

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.
Cestná členka Slovenskej spoločnosti klinickej
mikrobiológie, 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 Schréter, CSc.
Klinika pro infekční choroby, LF UPJŠ, Košice
Doc. MUDr. Marie Staňková, CSc.
Infekční klinika 1. LF, Nemocnice Na Bulovce, Praha
Doc. MUDr. Karel Urbánek, Ph.D.
Ústav farmakologie, FN a LF UP v Olomouci
Prof. MUDr. Miroslav Votava, CSc.
Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny v Brně
MUDr. Eva Zampachová
Centrální laboratoře, laboratoř virologie, Nemocnice
České Budějovice, a. s.

OBSAH

ÚVODNÍK

M. Kolář

3

KRÁTKÉ SDĚLENÍ

Nález *Acinetobacter baumannii* s rezistencí ke kolistinu s genem *mcr-4*

T. Gelbíčová, A. Baráková, M. Florianová, R. Karpíšková

4

PŮVODNÍ PRÁCE

Vliv předchozí antibiotické terapie na epidemiologii ventilátorových pneumonií

J. Papajk, R. Uvízl, M. Kolář

7

První zkušenosti s detekcí *tcdB* genu *Clostridioides difficile* pomocí Simplexa *C. difficile* Direct Kit

M. Kracík

12

KAZUISTIKA

Klieštová meningoencefalitida u gravidnej pacientky

I. Hockicková, J. Sekula, D. Hudáčková, Z. Paraličová

16

DOPORUČENÝ POSTUP

Doporučený postup péče o pacienty s porušenou či zaniklou funkcí sleziny (hyposplenismem/asplenii)

P. Kosina, Z. Blechová, J. Koten, H. Rozsypal, R. Chlíbek, J. Beneš, L. Petroušová, L. Rožnovský

20

INFORMACE

Obsah 24. ročníku

28

Registřík 24. ročníku

30



VYDAVATEL

a adresa redakce:

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

Inzerce: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

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

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

Všechny příspěvky kromě zpráv a dopisů redakci procházejí nezávislou recenzí.

Vychází 4x ročně, roční předplatné 540,- Kč.

Povoleno Ministerstvem kultury ČR pod č. MK ČR 7352.

ISSN 1211-264X

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



CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES

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

EDITORIAL BOARD

Editor in Chief

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

Editors

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

CONTENTS

EDITORIAL

M. Kolář

3

SHORT COMMUNICATION

**Detection of colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*
with the *mcr-4* gene**

T. Gelbíčová, A. Baráková, M. Florianová, R. Karpíšková

4

ORIGINAL ARTICLE

**Effect of previous antibiotic therapy on the epidemiology
of ventilator-associated pneumonia**

J. Papájk, R. Uvíz, M. Kolář

7

First experiences with detection of the *tcdB* gene

of *Clostridioides difficile* using Simplexa *C. difficile* Direct Kit

M. Kracík

12

CASE REPORT

Tick-borne encephalitis in a pregnant patient

I. Hockicková, J. Sekula, D. Hudáčková, Z. Paraličová

16

GUIDELINES

**Guidelines for treating patients with impaired
or absent splenic function (hyposplenism/asplenia)**

*P. Kosina, Z. Blechová, J. Koten, H. Rozsypal, R. Chlíbek,
J. Beneš, L. Petroušová, L. Rožnovský*

20

INFORMATION

Content of Vol. 24

28

Index of Vol. 24

30



spol. s r. o.

PUBLISHER

and Editorial Office:

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

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

Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

Advertising: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

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

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

Lýskova 1594/33, 155 00 Praha 13-Stodůlky

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

A peer – reviewed journal

4 issues per volume.

ISSN 1211-264X

Copyright © Trios Ltd. All rights reserved.

