

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
Doc. RNDr. Jarmila Jelínková, CSc.
Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, Praha
Prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.
Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. LF UK v Praze
Prof. MUDr. Daniela Kotulová, Ph.D.
Čestná členka Slovenskej spoločnosti klinickej
mikrobiologie, SLS
Doc. MUDr. Lenka Krbková, 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 Schrétér, 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

S. Plíšek

123

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Péče o ženy plánující těhotenství a již těhotné z pohledu infektologa
V. Pellantová, P. Kosina, Š. Rumlarová,
R. Kračmarová, S. Plíšek

125

PŮVODNÍ PRÁCE

**Porovnání tradiční a komerční molekulárně-biologické detekce
gastrointestinálních patogenů firmy AusDiagnostics ve FN Motol**
A. Briksí, P. Hubáček, J. Šumová, V. Nováková,
P. Chramostová, R. Hornychová, B. Špatná, M. Zajac

132

Naše zkušenosti s laboratorní diagnostikou rotavirů
M. Dvořáková Heroldová, R. Moutelíková,
V. Holá, M. Dvořáčková, J. Prodělalová

140

DOPORUČENÝ POSTUP

Doporučený postup pro diagnostiku a léčbu genitálního herpesu u žen
M. Holub, S. Arientová, H. Rozsypal, K. Labská,
J. Mašata, M. Kacerovský, J. Zach

145



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,
Embbase/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 jakémkoliv 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.
Dpt. of Biomedical Sciences, University
of Ostrava's Faculty of Medicine

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

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

Prof. MUDr. Daniela Kotulová, Ph.D.
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 Krížová, 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



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

CONTENTS

EDITORIAL

123

S. Plíšek

REVIEW

Caring for women planning pregnancy or who are already pregnant: an infectious disease doctor's view

125

*V. Pellantová, P. Kosina, Š. Rumlarová,
R. Kračmarová, S. Plíšek*

ORIGINAL ARTICLE

Comparing traditional and commercial molecular biology detection of gastrointestinal pathogens with AusDiagnostics panels in Motol University Hospital

132

*A. Briksí, P. Hubáček, J. Šumová, V. Nováková,
P. Chramostová, R. Hornychová, B. Špatná, M. Zajac*

Our experience in laboratory diagnosis of rotaviruses

140

*M. Dvořáková Heroldová, R. Moutelíková,
V. Holá, M. Dvořáčková, J. Prodělalová*

GUIDELINES

Guidelines for the diagnosis and treatment of genital herpes in women

145

*M. Holub, S. Arientová, H. Rozsypal, K. Labská,
J. Mašata, M. Kacerovský, J. Zach*

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

A peer – reviewed journal

4 issues per volume.

ISSN 1211-264X

Copyright © Trios Ltd. All rights reserved.

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

Úvodník

Vážené kolegyně, vážení kolegové,

v tomto zvláštním čase vychází čtvrté číslo loňského roku našeho časopisu KMIL. V době, kdy jsme začali toto číslo připravovat, jsme si ještě nemysleli, v jak dramatické době bude vycházet. Onemocnění Covid-19 nás zcela pohltilo odborně, organizačně i lidsky. Zprávy ze zahraničí (Itálie, Španělsko, USA, Velká Británie...) jsou alarmující. Samozřejmě i u nás přes všechna přijatá tvrdá opatření se nevyhneme obětem této pandemie. Vypětí zdravotníků je již v této době vysoké a bude nepochybně ještě vyšší. PCR laboratoře pracují v nejvyšších obrátkách, lékaři a sestry se museli naučit ošetřovat nemocné v ochranných oblecích. Rychle tvoříme doporučené postupy léčby a sháníme ochranné pomůcky pro naše lidi.

Nikdy jsem si nemyslel, že na závěr svého profesního života něco takového zažiji.

Přesto budu velmi rád, pokud si i v této nelehké době najdete chvíli na přečtení publikovaných článků. Děkuji všem autorům za jejich příspěvky, které naplnily toto číslo.

V prvním přehledném článku hradečtí autoři poukazují na možnosti prevence a profylaxe infekčních chorob. Zaměřují

se na možnosti prevence cílené na období před početím, v době gravidity a po porodu. Předkládají praktické postupy pro očkování žen ve fertilním věku.

V původní práci kolegů z Motola se dočteme o porovnání tradiční a molekulárně-biologické detekce gastrointestinálních patogenů. Zavedením multiplexních molekulárně-biologických panelů pro stanovení původců GIT infekcí se významně zvýšil jejich etiologický záchyt.

V další původní mikrobiologické práci brněnských autorů se setkáváme se stále aktuální problematikou rotavirů.

Posledním článkem je velice potřebný Doporučený postup SIL pro diagnostiku a léčbu genitálního herpesu u žen, který vypracovali naši kolegové společně s gynekology a neonatologem.

Přeji nám všem hodně sil a zdraví v boji se zákeřným onemocněním.

Váš

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

Péče o ženy plánující těhotenství a již těhotné z pohledu infektologa

V. PELLANTOVÁ, P. KOSINA, Š. RUMLAROVÁ, R. KRAČMAROVÁ, S. PLÍŠEK

*Klinika infekčních nemocí, Centrum očkování a cestovní medicíny, Fakultní nemocnice
a Lékařská fakulta Univerzity Karlovy Hradec Králové*

SOUHRN

Pellantová V., Kosina P., Rumlarová Š., Kračmarová R., Plíšek S.: **Péče o ženy plánující těhotenství a již těhotné z pohledu infektologa**
Autor článku poukazuje na možnosti prevence a profylaxe infekčních chorob ovlivňující zdárný průběh těhotenství s ohledem na matku, plod i narozené dítě. Upozorňuje také na choroby, proti nimž neexistuje očkovací látka. Zaměřuje se na možnosti prevence cílené na období před početím, v době gravidity a po porodu. Předkládá praktické postupy pro očkování a vyšetřování infekčních chorob u žen ve fertilním věku.

Klíčová slova: těhotenství, vakcína, ochrana, serologie

SUMMARY

Pellantová V., Kosina P., Rumlarová Š., Kračmarová R., Plíšek S.: **Caring for women planning pregnancy or who are already pregnant: an infectious disease doctor's view**

The article discusses possible prevention and prophylaxis of infectious diseases affecting the course of pregnancy with respect to the mother, fetus and newborn. Also mentioned are diseases for which there is no vaccination. The options for prevention targeted at the periods before and during pregnancy and after delivery are explained. Finally, practical procedures related to vaccination and diagnosis of infectious diseases in women of childbearing age are presented.

Keywords: pregnancy, vaccine, protection, serology

Klin mikrobiol inf lék 2019;25(4):125–131

Adresa: MUDr. Věra Pellantová, Ph.D., Centrum očkování a cestovní medicíny, Klinika infekčních nemocí, Fakultní nemocnice Hradec Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, e-mail: PellantovaV@lfhk.cuni.cz

Došlo do redakce: 10. 2. 2019

Přijato k tisku: 6. 3. 2020

Úvod

V průběhu těhotenství dochází vlivem adaptačních změn k mnoha interakcím mezi neuroendokrinní a imunitní soustavou, jejichž výsledkem je, při zdárném průběhu těhotenství, proměna imunitních mechanismů ve prospěch vyvíjejícího se plodu a narození zdravého dítěte [1]. Znalost prodělaných infekčních onemocnění a očkování je u nastávající matky významným anamnestickým údajem. Očkování provedené s rozvahou a časovým předstihem před otěhotněním je nedocenitelnou součástí péče o ženy ve fertilním věku. Vakcinace s indikací pro provedení v těhotenství má zcela zásadní význam nejen při případném onemocnění matky, ale také v ochraně narozeného dítěte. V neposlední řadě je třeba klást důraz na důslednou péči o matku po porodu ve smyslu snížení rizika infekčních chorob.

Při plánování gravidity je důležité, aby praktický lékař či gynekolog seznámil ženu s riziky infekčních chorob v těhotenství a s možnostmi ochrany proti některým z nich.

Na základě doporučení České gynekologické a porodnické společnosti je do 14. týdne gravidity provedeno serologické vyšetření HIV, virové hepatitidy B a syfilis. Uvažuje se o zahájení screeningu virové hepatitidy C.

Z chorob ovlivnitelných očkováním je vhodné zjišťovat proběhlé onemocnění planými neštovicemi, virovou hepatitidou B, v současné epidemiologické situaci také spalničkami a černým kašlem. Při anamnestických nejasnostech zde mohou být přínosná sérologická vyšetření proti těmto chorobám. Je žádoucí provést kontrolu očkování proti zarděnkám, tetanu, černému kašli, dále zmíněným spalničkám, virové hepatitidě B, planým neštovicím, v sezóně také proti chřipce [2].

Za optimální považujeme časné doplnění očkování proti chorobám s nejvyšším možným rizikem pro matku a plod v prekoncepčním období. V zásadě ale jakákoli vakcinace provedená v době před těhotenstvím zmírňuje riziko onemocnění danou chorobou v průběhu gravidity, proto je po-

važována za důležitou. Očkování v průběhu těhotenství je vhodné pouze tehdy, pokud je riziko onemocnění velké, infekce ohrožuje matku a plod a vakcinace je považována za bezpečnou. V současné době je v těhotenství doporučováno očkování proti černému kašli a chřipce. Očkování živými vakcínami je možné provést pouze v období před těhotenstvím, v době gravidity je kontraindikováno z důvodu možného rizika pro plod [3]. Očkování, která nemohla být v těhotenství provedena, by měla být doplněna v období co nejdříve po porodu dle závažnosti epidemiologické situace (např. očkování proti černému kašli, chřipce, MMR a další). Vzhledem k tomu, že většina žen po porodu kojí své dítě, přistupujeme vždy k vakcinaci s rozvahou. Ošetřující lékař by měl současně doporučit očkování rodinných příslušníků proti některým nemocem (např. černý kašel, chřipka) a dále tak zvýšit ochranu ženy a dítěte v nejcitlivějším období [4,5,6].

Existují další choroby, jejichž prodělání v těhotenství může mít negativní dopad na zdraví matky a vývoj plodu, a proti nimž neexistuje očkovací látka. Patří sem například onemocnění toxoplazmózou, cytomegalovirem, HIV a další.

Těhotné ženy by se měly snažit minimalizovat rizika infekce, necestovat do rizikových oblastí (s výskytem například žluté zimnice, vztekliny, malárie apod.), dodržovat hygienické návyky (časté mytí rukou, pečlivé omývání zeleniny a ovoce, nekonzumovat syrové maso atd.).

Očkování před těhotenstvím

V tomto období je možné provedení jakékoli vakcinace neživými i živými očkovacími látkami, pokud neexistuje jiná kontraindikace. Po aplikaci živé vakcíny by žena neměla otěhotnět následující čtyři týdny z důvodu potencionálního rizika pro matku a pro plod. Toto riziko však nebylo potvrzeno, nebyly hlášeny žádné embryopatie po provedení očkování v časně fázi těhotenství [7]. Pokud je očkování v této době provedeno, není důvod k přerušení těhotenství. Před aplikací živých vakcín není doporučován rutinní screening na možné těhotenství [8].

Zarděnky, příušnice, spalničky

Onemocnění spalničkami u těhotné ženy může mít horší průběh než u ženy netěhotné, virus zarděnek má jednoznačně teratogenní riziko. Všechna tři virová onemocnění jsou spojována s možným ohrožením vývoje plodu, pokud onemocní těhotná žena. Děti žen, které byly proti spalničkám v dětství očkovány, získají transplacentárním přenosem menší množství protilátek, a mají proto kratší ochranu před spalničkami než děti žen s přirozeně získanou imunitou. Stále není zcela jasné, jestli mateřské protilátky chrání dítě do doby prvního očkování proti spalničkám [8].

Do nedávné doby byla stran těchto nemocí epidemiologická situace relativně příznivá. Od roku 2014 jsme byli svědky několika epidemií spalniček na našem území. Se snižující se proočkovaností a vyvanutím imunity po očkování z dětství je nezbytně nutné aktivně zjišťovat stav proočkovanosti fertálních žen a zvážit riziko nákazy. Mezi nejvíce věkovou skupinu patří ženy ve věku 25–49 let. Screening protilátek na zarděnky, příušnice a spalničky ne-

ní v České republice běžně prováděn. K provedení očkování však není nezbytně nutné znát výši hladiny protilátek [9].

Pokud je riziko nákazy vyhodnoceno jako vysoké, provedeme vakcinaci kombinovanou živou očkovací látkou proti spalničkám, zarděnkám a příušnicím. Očkujeme jednou dávkou vakcíny, pokud se jedná o ženy očkované v minulosti či očkované pouze jednou dávkou vakcíny. Pokud žena nebyla v minulosti očkována, podáme druhou dávku nejdříve za 6 měsíců, eventuálně po porodu. Pokud není těhotná žena očkována proti zarděnkám, příušnicím a spalničkám, měla by být informována o riziku vrozeného zarděnkového syndromu při případném onemocnění, o rizicích při onemocnění spalničkami a příušnicemi. Očkování by pak mělo být provedeno okamžitě po ukončení těhotenství. Určitou možností ochrany těhotné neočkované ženy je urychlené proočkování dětí a dalších neočkovaných osob žijících ve společné domácnosti. Nejsou záznamy o přenosu vakcinačních virů na druhé osoby [3,6].

Profylaxe spalniček

V případě kontaktu těhotné ženy se spalničkami je doporučeno postexpoziční podání normálního směsného imunoglobulinu, intramuskulárně v dávce 0,25–0,5 ml/kg, maximálně však 15 ml do 6 dnů po kontaktu. Pokud dojde za více než tři týdny po podání první dávky imunoglobulinu k opětovnému kontaktu, je vhodné uvažovat o další aplikaci.

Dle informací výrobců vakcín není o očkování kojících matek dostatečné množství údajů a není známo, zda se vakcinační viry obsažené ve vakcíně vylučují do mateřského mléka, a proto by se v případě nutnosti měl zvážit prospěch očkování oproti riziku a postupovat individuálně. Podle jiných zdrojů není kojení kontraindikací k očkování, ačkoli virus zarděnek se může přenášet mateřským mlékem (infekce dětí je pak asymptomatická) [8,9,10].

Plané neštovice

Infekce virem varicela zoster jsou v těhotenství spojovány se závažnými maternálními komplikacemi, virus může způsobit kongenitální varicelový syndrom či neonatální varicelovou infekci. Prekonceptně by měly být očkovány všechny ženy, které neprodělaly plané neštovice. Očkování se provádí živou očkovací látkou, podávanou ve dvou dávkách s minimálně čtyřtýdenním odstupem mezi dávkami. Po očkování je třeba vyvarovat se otěhotnění po dobu minimálně jednoho měsíce po každé jednotlivé dávce vakcíny [5].

Očkování těhotných je v tomto případě kontraindikováno. Ačkoli je vakcinační kmen podstatně méně virulentní a riziko pro plod malé, není ho možné vyloučit. Pokud žena otěhotní do 4 týdnů po očkování, nebo pokud v době očkování o svém těhotenství neví, je třeba ji upozornit na teoreticky možné riziko poškození plodu, není to však důvodem k ukončení těhotenství [11].

Profylaxe planých neštovic

V případě kontaktu vnímavé těhotné s varicelou je indikováno podání hyperimunního varicelového globulinu (VZIG) do 72–96 hodin (o jediné do 10 dnů) od kontaktu [12]. Zcela výjimečně lze (při nedostatku VZIG) uvažovat

o jeho náhradě polyvalentním intravenózním imunoglobulinem (IVIG) ve dvojnásobných dávkách. Pokud není možné podání imunoglobulinů ve třetím trimestru gravidity, je indikovaná terapie acyclovirem od 7. (respektive 10.) dne po dobu 7–10 dní v dávce 5× 800 mg per os. Očkování je vhodné doplnit po porodu s odstupem minimálně 5 měsíců od podání VZIG, pokud byl v těhotenství podán [12]. O použití vakcín u kojících žen jsou minimální údaje, nepředpokládá se však riziko spojené s podáním živé vakcíny [11].

Infekce lidskými papilomaviry (HPV)

Vzhledem k nedostatku informací o bezpečnosti vakcín není očkování proti HPV v těhotenství doporučováno. Pokud je ženě úvodní dávka podána před těhotenstvím, očkování se dokončí po ukončení gravidity. Ačkoli očkování v těhotenství nebude mít patrně vliv na zdárný průběh těhotenství a vývoj plodu, není k tomuto tvrzení zatím dostatek informací [13,14].

Očkování v těhotenství

Očkování během těhotenství lze provádět v případě jednoznačného přínosu pro matku a dítě.

Postvakcinační imunitní odpověď zdravých těhotných žen po očkování je stejná jako odpověď žen netěhotných. Přenos transplacentárních protilátek závisí na jejich koncentraci v krvi, na typu protilátek (je přenášeno určité množství IgG (hlavně IgG1), ale ne IgM, IgA nebo IgE) a na gestačním věku. V první polovině těhotenství je fetální koncentrace IgG významně nižší než koncentrace mateřských protilátek, ale v období mezi 28.–32. týdnem gravidity se skokově zvyšuje, maxima dosahuje v 36. týdnu. Po provedeném očkování je nejvyšší koncentrace IgG protilátek čtyři týdny po očkování, optimální doba provedení očkování (například proti černému kašli) je proto počátkem třetího trimestru [14]. Na druhou stranu infekce chřipkou ohrožuje jak matku, tak plod, očkování je proto indikováno bez ohledu na období těhotenství [14].

Černý kašel

Počet onemocnění černým kašlem v České republice dlouhodobě stoupá. Ochrana po očkování nebo po prodělané nemoci se v průběhu let snižuje, proočkovanost populace klesá. Dospělí nemocní mohou mít minimální příznaky onemocnění, pro okolí jsou však infekční. Více než polovina malých dětí, které onemocněly černým kašlem, se nakazila od členů rodiny, nejvíce pak od matky. Očkování matek a rodinných příslušníků jednoznačně snižuje riziko nemoci u novorozenců a kojenců.

V České republice se doporučuje v minulosti řádně očkované těhotné ženy očkovat jednou dávkou kombinované vakcíny proti pertusi, difterii a tetanu (Tdap, vakcína s tetanickým toxoidem, se sníženým množstvím difterického toxoidu a acelulární pertusovou složkou) během těhotenství, ideálně v třetím trimestru, mezi 28. a 36. týdnem těhotenství [15]. Očkování je doporučeno zopakovat v každém těhotenství, bez ohledu na interval od předchozí gravidity. Takto provedená vakcinace splňuje nejdůležitější cíl, kterým je

ochrana nejmenších dětí prostřednictvím posílení transplacentálního přenosu specifických mateřských protilátek na plod a do mateřského mléka v průběhu prvních 2–3 měsíců života, než může být očkováno proti pertusi. Neméně důležitým přínosem je samozřejmě ochrana ženy samotné. Očkování v časném stadiu těhotenství, před těhotenstvím, případně časně před porodem nevede k optimální ochraně narozeného dítěte.

Ženám, které nebyly očkovány v těhotenství proti pertusi, je doporučeno podání jedné dávky Tdap vakcíny co nejdříve po porodu, aby se minimalizovalo riziko přenosu onemocnění na novorozence. I po takto provedeném očkování přestupují protilátky do mateřského mléka, nejdříve za 2 týdny po očkování [16]. Při očkování v průběhu těhotenství je dosažováno vyšších hladin specifických protilátek v mateřském mléce, než při očkování žen po porodu. Současně je vhodné očkování osob v blízkém okolí těhotné ženy minimálně 2 týdny před narozením dítěte, očkování těchto osob není třeba opakovat při dalších těhotenstvích. Pasivně přenesené protilátky mohou oslabit imunitní odpověď na vakcinaci v kojeneckém věku, ale není prokázán snížený efekt účinku vakcíny [15,16].

Tetanus

Mezi základní prvky prenatální péče patří prevence maternálního a neonatálního tetanu. Ženy, které byly očkovány podle platného schématu, ale poslední očkování absolvovaly před více než 15 lety, by měly dostat posilující dávku vakcíny. Těhotným, v minulosti neočkovaným, by měly být podány 3 dávky vakcíny, první dvě v odstupu čtyř týdnů, třetí za šest měsíců po dávce druhé. V této situaci je žádoucí, aby jednou dávkou schématu (podaná ve třetím trimestru gravidity) byla kombinovaná očkovací látka proti tetanu, černému kašli a záškrtu. Je prokázáno, že podání tetanického toxoidu těhotné ženě alespoň 4–6 týdnů před porodem, stimuluje antitoxin, který chrání matku, prochází placentou a chrání novorozence v nejrizikovějším období [16,17].

Profylaxe tetanu

V případě poranění těhotné ženy se postupuje dle standardních doporučení a v případě potřeby se podá v rámci prevence tetanu vakcína proti tetanu (optimálně opět kombinovaná) a tetanický globulin bez ohledu na stadium těhotenství. Gravidním s ukončeným základním očkováním proti tetanu v třídávkovém schématu a po podání vakcíny obsahující tetanický toxoid v uplynulých pěti letech, není třeba aplikovat další vakcínu proti tetanu [17]. Pokud dojde k podání vakcíny v první polovině těhotenství, očkování pak v posledním trimestru neopakujeme.

Záškrt

Za imunitu novorozenců v období po porodu je zodpovědný transplacentárně přenesený mateřský antitoxin. Již ve čtyřicátých letech minulého století byly prováděny studie s difterickou vakcínou u těhotných žen, které prokázaly kvantitativní vzestup difterického antitoxinu po očkování [2]. Protilátky proti záškrtu z mateřského mléka nepřestupují ze stěva v takovém množství, aby byla zajištěna ochra-

na dítěte. Nebyla prokázána interference mateřských protilátek s imunitní odpovědí po očkování u dítěte [2,14].

