7. 2021

Úvod

Karcinom jícnu je osmým nejčastějším nádorovým onemocněním a šestou nejčastější příčinou úmrtí na nádorová onemocnění na světě [1]. V České republice je dle posledních dat karcinom jícnu dvanáctým nejčastějším zhoubným nádorem u mužů a až dvacátým třetím u žen. Diagnostika onemocnění se opírá o endoskopické vyšetření s biopsií tu-

moru. Karcinom jícnu v 99 % tvoří dva základní typy nádorů, v orální a střední třetině jícnu spinocelulární karcinom, v aborálním jícnu adenokarcinom většinou na podkladě prekancerózy Barrettova jícnu [1].

Základní terapii karcinomu jícnu představuje ezofagektomie, kdy cílem operace je resekce jícnu s regionálními lymfatickými uzlinami. Výjimku tvoří pouze časná stadia

onemocnění, u nichž může být postačujícím léčebným výkonem endoskopická resekce sliznice s tumorem [2]. Ezofagektomií lze dle operačního přístupu provést klasickým nebo kompletním miniinvazivním způsobem [3]. Při kombinaci obou přístupů, většinou resekční fází cestou miniinvazivní a rekonstrukční klasickým způsobem, hovoříme o hybridní ezofagektomií [4]. U tumorů lokalizovaných v distálních partiích jícnu a gastroezofageální junkci lze operaci provést transhiatálně (cestou přes bránici ezofageálního hiátu) s lokalizací anastomózy v hlubokém krčním prostoru bez otevření hrudní dutiny. Pokud je tumor lokalizovaný v intratorakálním průběhu jícnu, je provedena operace z transtorakálního přístupu. Součástí výkonu je vždy lymfadenektomie, při které by měly být odstraněny svodné lymfatické uzliny. U nemocných s pokročilejším stadiem onemocnění je součástí léčebného protokolu neoadjuvantní radiochemoterapie.

Ezofagektomie je z chirurgického pohledu jeden z nejrozsáhlejších operačních výkonů všeobecné chirurgie s možným rozvojem závažných pooperačních komplikací, především respiračních s následným selháním plic [5]. Významný podíl na těchto komplikacích mají bakteriální infekce, včetně pneumonií.

Cílem předložené studie byla klinická a mikrobiologická charakteristika souboru pacientů po exstirpaci jícnu pro karcinom.

Materiál a metodika

Karcinom jícnu byl diagnostikován endoskopickým vyšetřením s biopsií tumoru, endosonografickým a PET/CT vyšetřením. Při lokalizaci tumoru v orální partii jícnu do vzdálenosti 30 cm od řezáku bylo indikováno tracheobronchopulmonické vyšetření k vyloučení infiltrace dýchacích cest nádorem. Před operačním výkonem bylo u všech nemocných provedeno interní, spirometrické a nutriční vyšetření. U nemocných s kardiologickou anamnézou bylo doplněno kardiologické a echokardiografické vyšetření. Nemocní byli na základě provedených vyšetření vyhodnoceni ASA klasifikací. Dle předoperačního „stagingu“ karcinomu jícnu byli pacienti v primárních stadiích onemocnění, na základě TNM klasifikace (cT1-2N0M0), indikováni k primárnímu chirurgickému výkonu, nemocní v pokročilejších stadiích (cT3-4, N0-2, M0) bez průkazu generalizace byli indikováni k neoadjuvantní onkologické terapii. Po neoadjuvanci byl proveden „restaging“ onemocnění (PET/CT, endoskopie) ke zhodnocení efektu neoadjuvantní terapie a pacienti byli v odstupu 8–12 týdnů indikováni k ezofagektomií. U každého pacienta bylo v časovém intervalu 3–7 dní před operačním výkonem provedeno kulturační vyšetření výtěru z nosohltanu.

Ezofagektomie byla provedena hybridním (kombinace miniinvazivního a klasického přístupu) nebo klasickým způsobem (cestou laparotomie a pravostranné torakotomie).

K rekonstrukci zažívacího traktu byl využit tubulizovaný žaludek, vyživovaný pravou gastroepiploickou tepnou. Anastomóza byla konstruována v hlubokém krčním prostoru nebo hrudníku.

Nemocní byli do 24 hodin po operačním výkonu extubováni, před extubací byl odebrán materiál z dolních cest dý-

chacích k mikrobiologickému vyšetření. V případě rozvoje bakteriální komplikace byly vyšetřeny příslušné klinické materiály (endotracheální sekret a sekret z pístěle či abscesu). Izolované bakterie či kvasinky byly identifikovány systémem MALDI-TOF MS (Biotyper Microflex, Bruker Daltonics). Citlivost k antibiotikům byla stanovena standardní diluční mikrometodou podle kritérií EUCAST [6]. Referenční kmeny *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 byly použity k protokolované kontrole kvality. Produkce širokospektrých beta-laktamáz typu AmpC byla detekována příslušnými fenotypovými testy [7]. Pozitivní fenotypové výsledky byly ověřeny pomocí PCR detekující geny specifické pro tento typ beta-laktamáz.

Výsledky

Do souboru bylo zařazeno celkem 14 nemocných, operovaných v roce 2020, 12 (86 %) mužů a 2 (14 %) ženy. Průměrný věk nemocných byl 61 roků. V osobní anamnéze celkem 7 (50 %) nemocných kouřilo, abúzus alkoholu přiznali 2 (14 %) nemocní. BMI pacientů se pohyboval v rozmezí 16–30 s průměrem 24. Z interních komorbidit v anamnéze dominovala hypertenzní nemoc u 6 pacientů, DM byl přítomen u 2, CHOPN u 1 nemocného. Adenokarcinom byl prokázán u 13 (93 %) nemocných, spinocelulární karcinom u 1 (7 %) nemocné. Dle lokalizace byl tumor ve 4 (29 %) případech lokalizovaný ve středním jícnu, v 10 (71 %) v oblasti distálního jícnu a gastroezofageální junkce. Neoadjuvantní radiochemoterapii podstoupilo 12 (86 %) nemocných.

Ve sledovaném souboru 14 pacientů došlo u 5 (36 %) k rozvoji bakteriální pneumonie, přičemž u 3 (21 %) byl klinický stav komplikován respiračním selháním s ARDS a současně rozvojem pístěle v místě operačního výkonu nebo abscesu v hlubokém krčním prostoru (tab. 1). U dalších tří pacientů byl zaznamenán vznik fluidothoraxu. Doba hospitalizace byla od 13 do 92 dnů. Jeden nemocný ze souboru exitoval. Jako bakteriální patogeny byly prokázány kmeny *Acinetobacter johnsonii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* a *Enterococcus faecium*. U jednoho pacienta byl stav komplikován i mykotickou infekcí vyvolanou kmenem *Candida krusei*. V případě pneumonií se u dvou pacientů jednalo o polymikrobiální infekci, u dalších dvou o monomikrobiální a u jednoho pacienta nebylo etiologické agens identifikováno.

V antibiotické léčbě bakteriálních komplikací převažovala beta-laktamová antibiotika (amoxicilin/kys. klavulanová, piperacilin/tazobaktam, meropenem, ceftazidim). Lze konstatovat, že u tří pacientů nasazená iniciální antibiotická léčba byla současně finální a délka antibioterapie nepřesáhla 8 dní. U dvou pacientů však bylo nutné modifikovat iniciální léčbu v souladu s výsledky mikrobiologických vyšetření, přičemž u jednoho z nich došlo k rozvoji sepse, ARDS a finálně k úmrtí. U dvou pacientů vycházela iniciální antibiotická léčba komplikující pneumonie z výsledků bakteriální surveillance, resp. z detekce možných etiologických agens ve stěrech z horních cest dýchacích, provedených před operačním výkonem. U jednoho z nich byl prokázán výskyt bak-

Tabulka 1
Výsledky mikrobiologických vyšetření a antibiotická léčba

Pacient	HCD před operačním výkonem	DCD po operačním výkonu				Bakteriální komplikace	Antibiotická léčba	Úspěšnost léčby
		1. týden	2. týden	3. týden	4. týden			
1.	<i>A. johnsonii</i>	negativní	<i>A. johnsonii</i>	negativní	negativní	pneumonie absces	piperacilin/tazobaktam + metronidazol 4 dny piperacilin/tazobaktam další 4 dny	ano
2.	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	pneumonie	amoxicilin/kys. klavulanová 6 dní	ano
3.	FF	<i>E. cloacae</i>	<i>E. cloacae</i>	negativní	negativní	pneumonie	piperacilin/tazobaktam 7 dní	ano
4.	<i>E. coli</i>	<i>E. cloacae</i> AmpC+	negativní	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i> <i>B. multivorans</i>	pneumonie, píštěl	amoxicilin/kys. klavulanová 1 den meropenem + kolistin 8 dní tigecyklin 9 dní linezolid + ceftazidim 7 dní	ano
5.	FF	<i>S. marcescens</i> <i>P. aeruginosa</i>	<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i> <i>C. krusei</i>	<i>S. maltophilia</i> <i>C. krusei</i>	pneumonie, píštěl	meropenem 9 dní kotrimoxazol + tigecyklin + mikafungin 14 dní	ne/exitus
6.	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	fluidothorax	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
7.	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
8.	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
9.	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
10.	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
11.	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
12.	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	fluidothorax	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
13.	<i>K. pneumoniae</i>	negativní	negativní	negativní	negativní	negativní	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano
14.	FF	negativní	negativní	negativní	negativní	fluidothorax	jen antibiotická profylaxe amoxicilin/kys. klavulanová 3 dávky	ano

Legenda: FF – fyziologická mikroflóra horních cest dýchacích, HCD – výtěr z horních cest dýchacích, DCD – vyšetření endotracheálního sekretu, AmpC+ – produkuje širokospektrých beta-laktamáz AmpC, *A. johnsonii* – *Acinetobacter johnsonii*, *E. coli* – *Escherichia coli*, *E. cloacae* – *Enterobacter cloacae*, *S. marcescens* – *Serratia marcescens*, *P. aeruginosa* – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. faecium* – *Enterococcus faecium*, *B. multivorans* – *Burkholderia multivorans*, *C. krusei* – *Candida krusei*, *K. pneumoniae* – *Klebsiella pneumoniae*

teriálního kmene *Acinetobacter johnsonii* ve střeru z nosohltanu před operačním výkonem a rozvojem pneumonie, následně bylo toto species izolováno z endotracheálního sekretu (tab. 1).

V případě jednoho patogenního kmene *Enterobacter cloacae* byla prokázána produkce AmpC beta-laktamáz DHA typu a tento kmen lze charakterizovat jako multirezistentní. Ostatní izolované bakteriální patogeny vykazovaly standardní antibiotickou citlivost/rezistenci odpovídající příslušnému species a nenaplnily definici multirezistentních kmenů.

Diskuze

Ezofagektomie je rozsáhlý resekcí a rekonstrukční operační výkon na horní etáži zažívacího traktu. Rozsah operace v kombinaci s celkovým stavem nemocných (pacienti ve vyšších věkových skupinách s přidruženými závažnými komorbiditami) znamená velkou zátěž pro organismus operovaných pacientů [8,9]. Nejčastější příčinou úmrtí po ezofagektomii jsou plicní komplikace, které se vyskytují u 15–45 % pacientů [10]. Na mortalitě nemocných se podílí zejména respirační selhání s rozvojem ARDS. Výskytem plicních komplikací jsou ohroženi zejména nemocní ve vyšších věkových skupinách, s chronickým abusem nikotinu, malnutricí, plicní dysfunkcí a poruchou imunity [11]. Za další faktory ovlivňující vznik respiračních komplikací jsou považovány délka operace, krevní ztráta během výkonu, snížený FEV₁ (jednotěřinová vitální kapacita, resp. objem vzduchu vydechnutý při usilovném výdechu za první sekundu při spirometrickém vyšetření), neoadjuvantní onkologická terapie a výskyt píštěle v anastomóze [12]. Incidenci vzniku plicních komplikací lze ovlivnit zlepšením plicních funkcí a šetrně vedenou anestézií během operace s včasnou extubací nemocných [13]. V literárních odkazech není popisován signifikantní rozdíl vzniku plicních komplikací při resekcii jícnu provedené transtorakálním nebo transhiatálním přístupem [14]. V pooperační době je u všech nemocných po resekcii jícnu nutná intenzivní plicní rehabilitace s mobilizací nemocných. V případě vzniku plicních komplikací je indikována komplexní terapie, spočívající v umělé plicní ventilaci, tracheostomii, antibiotické léčbě a toaletě dýchacích cest.

V našem souboru se respirační komplikace vyskytly u 57 % pacientů. Závažné komplikace charakteru pneumonie s rozvojem respiračního selhání a ARDS byly zaznamenány u 21 % nemocných, z nichž u jednoho došlo k dehiscenci anastomózy. Bohužel v dalším průběhu nemocný exitoval na multiorganové selhání při septickém stavu na podkladě mediastinitidy. Méně závažné komplikace se vyskytly u dalších 36 % nemocných. Ve dvou případech se jednalo o pneumonii, která byla úspěšně vyléčena antibiotiky, další 3 nemocní měli fluidothorax, který byl ošetřen drenáží dutiny hrudní. U dvou pacientů došlo k rozvoji píštěle a u jednoho ke vzniku abscesu v hlubokém krčním prostoru. Námi referovaný soubor popisuje relativně vysoké procento respiračních komplikací, ale dominovaly lehké komplikace. U závažných komplikací jejich 21% výskyt v našem nevelkém souboru koresponduje s 20–30 % udávanými v literárních odkazech. Ott a kol. popisují závažné respirační komplikace po ezofagektomii u 25 % nemocných [15]. Celková morta-

lita v souboru 379 pacientů po ezofagektomii publikovaných Atkinsonem a kol. byla 6 %, přičemž dominantní příčinou (v 54 %) byla pneumonie [16].

Mezi nejzávažnější komplikace ezofagektomie u pacientů s karcinomem jícnu patří pneumonie s následným respiračním selháním, proto je důležité u těchto pacientů sledovat složení mikroflóry horních cest dýchacích před operací [17, 18]. U každého pacienta ve sledovaném souboru byl před operací odebrán materiál z horních cest dýchacích na kulti-vační vyšetření. V případě rozvoje bakteriální komplikace byly vyšetřeny příslušné klinické materiály. Jako původci pneumonií byly prokázány *Acinetobacter johnsonii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Enterococcus faecium* a *Candida krusei*. Tyto výsledky jsou v souladu se studií Vrby a kol. uvádějící rozvoj pneumonie u 27 % pacientů po ezofagektomii, přičemž jako nejčastější bakteriální patogeny byly identifikovány *Staphylococcus aureus*, enterobakterie (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*), nefermentující bakterie (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter ursingii*) a *Candida albicans* [19]. Horáková a kol. dokumentují u 41 % pacientů po ezofagektomii pneumonii vyvolanou kmeny *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* a *Candida albicans* [17].

Uvedená klinicko-mikrobiologická analýza pacientů po exstirpaci jícnu pro karcinom potvrzuje význam mikrobiologického vyšetření horních cest dýchacích před operačním výkonem. V případě detekce potenciálně patogenní bakterie je nutné vzít tuto skutečnost v úvahu při zahájení iniciální antibiotické léčby z důvodu rozvoje bakteriální komplikace. Současně byla potvrzena nutnost úzké spolupráce mezi mikrobiologem a ošetřujícím lékařem, která musí být kontinuální a vycházet z každodenního posouzení výsledků mikrobiologických vyšetření a klinického stavu pacienta.

Podpořeno grantem DRO FNOL 00098892.

Literatura

1. Becker HD, Hohenberger W, Junginger T, Schlag PM. Chirurgická onkologie, Grada, 2005; s. 291–338.
2. Kutup A, Nentwich MF, Bollschweiler E, Bogoevski D, Izbicki JR, Hölscher AH. What should be the gold standard for the surgical component in the treatment of locally advanced esophageal cancer: transthoracic versus transhiatal esophagectomy. *Ann Surg.* 2014;260(6): 1016–1022.
3. Naftex P, Moons J, Coosemans W, et al. Minimally invasive oesophagectomy: a valuable alternative to open oesophagectomy for the treatment of early oesophageal and gastro-oesophageal junction carcinoma. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2011;40:1455–1463.
4. Bonavina L, Asti E, Sironi A, Bernardi D, Aiolfi A. Hybrid and total minimally invasive esophagectomy: how I do it. *J Thorac Dis.* 2017; 9 (Suppl 8):761–772.
5. Ferguson MK, Durkin AE. Preoperative prediction of the risk of pulmonary complications after esophagectomy for cancer. *J Thorax Cardiovasc Surg.* 2002;123:661–669.
6. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Available from: <http://www.eucast.org>

7. Htoutou-Sedlakova M, Hanulik V, Chroma M, et al. Phenotypic detection of broad-spectrum beta-lactamases in microbiological practice. *Med Sci Monit.* 2011;17:BR147–152.
8. Ferguson MK, Durkin AE. Preoperative prediction of the risk of pulmonary complications after esophagectomy for cancer. *J Thorax Cardiovasc Surg.* 2002;123:661–669.
9. Low DE, Alderson D, Ceconello I, Chang AC, Darling GE, D Journo XB, Griffin SM, Hölscher AH, Hofstetter WL, Jobe BA, Kitagawa Y, Kucharczuk JC, Law SY, Lerut TE, Maynard N, Pera M, Peters JH, Pramesh CS, Reynolds JV, Smithers BM, van Lanschot JJ. International Consensus on Standardization of Data Collection for Complications Associated With Esophagectomy: Esophagectomy Complications Consensus Group (ECCG). *Ann Surg.* 2015;262(2):286–294.
10. Atkins BZ, Shan AS, Kelley A, Hutcheson KA, Mangum JH, Pappas TN, Harpole DH, Dámico TA. Reducing hospital morbidity and mortality following esophagectomy. *Ann Thorac Surg.* 2004;78:1170–1176.
11. Bartels H, Stein HJ, Siewert JR. Risk analysis in esophageal surgery. *Resent Result Cancer Res.* 2000;155:89–96.
12. Cerfolio RJ, Pickens A, Bass C, et al. Fast-tracking pulmonary resections. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2001;122:318–324.
13. Yun JS, Na KJ, Song SY, Kim S, Jeong IS, Oh SG. Comparison of perioperative outcomes following hybrid minimally invasive versus open Ivor Lewis esophagectomy for esophageal cancer. *J Thorac Dis.* 2017;9(9):3097–3104.
14. Xing XZ, Gao Y, Wang HJ, Qu SN, Huang CL, Zhang H, Wang H, Yang QH. Assessment of a predictive score for pulmonary complications in cancer patients after esophagectomy. *World J Emerg Med.* 2016;7(1):44–49.
15. Ott K, Bader F G, Lordick F, Feith M, Bartels H, Siewert J R. Surgical factors influence the outcome after Ivor-Lewis esophagectomy with intrathoracic anastomosis for adenocarcinoma of the esophagogastric junction: a consecutive series of 240 patient at an experienced center. *Ann Surg Oncol* 2009;16:1017–1025.
16. Atkins BZ, Shan AS, Kelley A, Hutcheson KA, Mangum JH, Pappas TN, Harpole DH, Dámico TA. Reducing hospital morbidity and mortality following esophagectomy. *Ann Thorac Surg* 2004;78:1170–1176.
17. Horáková M, Lubušská L, Kolář M, Hricová K, Vrba R, Neoral Č, Zapletalová J. Individualized prophylaxis in patients with esophageal replacement because of cancer. *Surgical Infections.* 2015;16:513–517.
18. Neoral C, Horakova M, Aujesky R, Chudacek J, Hanulik V, Chroma M, Kolar M. Infectious complications after esophagectomy. *Surgical Infections.* 2012;13:159–162.
19. Vrba R, Neoral C, Vomackova K, Vrana D, Melichar B, Lubuska L, Loveckova Y, Aujesky R. Complications of the surgical treatment of esophageal cancer and microbiological analysis of the respiratory tract. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2020;164:284–291.

Screening hepatitidy D je významný i v České republice

P. HUSA^{1,2}, S. SNOPOKOVÁ^{1,2}, P. HUSA ML.^{1,2}

¹Klinika infekčních chorob, Fakultní nemocnice Brno; ²Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

SOUHRN

Husa P., Snopková S., Husa P. ml.: **Screening hepatitidy D je významný i v České republice**

Pouze pacienti infikovaní virem hepatitidy B (HBV) se mohou infikovat virem hepatitidy D (HDV). Může se jednat o současnou infekci oběma viry (koinfekce) nebo o superinfekci HDV na již existující infekci HBV. Virus se přenáší parenterálně kontaminovanými jehlami nebo transfuzemi, sexuální a vertikální cesty přenosu jsou relativně vzácné. Chronická hepatitida D je závažnější než jiné formy chronických virových hepatitid, vzhledem k rychlé progresi onemocnění do dekompenzované jaterní cirhózy a hepatocelulárního karcinomu (HCC). Jaterní cirhóza se může vyvinout již během 5 let a HCC během 10 let trvání duální infekce. V naprosté většině případů replikace HDV tlumí replikaci HBV. Proto u většiny nemocných nacházíme pozitivitu nukleové kyseliny HDV (HDV RNA) v plazmě, zatímco nukleová kyselina HBV (HBV DNA) je buď velmi nízká, nebo zcela negativní. V České republice zatím neexistuje rutinní screening osob s chronickou infekcí HBV na současnou přítomnost infekce HDV. Jedním z důvodů je i absence schválené léčby hepatitidy D. Jedinou současnou možností léčby je pegylovaný interferon (PEG IFN)- α po dobu 48 týdnů, eventuálně i déle. Tato léčba je ve většině případů bez dlouhodobého efektu. Dle dostupných dat se zdá být perspektivní léčba bulevirtidem.