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

Úvodník

Vážené a milé kolegyně, vážení a milí kolegové,

je mi velkým potěšením a současně i ctí Vás co nejsrdečněji pozdravit nad stránkami prvního čísla letošního ročníku našeho společného časopisu Klinická mikrobiologie a infekční lékařství (KMIL). Dovolte mi zdůraznit, že tento ročník je jubilejní, už pětadvacátý, a tato skutečnost si jistě zaslouží více pozornosti. KMIL vychází již 25 let a za tuto dobu si bezesporu získal pevné postavení v rámci českého lékařského písemnictví. Osobně jsem přesvědčen, že patří k úspěšným českým recenzovaným časopisům, ve kterém jsou publikovány články s praktickým přínosem pro infekcologickou i mikrobiologickou praxi, a tím pro diferenciálně-diagnostickou i léčebně-preventivní péči. Současně se domnívám, že významně posiluje naši sounáležitost k lékařským oborům, které se staly náplní našeho profesního a z velké části i osobního života, a to klinické mikrobiologii a infekčnímu lékařství. Neméně důležitá je skutečnost, že se daří na stránkách našeho KMILu plně realizovat důležitou vlastnost současné medicíny, a to její interdisciplinární charakter. Řada sdělení se týká i jiných oblastí lékařství, například velmi se rozvíjející intenzivní medicíny. Pevně věřím, že listování stránkami KMILu přináší příjemné potěšení a současně posiluje pocit uspokojení z našich profesních lékařských zaměření. Za neméně důležité považuji i skutečnost, že KMIL posiluje i naše vzájemné přátelství a umožňuje, aby se tato nadále upevňovala a současně vznikala nová. Z těchto důvodů stojím za to nadále udržovat a rozvíjet náš časopis.

Velmi si vážím současné role našeho KMILu, který se stal nedílnou součástí naší profesní mikrobiologické i infekcologické činnosti. Rád bych v tuto chvíli poděkoval všem, kteří se zasloužili o jeho úspěšnou existenci, přispěli k současné podobě a neúnavně vynakládali značnou část svého času a energie k tomu, aby KMIL nadále prosperoval. Bohužel není možné, abych poděkoval úplně všem, protože toto poděkování patří celé redakční radě, autorům jednotlivých sdělení, oponentům a v neposlední řadě čtenářům, kteří si jistě náš oblíbený časopis rádi přečtou. Přesto mi však, prosím dovolte, abych poděkoval alespoň mým nejbližším spolupracovníkům, bez jejichž přispění a neocenitelné podpory by KMIL nemohl vycházet, a to našemu vydavateli Milanu Tomáškoví a firmě TRIOS, s. r. o., zástupcům šéfredaktora a garantům jednotlivých čísel, a to doc. MVDr. Janu Bardoňovi, Ph.D., doc. MUDr. Stanislavu Plíškoví, Ph.D., a doc. MUDr. Lud'kovi Rožnovskému, CSc. Velké poděkování patří i technické redaktorce Mgr. Sabině Janovicové. Odrazem velmi kvalitní práce je skutečnost, že KMIL je indexován a excerptován v databázích Medline/Index Medicus, Embase/Excerpta Medica Database a Scopus.

Pokud se krátce podíváme do historie KMILu, tak první číslo vyšlo v listopadu 1995. Původně vycházel 6x ročně a od roku 2013 jako čtvrtletník. Jsem přesvědčen, že tato změna byla prospěšná nejen z ekonomického, ale i organizačního hlediska a přispěla k vyšší kvalitě. Považuji za vhodné poděkovat i šéfredaktorům, kteří byli mými předchůdci na této pozici, a to prim. MUDr. Josefu Scharfenovi, CSc. (1995–1997), prof. MUDr. Jiřímu Benešovi, CSc. (1997–2002), in memoriam prof. Vackovi (2002–2004) a doc. MUDr. Anně Součkové, CSc. (2004–2008). Podrobněji je historie časopisu uvedena na webových stránkách <https://www.trios.cz/ostatni/odborne-casopisy/kmil/>.

Pro jubilejní 25. ročník je připraveno jedno překvapení, a to vyhlášení soutěže o nejlepší články v roce 2019. Z publikovaných příspěvků v tomto roce budou vybrány dvě nejlepší práce (jedna za obor mikrobiologie, druhá za infekční lékařství) a tyto budou oceněny finanční odměnou ve výši 20 tis. korun.