Chřipka

Změny v imunitním, respiračním a kardiovaskulárním systému jsou zodpovědné za možný vážný průběh onemocnění chřipkou v těhotenství. Očkování snižuje riziko onemocnění a poskytuje částečnou ochranu novorozenci. Inaktivované vakcíny jsou bezpečné v období těhotenství, po porodu a během kojení. Těhotným je podání inaktivované vakcíny doporučováno vždy před začátkem chřipkové epidemie, bez ohledu na stadium jejich těhotenství. Očkování má svůj význam i v době nástupu chřipkové aktivity po dobu cirkulace viru v populaci [14]. Bohužel zůstává proočkovanost proti chřipce u těhotných žen nízká.

Chemoprophylaxe chřipky

Pro těhotné a ženy do 2 týdnů po porodu, které nebyly očkovány, je možné zvážit profylaktické podávání oseltamiviru při kontaktu s chřipkou. Jedná se hlavně o ženy, které nemohly být očkovány proti chřipce z důvodů kontraindikace vakcinace nebo těžkého imunodeficitu či jiné nemoci, kde by se nedala předpokládat optimální odpověď na očkování. Délka postexpozicičního profylaktického podávání oseltamiviru v dávce 75 mg jednou denně je 7 dní po posledním kontaktu s nemocným. Alternativou k chemoprophylaxi je pak časná léčba antivirotiky, která je v těhotenství indikována vždy při podezření na onemocnění chřipkou [14].

Další očkování

Některé těhotné ženy jsou v riziku infekcí z jiných důvodů, například pro závažné základní onemocnění, expozici chorobám v zaměstnání, cestování apod. Tyto těhotné ženy by měly být očkovány, pokud je riziko infekce vyhodnoceno jako závažné a benefit očkování převáží jeho rizika. Je snaha očkování směřovat do druhého až třetího trimestru. Každá vakcinace musí být individuálně posouzena [14].

Pneumokokové infekce

K dispozici jsou pouze data o bezpečnosti podání polysacharidové vakcíny, data k podání vakcíny konjugované nebyla zatím publikována, ačkoli není předpoklad rizika očkování v těhotenství. Na malé skupině byla prokázána nepatrně zvýšená ochrana v prvních šesti měsících života dětí matek očkových touto vakcínou [18,19]. Bylo ale také zjištěno, že očkování touto vakcínou v těhotenství nesnižuje možnost kolonizace pneumokokem u kojenců mezi 3. a 6. měsícem věku [20].

Meningokokové infekce

Nebyly zaznamenány neobvyklé reakce po očkování čtyřvalentní vakcínou, vakcínou proti *Neisseria meningitidis* B je vhodnější podat až po porodu, s výjimkou pacientek ve velkém riziku onemocnění [21]. Vzhledem k závažnosti onemocnění by těhotenství ani doba po porodu a kojení neměly

být kontraindikací podání vakcíny, pokud je žena v ohrožení infekcí.

Hemofilové infekce

Indikace k podání vakcíny u dospělých se vztahují i na dobu těhotenství, podání vakcíny je dle studií doporučováno ve třetím trimestru gravidity [14].

Virová hepatitida B

Onemocnění podléhá prenatálnímu screeningu. Na základě doporučení České gynekologické a porodnické společnosti z roku 2019 jsou v České republice všechny ženy testovány na HBsAg do 14. týdne gravidity, i když byly očkovány nebo již v minulosti vyšetřeny. Pokud je indikace k očkování, je možné těhotné proti virové hepatitidě B očkovat. Vzhledem k možné pozitivitě HbsAg po očkování, je vhodné sérologické vyšetření provádět s odstupem minimálně jednoho týdne. Očkování je vhodné doporučit ženám s rizikovým chováním v době těhotenství (ženy s více než jedním sexuálním partnerem v předchozích šesti měsících, léčeným pro pohlavně přenosné choroby nebo s HBsAg pozitivním partnerem) [3,14]. Kojení se nepovažuje za kontraindikaci pro očkování [14].

Klíšťová meningoencefalitida

Data o bezpečnosti podání v těhotenství nejsou známa. K očkování těhotných i kojících přistupujeme s rozvahou, není známo, zda očkovací látka přechází do mateřského mléka [22].

Cestování

Ženy těhotné a ženy plánující početí v brzké době by se zásadně měly vyvarovat cest do vzdálených destinací, zejména pokud je vyžadována antimalarická profylaxe nebo vakcinace proti žluté zimnici. Ačkoli je většinu antimalarik možné v těhotenství v případě nutné potřeby užívat (výjimku tvoří halofantrin, doxycyklin a primaquine), chybí celková data o jejich bezpečnosti. Farmakokinetika všech antimalarik je těhotenstvím modifikována, dávkování musí být vždy upraveno [23]. Taktéž očkování tzv. cestovatelskými vakcínami není v době početí a těhotenství důvodem k přerušení těhotenství, stále ale existuje riziko pro ženu i plod plynoucí z provedené vakcinace.

Virová hepatitida A

Onemocnění virovou hepatitidou A v těhotenství může být spojeno s předčasným porodem, in utero s mekoniovou peritonitidou, fetálním ascitem a polyhydramniem. Nejsou známa data o bezpečnosti očkování v průběhu těhotenství. Vzhledem k tomu, že se jedná o očkovací látku neživou, očkování je možné v případě potřeby podat. V České republice se očkování provádí v rizikových skupinách, např. po kontaktu s infikovanými osobami, u žen, které musí vycestovat do oblastí s vysokou incidencí onemocnění apod. [3,14].

Profylaxe virové hepatitidy A

V případě kontaktu těhotné do 40 let s hepatitidou A je žádoucí provedení postexpoziciční vakcinace očkovací látkou nejpozději do 14 dní po kontaktu. V případě starší či imunosuprimované gravidní ženy se potom podává současně ještě normální směsný imunoglobulin v dávce 0,1 ml/kg [25].

Žlutá zimnice

Jedná se o živou vakcínu, proto obecně platí, že by těhotné ženy neměly být vakcínou očkovány, respektive by po očkování neměly otěhotnět po dobu jednoho měsíce. Pokud je nutné, aby těhotná žena cestovala do oblastí s výskytem žluté zimnice, je z důvodu závažnosti onemocnění očkování doporučeno, i když v souvislosti s vakcinací existuje malé riziko závažných i fatálních reakcí. Pokud je riziko v zemi nízké, ale vakcinace je přesto vyžadována, je možnost vystavení lékařské zprávy o probíhající těhotenství a těhotnou neočkovat. U běžné populace je po podání jedné dávky vakcíny navozena doživotní ochrana proti infekci. Při očkování provedeném v těhotenství toto neplatí, při další cestě do endemické oblasti je nutné podání vakcíny zopakovat. Protože v těhotenství dochází k nižší sérokonverzi, je vhodné provedení sérologického vyšetření po vakcinaci v těhotenství [14,25]. Podání vakcíny kojícím matkám je možné pouze výjimečně, byly hlášeny dva případy nežádoucí reakce kojených dětí očkovaných matek [26].

Dětská přenosná obrna

Je možné očkovat neživou očkovací látkou, těhotné ženy ve zvýšeném riziku infekce v doporučeném schématu [14]. Vakcína může být podána kojícím ženám.

Břišní tyfus

V případě vysokého rizika infekce břišním tyfem je možné očkovat těhotnou ženu neživou vakcínou proti břišnímu tyfu [14]. Vakcínu lze podat v době kojení [27].

Japonská encefalitida

K dispozici jsou pouze nespecifické informace o bezpečnosti vakcíny proti japonské encefalitidě v průběhu těhotenství. Vzhledem k tomu, že existuje teoretické riziko poškození plodu, vakcína by neměla být v průběhu gravidity podávána [14]. U kojících žen není předpoklad rizika pro kojené dítě [28].

Vzteklina

V případě rizika onemocnění je možné preexpozicičně očkovat proti vzteklině. Pokud je indikována posteexpoziciční antirabická profylaxe, provádíme ji bez ohledu na probíhající těhotenství, včetně podání antirabického globulinu [14,29]. Vzhledem k závažnosti onemocnění není kojení kontraindikací očkování [14].

Cholera

V indikovaných případech je možné očkování také během těhotenství a kojení, studie ovšem prováděny nebyly [14].

Další infekce, proti kterým neexistuje očkovací látka

Infekce cytomegalovirem (CMV)

Rutiní screening žen před početím a v těhotenství se v České republice neprovádí, není většinově doporučován. Podle některých autorů je však znalost proběhlého onemocnění CMV před početím považována za důležitou, neboť může významně ovlivnit hygienické návyky žen během gravidity a případné vyšetřování při obtížích v průběhu těhotenství. Laboratorní vyšetření je doporučeno vždy při podezření na akutní CMV infekci u těhotných a u žen HIV pozitivních, při abnormalitách na ultrazvukovém nálezu plodu. Zdokumentovaná sérokonverze specifického IgG v párových akutních a rekonvalescentních sérech s odstupem 3–4 týdnů je důležitá pro diagnostiku akutní CMV infekce. IgM není v diagnostice přínosné, je přítomné pouze u 75–90 % žen, přetrvává pozitivní více než rok po akutní infekci, může se zvrátit z negativního na pozitivní při reinfekci nebo reaktivaci jiným kmenem viru a může být pozitivní při odpovědi na ostatní virové infekce jako například při onemocnění Epstein-Barrovým virem. V těchto případech má přínos testování avidity, vysoká avidita se vyskytuje u infekce, která proběhla před více než 6 měsíci, nízké hodnoty jsou suspektní z infekce časné. V případě akutní infekce vyšetřujeme rovněž DNA CMV, interpretace výsledků může být v některých případech komplikovaná, vyšetření tak jistě není vhodné pro screening těhotných.

Je předpoklad, že maternální protilátky vytvořené po primární infekci představují významný stupeň protekce, nechrání však před reaktivací infekce či reinfekcí jiným sérotypem, není tedy eliminováno riziko kongenitální infekce [30]. Riziko fetální infekce mezi séropozitivními je nízké 0,15–2 %. Mezi těhotnými s primární infekcí je zhruba 3% riziko těžkého postižení novorozence a asi 8% riziko jakéhokoli postižení [31,32]. Většina kongenitálně infikovaných dětí se však narodí séropozitivním matkám z důvodu jejich velkého zastoupení v populaci. Pokud dojde k fetální infekci, míra rizika postižení plodu je u primoinfekce a reinfekce stejná.

Po prodělané akutní infekci se nedoporučuje otěhotnět zhruba tři až čtyři měsíce, dle některých autorů až šest měsíců [32]. Při kojení existuje minimální riziko přenosu CMV od infikované ženy, proto je kojení doporučováno [33].

Toxoplazmóza

Při primoinfekci toxoplazmózou u těhotné ženy může v kterémkoli stadiu těhotenství dojít k rozvoji kongenitální toxoplazmózy. Onemocnění má u těhotných stejný (většinou tedy mírný) průběh jako u ostatních imunokompetentních pacientů [33]. V České republice není zaveden rutinní

screening toxoplazmózy u těhotných, patří pouze mezi doporučené postupy. Za optimální považujeme provedení odběrů při plánování gravidity. Pro základní orientaci je doporučeno vyšetřit protilátky IgG, IgM, (KFR/NIFR – komplement fixační reakce/nepřímý imunofluorescenční test) a v případě pozitivitu pak doplnit kontrolní odběry o detekci IgA, IgE a aviditu IgG. Pokud žena prokazatelně prodělala toxoplazmózu před početím, nejsou indikovány další laboratorní kontroly. Séronegativní ženy by měly být po otěhotnění vyšetřeny opakovaně, minimálně 1× v každém trimestru a při vzniklé pozitivitě odkázány do příslušné poradny k nasazení cílené léčby [35].

Další choroby

Jsou známy ještě další infekční choroby, které mohou ovlivňovat průběh těhotenství či vývoj plodu a nejsou součástí běžného těhotenského screeningu. Vyšetření provádíme při vážném podezření na proběhlou či probíhající infekci u ženy před početím či v těhotenství. Jedná se o nákazu Zika virem, tuberkulózou, chlamydiemi, virovou hepatitidou C, bakteriální vaginózou, infekci herpes simples, trichomonas vaginalis a další.

Diskuze

Význam očkování a znalosti infektologicko-epidemiologické anamnézy ženy

Význam péče o ženy v období plánování těhotenství a v graviditě samotné stoupá s novými poznatky a možnostmi prevence.

Znalost infektologického profilu ženy má zásadní význam pro plánování očkování nebo sérologického vyšetření. Zdravotní péče by pak měla být rozdělena mezi praktického lékaře a gynekologa, kteří mohou dále koordinovat spolupráci s infektologem a vakcinologem. Zatím se nejedná o běžnou praxi, sérologická vyšetření a očkování patří mezi nadstandardní výkony, je snaha o zlepšení informovanosti lékařů i pacientů.

V době před těhotenstvím je možné aplikovat všechny doporučené očkovací látky, včetně živých. V graviditě se zaměřujeme na očkování proti tetanu, záškrtu, černému kašli a chřipce, ostatní neživé vakcíny podáme pouze po pečlivém zvážení. Pokud nebylo možné z jakéhokoli důvodu očkování provést dříve, je vhodné ho doplnit bezprostředně po porodu. Sérologická vyšetření jiná než odběry protilátek proti HBsAg, HIV a syfilis v graviditě nejsou součástí běžného screeningu a nejsou před těhotenstvím ani během něho plošně doporučována. Dle některých autorů však výsledky vyšetření protilátek, např. proti toxoplazmóze nebo CMV přispívají k informovanosti o zdravotním stavu ženy a ovlivňují její chování a případně určují plánování dalších odběrů v těhotenství.

Bezpečnost očkování

Nejsou známy případy poškození plodu při podání neživých vakcín během těhotenství, údaje však v mnoha přípa-

dech pocházejí z náhodného a mnohdy neúplného sberu dat [2]. Pokud jsou neživé vakcíny naléhavě indikovány, je možné je podat v kterémkoli období těhotenství, v opačném případě se snažíme očkování směřovat do období minimálně druhého trimestru, kdy vývoj plodu nebude bezprostředně ovlivněn. Podání v pozdější fázi těhotenství také vyloučí zámenu postvakcinačních reakcí za časté klinické obtíže prvního trimestru. Naopak podání ve třetím trimestru je výhodné z hlediska transplacentárního přenosu protilátek.

Živé vakcíny v těhotenství nepoužíváme. Nebyl sice prokázán jejich teratogenní efekt, ale byly zaznamenány subklinické infekce. Existují však určité výjimky, jako je například očkování těhotných žen ve vážném riziku žluté zimnice. Žena, které je podána živá očkovací látka v úvodu gravidity, musí být pečlivě seznámena s možnými riziky vakcinace, přerušování těhotenství však není doporučováno.

Nebylo prokázáno zvýšené riziko autismu dětí po vakcinaci jejich matek v průběhu těhotenství, nebylo prokázáno riziko při podání vakcín obsahující thiomersal v těhotenství [14].

Nedokončená vakcinační schémata v době těhotenství

V tomto případě postupujeme zcela podle již uvedených doporučení. Pokud není jasná indikace k provedení očkování, dokončíme vakcinační schéma po porodu.

Závěr

V článku jsou shrnuta některá doporučení v péči o ženy v období plánování gravidity, v těhotenství a po porodu z pohledu infektologa, respektive vakcinologa. Nepochybným přínosem by bylo zvýšení proočkovanosti a znalost anamnézy v oblasti infekčních chorob u žen, které plánují těhotenství. Očkování proti tetanu, černému kašli, záškrtu a chřipce snižují nemocnost těhotných a současně zvyšují ochranu novorozenců a kojenců do doby, než budou moci být sami očkováni. Očkování osob v okolí těhotné ženy dále přispívá k snížení rizika akvizice infekčních chorob pro matku a dítě. V tomto ohledu je třeba rozvíjet spolupráci gynekologa, praktického lékaře a infektologa.

Literatura

1. Krejssek J, Kopecký O. Reprodukční imunologie. Klinická imunologie. 1. vyd. Hradec Králové: Nucleus 2004; s. 343–355.
2. CDC. Guiding Principles for Development of ACIP Recommendations for Vaccination During Pregnancy and Breastfeeding, *MMWR* 2008; 57(21):580.
3. ACOG Committee Opinion No. 741: Maternal Immunization. *Obstet Gynecol* 2018;131:e214.
4. United States Centers for Disease Control. ACIP: Guidance for Vaccine Recommendations in Pregnant and Breastfeeding Women, 2016. <https://www.cdc.gov/vaccines/pregnancy/hcp-toolkit/guidelines.html> (Accessed on May 01, 2019).
5. United States Centers for Disease Control and Prevention. Guiding Principles for Development of ACIP Recommendations for Vaccination during Pregnancy and Breastfeeding, 2008. <https://www.cdc.gov/vaccines/acip/committee/downloads/preg-principles-2008.pdf> (Accessed on May 01, 2019).

6. Keller-Stanislawski B, Englund JA, Kang G, et al. Safety of immunization during pregnancy: a review of the evidence of selected inactivated and live attenuated vaccines. *Vaccine* 2014;32:7057.
7. McLean HQ, Fiebelkorn AP, Temte JL, et al. Prevention of measles, rubella, congenital rubella syndrome, and mumps, 2013: summary recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 2013;62:1.
8. Leuridan E, Hens N, Hutse V, Ieven M, Aerts M, Van Damme P. Early waning of maternal measles antibodies in era of measles elimination: longitudinal study. *BMJ* 2010;340:c162610.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Measles (Rubeola): For healthcare professional. Updated 2019. <https://www.cdc.gov/measles/hcp/index.html>.
10. CDC. Measles, mumps, and rubella – vaccine use and strategies for elimination of measles, rubella, and congenital rubella syndrome and control of mumps: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 1998;47(No. RR-8) (18):32–33.
11. Varicella virus vaccine live injection. US Food and Drug Administration (FDA) approved product information. Revised January 2019. US National Library of Medicine. (Available online at www.dailymed.nlm.nih.gov)
12. Doporučený postup profylaxe a léčby varicely u těhotných a novorozenců. Doporučený postup Společnosti infekčního lékařství České lékařské společnosti J. E. Purkyně, 8. dubna 2018, <https://www.infekce.cz/DPVaricGrav18.htm>
13. Markowitz LE, Dunne EF, Saraiya M, et al. Human Papillomavirus Vaccination: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 2014;63:1.
14. Yawetz S. (2019) Immunizations during pregnancy, UpToDate, Retrieved from <http://www.uptodate.com/home/index.html>
15. Doporučení ČVS pro očkování těhotných proti pertusi v České republice, doplnění Národní strategie očkování proti pertusi z 8. prosince 2015. *Vakcinologie* 2016;10(3):135.
16. Halperin BA, Morris A, Mackinnon-Cameron D, et al. Kinetics of the antibody response to tetanus-diphtheria-acellular pertussis vaccine in women of childbearing age and postpartum women. *Clin Infect Dis* 2011;53:885.
17. Demicheli V, Barale A, Rivetti A. Vaccines for women to prevent neonatal tetanus. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; CD002959.
18. Chaithongwongwatthana S, Yamasmith W, Limpongsanurak S, et al. Pneumococcal vaccination during pregnancy for preventing infant infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2015; 1:CD004903.
19. Souhrn SPC. 59/773/95-C. Souhrn údajů o přípravku PNEUMO 23. Datum revize textu 4. 3. 2009.
20. Lopes C, Berezin E, CHing TH, de Souza Canuto J, da Costa O, Klering EM. Ineffectiveness for infants of immunization of mothers with pneumococcal capsular polysaccharide vaccine during pregnancy. *Braz J Infect Dis*. 2009;13(2):104–106.
21. Zheteyeva Y, Moro PL, Yue X, Broder K. Safety of meningococcal polysaccharide-protein conjugate vaccine in pregnancy: a review of the Vaccine Adverse Event Reporting System. *Am J Obstet Gynecol*. 2013; 208:478.e1.
22. Souhrn SPC. 59/009/06-C. Souhrn údajů o přípravku, FSME-IMMUN 0,25 ML BAXTER. Datum revize textu 10. 6. 2009.
23. Nosten F, McGready R, d' Alessandro U, et al. Antimalarial Drugs in Pregnancy: A Review, *Current Drug Safety* 2006;1(1):1–15.
24. Nelson et al. Update: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices for Use of Hepatitis A Vaccine for Postexposure Prophylaxis and for Preexposure Prophylaxis for International Travel. *MMWR* 2018;67:1216–1220.
25. World Health Organization. New yellow fever vaccination requirements for travellers, 2016. <https://www.who.int/ith/updates/20160727/en/> (Accessed on May 01, 2019).
26. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Transmission of yellow fever vaccine virus through breast-feeding – Brazil, 2009. *MMWR* 2010;59:130.
27. Souhrn SPC. 59/109/01-C. Souhrn údajů o přípravku TYPHIM VI. Datum revize textu 28. 1. 2009.
28. Souhrn SPC. EU/1/08/501/001. Souhrn údajů o přípravku IXIARO.
29. Sudarshan MK, Giri MS, Mahendra BJ, et al. Assessing the safety of post-exposure rabies immunization in pregnancy. *Hum Vaccin*. 2007; 3:87.
30. Kenneson A, Cannon MJ. Review and meta-analysis of the epidemiology of congenital cytomegalovirus (CMV) infection. *Rev Med Virol*. 2007;17:253.
31. Ornoy A, Diav-Citrin O. Fetal effects of primary and secondary cytomegalovirus infection in pregnancy. *Reprod Toxicol*. 2006;21:399.
32. Sheffield J, Boppana S, 2019. UpToDate, Cytomegalovirus infection in pregnancy, Retrieved from <http://www.uptodate.com/home/index.html>
33. Adler SP, Finney JW, Manganello AM, Best AM. Prevention of child-to-mother transmission of cytomegalovirus among pregnant women. *J Pediatr*. 2004;145:485.
34. Gilbert R, 2019, UpToDate, Toxoplasmosis and pregnancy, Retrieved from <http://www.uptodate.com/home/index.html>
35. Doporučený postup pro diagnostiku a léčbu toxoplasmózy, Doporučený postup Společnosti infekčního lékařství České lékařské společnosti J. E. Purkyně, 2017, <https://www.infekce.cz/DoporToxo17.htm>

Porovnání tradiční a komerční molekulárně-biologické detekce gastrointestinálních patogenů firmy AusDiagnostics ve FN Motol

A. BRIKSÍ¹, P. HUBÁČEK^{1,2}, J. ŠUMOVÁ¹, V. NOVÁKOVÁ¹,
P. CHRAMOSTOVÁ¹, R. HORNYCHOVÁ¹, B. ŠPATNÁ¹, M. ZAJAC¹

¹Ústav lékařské mikrobiologie, 2. LF UK a FN Motol; ²Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol

SOUHRN

Briksí A., Hubáček P., Šumová J., Nováková V., Chramostová P., Hornychová R., Špatná B., Zajac M.: **Porovnání tradiční a komerční molekulárně-biologické detekce gastrointestinálních patogenů firmy AusDiagnostics ve FN Motol**

Cíl práce: Cílem bylo zmapování výskytu gastrointestinálních (GI) patogenů na Ústavu lékařské mikrobiologie (ÚLM) Fakultní nemocnice v Motole v letech 2014–2018 a otestování dvou komerčních multiplexních molekulárně-biologických panelů za účelem zkvalitnění a případně zlevnění rutinní diagnostiky.