Klíčová slova: virus hepatitidy D (HDV), hepatitida D, screening HDV, pegylovaný interferon alfa, bulevirtid

SUMMARY

Husa P., Snopková S., Husa P. ml.: **Hepatitis D screening is important in the Czech Republic as well**

Only patients infected with hepatitis B virus (HBV) can contract hepatitis D virus (HDV) infection, either simultaneously (co-infection) or as a superinfection in those already infected with HBV. The routes of HDV transmission are contaminated needles or transfusion; sexual and vertical transmissions are relatively rare. Chronic hepatitis D is the most serious form of chronic viral hepatitis due to more rapid progression to decompensated cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC). Liver cirrhosis may develop within five years and HCC within 10 years of dual infection. In the vast majority of cases, HDV replication suppresses HBV replication. Therefore, most patients are positive for HDV RNA in plasma while showing no or low levels of HBV DNA. At present, there is no routine screening for HDV in persons with chronic HBV infection in the Czech Republic. One of the reasons the absence of approved treatment options, with the only possibility being administration of pegylated interferon alpha for 48 weeks or even longer. This approach does not provide long-term efficacy in most cases. Therapy with bulevirtide seems to be promising according to available data.

Keywords: hepatitis D virus (HDV), hepatitis D, HDV screening, pegylated interferon alpha, bulevirtide

Klin mikrobiol inf lék 2021;27(3):98–103

Adresa: prof. MUDr. Petr Husa, CSc., Klinika infekčních chorob, LF MU a FN Brno, Jihlavská 20, 625 00 Brno, e-mail: husa.petr@fnbrno.cz

Došlo do redakce: 12. 7. 2021
Schváleno k tisku: 14. 10. 2021

Úvod

Samostatná virová hepatitida D neexistuje, vždy je nutná současná infekce virem hepatitidy B (HBV). Virus hepatitidy D (HDV) i HBV mají stejné cesty přenosu a současná infekce je většinou závažnější než jen infekce HBV. Infekce se přenáší parenterálně, především krví a krevními produkty a mezi injekčními uživateli drog. Vzhledem k rutinnímu vy-

šetřování dárců krve na infekci HBV a stále se rozšiřujícímu počtu osob vakcinovaných proti HBV je infekce HDV celosvětově na ústupu. Přenos HDV sexuálně nebo vertikálně je poměrně vzácný [1,2]. Podle hrubých odhadů je celosvětově infikováno HDV 9–60 milionů osob. Na základě analýzy prevalence Světové zdravotnické organizace v 6 regionech, které zahrnují 95 států, je to asi 12 milionů osob (rozmezí

8,7–18,7 milionů). Nejvyšší výskyt je odhadován v západním Pacifiku (4 923 000 osob), v Africe (3 835 000), jihovýchodní Asii (1 267 000) a východním Středomoří (736 000). V Evropě a v Americe je výskyt infekce HDV pravděpodobně nižší, 445 000, resp. 416 000 infikovaných. Na základě metaanalýzy dosud publikovaných dat z 83 států světa je odhadem 48–60 milionů osob s infekcí HDV – nejvíce v Číně (10 300 000) a Spojených státech (127 000), významně méně v Japonsku (61 000). Ve velkých evropských státech je výskyt nižší, a to 68 000 ve Španělsku, 49 000 v Itálii, 43 000 ve Spojeném království, 32 000 v Německu a 3 000 ve Francii. Pokud se odhaduje výskyt infekce HDV u osob se známou pozitivitou HBsAg (povrchového antigenu HBV), předpokládá se, že 4,5–13 % osob s prokázanou infekcí HBV je současně infikováno HDV [3].

Infekce HDV je zatím v podmínkách České republiky ojedinelá, ale s rostoucím počtem imigrantů může incidence onemocnění narůstat. Je nutné na ni myslet u cizinců nebo našich občanů, kteří dlouhodobě pobývali v rizikových oblastech, zejména pokud tam dostali transfuze krve nebo podstoupili zákroky s rizikem přenosu HBV a/nebo HDV.

Etiologie

Virus hepatitidy D je unikátní infekční agens, které je více podobné virům rostlin než jiným živočišným virům. V angličtině se běžně používá termín „Hepatitis Delta Virus“, ale taxonomicky je správnější HDV. Jedná se o tzv. satelitní virus, který potřebuje jiný (pomocný) virus pro svůj přenos a množení. Pro HDV je takový pomocný virus HBV. Mezi živočišnými viry není zatím znám jiný satelitní virus než HDV. Taxonomicky je HDV zařazen do čeledi *Deltaviridae*. Obal viru hepatitidy D tvoří HBsAg a v jádru je antigen viru hepatitidy D (HDAg) a ribonukleová kyselina viru (HDV RNA) (obrázek 1). V současnosti je známo 8 genotypů HBV – I až VIII. Jednotlivé genotypy HDV se od sebe výrazně liší – diverzita mezi nimi bývá až v 36 %. Uvnitř jednotlivých genotypů je diverzita do 20 %. Genotyp I je celosvětově rozšířen a infekce tímto genotypem probíhá většinou závažně. Genotyp II je převážně asijský a průběh infekce je mírnější. Genotyp III se vyskytuje v Jižní Americe a klinický průběh infekce je nejzávažnější. Infekce genotypem IV byla popsána na Tchaj-wanu a v Japonsku a infekce genotypy V–VIII v různých zemích střední a západní Afriky [4]. Geografické rozšíření jednotlivých genotypů HDV je patrné z obrázku 2.

Patofyziologie

HBV i HDV vstupují do hepatocytu cestou receptoru NCTP (human sodium taurocholate co-transporting polypeptide; lidský kotransportující polypeptide pro taurocholát sodný). Interakce mezi HDV a NCTP probíhá na vazebném místě HBsAg. Po vstupu do hostitelské buňky mají HBV a HDV zcela rozdílný replikační cyklus, protože se jedná o naprosto odlišné viry – HBV je DNA virus, HDV je RNA virus (obrázek 3). Patogenetický mechanismus, kterým působí HDV na jaterní buňky, není zatím znám. HDV infikuje pouze hepatocyty, extrahepatální projevy infekce HDV nebyly zatím popsány [5,6].

Klinický obraz

Inkubační doba hepatitidy D je většinou udávána v rozmezí 3–7 týdnů. Podobně jako u hepatitidy B jsou i klinické projevy a přirozený průběh hepatitidy D velmi variabilní.

V praxi může dojít ke dvěma klinicky různě závažným situacím:

Koinfekce HBV a HDV – pacient se v tomto případě nakazí ve stejnou dobu oběma viry. Typický je dvojfázový vztup aktivity ALT. První vlna odpovídá replikaci HBV a imunitní reakci na tuto infekci, druhá infekci HDV. Výsledek koinfekce je většinou příznivý a jen asi 17 % pacientů přechází do chronické infekce HDV, ale jen zhruba ve 2 % případů dochází k rozvoji chronické hepatitidy, jaterní cirhózy a/nebo hepatocelulárního karcinomu (HCC).

Superinfekce HDV na chronickou infekci HBV – obecně jde o mnohem závažnější situaci, než je koinfekce. Inkubační doba je kratší než u koinfekce. Pravděpodobnost fulminantní nebo závažné formy akutní hepatitidy je asi desetkrát vyšší než u koinfekce [1,2]. Chronická infekce HDV vzniká asi v 70 % případů a ve více než 50 % případů dochází k vývoji chronické hepatitidy, jaterní cirhózy a/nebo HCC. Pokud dojde ke vzniku chronické infekce HDV, klinický průběh chronické hepatitidy je akcelerován. Významná jaterní fibróza vzniká během 3 let asi u 77 % infikovaných a jaterní cirhóza téměř u 30 % osob s infekcí HBV a HDV. Během 5 let se vyvine HCC u více než 5 % osob s duální infekcí, a to ve většině případů v terénu jaterní cirhózy (70–80 %). Klinický průběh hepatitidy D je patrný z obrázku 4 [7,8]. Současná infekce HDV urychluje progresi jaterní choroby do konečných stadií. Ve srovnání HBV/HDV koinfekce a HBV monoinfekce je u koinfekce pravděpodobnost vzniku jaterní cirhózy 2–3× vyšší, pravděpodobnost vzniku HCC 3–6×

Obrázek 1
Struktura viru hepatitidy D (HDV)



Legenda: HBsAg – povrchový antigen viru hepatitidy B, HDAg – antigen viru hepatitidy D, RNA – ribonukleová kyselina viru hepatitidy D

Hůlke P, Urbánek P. a kol. Hepatologie, 3. vydání 2018. Grada Publishing, s. 276

vyšší, potřeba jaterní transplantace 2× častější, výskyt jaterní dekompenzace 2× častější a mortalita 2× vyšší [9] (obrázek 5). Jaterní cirhóza se může vyvinout již během 5 let a HCC během 10 let trvání duální infekce [8]. Výše HDV RNA není pravděpodobně v korelaci se závažností jaterní choroby.

Diagnostika

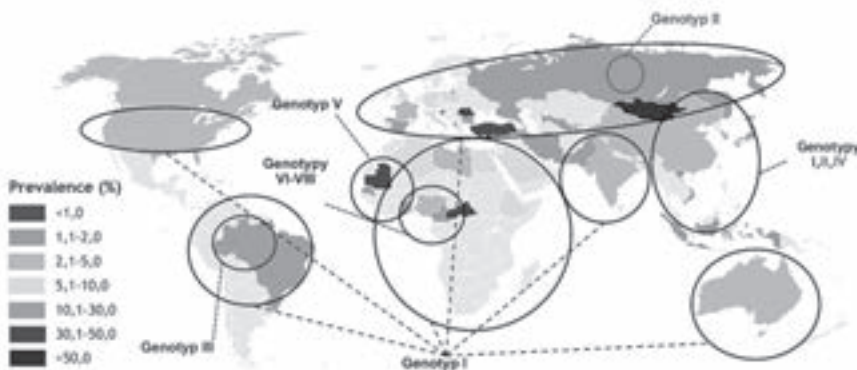
V naprosté většině případů replikace HDV tlumí replikaci HBV. Proto u většiny nemocných nacházíme pozitivitu nukleové kyseliny HDV (HDV RNA) v plazmě, zatímco nukleová kyselina HBV (HBV DNA) je buď velmi nízká, nebo zcela negativní. Jedinými markery infekce HBV jsou potom pozitivita HBsAg a pozitivita protilátek třídy IgG proti dřevnovému antigenu (anti-HBc IgG). Protilátky anti-HDV IgM se objevují v průběhu akutní hepatitidy D jako první, a pokud nedojde k přechodu infekce do chronicity, postupně ze séra mizí a jsou nahrazovány protilátkami anti-HDV IgG. U chronické hepatitidy D nacházíme pozitivitu jak protilát-

ky třídy IgM (výše jejich titru koreluje s aktivitou chronické hepatitidy), tak ve vysokém titru i protilátky třídy IgG. Ve specializovaných laboratořích se provádí i průkaz antigenu hepatitidy D (HDAg), který se v séru objevuje především v akutní fázi hepatitidy, a HDV RNA, jejichž přítomnost v plazmě je nejdůležitějším ukazatelem jak akutní, tak i chronické hepatitidy D a v běžné praxi se většinou užívá průkaz HDV RNA jako jediný ukazatel infekce HDV. Souhrn virologických a sérologických nálezů infekce HBV a HDV je na obrázku 6 [10].

Léčba

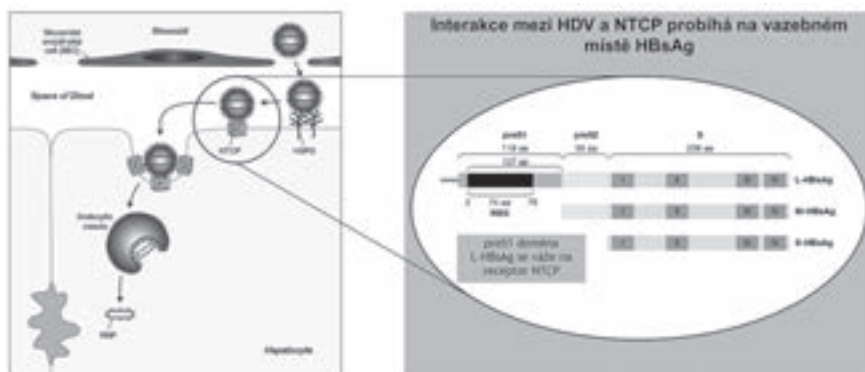
Cílem léčby je útlum replikace HDV (HBV DNA bývá většinou negativní v důsledku supresivního vlivu HDV na replikaci HBV), který je většinou spojen s normalizací ALT a histologickým zlepšením. Většinou se podává pegylovaný interferon (PEG IFN)-α po dobu 48 týdnů, eventuálně i délle. Nukleosidová (entekavir) a nukleotidová (tenofovir di-

Obrázek 2
Geografická distribuce viru hepatitidy D (HDV)



Stockdale AJ, et al. J Hepatol 2020;73:523–533.
Koh C, et al. Gastroenterology 2019;156:461–476.

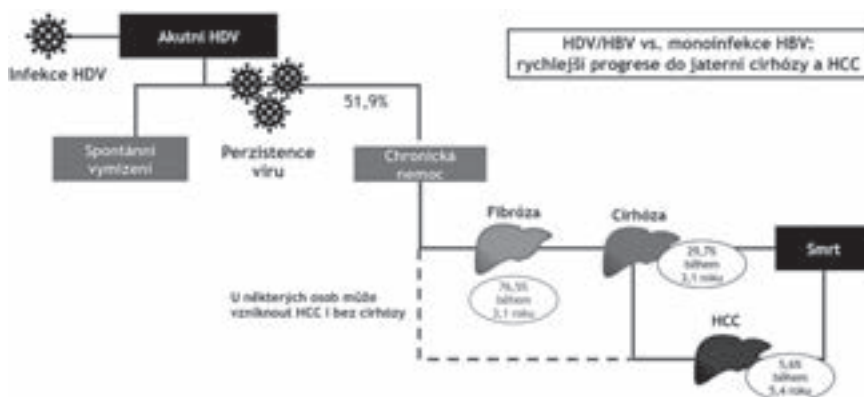
Obrázek 3
HDV vstupuje do hepatocytu cestou receptoru NTCP



Legenda: HBsAg – povrchový antigen HBV, HDV – virus hepatitidy D, HSPG – heparansulfát proteoglykan, L – velký, M – střední, NTCP – lidský kotransportující polypeptid pro taurocholát sodný, RBS – místo pro vazbu na receptor, RNP – ribonukleoprotein, S – malý, SEC – sinusoidální endoteliální buňky

Adapted from Urban S, et al. Gastroenterol 2014;147:48–64; Lempp FA, et al. Nature Rev Gastroenterol Hepatol 2016;13:580–589.

Obrázek 4
Klinický průběh hepatitidy D



Legenda:

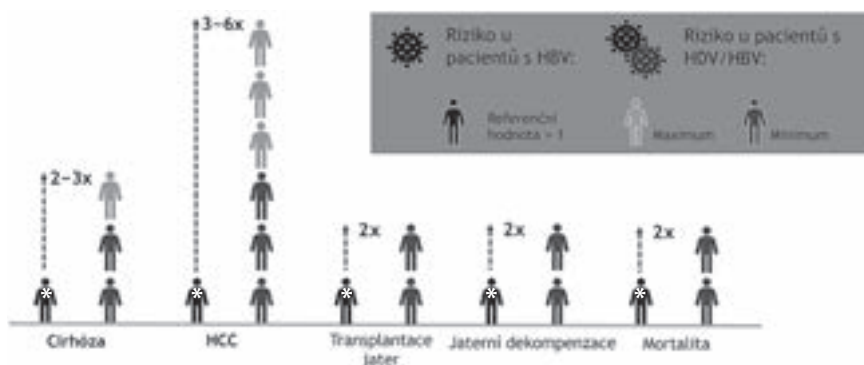
HBV – virus hepatitidy B,
HCC – hepatocelulární karcinom,
HDV – virus hepatitidy D

Miao Z, et al. J Infect Dis 2020;221:
1677–1687;

World Health Organization. Hepatitis delta fact sheet. July 2020, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-d>. Accessed March 2021.

Obrázek 5

Zvýšené riziko progresu do konečných stadií choroby u pacientů infikovaných HDV/HBV (neoznačení) oproti monoinfikovaným HBV (označení hvězdičkou)



Legenda:

HBV – virus hepatitidy B,
HCC – hepatocelulární karcinom,
HDV – virus hepatitidy D

Da BL, et al. Gastroenterol Rep 2019;
7:231–245.

soproxil fumarát, tenofovir alafenamid) analoga (NA) používaná v léčbě chronické infekce HBV nejsou proti HDV účinná (HDV nemá vlastní polymerázu). V klinických studiích byla zaznamenána virologická odpověď na léčbu během podávání PEG-IFN- α mezi 17 % a 47 %. Po skončení léčby procento HDV RNA negativních s časem výrazně klesá – 24 týdnů po léčbě na zhruba 25 %, v dalším období pak dochází k relapsu nejméně u poloviny původně odpovídajících pacientů. Proto je nutné dlouhodobé monitorování HDV RNA v séru po skončení léčby PEG-IFN- α , které má trvat až do ztráty HBsAg. Ztráta HBsAg se bere za ukazatel vyléčení z infekce HDV a dochází k ní zhruba u 10 % pacientů léčených PEG-IFN- α . Několik studií se snažilo prokázat zvýšenou účinnost prodloužené doby léčby PEG-IFN- α , ale přesvědčivá data dosud chybějí. Dokonce i po 96 týdnech monoterapie PEG-IFN- α nebo kombinace PEG-IFN- α a tenofovir disoproxil fumarátem došlo během 24 týdnů po léčbě k relapsu v 36–39 % případů.

HDV je většinou dominantním virem při koinfekci HBV/HDV, proto je HBV DNA v séru většinou negativní. V pří-

padě, že sérová hladina HBV DNA je trvale > 2 000 IU/ml, je indikována léčba NA.

PEG-IFN je kontraindikován u nemocných s dekompenzovaným jaterním onemocněním. Tito pacienti by měli směřovat k jaterní transplantaci. V případě detekovatelné HBV DNA v séru je u těchto nemocných indikována léčba NA. HDV koinfekce ani superinfekce nepředstavuje kontraindikaci transplantace jater [1,2].

Bulevirtid je indikován pro léčbu chronické hepatitidy D u pacientů s kompenzovaným jaterním procesem. Blokuje vstup HDV a HBV do hepatocytu přes receptor NCTP. Podává se denně podkožně v dávce 2 mg – je nutné dodržet interval pro podání 24 hodin \pm 4 hodiny. Optimální doba léčby zatím nebyla stanovena, má se podávat tak dlouho, dokud je patrný klinický benefit léčby. O ukončení léčby bulevirtidem má být uvažováno, pokud dojde k vymizení HBsAg, které trvá nejméně 6 měsíců. Zatím nejsou k dispozici data o účinnosti a bezpečnosti léčby u osob mladších 18 let a starších 65 let, s ledvinovým onemocněním a středním a těžkým poškozením jater, těhotných a kojících žen. V pří-

padě významně vysoké hladiny HBV DNA v plazmě se současně podávají NA analoga účinná proti HBV [11].

Prevence a profylaxe

Vakcinace proti viru hepatitidy B chrání i proti infekci HDV. Profylaxe rekurence HBV podávaná standardně po transplantaci zabrání i reinfekci štepů HDV [1,2].

Screening HDV

Infekce HDV je celosvětově i v České republice pravděpodobně mnohem častější než odpovídá počtu diagnostikovaných osob. Hlavní příčinou je nedostatečný screening této závažné infekce. Mezi hlavní příčiny, proč se po infekci HDV aktivně nepátrá, patří:

1. Laboratorní diagnostika HDV není běžně dostupná. Výsledky průkazu protilátek anti-HDV a HDAg jsou často nepřesvědčivé.

2. Starší testy používané na průkaz HDV RNA jsou nedostatečně standardizované, standardizace novějších testů je již lepší.
3. Zdravotníci mají velmi limitované informace pro screening pacientů s infekcí HBV na přítomnost současné infekce HDV.
4. Absence účinné léčby přispívá k nedostatečné motivaci zdravotníků prokazovat infekci HDV.
5. Mezinárodní i národní doporučení pro screening infekce HDV jsou velmi omezená a často rozporuplná (obrázek 7) [12].

Kazuistika pacienta s chronickou HDV/HBV infekcí

Muž, ročník 1985, původem z Ukrajiny, v České republice žije déle než 15 let. Cesta přenosu infekce HDV je neznámá, nelze vyloučit vertikální přenos, protože udává blíže neurčenou žloutenku v prvním roce života. Drogy nikdy nebral, transfuze krve nedostal. Chronická infekce HBV by-

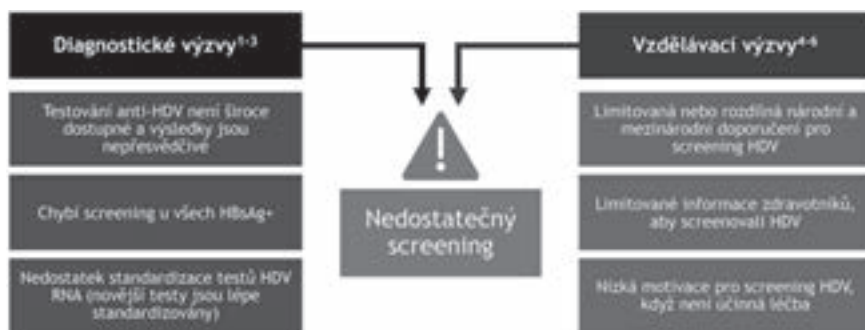
Obrázek 6
Souhrn virologických a sérologických nálezů při duální infekci HDV a HBV

	HBV virologie a sérologie				HDV virologie a sérologie			
	HBsAg	Anti-HBc IgM	Anti-HBc IgG	HBV DNA	HDAg	Anti-HDV IgM	Anti-HDV IgG	HDV RNA
Akutní HBV/HDV koinfekce	+	+	+	+	±	+	+	+
Akutní HBV/HDV superinfekce	+	+	+	+	±	+	+	+
Chronická HBV/HDV infekce	+	+	+	+/-	±	+	+	+
Čištěná z HBV a HDV infekce	-	-	+	-	-	-	+	-

Cheung A, Kwo P. Clin Liver Dis 2020;24:405–419.