Milí přátelé, první číslo nového ročníku přináší původní práce zaměřené na velmi aktuální problematiku získané rezistence ke kolistinu a vliv předchozí antibiotické léčby na vybrané parametry nozokomiálních pneumonií. Další sdělení přináší informace o detekci *Clostridium difficile* a klíšťové meningoencefalitidě u gravidní pacientky. Součástí tohoto čísla je i doporučený postup péče o pacienty s porušenou či zaniklou funkcí sleziny. Skladba tohoto čísla znovu potvrzuje návaznost našeho KMILu na lékařskou praxi a věřím, že Vás první číslo letošního ročníku zaujme.

Vážené kolegyně, vážení kolegové, závěrem bych Vás rád znovu požádal o laskavou podporu a zachování přízně našemu časopisu. Současně prosím o původní či přehledové práce a kazuistiky, které nám pomohou v naší každodenní lékařské praxi. Doufám, že společnými silami se nám bude dařit nadále držet velmi dobrou úroveň našeho KMILu a jeho příslušnost k uznávaným českým odborným periodikům. Za veškerou podporu předem moc děkuji a ještě jednou bych rád vyjádřil velké poděkování všem autorům, oponentům, členům redakční rady a především Vám čtenářům za velkou a neocenitelnou podporu našeho odborného časopisu, který máme jistě všichni moc rádi a kterému přejeme do dalších 25 let vše nejlepší.

Se srdečným pozdravem

prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.
šéfredaktor

Nález *Acinetobacter baumannii* s rezistencí ke kolistinu s genem *mcr-4*

T. GELBÍČOVÁ, A. BARÁKOVÁ, M. FLORIANOVÁ, R. KARPÍŠKOVÁ

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

SOUHRN

Gelbíčová T., Baráková A., Florianová M., Karpíšková R.: **Nález *Acinetobacter baumannii* s rezistencí ke kolistinu s genem *mcr-4*** Rozvoj plazmidově vázané rezistence ke kolistinu nesené geny *mcr* a polymyxinové rezistence u karbapenem rezistentních bakterií představuje hrozbu pro antibiotickou terapii bakteriálních infekcí. Celosvětové rozšíření rezistence ke kolistinu nesené geny *mcr* zejména u bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* poukazuje na možnost rozšíření tohoto typu rezistence také u nefermentujících gramnegativních bakterií, jako je *Pseudomonas aeruginosa* či *Acinetobacter baumannii*. Tato studie předkládá informaci o prvním popsáném výskytu genu *mcr-4* u bakterií *A. baumannii* izolovaných z importovaných krutih jater zakoupených v obchodní síti České republiky.

Klíčová slova: *Acinetobacter*, *mcr-4.3*, krutí játra, kolistin, rezistence

SUMMARY

Gelbíčová T., Baráková A., Florianová M., Karpíšková R.: **Detection of colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* with the *mcr-4* gene** The emergence of plasmid-mediated colistin resistance carried by *mcr* genes and polymyxin resistance in carbapenem-resistant bacteria poses a threat to antibiotic therapy of bacterial infections. The worldwide spread of colistin resistance carried by *mcr* genes, particularly in *Enterobacteriaceae*, points to the possibility of the spread of this type of resistance also in non-fermenting Gram-negative bacteria such as *Pseudomonas aeruginosa* or *Acinetobacter baumannii*. This study provides information on the first described occurrence of the *mcr-4* gene in *A. baumannii* isolated from imported turkey liver obtained in the retail market of the Czech Republic.

Keywords: *Acinetobacter*, *mcr-4.3*, turkey liver, colistin, resistance

Klin mikrobiol inf lék 2019;25(1):4–6

Adresa: Doc. MVDr. Renáta Karpíšková, Ph.D., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Hudcova 296/70, 621 00 Brno, e-mail: karpiskova@vri.cz