Materiál a metody: Pomocí laboratorního informačního systému (LIS) bylo identifikováno 45 888 vzorků testovaných v průběhu let 2014–2018 na přítomnost GI patogenů pomocí kulturačních, imunochromatografických, mikroskopických a molekulárně-biologických metod. Pomocí nové multiplexní molekulárně-biologické detekce bylo otestováno celkem 182 izolátů nukleových kyselin, získaných ze vzorků stolic pomocí soupravy Enteric Viruses (8-well) (EVP – Virový panel) nebo soupravy Faecal Pathogens M (16-well) (FPM – Mikrobiální panel) od firmy AusDiagnostics.

Výsledky: Z dat v LIS bylo identifikováno celkem 6,2 % pozitivních patogenů způsobujících průjem ze všech zaslaných materiálů (Záchytnost bakteriálních agens činila 4,5 %, virových 21,6 % a parazitárních 0,4 % ze vzorků vyšetřovaných v dané kategorii). Z validně vyšetřených vzorků pomocí molekulárně-biologické detekce (98,9 % všech testovaných) byl v sestupném pořadí detekován: toxin B *C. difficile* (19 %), Norovirus (9 %), Astrovirus (8 %), *Campylobacter* (7 %), Sapovirus (6 %), *Yersinia enterocolitica* (6 %), Rotavirus (4 %), Enterovirus (3 %), *Aeromonas* (3 %), Adenovirus (2 %) a *Salmonella* (1 %). U 27 % stolic Virového panelu a u 40 % stolic Mikrobiálního panelu byl zjištěn navíc alespoň 1 nový nález oproti stávajícímu vyšetřovacímu schématu. Zavedení zkoušené techniky do rutinního provozu podle kalkulací nepovede ke snížení nákladů pracoviště.

Závěr: Zavedením multiplexních molekulárně-biologických panelů pro stanovení GIT patogenů se významně zvýší záchyt patogenů i přes vyšší náklady ÚLM.

Klíčová slova: gastroenteritidy, stolice, Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus, Norovirus, Sapovirus, Enterovirus, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Clostridium difficile*, *Escherichia coli*, *Aeromonas*, *Cryptosporidium*, *Entamoeba*, *Giardia*, PCR, AusDiagnostics

SUMMARY

Briksí A., Hubáček P., Šumová J., Nováková V., Chramostová P., Hornychová R., Špatná B., Zajac M.: **Comparing traditional and commercial molecular biology detection of gastrointestinal pathogens with AusDiagnostics panels in Motol University Hospital**

Background: The aim was to do an internal audit of gastrointestinal pathogen detection at the Department of Medical Microbiology, Motol University Hospital between the years 2014 and 2018 and to test two commercial multiplex molecular biology assays potentially improving the diagnostic process and reducing costs.

Material and Methods: Based on data from a laboratory information system (LIS), a total of 45,888 samples were identified which had been tested for the presence of gastrointestinal pathogens using culture, immunochromatographic, microscopic and molecular biology techniques between 2014–2018. Novel multiplex molecular biology detection was used to test 182 nucleic acid isolates obtained from stool samples with the Enteric Viruses (8-well) assay (Viral Panel, EVP) or Faecal Pathogens M (16-well) assay (Microbial Panel, FPM) manufactured by AusDiagnostics.

Results: The LIS data showed 6.2 % of positive pathogens causing diarrhea from all tested samples (detection rates: 4.5 % for bacterial agents, 21.6 % for viral agents and 0.4 % for parasitic agents). Valid samples (98.9 % of all tested samples) tested by the molecular biology technique yielded, in descending order: *C. difficile* toxin B (19 %), norovirus (9 %), astrovirus (8 %), *Campylobacter* (7 %), sapovirus (6 %), *Yersinia enterocolitica* (6 %), rotavirus (4 %), enterovirus (3 %), *Aeromonas* (3 %), adenovirus (2 %) and *Salmonella* (1 %). There was found at least 1 additional new positive detection in 27 % of stools tested by the Viral Panel and in 40 % of stools tested by the Microbial Panel in comparison with the traditional approach. Introducing the panels into routine diagnostic practice will not reduce the costs.

Conclusions: The introduction of novel multiplex molecular biology assays for detecting gastrointestinal pathogens will considerably increase pathogen detection rates even though the costs will be higher for the Department of Medical Microbiology.

Keywords: gastroenteritis, stool, rotavirus, adenovirus, astrovirus, norovirus, sapovirus, enterovirus, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Clostridium difficile*, *Escherichia coli*, *Aeromonas*, *Cryptosporidium*, *Entamoeba*, *Giardia*, PCR, AusDiagnostics

Adresa: Ing. Aleš Briksi, Ústav lékařské mikrobiologie, FN Motol, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5, e-mail: ales.briksi@fnmotol.cz

Došlo do redakce: 27. 11. 2019

Přijato k tisku: 17. 3. 2020

Úvod

Gastrointestinální (GI) infekce patří mezi nejčastější infekční onemocnění. V rozvojových zemích jsou tato zpravidla průjemová onemocnění často život ohrožující. Podle organizace UNICEF vedla průjemová onemocnění v roce 2000 celosvětově k úmrtí 1 237 792 dětí do pěti let věku [1]. I díky akčnímu plánu Světové zdravotnické organizace a organizace UNICEF „Ukončení preventabilních dětských úmrtí v důsledku pneumonie a průjmu do roku 2025“ [2] se pak podařilo snížit počet těchto případů v roce 2016 na 477 293 [1].

Určit kauzální agens vzniklého infekčního průjmu se ve velkém množství případů nedaří. Důvodem může být nedostatečná diagnostika – využívání méně citlivých technik (např. imunochromatografických metod pro průkaz virových agens [3]), či cílení na omezené spektrum patogenů. Nástup moderních technik syndromového testování pomocí molekulárně-biologických technik, založených na polymerázové řetězové reakci (PCR), umožňuje v řádu jednotek hodin určit konkrétní patogen z řad bakteriální, virové či parazitární infekce [4]. Mezi patogeny často zařazované do multiplexních panelů patří z bakterií *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, Shiga toxin produkující *Escherichia coli*, toxigenní kmen *Clostridioides (Clostridium) difficile*, *Yersinia enterocolitica*; z virů se jedná o Rotavirus, Norovirus, Adenovirus, Astrovirus, Sapovirus; a z parazitárních GI původců jsou zařazovány *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica* a *Giardia intestinalis*.

Proto bylo cílem naší studie zhodnotit naši dosavadní detekci a získat zkušenost s komerční molekulárně-biologickou detekcí GI patogenů.

Scientific Oxoid Ltd, Basingstoke, VB) s pomnožením v selenitovém bujónu (Dulab, s. r. o., Dubné, ČR) a následnou identifikací pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF. Pro kultivace *Campylobacter* byl použit speciální selektivní agar Karmali (Thermo Fisher Scientific Oxoid Ltd, Basingstoke, VB) inkubovaný v přítomnosti ochranné atmosféry. Rovněž pro kultivaci *Yersinia* bylo využito speciálního média – CIN agar (Thermo Fisher Scientific Oxoid Ltd, Basingstoke, VB) s pomnožením v Ossmerově bujónu (Dulab, s. r. o., Dubné, ČR). V případě *C. difficile* a průkazu jeho toxigenního kmene byla užívána detekce toxinu pomocí soupravy Quik Chek Complete (Abbott Laboratories, Abbot Park, USA), případně in-house PCR assay detekující gen pro toxin B [5]. Některé vzorky byly rovněž detekovány pomocí komerčního PCR enterického panelu (BD Max, Becton, Dickinson, Wokingham, UK), které zahrnovalo simultánní stanovení *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. *Shigella* spp./Entero- invazivní *Escherichia coli* (EIEC) a Shiga-toxin produkující *E. coli* (STEC/EHEC).

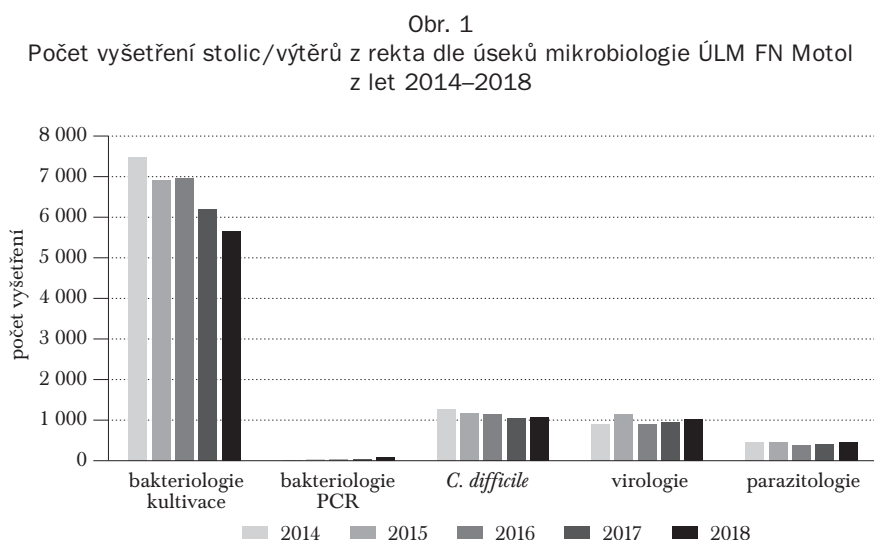
Rutinní detekce virových agens probíhala stanovením jejich antigenu pomocí imunochromatografických metod. Pro Rotavirus/Adenovirus byla využívána souprava Rapid-VIDITEST Rota-Adeno Card (Vidia, spol. s r. o., Vestec, ČR), pro Astrovirus Rapid-VIDITEST Astrovirus Card (Vidia, spol. s r. o., Vestec, ČR) a pro Norovirus RIDA®QUICK Norovirus (R-Biopharm, Darmstadt, SRN).

Pro průkaz parazitů bylo prováděno běžné parazitologické vyšetření (Flotační metoda dle Fausta, tlustý nátěr dle KATO), případně barvení pomocí Ziehl-Neelson pro průkaz Kryptosporidia. Pozitivní záchyty prvoků byly zasílány do NRL k dourčení specializovaným parazitologickým vyšetřením.

1.1 Materiál a metody

1.1.1 Standardní vyšetřovací metody a výskyt GI patogenů v letech 2014–2018

Standardní techniky detekce spočívaly v případě bakterií v kultivačních metodách. Pro bakterie *Salmonella*, *Shigella*, Shiga toxin produkující *Escherichia coli* (STEC) a *Aeromonas* se jednalo o kultivace na solidních kultivačních médiích – krevní agar (Columbia agar + sheep blood, Thermo Fisher Scientific Oxoid Ltd, Basingstoke, VB), Endova půda (Thermo Fisher Scientific Oxoid Ltd, Basingstoke, VB), deoxycholát citrátový agar (Thermo Fisher



Záchyt GI patogenů na ÚLM FN Motol byl hodnocen za pět let (2014–2018) a data byla získána z laboratorního informačního systému (LIS) Miclab (Steiner, s. r. o., Praha, Česká republika).

1.1.2 Izolace nukleových kyselin ze vzorků stolic

Bylo izolováno 182 vzorků stolic; převážně těch, které vyšly negativní na virové patogeny pomocí imunochromatografických metod. Izolace probíhala neprodleně po dodání vzorku do laboratoře pomocí silikátových kolonek komerčního kitu QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, SRN) dle instrukcí výrobce na izolačním přístroji QIAcube (Qiagen, Hilden, SRN). Ve zkratce, v 1 ml lyzačního pufru ASL (Qiagen, Hilden, SRN) byl homogenizován přibližně 1 ml stolice, centrifugováno 3 minuty při 2 900 x g a 140 µl supernatantu bylo použito k izolaci, kde došlo k lýzi pufrem AVL obsahující carrier RNA, aplikaci absolutního ethanolu a promývacích roztoků AW1 a AW2. Nukleová kyselina byla eluována do 100 µl AVE pufru a uchovávána při -80 °C do testování.

1.1.3 Technologie komerčních kitů firmy AusDiagnostics

Detekční kity využívají multiplex tandem PCR s reverzní transkripcí. Nukleová kyselina o objemu 10 µl je pipetována do stripů, kde v prvním kroku probíhá preamplifikační reakce (reverzní transkripce a 15 cyklů amplifikace). Reakční směs obsahuje směs primerů homologních ke všem detekovatelným cílům z dané soupravy. Následně jsou PCR produkty z prvního kroku naředěny vodou a mastermixem pro finální amplifikaci a jsou alikvotovány do jednotlivých pozic 384 jamkové mikrotitrační desky. V každé jamce je lyofilizován 1 pár primerů specifický pro každý detekovaný cíl. Detekce probíhá na real-time PCR analyzátoru High Plex pomocí interkalační fluorescenční barvy s finální analýzou

teplot tání. Výsledkem je informace o přítomnosti patogena a jeho kvantitě a specifitě amplifikovaného úseku nukleové kyseliny.

1.1.4 Vyšetřování stolic panelem Enteric Viruses (8-well) („Virový panel“)

Panem Enteric Viruses (EVP) (8-well) od firmy AusDiagnostics Pty. Ltd. (Mascot, AUS) bylo testováno 90 izolátů stolic v období prosinec 2018 až leden 2019. Souprava detekuje šest virových patogenů (Rotaviry skupiny A, Noroviry skupiny GI a GII, Enteroviry, Adenoviry skupiny F a G, Sapoviry a Astroviry).

1.1.5 Vyšetřování stolic panelem Faecal Pathogens M (16-well) („Mikrobiální panel“)

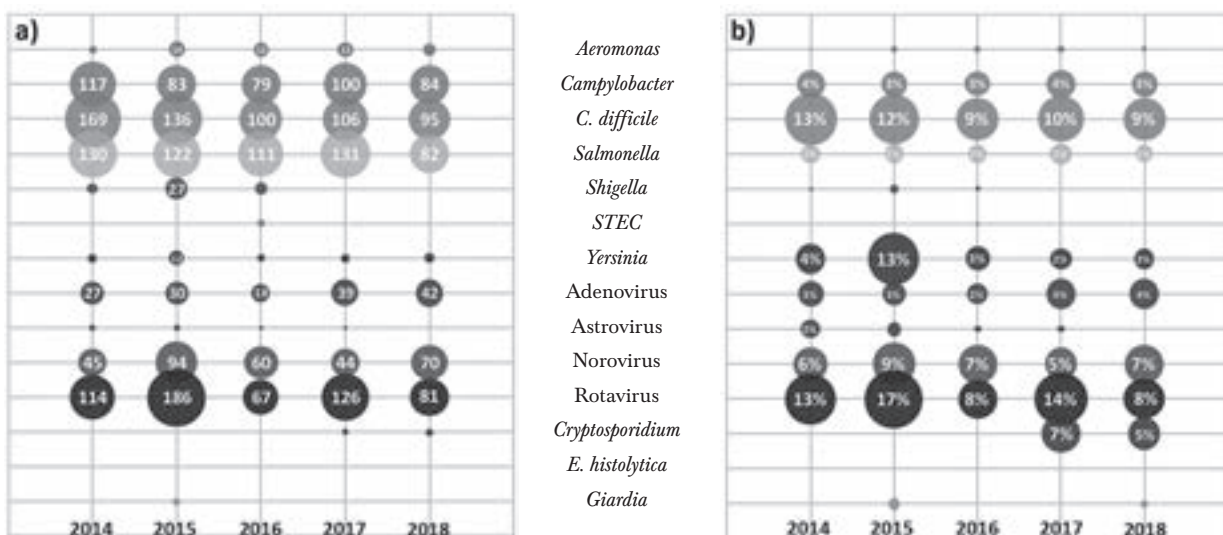
Panem Faecal Pathogens M (16-well) (FPM), rovněž od firmy AusDiagnostics Pty. Ltd. (Mascot, Austrálie), bylo testováno 92 izolátů stolic v období únor–březen 2019. Souprava využívá výše popsanou techniku a cílí proti sedmi bakteriálním cílům (*Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, toxin B *C. difficile*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia* a Shiga/Shiga like toxin 1 a 2), pěti virovým cílům (Rotavirus skupiny A, Norovirus skupiny GI a GII, Adenovirus skupiny F a G, Sapovirus a Astrovirus) a třem parazitárním cílům (*Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp. a *Entamoeba histolytica*).

1.1.6 Porovnání se standardními vyšetřovacími technikami

Data z molekulárně-biologických multiplexů byla srovnána se standardně využívanými diagnostickými technikami na ÚLM. Pro porovnání byly retrospektivně použity výsledky z LIS od vzorků GI traktu (stolice/výtěry z rektu), které nebyly rozdílné ± 3 dny od data příjmu stolice na virové patogeny.

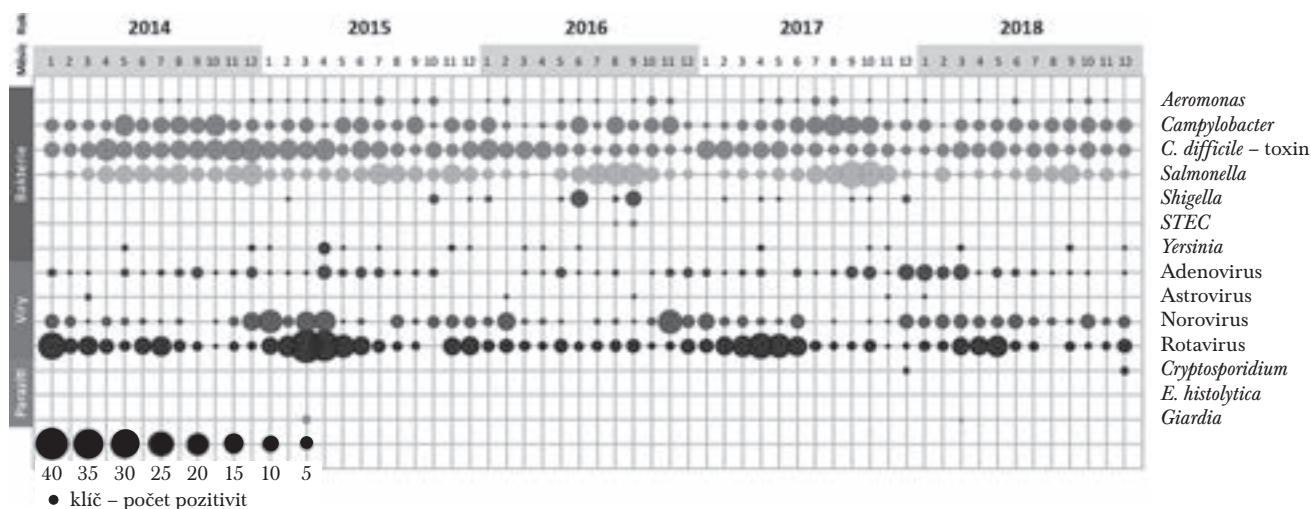
Obr. 2

Záchyt jednotlivých GI patogenů vyšetřovaných na ÚLM v letech 2014–2018; a) absolutní počet záchytů, b) procentuální zastoupení vztahované na počet vyšetřovaných vzorků (rozdílný počet pro jednotlivé patogeny)



Obr. 3

Měsíční výskyt jednotlivých patogenů (počet pozitivních nálezů) diagnostikovaných na ÚLM FN Motol v letech 2014–2018



1.1.7 Cenová kalkulace

Pro cenovou kalkulaci byly zahrnuty pouze ceny diagnostik s DPH bez nákladů na energie, personál a oprav přístrojů. Cena byla kalkulována pro rok 2018.

1.2 Výsledky

1.2.1 Výskyt GI patogenů v letech 2014–2018

Pomocí laboratorního informačního systému (LIS) bylo identifikováno 45 888 vzorků testovaných v průběhu let 2014–2018 na přítomnost GI patogenů pomocí kultivačních, imunochromatografických, mikroskopických a molekulárně-biologických metod. Vyšetření střevních patogenů bylo rozděleno do následujících skupin – bakteriologická kultivace (vyjma vyšetření *C. difficile*), molekulárně-biologické stanovení bakterií (PCR enterický panel, viz sekce 4.2.5.), průkaz *C. difficile*, parazitologické vyšetření a virologické vyšetření.