Legenda: HBc – dřevový antigen viru hepatitidy B, HBV – virus hepatitidy B, HBsAg – povrchový antigen viru hepatitidy B, HDAg – D antigen viru hepatitidy D, HDV – virus hepatitidy D, IgG – protilátky třídy IgG, IgM – protilátky třídy IgM, HDV RNA – ribonukleová kyselina viru hepatitidy D, HBV DNA – deoxyribonukleová kyselina viru hepatitidy B

Obrázek 7
Současné bariéry pro screening HDV



1. Wedemeyer H, Negro F. Gut 2019; 68:381–382.
2. Safaie P, et al. Virus Res 2018;250: 114–117.
3. European Association for the Study of the Liver. J Hepatol 2017;67:370–398.
4. Terrault N, et al. Hepatology 2018; 67:1560–1599.
5. Sarin SK, et al. Hepatol Int 2016; 10:1–98.
6. WHO HBV guidelines. 2015. Available at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/154590/9789241549059_eng.pdf?sequence=1. Accessed March 2021.

Legenda: HBsAg – povrchový antigen viru hepatitidy B, HDV – virus hepatitidy D, HDV RNA – ribonukleová kyselina viru hepatitidy D

la u něj poprvé diagnostikována v roce 2005 na Klinice infekčních chorob (KICH) Fakultní nemocnice (FN) Brno. V té době byla HBV DNA pod hranicí detekovatelnosti polymerázovou řetězovou reakcí v reálném čase (RT-PCR), proto nebyla indikována antivirová léčba. Ta byla zahájena až v roce 2016 v jiném zdravotnickém zařízení, ve kterém byla zjištěna i infekce HDV. Bral tenofovir disoproxil fumarát celkem 1,5 roku. Proč byla léčba tenofovirem ukončena, není z dokumentace pacienta jasné. Na ambulanci KICH FN Brno se znovu objevil v červnu 2019. V té době byla HDV RNA pozitivní, HBsAg pozitivní, HBeAg negativní a HBV DNA byla hraničně pozitivní – 34 mezinárodních jednotek (IU)/ml. Aktivita alaninaminotransferázy byla zhruba dvojnásobně nad horní hranicí normy – 1,67 μ kat/l (norma pro muže do 0,83 μ kat/l). Výsledek transienční elastografie (Fibroscan) byl 8,6 kPa, což odpovídá stadiu F2 dle klasifikace METAVIR, tedy střednímu stupni fibrózy.

Tento pacient byl po stránce anamnézy i laboratorních výsledků typickým příkladem možné infekce HDV, i kdyby tato infekce nebyla již v anamnéze uvedena. Šlo o cizince původem ze země, kde je vyšší výskyt infekce HBV i HDV než v České republice, nízká hodnota HBV DNA a ALT sváděla k diagnóze HBeAg negativní chronická infekce HBV, tedy podle staré nomenklatury inaktivního nosičství HBV či HBsAg. V rozporu s touto potenciálně příznivou diagnózou byl poměrně pokročilý jaterní proces – F2, střední stupeň jaterní fibrózy.

PEG-IFN- α podávaný nejméně 48 týdnů představuje v současnosti jediný dostupný lék u HBV/HDV koinfikovaných osob s kompenzovaným jaterním onemocněním. Reportovaný pacient byl léčen PEG-IFN- α -2a v dávce 180 μ g 1 \times týdně subkutánně od 14. 6. 2019 do 12. 6. 2020, tedy 52 týdnů. Léčbu velmi dobře toleroval. Po 6 měsících léčby byla HDV RNA v plazmě negativní, tento výsledek přetrvával i v době ukončení léčby a 14 týdnů po léčbě. Ale za 52 týdnů po léčbě byla HDV RNA v plazmě hraničně pozitivní. Hladina HBV DNA byla stanovena v době ukončení léčby, zůstávala hraniční (74,6 IU/ml), za 52 týdnů po léčbě byla pod hranicí kvantifikovatelnosti (< 10 IU/ml). Aktivita ALT poklesla z původních 1,17 μ kat/l na 0,83 μ kat/l v době ukončení léčby, 0,77 14 týdnů po skončení léčby a 0,93 μ kat/l 52 týdnů po skončení léčby. Zajímavý je výsledek transienční elastografie, kde došlo po skončení léčby k nárůstu číselné hodnoty tuhosti jater na 15,3 kPa, což odpovídá stadiu F4 dle klasifikace METAVIR, tedy jaterní cirhóze. Další nárůst tuhosti jater byl zaznamenán i při vyšetření 14 týdnů po skončení léčby – 32,8 kPa, tedy F4, jaterní cirhóza. Žádné klinické ani laboratorní známky dekompenzace cirhózy zaznamenány nebyly. Za 52 týdnů po skončení léčby poklesla tuhost jater na 15,2 kPa, což stále odpovídá jaterní cirhóze (F4). Pacienta bude nutné pečlivě sledovat po stránce parametrů virologických (HDV RNA, HBV DNA), sérologických (HBsAg, anti-HBs) biochemických i hematologických po dobu několika let, nejlépe až do ztráty HBsAg. Rovněž budou nutná opakovaná vyšetření transienčním elastografem. Je velmi pravděpodobné, že k nárůstu tuhosti jater došlo v důsledku reaktivace hepatitidy imunomodulačním efektem PEG-IFN- α a že se elastografický nálezy bude postupně zlepšovat v důsledku poklesu aktivity jaterního procesu nebo eventuálního vyléčení z chronické infekce HDV

a HBV, i když pravděpodobněji se v současnosti jeví, že došlo k relapsu hepatitidy D s odstupem po skončení léčby PEG-IFN- α .

Závěr

Jedinou spolehlivou ochranu proti virovým hepatitidám představuje aktivní imunizace – vakcinace. V současné době je možné očkovat jen proti virovým hepatitidám A a B. Očkování proti HBV však chrání i proti hepatitidě D, která může vzniknout jen při současné infekci HBV. Vzhledem k tomu, že po infekci HBV nedochází nikdy k úplné eliminaci HBV, a to ani při negativizaci HBsAg, je význam vakcinace proti HBV o to větší.

Na infekci HDV je třeba myslet zejména u cizinců nebo našich občanů, kteří dlouhodobě pobývali v rizikových oblastech, zejména pokud tam dostali transfuze krve nebo podstoupili zákroky s rizikem přenosu HBV a/nebo HDV. Typická je disproporce mezi nízkou nebo dokonce negativní hladinou HBV DNA v plazmě a pokročilým jaterním procesem, který nelze vysvětlit jinou příčinou poškození jater. V těchto případech je indikováno vyšetření HDV RNA v plazmě a v případě prokázané pozitivivity je v současnosti jedinou možností nejméně roční léčba PEG-IFN- α . V případě, že sérová hladina HBV DNA je trvale > 2 000 IU/ml, je indikována současná léčba NA. Dle dostupných dat a SPC se zdá být perspektivní léčba bulevirtidem, který je schválený evropskou agenturou EMA od roku 2020 a v České republice zatím nemá stanovenou úhradu z veřejného zdravotního pojištění. Jeho distribuci zajišťuje firma Gilead Sciences, s. r. o.

Článek byl podpořen společností Gilead Sciences, s. r. o.
CS-HPX-0002

Literatura

1. European Association for the Study of the Liver. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2017;67:370–398.
2. Husa P, Šperl J, Urbánek P, Fraňková S, Plíšek S, Kümpel P, Rožnovský L. Doporučený postup diagnostiky a léčby infekce virem hepatitidy B. *Klin mikrobiol inf lek*. 2017;23(4):148–164.
3. Stockdale AJ, Kreuels B, Henrion MYR, et al. The global prevalence of hepatitis D virus infection: systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. 2020;73(3):523–532.
4. Koh C, Heller T, Glenn JS. Pathogenesis of and new therapies for hepatitis D. *Gastroenterology* 2019;156(2):461–476.
5. Lempp FA, Ni Y, Urban S. Hepatitis delta virus: insights into a peculiar pathogen and novel treatment options. *Nature Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13(10):580–589.
6. Gilman C, Heller T, Koh C. *World J Gastroent*. 2019;25(32):4580–4597.
7. World Health Organization. Hepatitis delta fact sheet. July 2020. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-d>. Cit. June 2021.
8. Miao Z, Zhang S, Xumin O, et al. Estimating of global prevalence, disease progression, and clinical outcome of hepatitis delta infection. *J Infect Dis*. 2020;221(10):1677–1687.
9. Da BL, Heller T, Koh C. Hepatitis D infection: from initial discovery to current investigational therapy. *Gastroenterol Rep*. 2019;7(4):231–245.
10. Cheung A, Kwo P. Viral hepatitis other than A, B, and C evaluation and management. *Clin Liver Dis*. 2020;24(3):405–419.
11. MYR GmbH. HEPCLUDEX (bulevirtide), Summary of Product Characteristics. October 2020.
12. Wedemeyer H, Negro F. Devil hepatitis D: an orphan disease or largely undiagnosed? *Gut* 2019;68(3):381–382.

Návrh standardu pro přípravu kumulativních antibiogramů v České republice

V. ADÁMKOVÁ

*Klinická mikrobiologie a ATB centrum, VFN a 1. LF UK, Praha;
Ústav lékařské mikrobiologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého, Olomouc*

SOUHRN

Adámková V.: **Návrh standardu pro přípravu kumulativních antibiogramů v České republice**

Jedním z největších problémů současné medicíny je extrémní nárůst rezistence bakterií k antibiotikům. Léčba antibiotiky se tak výrazně komplikuje, a to nejen u pacientů na jednotkách intenzivní péče. Ale i v komunitě. Pro zachování účinnosti stávajících antibiotik je nutná multioborová spolupráce, jak na úrovni diagnostiky infekcí, tak především správné volby antibiotik, aby byla používána pouze na léčbu bakteriálních infekcí, nikoliv kolonizace pacienta.

Antibiotický stewardship se stává etickým imperativem a mezi jeho klíčové prvky patří i kumulativní antibiogramy, které pomáhají při racionálním výběru antibiotik v iniciální terapii, jestliže konkrétní výsledky u daného pacienta nejsou ještě k dispozici. Avšak tvorba kumulativních antibiogramů není jasně definovaná, k dispozici jsou pouze americká doporučení, která nejsou zcela odpovídající potřebám klinické mikrobiologie u hospitalizovaných pacientů. Cílem práce je prezentovat možná úskalí tvorby kumulativních antibiogramů s ohledem na jediné existující doporučení CLSI a návrh doporučení pro jejich přípravu v ČR.

Klíčová slova: rezistence, multirezistentní bakterie, kolonizace, antibiotický stewardship, kumulativní antibiogram

SUMMARY

Adámková V.: **Draft recommendation for preparation of cumulative antibiograms in the Czech Republic**

In today's medicine, one of the main challenges is an extreme increase in bacterial resistance, making antibiotic treatment in both intensive care units and in the community considerably more difficult. To maintain the efficacy of existing antibiotics, close interdisciplinary cooperation is crucial for diagnosing infectious diseases as well as for selecting appropriate antibiotics so that these are only used for treating bacterial infections, not natural bacterial colonization.

Antibiotic stewardship has become an ethical imperative, with cumulative antibiograms being one of its core elements. Cumulative antibiograms help with rational choice of antibiotics for initial therapy when the patient's results are still pending. However, preparation of cumulative antibiograms is not clearly defined. Only two American guidelines are available that do not correspond with the needs of clinical microbiology in hospitalized patients. The article aims to present the potential pitfalls of preparing cumulative antibiograms based on the only CLSI guidelines and a draft of recommendation for their preparation in the Czech Republic.

Keywords: resistance, multidrug-resistant bacteria, colonization, antibiotic stewardship, cumulative antibiogram

Klin mikrobiol inf lék 2021;27(3):104–115

Adresa: MUDr. Václava Adámková, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, Klinická mikrobiologie a ATB centrum, VFN a 1. LF UK v Praze, U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2; e-mail: Vaclava.Adamkova@vfn.cz

Došlo do redakce: 8. 5. 2021
Schváleno k tisku: 14. 5. 2021

Úvod

Objev penicilinu a jeho uvedení do praxe během druhé světové války znamenalo obrovský průlom v medicíně. Avšak již Sir Alexander Fleming v roce 1945 během své přednášky u příležitosti udělení Nobelovy ceny upozornil na fakt, že není obtížné „udělat“ bakterii rezistentní k penicilinu. „**Ta doba prý nastane až si lidstvo bude moci koupit penicilin v obchodě a člověk díky své neznanosti a ignorantství si antibiotikum poddávkuje, přičemž tato expozice subinhibič-**

ním dávám povede k selekci rezistentních bakterií“ [1]. Jeho slova se záhy potvrdila. Objevení se a rychlé šíření rezistentních bakterií během posledních dvou dekad nám odhalilo hloubku našich neznalostí o evoluci bakteriální rezistence a ekologických procesech uvnitř mikrobiální populace. Masivní nárůst rezistence v posledních letech spolu s omezeným spektrem nových účinných antibiotik je důvodem zamyslet se nad racionálním přístupem k antiinfekční terapii [2].

Počet infekcí vyvolaných bakteriemi rezistentními na běžně užívaná antibiotika se celosvětově zvyšuje [3].

Aby byla zachována účinnost stávajících antibiotik, a s tím související možnost efektivní léčby, je nezbytná aktivní spolupráce kliniků a mikrobiologů v monitorování a predikci výskytu rezistence. Systematicky prováděná surveillance umožňuje sledovat dlouhodobé trendy vývoje rezistence i vyhodnotit dopady intervenčních opatření, zaměřených na snížení výskytu a šíření rezistentních bakterií [4].

Z těchto důvodů jsou do empirické antimikrobní terapie stále častěji zahrnovány další faktory, včetně lokální úrovně rezistence nejčastěji izolovaných původců, které by měly vést k tomu, že zahájená léčba bude co nejúčinnější. Některé mikrobiologické laboratoře proto poskytují klinickým pracovníkům pravidelně tzv. kumulativní antibiogramy, které jsou nedílnou součástí antibiotického stewardshipu. **Antibiotický stewardship je ucelený, popř. sjednocený soubor postupů, které vedou k užívání antibiotik takovým způsobem, že léčba je udržitelná a účinná pro každého, kdo ji potřebuje** [5].

Mnoho z těchto kroků vyžaduje opakovaný sběr a analýzu dat pro zpětné potvrzení jejich účinnosti. Za hodnotitelná data se považují především údaje o spotřebě jednotlivých skupin antibiotik (délka terapie, definovaná denní dávka, počet hospitalizací, počet lůžkodnů nebo množství antibiotika spotřebovaného na jeden kilogram živočišné biomasy) a údaje o bakteriální rezistenci, tj. kumulativní antibiogramy.

Kumulativní antibiogram

Kumulativní antibiogram může být definován jako přehled výskytu rezistence k jednotlivým antibiotikům u bakterií izolovaných z biologického materiálu pacienta [6].

Užitečnost kumulativních antibiogramů závisí především na robustních vstupních datech (tj. standardizované testování citlivosti bakterií k antibiotikům), stejně tak jako na

transparentnosti a shodném vytváření antibiogramů napříč různými mikrobiologickými laboratořemi [7].

Spolehlivé kumulativní antibiogramy mohou výrazně pomoci, jak při zamezení nesprávné volbě antibiotika, tak při snížení excesivního používání širokospektrých antibiotik v okamžiku, kdy u konkrétního pacienta výsledky mikrobiologického vyšetření a stanovení citlivosti na antibiotika ještě nejsou k dispozici [8].

Kumulativní antibiogramy by měly být pravidelně poskytovány nejenom klinickým lékařům, kterým slouží jako podklad při volbě vhodného antibiotika, ale zároveň i členům nemocničních týmů pro kontrolu infekcí řešících antibiotický stewardship (ABS), kteří by měli na jejich podkladě zavčas odhalit problém narůstající bakteriální rezistence či objevení se nového fenotypu rezistence. Surveillance bakteriální rezistence musí být prováděná ve spolupráci klinického mikrobiologa a ABS týmu [7]. Objevení se neobvyklého fenotypu rezistence je z mikrobiologického hlediska velmi zajímavé, ne vždy se však jedná o potvrzený případ, ale pouze o interpretační či laboratorní chybu, kterou správně vytvářené antibiogramy mohou relativně snadno odhalit. Zde je zcela nezastupitelná role klinického mikrobiologa, který nový či atypický fenotyp objeví v rámci denní praxe a ověří, zdali je tento opravdu správný, většinou konfirmací v Národní referenční laboratoři pro antibiotika a nález je poté referován [9]. Jestliže se ale přijde na takovýto výsledek až v rámci hodnocení zpracovaného kumulativního antibiogramu, tak se pravděpodobně jedná o chybu, která byla přehlédnuta v rutinním provozu [10]. Eliminace chyb je možná pouze pravidelnou analýzou dat a kontrolou dodržování doporučení pro přípravu kumulativních antibiogramů, což není vždy úplně jednoduché. Zapantis a kol. [11] analýzou 209 kumulativních antibiogramů odhalili 14 % „neobvyklých“ výsledků, jako např. enterokoky citlivé k cefalosporinům nebo kmeny *Stenotrophomonas maltophilia* citlivé k imipenemu. Obdobná zjištění byla konfirmována i dalšími autory

Tabulka 1

Hlavní doporučení CLSI týkající se tvorby a prezentace kumulativních antibiogramů [17]

1. Vytvářet kumulativní antibiogramy alespoň jednou ročně.
2. Pro zajištění statistické validity odhadu zahrnout pouze druhy, které mají data o antimikrobiální citlivosti u nejméně 30 izolátů.
3. Vypočítat kumulativní antibiogramy nejlépe na úrovni druhu. Pro *Staphylococcus aureus* navíc vypočítat samostatné kumulativní antibiogramy pro všechny izoláty a pro podskupinu izolátů rezistentních k methicillinu.
4. Pro *Streptococcus pneumoniae* a cefotaxim/ceftriaxon/penicilin: zpracovat kumulativní antibiogramy jak s breakpointy pro meningitidu, tak respirační infekce; v případě penicilinu i breakpointy pro perorální aplikaci.
5. Zahrnout pouze diagnostické izoláty, ale nezahrnovat izoláty ze surveillance a skríningu, nebo ze vzorků odebraných z jiných zdrojů než od pacientů.
6. Zahrnout pouze první izolát daného druhu u pacienta za dobu analýzy.
7. Hlásit pouze výsledky u těch antibiotik, která jsou testována pravidelně. Pokud laboratoř používá vlastní pravidla testování, tedy pokud jsou testována specifická antibiotika u podskupiny izolátů, tyto dodatečné výsledky nezahrnovat do hodnocení.
8. Tvorba samostatných hlášení pro každé zdravotnické zařízení/kliniku, které spadají pod danou laboratoř, s dodatečnými daty stratifikace podle aktuálních klinických potřeb zařízení/kliniky.
9. Vypočítat procentní podíl citlivosti podle kombinace druhu bakterie a antibiotika, nezahrnovat však izoláty s intermediární citlivostí.

[7,10]. Častou chybou, nejenom při tvorbě kumulativních antibiogramů, je též reportování nedoporučených kombinací původce – antibiotikum, jako například *Pseudomonas aeruginosa* – cotrimoxazol nebo *Enterobacter cloacae* complex – potencovaný aminopenicilin [7], což vede k zavádějícímu dojmu výskytu multirezistentních kmenů, ačkoliv se jedná o tzv. přirozené (primární) rezistence.

Na druhou stranu dlouhodobá analýza lokálních kumulativních antibiogramů umožňuje laboratoři aktivní přístup k selektivnímu sdělování výsledků, což je jednou ze součástí ABS a je doporučováno odbornými společnostmi jako důležitý faktor ovlivňující preskripci antibiotik. Přesto mnoho laboratoří stále poskytuje plné výsledky všech testovaných antibiotik, včetně nedoporučených kombinací patogen – antibiotikum, což může vést k zbytečnému nadužívání širokospektrých antibiotik, především v případech klinicky méně závažných infekcí, vyvolaných dobře citlivými kmeny bakterií, např. infekce dolních močových cest a terapie fluoroanalogy chinolony či cefalosporiny vyšších generací [12,13].

Forma prezentace kumulativních antibiogramů koncovým uživatelům záleží na poskytující laboratoři, zvolí-li formu grafů nebo sumární tabulkový přehled. V případě prezentace formou grafů je možné názorně v čase sledovat trendy vývoje citlivosti nebo rezistence, avšak graf je vytvářen vždy pro jedno agens a sestavu příslušných antibiotik. Tabulková forma naopak umožňuje sumarizovat všechny sledované bakterie a všechna antibiotika do jednoho souboru a procentně vyjádřit rezistenci nebo citlivost. Nevýhodou takovéto prezentace je aktuální přehled za dané období a není patrný žádný trend vývoje. Proto je nezbytné doplnit přehledovou tabulku o podrobný komentář analyzující trendy a poskytující i případná doporučení. Pro přehlednost lze použít i barevnou stratifikaci charakterizující procento necitlivosti, např. červeně znázorněné pole u izolátů s citlivostí nižší než 70 % apod. [14].

Ačkoliv první doporučený postup tvorby kumulativních antibiogramů byl představen americkým Institutem pro klinické a laboratorní standardy (CLSI) již v roce 2002, tak po deseti letech pouze 50 % laboratoří v USA mělo implementováno plné doporučení CLSI [13].

Ne všechna doporučení CLSI pro tvorbu kumulativních antibiogramů jsou zcela jednoznačná. Především ta, která se týkají výběru izolátů (jestli zahrnout „pouze“ diagnostické a vyloučit skrínigové), zacházení s duplicitními izoláty, kdy nejsou duplicity jednoznačně definovány a v neposlední řadě prezentace procentního podílu citlivých kmenů k daným antibiotikům.