Došlo do redakce: 30. 10. 2018

Přijato k tisku: 21. 12. 2018

Úvod

A. baumannii je podmíněně patogenní bakterie, jenž v současnosti náleží k významným původcům nemocných infekcí. *A. baumannii* je původcem infekcí kůže a měkkých tkání, urinárního traktu, meningitid, ale především ventilátorových pneumonií a bakteriemií, vyznačujících se vysokou smrtností [1]. Základem léčby acinetobakterových infekcí vyvolaných multirezistentními izoláty jsou karbapenemy (imipenem a meropenem) [2]. V posledních letech však narůstá výskyt *A. baumannii* rezistentních ke karbapenemům [1,2]. Zatímco v České republice činila v roce 2016 rezistence ke karbapenemům u *Acinetobacter* spp. 1,8 %,

v roce 2017 to již bylo 12,7 %. V Chorvatsku, Řecku, Litvě, Rumunsku a Bulharsku však dosáhla rezistence *Acinetobacter* spp. ke karbapenemům v roce 2017 více jak 80 % [3]. *A. baumannii* má schopnost rychle získávat rezistenci k antimikrobikům včetně karbapenemů [4]. Z celosvětově rozšířených (tzv. evropských) epidemických klonů I až III se na šíření rezistence ke karbapenemům u *A. baumannii* v České republice podílí zejména epidemický klon II [5].

Alternativou k léčbě infekcí vyvolaných multirezistentními izoláty *A. baumannii* je kolistin [4]. Acinetobakter rezistentní ke kolistinu byl poprvé popsán v České republice v roce 1999 a od té doby jsou tyto bakterie hlášeny nejen

v Evropě, ale i USA a asijských zemích [2]. Doposud známé mechanismy rezistence ke kolistinu, vedoucí ke změnám vnější membrány byly u *A. baumannii* kódovány pouze chromozomálně: a) modifikace struktury lipidu A navázáním fosfoetanolaminu (mutace v genech *pmrA* a *pmrB*), b) kompletní ztráta lipopolysacharidů v důsledku mutace genů zodpovědných za syntézu lipidu A (mutace v genech *lpxACD*), c) redukce exprese kofaktorů zahrnutých v syntéze lipopolysacharidů, d) snížení regulace proteinů podílejících se na exportu a/nebo stabilizaci prekurzorů vnější membrány [4].

Plazmidově vázaná rezistence ke kolistinu, nesená genem *mcr-1* byla poprvé popsána u bakterií čeledě *Enterobacteriaceae* v roce 2015 v Číně. První výskyt *Escherichia coli* s genem *mcr-1* se však na základě retrospektivní studie datuje do osmdesátých let minulého století [6]. Doposud bylo u gramnegativních bakterií izolovaných zejména u hospodářských zvířat, z potravin živočišného původu, ale také z vnějšího prostředí a od lidí popsáno sedm dalších genů (*mcr-2* až *mcr-8*), které kódují plazmidově vázanou rezistenci ke kolistinu [7–13].

Výsledky

Studie popisuje unikátní nález dvou izolátů *A. baumannii* nesoucích gen *mcr-4*, pocházejících z krůtích jater importovaných z Brazílie. Mražená krůtí játra byla zakoupena v roce 2017 v obchodní síti České republiky. Oba izoláty vykazovaly po pomnožení vzorku jater v pufrované peptonové vodě růst na Brilliance UTI *Clarity* agar (Oxoid) s kolisti-

nem (Discovery Fine Chemicals) v koncentraci 3,5 mg/L při teplotě 37 °C přes noc. Z jednoho vzorku mražených krůtích jater byly získány dva izoláty *A. baumannii*, identifikované metodou hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF MS (Bruker Daltonik GmbH). Minimální inhibiční koncentrace (MIC) kolistinu v rozsahu 16–32 mg/L byla určena mikrodifuční metodou. Dále byly oba izoláty testovány diskovou difuzní metodou na citlivost k ampicilinu, meropenemu, gentamicinu, ciprofloxacinu a trimetoprim-sulfometoxazolu dle CLSI [14]. Oba izoláty vykazovaly kromě rezistence ke kolistinu pouze rezistenci k ampicilinu. Přítomnost genů *mcr-1* až *mcr-8* byla ověřována metodou PCR [6–13]. U obou izolátů byla prokázána pouze přítomnost genu *mcr-4*.