Vzorky GI traktu (výtěr z rektu, případně stolice) byly rutinně nejvíce zasílány na bakteriologickou kultivaci, ať už základní, či cílenou. Zároveň v této skupině došlo k nejvyššímu poklesu počtu vyšetření v průběhu sledovaných pěti let, a to ze 7 472 vyšetření v roce 2014 na 5 649 vyšetření v roce 2018. Oproti tomu zanedbatelná část (59 vyšetření v roce 2018) byla provedena pomocí molekulárně-biologických technik na bakteriální původce průjmovitých onemocnění. Na průkaz *C. difficile* bylo během pěti let každý rok zasíláno přibližně stejné množství vzorků stolic, a to průměrně 1 135 vzorků za rok. V průměru 973 vyšetření bylo provedeno na průkaz alespoň jednoho původce virových gastroenteritid a průměrně 417 stolic bylo zasláno na parazitologické vyšetření (obr. 1).

Celkový záchyt pozitivních patogenů získaných z LIS, které jsou zahrnuty do FPM panelu od AusDiagnostics, představoval 6,2 % všech zaslaných vzorků, přičemž záchytnost patogenů klesala v pořadí viry (21,6 %), bakterie

(4,5 %) a paraziti (0,4 %) ze všech vzorků zaslaných v dané kategorii. Jejich konkrétní procentuální zastoupení vztahované na počet vyšetření je uvedeno na obr. 2a, b. Z nich je patrné, že nejčastěji zachytávanými patogeny byly *Campylobacter*, *Salmonella*, toxigenní kmen *C. difficile*, Noroviry a Rotaviry, v menší míře Adenoviry, *Aeromonas*, *Yersinia* a z parazitů nejčastěji *Cryptosporidium*. Ostatní patogeny byly našimi technikami detekovány velmi výjimečně nebo vůbec.

Měsíční výskyt jednotlivých patogenů je ilustrován na obr. 3. Jednotlivé roky se výskytem patogenů od sebe liší, lze však vypořádat některé trendy. V letních a podzimních měsících lze pozorovat častější záchyt *Salmonella* a *Campylobacter*, zato v zimních a jarních měsících dominují virové infekce jako Rotavirus a Norovirus. Oproti tomu *C. difficile* nevykazuje sezonalitu.

Co se týče výskytu GI patogenů u jednotlivých věkových kategorií (obr. 4), *C. difficile* jasně dominuje ve věkové kategorii 60+; zároveň je zřejmé, že se v této kategorii vyskytují také Norovirus a Rotavirus. *Salmonella* a *Campylobacter* nevykazují větší rozdíly mezi věkovými kategoriemi. Oproti tomu virové infekce (Norovirus, Rotavirus, Adenovirus) se častěji vyskytují u dětí a *Yersinia* dominuje u dětí do 15 let.

1.2.2 Validita PCR testovaných vzorků

Validně se podařilo vyšetřit 90 testovaných vzorků, jak pomocí virového, tak pomocí mikrobiálního panelu (celkem 180 vzorků), přičemž 2 vzorky z FPM panelu byly hodnoceny podle návodu jako nevalidní z důvodu špatné detekce interní kontroly.

1.2.3 Záchyt GI patogenů pomocí PCR

Zastoupení pozitivních GI patogenů vyšetřovaných pomocí obou komerčních panelů (virového i mikrobiálního) znázorňuje obr. 5. Nejčastěji (19 %) z testovaných vzorků byl zachycen toxin B *C. difficile* a následně v sestupném

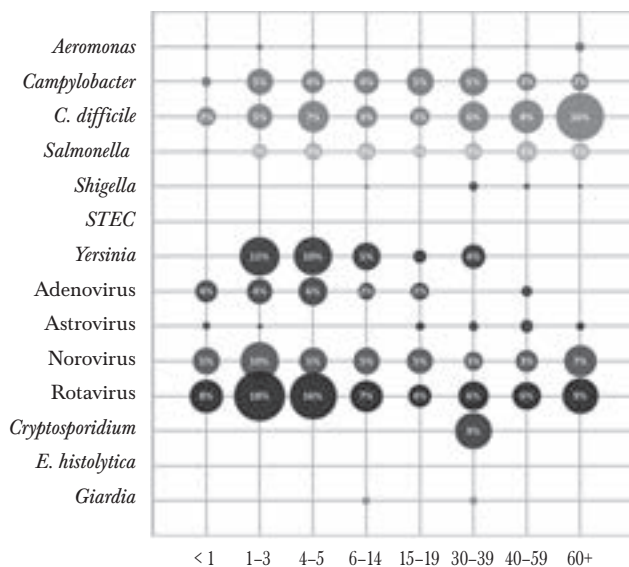
pořadí Norovirus (9 %), Astrovirus (8 %), *Campylobacter* (7 %), Sapovirus (6 %), *Yersinia* (6 %), Rotavirus (4 %), Enterovirus (3 %), *Aeromonas* (3 %), Adenovirus (2 %) a *Salmonella* (1 %). Ve sledovaném období nebyly zachyceny patogeny: *Shigella*, STEC, *Cryptosporidium* spp., *E. histolytica* a *Giardia intestinalis*.

Vícečetné nálezy patogenů (tabulka 1) v jednom vzorku se vyskytovaly u 3,3 % vzorků „Virového“ EVP panelu

a 10 % vzorků „Mikrobiálního“ FPM panelu. U 27 % stolic EVP panelu byl zjištěn navíc alespoň 1 nový nálezy v porovnání se současnými vyšetřovacími metodami a v případě „Mikrobiálního“ FPM panelu se jednalo o 40 %. Počet nově zjištěných patogenů pomocí multiplexního PCR v porovnání se současným vyšetřovacím postupem na ÚLM, kdy vyšetření je indikováno žádajícím lékařem, udává tabulka 2. Je z ní patrné, že nejčastěji jsou pomocí PCR nově detekovány virové patogeny (Norovirus – 13x, Astrovirus – 13x, Sapovirus – 11x), ale výrazně je zvýšena i detekce kampilobakteru (6 nových záchytů pomocí PCR). Porovnání PCR se současnou diagnostikou pro jednotlivé patogeny je uvedeno v tabulce 3, ze které je patrné, že pomocí molekulární diagnostiky je detekováno výrazně větší množství patogenů.

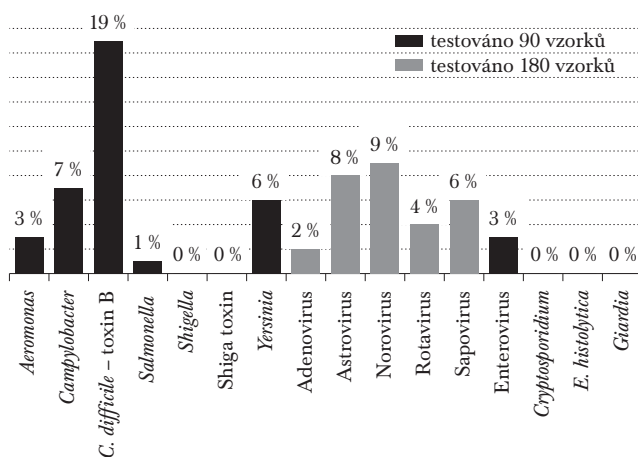
Obr. 4

Procentuální zastoupení GI patogenů v jednotlivých věkových kategoriích vyšetřovaných na ÚLM FN Motol v letech 2014–2018



Obr. 5

Procentuální zastoupení pozitivních nálezů jednotlivých GI patogenů detekovaných pomocí multiplexních PCR panelů (virového EVP a mikrobiálního FPM)



1.2.4 Odhad nákladů detekce

Ceny jednotlivých detekcí vzorků pomocí virového a mikrobiálního panelu se odvíjejí od počtu vzorků, které jsou simultánně vyšetřovány na přístroji Easy Plex/High Plex od AusDiagnostics. Lze najednou vyšetřit až 22 vzorků, když se započítá negativní a pozitivní kontrola v každém běhu. V rámci cenové kalkulace je započítávána i izolace NK ze vzorku stolice.

Panel Enteric Viruses (8-well) – Za předpokladu vyšetřování virového panelu jednou denně během pracovního týdne, průměrný počet vyšetřovaných vzorků odpovídá přibližně 4 vzorkům na den (1 008 vzorků stolic za rok 2018). V případě zrušení současné imunochromatografické detekce virů a po započítání množstevní slevy od distributora by se po zavedení tohoto panelu ročně zvýšily náklady pracoviště o 372 477 Kč, měsíčně pak o 31 040 Kč.

Panel Faecal Pathogens M (16-well) – Za předpokladu vyšetřování mikrobiálního panelu jednou denně každý den v týdnu, průměrný počet vyšetřovaných průjmových stolic je odhadem 7 vzorků na den (odhad 2 500 průjmových vzorků za rok 2018). V případě zrušení některé současné mikrobiální diagnostiky a po započítání množstevní slevy od distributora by se po zavedení tohoto panelu ročně zvýšily náklady pracoviště o 1 538 006 Kč, měsíčně pak o 128 167 Kč.

1.3 Diskuze

Na ÚLM FN Motol se stejně jako na kterémkoliv jiném mikrobiologickém ústavu vyšetřují patogeny ze stolice či výtěru z rektu. Nejčastěji jsou zasílány vzorky na bakteriologickou kultivaci. Může to být zapříčiněno faktem, že kultivace se provádí ve většině případů z výtěrů z rektu, jejichž získání od pacientů je logisticky jednodušší než čekat na vzorek stolice nutný pro ostatní diagnostiku. Zároveň je třeba zmínit, že všechny vzorky na bakteriologickou kultivaci nepocházejí od pacientů s průjmem, ale velmi často se jedná o screeningové vyšetření imunosuprimovaných pacientů a kontrolu jejich střevního bakteriomu s důrazem na kontrolu antibiotické rezistence pro případ nutnosti léčby. Přesné vyčíslení, kolik výtěrů z rektu pochází od pacientů s průjmem, bohužel nelze z LIS získat. Oproti tomu vzorky stolice pro stanovení *C. difficile*, virů a parazitů se screeningově neodesílají a vždy je ošetřujícím lékařem cíleně vysloveno podezření na danou infekci. Nutno podotknout, že

ne vždy se přesné zacílení povede z důvodu překrývajících se klinických příznaků, a proto mohou unikat nediaagnostikované patogeny.

Z komunitních bakteriálních průjmů byla častěji detekována *Salmonella* než *Campylobacter*. Při vztažení nálezů na počet provedených vyšetření (obr. 2b) se *Campylobacter* jeví jako častější původce komunitního průjmu než *Salmonella*, což je již v souladu s epidemiologickými daty ČR publikovanými Státním zdravotním ústavem – Praha (SZÚ) [6] a celoevropskými daty European Centre for Disease and Control (ECDC) [7].

Porovnání frekvencí výskytu toxigenního kmene *C. difficile* s publikovanými daty jednoduše nelze, neboť jsou data uváděna jako incidence vztažená na počet ošetřovacích dní, která stoupá od roku 2008 (tři české nemocnice; incidence 1,1 případů na 10 000 ošetřovacích dní) do roku 2015 (27 českých nemocnic; incidence 7,7 případů na 10 000 ošetřovacích dní) [8]. Naše data ukazují lehký pokles nálezů toxigenního kmene mezi roky 2014–2018, což naznačuje stabilizaci pozitivních záchytů ve FN Motol kolem 10 % ze všech zaslaných stolic na toto vyšetření.

Ještě častěji než *C. difficile*, *Salmonella* a *Campylobacter* jsou zachytávány infekce způsobené virovými patogeny, zejména rotaviry a noroviry, což neodpovídá datům SZÚ, kdy v řešeném období byl záchyt virových původců střevních infekcí obdobný v případě salmonelózy a poloviční v případě kampilobakteriázy [6]. Lze jen spekulovat, zda je to způsobeno obecným poddiagnostikováním patogenů, či záchyty nejsou řádně hlášeny.

Z obrázku 2b se zdá, že rovněž výskyt yersiniových a kryptosporidiových infekcí není sporadický. Jedná se však nejspíše o chybu malých čísel. Záchyty jsou výjimečné i z důvodu nízkého počtu vyšetření.

Limity celého výše zmíněného porovnávání jsou v použití rozdílných vyšetřovacích technik pro jednotlivé patogeny, které mají různé senzitivity a specifity. Je tedy pravděpodobné, že uváděné nálezy jsou oproti realitě podhodnoceny. Fajfr et al. [3] uvádějí ve své studii, že senzitivita jejich užívaných imunochromatografických technik pro průkaz virů je ve srovnání s PCR nižší, a to 75 % pro rotavirus, 66,7 % pro norovirus a 40 % pro adenovirus. Obdobné je to v případě parazitárních infekcí. Morgan et al. [9] uvádějí, že senzitivita mikroskopie pro průkaz *Cryptosporidium* vůči PCR činí 83,7 %. I naše data uvedená v tabulce 3 potvrzují nižší citlivost imunochromatografických testů, speciálně pro Astrovirus, kde navíc 4 z 5 pozitivních vzorků nebyly potvrzeny metodou PCR. V důsledku toho byla původní imunochromatografická diagnostika Astrovirů neprodleně zrušena.

Pro přesnější porovnání četnosti jednotlivých infekcí je nezbytné používat stejně citlivé metody a vyšetřit celé spektrum patogenů. Multiplexní molekulárně-biologické techniky splňují tato kritéria, ale mají také své limity. Často cílí jen na nejčastější původce a netypické či raritní druhy lidských patogenů mohou unikat. V testovaných soupravách od firmy AusDiagnostics se například vyskytuje cíl pro Rotavirus skupiny A, ale chybí cíle pro Rotavirus B, C a H, které u lidí mohou průjmová onemocnění rovněž vyvolávat [10]. Také je v panelu zařazen cíl pro Adenovirus skupiny F a G, ale i Adenoviry z ostatních skupin mohou způsobit GI

obtíže, zejména u malých dětí či imunosuprimovaných osob [11,12].

U molekulárně-biologických testů cílených na gen *tcdA* (Toxin A) a/nebo *tcdB* (toxin B) *C. difficile* se udává jejich vysoká senzitivita, a je proto doporučována Evropskou společností klinické mikrobiologie a infekčních nemocí (ESCMID) jako možný screeningový test [13]. Limitací

Tabulka 1
Počet vícečetných nálezů ve vzorcích detekovaných pomocí EVP a FPM panelu

Počet pozitivit	EVP „Virový“ panel	FPM „Mikrobiální“ panel
0	59	47
1	28	34
2	3	7
3	0	2

Tabulka 2
Počet nově zjištěných patogenů pomocí multiplexního PCR ze všech testovaných stolic v porovnání se současným vyšetřovacím postupem na ÚLM, kdy vyšetření je indikováno žádajícím lékařem (jako nově zjištěný patogen pomocí PCR bráno tehdy, když stolice klasickými technikami vyšla negativní na konkrétní patogen nebo když nebyla na konkrétní patogen vůbec testována)

Patogen	EVP „Virový“ panel	FPM „Mikrobiální“ panel
<i>Aeromonas</i>		3
<i>Campylobacter</i>		6
<i>C. difficile</i> – toxin B		8
<i>Salmonella</i>		0
<i>Shigella</i>		0
STEC		0
<i>Yersinia</i>		5
Adenovirus	3	0
Astrovirus	1	12
Norovirus	11	2
Rotavirus	2	2
Sapovirus	6	5
Enterovirus	3	
<i>Cryptosporidium</i>		0
<i>E. histolytica</i>		0
<i>Giardia</i>		0

panelu FPM může být detekce pouze jednoho z genů pro produkci toxinů u *C. difficile*. Gen *tcdB* (toxin B), je ale cílovým místem u většiny komerčních souprav [14], pravděpodobně z důvodu šíření kmenů *C. difficile*, které produkují pouze toxin B a nikoliv toxin A [15]. Cílení na oba geny produkující toxiny A a B by mohlo zvýšit senzitivitu testu.

Zároveň je komerční assay pro laboratorního pracovníka černou schránkou, kde výrobci často neposkytují detailní informace o designu své soupravy. Někteří výrobci uvedou alespoň přesnější výčet skupin, typů a subtypů patogenů, která daná assay detekuje, ale nikdy si nemůžeme být v případě negativity jisti, zda se neobjevil nový kmen konkrétního patogenu s mutacemi ve svém genetickém kódu a užívání souprava ho nezachytí. Příkladem může být častá genetická variabilita Noroviru, kde nová varianta viru nese s sebou vznik nových epidemií [16].

S jistou opatrností se musejí interpretovat pozitivní nálezy toxinu B *C. difficile* v Mikrobiálním panelu. Není doporučováno testování formované stolice, neboť v případě pozitivivity může dojít k průkazu asymptomatického nosičství toxigenního kmene, nikoliv ke kauzálnímu agens způsobujícímu průjem [8]. Obdobně problematické je i testování stolic u dětí mladších tří let věku z důvodu zvýšeného výskytu asymptomatické kolonizace toxigenními kmeny

C. difficile [17]. Rovněž průkaz enterovirů ve stolici musí být interpretován s opatrností, neboť se nemusí jednat o vyvolavatele průjmu [18].

I přes výše uvedené limity by oba testované panely zkvalitnily záchyt patogenů ze stolice v porovnání se současným stavem na ÚLM FN Motol. Ve velké míře by zrychlily diagnostický proces detekce bakterií a parazitů a omezily by poddiagnostikování patogenů z důvodu chybného zacílení na určitá agens od indikujících lékařů. Nedocházelo by tak následně ke špatné interpretaci GI obtíží a jejich přisuzování například akutnímu zhoršení autoimunitních nemocí (Crohnova choroba, ulcerózní kolitida...), toxickému působení specifické farmakoterapie či dalších léčebných modalit u pacientů. Díky tomu by pak nedocházelo ani k neindikovaným změnám v terapii a dávkování z důvodu zmíněné špatné interpretace nově vzniklých obtíží.

Zároveň se může zavedením molekulárně-biologických technik zkvalitnit epidemiologický management v nemocnicích, což povede k pravděpodobnému snížení nozokomiálních infekcí. Kenneth et al. [19] uvádějí v jejich retrospektivní studii, kdy testovali průjemové stolice pomocí platformy BioFire® FilmArray® Gastrointestinal Panel (BioFire Diagnostics), že 60 % testovaných pacientů, kteří byli pozitivní na nějaký patogen, nebylo v izolaci a 24,5 % pacientů bylo naopak v izolaci bez průkazu jakéhokoliv infekčního agens. V prospektivní studii Halligana et al. [20], kde zavedli hlášení výsledků stolic vyšetřovaných panelem xTAG® Gastrointestinal Pathogen (Luminex), uvádějí, že pouze 8 % pacientů s průjmy a prokázaným mikrobiologickým agens nebylo dáno do izolace a 49 % negativních pacientů bylo vyjmuto z izolace. Závisí ale také na konkrétní nemocnici, zda její dispoziční řešení vůbec umožňuje izolaci jednotlivých pacientů. Pokud ano, lze dostat šíření GI infekcí pod větší kontrolu.

Pokud se podíváme na výsledek ekonomické studie, zacílené pouze pro naše pracoviště ÚLM, zavedením ani jednoho z testovaných molekulárně-biologických panelů a následným zrušením části současné diagnostiky se bohužel nedosáhne výsledného ušetření. Navýšení rozpočtu o 31 040 Kč měsíčně pro Virologický panel bylo ještě akceptovatelné v porovnání s přidanou diagnostickou hodnotou zmíněného panelu, proto byla tato metoda zavedena do rutinního provozu naší laboratoře v srpnu 2019. V neprospěch zavedení Mikrobiálního panelu svědčila kromě finanční stránky i složitější implementace do rutinního provozu na ÚLM. Ekonomická studie pro celou nemocnici ohledně úspor při zavedení molekulárně-biologických panelů nebyla vyčíslena. Dle studie Beal et al. [21] lze předpokládat, že dojde k celkovému ušetření finančních nákladů nemocnice. Ve zmíněné studii vyčíslili po 1 roce testování, že po zavedení platformy BioFire® FilmArray® Gastrointestinal Panel (BioFire Diagnostics) do jejich rutinního provozu došlo ke snížení nákladů na 1 pacienta o 293,61 \$ ve srovnání s referenčním obdobím, přičemž náklady na 1 test byly poměrně vysoké – 155 \$. Uvedli i další pozitiva – došlo k omezení dodatečného testování a zasílání množství vzorků, ke snížení užívání ATB a k celkovému zkrácení délky pobytu pacienta v nemocnici. Lze proto předpokládat, že by mohlo být ve výsledné bilanci celonemocniční péče výhodné i zavedení FPM panelu do rutinního provozu.

Tabulka 3

Paralelní srovnání současné diagnostiky s výsledky PCR

Patogen	Současná diagnostika		PCR
	Počet vyšetření	Počet pozitivit (%)	Počet pozitivit (%)
<i>Aeromonas</i>	59	0 (0)	3 (5,1)
<i>Campylobacter</i>	46	0 (0)	3 (6,5)
<i>C. difficile</i> – toxin B	46	5 (10,9)	12 (26,1)
<i>Salmonella</i>	59	1 (1,7)	1 (1,7)
<i>Shigella</i>	59	0 (0)	0 (0)
STEC	59	0 (0)	0 (0)
<i>Yersinia</i>	4	0 (0)	0 (0)
Adenovirus	166	2 (1,2)*	4 (2,4)
Astrovirus	130	5 (3,8)**	14 (10,8)
Norovirus	159	5 (3,1)*	17 (10,7)
Rotavirus	166	5 (3,0)***	7 (4,2)
Sapovirus	0		
Enterovirus	0		
<i>Cryptosporidium</i>	5	0 (0)	0 (0)
<i>E. histolytica</i>	5	0 (0)	0 (0)
<i>Giardia</i>	5	0 (0)	0 (0)

* 1 pozitivní nález byl negativní pomocí PCR

** 4 pozitivní nálezy byly negativní pomocí PCR

*** 2 pozitivní nálezy byly negativní pomocí PCR

Závěr

Na ÚLM FN Motol byly v letech 2014–2018 ve stolicích nejčastěji detekovány *Salmonella*, *Campylobacter*, toxigenní kmen *C. difficile*, Rotaviry a Noroviry, v menší míře Adenoviry a ojedinele *Shigella*, STEC, *Aeromonas*, *Yersinia*, Astrovirus, *Cryptosporidium* a *Giardia*. Zavedením multiplexních molekulárně-biologických panelů pro stanovení gastrointestinálních patogenů se zvýší záchyt patogenů, včetně dosud nediodagnostikovaných, zlepší se péče o pacienty a epidemiologický dozor nad infekcemi. Klinická laboratoř 21. století by měla zařadit moderní molekulárně-biologické diagnostické techniky do svého rutinního provozu.