V Evropě je obdobou CLSI the European Committee on Antimicrobial Susceptibility (EUCAST) Testing, který vydává pravidelně doporučení pro standardizaci testování citlivosti bakterií k antibiotikům, včetně interpretačních kritérií [15], ale doporučení pro tvorbu antibiogramů a následnou analýzu dat v rutinních laboratořích stále chybí [16].

Materiál a metody

Jako podklad pro demonstraci přístupu k přípravě kumulativních antibiogramů byla využita data z naší laboratoře.

Laboratoře Klinické mikrobiologie a Antibiotického centra Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky zpra-

covávají biologický materiál od pacientů ze Všeobecné fakultní nemocnice (VFN) a z Ústavu hematologie a krevní transfuze (ÚHKT). Všeobecná fakultní nemocnice disponuje 1 537 lůžky, z toho 227 lůžek spadá pod intenzivní péči, až 40 % pacientů hospitalizovaných ve VFN je imunokompromitovaných (hematoonkologičtí, onkologičtí pacienti a pacienti na imunosupresivní terapii). Ústav hematologie a krevní transfuze má 40 lůžek, z toho 13 lůžek pro intenzivní péči, včetně transplantační jednotky.

Stanovení citlivosti na antibiotika se provádělo a provádí u všech kmenů izolovaných z klinicky validních materiálů (předpokládaný původce infekce – diagnostický izolát) a dále u skrínigových materiálů (od pacientů na jednotkách intenzivní péče a hematoonkologických pacientů). U jednotlivých diagnostických izolátů se testovala doporučená antibiotika dle EUCAST. Ze skrínigových materiálů (výtěr z rekta, výtěr z nosu, výtěr z krku/dutiny ústní) byly identifikovány gramnegativní tyčinky a rutinně se detekovala produkce širokospektrých betalaktamáz u zástupců čeledi *Enterobacteriales*. Pro účely surveillance se provedlo testování citlivosti na vybraná antibiotika (amoxicilin/kyselina klavulanová, gentamicin, amikacin, cefotaxim, ofloxacin, ertapenem). U *Enterococcus faecium* byla stanovena citlivost k vankomycinu a k linezolidu a u kmenů *Staphylococcus aureus* citlivost k oxacilinu, klindamycinu, erytromycinu, gentamicinu, rifampicinu a cotrimoxazolu.

Stanovení citlivosti bakteriálních kmenů na antibiotika bylo standardizováno a interpretace výsledků se řídila aktuálními doporučeními EUCAST. Rutinně se prováděla disková difuzní metoda, minimální inhibiční koncentrace se stanovila buď mikrodiluční metodou (Erba Lachema, Brno, CZ), nebo pomocí E-testůR (bioMérieux, SA, Marcy l'Etoile, Francie). Výsledky byly zaznamenávány do laboratorního informačního systému (LIS) Janiga. Pro přípravu kumulativních antibiogramů byla data extrahována z LIS do excelových souborů.

Mnohá doporučení CLSI (*tabulka 1*) pro tvorbu kumulativních antibiogramů jsou pojata velmi zjednodušeně a ne-reflektují zcela potřeby klinických pracovišť v rámci velkých zdravotnických zařízení, proto mohou vést nepřesným interpretacím výsledků.

Za rozporuplná doporučení považují následující:

- Zahrnout pouze diagnostické izoláty, ale nezahrnovat izoláty ze surveillance a skrínigu nebo ze vzorků odebraných z jiných zdrojů než od pacientů.
- Zahrnout pouze první izolát daného druhu u pacienta za dobu analýzy.
- Tvorba samostatných hlášení pro každé zdravotnické zařízení/kliniku, které spadá pod danou laboratoř, s dodatečnými daty stratifikace podle aktuálních klinických potřeb zařízení/kliniky.
- Vypočítat kumulativní antibiogramy **nejlépe** na úrovni druhu. Pro *Staphylococcus aureus* navíc vypočítat samostatné kumulativní antibiogramy pro všechny izoláty a pro podskupinu izolátů rezistentních k methicilinu.

Výsledky

V grafické formě prezentovány rozdílné možnosti přístupu ke zpracování získaných dat u jednotlivých, nejvíce kon-

troverzních doporučení, v diskuzi jsou pak dané přístupy hodnoceny, mimo jiné i v kontextu klinické relevance.

Pro názornou demonstraci možných nejednoznačných doporučení jsou vybrány vždy pouze některé druhy bakterií, kde jsou rozdíly v přístupech ke zpracování dat nejvíce ilustrativní, neboť zpracování všech izolovaných kmenů by bylo značně široké a v konečném důsledku by nebylo již přínosem.

Názvy jednotlivých subkapitol výsledkové části a následně diskuze odpovídají znění doporučení CLSI uvedených v tabulce 1.

Zahrnout pouze diagnostické izoláty, ale nezahrnovat izoláty ze surveillance a skrínungu nebo ze vzorků odebraných z jiných zdrojů než od pacientů.

Dle doporučení CLSI by měly být kumulativní antibiogramy zpracovány pouze pro tzv. diagnostické izoláty, tj. pro předpokládané původce infekce, z klinicky validních materiálů. V laboratořích, které jsou součástí velkých zdravotnických zařízení s vysokým podílem intenzivní lůžkové péče, mají k dispozici kromě dat z diagnostických izolátů i velké množství tzv. skrínungových dat, neboť pravidelné monitorování kolonizace dlouhodobě hospitalizovaných pacientů je součástí rutinní praxe.

Skrínungové izoláty *Enterococcus faecium* a jejich dopad na celkovou hladinu rezistence na ÚHK

Na příkladu kmenů *Enterococcus faecium* a jeho citlivosti k vankomycinu a linezolidu uvádím korelaci mezi výskytem kmenů *E. faecium* rezistentních k vankomycinu (VRE) výtěru z rektu a izolátů VRE z hemokultur (viz dále) u pacientů na lůžkovém oddělení a jednotce intenzivní péče ÚHK.

V roce 2013 byl zaznamenán enormní podíl vankomycin rezistentních kmenů *Enterococcus faecium* na JIP ÚHK. Následující pokles výskytu byl odrazem zavedených epidemiologických opatření. Další nárůst až na 37 % je patrný v roce 2018, tento je doprovázen i nárůstem rezistence k linezolidu až na 13 %. Pravděpodobně se jednalo o následek nižší compliance se zavedenými opatřeními po dlouhodobě příznivém vývoji, v případě VRE (graf 1).

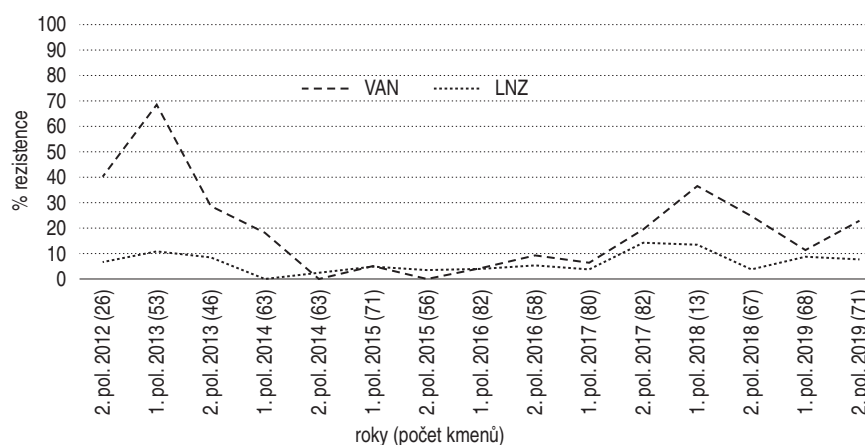
Diagnostické izoláty *Enterococcus faecium* a jejich dopad na celkovou hladinu rezistence na ÚHK

Zpracování kumulativních antibiogramů z diagnostických izolátů bývá komplikováno jejich nedostatečným počtem v daném časovém období. Zpracování nedostatečného množství dat tak může být zavádějící, avšak dá-li se do korelace i s jinými nálezy, např. skrínungovými, tak přesto může pomoci identifikovat případné problémy pro ABS.

Přestože záchyt kmenů *Enterococcus faecium* v hemokulturách je relativně nízký a nespňuje kritéria počtu kmenů pro statistické zpracování dle CLSI, profil získané rezistence v čase však reflektuje situaci ze skrínungových materiálů, viz graf 1. V roce 2012 činil podíl VRE 62,5 % a druhého vrcholu dosáhl v roce 2018, kdy vankomycin rezistentní *E. faecium* tvořil třetinu izolátů (graf 2).

Graf 1

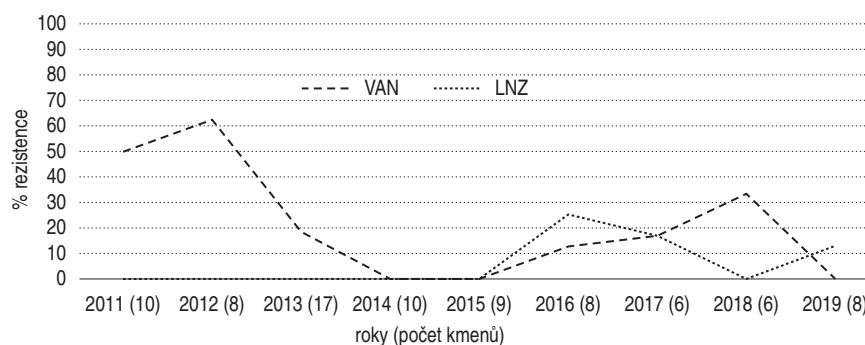
Kumulativní antibiogram *Enterococcus faecium* ze skrínungových vzorků výtěru z rektu u pacientů na jednotce intenzivní péče ÚHK



Zkratky: ÚHK – Ústav hematologie a krevní transfuze; JIP – jednotka intenzivní péče; VAN – vankomycin; LNZ – linezolid

Graf 2

Kumulativní antibiogram *Enterococcus faecium* z hemokultur u pacientů na ÚHK



Zkratky: ÚHK – Ústav hematologie a krevní transfuze; VAN – vankomycin; LNZ – linezolid

Zahrnout pouze první izolát daného druhu u pacienta za dobu analýzy

Použití metody pouze tzv. prvního izolátu k tvorbě kumulativního antibiogramu je možné jenom tehdy, když se jedná buď o ambulantní nebo krátkodobě hospitalizované pacienty s akutní infekcí. V případě pacientů dlouhodobě hospitalizovaných či vyžadujících intenzivní péči dochází k mnohdy k reinfekcím či superinfekcím a s délkou hospitalizace narůstá riziko výskytu stejných bakteriálních agens, ale s rozdílnou, většinou sníženou citlivostí k antibiotikům.

V následujících grafech jsou prezentovány odlišné výsledky podílu rezistentních izolátů vybraných bakterií, jak z klinicky validních vzorků (diagnostických izolátů), tak skrínin-

gových nálezů. Vždy jsou porovnány hodnoty získané zpracováním dat pro všechny existující nálezy daného bakteriálního druhu od pacienta ve sledovaném časovém období s tzv. prvním izolátem (tj. dle prvního data záhytu u pacienta) a s izoláty, které vykazují fenotypově odlišné antibiogramy u daného pacienta (grafech označeno jako rodné číslo a antibiogram).

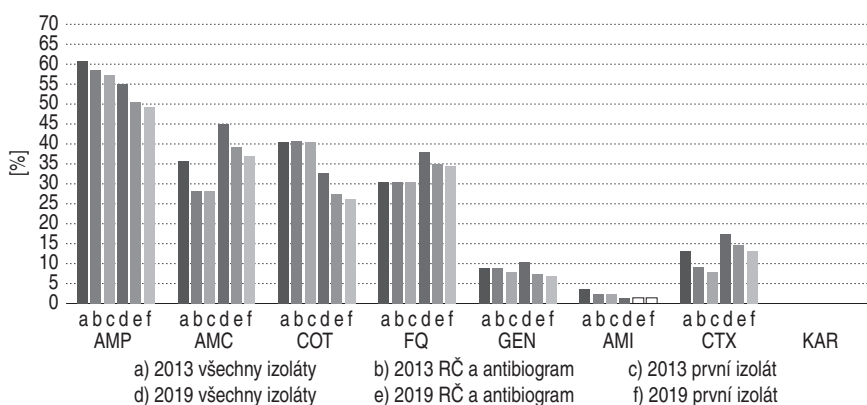
Antibiogram při použití pouze prvního izolátu od pacienta ukazuje nižší hodnotu rezistence, než když se započtou všechny fenotypově odlišné izoláty od daného pacienta ve sledovaném období. Započítání úplně všech nálezů od jednoho pacienta pak může vést ke zkeslení celkové úrovně rezistence, která je dána neúměrným počtem opakujících se izolátů během hospitalizace (graf 3).

Rezistence k ampicilinu při započítání všech izolátů v roce 2013 byla 60,7 %, při použití pouze prvního izolátu pak 57,3 % a v roce 2019 mírně poklesla na 55,2 % a 49,3 %, resp., u potencevaného aminopenicilinu 35,7 % vs. 28,1 % a 44,8 % vs. 37,3 % resp., ke cotrimoxazolu byla rezistence v roce 2013 stejná při uvedených přístupech, ale v roce 2019 se lišila – u všech izolátů 32,8 % a u prvního izolátu 26,9 %. Podobné je to i fluorovaných chinolonů, kdy v roce 2013 je rezistence shodná (všechny izoláty vs. první izolát) a v roce 2019 pak 37,9 % vs. 34,3 %. U gentamicinu na rozdíl od amikacinu je výraznější rozdíl opět v roce 2019 a to 10,3 % vs. 7,5 %. Cefotaxim vykazuje podobné trendy jako aminopenicilinu, 13,1 % vs. 7,8 v roce 2013 a 17,2 % vs. 13,4 % v roce 2019

Rezistence k linezolidu je ve všech sledovaných obdobích nejvyšší v kategorii unikátního antibiogramu v porovnání se všemi či prvním izolátem. V prvním pololetí 2019 to bylo 6,9 %, 3,8 % a 1,5 % resp., obdobný charakter vidíme i u vankomycinu 16,7 %, 12,9 % a 12,3 % resp. V prvním pololetí 2020 u linezolidu opět nejvyšší rezistenci vykazuje skupina unikátního antibiogramu (4,7 %, 3,3 % a 3,2 % resp.), avšak u vankomycinu je nejvyšší rezistence při započítání všech izolátů, poté u unikátního antibiogramu a prvního izolátu (44 %, 39,5 % a 27,4 % resp.). Započtení všech izolátů nebo pouze prvních či definovaných antibiogramem významně ovlivní výsledky u skríninových nálezů od pacientů dlouhodobě hospitalizovaných, kdy se skrínin provádí pravidelně a během hospitalizace dochází ke kolonizaci rezistentními kmeny, které by se při kalkulaci pouze s prvním izolátem nepromítly do celkových dat. Pacient též

Graf 3

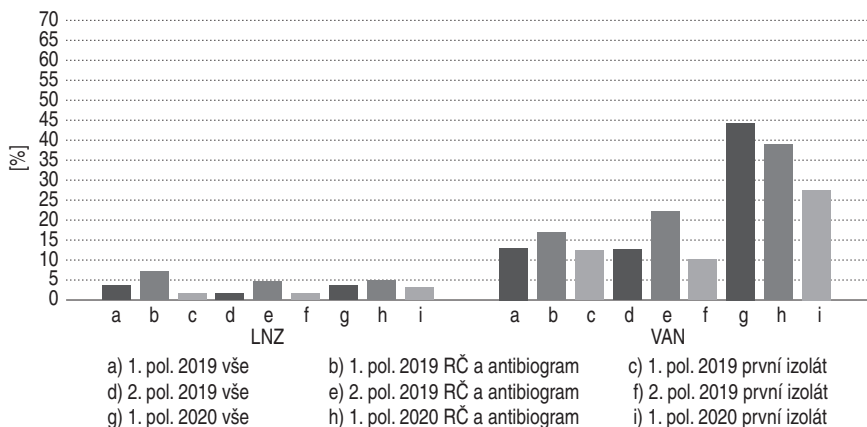
Vliv duplicitních vzorků *Escherichia coli* z hemokultur na úroveň rezistence



Zkratky: AMP – ampicilin; AMC – amoxicilin/kyselina klavulanová; COT – cotrimoxazol; FQ – fluorované chinolony (ofloxacin); GEN – gentamicin; AMI – amikacin; CTX – cefotaxim; KAR – karbapenemy (ertapenem); RČ – rodné číslo

Graf 4

Vliv duplicitních vzorků *Escherichia coli* ze skríningu na úroveň rezistence



Zkratky: LNZN – linezolid; VAN – vankomycin; RČ – rodné číslo; pol. – pololetí

může být v čase kolonizován kmeny s různým antibiogramem, a proto by se měly tyto započítat (graf 4).

Tvorba samostatných hlášení pro každé zdravotnické zařízení, které spadá pod danou laboratoř, s dodatečnými daty stratifikace podle aktuálních klinických potřeb zařízení.

Stratifikace dat je důležitá pro definování problémů ABS. Vyšetřuje-li laboratoř pro více subjektů s rozdílnou skladbou pacientů, je třeba provést analýzu minimálně dat získaných od dětských a dospělých pacientů, nejnem proto, že ne všechna antibiotika lze použít na léčbu infekcí u pediatrických pacientů, ale i úroveň rezistence se může lišit, a pak mohou být celková data zkreslená, je-li podíl izolátů z dětské populace vysoký. Dále vhodné a pro účely ABS důležité je zpracování izolátů jednoho druhu bakterie i z různých klinicky validních materiálů pro jednotlivá zařízení či kliniky, protože lze odhalit případné epidemiologické souvislosti šíření jednoho kmene napříč klinikou při nějakém invazivním vyšetřovacím postupu, například bronchoskopii.

Názornou ukázkou subanalýzy dle věku je rozdíl v rezistenci močových izolátů *Escherichia coli* u dospělých a dětských pacientů z Urologické kliniky VFN (graf 5), především trend nárůstu rezistence je odlišný mezi dětskou a dospělou populací.

Subanalýza dle věku

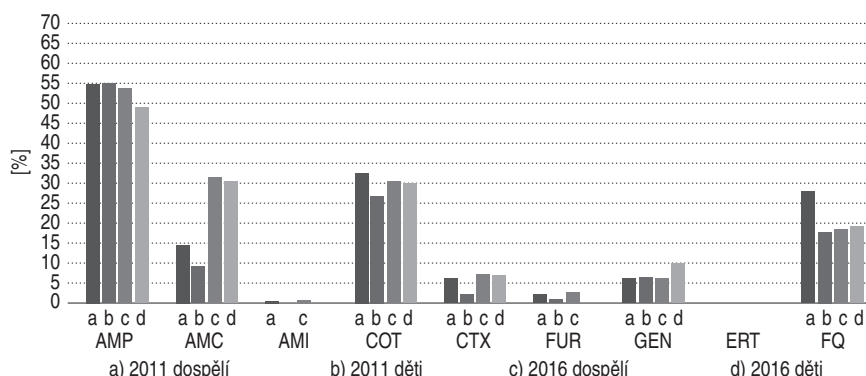
Subanalýza močových izolátů *Escherichia coli* dle věku ukazuje významnější rozdíly v citlivosti mezi věkovou skupinou dětí a dospělých v roce 2011 u potencovaného aminopenicilinu, cotrimoxazolu, cefotaximu, a především u fluorovaných chinolonů. Tyto rozdíly se však v následujícím časovém období zcela setřely, dokonce je u gentamicinu rezistence vyšší u dětí než u dospělých. Alarmující je trojnásobný nárůst rezistence u potencovaného aminopenicilinu z 9 % na 30 % a u cefotaximu z 2,1 % na 6,7 % během pěti let u izolátů od dětí. Naopak rezistence k ampicilinu klesla z 55 % na 49 %. U dospělých došlo též k nárůstu rezistence u potencovaného aminopenicilinu z 14,4 % na 32,4 %, ale u ostatních antibiotik není nárůst rezistence tak markantní, u cefotaximu z 5,9 % resp. na 6,7 %, nebo dokonce došlo k poklesu podílu rezistentních kmenů u cotrimoxazolu z 32,7 % na 30,3 % a u ofloxacinu z 27,7 % resp. na 18,7 %.

Vypočítat kumulativní antibiogramy nejlépe na úrovni druhu. Pro *Staphylococcus aureus* navíc vypočítat samostatné kumulativní antibiogramy pro všechny izoláty a pro podskupinu izolátů rezistentních k methicilinu.

Pouze rodová identifikace a následné zpracování antibiogramů pro celý rod může být pro některé bakteriální agens zavádějící. Některé druhy bakterií snáze rozvinou rezistenci k některým antibiotikům než jiné. Pro demonstraci je pre-

Graf 5

Porovnání rezistence močových izolátů *Escherichia coli* u dětí (< 15 let) a dospělých v letech 2011 a 2016



Zkratky: AMP – ampicilin; AMC – amoxicilin/kyselina klavulanová; AMI – amikacin; COT – cotrimoxazol; CTX – cefotaxim; FUR – nitrofurantoin; GEN – gentamicin; ERT – ertapenem; FQ – fluorované chinolony (ofloxacin)

zentován rod *Enterococcus* a dva jeho nejčastěji izolované druhy *E. faecalis* a *E. faecium*.

Kumulativní antibiogramy na úrovni druhu

Zásadní rozdíl v datech je patrný při zpracování kumulativního antibiogramu na úrovni druhu anebo rodu. V analyzovaném souboru byly započítány do rodu *Enterococcus* izoláty *E. faecalis* a *E. faecium* izolované z hemokultur v letech 2017, 2018 a 2019. *Enterococcus faecium* je v daném souboru zcela rezistentní k ampicilinu a má i vyšší úroveň rezistence k vankomycinu (14,3 %, 20 % a 15,4 %) oproti sumárním hodnotám (4,3 %, 7,4 % a 5,3 %), které jsou dány velmi nízkou rezistencí a vysokým počtem izolátů *E. faecalis* zahrnutých do analýzy.