Sekvence byla provedena s využitím platformy Illumina MiSeq (300bp, Paired End). Analýza dat celogenomového sekvenování s využitím programů Ridom SeqSphere+ (version 3.5.0; Ridom GmbH, Germany) a ResFinder 3.0 (<http://genomicepidemiology.org/>) potvrdila v genomu obou izolátů přítomnost varianty genu *mcr-4.3* (GenBank accession number MK016505.1). Mimo gen *mcr-4.3* kódující rezistenci ke kolistinu byly v genomu obou izolátů *A. baumannii* prokázány i geny kódující rezistenci k beta laktamovým antibiotikům (*blaADC-25*, *blaOXA-67*) v souladu s výsledky fenotypové rezistence. Oba izoláty patřily k sekvenčnímu typu ST345. Určení PFGE profilů na základě štěpení restriční endonukleázou *ApaI* [15] ukázalo mezi oběma izoláty, patřícími k pulzotypům označeným Ac-Apa-1 a Ac-Apa-1a, vysokou podobnost. Na základě štěpení S1 nukleázou byla detekována přítomnost plazmidů o předpokládané velikosti 120 bp pro izolát Ac-Apa-1, a 120 bp a 70 bp u izolátu Ac-Apa-1a (obrázek 1).

Obrázek 1

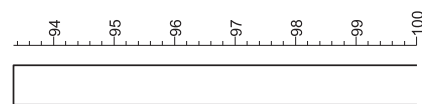
A) Apal pulzní profil u izolátů *A. baumannii* s genem *mcr-4*; B) výsledek stanovení presumptivní velikosti plazmidů na základě PFGE po štěpení S1 nukleázou u izolátů *A. baumannii* nesoucích gen *mcr-4*

A

Dice (Opt:1.10%) (Tol 1.0%-1.0%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]

pfge

pfge



1449/17/Ea Ac-Apa-1

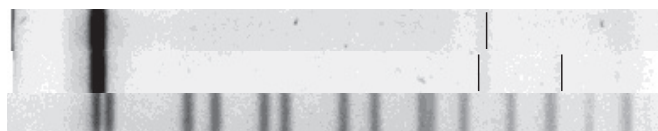
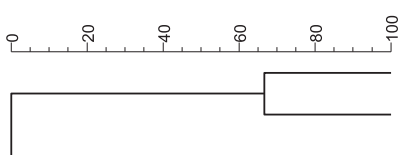
1449/17/Ec Ac-Apa-1a

B

Dice (Opt:1.00%) (Tol 1.0%-1.0%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]

PFGE

PFGE



1449/17/Ea 120

1449/17/Ec 120, 70

Marker

Diskuze a závěr

Horizontálně přenosná rezistence ke kolistinu nesená genem *mcr-4* byla poprvé zjištěna na plazmidech CoIE, které se replikují v různých bakteriálních druzích a rodech. Doposud byl gen *mcr-4* popsán u izolátů *Salmonella enterica*, *E. coli* [9] a *Enterobacter cloacae* [16]. V roce 2018 byly v databázi GenBank anotovány sekvence genu *mcr-4* také u *Acinetobacter nosocomialis* a *Enterobacter kobei* (nepublikované výsledky). Přestože u salmonel a *E. coli* měl gen *mcr-4* nesený na plazmidu vliv na úroveň rezistence ke kolistinu, u *E. cloacae* pravděpodobně samotná nově popsaná varianta genu *mcr-4.6* nevedla k fenotypovému projevu rezistence ke kolistinu [16]. V této studii je uveden první popis izolátů *A. baumannii* nesoucích gen *mcr-4.3*, izolovaných z mražených krůtích jater importovaných do České republiky z Brazílie. Oba izoláty patřily k sekvenčnímu typu ST345, který nepatří do celosvětově rozšířených multirezistentních komplexů, popisovaných u nozokomiálních infekcí vyvolaných *A. baumannii* [1]. Tento náález však poukazuje na možnost výskytu genu *mcr-4* spojeného s horizontálním přenosem rezistence ke kolistinu, léku poslední volby u tohoto významného nozokomiálního patogenu. Role plazmidů na přenosu *mcr-4*, stejně jako současná role chromozomálních mutací na úroveň rezistence ke kolistinu, vyžaduje u testovaných izolátů *A. baumannii* detailnější analýzu bakteriálního genomu.