Poděkování

Děkujeme firmě BioVendor – Laboratorní medicína, a. s. s poskytnutím testovaných detekčních kitů firmy AusDiagnostics a kolegům z Ústavu lékařské mikrobiologie FN Motol za cenné rady a spolupráci při provádění cenové kalkulace.

Seznam zkratk

CIN agar	– Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin agar
EIEC	– enteroinvazivní <i>Escherichia coli</i>
EHEC	– enterohemoragické <i>Escherichia coli</i>
ESCMID	– European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
FPM	– Faecal Pathogens M (16-well)
EVP	– Enteric Viruses Panel (8-well)
FN	– fakultní nemocnice
GI	– gastrointestinální
LIS	– laboratorní informační systém
MALDI	– matrix assisted laser desorption/ionization
NK	– nukleová kyselina
PCR	– polymerázová řetězová reakce
RT-PCR	– polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí
STEC	– Shiga toxin produkující <i>Escherichia coli</i>
SZÚ	– Státní zdravotní ústav – Praha
TOF	– time-of-flight
ÚLM	– Ústav lékařské mikrobiologie

Literatura

- United Nations Children's Fund. Diarrhoeal Disease – UNICEF DATA [Internet]. Unicef. 2018. Available from: <https://data.unicef.org/topic/child-health/diarrhoeal-disease/#>
- The Integrated Global Action Plan for the Prevention and Control of Pneumonia and Diarrhoea (GAPPD) Ending Preventable Child Deaths from Pneumonia and Diarrhoea by 2025 [Internet]. Available from: www.paprika-annecy.com
- Fajfr M, Stepanova V, Pliskova L. Viral gastroenteritis in Eastern Bohemia Region of the Czech Republic. *Epidemiol Mikrobiol Immunol*. 2014;63(2):88–91.
- Hannet I, Engsbro AL, Pareja J, Schneider UV, Lisby JG, Pružinec-Popović B, et al. Multicenter evaluation of the new QIAstat Gastrointestinal Panel for the rapid syndromic testing of acute gastroenteritis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10096-019-03646-4>
- Persson S, Torpdahl M, Olsen KEP. New multiplex PCR method for the detection of *Clostridium difficile* toxin A (tcdA) and toxin B (tcdB) and the binary toxin (cdtA/cdtB) genes applied to a Danish strain collection. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(11):1057–1064.
- Výskyt vybraných hlášených infekcí v České republice hlášených v letech 2009–2018. Available from: <http://www.szu.cz/publikace/data/2018/vyskyt-vybranych-infekci-v-ceske-republice-hlasenych-v>
- The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/zoonoese-food-borne-outbreaks-surveillance-2017-updated.pdf>
- Krůtová M, Nyč O. Aktualizace českých doporučených postupů pro laboratorní diagnostiku infekcí vyvolaných *Clostridium difficile*. *Epidemiol Mikrobiol Immunol*. 2018;67(2):92–95.
- Morgan UM, Pallant L, Dwyer BW, Forbes DA, Rich G, Thompson RC. Comparison of PCR and microscopy for detection of *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens: clinical trial. *J Clin Microbiol* 1998;36(4):995–998. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9542924>
- Moutělková R, Prodělalová J. Možnosti zoonotického přenosu rotavirových infekcí. *Epidemiol Mikrobiol Immunol*. 2015;(2):66–71.
- Lion T. Adenovirus infections in immunocompetent and immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(3):441–462.
- Lynch J, Kajon A. Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Semin Respir Crit Care Med*. 2016;37(04):586–602. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0036-1584923>
- Crobach MJT, Planché T, Eckert C, Barbut F, Terwee EM, Dekkers OM, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22:S63–81.
- Gateau C, Couturier J, Coia J, Barbut F. How to: diagnose infection caused by *Clostridium difficile*. *Clinical Microbiology and Infection*. *Elsevier B. V.* 2018(24):463–468.
- Drudy D, Fanning S, Kyne L. Toxin A-negative, toxin B-positive *Clostridium difficile*. *International Journal of Infectious Diseases*. *Elsevier* 2007;11:5–10.
- Siebenga JJ, Vennema H, Renckens B, De Bruin E, Van Der Veer B, Siezen RJ, et al. Epochal Evolution of GGII.4 Norovirus Capsid Proteins from 1995 to 2006. *J Virol*. 2007;81(18):9932–9941.
- Bryant K, McDonald LC. *Clostridium difficile* Infections in Children. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28(2):145–146.
- Romero JR. Enteroviruses. In: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, editors. *Clinical virology*. Fourth ed. Washington DC: ASM Press 2017; p 1129.
- Rand KH, Tremblay EE, Hoidal M, Fisher LB, Grau KR, Karst SM. Multiplex gastrointestinal pathogen panels: Implications for infection control. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015;82(2):154–157.
- Halligan E, Edgeworth J, Bisnauthsing K, Bible J, Cliff P, Aarons E, et al. Multiplex molecular testing for management of infectious gastroenteritis in a hospital setting: A comparative diagnostic and clinical utility study. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(8):O460–O467.
- Beal SG, Tremblay EE, Toffel S, Velez L, Rand KH. A Gastrointestinal PCR Panel Improves Clinical Management and Lowers Health Care Costs. 2017; <https://doi.org/10.1128/JCM>

Naše zkušenosti s laboratorní diagnostikou rotavirů

M. DVOŘÁKOVÁ HEROLDOVÁ¹, R. MOUTELÍKOVÁ², V. HOLÁ¹,
M. DVOŘÁČKOVÁ¹, J. PRODĚLALOVÁ²

¹Mikrobiologický ústav, LF MU a FN u sv. Anny v Brně; ²Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.

SOUHRN

Dvořáková Heroldová M., Moutelíková R., Holá V., Dvořáčková M., Prodělalová J.: **Naše zkušenosti s laboratorní diagnostikou rotavirů**

Cíl práce: Rotaviry skupiny A (RVA) patří k hlavním původcům gastroenteritid u dětí do pěti let věku a rovněž jsou významným nosokomiálním patogenem u dětí i dospělých. V Evropě jsou zastoupeny genotypy: G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8] a G12P[8]. Rotavirová infekce často působí závažnou dehydrataci. V České republice bývá ročně hospitalizováno 3–5 tisíc dětí z důvodu akutní rotavirové gastroenteritidy. Cílem práce bylo zjistit výskyt rotavirů u pacientů s podezřením na akutní virovou gastroenteritidu.

Materiál a metody: Celkem jsme od března 2016 do konce roku 2018 vyšetřili 1 566 vzorků stolice od pacientů s příznaky akutní gastroenteritidy na přítomnost rotaviru (RVA). Vzorky byly vyšetřeny imunoenzymatickou metodou (EIA), rychlým imunochromatografickým testem (ICT) a kvantitativní reverzní transkripční real-time polymerázovou řetězovou reakcí (RT-qPCR). Všechny vzorky pozitivní na RVA byly typizovány Sangerovou sekvenací.

Výsledky a závěr: Přítomnost RVA byla zjištěna v 214 z celkového počtu 1 566 vzorků, tj. 13,7 %. U mužů byl zaznamenán vyšší výskyt rotavirů (58,9 %) než u žen (41,1 %) (z 214 pozitivních vzorků). Procento pozitivity se pohybovalo u různých věkových skupin od 1 % do 33 %. Nejvíce pozitivních pacientů patřilo do věkové skupiny 4–5 let 30 z 92 (32,6 %). Byl prokázán statisticky významný rozdíl ve výskytu rotavirů mezi jednotlivými věkovými skupinami ($p = 0,3946$). Převládajícími genotypy RVA byly G1P[8], G9P[8], G3P[8], G2P[4] a G8P[8]. Neobvyklý byl záchyt genotypu G8P[8]. Získané výsledky ukazují, že výskyt rotavirových nákaz v ČR je i přes možnost očkování stále vysoký.

Klíčová slova: rotavirus A, gastroenteritida, epidemiologie, genotypy

SUMMARY

Dvořáková Heroldová M., Moutelíková R., Holá V., Dvořáčková M., Prodělalová J.: **Our experience in laboratory diagnosis of rotaviruses**

Objective: Group A rotavirus (RVA) is one of leading causes of gastroenteritis in children under five years of age and is also an important nosocomial pathogen. In Europe, the most prevalent genotypes of RVA are G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8] and G12P[8]. Severe dehydration is the most important complication of RVA gastroenteritis. Each year, rotavirus infection is responsible for 3,000 to 5,000 hospitalizations of children in the Czech Republic. The aim of this study was to detect rotaviruses in patients with suspected acute viral gastroenteritis.

Methods: A total of 1 566 stool samples were obtained from patients with acute gastroenteritis from March 2016 to December 2018. All samples were tested by the enzyme immunoassay, rapid immunochromatographic test and quantitative reverse transcription PCR assay to detect RVA. All RVA positive samples were G- and P-typed by Sanger sequencing.

Results and conclusion: RVA was detected in 13.7 % of the samples (214/1566). The incidence of RVA was 58.9 % (126/214) in males and 41.1 % (88/214) in females. The percentages of positivity ranged from 1 % to 33 % in different age groups. The highest proportion of positive patients was in the age group 4–5 years, 32.6 % (30/92). There was a significant difference in the incidence of rotaviruses between different age groups ($p = 0.3946$). The prevalent RVA genotypes were G1P[8], G9P[8], G3P[8], G2P[4] and G8P[8]. The detection of the G8P[8] genotype was unusual. The obtained results show that despite the possibility of vaccination, the incidence of RVA infection remains high in the Czech Republic.

Keywords: rotavirus A, gastroenteritis, epidemiology, genotypes

Klin mikrobiol inf lék 2019;25(4):140–144

Adresa: Mgr. Monika Dvořáková Heroldová, Ph. D., Mikrobiologický ústav, LF MU a FN u sv. Anny v Brně, Pekařská 53, 656 00 Brno, e-mail: monika.heroldova@fnusa.cz

Došlo do redakce: 8. 12. 2019

Přijato k tisku: 18. 2. 2020

Úvod

Rotaviry (RV) náleží do čeledi *Reoviridae* a byly popsány v r. 1973. Svůj název dostaly podle typického vzhledu v elektronovém mikroskopu, kde připomínají ozubená kola. Rotaviry mají trojitou kapsidu kubické symetrie o velikosti 65–75 nm, jsou neobalené. Vnější kapsida je složena ze dvou povrchových proteinů VP4 (P protein, proteáza senzitivní) a VP7 (G protein, glykoprotein). Ve vnitřní vrstvě kapsidy se nachází důležitý strukturální protein VP6 [1]. Na základě antigenní struktury a sekvence nukleotidů pro povrchový glykoprotein VP7 rozlišujeme v současné době 35 G genotypů a podle antigenní struktury a sekvence nukleotidů pro povrchový protein VP4 50 P genotypů [2]. Existuje tak velké množství kombinací G/P typů. To je podkladem pro binomickou typizaci jednotlivých kmenů rotavirů. Podle posledních informací, uveřejněných na European rotavirus surveillance net (EuroRotaNet), je v Evropě rozšířeno 6 genotypů G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8] a G12P[8], [3]. Podle struktury proteinu VP6 se dělí rotaviry do devíti skupin A–I [2]. Onemocnění člověka vyvolávají převážně rotaviry náležející do skupiny A (RVA). Ty mohou infikovat i další savce a ptáky. Rotaviry skupiny B byly popsány jako původci infekcí u dospělých v Asii, ale byly detekovány i u hospodářských zvířat. Rotaviry skupiny C se vyskytují v humánním klinickém materiálu vzácně. Bývají izolovány hlavně u prasat [4]. Rovněž rotaviry skupiny H mohou způsobit infekce člověka [5]. Rotaviry náležející do skupin D–G a I nebyly zatím v lidské populaci zachyceny [2,4,5].

Genom rotavirů představuje dvouvláknová RNA, skládající se z 11 segmentů. Každý segment kóduje alespoň jeden nestrukturální nebo strukturální protein. Segmentovaný genom rotavirů umožňuje tzv. genomické přeskládání (reassortment, výměna segmentů mezi kmeny), které vede ke vzniku nových antigenních typů a zároveň umožňuje šíření zvřecích typů rotavirů do lidské populace [6,7].

RVA jsou celosvětově nejdůležitějšími původci závažných průjmů u kojenců a malých dětí (do pěti let věku). Typickými příznaky akutní rotavirové gastroenteritidy (RVGE) jsou průjem, zvracení, bolesti břicha a vysoká horečka. Nejnebezpečnějším příznakem je dehydratace. Délka trvání onemocnění je 5–7 dní. Nejvíce ohroženou skupinou jsou děti asi od 4 měsíců do 3 let věku, u kterých dochází k primoinfekci. U novorozenců probíhá infekce většinou bez klinických příznaků díky ochrannému účinku mateřských protilátek. U dospívajících a dospělých probíhá onemocnění většinou inaparentně nebo s mírnými příznaky [1,7].

Rotavirová infekce je vysoce nakažlivá z důvodu nízké infekční dávky 10–100 virionů a velkého množství virových částic vylučovaných ve stolici (10^{11} /ml stolice). Ty mohou být při těžším průběhu onemocnění vylučovány i několik týdnů. Nejběžnější způsob přenosu je fekálně-orální, ale je možný i přenos kontaminovanou vodou, potravinami a předměty, např. hračkami [1,7]. Rotavirová gastroenteritida se často vyskytuje v epidemiích a jako nozokomiální nákaza u dětí i dospělých [7,8,9].

Obdobím nejčastějšího výskytu rotavirových infekcí pro země ležící v mírném podnebném pásu jsou zimní a jarní měsíce [3,8]. Rotaviry jsou celosvětově odpovědné za 25–35 % úmrtí v důsledku gastroenteritidy u dětí do 5 let

(150 000 úmrtí v roce 2015) [10]. V zemích Evropské unie (EU) bývá ročně hospitalizováno 75 až 125 tisíc dětí do 5 let z důvodu akutní RV gastroenteritidy a až 4× více dětí je ošetřeno ambulantně [7]. Míra úmrtnosti je velmi nízká – méně než 0,2/100 000. V České republice (ČR) bylo v rámci systému hlášení infekčních onemocnění (EpiDat dnes Informační systém infekčních nemocí [ISIN]) od r. 2012 do r. 2017 hlášeno 35 404 případů rotavirové gastroenteritidy (RG), zemřelo 19 osob, přičemž u dvou byla jako příčina úmrtí přímo uvedena rotavirová gastroenteritida [11].

V České republice je pro RVGE hospitalizováno ročně 3–5 tisíc dětí mladších 5 let, odhadem 26–42 tisíc vyhledá lékařskou pomoc a cca u 120–160 000 pacientů probíhá infekce mírně bez vyhledání lékařského ošetření. I přes dobrou organizaci systému hlášení infekčních onemocnění v ČR (EpiDat) lze považovat tyto odhady incidence komunitní rotavirové infekce za nekompletní a podhodnocené [12].

Specifická léčba rotavirových průjmů není k dispozici. Základem terapie je dostatečná hydratace.

V zemích EU jsou od r. 2006 dostupné dvě živé rotavirové vakcíny. Monovalentní vakcína Rotarix™ (GlaxoSmithKline Biologicals, Rixensart, Belgie) obsahuje atenuovaný, původně lidský kmen genotypu G1P[8] a pentavalentní vakcína RotaTeq™ (MSD Vaccins, Lyon, France) obsahuje pět živých humánně-bovinních rotavirových reasortant genotypů G1, G2, G3, G4 a P1A [10]. V r. 2009 doporučila Světová zdravotnická organizace (WHO), aby očkování proti rotavirům bylo součástí národního očkovacího programu každé země [13].

Laboratorní diagnostika rotavirových gastroenteritid spočívá v přímém průkazu infekčního agens ve stolici. Rutinně se provádí průkaz rotavirového antigenu ve stolici imunochromatografickým testem (ICT) nebo imunoenzymatickou reakcí (EIA). Stále častěji se používá i metoda kvantitativní reverzní transkripční polymerázové řetězové reakce (RT-qPCR) [7].

Cílem studie bylo zjistit výskyt rotavirů u pacientů s podezřením na akutní virovou gastroenteritidu.

Materiál a metody

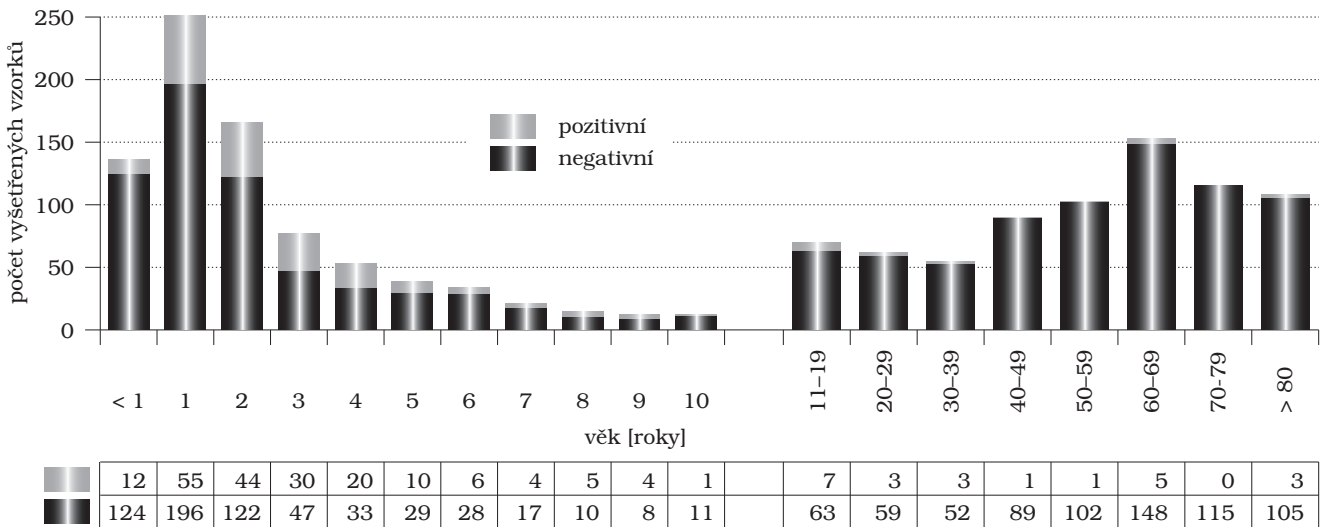
Celkem jsme od března 2016 do konce roku 2018 vyšetřili 1 566 vzorků stolice na přítomnost RVA. Vzorky pocházely převážně od pacientů z Jihomoravského a Olomouckého kraje. Jedna třetina vzorků pocházela od pacientů přímo s diagnózou gastroenteritida. U ostatních pacientů byla stanovena jiná základní diagnóza (onkologická, kardiovaskulární onemocnění a onemocnění dýchacího traktu). Od dětí do 5 let bylo vyšetřeno 716 vzorků. Všechny vzorky byly vyšetřeny imunoenzymatickou metodou (EIA) [RIDASCREEN® Rotavirus, R-biopharm® Německo], rychlým imunochromatografickým testem (ICT) [IMMUNO-QUICK® NoRot-Adeno, Biosynex SA, Francie] a RT-qPCR testem (Human Rotavirus A, Genesig® Standard Kit, Primerdesign™ Ltd, UK) na přítomnost RVA. Vzorky byly považovány za pozitivní, pokud byl detekován antigen alespoň jednou z uvedených sérologických reakcí, a rovněž byla zjištěna přítomnost rotavirové RNA v RT-qPCR. Všechny vzorky pozitivní na RVA byly typizovány Sangerovou se-

kvenací (Eurofins Genomics, Ebersberg, Německo). Ke statistickému hodnocení byl použit program Statistika (version 12, StatSoft, ČR). Pro porovnání pozitivitu v jednotlivých věkových kategoriích byla použita jednofaktorová ANOVA a pro porovnání výsledků dle pohlaví t-test. Hypotéza byla testována na hladině $\alpha = 0,05$.