Stratifikace dat na základě příznačných fenoménů rezistence

Subanalýza bakteriálních izolátů s definovaným fenotypem rezistence může být ovlivněna množstvím dostupných dat. Samostatné zpracování dat u rezistentních fenotypů neodpovídá celkové úrovni rezistence.

Rozdíl mezi citlivými a rezistentními fenotypy ilustruje antibiogram pro ranné izoláty *Staphylococcus aureus* i s podskupinou izolátů rezistentních k methicilinu od pacientů z 1. chirurgické kliniky (graf 7) a 3. interní kliniky VFN (graf 8).

Z grafů 7 a 8 je patrný rozdíl úrovně rezistence *S. aureus* mezi oběma klinikami, byť se jedná o izoláty od pacientů s rannou infekcí nebo infekcí kůže a měkkých tkání. Rezistence k oxacilinu je na 1. chirurgické klinice 8,5 % a na 3. interní klinice 14,4 %, ke klindamycinu 21,7 % a 34,4 % resp. V subpopulaci MRSA dosahuje na obou klinikách rezistence ke klindamycinu více než 90 % (92,3 % a 95,7 % resp.), avšak výrazný rozdíl je v rezistenci ke gentamicinu

a cotrimoxazolu 38,5 % vs. 13 % a 30,8 % a 4,3 % resp. V subpopulaci MSSA je úroveň rezistence významně nižší, u klindamycinu činí 15 % a 12,1 % resp., rezistence ke gentamicinu dosahuje shodně 5 % a rezistence ke cotrimoxazolu byla zachycena pouze na 1. chirurgické klinice (1,4 %). Výše rozdílu mezi celkovou populací a subpopulací rezistentních a citlivých izolátů je dán počtem těch rezistentních vůči celku.

Diskuze

Komentáře ke sporným doporučením CLSI

Zahrnout pouze diagnostické izoláty, ale nezahrnovat izoláty ze surveillance a screeningu nebo ze vzorků odebraných z jiných zdrojů než od pacientů.

Laboratoř Klinické mikrobiologie a ATB centra poskytuje kumulativní antibiogramy izolátů z klinicky validních materiálů jednou ročně. Dle CLSI doporučení by měly být vyloučeny skrínigové izoláty z kumulativních antibiogramů. Přesto se domnívám, že samostatné zpracování kumulativních antibiogramů ze skrínigových izolátů má význam.

Vzhledem k tomu, že ve Všeobecné fakultní nemocnici je vysoký podíl intenzivních lůžek a více než třetina pacientů je imunosuprimovaná, tak je zaveden na jednotkách intenzivní péče jednotlivých klinik plus na celé 1. interní klinice hematoonkologické a na ÚHKT pravidelný screening pacientů. Dvakrát týdně (v pondělí a ve čtvrtek) se odebírá výtěr z nosu, výtěr z rektu. Primárním cílem skrínigování je detekovat kolonizaci pacienta, která se při dlouhodobé hospitalizaci mění v čase a bakteriální translokace bývá zdrojem infekčních komplikací u těchto pacientů [18].

Bakteriální translokace je invazí bakterií střevní mikrobioty přes střevní sliznici do původně sterilní tkáně. Bakterie

se nemusí dostat až do krevního řečiště, aby došlo k manifestaci systémové zánětlivé reakce. Ta vzniká vlivem účinku zánětlivých mediátorů imunitní stimulace ve splachnické oblasti (střevní stěně, mezenterálních lymfatických uzlinách) bez invaze živých mikroorganismů až do oběhu. Porucha střevní bariéry je též spojena s transportem neživých buněčných fragmentů, nebo jiných toxických látek ze střeva, které vyvolávají systémovou zánětlivou reakci až multiorganová postižení cestou lymfatické drenáže [19].

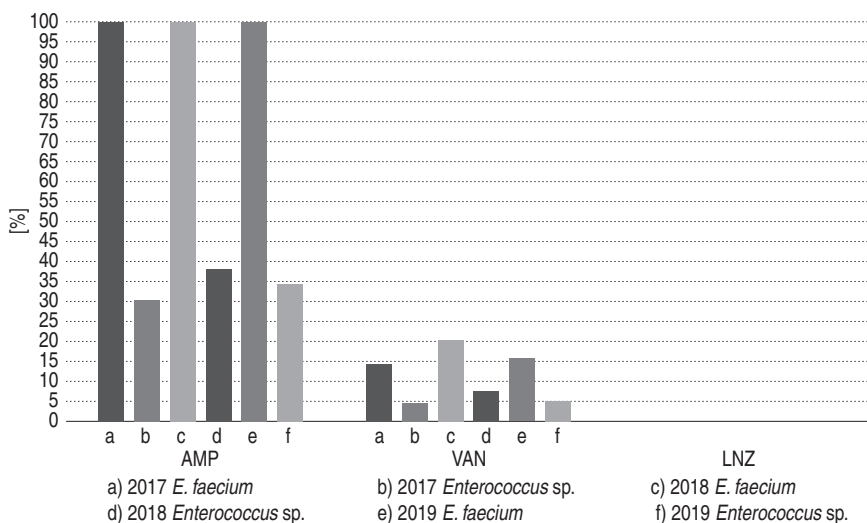
Data ze skrínigových vyšetření predikují úroveň rezistence na daném oddělení i aktuální výskyt případných rezistentních bakteriálních kmenů u konkrétního pacienta a jsou k dispozici dříve, než pacient rozvine klinicky manifestní infekci, jejímž zdrojem je velmi často jeho vlastní mikrobiota.

Skrínigové izoláty *Enterococcus faecium* a jejich dopad na celkovou hladinu rezistence na ÚHKT

Typickým příkladem bakterie, na které lze demonstrovat přínos surveillance bakteriální rezistence, je *Enterococcus faecium*, který je součástí normální střevní mikrobioty a u oslabených jedinců, nejčastěji při střevní mukozitidě, dochází k jeho translokaci do krevního řečiště [20].

V okamžiku, kdy je pacient septický a je třeba co nejrychleji zahájit antibiotickou terapii, která pokryje možné původce, jak grampozitivní, tak gramnegativní [21], a nejsou-li k dispozici žádné předběžné výsledky, tak znalost kumulativních antibiogramů se významným způsobem podílí na rozhodovacím procesu empirické volby antibiotik. Např. vysoký podíl vankomycin rezistentní kmenů *Enterococcus faecium* ve skrínigování kolonizujících bakteriálních kmenů (graf 1) je důležitým faktorem při volbě empirického antibiotického krytí u pacientů ve febrilní neutropenii (graf 2), kdy je třeba pokrýt velmi široké spektrum možných původců a není čas čekat na výsledky kultivací.

Graf 6
Vliv odlišných profilů rezistence různých bakteriálních druhů v rámci jednoho rodu



Zkratky: AMP – ampicilin; VAN – vankomycin; LNZ – linezolid

Diagnostické izoláty *Enterococcus faecium* a jejich dopad na celkovou hladinu rezistence na ÚHKT

Přestože záchyt kmenů *E. faecium* v hemokulturách na ÚHKT není tak častý, nespĺňuje plně statistická kritéria CLSI pro minimální počet kmenů, tak ale podíl VRE kopíruje tyto kolonizační nálezy. Další význam surveillance kolonizujících nálezů je v rychlejší reakci na zvyšující se výskyt rezistentních kmenů. V roce 2012 byl podíl VRE na JIP ÚHKT 40 %, v prvním pololetí 2013 dokonce 70 % a tento nepříznivý trend se odrážel i v záchytech z hemokultur, tudíž byla přijatá restriktivní opatření stran úklidu oddělení a hygieny rukou personálu, což mělo významný vliv na pokles podílu VRE až pod 10 %, jak na jednotce intenzivní péče, tak na lůžkovém oddělení ÚHKT. Strategie profylaktických

antibiotických režimů přitom zůstala zachována. Vysoký podíl VRE ve výtěrech z rekta není většinou dán zvýšenou spotřebou antibiotik a jejich selekčním tlakem, ale reflektuje spíše nižší compliance personálu s dodržováním bariérových ošetřovatelských režimů [22].

Zahrnout pouze první izolát daného druhu u pacienta za dobu analýzy

Metody pro zacházení s duplikáty izolátů (tj. s izoláty stejného druhu získanými z po sobě jdoucích kultur u stejného pacienta během analyzované doby) jsou různé. Výběr izolátů pro statistické zpracování a přípravu kumulativních antibiogramů není jednoznačně definován.

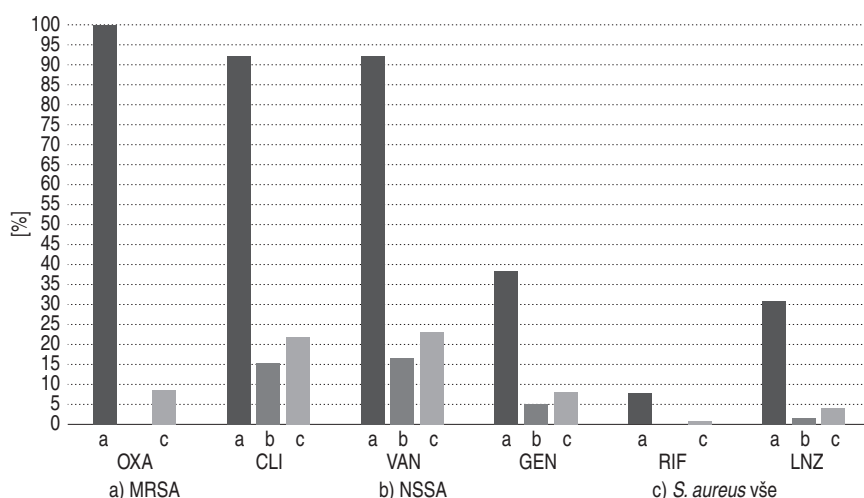
Dle CLSI je v úvahu brán pouze první izolát daného druhu u pacienta za dobu analýzy bez ohledu na místo odběru, druh vzorku, profil antimikrobiální citlivosti, nebo jiné fenotypové vlastnosti. Další možností je strategie všech izolátů, tj. všechny izoláty daného druhu shromážděné během analyzované doby jsou brány v úvahu stejně a jsou zahrnuty do analýzy. Dále pak přístup založený na epizodě, kdy duplicitní vzorky jsou zahrnuty tehdy, uplyne-li od znovu zachycení minimální interval n (5, 10, 30 dnů apod.), tj. první izolát daného druhu u pacienta je zahrnut, následující izoláty jsou po dobu n dní vynechány, dokud není zahrnut další izolát. Zde však nepanuje jasná shoda u definice epizody [23].

Naše laboratoř preferuje strategii založenou na tzv. unikátních antibiogramech daného kmene, tzn. duplikáty jsou vybírány vzhledem k profilu antimikrobní citlivosti u každého pacienta za stanovené období, které je šest nebo dvanáct měsíců, dle počtu izolátů. Jednotlivé přístupy mohou, ale též nemusí, ovlivnit výsledný výstup.

Započítání všech izolátů *E. coli* z hemokultur (graf 3) ukazuje vyšší podíl rezistence u betalaktamových antibiotik (ampicilin, amoxicilin/kyselina klavulanová a cefotaxim) v porovnání s výsledky získanými při kalkulaci antibiogramu za použití pouze prvního izolátu od pacienta či izolátů vybraných na základě odlišného antibiogramu u daného pacienta. U potencovaného aminopenicilinu v roce 2013 tento rozdíl činil 27 % a v roce 2019 byl již jen 20 % a u cefotaximu byl tento rozdíl dokonce 68% v roce 2013 a 28% v roce 2019. U ostatních testovaných antibiotik nejsou rozdíly již tak patrné. V případě hemokultur je započítání všech izolátů do statistiky zavádějící, protože vzhledem k jejich opakovanému odběru u septického pacienta dochází k výraznému navýšení počtu stejných kmenů. Na druhou stranu kalkulace pouze s prvním izolátem může vést k podhodnocení úrovně rezistence, protože u dlouhodobě hospitalizovaných pacientů dochází k opakovaným septickým epizodám a nejenom vlivem terapie mohou být následné izoláty téhož kmene již jinak citlivé, většinou více rezistentní, a proto je třeba výběr

Graf 7

Kumulativní antibiogram diagnostických izolátů *Staphylococcus aureus* zohledňující subpopulaci kmenů citlivých a rezistentních k methicilinu (oxacilinu) od pacientů z 1. chirurgické kliniky VFN, 2019



Zkratky: OXA – oxacilin; CLI – klindamycin; ERY – erytromycin; GEN – gentamicin; RIF – rifampicin; COT – cotrimoxazol; MRSA – methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*, MSSA – methicilin senzitivní *Staphylococcus aureus*

izolátů do statistiky pečlivě zvážit, především v nemocnicích třetího typu, kde je skladba pacientů a podíl imunosu-primovaných diametrálně odlišný od případů komunitních infekcí.

Stejně je tomu tak u skrínigových materiálů, kdy u dlouhodobě hospitalizovaných pacientů a pravidelně prováděného skrínigu vede započtení pouze prvního izolátu k výraznému podhodnocení stavu rezistence (graf 4). V prvním pololetí 2019 byla rezistence *E. faecium* ve výtěrech z rekta od pacientů z ÚHKT k linezolidu u prvních izolátů 2 % a při kalkulaci s unikátním antibiogramem 7 %, tedy 3,5krát nižší. Podobné rozdíly jsou patrné i u vankomycinu, kdy např. v prvním pololetí 2020 byla rezistence u prvního izolátu 24 % a u unikátního antibiogramu již 40 %. Výpočet za použití unikátního antibiogramu odráží nejenom přítomnost více fenotypů jednoho bakteriálního druhu u daného pacienta, ale ukazuje též na možnou míru cross-kolonizace při dlouhodobé hospitalizaci [21].

Kalkulace antibiogramu s duplicitními vzorky nebo s jejich eliminací nemá vliv na sledování trendu vývoje rezistence, avšak různá kritéria hodnocení ovlivňují aktuální hladinu rezistence.

Tvorba samostatných hlášení pro každé zdravotnické zařízení/kliniku, která spadají pod danou laboratoř, s dodatečnými daty stratifikace podle aktuálních klinických potřeb zařízení/kliniky.

Může být provedena celá škála subanalýz, pokud je otestován dostatečný počet odlišných izolátů, aby se zajistila statistická validita odhadů rezistence podskupin, včetně stratifikace izolátů například podle:

1) času kultivace (komunitní nebo nozokomiální infekce);

- 2) umístění pacienta (jednotlivá nemocniční oddělení, jako JIP, nebo zda je pacient hospitalizován nebo léčen ambulantně);
- 3) populace pacientů (např. dle věku, diagnózy apod.);
- 4) druhu vzorku nebo jeho místa odběru (např. krev a ostatní sterilní vzorky, moč, vzorky z respiračního ústrojí, stěry z kůže).

Analýza antibiogramu v jednotlivých podskupinách může závčas odhalit nepříznivé trendy vývoje rezistence, popř. ukázat i jiné problémy, které lze řešit v rámci antibiotické-
ho stewardshipu.

Implementace dat z kumulativních antibiogramů do nástrojů ovlivňujících preskripční chování lékařů (doporučené postupy, lokální informační systémy apod.) je zcela žádoucí a je jedním z faktorů přispívajících k omezení nadužívání či nevhodného používání antibiotik v léčbě nejčastějších bakteriálních infekcí [24].

Subanalýza dle věku

To, že je znám pravděpodobný původce, nic neznamená, protože dle klinického stavu pacienta nelze poznat, jestli je původce dobře citlivý k antibiotikům, či nikoliv. Tíže obtíží je dána faktory virulence, a nikoliv rezistencí k antibiotikům [25].

Narůstající rezistence kmenů *Escherichia coli* izolovaných od pacientů s močovými infekcemi je alarmující, postupně se zužuje spektrum perorálních forem antibiotik, která by bylo možné použít pro léčbu nekomplikovaných infekcí močových cest, a pacienty je tak nutné často hospitalizovat jenom kvůli parenterálnímu podávání antibiotik [26,27].

Problém správné volby antibiotika však není pouze ve správné identifikaci původce infekce, farmakokinetických a farmakodynamických vlastnostech antibiotika, ale též v samotném pacientovi, především věku, protože ne všechna antibiotika jsou indikována pro léčbu infekcí v dětském věku [28].

Proto analýza dat a příprava kumulativních antibiogramů by měla odrážet i tento fakt. Většinou jsou původci infekcí u dětí méně rezistentní než u dospělých a použití globálních dat by mohlo nepříznivě ovlivnit empirickou volbu antibiotik u dětských pacientů [29].

Subanalýza úrovně rezistence u močových izolátů *Escherichia coli* v populaci dětských a dospělých pacientů (graf 5) ukazuje významně nižší rezistenci k cefalosporinům třetí generace u dětí v roce 2011, 2 % oproti 6 % u dospělých a poměrně výrazný nárůst rezistence v dětské populaci v roce 2016, 6 % vs. 7 % resp. V porovnání s celonárodními daty z roku 2011 (dětí 1 %, dospělých 2 %) je rezistence k cefalosporinům třetí generace v našem souboru vyšší. Obdobný trend nárůstu rezistence je patrný i z opakované národní „Močové studie“ z roku 2016 [30,31].

Alarmující je především nárůst rezistence *E. coli* k potencovaným aminopenicilinům, nejenom u dospělých, ale především u dětí, z 9 % v roce 2011 dosáhla úroveň rezistence u dětí v roce 2016 již 31 %. Výsledky z roku 2011 opět korespondují s celonárodními daty z „Močové studie“ prováděné Národní referenční laboratoří pro ATB, kdy celostátní podíl rezistence k potencovanému aminopenicilinu byl u dětí 9% a u dospělých 11%.

Faktorů podílejících se na vzniku a rozvoji rezistence bakterií k antibiotikům je celá řada, ale zcela nepopiratelný vliv hraje spotřeba antibiotik [32].

Pravděpodobný vliv na enormní nárůst rezistence *E. coli* k potencovaným aminopenicilinům v našich národních datech lze spatřovat i v nárůstu spotřeby chráněných penicilinů v ČR, kdy v roce 2008 byla jejich spotřeba vyjádřená definovanou denní dávkou (DDD) 3,7 DDD/1 000 obyvatel/den a v roce 2018 již 5 DDD/1 000 obyvatel/den, v porovnání s některými jinými evropskými státy je tento nárůst až padesátinásobně vyšší, například v Norsku v roce 2018 byla spotřeba chráněných penicilinů pouze 0,1 DDD/1 000 obyvatel/den a v Německu 0,58 DDD/1 000 obyvatel/den [33].

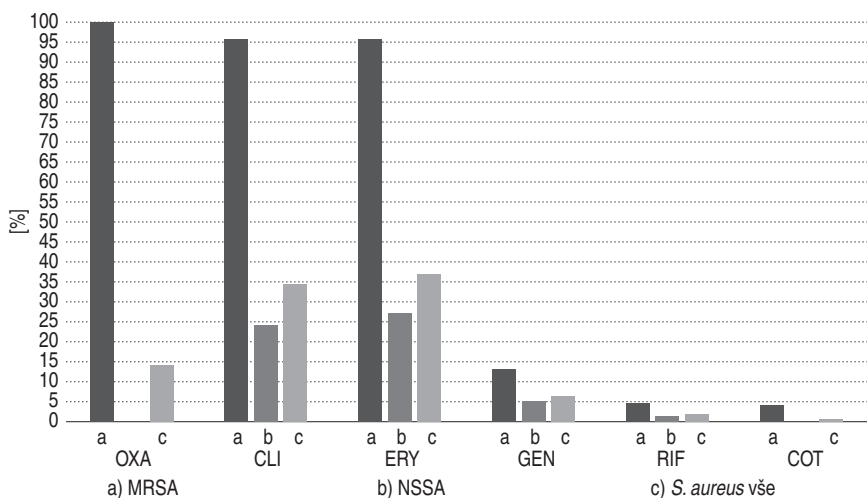
Vypočítat kumulativní antibiogramy nejlépe na úrovni druhu. Pro *Staphylococcus aureus* navíc vypočítat samostatné kumulativní antibiogramy pro všechny izoláty a pro podskupinu izolátů rezistentních k methicillinu.

Kumulativní antibiogramy na úrovni druhu

Přestože některé práce reportují kumulativní antibiogramy pro celý rod

Graf 8

Kumulativní antibiogram diagnostických izolátů *Staphylococcus aureus* zohledňující subpopulaci kmenů citlivých a rezistentních k methicilinu (oxacilinu) od pacientů z 3. interní kliniky VFN, 2019



Zkratky: OXA – oxacilin; CLI – klindamycin; ERY – erytromycin; GEN – gentamicin; RIF – rifampicin; COT – cotrimoxazol; MRSA – methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*, MSSA – methicilin senzitivní *Staphylococcus aureus*

Enterococcus, a ne pro jednotlivé druhy [34], tak se domnívám, že je třeba kumulativní antibiogramy vytvářet pro jednotlivé druhy bakterií v rámci daného rodu s ohledem jednak na primární rezistenci a dále na různé fenotypové charakteristiky, např. vysoká citlivost k ampicilinu u *E. faecalis*, a naopak, např. vyšší výskyt rezistence k vankomycinu u *E. faecium* (graf 6). Na izolátech enterokoků z hemokultur ve VFN v letech 2017–2019, kdy byly zachyceny pouze kmeny *E. faecalis* a *E. faecium*, lze toto snadno dokumentovat. Jestliže se započítají všechny kmeny dohromady, tak rezistence celé skupiny k ampicilinu je v jednotlivých letech 30 %, 37 % a 34 % resp., přičemž rezistence *E. faecium* k ampicilinu byla v daném souboru vždy 100 %. Stejně tak podíl vankomycin rezistentních kmenů je v sumárním antibiogramu významně zkrácen absencí kmenů *E. faecalis* rezistentních k vankomycinu, ta je v souboru prezentována pouze izoláty *E. faecium*. Rozdíl mezi celkovou rezistencí k vankomycinu a rezistencí pouze *E. faecium* byla 5 % vs. 14 % v roce 2017, v roce 2018 již 7 % vs. 20 % a v roce 2019 poklesla na 5 % vs. 15 %. Vzhledem k současným možnostem zrychlené laboratorní diagnostiky, především identifikace pomocí MALDI-TOF, kdy lze určit původce v hemokultuře během několika hodin od signalizace pozitivní lahvičky [35], tak společný kumulativní antibiogram pro rod *Enterococcus* je velmi zavádějící, neboť rezistence k vankomycinu je u kmenů *E. faecium* významně vyšší než u ostatních enterokoků a tato koresponduje i s národnými daty [36]. Z výše uvedených důvodů je proto míra rodově specifické rezistence zavádějící a neměl by tento přístup být používán.