Poděkování

Studie byla financována v rámci projektu MZ č. NV 18-09-00254, projektu MZe č. RO0516 a MŠMT LO1218 NPU.

Poděkování Doc. RNDr. Monice Dolejské, Ph. D., za realizaci služby celogonomového sekvenování na Veterinární a farmaceutické univerzitě v Brně.

Literatura

- Antunes LCS, Visca P, Towner KJ. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. *Pathog Dis*. 2014;71(3):292–301.
- Asif M, Alvi IA, Rehman SU. Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infect Drug Resist*. 2018;11:1249–1260.
- Surveillance Atlas of Infectious Diseases. Solna: European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). [updated 2018 Nov 15; cited 2018 Dec 6]. Available from: <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>
- Lima WG, Alves MC, Cruz WS, Paiva MC. Chromosomally encoded and plasmid-mediated polymyxins resistance in *Acinetobacter baumannii*: a huge public health threat. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37(6):1009–1019.
- Nemec A, Křížová L, Maixnerová M, et al. Emergence of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* in the Czech Republic is associated with the spread of multidrug-resistant strains of European clone II. *J Antimicrob Chemother*. 2008;62(3):484–489.
- Liu YY, Wang Y, Walsh TR, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(2):161–168.
- Xavier BB, Lammens C, Ruhel R, et al. Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-2*, in *Escherichia coli*, Belgium 2016. *Euro Surveill*. 2016;21(27):pii=30280.
- Yin W, Li H, Shen Y, et al. Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-3* in *Escherichia coli*. *mBio*. 2017;8(3):pii=e00543-17.
- Carattoli A, Villa L, Feudi C, et al. Novel plasmid-mediated colistin resistance *mcr-4* gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016. *Euro Surveill*. 2017;22(31):pii=30589.
- Borowiak M, Fischer J, Hammerl JA, et al. Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72(12):3317–3324.
- AbuOun M, Stubberfield EJ, Duggett NA, et al. *mcr-1* and *mcr-2* (*mcr-6.1*) variant genes identified in *Moraxella* species isolated from pigs in Great Britain from 2014 to 2015. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73(10):2904.
- Yang Y-Q, Li Y-X, Lei C-W, Zhang A-Y, Wang H-N. Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-7.1* in *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73(7):1791–1795.
- Wang X, Wang Y, Zhou Y, et al. Emergence of a novel mobile colistin resistance gene, *mcr-8*, in NDM-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Emerg Microbes Infect*. 2018;7(1):122.
- CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
- Seifert H, Dolzani L, Bressan R, et al. Standardization and interlaboratory reproducibility assessment of pulsed-field gel electrophoresis-generated fingerprints of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol*. 2005;43(9):4328–4335.
- Chavda B, Lv J, Hou M, et al. The co-identification of *mcr-4.6* and *bla_{NDM-1}* in a clinical *Enterobacter cloacae* isolate from China. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(10):pii: e00649-18.

Vliv předchozí antibiotické terapie na epidemiologii ventilátorových pneumonií

J. PAPAJK¹, R. UVÍZL¹, M. KOLÁŘ²

¹Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Fakultní nemocnice Olomouc

²Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

SOUHRN

Papajk J., Uvízl R., Kolář M.: **Vliv předchozí antibiotické terapie na epidemiologii ventilátorových pneumonií**

Cíl práce: Ventilátorová pneumonie (VAP) je nejčastější nosokomiální infekcí u pacientů v intenzivní péči. Cílem této práce bylo určení vlivu předchozí antibakteriální léčby na incidenci VAP, mortalitu a spektrum bakteriálních původců.

Materiál a metody: Do retrospektivní, observační studie byli zařazeni nemocní starší 18 let splňující klinická kritéria VAP a dále kontrolní skupinu tvořili pacienti vyžadující umělou plicní ventilaci déle než 48 hodin bez známek pneumonie. Obě ramena byla stratifikována dle ordinace či absence předchozí aplikace antibiotik (ATB). Stěry z orofaryngu a endotracheální aspiráty (ETA) odebrané u všech pacientů byly zpracovány standardními mikrobiologickými postupy. Citlivost k ATB byla stanovena dle doporučení European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). V souboru byla hodnocena 28denní mortalita, 90denní mortalita a frekvence multirezistentních (MDR) bakteriálních patogenů.