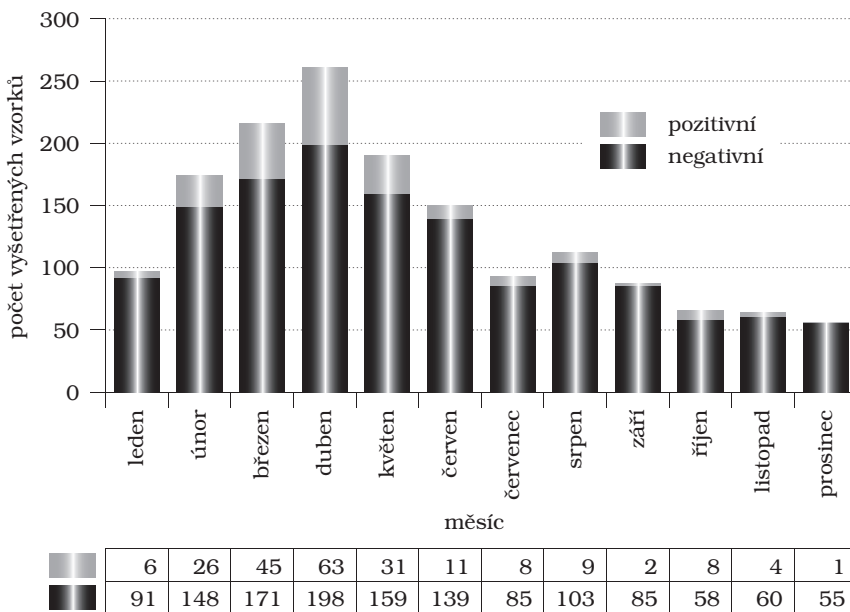
Výsledky

Přítomnost RVA byla zjištěna v 214 z celkového počtu 1 566 vzorků, tj. 13,7 %. Pozitivita v jednotlivých letech studie byla 38 z 305 (12,5 %) v r. 2016, 116 ze 798 (14,5 %) v r. 2017 a 60 ze 463 (13,0 %) v r. 2018. U mužů byl zaznamenán statisticky významně vyšší výskyt rotavirů (58,9 %)

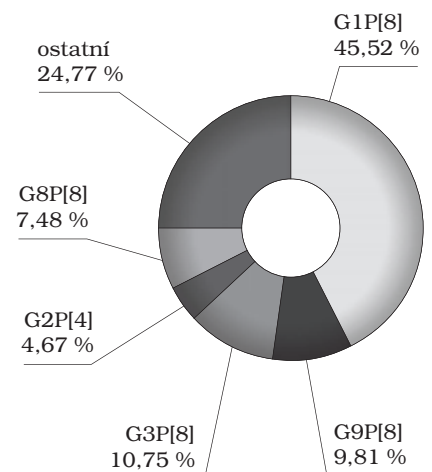
Graf 1
Vyšetření na přítomnost rotavirů ve stolici a rozdělení dle věku (celkem vyšetřeno 1 566 vzorků)



Graf 2
Sezónní výskyt rotavirů ve sledovaném období 2016–2018 (celkem vyšetřeno 1 566 vzorků, 214 pozitivních)



Graf 3
Zastoupení G/P typů v 214 pozitivních vzorcích



než u žen (41,1 %) (z 214 pozitivních vzorků), (t-test; $p = 0,2123$). Procento positivity se pohybovalo u různých věkových skupin od 1 % do 33 %. Nejvíce pozitivních pacientů patřilo do věkové skupiny 0–5 let (171 ze 716 testovaných, tj. 23,9 %). Ve věkové skupině 0–1 rok bylo pozitivních 67 vzorků z 387 (17,3 %), ve skupině 2–3 roky 74 z 237 (31,2 %) a ve skupině 4–5 let 30 z 92 (32,6 %). U starších dětí (od 6 do 10 let věku) bylo vyšetřeno výrazně menší množství vzorků, pouze 94 a pozitivních bylo 20 (21,3 %). Ve vyšších věkových skupinách bylo vyšetřeno 756 vzorků a jenom 23 bylo pozitivních (3,04 %). U pacientů starších 60 let bylo pozitivních 8 z 376 vzorků (2,1 %). Nejnižší procento positivity bylo u pacientů ve věku 40–59 let (1 %, 2 z 203 vyšetřených vzorků). Pomocí jednofaktorové analýzy ANOVA byl prokázán statisticky významný rozdíl ve výskytu rotavirů mezi jednotlivými věkovými skupinami, jak jsou uvedeny v *grafu 1* ($p = 0,3946$).

V námi sledovaném období byl také zaznamenán sezónní charakter rotavirových infekcí. Nejvyšší počet případů byl zjištěn v dubnu a březnu (*graf 2*).

U 214 RVA pozitivních vzorků byla provedena genotypizace. Převládajícími genotypy byly G1P[8], G9P[8], G3P[8], G2P[4] a G8P[8], viz *graf 3* [14].

Diskuze a závěr

Všechny testované vzorky byly vyšetřeny pomocí dvou běžně používaných laboratorních metod, které byly srovnány s referenční RT-qPCR. Dříve publikované výsledky dle očekávání vyhodnotily molekulárně-biologickou metodu jako nejcitlivější způsob detekce RVA, dále ve sledovaných parametrech byla lépe hodnocená EIA než ICT (citlivost EIA – 84,2 %, ICT – 82,5 %; specifická EIA – 97,8 %, ICT – 96,4 %) [15].

Rotavirové gastroenteritidy se vyskytují po celém světě. V Evropě jsou RVA hlavními původci akutních gastroenteritid u dětí mladších dvou let, které vyžadují hospitalizaci [7,16].

V naší studii bylo během tří let vyšetřeno 1 566 vzorků, nejvíce pozitivních bylo u dětí od dvou do pěti let. Ve věkové skupině do 5 let bylo zachyceno 23,9 % pozitivních vzorků z celkového počtu vyšetřených v této skupině. Podle sdělení Mészner et al. v r. 2009 byl podíl rotavirů jako původců gastroenteritid v ČR u dětí mladších 5 let 19,6 % [16]. Naš výsledky více koresponduje s údajem z roku 2011, který udává, že rotaviry vyvolaly 22 % akutních gastroenteritid, údaj se však vztahuje k dětem do 15 let věku [17]. Rozdílné výsledky mohou být způsobeny metodou použitou pro detekci rotavirů, počtem vyšetřovaných vzorků a také sezónou. V dalších evropských zemích se rotaviry podílejí na akutních gastroenteritidách vyšší měrou – v sousedním Polsku je to 42,5 %, ve Slovinsku 42 % a v Bulharsku 32,4 % [17].

V letech 1997–2017 proběhlo na Státním zdravotním ústavu (SZÚ) šetření, které prokázalo nejvyšší průměrnou věkově specifickou incidenci rotavirových nákaz ve věkové skupině do 5 let [11]. S tímto zjištěním jsou naše data zcela v souladu. Potvrdilo se nám tedy klasické věkové rozložení rotavirových gastroenteritid. Ty se snadno šíří právě v kolektivech předškolních dětí díky přenosu rotavirů fekálně-orální cestou a kontaminovanými předměty, jako jsou hrač-

ky, nábytek, kliky. Navíc děti v tomto věku ještě nemusí mít dostatečné hygienické návyky (správné mytí rukou) a i to je důvodem, že se lehce nakazí.

Rotavirovým infekcím u dospělých je věnováno mnohem méně pozornosti než infekcím u dětí. Onemocnění se však vyskytuje i u strašných osob. V naší práci bylo ve starších věkových kategoriích nad 60 let zachyceno pouze 8 pozitivních vzorků z 376 (2,1 %). Tento náš výsledek je téměř totožný s údajem z Velké Británie, kde u osob s podezřením na gastroenteritidu starších 65 let, byly rotaviry detekovány ve 2,6 % testovaných vzorků [8]. Zcela odlišný výsledek zjistili ve Švédsku, kde u pacientů nad 60 let vyšetřili 14 473 vzorků a 1 142 bylo na rotaviry pozitivních [9]. Diskrepance může být zapříčiněna počtem vyšetřených vzorků. Ve švédské studii byly vyšetřeny řádově tisíce vzorků a v britské i naší práci stovky [8,9].

V literatuře je uváděno, že rotavirové infekce postihují stejnou měrou muže i ženy. V našem vyšetřovaném souboru 214 pozitivních vzorků pocházelo více pozitivních od mužů (58,9 %) než od žen (41,1 %) oproti údajům vyplývajícím z EpiDat pro ČR, kde mírně převažují ženy (51,1 %) nad muži (48,8 %) [11]. Rozdíl může být způsoben tím, že námi vyšetřovaný soubor není tak rozsáhlý jako soubor z EpiDat zahrnující celou ČR. V literatuře je však uváděn i opačný poměr, např. v práci Chernyshovaa et al. z r. 2018 bylo 54 % vzorků pozitivních od mužů a 47 % od žen [18].

Pro rotavirové infekce v mírném pásmu je typická jejich sezónnost s maximem výskytu v zimě a na jaře [3,7,17]. Rovněž v naší studii byl nejvyšší záchyt rotavirů v jarním období s vrcholem v březnu a dubnu. V těchto měsících bylo také vyšetřeno nejvíce vzorků stolice. Vyšší počet pozitivních vzorků v říjnu by mohl ukazovat na lokální epidemii. Údaj může být rovněž zkrácen malým počtem testovaných vzorků.

Zjištěná prevalence jednotlivých genotypů RVA (*graf 3*) odpovídá situaci běžné v Evropě. Výjimkou je neobvyklý genotyp G8P[8], který se častěji vyskytuje v zemích jihovýchodní Asie. Také provedená fylogenetická analýza potvrdila příbuznost všech RVA kmenů G8P[8] genotypu s rotaviry izolovanými v letech 2014–2017 především ve Vietnamu, Thajsku a Singapuru. Je obtížné stanovit cesty přenosu G8P[8] kmenů do střední Evropy. Nicméně vzhledem k tomu, že se infekce RVA s tímto genotypem objevila v České republice náhle ve formě lokální epidemie, lze spekulovat o možném zavlečení atypického kmene přímo z asijských zemí, do kterých občané EU cestují velmi často, ať už obchodně či za rekreaci [14].

V ČR jsou již od r. 2007 k dispozici obě očkovací látky RotarixTM i RotaTeqTM. Přesto patří ČR mezi státy s nízkou proočkovaností. V r. 2010 byla velmi nízká, pouhých 7 %, a do r. 2015 vzrostla jen na 16 % [19]. Ani zdaleka tak nedosahuje míry proočkovanosti u našich západních sousedů. V Belgii je proočkováno asi 85 % kojenců a došlo k poklesu akutních rotavirových gastroenteritid asi o 78 %. V Rakousku bylo očkování zavedeno v r. 2011 a odhaduje se, že v současné době je naočkováno asi 84 % kojenců a počet hospitalizací kvůli akutní RVGE poklesl o 73 %. Ve Finsku, kde je očkování plně hrazeno od r. 2009 a proočkovanost dětí je > 95 %, byl zaznamenán pokles rotavirových nákaz u dětí do 1 roku věku o 80,3 %. V Německu v závislosti na re-

gionu je proočkovanost nízká (26–28 %) nebo průměrná (56–65 %). Lze tak dobře sledovat vliv očkování na pokles rotavirových infekcí 49 % versus 74 % [20].

Přestože je očkování v ČR dostupné, jsou akutní rotavirové gastroenteritidy nejvýznamnějšími virovými infekcemi alimentárního původu. Očkování proti rotavirům patří mezi doporučená s úplnou nebo částečnou úhradou rodiči. Lze předpokládat, že i z tohoto důvodu je počet akutních rotavirových gastroenteritid poměrně vysoký. Průměrná incidence rotavirových nákaz je v ČR 34,9/100 000 obyvatel [11]. Reálně však lze předpokládat incidenci podstatně vyšší, protože ne všechny osoby postižené akutní gastroenteritidou vyhledají lékařskou pomoc, a hlášené případy vycházejí především z laboratorních výsledků.

Získané výsledky ukazují, že výskyt rotavirových nákaz v ČR je i přes možnost očkování stále vysoký, zvláště u dětí do 5 let věku.

Studie byla podporována grantem AZV MZČR č. 16-29937A.

Literatura

- Xiao P, Xi J. Gastroenteritis viruses. In: Versalovic J, Carroll K, Funke G (eds). Manual of clinical microbiology. 10th ed. Washington, dc: ASM press; 2011; pp 1456–1469.
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) [cited 2019 Sep 30] Available from: https://talk.ictvonline.org/files/ictv_official_taxonomy_updates_since_the_8th_report/m/animal-dsrna-and-ssrna-viruses/6617.
- Hungerford D, Vivancos R. EuroRotaNet network members. In-season and out-of-season variation of rotavirus genotype distribution and age of infection across 12 European countries before the introduction of routine vaccination, 2007/08 to 2012/13. *Euro Surveill.* 2016; 21(2): pii=30106.
- Vlasova AN, Amimo JO, Saif LJ. Porcine Rotaviruses: Epidemiology, Immune Responses and Control Strategies. *Viruses.* 2017;9(3):48.
- Molinari BLD, Alfieri AF, Alfieri AA. Genetic variability of VP6, VP7, VP4, and NSP4 genes of porcine rotavirus group H detected in Brazil. *Virus Res.* 2014;197:48–53.
- Gentsch J, Laird A, Bielfelt B, et al. Serotype diversity and reassortment between human and animal rotavirus strains: implications for rotavirus vaccine programs. *Journal Infect Dis.* 2005;1(192) Suppl 1: S146–59.
- Expert opinion on rotavirus vaccination in infancy. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/rotavirus-vaccination-expert-opinion-september-2017.pdf>
- Borrows CL, Turner PC. Seasonal screening for viral gastroenteritis in young children and elderly hospitalized patients: is it worthwhile? *J Hosp Infect.* 2014;87(2):98–102.
- Beck-Friis T, Andersson M, Gustavsson L, et al. Burden of rotavirus infection in hospitalized elderly individuals prior to the introduction of rotavirus vaccination in Sweden. *J Clin Virol.* 2019;119:1–5.
- Troeger C, Khalil IA, Rao PC, et al. Rotavirus Vaccination and the Global Burden of Rotavirus Diarrhea Among Children Younger Than 5 Years. *JAMA Pediatr.* 2018;172:958–965.
- Špačková M, Gašpárek M. Míra proočkovanosti proti rotavirovým gastroenteritidám v Evropě a výskyt rotavirových gastroenteritid v České republice v období 1997–2017. *Zprávy CEM.* 2018;27(7–8): 190–194.
- Česká vakcinologická společnost ČLS JEP. Doporučení pro očkování proti rotavirovým infekcím v České republice 2014 [cited 2019 Sep 30] Available from: https://www.mzcr.cz/Verejne/dokumenty/doporučení-pro-ockování-proti-rotavirovým-infekcím-v-ceske-republice_8892_1985_5.html
- World Health Organization. Rotavirus vaccines: an update. *Weekly Epidemiological Record = Relevé épidémiologique hebdomadaire.* 2009;84(51–52):533–540.
- Moutelíková R, Sauer P, Dvořáková Heroldová M, Holá V, Prodělová J. Emergence of Rare Bovine-Human Reassortant DS-1-Like Rotavirus A Strains with G8P[8] Genotype in Human Patients in the Czech Republic. *Viruses.* 2019;11(11):1015.
- Moutelíková R, Dvořáková Heroldová M, Holá V, Sauer P, Prodělová J. Human rotavirus A detection: Comparison of enzymatic immunoassay and rapid chromatographic test with two quantitative RT-PCR assays. *Epidemiol Mikrobiol Immunol.* 2018;68(3):110–113.
- Mészner Z, Ioana A, André F, et al. Rotavirus Vaccination in Central Europe. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;56(6):586–596.
- Ogilvie I, Khoury H, Goetghebeur MM, Khoury ACE. Burden of rotavirus gastroenteritis in the pediatric population in Central and Eastern Europe. *Human Vaccines* 2011;7(5):523–533.
- Chernyshova LI, Radionovaa NM, Demchyshynab IV, et al. Observations on the epidemiology of rotavirus infection among hospitalized children younger than 5 years in 2 Ukrainian hospitals, 2007–2015. *Vaccine.* 2018;36(51):7798–7804.
- Pazdiora P. Diagnostika, epidemiologická situace a prevence rotavirových infekcí. XII. Hradecké vakcinologické dny. 2016 Available from: <http://www.vakcinace.eu/data/files/hradecke2016/pazdiorap-diagnostikaepidemiologickasituace.pdf>
- Poelaert D, Pereira P, Gardner R, Standaert B, Benninghoff B. A review of recommendations for rotavirus vaccination in Europe: Arguments for change. *Vaccine.* 2018;36(17):2243–2253.

Doporučený postup pro diagnostiku a léčbu genitálního herpesu u žen

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

M. HOLUB¹, S. ARIENTOVÁ¹, H. ROZSYPAL², K. LABSKÁ³, J. MAŠATA⁴,
M. KACEROVSKÝ⁵, J. ZACH⁶

¹Klinika infekčních nemocí 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Ústřední vojenské nemocnice Praha;

²Klinika infekčních a tropických nemocí 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Nemocnice Na Bulovce, Praha;

³Národní referenční laboratoř pro herpetické viry, Státní zdravotní ústav, Praha;

⁴Gynekologicko-porodnická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice, Praha;

⁵Porodnická a gynekologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové;

⁶Novorozenecké oddělení Thomayerovy Nemocnice, Praha

Anotace

Genitální herpes celosvětově představuje nejčastější pohlavně přenosnou infekci. Doporučený postup pro diagnostiku a léčbu genitálního herpesu klade důraz na časně a správně stanovení diagnózy a vhodnou léčbu, které mají vést ke zlepšení kvality života nemocných. Správný postup diagnostiky i léčby rovněž snižuje riziko těžkých průběhů genitálního herpesu a vede k redukci přenosu infekce. Důraz je kladen na specifické situace zahrnující genitální herpes v graviditě a u HIV pozitivních žen.

1 Úvod

Genitální herpes je vyvolán virem herpes simplex typu 1 (HSV-1) a typu 2 (HSV-2), přičemž v našich podmínkách převažuje jako původce genitálního herpesu HSV-2. Virus po nákaze asi u jedné třetiny nakažených vyvolá symptomatickou primární infekci a u dvou třetin infikovaných nákaza proběhne asymptomaticky. Po primární infekci virus přechází do latence v sensorických gangliích, ve kterých může dojít k jeho reaktivaci, spojené s klinickými projevy symptomatické infekce, nebo asymptomatickým vylučováním viru. Je známo, že infekce HSV-2 je spojena s významně častějšími reaktivacemi, než infekce vyvolaná HSV-1.

2 Výskyt a přenos infekce

Genitální HSV infekce se přenáší pohlavním stykem, při orálním sexu a možný je i vertikální nebo perinatální přenos na plod nebo novorozence. Z epidemiologického hlediska je

důležitý přenos v asymptomatickém období infekce, který je zodpovědný až za 70 % všech nálezů.

K infekci HSV-1 dochází typicky v dětském věku. V rámci sérologických přehledů ČR z roku 1996 bylo ve věkové skupině 20–29 let pouze 16 % mužů a 17 % žen HSV-1 séronegativních. Infekce HSV-2 typicky souvisí s nástupem pohlavního života a v sérologických přehledech ČR z roku 2001 byly ve věkové skupině 20–29 let zjištěny protilátky proti HSV-2 u 12 % mužů a 16 % žen. Celosvětové trendy naznačují, že v posledních desetiletích dochází k pozdějšímu promořování. Studie primárně určená ke sledování efektivity vakcíny Herpevac GSK, která probíhala v letech 2002–2010, ukázala, že v USA bylo 31 % žen ve věkové skupině 18–30 let HSV-1 i HSV-2 séronegativních. Je rovněž známo, že primoinfekce HSV-1 v pozdějším věku vede ke zvýšenému výskytu genitálního herpesu vyvolaného HSV-1. [1] Tento trend pozorovali např. ve Finsku, kde ve stěrech z genitálního herpesu u žen do 25 let v letech 1991–1995 převažoval HSV-2, zatímco v letech 2004–2010 již převažoval HSV-1 [2].

3 Klinický obraz

3.1 Iniciální výsev genitálního herpesu

Iniciální výsev vyvolaný HSV-1 nebo HSV-2 se většinou projevuje četnými puchýřky naplněnými serózní tekutinou. Po odloučení krytu puchýřků se objevují ulcerace, které jsou většinou bolestivé. Puchýřky a následné ulcerace jsou většinou lokalizovány na labia minora a ve vchodu do pochvy. Výsev může mít i jinou lokalizaci (někdy mylně považovanou za herpes zoster), a to především v sakrální oblasti, na perineu a případně na stehnech. Iniciální výsev často provází chřipkovité příznaky, subfebrilie, únava a malátnost. Další akutní komplikací může být močová retence a akutní neuropatická bolest v oblasti perinea nebo i dolních končetin. Vzácně se může iniciální genitální herpes projevit jako infekce močových cest, někdy komplikovaná intenzivní dysurií a retencí moči, nebo může případně proběhnout pod obrazem serózní meningitidy.

3.2 Recidivující genitální herpes

Recidivující výsev má podstatně menší rozsah než výsev iniciální (přibližně 10×), celkové příznaky má buď mírné, nebo tyto zcela chybí. Výsev recidivujícího genitálního herpesu často předchází charakteristické prodromální příznaky. Ulcerace a další nálezy při recidivujícím genitálním herpesu nemusejí být charakteristické, a proto je nutné myslet v diferenciální diagnostice na plísnivé infekce (především kandidózu), vzácněji na lues a kožní choroby, jako je například lichen, pemfigus a maligní kožní nádory (nejčastěji spinaliom).

3.3 Frekvence rekurencí a rozsah lokálního nálezu

Genitální herpes vyvolaný HSV-2 má významně častěji rekurence než genitální herpes vyvolaný HSV-1. Velký rozsah nálezu nebo hypertrofické kožní změny se objevují u pacientek s HIV infekcí a nemocných s autoimunitními chorobami nebo léčených imunosupresivní terapií.

3.4 Asymptomatické vylučování viru

Asymptomatické vylučování viru do cervikovaginálního sekretu je podstatně častější při infekci HSV-2 než při infekci HSV-1. Četnost asymptomatického vylučování je rovněž vyšší u pacientek s vyšší frekvencí rekurentních výsevů.

3.5 Komplikace genitálního herpesu

Genitální HSV infekci mohou provázet postižení nervového systému. Nejčastěji se objevuje benigní aseptická meningitida, která může mít četné rekurence; také se mohou vyskytnout zánětlivé neuropatie. Naopak velmi vzácnou neurologickou komplikací genitálního herpesu je nekrotizující herpetická meningoencefalitida.

3.6 Genitální herpes u imunokompromitovaných pacientek

Výsev genitálního herpesu u imunokompromitovaných pacientek má velký lokální rozsah a výjimkou nejsou hyperplastické kožní léze. U imunokompromitovaných osob je riziko diseminace HSV infekce do orgánů, která se může projevit jako intersticiální pneumonie, hepatitida, ezofagitida nebo peritonitida. Závažné formy generalizované HSV infekce, jako je sepse nebo postižení centrálního nervového systému, se objevují u novorozenců.