Stratifikace dat na základě příznačných fenoménů rezistence

Ne všechny laboratoře testují rutinně celé spektrum antibiotik, ale často je testována tzv. první linie antibiotik (stanoví si ji daná laboratoř) a v případě rezistence následuje v dalším kroku testování tzv. rozšířené citlivosti. Při této strategii, ale není možné adekvátně zpracovávat kumulativní antibiogramy, neboť ucelená data nejsou k dispozici pro všechny kmeny [37]. CLSI např. doporučuje pro kmeny *Staphylococcus aureus* navíc vypočítat samostatné kumulativní antibiogramy pro všechny izoláty a pro podskupinu izolátů rezistentních k methicilinu.

Staphylococcus aureus je jedním z nejčastějších původců infekcí nejenom v komunitě, ale i v nemocnici. Spektrum manifestních infekcí je rozsáhlé od infekcí kůže a měkkých tkání, včetně infekcí v místě chirurgického výkonu, přes infekce kostí a kloubů až po bakteriémie [38].

Rezistence k methicilinu zprostředkovaná *mecA* genem je získána horizontálním přenosem mobilních genetických elementů SCC *mec* [39].

Poprvé byly kmeny MRSA zachyceny již v šedesátých letech minulého století u hospitalizovaných pacientů, od devadesátých let se rozšířily i do komunity. Ačkoliv se vyskytují globálně, není zde unikátní pandemický kmen [40].

Při porovnání izolátů *S. aureus* ze dvou odlišných klinik, chirurgické a interní (graf 7, 8), je patrný rozdíl bakteriální rezistence k většině testovaných antibiotik. Na první chirurgické klinice bylo 8 % kmenů rezistentních k methicilinu

oproti 14 % na třetí interní klinice, obdobně rezistence ke klindamycinu je nižší na chirurgické klinice (21 % vs. 34 %). Rozdíl může být pravděpodobně dán skladbou pacientů. Na třetí interní klinice VFN se specializují na léčbu endokrinních poruch, a především léčbu diabetu, proto též největší podíl infekčních komplikací tam tvoří pacienti se syndromem diabetické nohy, kde *S. aureus* je dominantním patogenem a výskyt methicilin rezistentních kmenů je též vyšší v porovnání s běžnou populací pacientů s infekcemi měkkých tkání, kteří jsou léčeni na chirurgické klinice [41].

Analýza subpopulace methicilin rezistentních kmenů z obou klinik dokumentuje vysokou rezistenci ke klindamycinu (92 % a 95 %, resp.), ale významně rozdílnou ke gentamicinu (38 % a 13 %) a cotrimoxazolu (30 % vs. 4 %). Což může být částečně dáno i antibiotickou politikou jednotlivých pracovišť a celkovým spektrem infekcí tam léčených.

V subpopulaci methicilin citlivých kmenů byla zachycena rezistence ke klindamycinu také, ale v mnohem menším měřítku, 15 % a 12 %, resp. A rezistence ke cotrimoxazolu byla detekovaná pouze na chirurgické klinice.

Proto je vždy třeba zvážit, jestli pacient má rizikové faktory pro přítomnost multirezistentních bakterií, [42] jestliže nemá, pak se řídit celkovým antibiogramem, a nikoliv subanalýzou multirezistentního fenotypu.

Návrh postupu přípravy kumulativních antibiogramů

Zpracovat kumulativní antibiogramy alespoň jedenkrát za rok

- Připravit kumulativní antibiogramy původců izolovaných z klinicky validních materiálů, jsou-li k dispozici data o antimikrobiální citlivosti u nejméně 30 izolátů.
- Pro močové izoláty vytvořit samostatné kumulativní antibiogramy a reportovat výsledky, jsou-li k dispozici data o antimikrobiální citlivosti u nejméně 30 izolátů.
- U izolátů z hemokultur připravit kumulativní antibiogramy u všech původců, jsou-li izolovány více než 30krát za dané časové období.
- Vytvářet samostatné kumulativní antibiogramy pro nejčastější izoláty ze screeningových materiálů pro sledování trendů rezistence, je-li počet kmenů s daty o antimikrobiální citlivosti alespoň 30.

Zahrnout pouze ukončené a verifikované výsledky.

Zahrnout každý jeden izolát od pacienta s unikátním antibiogramem za zvolené časové období (šest měsíců nebo maximálně jeden rok).

Vytvářet kumulativní antibiogramy na druhové úrovni, nikoliv na rodové (především u enterokoků).

Pro *Streptococcus pneumoniae* a cefotaxim/ceftriaxon/penicilin: zpracovat kumulativní antibiogramy jak s breakpointy pro meningitidu, tak respirační infekce.

Reportovat procento rezistence (nikoliv citlivosti).

Kumulativní antibiogramy cílovým subjektům prezentovat buď ve formě:

- **grafu:** daný bakteriální druh, definovaná sada relevantních antibiotik (nezahrnovat přirozené rezistence) a upřesnění původu izolátu (moč, hemokultura, hnis apod.);

- nebo **tabulky**, kde jsou sumárně uvedeny všechny významné izoláty z daného materiálu a procento rezistence u relevantních antibiotik (sumární tabulkové formě u přirozeně rezistentních bakterií k danému antibiotiku uvést např. R ne 100 %). Pro přehlednost barevně zvýraznit hodnoty, které přesahují „významnou“ hladinu v daném zdravotnickém zařízení, např. více než 30% rezistence apod.

Závěr

Primární role kumulativních antibiogramů tkví především v poskytování relevantních dat klinickým lékařům s cílem lépe se orientovat ve volbě vhodného antibiotika v úvodní fázi antibiotické terapie, kdy výsledky mikrobiologického vyšetření nejsou k dispozici, nebo jsou ve fázi rozpracování. Pravidelně vytvářené kumulativní antibiogramy dále ukazují trendy vývoje bakteriální rezistence k antibiotikům, což umožňuje definovat případné problémy pro ABS. Proto by příprava a tvorba kumulativních antibiogramů měla být rutinní součástí služeb poskytovaných mikrobiologickou laboratoří.

Tyto by měly být poskytovány alespoň jednou ročně, v případě velkých laboratoří či fakultních pracovišť každého půl roku, nejenom pro izoláty z klinicky validních materiálů, ale i pro skriningové izoláty, které jsou u dlouhodobě hospitalizovaných pacientů často původcem infekčních komplikací (především infekcí močového traktu u pacientů s permanentně zavedeným močovým katetrem nebo infekcí krevního řečiště u imunosuprimovaných pacientů, kdy dochází k translokaci střevní mikrobioty v průběhu intenzivní léčby).

Zásadní problém je však v absenci definovaných standardizovaných kritérií pro jejich tvorbu, neboť CLSI doporučením jsou relativně obecná, a ne zcela jednoznačná a jiná nejsou k dispozici. Vzhledem k významu kumulativních antibiogramů nejenom pro surveillance rezistence, ale především jako podpora rozhodovacího procesu výběru vhodného antibiotika, by měl být odbornou společností vypracován národní standard přípravy kumulativních antibiogramů, s cílem jasně definovat kritéria pro jejich tvorbu.

Antibiotický stewardship se řadí mezi klíčové kroky vedoucí k tomu, že antibiotika budou dostatečně účinná i v nadcházejících letech. ABS je strategií vedoucí k odpovědnému používání antibiotik a kumulativní antibiogramy jsou nedílnou součástí této strategie.

Literatura

1. <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/fleming-lecture.pdf>
2. Ventola CL. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P T*. 2015;40(4):277–283.
3. World Health Organisation (WHO). Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. Geneva: WHO; 2014. dostupné z: <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>
4. Critchley IA, Karlowsky JA. Optimal use of antibiotic resistance surveillance systems. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:502–511.
5. Monnier AA, Eisenstein B, Hulscher ME, Gyssens IC. DRIVE-AB WP1 group. Towards a global definition of responsible antibiotic use: results of an international multidisciplinary consensus procedure. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73(suppl_6):vi3–vi16.

6. NCCLS. 2002. Analysis and presentation of cumulative susceptibility test data; approved guideline. NCCLS document M39-A. NCCLS, Wayne, Pa.
7. Moehring RW, Hazen KC, Hawkins MR, Drew RH, Sexton DJ, Anderson DJ. Challenges in Preparation of Cumulative Antibiogram Reports for Community Hospitals. *J Clin Microbiol*. 2015;53(9):2977–2982. doi:10.1128/JCM.01077-15
8. Laupland KB, Ross T, Pitout JD, Church DL, Gregson DB. Investigation of sources of potential bias in laboratory surveillance for antimicrobial resistance. *Clin Invest Med*. 2007;30(4):E159–166.
9. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin – United States, 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002;51(26):565–567. Also available from: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5126a1.htm>
10. Boehme MS, Somsel PA, Downes FP. Systematic review of antibiograms: A National Laboratory System approach for improving antimicrobial susceptibility testing practices in Michigan. *Public Health Rep*. 2010;125 Suppl 2(Suppl 2):63–72.
11. Zapantis A, Lacy MK, Horvat RT, et al. Nationwide antibiogram analysis using NCCLS M39-A guidelines. *J Clin Microbiol*. 2005;43(6):2629–2634.
12. Barlam TF, Cosgrove SE, Abbo LM, et al. Executive Summary: Implementing an Antibiotic Stewardship Program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Clin Infect Dis*. 2016;62(10):1197–1202.
13. McNulty CA, Lasseter GM, Charlett A, et al. Does laboratory antibiotic susceptibility reporting influence primary care prescribing in urinary tract infection and other infections? *J Antimicrob Chemother*. 2011;66(6):1396–1404.
14. Australian Commission on Safety and Quality in Health Care. Specification for a Hospital Cumulative Antibiogram. Sydney: ACSQHC; 2019.
15. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, 2020. dostupné z <http://www.eucast.org>. 2020
16. Cornaglia G, Hryniewicz W, Jarlier V, Kahlmeter G, Mittermayer H, Strachounski L, et al. European recommendations for antimicrobial resistance surveillance. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10(4):349–383.
17. CLSI. Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document M39-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2014.
18. Fernández-Verdugo A, Fernández J, Escudero D, Cofiño L. Epidemiological surveillance for multidrug-resistant microorganisms in a general ICU. *Rev Esp Quimioter* 2017;30(3):201–206.
19. Rubartelli A, Lotze MT. Inside, outside, upside down: damage-associated molecular-pattern molecules (DAMPs) and redox. *Trends Immunol*. 2007;28(10):429–436.
20. Ford CD, Gazdik MA, Lopansri BK, Webb B, et al. Vancomycin-Resistant Enterococcus Colonization and Bacteremia and Hematopoietic Stem Cell Transplantation Outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017;23:340–346.
21. Hochmuth P, Magnuson J, Owens K. Survival of vancomycin-resistant Enterococcus faecium on acrylic nails, bed linen, and plastic keyboard covers. *American Journal of Infection Control* 2005;33(5):e32.
22. Shannon KP, French GL. Antibiotic resistance: effect of different criteria for classifying isolates as duplicates on apparent resistance frequencies. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2002;49:201–204.
23. Hota B. Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection? *Clin Infect Dis*. 2004;39(8):1182–1189.
24. Neugebauer M, Ebert M, Vogelmann R. A clinical decision support system improves antibiotic therapy for upper urinary tract infection in a randomized single-blinded study. *BMC Health Serv Res*. 2020;20(1):185.
25. Cepas V, Soto SM. Relationship between Virulence and Resistance among Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(10):719.
26. Critchley IA, Cotroneo N, Pucci MJ, Mendes R. The burden of antimicrobial resistance among urinary tract isolates of *Escherichia coli* in the United States in 2017. *PLoS One*. 2019;14(12):e0220265.
27. Hrbacek J, Cermak P, Zachoval R. Current Antibiotic Resistance Trends of Uropathogens in Central Europe: Survey from a Tertiary Hospital Urology Department 2011–2019. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(9):630.

28. Purcell E. Antimicrobials. *Understanding Pharmacology in Nursing Practice*. 2019;147–165.
29. Gharbi M, Doerholt K, Vergnano S, Bielicki JA, Paulus S, Menson E, Riordan A, Lyall H, Patel SV, Bernatoniene J, Versporten A, Heginbothom M, Goossens H, Sharland M. ARPEC project Group members. Using a simple point-prevalence survey to define appropriate antibiotic prescribing in hospitalised children across the UK. *BMJ Open*. 2016;6(11):e012675.
30. http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/PSMR/mocova_studie/2011/mocova_studie_2011.pdf
31. http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/PSMR/mocova_studie/2016/Mocova_studie_ATB_rezistence_2016.pdf
32. Stapleton PJ, Landon DJ, McWade R, Scanlon N, Hannan MM, O’Kelly F, Lynch M. Antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* urinary isolates and comparison with antibiotic consumption data over 10 years, 2005–2014. *Ir. J. Med. Sci.* 2017;186,733–741.
33. Centrální koordinační skupina NAP ČR: Spotřeba antibiotik v České republice v letech 2008–2018 – 1. část. Farmakoterapeutické informace 1/2020; dostupné z <http://www.sukl.cz/sukl/2020>
34. Shannon KP, French GL. Validation of the NCCLS proposal to use results only from the first isolate of a species per patient in the calculation of susceptibility frequencies. *J Antimicrob Chemother.* 2002; 50(6):965–969.
35. Delport JA, Strikwerda A, Armstrong A, Schaus D, John M. MALDI-ToF short incubation identification from blood cultures is associated with reduced length of hospitalization and a decrease in bacteremia-associated mortality. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017;36(7):1181–1186.
36. <https://apps.szu.cz/earsnet/patogen.php>
37. Heginbothom ML, Magee JT, Bell JL, Dunstan FD, Howard AJ, Hillier SL, et al. Laboratory testing policies and their effects on routine surveillance of community antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother.* 2004;53(6):1010–1017.
38. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(3): 603–661.
39. Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(6): 1549–1555.
40. Tenover FC, et al. Characterization of a strain of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* widely disseminated in the United States. *J. Clin. Microbiol.* 2006;44:108–118.
41. Hatipoglu M, Mutluoglu M, Turhan V, Uzun G, Lipsky BA, Turk-DAY Study Group; Sevim E, Demiraslan H, Eryilmaz E, Ozuguz C, et al. Causative pathogens and antibiotic resistance in diabetic foot infections: A prospective multi-center study. *J. Diabetes Complicat.* 2016; 30:910–916.
42. Bassetti M, Righi E, Vena A, Graziano E, Russo A, Peghin M. Risk stratification and treatment of ICU-acquired pneumonia caused by multidrug-resistant/extensively drug-resistant/pandrug-resistant bacteria. *Curr Opin Crit Care.* 2018;24(5):385–393.

Dvojkombinace nebo trojkombinace antiretrovirotik?

S. SNOPKOVÁ, P. HUSA

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

SOUHRN

Snopková S, Husa P.: **Dvoj nebo trojkombinace antiretrovirotik?**

Od začátku éry antiretrovirové terapie (ART) je její mimořádný efekt z hlediska morbidity a mortality dáván do souvislosti s trojkombinační strategií léčby HIV, která byla řadu let vnímána jako konstantní paradigma. Epidemiologické studie v posledních deseti letech však jasně ukázaly, že při ART nedochází ke kompletní normalizaci všech biomarkerů, nadále perzistuje určitá míra systémové imunitní aktivity a zánětu, včetně dysfunkce endotelu. Všeobecně je akceptováno, že tyto patofyziologické procesy jsou příčinou non-AIDS onemocnění, která se u lidí s infekcí HIV klinicky manifestují průměrně o 10 let dříve, než u všeobecné HIV-negativní populace. Léčba HIV není eradikační, ale pouze inhibiční, s nezbytností pravidelného každodenního užívání léčiv. Tato skutečnost zvyšuje riziko kumulativního efektu vedlejších nežádoucích účinků a lékové toxicity. Díky ART bylo dosaženo podstatného prodloužení střední délky života infikovaných a předpokládá se, že v nadcházejících letech dojde k významnému nárůstu počtu pacientů s různými dalšími non-AIDS komorbiditami, které budou vyžadovat mnohočetnou medikaci. Zejména vyšší genetická bariéra nových generací léčiv a lepší bezpečnostní profil otevřely otázku účinnosti dvojkombinačních režimů se základním cílem snížit zátěž organismu počtem různých léčiv při zachování vysoké efektivity plně srovnatelné se stávající trojkombinační strategií. Není však zodpovězena otázka, zda duální režimy dokáží dostatečně potlačit perzistenci chronického zánětu a imunitní aktivity. K zodpovězení takové otázky je třeba robustních dat z rozsáhlých, dlouhodobých, prospektivních, randomizovaných studií, které zatím chybějí. V přehledovém článku je zmíněn princip systémové imunitní aktivity, jeho regenerační potenciál při ART, předpokládané příčiny vedoucí k systémové imunitní aktivitě, intervenční možnosti jeho ovlivnění a také limity dosavadních studií.

Klíčová slova: HIV, antiretrovirová terapie, imunitní aktivace, zánět, poměr CD4+/CD8+, latentní rezervoáry, duální léčba, non-AIDS nemoci

SUMMARY

Snopková S, Husa P.: **Dual or triple combination antiretrovirals?**

Since the beginning of the antiretroviral therapy (ART) era, its extraordinary effect in terms of morbidity and mortality has been linked to a three-drug combination HIV treatment strategy, which has been perceived as a constant paradigm for many years. However, epidemiological studies over the past decade have clearly shown that ART does not result in complete normalization of all biomarkers, and some degree of systemic immune activation and inflammation, including endothelial dysfunction, persist. It is generally accepted that these pathophysiological processes are the cause of non-AIDS diseases, which are clinically manifested in people living with HIV on average 10 years earlier than in the general HIV-negative population. HIV treatment is not eradicated but only inhibitive and requires regular daily medication. This increases the risk of the cumulative impact of side effects and drug toxicity. In addition, it is expected that there will be a significant increase in the number of patients with various other non-AIDS comorbidities that will require multiple medication in the coming years. In particular, the higher genetic barrier of the new generation of drugs and an improved safety profile have raised the question of the effectiveness of two-drug combination regimens with the fundamental goal of reducing the burden on the human body by different drugs while maintaining high efficacy fully comparable to the current three-drug combination strategy. However, the question of whether dual combination regimens can sufficiently suppress the persistence of chronic inflammation and immune activation remains unanswered. To answer such a question, robust data from large prospective randomized studies are needed, which are still lacking. This review discusses the principle of systemic immune activation, its regenerative potential in ART, the expected causes leading to systemic immune activation, intervention options to influence it, as well as the limitations of studies to date.

Keywords: HIV, antiretroviral therapy, immune activation, inflammation, CD4+/CD8+ ratio, latent reservoirs, dual therapy, non-AIDS diseases

Klin mikrobiol inf lék 2021;27(3):116–123

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

Došlo do redakce: 14. 8. 2021

Schváleno k tisku: 2. 11. 2021

Úvod

Mezi **největší úspěchy současné medicíny patří od roku 1996 antiretrovirová terapie (ART)**. Její mimořádný efekt a klinický benefit z hlediska signifikantního poklesu morbidity a mortality zařadily infekci lidským virem imunodeficiency (human immunodeficiency virus, HIV) do kategorie chronických onemocnění a zásadně změnil prognózu lidí žijících s HIV (people living with HIV, PLWH). Úspěch léčby byl připisován **trojkombinačním antiretrovirovým (antiretroviral, AR) režimům**, kterými bylo u většiny infikovaných dosaženo optimální virové suprese a signifikantního snížení vzniku rezistence [1,2]. Pro tyto revoluční skutečnosti byly trojkombinační režimy řadu let vnímány jako **konstantní paradigma** [3].

Virová replikace při ART klesá, u mnoha PLWH však **nedochází ke kompletní normalizaci** všech biomarkerů ani po letech virové suprese s adekvátní imunologickou odpovědí [1,4]. Nadále perzistuje určitá **míra systémové imunitní aktivity a zánětu, včetně dysfunkce endotelu** [5], která vede k patofyziologii tzv. „sterilního zánětu“ [6,7], a je společná pro poměrně rozsáhlou skupinu chorob, jako jsou kardiovaskulární onemocnění (KVO), dyslipidémie, inzulínová rezistence a diabetes 2. typu, tromboembolická nemoc, neurokognitivní dysfunkce, osteoporóza, chronická onemocnění jater a ledvin i některé nádory [3]. Tyto nemoci jsou u všeobecné populace typické pro stárnoucí organismus a vyšší věk. Epidemiologické studie ukazují, že u PLWH se tato onemocnění, souhrnně označována jako **non-AIDS nemoci** [3,5,8,9], vyskytují v signifikantně vyšší četnosti ve věkových kategoriích nejméně o 10 let mladších, než u HIV-negativních jedinců [10,11].

1 NRTI-šestřící režimy

Antiretrovirotika svojí intracelulární aktivitou ovlivňují nejzákladnější metabolické procesy a **vychylují přirozenou intracelulární homeostázu** [12]. Počátkem tisíciletí se předpokládalo, že dominantní vliv na vznik non-AIDS nemocí mají léčiva s AR aktivitou. Základ standardních AR režimů tvoří dva nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy (nukleoside reverse transcriptase inhibitor, NRTI) nebo jeden NRTI a jeden nukleotidový inhibitor reverzní transkriptázy (nucleotide reverse transcriptase inhibitor, NtRTI) a třetí aktivní léčivo ze skupiny nenukleosidových inhibitorů reverzní transkriptázy (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor, NNRTI), proteázových inhibitorů nebo integrázových inhibitorů (integrase strand transfer inhibitor, InSTI) [1,8]. Absolutně nejdéle a nejextenzivněji používanou skupinou léčiv jsou NRTI a NtRTI, které byly od počátku éry ART součástí všech léčebných režimů.