4 Laboratorní diagnostika

4.1 Přímá detekce viru

V laboratorní diagnostice se klade důraz na přímou detekci viru. Materiál se odebírá z báze puchýřku, případně se nasaje vezikulární tekutina na tampon virologické výtěrky, která se vloží do transportního virologického média. Odběr je vhodné provést co nejdříve po výsevu, nejpozději pak do vzniku krusty, nejlépe z puchýřku s čirým obsahem. Detekce HSV DNA pomocí metod amplifikujících nukleové kyseliny (NAAT), nejčastěji PCR, v takto získaném materiálu je považována za zlatý standard laboratorní diagnostiky genitálního herpesu. Vzhledem k možnosti falešně negativního výsledku při špatné technice odběru nebo pozdním odběru je vhodné opakované testování u pacientek s přesvědčivým klinickým nálezem a negativním NAAT vyšetřením. NAAT metody, které rozlišují typy HSV, jsou v diagnostice jednoznačně preferovány; typizace HSV-1 nebo HSV-2 je doporučena u všech pacientek, které mají iniciální výsev. Další metody přímé detekce HSV (například přímá imunofluorescence v otiskovém preparátu) se v současné době již nedoporučují.

Tabulka 1

Léčba iniciálního výsevu genitálního herpesu u imunokompetentních žen – režimy a dávkování [5–7]

Antivirotikum	Denní dávka	Délka léčby	Poznámka
iniciální genitální herpes			
acyklovir p. o.	3× 400 mg p. o.	5–10 dní	
	5× 200 mg p. o.	5–10 dní	
valacyklovir p. o.	2× 500 mg p. o.	5–10 dní	
famcyklovir p. o.	3× 250 mg p. o.	5–10 dní	v ČR pouze na mimořádný dovoz

4.2 Typově specifická sérologie

Provedení typově specifické sérologie (tj. vyšetření protilátek proti HSV-1 a HSV-2) je doporučeno pro pacientky s recidivujícím genitálním herpesem, u kterých bylo negativní NAAT vyšetření, nebo u kterých se v době potřeby stanovení diagnózy nevyskytuje aktivní léze. Typově specifické protilátky se objevují s větším časovým odstupem od výsevu primární léze (až 90 dnů). Je třeba zdůraznit, že hladina typově specifických protilátek kolísá, někdy až na nedetekovatelnou úroveň, případně k jejich tvorbě nedojde. Pozitivita anti-HSV-2 protilátek sice podporuje diagnózu recidivujícího genitálního herpesu, ale negativita nevylučuje HSV-2 etiologii obtíží. V případě zjištěné pozitivity pouze anti-HSV-1 je herpetická etiologie recidivujících lézí nepravděpodobná, neboť genitální herpes vyvolaný HSV-1 recidivuje vzácně. Ve všech těchto situacích je třeba potvrdit etiologii pomocí NAAT (viz bod 4.1.) a rozšířit diferenciálně diagnostickou rozvahu o jiné možné příčiny recidivujících genitálních lézí, jako je například lichen nebo kožní a slizniční mykózy. Typově specifické protilátky je možné vyšetřit při iniciálním výsevu genitálního herpesu pro odlišení infekce recidivující od infekce primární, při které jsou

anti-HSV-2 protilátky negativní s limity uvedenými výše. Testování přítomnosti typově specifických protilátek je dále vhodné u asymptomatických žen, které mají symptomatické partnery. Testovány by měly být rovněž gravidní ženy, které mají recidivující genitální herpes v anamnéze a u nichž typově specifické protilátky nebyly nikdy stanoveny. Možné je testovat i partnera a v případě zjištění, že gravidní žena je séronegativní, zatímco její partner je séropozitivní, je nutné pár poučit o riziku přenosu infekce a případných rizicích primární HSV infekce v graviditě pro novorozence. V současné době není doporučeno rutinní testování asymptomatických HIV pozitivních gravidních žen bez anamnézy recidivujícího genitálního herpesu. Důvodem je, že studie poukazující na zvýšené riziko perinatálního přenosu HIV u HSV-2 pozitivních žen, mají limitované výstupy.

4.3 Ostatní vyšetření

U pacientek s genitálním herpesem na dlouhodobé terapii acyklovirem nebo valacyklovirem je vhodné jednorázové stanovení urey a kreatininu v krvi. Pravidelné monitorování těchto parametrů je nutné jen v případě chronické renální insuficience. Vzhledem k tomu, že genitální herpes je kla-

Tabulka 2
Léčba recidivujícího genitálního herpesu u imunokompetentních žen – režimy a dávkování [8–13]

Antivirotikum	Denní dávka	Délka léčby	Poznámka
recidivující genitální herpes < 10 výsevů/rok – epizodická léčba			
acyklovir p. o.	3× 800 mg p. o.	2 dny	
	3× 400 mg p. o.	3–5 dní	
	5× 200 mg p. o.	5 dní	
valacyklovir p. o.	2× 500 mg p. o.	3–5 dní	
famcyklovir p. o.	2× 1 g p. o.	1 den	v ČR pouze
	2× 125 mg p. o.	5 dní	na mimořádný dovoz
recidivující genitální herpes ≤ 10 výsevů/rok – supresivní léčba			
acyklovir p. o.	2× 400 mg p. o.	dlouhodobě minimálně 1 rok	důvod přezkoumávat alespoň jednou ročně
	3× 400 mg p. o.		při neúčinnosti režimu 2× 400 mg/d
	4× 200 mg p. o.		při neúčinnosti režimu 2× 400 mg/d
valacyklovir p. o.	1× 500 mg p. o.	dlouhodobě	počet recidiv < 10/rok
	1× 1 g p. o.	minimálně 1 rok	počet recidiv < 10/rok
	2× 250 mg p. o.		počet recidiv < 10/rok při neúčinnosti režimu 1× 500 mg/d
	2× 500 mg p. o.		počet recidiv < 10/rok při neúčinnosti režimu 1× 1 g/d

Tabulka 3

Léčba iniciálního výsevu genitálního herpesu u HIV pozitivních žen – režimy a dávkování [19,20]

Antivirotikum	Denní dávka	Délka léčby	Poznámka
iniciální genitální herpes			
acyklovir p. o.	3× 400 mg až 5× 400 mg p. o.	10 dní	
valacyklovir p. o.	2× 500 mg až 2× 1 g p. o.	10 dní	
famcyklovir p. o.	3× 250 mg až 3× 500 mg p. o.	10 dní	v ČR pouze na mimořádný dovoz

Tabulka 4

Léčba recidivujícího genitálního herpesu u HIV pozitivních žen – režimy a dávkování [19–21]

Antivirotikum	Denní dávka	Délka léčby	Poznámka
recidivující genitální herpes < 10 výsevů/rok – epizodická léčba			
acyklovir p. o.	3× 800 mg p. o.	5 dní	
valacyklovir p. o.	2× 500 mg p. o.	5 dní	
recidivující genitální herpes ≤ 10 výsevů/rok – supresivní léčba			
acyklovir p. o.	2–3× 400 mg p. o.	dlouhodobě	zkusit přerušit po
valacyklovir p. o.	2× 500 mg p. o.	minimálně 1 rok	dosažení suprese HIV antiretrovirovou terapii a při vzestupu CD4+ T lymfocytů ≥ 500 buněk/mm ³

sická pohlavně přenosná choroba, je vhodné zvážit vyšetření sérologie HIV a lues, které však není jednoznačně indikováno vzhledem k vysoké promořenosti populace HSV-1 i HSV-2. Výjimku představují rizikové skupiny, u kterých by se sérologie HIV a lues měly vždy vyšetřit.

5 Terapie

5.1 Terapie iniciálního výsevu genitálního herpesu

Principy léčby genitálního herpesu vycházejí z evropských doporučení, které vznikly zobecněním řady studií a zkušeností expertů [3]. Odráží vývoj názorů na tuto problematiku v posledním desetiletí [4]. Léčba iniciálního výsevu genitálního herpesu má dva základní cíle: ulevit od akutních obtíží a zmenšit rozsah výsevu. Léčbu je proto vhodné zahájit na základě klinického podezření, a to do 5 dnů od prvního

výsevu, nebo v případě, že se i po 5. dnu od počátku příznaků objevují nové eflorescence. Základem terapie jsou protivirové přípravky – acyklovir a valacyklovir, při alergii na uvedené přípravky lze podat i famcyklovir, který je v České republice dostupný pouze v rámci mimořádného dovozu (*tabulka 1*). Parenterální léčba se používá při alteraci celkového stavu s neschopností přijímat per os nebo při postižení centrálního nervového systému. Lokální léčba acyklovirem se pro nízkou účinnost nedoporučuje. Podpurná terapie zahrnuje koupele ve slané vodě a podávání vhodných analgetik, možná je i lokální aplikace lidokainového gelu na postižená místa. Při iniciálním výsevu je rovněž velmi důležité poučení pacientky o asymptomatickém vylučování viru a riziku přenosu infekce na partnera, a to i při použití kondomu a antivirotik. Důležité je rovněž poučení o rizicích v případě gravidity a možnostech terapie při rekurencích. Komplikace vyžadující hospitalizaci zahrnují

močovou retenci a neuroinfekci. Vzácnou komplikací je sekundární kandidová infekce eflorescencí nebo rekurentní multiformní erytém.

5.2 Terapie rekurentního genitálního herpesu

Základní terapie recidivujícího genitálního herpesu spočívá buď v krátkodobém, nebo dlouhodobém podávání acykloviru nebo valacykloviru. Léčebná strategie závisí na počtu rekurencí, tíži příznaků a na rodinném stavu. Při krátkodobé terapii se acyklovir nebo valacyklovir podává při každé recidivě podobně jako při iniciálním výsevu. Hlavní zásadou je včasné podání antivirotik, tj. při prvních symptomech, pokud možno ještě před vznikem lézí. Terapeutickou možností je zkrácený režim, který začíná sám pacient při prvních příznacích výsevu. Pokud je antivirotikum nasazeno včas, významně se omezí rozsah ulcerací nebo k výsevu vůbec nedojde a podávání acykloviru nebo valacykloviru lze ukončit po 2–3 dnech. Alternativou je pak podávání acykloviru či valacykloviru 3–5 dnů. Dlouhodobé podávání v rámci supresivní terapie se využívá především

u pacientek s větším počtem recidiv (většinou ≥ 6 ročně) a u žen s větším rozsahem lokálního postižení (*tabulka 2*). Délka supresivní terapie by měla trvat minimálně 1 rok. Rozhodnutí pokračovat v supresivní léčbě by mělo být přezkoumáváno nejméně jednou ročně.

5.3 Rezistence k antivirotikům

Rezistence k acykloviru a jeho derivátům se vyskytuje přirozeně i ve zdravé populaci přibližně s frekvencí 0,3 %–0,7 % případů. U pacientů s genitálním herpesem vyvolaných HSV-2, kteří již byli léčeni acyklovirem, je výskyt rezistence vyšší – kolem 5 %, u HIV pozitivních nemocných až 3–7 % [14–15]. Rezistence je podmíněna zejména mutacemi v genu pro virovou thymidinkinázu, vzácněji pro DNA polymerázu. Na rezistenci je vhodné pomyslet především při chronickém průběhu onemocnění (nehojící se léze, zejména u pacientů s poruchami buněčné imunity), kde nebyla zaznamenána klinická odpověď na terapii. Vyšetření rezistence HSV k acykloviru poskytuje Národní referenční laboratoř pro herpetické viry, SZU

Tabulka 5
Léčba perzistujícího genitálního herpesu u HIV pozitivních žen – režimy a dávkování

Antivirotikum	Denní dávka	Délka léčby	Poznámka
perzistující genitální herpes			
acyklovir p. o.	3× 800 mg p. o., za 3–5 dní, pokud se ještě objevují nové léze: 5× 800 mg p. o.	celkem 8–10 dní (z toho 5 dní ve zvýšené dávce)	
valacyklovir p. o.	2× 500 mg p. o. za 3–5 dní, pokud se ještě objevují nové léze: 2× 1 g p. o.	celkem 8–10 dní (z toho 5 dní ve zvýšené dávce)	
famcyklovir p. o.	3× 250 mg p. o. za 3–5 dní, pokud se ještě objevují nové léze: 2× 750 mg p. o.	celkem 8–10 dní (z toho 5 dní ve zvýšené dávce)	v ČR pouze na mimořádný dovoz
foscarnet i. v.	40 mg/kg t. hm. (ředěné do F1/I nebo G5% aplikovat min. 1 hod.) à 8 hod. i. v.	do vymizení klinického nálezu obvykle 2–3 týdny	prokázaná, event. předpokládaná rezistence k acykloviru
cidofovir i. v.	5 mg/kg t. hm. (v infuzi aplikované 1 hod.) à 1 týden i. v.	2 týdny (tj. celkem 3 dávky)	prokázaná, event. předpokládaná rezistence k acykloviru, cidofovir může být účinný i při rezistenci HSV na foscarnet [23] během léčby dbát o vydatnou hydrataci

Praha. V případě prokázané rezistence k acykloviru jsou možnosti cílené terapie významně limitované, alternativními účinnými látkami jsou foscarnet a cidofovir (*tabulka 5*).

6 Prevence přenosu

V prevenci sexuálního přenosu HSV infekce jsou důležité metody bariérového sexu, změna rizikového chování a případně antivirotika, která se podávají v rámci dlouhodobé terapie. Vzhledem k asymptomatickému vylučování viru sexuální abstinence v době výsevu nezabraňuje přenosu infekce a neúčinnější ochranou neinfikovaného partnera je kombinace použití kondomu a dlouhodobé léčby antivirotiky. Informace a případné vyšetření partnera je efektivním postupem pro zjištění asymptomatických nebo neinfikovaných osob, což je zvláště důležité v případě gravidity HSV-negativní ženy a HSV-pozitivního partnera.

7 Genitální herpes u imunosuprimovaných pacientek a nemocných s HIV infekcí

7.1 Interakce infekce HIV a HSV-2

HSV infekce aktivuje replikaci HIV vedoucí ke zvýšenému riziku přenosu HIV infekce na sexuálního partnera, což bylo prokázáno u žen neléčených antiretrovirovou terapií. Je rovněž známo, že genitální HSV infekce významně zvyšuje riziko nákazy HIV od HIV pozitivního partnera [16–18]. U HIV pozitivních pacientek je také vyšší riziko výskytu rezistence HSV a rovněž rozvoje hyperplastických kožních lézí, které nemusí reagovat na acyklovir nebo valacyklovir i v případě, že HSV k těmto antivirotikům není rezistentní.

7.2 Iniciální výsev genitálního herpesu u HIV pozitivních žen

Nákaza HSV u HIV pozitivních pacientek neléčených antiretrovirovými přípravky může probíhat jako rozsáhlý nebo

Tabulka 6
Léčba iniciálního výsevu genitálního herpesu u těhotných žen – režimy a dávkování [24]

Antivirotikum	Denní dávka	Délka léčby	Poznámka
výsev do 28. týdne gestace (v prvním nebo druhém trimestru)			
bez léčby, popř. acyklovir p. o. u těžkého průběhu			
výsev od 28. týdne gestace (ve třetím trimestru)			
acyklovir p. o.	3× 400 mg p. o.	5–10 dní	
po prodělané iniciální epizodě herpesu v graviditě: zajištění od 36. týdne gestace			
acyklovir p. o.	3× 400 mg p. o.	do porodu	brání výsevu genitálního herpesu před porodem

Tabulka 7
Léčba recidivujícího genitálního herpesu u těhotných žen – režimy a dávkování [25–31]

Antivirotikum	Denní dávka	Délka léčby	Poznámka
výsev do 28. týdne gestace (v prvním nebo druhém trimestru)			
bez léčby systémovým antivirotikem			
výsev od 28. týdne gestace (ve třetím trimestru)			
acyklovir p. o.	3× 400 mg p. o.	5–10 dní	
u žen s recidivujícím herpesem v anamnéze: zajištění od 36. týdne gestace			
acyklovir p. o.	3× 400 mg p. o.	do porodu	brání výsevu genitálního herpesu před porodem

perzistující genitální herpes. Přítomny bývají systémové projevy HSV infekce s možnou diseminací infekce do orgánů a vzácně rozvojem fulminantní hepatitidy, pneumonie a postižení centrálního nervového systému. Terapie iniciálního výsevu se proto u HIV pozitivních žen liší od HIV-negativních pacientek v tom, že má být zahájena promptně, vyššími dávkami a má se podávat delší dobu, nejméně 10 dnů (tabulka 3). Při známkách diseminace infekce je doporučena parenterální aplikace acykloviru v dávce 5–10 mg/kg tělesné hmotnosti každých 8 hod. po dobu 2–7 dnů následovanou perorálním podáváním antivirotika.

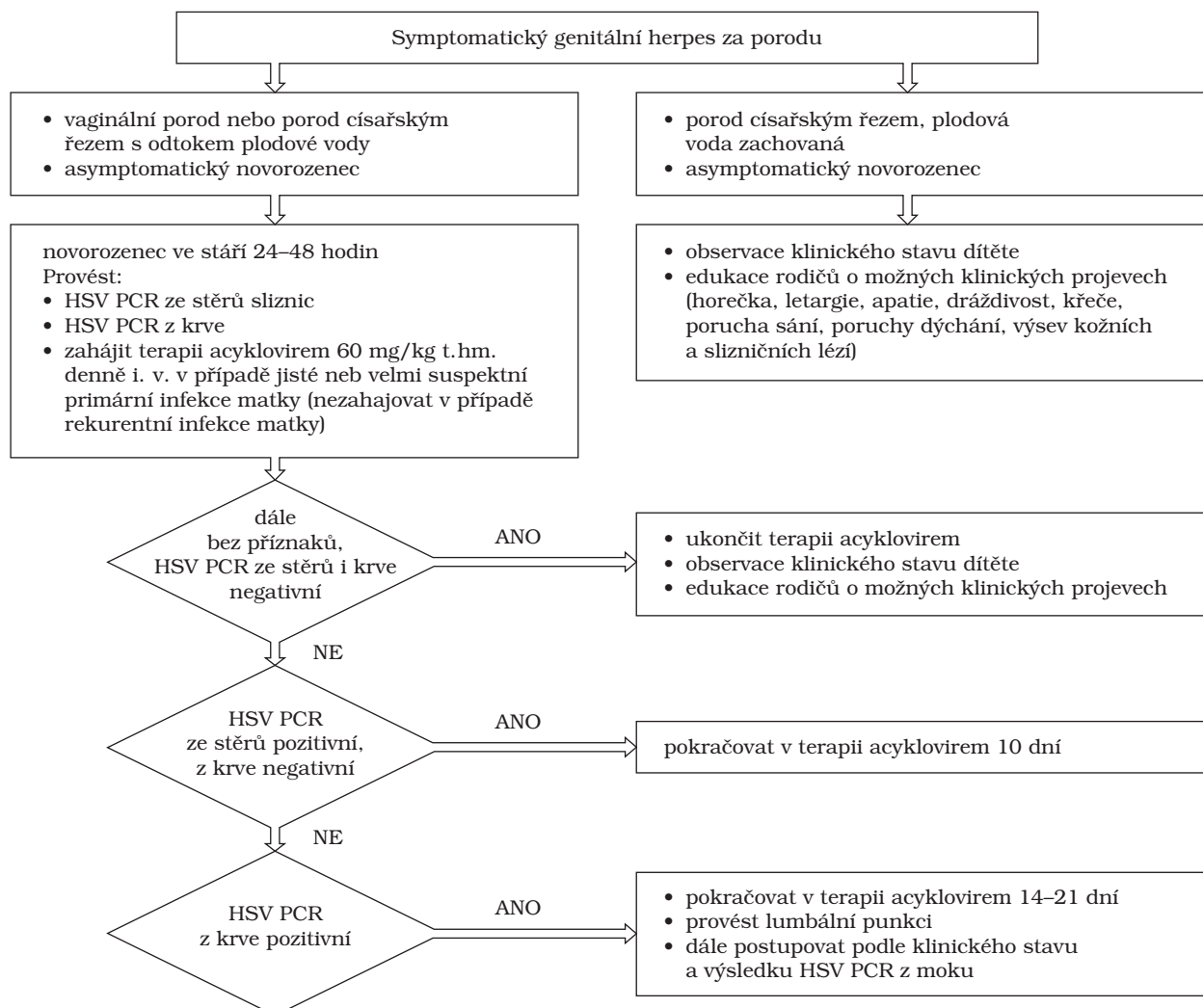
7.3 Recidivující genitální herpes u HIV pozitivních žen

Klinická i asymptomatická reaktivace HSV infekce u HIV pozitivních žen je častější než u HIV negativních pacientek. U HIV pozitivních žen s počtem CD4+ T lymfocytů

< 50 buněk/mm³ je významně zvýšené riziko výskytu progresivně se šířících mukokutánních lézí. Základem úspěchu je u těchto nemocných dosažení suprese HIV pomocí anti-retrovirové terapie. Zatímco u pacientek s počtem CD4+ T lymfocytů > 500 buněk/mm³ se postupuje stejně jako u imunokompetentních HIV-negativních žen, u pacientek s pokročilou HIV infekcí bývá nezbytné zdvojnásobení standardních dávek antivirotik a jejich podávání po dobu delší než 5 dnů. V případě, že je podávána dlouhodobá terapie, je tuto možné přerušit po dosažení suprese HIV antiretrovirovou terapií a při vzestupu CD4+ T lymfocytů > 500 buněk/mm³. U části pacientek se imunorestituce projeví nižší frekvencí genitálního herpesu, který je možné zvládat krátkodobou léčbou. U nemocných s přetrvávající vysokou frekvencí výsevů, je vhodné vrátit se k dlouhodobé léčbě (tabulka 4).

Diagram 1

Management asymptomatických novorozenců matek se symptomatickým genitálním herpesem za porodu



7.4 Léčba perzistujícího genitálního herpesu u imunosuprimovaných pacientek

U pacientek se závažnou imunodeficiencí, včetně nemocných s pokročilou HIV infekcí a HIV pozitivních žen s projevy imunorestauračního syndromu po zahájení antiretrovirové terapie, se mohou objevit léze refrakterní na léčbu acyklovirem nebo valacyklovirem. V tomto případě je nutné zvážit rezistenci HSV k acykloviru a odebrat vzorky pro PCR. Pokud se objevují nové léze po 3. až 5. dnu léčby, je doporučeno zvýšit dávku acykloviru na 800 mg 5× denně, případně dávku valacykloviru na 1 g 2× denně (eventuálně famcyklovir na 750 mg 3× denně).

U dobře přístupných lézí vyvolaných acyklovir-rezistentním HSV-2 se může použít adjuvantní lokální léčba, a to:

- foscarnet 1% krém,
- cidofovir 1% gel,
- trifluridin (připravený in-house) à 8 hodin event. v kombinaci s interferonem-alfa,
- imiquimod (Aldara) 5% krém (v sáčku): 1 sáček 3× týdně [22].

Pokud léze nejsou přístupné, je možné podávat foscarnet intravenózně v dávce 40 mg/kg tělesné hmotnosti každých 8 hodin. Tato léčba se podává do vymizení klinického nálezu. Další možností je intravenózní cidofovir, který se podává v dávce 5 mg/kg tělesné hmotnosti 1× týdně po dobu dvou týdnů. Při této léčbě je nutná dostatečná hydratace. Léčba cidofovirem může být účinná i při rezistenci HSV na foscarnet (*tabulka 5*).

8 Genitální herpes v graviditě

8.1 Výskyt a nebezpečí genitálního herpesu v graviditě

HSV se může přenést po celou dobu těhotenství i po porodu. Transplacentární přenos infekce v prvním a druhém trimestru těhotenství není častý – celkově je během gravidity 5% riziko kongenitální infekce, 85 % nákaz je perinatálních a 10 % infekcí vzniká postnatálně. Přesná incidence novorozenecké HSV infekce v České republice není známa. Nejvyšší riziko přenosu HSV infekce v graviditě bylo zaznamenáno u matek, které prodělaly primoinfekci ve třetím trimestru těhotenství. U séronegativních rodiček se symptomatickým genitálním herpesem v době porodu bylo zjištěno 33–40% riziko přenosu infekce na novorozence, oproti tomu u séropozitivních symptomatických matek s anamnézou rekurentního genitálního herpesu se riziko přenosu pohybuje mezi 3–4 %.

8.2 Klinické a laboratorní vyšetření genitálního herpesu v graviditě

Na začátku těhotenství je vhodné cíleně pátrat po anamnéze genitálního herpesu, a to i u partnera. Screening na přítomnost specifických protilátek nebo průkaz asymptomatického vylučování viru není rutinně doporučován.

V případě anamnestického údaje o genitálním herpesu u partnera se doporučuje provést vyšetření typově specifických protilátek (anti-HSV-2 protilátky) u těhotné. Pokud se typově specifické protilátky u těhotné ženy neprokáží, je nutné provést poučení o riziku a prevenci přenosu HSV infekce v těhotenství.

Při přítomnosti iniciálního výsevu genitálního herpesu v těhotenství a před porodem je nutné provést přímou diagnostiku přítomnosti viru (PCR) a odběr vzorku krve na průkaz přítomnosti typově specifických protilátek.

Pokud tato vyšetření nejsou dostupná v lokální laboratoři, zajišťuje je NRL pro herpetické viry (SZÚ, Praha). V případě, že není možné zajistit včasnou odpovídající diagnostiku (PCR, typově specifické protilátky), je vhodné každou herpetickou lézi ve třetím trimestru považovat za iniciální genitální herpes.

8.3 Opatření proti nebezpečí genitálního herpesu v graviditě

8.3.1 Opatření při výsevu genitálního herpesu v prvním a druhém trimestru gravidity

Při primoinfekci během gravidity lze pro potlačení replikace viru použít terapii acyklovirem. Během prvního trimestru je doporučeno léčit pouze závažné průběhy genitálního herpesu, případně generalizovanou HSV infekci.

8.3.2 Opatření při výsevu genitálního herpesu ve třetím trimestru a perinatálním období

a) výsev po 28. týdnu

Iniciální výsev genitálního herpesu po 28. týdnu gravidity se léčí acyklovirem vždy. Od 36. gestačního týdne lze pacientky zajistit acyklovirem 400 mg 3× denně p. o., což významně snižuje riziko výsevu genitálního herpesu před porodem (*tabulka 6*).

b) výsev těsně před porodem

U ženy s iniciálním výsevem genitálního herpesu ve třetím trimestru by měl být porod proveden císařským řezem vzhledem k vysokému riziku přenosu HSV na novorozence a rozvoje neonatální HSV infekce. O iniciálním výsevu genitálního herpesu ve třetím trimestru je nutné informovat pediatra (viz kapitola 9). Vhodné je provést záznam do průkazu pro těhotné jako poznámku pod HBsAg. Císařský řez není indikovaný u žen s anamnézou recidivujícího genitálního herpesu bez klinických příznaků při porodu.

Rutinní antepartální vyšetřování vylučování HSV (PCR) u asymptomatických gravidních žen s rekurentním genitálním herpesem (tj. s anamnézou opakovaných výsevů již v období před těhotenstvím) není doporučováno. Při výsevu těsně před porodem by měl být podáván acyklovir intravenózně, jak matce, tak i poté novorozenci. Vždy musí být informován neonatolog.

c) výsev během porodu

Při výsevu genitálního herpesu nebo prodromech v čase porodu je vhodné vést porod císařským řezem nejlépe do 4 hodin od odtoku plodové vody, protože protektivní efekt císařského řezu u pacientek s iniciálním výsevem genitálního herpesu při odtoklé plodové vodě déle než 4 hodiny je nejasný [32].

8.3.3 Opatření před porodem u žen s recidivujícím genitálním herpesem v anamnéze

Supresivní terapie acyklovirem (viz *tabulka 7*) od 36. týdne až do porodu u žen s anamnézou rekurentního genitálního

ho herpesu snižuje riziko výsevu v čase porodu a snižuje potřebu porodu císařským řezem.

8.3.6 Bezpečnost antivirotik v těhotenství

Žádné z používaných antivirotik není schváleno pro použití v těhotenství, nicméně užívání acykloviru v těhotenství nebylo spojeno s žádnými komplikacemi v těhotenství a nebyly zaznamenány nežádoucí účinky na plod či novorozence, kromě přechodné neutropenie. Údaje o bezpečnosti acykloviru lze v třetím trimestru extrapolovat i na valacyklovir, ale zkušenosti s užíváním valacykloviru jsou menší. Famcyklovir by se v těhotenství užívat neměl.

9 Novorozenec matky se symptomatickým genitálním herpesem za porodu

9.1 Úvod

Novorozenecká infekce způsobená herpes simplex virem (HSV) je málo časté (incidence 0,10–0,29 ‰), ale závažné a potencionálně devastující onemocnění spojené s vysokou mortalitou (29 ‰) a postinfekční morbiditou (41 ‰). Nejčastější nákaza je intrapartální (> 85 ‰). Riziko vzniku novorozenecké infekce za porodu závisí na typu mateřské infekce, množství a typu mateřských anti HSV protilátek, délce odtoku plodové vody, způsobu porodu a integritě kožní a slizniční bariéry novorozence. Nejvyšší riziko představuje mateřská primární infekce ve třetím trimestru těhotenství, zejména pak v posledních 6 týdnech před porodem a za porodu. Snižení rizika přenosu a vzniku novorozenecké HSV infekce je možné správným managementem péče o novorozence.

9.2 Klinický obraz

Ačkoliv HSV infekce je u dospělých často asymptomatická, v případě novorozenců je takový průběh extrémně vzácný. Klinicky se u novorozenců intrapartálně vzniklá HSV infekce může manifestovat jako diseminovaná forma, CNS forma (encefalitida) a tzv. SEM forma (lokalizované postižení kůže, očí a úst, *Skin-Eyes-Mouth*) [33].

9.2.1 Diseminovaná forma HSV infekce

Diseminovaná forma představuje asi 25 ‰ všech novorozeneckých HSV infekcí. Manifestuje se obvykle mezi 1. až 14. dnem života dítěte. Postiženy mohou být všechny orgány, ale predominantně bývají zasažena játra (hepatitida), nadledviny, plíce (pneumonitida, pleuritida). Mozek (encefalitida) bývá postižen u 60–75 ‰ dětí s diseminovanou formou infekce. Klinický obraz bývá zpočátku nespecifický – dráždivost, letargie, apatie, termolabilita, intolerance stravy, a připomíná tak bakteriální infekci. Onemocnění však rychle progreduje a postupně se objevují příznaky související s postižením jednotlivých orgánů. Patří mezi ně hepatomegalie, ikterus, vzestup jaterních aminotransferáz, akutní respirační selhání s obrazem pneumonitidy na rentgenu plic. Dráždivost, apnoe, vyklenutá velká fontanela, fokální nebo generalizované křeče, opistotonus a kóma se objevují u dětí s encefalitidou. Typické herpetické eflorescence (vezikuly) nemá 20 ‰ novorozenců s touto formou infekce. Onemoc-

nění provází šokový stav a často diseminovaná intravaskulární koagulace (DIC).

9.2.2 CNS forma HSV infekce

Postižení centrálního nervového systému představuje asi 30 ‰ novorozeneckých HSV infekcí. Může být primární nebo součástí diseminované formy. Manifestuje se obvykle mezi 7.–30. dnem života dítěte. Mezi klinické příznaky patří dráždivost, letargie, apatie, třes, apnoické pauzy, fokální i generalizované křeče, porucha příjmu stravy, termolabilita, vyklenutá velká fontanela a kóma. Pouze 60–70 ‰ dětí s CNS formou infekce má kožní nebo slizniční herpetické eflorescence.

9.2.3 SEM forma HSV infekce

HSV infekce s postižením kůže a sliznic po zavedení kauzální antivirové léčby představuje přibližně 45 ‰ novorozeneckých HSV infekcí. Manifestuje se obvykle mezi 9.–12. dnem života dítěte. Jedná se o lokalizovanou formu infekce, 90 ‰ dětí má kožní a slizniční příznaky, které mají často různé projevy – od malých, diskretních vezikul až po rozsáhlé bulózní léze. U části dětí může být diskretní výsev pouze v dutině ústní. Oční příznaky zahrnují keratokonjunktivitidu a chorioretinitidu. Mezi další příznaky patří horečka, porucha příjmu stravy a zvracení. Onemocnění může přejít do CNS nebo diseminované formy.

9.3 Laboratorní diagnostika

Standardní vyšetření pro HSV zahrnuje HSV PCR vyšetření ze stěru z herpetických vezikul, stěru ze sliznice dutiny ústní, nazofaryngu, spojivky a rekta. V případě provedení lumbální punkce se provede vyšetření HSV PCR z mozkomíšního moku. K potvrzení či vyloučení novorozenecké HSV infekce u asymptomatických dětí se provádí slizniční stěry nejdříve za 24 hodin po porodu. Pozitivní stěry provedené dříve mohou odrážet pouze tranzitní mateřskou kontaminaci, která nemusí vést k replikaci a následné novorozenecké HSV infekci.

9.4 Terapie

Lékem volby je acyklovir. Novorozencům s HSV infekcí (suspektní nebo potvrzenou) podáváme acyklovir i.v. v dávce 60 mg/kg/den (20 mg/kg à 8 hodin). Délka léčby je 14 dní u SEM formy a minimálně 21 dní u CNS a diseminované formy, respektive do PCR negativity mozkomíšního moku v případě encefalitidy. Nižší dávkování acykloviru je spojeno s vyšší mortalitou i morbiditou a nemělo by být užíváno. Antivirovou léčbu acyklovirem je nutno neprodleně zahájit v případě jakéhokoliv podezření na možnou HSV infekci!

9.5 Management asymptomatických novorozenců matek se symptomatickým genitálním herpesem za porodu

Novorozenci matek se symptomatickým genitálním herpesem v průběhu porodu musí být po narození vyšetřeni pediatrem či neonatologem. Další postup pak závisí na způsobu porodu, typu mateřské infekce (primární infekce, recidivující infekce) a klinickém stavu novorozence [34–38].

Literatura

- Schulte JM, Bellamy AR, Hook EW 3rd, et al. HSV-1 and HSV-2 seroprevalence in the United States among asymptomatic women unaware of any herpes simplex virus infection (Herpevac Trial for Women). *South Med J*. 2014;107(2):79–84.
- Tuokko H, Bloigu R, Hukkanen V. Herpes simplex virus type 1 genital herpes in young women: current trend in Northern Finland. *Sex Transm Infect*. 2014;90(2):160.
- Patel R, Kennedy OJ, Clarke E, et al. 2017 European guidelines for the management of genital herpes. *International Journal of STD & AIDS*. 2017;28(14):1366–1379.
- Holub M, Aster V, Roubalová K. Doporučený postup pro diagnostiku a terapii genitálního herpesu u žen. Vydán 2009. <https://www.infekce.cz/DoporHSV09.htm>
- Wald A, Carrell D, Remington M, et al. Two-day regimen of acyclovir for treatment of recurrent genital herpes simplex virus type 2 infection. *Clin Infect Dis*. 2002;34:944–948.
- Leone PA, Trottier S and Miller JM. Valacyclovir for episodic treatment of genital herpes: a shorter 3-day treatment course compared with 5-day treatment. *Clin Infect Dis*. 2002;34:958–962.
- Strand A, Patel R, Wulf HC, et al. Aborted genital herpes simplex virus lesions: findings from a randomised controlled trial with valacyclovir. *Sex Transm Infect*. 2002;78:435–439.
- Bodsworth N, Bloch M, McNulty A, et al. 2-day versus 5-day famciclovir as treatment of recurrences of genital herpes: results of the FaST study. *Sex Health*. 2008;5:219–225.
- Aoki FY, Tyring S, Diaz-Mitoma F, et al. Single-day, patient-initiated famciclovir therapy for recurrent genital herpes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis*. 2006;42:8–13.
- Abudalu M, Tyring S, Koltun W, et al. Single-day, patient-initiated famciclovir therapy versus 3-day valacyclovir regimen for recurrent genital herpes: a randomized, double-blind, comparative trial. *Clin Infect Dis*. 2008;47:651–658.
- Mertz GJ, Jones CC, Mills J, et al. Long-term acyclovir suppression of frequently recurring genital herpes simplex virus infection. A multicenter double-blind trial. *JAMA*. 1988;260:201–206.
- Mindel A, Faherty A, Carney O, et al. Dosage and safety of long-term suppressive acyclovir therapy for recurrent genital herpes. *Lancet*. 1988;1:926–928.
- Lebrun-Vignes B, Bouzamon A, Dupuy A, et al. A meta-analysis to assess the efficacy of oral antiviral treatment to prevent genital herpes outbreaks. *J Am Acad Dermatol*. 2007;57:238–246.
- Reyes M, Shaik NS, Graber JM, et al. Acyclovir-resistant genital herpes among persons attending sexually transmitted disease and human immunodeficiency virus clinics. *Arch Intern Med*. 2003;163:76–80.
- Stranska R, Schuurman R, Nienhuis E, et al. Survey of acyclovir-resistant herpes simplex virus in the Netherlands: prevalence and characterization. *J Clin Virol*. 2005;32:7–18.
- Celum C, Wald A, Hughes J, et al. Effect of aciclovir on HIV-1 acquisition in herpes simplex virus 2 seropositive women and men who have sex with men: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2008;371: 2109–2119.
- Celum C, Wald A, Lingappa JR, et al. Acyclovir and transmission of HIV-1 from persons infected with HIV-1 and HSV-2. *N Engl J Med*. 2010;362: 427–439.
- Golden MP, Kim S, Hammer SM, et al. Activation of human immunodeficiency virus by herpes simplex virus. *J Infect Dis*. 1992;166: 494–499.
- Aoki FY. Management of genital herpes in HIV infected patients. *Herpes*. 2001;8:41–45.
- Foley E, Patel R. Treatment of genital herpes infections in HIV-infected patients. *J HIV Ther*. 2004;9:14–18.
- Warren T, Harris J and Brennan CA. Efficacy and safety of valacyclovir for the suppression and episodic treatment of herpes simplex virus in patients with HIV. *Clin Infect Dis*. 2004;39:S258–S266.
- DeJesus E, Wald A, Warren T, et al. Valacyclovir for the suppression of recurrent genital herpes in human immunodeficiency virus-infected subjects. *J Infect Dis*. 2003;188:1009–1016.
- Spruance S L, Freeman D J, Sheth N V. Comparison of foscarnet cream, acyclovir cream, and acyclovir ointment in the topical treatment of experimental cutaneous herpes simplex virus type 1 infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 1986;30(1):196–198.
- Hill EL, Hunter GA, Ellis MN. In vitro and in vivo characterization of herpes simplex virus clinical isolates recovered from patients infected with human immunodeficiency virus. *Antimicrob Agents Chemother*. 1991;35:2322–2328.
- Scott LL, Sanchez PJ, Jackson GL, et al. Acyclovir suppression to prevent cesarean delivery after first-episode genital herpes. *Obstet Gynecol*. 1996;87:69–73.
- Watts DH, Brown ZA, Money D, et al. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of acyclovir in late pregnancy for the reduction of herpes simplex virus shedding and cesarean delivery. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;188:836–843.
- Brocklehurst P, Kinghorn G, Carney O, et al. A randomised placebo controlled trial of suppressive acyclovir in late pregnancy in women with recurrent genital herpes infection. *Br J Obstet Gynaecol*. 1998;105:275–280.
- Braig S, Luton D, Sibony O, et al. Acyclovir prophylaxis in late pregnancy prevents recurrent genital herpes and viral shedding. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2001;96:55–58.
- Hollier LM, Wendel GD. Third trimester antiviral prophylaxis for preventing maternal genital herpes simplex virus (HSV) recurrences and neonatal infection. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008;CD004946.
- Andrews WW, Kimberlin DF, Whitley R, et al. Valacyclovir therapy to reduce recurrent genital herpes in pregnant women. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;194:774–781.
- Sheffield JS, Hollier LM, Hill JB, et al. Acyclovir prophylaxis to prevent herpes simplex virus recurrence at delivery: a systematic review. *Obstet Gynecol*. 2003;102:1396–1403.
- Scott LL, Hollier LM, McIntire D, et al. Acyclovir suppression to prevent recurrent genital herpes at delivery. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2002;10:71–77.
- Nahmias AJ, Josey WE, Naib ZM, Freeman MG, Fernandez RJ, Wheeler JH. Perinatal risk associated with maternal genital herpes simplex virus infection. *Am J Obstet Gynecol*. 1971;110(6):825–837.
- Harris JB, Holmes AP. Neonatal herpes simplex viral infection and acyclovir. An update. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2017;22(2):88–93.
- Kimberlin DW, Baley J. Guidance on management of asymptomatic neonates born to women with active genital herpes lesions. Committee on Infectious Diseases, Committee on Fetus and Newborn. From the AAP. *Pediatrics*. 2013;131(2):e635–e646.
- Palasanthiran P, Starr M, Jones C, Giles M. Herpes simplex virus. In: Management of Perinatal Infections, Published by the Australasian Society for Infectious Diseases (ASID), 2014;27–31.
- Kimberlin DW, Gutierrez KM. Herpes simplex virus infections. Remington and Klein s: Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. 8th ed., Elsevier Saunders, 2016;843–865.
- Sauerbrei A. Optimal management of genital herpes: current perspectives. *Infection and Drug Resistance*. 2016;9:129–141.
- Prevention and management of neonatal herpes simplex virus infections. Canadian Paediatric Society, Infectious Diseases and Immunization Committee. *Paediatr Child Health*. 2014;19(4):201–206.

Pokyny pro autory

Profil časopisu:

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

Zásady vztahu mezi autory a redakcí:

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

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

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

Zasílání rukopisů:

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

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

Titulní strana obsahuje:

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

zajímavý, je majitelem popisovaného patentu apod.), musí být tato skutečnost v závěru sdělení uvedena.

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

Typy sdělení:

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

1. Původní práce (Original article)

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

2. Přehledná práce (Review)

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

3. Krátké sdělení (Short communication)

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

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

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

5. Zpráva (Report)

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

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

6. Recenze knihy (Book review)

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

7. Oznámení (Announcement)

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

8. Doporučený postup (Guidelines)

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

9. Životní jubileum a nekrolog (Biography, obituary)

Biografický článek ke kulatému jubileu nebo úmrtí významné osobnosti.

Formální náležitosti příspěvků:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Literární odkazy

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

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

Článek v supplementu časopisu: Křemen st J, Stříbrná J, Pavlíková A, et al. Metody molekulární biologie v dermatovenerologické diagnostice. *Prakt Lék.* 2005;85(Suppl 1):40–2.

Monografie (kniha): Wilson SJ. *Blood cultures.* 3rd ed. New York: Churchill Livingstone; 1992.

Kapitola v knize: Modr Z. *Základy farmakokinetiky antibiotik.* In: Vacek V, Hejzlar M (eds). *Chemoterapie infekčních nemocí v klinické praxi.* 1. vyd. Praha: Avicenum; 1988. s. 42–52.

Článek ve sborníku: Leib SL, Leppert D, Clements J, Lindberg RLP, Pfister LA, Täuber MG. Combined inhibition of tumor necrosis alpha converting enzyme and matrix metalloproteinases by BB1101 attenuates disease, mortality and brain damage in experimental bacterial meningitis (Paper 2044). *Abstracts of the 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy;* 1999 September 26–29; San Francisco, USA. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1999.

CD-ROM (1 CD ze sady): Mildvan D. (editor). *AIDS (Vol. I).* In: Mandell GL (editor-in-chief). *Atlas of Infectious Diseases on CD-ROM [CD-ROM].* London: Electronic Press Ltd.; 1996.

Článek z internetu: Scott LA, Stone MS. Viral exanthems. *Dermatol Online J.* 2003 Nov [cited 2004 Jan 10];9(3):4. Available from: <http://dermatology.cdlib.org/93/reviews/viral/scott.html>.

Příspěvky zasílejte na adresu:

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