NRTI a NtRTI mají synergní a potencovaný efekt na supresi HIV. Současně jsou příčinou mitochondriální toxicity, která vede k mutaci mitochondriální DNA, nadprodukcii reaktivních forem kyslíku (reactive oxygen species, ROS) a poškození buněčných funkcí, jež vyústí v **modifikaci buněčného fenotypu**. Na povrchu buněk jsou exprimovány markery senescence [13], které zahájí sled reakcí, vedoucích ke klinické manifestaci projevů stárnoucího organismu a vyústí v apoptotickou buněčnou smrt [14,11]. Mitochondriální toxicita má velmi pravděpodobně také kauzální vztah k inhi-

bici aktivity telomerázy a zkracování telomer, koncových segmentů jaderných chromozomů, chránících integritu genomu. Zkracování telomer je jasnou známkou buněčného a biologického stárnutí. U pacientů užívajících ART byla zjištěna negativní korelace mezi délkou telomer a dobou expozice AR léčivům [15,16].

Vzhledem k těmto souvislostem se začátkem druhé dekády tohoto tisíciletí objevila nová kategorie AR režimů – tzv. NRTI-šestřící režimy, které byly prezentovány duální kombinací AR léčiv **bez zastoupení NRTI a NtRTI**. Duální režimy byly určeny pro pacienty, u kterých NRTI nebo NtRTI nebyly vhodné. Případalo to v úvahu zejména u pacientů starších, dlouhodobě léčených, u kterých se předpokládal vliv kumulativní délky expozice antiretrovirotikům, u pacientů s jinými závažnými chorobami či s mnohočetnou další medicací.

Klinické studie sledovaly účinnost a bezpečnost různých dvojkombinací, z nichž některé byly předčasně ukončeny (studie SPARTAN, RADAR, MODERN) pro nepřesvědčivé závěry [2,17]. Efektivita určitých typů kombinací však byla poměrně uspokojivá (studie VEMAN, PROGRESS, GARDEL), virové suprese dosahoval relativně vysoký počet pacientů a v jistých situacích byly aplikovatelné zejména u geriatrické populace [2,8]. Nicméně studie nebyly dostatečně rozsáhlé, dlouhodobé a většinou randomizované, takže větší expanze této léčebné strategie zaznamenána nebyla.

2 Dvojkombinace nových léčiv

Ve druhé polovině druhé dekády tohoto století byly zavedeny nové generace léčiv, zejména NNRT (rilpivirin, doravirin) a InSTI (dolutegravir, bictegravir, cabotagravir). Léčiva poslední generace mají nové mechanismy účinku, vykazují lepší farmakokinetické i farmakodynamické vlastnosti, vyšší bezpečnost, výhodnější dávkování, jsou lépe tolerována, mají podstatně vyšší genetickou bariéru pro vznik rezistence a řada z nich je schopna udržet svoji aktivitu v přítomnosti některých rezistentních mutací virových izolátů. Léčba infekce HIV-1 však **není eradikační, ale pouze inhibiční**. Její riziko spočívá v nezbytnosti absolutně pravidelného celoživotního každodenního užívání léčiv, které může být provázeno **kumulativním efektem vedlejších nežádoucích účinků a lékové toxicity** [2,3,5].

Zdokonalením léčby infekce HIV-1 bylo dosaženo podstatného prodloužení střední délky života PLWH. Ve všech věkových kategoriích je však **signifikantně vyšší riziko vzniku non-AIDS onemocnění**, které se zvyšuje s věkem a ve srovnání s všeobecnou populací stejného věku signifikantně vyšší četnost více komorbidit současně [9]. Matematicko-epidemiologický model z USA předpokládá, že do roku 2030 bude polovina léčených PLWH starších než 53 let a více než 25 % léčených bude ve věku nad 65 let [18]. Podle modelové studie ATHENA z Holandska bude v roce 2030 84 % PLWH léčeno pro více než jednu komorbiditu, z nichž převážná většina budou KVO [19].

Tyto skutečnosti vedly ke **znovuotevření otázky dvojkombinačních AR režimů** u naivních i léčených PLWH. Zejména vysoká genetická bariéra zabraňující snadnému vzniku obávané rezistence a pokles dlouhodobé zátěže organismu vyšším počtem různých léčiv jsou příslibem efektivit dvoj-

kombinací nové generace léčiv. V neposlední řadě se od této koncepce očekává nižší ekonomická nákladnost a celosvětově širší dostupnost ART [3,8].

V tomto roce byla publikována data rozsáhlé metaanalýzy, ve které bylo srovnáváno riziko selhání dvoj a trojkombinační léčby u naivních PLWH v intervalu 24, 48 a 96 týdnů. Do analýzy byly zařazeny výsledky studií, publikovaných v letech 2007–2020, kterých se účastnilo 5 205 pacientů. Bylo zjištěno, že ukončení léčby nebo nutnost její modifikace a virologické selhání bylo jak u pacientů léčebných dvojkombinací, tak u pacientů užívajících standardní trojkombinace, zcela srovnatelné. Rovněž nebyly zjištěny žádné signifikantní rozdíly v četnosti nežádoucích účinků či projevů toxicity [3].

Z hlediska kritéria virové suprese a tolerance jsou duální režimy léčiv poslední generace zcela srovnatelné s klasickými trojkombinacemi (studie GEMINI, LATTE, SWORD a další) [20,21]. Některé jsou již regulérní součástí doporučených postupů [1]. Podle italské databáze je nekonvenčními dvojkombinacemi s dosažením 95% virové suprese léčeno asi 25 % tamní geriatrické populace s infekcí HIV-1 [2].

Určité riziko představuje kategorie pacientů s počtem CD4+ lymfocytů < 200 bb/μl, pro které duální strategie není optimální [2,3,21]. Stejně tak pro pacienty s chronickou hepatitidou B, u kterých musí být současně zajištěna náležitá suprese viru hepatitidy B, jelikož riziko relapsu je vysoké. Duální ART není rovněž vhodná pro pacienty, u kterých byla zjištěna virová rezistence [1,2].

Dvojkombinace moderních antiretrovirotik provází velký optimismus a velká očekávání. Oficiální databáze registrovaných klinických studií clinicaltrials.gov aktuálně zaznamenává několik desítek nových studií. Zásadní nezodpovězenou otázkou však zůstává, zda duální strategie léčby HIV-1 dokáže dostatečně potlačit **perzistenci chronického zánětu a imunitní aktivace**. Několik let je všeobecně akceptováno, že právě tyto procesy jsou hlavní příčinou a predik-

tory **předčasného vzniku non-AIDS onemocnění u PLWH** [1,5,11,16,20].

3 Systémová imunitní aktivace

Progresivní úbytek CD4+ T lymfocytů je základní imunologickou charakteristikou infekce HIV-1 [5] a po řadu let byl imunologický stav hodnocen podle jejich absolutního počtu. Narušena je však celková homeostáza T buněčného kompartmentu [4,11,22].

Normální lidské lymfocyty mají omezenou dobu života a disponují omezeným počtem replikací. Akutní i chronická infekce HIV-1 je charakterizována rychlým obratem naivních i paměťových CD4+ a CD8+ T lymfocytů, jejichž poločas je nejméně 3× kratší, než u HIV-negativních jedinců [23]. Opakovanou **antigenní stimulací a klonální proliferací** T lymfocytů dochází k vyčerpání jejich proliferační kapacity a k akumulaci buněk, které jsou blízko svému „**replikačnímu limitu**“. Jakmile vyčerpají svůj proliferační potenciál, podobají se T lymfocytům ve stárnoucím organismu. Na svém povrchu exprimují charakteristické paměťové znaky (CCR7, CD4+5RO), znaky diferenciaci a přežití (CD127), znaky aktivace (HLADR+CD38+), senescence (CD28-CD57), exhausce (protein programované buněčné smrti PD-1), cytotoxický T-lymfocytární antigen CTLA-4, Ki-67 a další [11].

Imunitní aktivace je patofyziologicky neoddelitelně spjata s **chronickým zánětem a aktivací koagulace**. Tento fenomén bývá označován jako inflammaging, během něhož nastává remodelace imunitních funkcí a mezibuněčné komunikace, která vyústí ve změnu poměru Th1/Th2 ve **prospěch Th2** a změně sekrece některých cytokinů [14]. Klesá například tvorba IL-2 a IFN-γ, a naopak se zvyšuje tvorba prozánětlivých IL-1 β, IL-4, IL-6, IL-8, TNF-α a dalších. Inflammaging hraje významnou roli při iniciaci aterosklerotického procesu a jiných s věkem asociovaných patologií. Výkonnost imunologické kompetence přirozeně klesá s věkem. Klesá schopnost eliminovat infekční agens, infikované buňky či buňky na hranici maligní transformace [8,11].

Poměr CD4+/CD8+ je marker podstatně robustnější, stabilnější a z prognostického hlediska má globálně vyšší výpovědní i prediktivní hodnotu [4,24]. Představuje rovnováhu mezi CD4+ a CD8+ T lymfocyty, které jsou ve své funkci velmi destruktivní. K jejich expanzi dochází již v době akutní infekce HIV-1, kdy se hodnota poměru CD4+/CD8+ snižuje. U řady pacientů přetrvává expanze cirkulujících CD8+ lymfocytů a jejich počet není normalizován i přes farmakologickou supresi replikace HIV-1 ani po více letech léčby, jelikož během chronické infekce HIV-1 je **proliferační kapacita CD4+ lymfocytů významně narušena** v důsledku chronické imunitní aktivace, exhausce a destrukce lymfoidní tkáně [11,16,25]. Většina těchto expandovaných CD8+ lymfocytů jsou **vyzrálé efektorové buňky**, které jsou schopny uvolňovat zánětlivé cytokiny, modifikovat buněčné funkce a jejich fenotyp [26].

Vysoký počet CD8+ lymfocytů s nižším počtem CD4+ lymfocytů je charakteristickým znakem **imunosenescence** a je nezávislý prediktor všech příčin mortality. Hodnota poměru CD4+/CD8+ < 1,00 je detekována téměř u všech PLWH, kteří nejsou adekvátně léčeni a zůstává nízká u významné části pacientů, kteří po zahájení ART dosáhnou vi-

Obr. 1

Vztah chronické imunitní aktivace/zánětu/aktivace koagulace a non-AIDS onemocnění



Legenda: KVO – kardiovaskulární onemocnění; DLP – dyslipidémie, DM – diabetes mellitus; IR – inzulinová rezistence

rové suprese a regenerace s přiměřeným vzestupem počtu CD4+ lymfocytů. Je neklamnou známkou **perzistence imunitní aktivace/zánětu a senescence** [5,8,27]. U PLWH **fenotyp korelující s fenotypem stárnutí** spustí kaskádu reakcí, které vedou k předčasnému vzniku a klinické manifestaci non-AIDS nemocí (*obr. 1*) [8,11].

U všech typů non-AIDS onemocnění byla prokázána velmi silná a robustní závislost mezi nízkým poměrem CD4+/CD8+ a non-AIDS morbiditou a mortalitou [28]. Tato závislost byla podstatně vyšší, než u CD4+ lymfocytů (včetně jejich nadiru), jejichž absolutní počet zejména při vyšších hodnotách vykazuje poměrně vysokou míru variability [29]. Experimentální studie na zvířatech ukazují, že **progresi nemoci spíše predikuje imunitní aktivace než intenzita replikace HIV-1** [11]. Již počátkem pandemie AIDS starší studie deklarovaly, že mortalitu na AIDS silněji predikují aktivované CD8+ lymfocyty než počet kopií RNA HIV-1 v plazmě [30].

Specifickou kategorií mezi PLWH jsou **elitní kontroloři**. Z hlediska virologických, imunologických i klinických projevů jde o velmi heterogenní skupinu jedinců, jejichž imunitní systém (nejspíše díky určité evoluční výhodě) je schopen svým vlastním supresivním tlakem udržet v lymfatické tkáni velmi nízkou úroveň virové replikace při absenci ART. Přesto u řady z nich časem dochází k manifestaci AIDS i non-AIDS onemocnění. Bylo prokázáno, že tato progresie je důsledkem bazální imunitní aktivace, která je významně vyšší než u neinfikovaných [11,31].

4 Regenerační potenciál poměru CD4+/CD8+

Obecně se uvádí, že asi tři čtvrtiny PLWH dosáhnou v průběhu léčby normální hodnoty počtu CD4+ lymfocytů, ale pouze 1/3 normálního poměru CD4+/CD8+ [32]. V několika studiích bylo u léčených pacientů prokázáno, že CD8+ lymfocyty dokonce při vysokém poměru CD4+/CD8+ a při počtu CD4+ lymfocytů < 500 bb/μl exprimují známky aktivace, senescence a exhausce [33]. Jak dlouho a do jaké míry je při virové supresi možná imunologická regenerace a zvyšování poměru CD4+/CD8+, zůstává otázkou.

Byly publikovány závěry několika observačních studií, které říkají, že za určitých okolností může být u léčených PLWH jeho nízká hodnota schopna jisté míry regenerace i po více než deseti letech léčby. Během sledování nebylo dosaženo plateau, což předpokládá, že určité zvyšování poměru CD4+/CD8+ může kontinuálně pokračovat. Jiné studie naopak ukazují na pravděpodobný limit, který již není v dalším průběhu překročen [34].

Prospektivní observační studie u 3 236 účastníků uvádějí, že medián poměru CD4+/CD8+ před zahájením ART byl 0,39. Normalizace této hodnoty byla 4,4 %, 11,5 % a 29,4 % za 1, 2 a 5 let od zahájení léčby. Vyšší pravděpodobnost měli pacienti s vyšším počtem CD4+ lymfocytů a vyšším poměrem CD4+/CD8+ před léčbou a s absencí protilátek proti CMV [34,35]. Jiná studie dokumentuje po zahájení léčby postupný nárůst poměru CD4+/CD8+ s dosažením maximální hodnoty $0,94 \pm 0,37$ po 9 letech expozice ART [36].

Před několika lety jsme u 123 PLWH léčených ART měřili hodnoty mikropartikulí, které jsou považovány za nové perspektivní biomarkery zánětu a identifikují změny již v čas-

ných stadiích, kdy se ještě neprojevívají v základních screeningových testech. V rámci této studie byl mimo jiné zjišťován vývoj hodnot CD4+ lymfocytů a poměru CD4+/CD8+. Při stratifikaci pacientů podle délky léčby výsledky ukázaly, že medián počtu CD4+ lymfocytů > 500 bb/μl byl dosažen v kategorii léčené 1–3 roky, zatímco poměr CD4+/CD8+ > 1,00 byl zjištěn v kategorii léčené 6–9 let. Z naší analýzy i při rozdělení pacientů podle jiných kritérií vyplynulo, že regenerace imunitní dysfunkce, vyjádřená poměrem CD4+/CD8+, je mnohem komplexnější a vyžaduje podstatně delší časový interval, než regenerace absolutního počtu CD4+ lymfocytů [37].

Výpovědní hodnotu poměru CD4+/CD8+ může do jisté míry snižovat skutečnost, že k jejímu zvýšení dochází při samotném nárůstu počtu CD4+ lymfocytů po zahájení ART, aniž by došlo k poklesu CD8+ lymfocytů. Studie u 109 PLWH prokázala, že počet CD8+ lymfocytů zůstal stejný i po 10 letech léčby. Perzistence expandovaného kompartmentu CD8+ lymfocytů současně nesla charakteristiky imunitní senescence a exhausce [36].

5 Příčiny systémové imunitní aktivace

Většina léčených PLWH v mnoha případech **nejevívá klinické známky imunodeficitu**, ale typicky **prezentuje abnormální stupeň imunitní aktivace**, která indikuje akceleraci imunologického stárnutí. Perzistuje nízký poměr CD4+/CD8+ přesto, že je dosaženo úplné virové suprese a často optimální regenerace počtu CD4+ lymfocytů [36]. Imunitní aktivace, zánět s expresí prozánětlivých cytokinů a aktivace koagulační kaskády jsou charakteristické pro neléčenou infekci HIV-1. Při ART nastává poklesu jen částečný a fyziologických hodnot není dosaženo u mnoha biomarkerů [11]. Příčiny tohoto fenoménu jsou předmětem rozsáhlého základního i aplikovaného výzkumu a stovek různých studií.

5.1 Perzistující virémie HIV-1 ve tkáních a rezervoárech

Lymfoidní tkáň představuje během akutní infekce HIV-1 klíčový rezervoár pro virové partikule a jeho genom [38]. Již v prvních týdnech infekce, během iničiální diseminace viru v organismu, kdy virémie dosahuje peak, vzniká **pool latentně infikovaných paměťových CD4+ lymfocytů**, který má extrémně dlouhý poločas [25].

Jakmile je integrována RNA HIV-1 ve formě provirové DNA do genomu hostitelské buňky, neindukuje latentně infikovaný rezervoár buněk na svém povrchu expresi virových antigenů a imunitním systémem není virové agens rozpoznáno. V několika studiích byla zjištěna korelace mezi velikostí rezervoáru a počtem CD8+ lymfocytů [39]. Více než 90 % provirů je defektních a až 56 % z nich je schopno kontinuální nízké intenzity virové replikace, která není detekovatelná v periferní krvi. Produkované virové antigeny jsou zdrojem chronické imunitní aktivace [40,41,42]. Antiretrovirovitéky je tento latentní rezervoár zcela nedotknutelný, je největší překážkou léčby a představuje hlavní bariéru možné eradikace [25,38]. Předpokládá se, že tento pool je 40–50× větší, než se původně odhadovalo, tvoří jej 10^6 – 10^8 latentně infikovaných buněk [40], které podléhají **klonální expanzi** a jejich počet se postupně zvyšuje [25]. Kompart-

ment krevních elementů obsahuje přibližně pouze 2 % všech lymfocytů, které jsou v lidském těle a mohou být infikovány HIV-1. Kromě toho jsou během supresivní léčby vytvářeny další **heterogenní tkáňové rezervoáry**, včetně non-CD4+ lymfocytů, makrofágů [41] a dosud neidentifikovaných buněk, které obsahují virový genom a jsou schopny generovat nové virové partikule [43].

Reziduální produkce RNA HIV-1 nebo virových proteinů infikovanými buňkami vede k aktivaci vrozené i získané imunity, zánětu, stimulaci prokoagulační aktivity [25] a je považována za hlavní **příčinu perzistence imunitní aktivity a systémového zánětu, včetně dysfunkce endotelu** [5,8,11,25]. Sekrece prozánětlivých cytokinů narušuje fyziologickou stimulaci endoteliálních progenitorových buněk z kostní dřeně a na povrchu buněk cévního endotelu v různých orgánech zvyšuje expresi adhezivních molekul na jejich povrchu (např. ICAM-1, VCAM-1, P-selektin, E-selektin). Dochází k poškození cévního endotelu a jeho dysfunkci, které v dlouhodobém horizontu vyústí v klinickou manifestaci zánětlivých stavů kardiovaskulárního (KV) i nekardiovaskulárního charakteru [10,11].

5.2 Mikrobiální translokace ze střevního lumen do systémového oběhu

Reziduální produkce RNA HIV-1 nebo virových proteinů se podílí na přetrvávání gastrointestinálního zánětu, oslabení funkční bariéry střevní sliznice a translokaci mikrobiálních produktů ze střevního lumen do systémového oběhu [16,44,45].

Suficientní střevní sliznice se vyznačuje těsnými spoji mezi buňkami epitelu a vzájemně vysoce regulovaným komplexem dendritických buněk, makrofágů, neutrofilů a T lymfocytů. Tento buněčný systém generuje protektivní sekret, antimikrobiální peptidy a protilátky. Udržuje fyziologické složení střevní mikrobioty a systémová expozice mikroby a mikrobiálními produkty je omezená [11,46].

Jeden z klíčových momentů časné infekce HIV-1 je **slizniční zánět, masivní poškození těsné epiteliální bariéry gastrointestinálního traktu (GIT) a masivní deplece CD4+ buněk v lymfatické tkáni střeva**, která plně neregeneruje ani při supresivní ART [16]. Ultrasenzitivními metodami bývá HIV-1 detekován v lymfatických uzlinách i ve sliznici střeva u většiny pacientů, kteří užívají ART a udržují konstantně plazmatickou virovou supresi [45]. Antiretrovirotika vedou jen k částečné reparaci a regeneraci některých funkčních změn střevního epitelu. Deplece CD4+ lymfocytů v lymfatické tkáni střeva trvá, i když se zvyšuje jejich počet v systémové cirkulaci. Tyto lymfocyty typicky exprimují na svém povrchu **paměťový fenotyp a koreceptor CCR5**, hlavní koreceptor pro vstup HIV-1 do buňky, což je pravděpodobně důvod, proč HIV-1 selektivně zacílí přednostně na tuto buněčnou populaci [11]. Vyústěním je alterace exprese genů, které determinují funkci GIT bariéry [16,45]. U PLWH studie ukazují zvýšenou apoptózu enterocytů v tenkém střevě a sníženou expresi proteinů, které udržují těsné mezibuněčné spoje sliznice tlustého střeva [16].

HIV-1 narušuje zřejmě všechny obranné složky – těsné mezibuněčné spoje, funkční koordinaci imunitních buněk i optimální složení střevní mikrobioty. Poškozená integrita

střevního epitelu, zhroucení obranných mechanismů a následná **střevní dysbióza** nepříznivě ovlivní slizniční zánět, umožní mikrobiální translokaci ze střevního lumen do systémového řečiště a stimuluje imunitní aktivaci, systémový zánět a aktivuje koagulační kaskádu [11,16,45,46]. Studie u lidí a hlodavců ukazují, že střevní dysbióza akceleruje mnoho běžných chronických onemocnění, včetně aterosklerózy, metabolických onemocnění, neurodegenerativních chorob a dalších [11,16]. Pravděpodobný vliv dysbiózy na akceleraci různých chorob podporuje pozorování u **elitních kontrolorů HIV-1**, kteří mají podstatně vyšší diverzitu střevní mikrobioty, než PLWH léčení ART. Složení jejich mikrobioty se velmi podobá složení u HIV-negativní zdravé populace [11].

Podle závěrů některých studií je možné, že složení střevní mikrobioty může být ovlivněno některými antiretrovirotiky či skupinami antiretrovirotik [47].

5.3 Koinfekce

Trvalým zdrojem antigenů a aktivace receptorů imunitního systému jsou rovněž současné koinfekce jinými infekčními agens [5]. Vztah mezi chronickou infekcí cytomegalovirem (CMV) a KVO byl prokázán již před řadou let. CMV je příčinou nejméně 10 % celkového počtu cirkulujících paměťových T buněk u zdravých CMV-séropozitivních HIV-negativních jedinců a pravděpodobně ještě vyššího počtu u léčených PLWH.

Chronická infekce CMV, virem Epsteina-Barrové nebo infekce virem hepatitidy B či C je u PLWH běžná a její vliv na chronickou imunitní aktivaci je spíše jistý [11]. Viry jsou přísně biotropní intracelulární parazité, jejich replikace narušuje homeostázu recipientní buňky a jsou pravděpodobně schopny měnit její přirozené funkční vlastnosti. Obdobný vztah může být i u jiných patogenů.

5.4 Antiretrovirotika

Experimentální práce ukazují, že vliv AR léčiv na imunitní aktivaci je rovněž pravděpodobný. V prostředí některých antiretrovirotik byla prokázána inhibice antioxidantních enzymů, která podporuje akumulace ROS a následnou expresi senescentního buněčného fenotypu, včetně buněk endotelu [48]. Rovněž byl například prokázán vliv virových proteinů gp 120, Tat a Nef HIV-1, které mohou být derivovány při supresivní ART, na vyšší expresi E-selektinu a adhezivních molekul, ROS, indukci apoptózy a akceleraci endotelové dysfunkce [49].

Celková intenzita a míra přetrvávající stimulace imunitního systému/zánětu a potenciál její regenerace je na různých úrovních výsledkem velkého množství synergických, vzájemně se potencujících a ovlivňujících faktorů, modifikovaných věkem, dobou primární infekce HIV, nadírem CD4+ lymfocytů, dobou zahájení ART a jejím složením, životním stylem, vlivy prostředí a socioekonomickými ukazateli s významným vlivem genetické predispozice [22,50].

6 Intervence k ovlivnění imunitní aktivity/zánětu

Studie, které byly zaměřeny na možnosti intervenčního ovlivnění relevantních známek imunitní aktivity/zánětu in-

tenzifikací AR režimů nebo změnou jejich složení, nebyly úspěšné. Klinický benefit nebyl prokázán ani v případech podání IL-2, který stimuluje proliferaci paměťových T lymfocytů [1,51], probiotik či imunomodulátorů [11]. Pozitivní efekt na hladinu biomarkerů imunitní aktivace/zánětu a pokles KV rizika u všeobecné populace byl prokázán při léčbě statiny. V současné době probíhá randomizovaná multicentrická studie REPRIEVE, do které je zařazeno 7 770 pacientů s infekcí HIV-1. Cílem studie je zjistit, zda pitavastatin vykazuje u PLWH podobně pozitivní efekt, jako u HIV-negativních. První výsledky jsou očekávány v roce 2023 [1,52]. Jelikož v současné době nejsou k dispozici žádné možnosti účinné intervence, pravidelný monitoring markerů zánětu/imunitní aktivace není tématem žádných odborných doporučení [1].

Nejefektivnějším způsobem, jak minimalizovat imunitní aktivaci, je **včasně zahájení ART** [1,22]. Míra regenerace imunitního systému a počtu CD4+ lymfocytů je v přímé korelaci s jejich počtem v době zahájení léčby. Většina biomarkerů zánětu klesá během prvních několika měsíců a určité stabilizace dosáhne za 1–2 roky expozice ART. Ve studii START byl u kategorie pacientů s okamžitým zahájením léčby po stanovení diagnózy HIV-1 prokázán rychlejší a významnější pokles markerů zánětu ve srovnání s pacienty, u nichž bylo zahájení léčby odloženo [1].

V naší nedávné studii, do které bylo zařazeno 213 pacientů s infekcí HIV-1, byla zjištěna vysoce pozitivní korelace mezi počtem CD4+ lymfocytů a hodnotou poměru CD4+/CD8+. Závěr také jasně podporuje co nejrychlejší zahájení ART při co nejvyšším počtu CD4+ lymfocytů.

Experimentální data ukazují, že již během akutní infekce HIV-1 imunitní systém v jistém smyslu předurčuje vývoj a charakter svého fenotypu v dalším období. Během akutní infekce je vytvářen rezervoár latentně infikovaných buněk, jehož iniciální velikost predikuje primární virémie. Včasná iniciace ART může jeho velikost a rozsah ovlivnit. Stejně tak může snížit rychlost obratu CD4+ a CD8+ lymfocytů, zabránit jejich rychlé exhauci a ochránit homeostázu lymfatické tkáně různých orgánů včetně GIT a snížit mikrobiální translokaci udržením integrity střevního epitelu [11].

7 Limity studií

Regenerační kapacita lidského imunitního systému je velmi komplexní a individuální a dosud nemáme žádnou spolehlivou metodu, která by byla schopna tento parametr predikovat a kvantifikovat [36,53]. Není jednoznačný konsenzus, který biomarker nejlépe vyjadřuje míru rizika imunitní aktivace/zánětu, protože **prediktivní síla různých sledovaných biomarkerů není obvykle jednoznačná**. Nejsou zjišťovány korelace mezi různými parametry, ani výpočty pravděpodobnosti [8]. Bylo by třeba detekovat „**ideální biomarker**“ – jednoduchý, snadno dostupný, opakovatelný, ekonomicky nenáročný s vysokou prediktivní silou, podle které by byla možná identifikace, stratifikace a kvantifikace. Při komplexních patofyziologických procesech je nalezení takového biomarkeru velmi problematické a složité.

Hodnota **poměru CD4+/CD8+ je excelentní marker imunitní aktivace** a dysregulace, který reflektuje expresi fenotypu imunosenescence a může indikovat potenciální riziko.

Jde však o **marker robustní**, který vyjadřuje **komplexní dlouhodobý vliv mnoha různých faktorů**, jejichž reálná síla je určena vzájemnou interakcí a individuální genetickou predispozicí. Studie, sledující hodnotu poměru CD4+/CD8+ lymfocytů, jsou zatím zcela ojedinělé [5,8]. Ve studiích není přesně stanovena jeho cut-off hodnota, která je udávána v rozmezí 0,8–1,5. Počet zastoupených pacientů je obvykle nízký, studie mají observační design, který stejně jako retrospektivní analýzy je schopen poskytnout závěry s omezenou výpovědní hodnotou.

Počet studií, sledujících změnu parametrů imunitní aktivace/zánětu po přechodu z klasických trojkombinací AR léčiv na dvojkombinace je zatím minimální. V pilotní studii TRILOBITHE u 49 pacientů ve 24. a 48. týdnu byly zjišťovány změny některých parametrů zánětu a imunitní aktivace v periferní krvi. Žádné signifikantní změny zjištěny nebyly, u některých došlo dokonce k určitému zlepšení [21]. Ve studii ATLAS byla ve 48. týdnu zjišťována intracelulární hladina provirové DNA HIV-1 u kategorie PLWH léčených dvojkombinací a kategorie s trojkombinací AR léčiv. Mezi oběma režimy nebyly zjištěny žádné signifikantní změny. Ve studii nebyly hodnoceny změny imunologického profilu a zánětu. Jiná studie hodnotila změnu poměru CD4+/CD8+. Bylo zjištěno, že při duální ART bylo zvýšení menší než při standardní trojkombinaci [8].

Pro možné posouzení vlivu jednotlivých AR režimů na imunitní aktivaci/zánět je nutné, aby kategorie pacientů byly co nejvíce homogenní, početné, měly srovnatelná demografická data, včetně výchozího počtu CD4+ lymfocytů atd. Vezmeme-li v úvahu, že imunologická regenerace po zahájení ART je dlouhodobý proces, jehož maxima a určité homeostázy bývá dosaženo až po více letech léčby, studie musí být dostatečně dlouhodobé, během níž by byl také zjišťován vliv AR léčby na rezervoáry HIV-1 [5,21].

Závěr

Imunitní systém u PLWH léčených ART není schopen dosáhnout takové regenerace, při které by došlo nejen ke zvýšení počtu CD4+ lymfocytů, ale současně také k normalizaci a obnovení fyziologické homeostázy T-buněčného kompartmentu. Centrum výzkumu patogeneze infekce HIV-1 je v posledních několika letech soustředěno na imunitní aktivaci a systémový zánět. Prioritní role je v tomto kontextu připisována vlastnímu HIV-1 a jeho perzistenci v latentních tkáňových rezervoárech. Nové generace antiretrovirotik vybízejí k určité modifikaci a simplifikaci dosavadních léčebných režimů. Odborné názory na možnost redukce počtu aktivních léčiv v rámci AR režimů však nejsou jednotné. Duální režimy jsou spojeny s představou nižší dlouhodobé zátěže organismu a toxicity, klasické trojkombinace s vyšším supresivním tlakem léčiv. Ani pro jeden z těchto názorových směrů momentálně nemáme žádné jednoznačně přesvědčivé důkazy v intencích evidence based medicine.

Pro kvalifikovanou odpověď na otázku, zda dvojkombinace antiretrovirotik jsou schopny plnohodnotně nahradit standardní trojkombinační režimy, zda v dlouhodobém horizontu mnoha let dokáží udržet vysoký supresivní tlak, při kterém nedojde k akceleraci imunitní aktivace a zánětu, je třeba robustních dat z rozsáhlých prospektivních randomi-

zovaných studií, která v současné chvíli chybí a budou možná důvodem k zásadní změně dosavadních léčebných strategií v terapii infekce HIV-1.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).

Literatura

- Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents Living with HIV. June 3, 2021. Developed by the DHHS Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents – A Working Group of the Office of AIDS Research Advisory Council (OARAC). Available from: <https://clinicalinfo.hiv.gov/sites/default/files/guidelines/documents/AdultandAdolescentGL.pdf>
- Soriano V, Fernandez-Montero JV, Benitez-Gutierrez L, et al. Dual antiretroviral therapy for HIV infection. *Expert Opin Drug Saf.* 2017; 16(8):923–932. doi: 10.1080/14740338.2017.1343300.
- Pisaturo M, Onorato L, Russo A, et al. Risk of failure in dual therapy versus triple therapy in naive HIV patients: systematic review and meta-analyses. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27(1):28–35.
- Yang X, Su B, Zhang X, Liu Y, Wu H. Incomplete immune reconstitution in HIV/AIDS patients on antiretroviral therapy: challenges immunological non-responders. *J Leukoc Biol.* 2020;107(4):597–612.
- Van Welzen BJ, Oomen PGA, Hoepelman AIM. Dual antiretroviral therapy – all quiet beneath the surface? *Front Immunol.* 2021; [cited 2021 Jul 21]; Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.637910>.
- Reis EC, Leal VNC, da Silva LT, et al. Antagonistic role of IL-1 β and NLRP3/IL-18 genetics in chronic HIV-1 infection. *Clin Immunol.* 2019;209:108266. Available from: doi: 10.1016/j.clim.2019.108266.
- Steven S, Frenis K, Oelze M, et al. Vascular inflammation and oxidative stress: major triggers for cardiovascular disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;(7092151):pp.26 Available from: <https://doi.org/10.1155/2019/7092151>.
- Quiros-Roldan E, Magro P, Raffetti E, et al. Biochemical and inflammatory modifications after switching to dual antiretroviral therapy in HIV-infected patients in Italy: a multicenter retrospective cohort study from 2007 to 2015. *BMC Infect Dis.* 2018;18(1):285. Available from: doi: 10.1186/s12879-018-3198-2.
- Gallant J, Hsue PY, Shreay S, Meyer N. Comorbidities among US patients with prevalent HIV infection – a trend analysis. *J Inf Dis.* 2017; 216(12):1525–1533.
- Silva M, Videira PA, Sackstein R. E-selectin ligands in the human mononuclear phagocyte system: implications for infection, inflammation, and immunotherapy. *Front Immunol.* 2018;8:1878. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01878>.
- Sokoya T, Steel HC, Nieuwoudt M, Rossouw TM. HIV as a cause of immune activation and immunosenescence. *Mediators Inflamm.* 2017;2017(6825493):pp.16. Available from: <https://doi.org/10.1155/2017/6825493>.
- Appay V, Sauce D. Assessing immune aging in HIV-infected patients. *Virulence.* 2017;8(5):529–538.
- Wiley CD, Velarde MC, Lecot P, et al. Mitochondrial dysfunction induces senescence with a distinct secretory phenotype. *Cell Metab.* 2016;23(2):303–314.
- Nasi M, De Biasi S, Gibellini L, et al. Aging and inflammation in patients with HIV infection. *Clin Exp Immunol.* 2017;187(1):44–52.
- Minami R, Takahama S, Yamamoto M. Correlates of telomere length shortening in peripheral leukocytes of HIV-infected individuals and association with leukoaraiosis. *PLoS ONE.* 2019;14(6):e0218996. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218996>.
- Zicari S, Sessa L, Cotugno N, et al. Immune activation, inflammation, and non-AIDS co-morbidities in HIV-infected patients under long-term ART. *Viruses.* 2019;11(3):200. Available from: <https://doi.org/10.3390/v11030200>.
- Uchitsubo I, Masuda J, Akazawa T, et al. Nucleos(t)ide reverse transcriptase inhibitor-sparing regimens in the era of standard 3-drug combination therapies for HIV-1 infection. *Glob Health Med.* 2020; 2(6): 384–387.
- Pebody R. By 2030, a quarter of people taking HIV treatment in the US will be over 65 and most will have multiple health concerns. 3/8/2021; Available from: <https://www.aidsmap.com/news/mar-2021/2030-quarter-people-taking-hiv-treatment-us-will-be-over-65-and-most-will-have>.
- Smit M, Brinkman K, Geerlings S, et al. Future challenges for clinical care of an ageing population infected with HIV: a modelling study. *Lancet Infect Dis.* 2015;15(7):810–818.
- Serrano-Villar S, Moreno S. Changes in inflammatory biomarkers in SWORD-1 and SWORD-2 studies. *Lancet HIV.* 2020;7(3):e158–e159. Available from: doi: 10.1016/S2352-3018(20)30028-X.
- Vallejo A, Molano MC, Monsalvo-Hernando M, Hernandez-Walias F, Fontecha-Ortega M, Casado JL. Switching to dual antiretroviral regimens is associated with improvement or no changes in activation and inflammation markers in virologically suppressed HIV-1-infected patients: the TRILOBITHE pilot study. *HIV Med.* 2019;20(8):555–560.
- Li CX, Li YY, He LP, et al. The predictive role of CD41 cell count and CD4/CD8 ratio in immune reconstitution outcome among HIV/AIDS patients receiving antiretroviral therapy: an eight-years observation in China. *BMS Immunol.* 2019;20:31. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12865-019-0311-2>
- Vrisekoop N, Drylewicz J, Van Gent R, et al. Quantification of naive and memory T-cell turnover during HIV-1 infection. *AIDS.* 2015; 29(16):2071–2080.
- Hoffmann C. ART 2015/2016. In: Hoffmann C, Rockstroh JK. HIV 2015/2016. Hamburg: Medizin Fokus Verlag 2015; pp. 250–257.
- Liu R, Simonetti FR, Ho YC. The forces driving clonal expansion of the HIV-1 latent reservoir. *Virology.* 2020;17:4. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1276-8>.
- Pannus P, Vanham G. Viral inhibitory activity of CD8+ T cells in HIV infection. *AIDS Rev.* 2019;21(3):115–125.
- Monsalvo M, Vallejo A, Fontecha M, et al. CD4/CD8 ratio improvement in HIV-1-infected patients receiving dual antiretroviral treatment. *Int J STD AIDS.* 2019;30:656–662.
- Pandiyar P, Younes SA, Ribeiro SP, et al. Mucosal regulatory T cells and T helper 17 cells in HIV-associated immune activation. *Front Immunol.* 2016;7:228. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00228>.
- Castilho JL, Shepherd BE, Koethe J, et al. CD4+/CD8+ ratio, age, and risk of serious noncommunicable diseases in HIV-infected adults on antiretroviral therapy. *AIDS.* 2016;30(6):899–908.
- Tiberio PJ, Ogbuagu OE. CD8 T-cell lymphocytosis and associated clinical syndromes in HIV-infected patients. *AIDS Rev.* 2015;17(4): 202–211.
- Navarrete-Muñoz MA, Restrepo C, Benito JM, Rallón N. Elite controllers: a heterogeneous group of HIV-infected patients. *Virulence.* 2020;11(1):889–897. doi: 10.1080/21505594.2020.1788887
- Caby F. CD4+/CD8+ ratio restoration in long-term treated HIV-1-infected individuals. *AIDS.* 2017;31(12):1685–1695.
- Eberhard JM, Ahmad F, Hong HS, et al. Partial recovery of senescence and differentiation disturbances in CD8+ T cell effector-memory cells in HIV-1 infection after initiation of ART. *Clin Exp Immunol.* 2016;182(2):227–238.
- Bruno G, Saracino A, Monno L, Angarano G. The revival of an „old“ marker: CD4/CD8 ratio. *AIDS Rev.* 2017;19(2):81–88.
- Mussini C, Lorenzini P, Cozzi-Lepri A, et al. CD4/CD8 ratio normalisation and non-AIDS-related events in individuals with HIV who achieve viral load suppression with antiretroviral therapy: an observational cohort study. *Lancet HIV.* 2015;2(3):e98–106. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26424550>.
- Lu W, Mehraj V, Vyboh K, Cao W, Li T, Routy JP. CD4:CD8 ratio as a frontier marker for clinical outcome, immune dysfunction and viral reservoir size in virologically suppressed HIV-positive patients. *J Int AIDS Soc.* 2015;18:20052. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4486418/>.
- Snopkova S, Matyskova M, Havlickova K, et al. Increasing procoagulant activity of circulating microparticles in patients living with HIV. *Med Mal Infect.* 2020;50(7):555–561.
- Dash PK, Kaminski R, Bella R, et al. Sequential LASER ART and CRISPR treatments eliminate HIV-1 in a subset of infected humanized mice. *Nat Commun.* 2019;10(1):2753. doi: 10.1038/s41467-019-10366-y.
- Zhang LX, Jiao YM, Zhang C, et al. HIV reservoir decay and CD4 recovery associated with high CD8 counts in immune restored patients on long-term ART. *Front Immunol.* 2020;11:1541. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01541>.

40. Bruner KM, Wang Z, Simonetti FR, et al. A quantitative approach for measuring the reservoir of latent HIV-1 proviruses. *Nature*. 2019; 566(7742):120–125.
41. Ahlenstiel CL, Symonds G, Kent SJ, Kelleher AD. Block and lock HIV cure strategies to control the latent reservoir. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:424. Available from: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00424>.
42. Hosmane NN, Kwon KJ, Bruner KM, et al. Proliferation of latency infected CD4+ T cells carrying replication-competent HIV-1: potential role in latent reservoir dynamics. *J Exp Med*. 2017;214(4):959–972.
43. Sengupta S, Siliciano RF. Targeting the latent reservoir for HIV-1. *Immunity*. 2018;48(5):872–895.
44. Gootenberg DB, Paer JM, Luevano JM, Kwon DS. HIV-associated changes in the enteric microbial community: potential role in loss of homeostasis and development of systemic inflammation. *Curr Opin Infect Dis*. 2017;30(1):31–43.
45. Nou E, Lo J, Grinspoon SK. Inflammation, immune activation, and cardiovascular disease in HIV. *AIDS*. 2016;30(10):1495–1509.
46. Alzahrani J, Hussain T, Simar D, et al. Inflammatory and immunometabolic consequences of gut dysfunction in HIV: parallels with IBD and implications for reservoir persistence and non-AIDS comorbidities. *EBioMedicine*. 2019;46:522–531.
47. Ancona G, Merlini E, Tincati C, et al. Long-term suppressive cART is not sufficient to restore intestinal permeability and gut microbiota compositional changes. *Front Immunol*. 2021;12:639291. Available from: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.639291>
48. Musisi E, Matovu DK, Bukenya A, et al. Effect of anti-retroviral therapy on oxidative stress in hospitalized HIV infected adults with and without TB. *Afri Health Sci*. 2018;18(3):512–522.
49. Hijmans JG, Stockelman KA, Garcia V, et al. Circulating microparticles are elevated in treated HIV-1 infection and are deleterious to endothelial cell function. *J Am Heart Assoc*. 2019;8:e011134. Available from: <https://doi.org/10.1161/JAHA.118.011134>.
50. D'Ettore G, Ceccarelli G, Pavone P, Vittozzi P, De Girolamo G, Schietroma I, et al. What happens to cardiovascular system behind the undetectable level of HIV viremia? *AIDS Res Ther*. 2016;13:21. Available from: <https://aidsrestherapy.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12981-016-0105-z>.
51. Abbas AK, Trotta E, R Simeonov D, Marson A, Bluestone JA. Revisiting IL-2: biology and therapeutic prospects. *Sci Immunol*. 2018; 3(25): eaat1482. available from: <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aat1482>.
52. Evaluating the Use of Pitavastatin to Reduce the Risk of Cardiovascular Disease in HIV-Infected Adults (REPRIEVE); Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02344290>.
53. Di Biagio A, Ameri M, Sirello D, et al. Is it still worthwhile to perform quarterly cd4+ t lymphocyte cell counts on HIV-1 infected stable patients? *BMC Inf Dis*. 2017;17(1):127. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5294769/>.

Stručné pokyny pro autory

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tabulka: Přehled jednotlivých typů sdělení

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