Výsledky: Celkem bylo zařazeno 49 pacientů (32 s předchozí aplikací ATB, 17 bez předchozí aplikace). Četnost předchozího podání ATB u pacientů s VAP byla signifikantně nižší (34 %) než u kontrolní skupiny bez VAP (66 %), ($p = 0,02$). Kritéria VAP splnilo 23 pacientů (11 s předchozí aplikací ATB, 12 bez předchozí aplikace). Jako etiologická agens byly nejčastěji izolovány enterobakterie, včetně kmenů produkujících širokospektré beta-laktamázy, a *Pseudomonas aeruginosa*. Byl prokázán statisticky významně vyšší výskyt MDR patogenů u pacientů s předchozí aplikací antibiotik (77 % vs. 33 %, $p = 0,047$). 28denní mortalita byla nižší u pacientů s předchozí aplikací ATB (18 %, $n = 2$) než bez předchozí ATB terapie (33 %, $n = 4$), ($p = 0,640$). V 90denní mortalitě byl rozdíl ještě výraznější, avšak na nízké hladině statistické významnosti (18 %, $n = 2$, resp. 58 %, $n = 7$), ($p = 0,089$).

Závěr: Předchozí aplikace ATB je spojena s nižší incidencí VAP a současně s vyšším výskytem MDR bakterií. Antibiotická léčba VAP modifikovaná znalostí předchozí aplikace antibiotik a výsledky mikrobiologických nálezů přispěla k nižší 28denní i 90denní mortalitě pacientů.

Klíčová slova: ventilátorová pneumonie, předchozí antibiotická terapie, incidence, multirezistentní bakterie

SUMMARY

Papajk J., Uvízl R., Kolář M.: **Effect of previous antibiotic therapy on the epidemiology of ventilator-associated pneumonia**

Objectives: Ventilator-associated pneumonia (VAP) is the most common nosocomial infection in intensive care patients. The aim of the study was to evaluate the effect of previous antibiotic therapy on the incidence of VAP, mortality and spectrum of bacterial pathogens.

Material and methods: The retrospective, observational study comprised patients over 18 years of age meeting the clinical criteria of VAP. Controls were patients requiring mechanical ventilation for more than 48 hours with no signs of VAP. Each group was divided into two arms according to previous antibiotic therapy. Tracheal aspirates and oropharyngeal swabs were taken from all patients. Cultured isolates were identified using standard microbiological techniques. Antimicrobial susceptibility testing was performed according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing guidelines. In both groups, 28-day mortality, 90-day mortality and multidrug-resistant (MDR) bacterial pathogen frequency were evaluated.

Results: The study included 49 patients (32 patients with previous antibiotic therapy, 17 antimicrobial-naïve patients). The proportion of individuals with previous antibiotic therapy was significantly lower in VAP patients (34%) than among controls group (66%; $p = 0.02$). The VAP criteria were met by 23 patients (11 with previous antibiotic therapy, 12 without the therapy). The *Enterobacteriaceae* including extended-spectrum beta-lactamase-producing strains and *Pseudomonas aeruginosa* were the most common pathogens isolated. MDR pathogens were statistically significantly more frequent in patients with previous antibiotic therapy (77% vs. 33%; $p = 0.047$). In patients with previous antibiotic therapy, 28-day mortality was lower (18%, $n = 2$) than in antimicrobial-naïve patients (33%, $n = 4$; $p = 0.640$). The difference was more pronounced in 90-day mortality, albeit with low statistical significance (18%, $n = 2$ vs. 58%, $n = 7$; $p = 0.089$).

Conclusions: Previous antibiotic therapy was associated with a lower incidence of VAP and a higher frequency of MDR bacterial pathogens. VAP antibiotic therapy modified according to knowledge of previous antibiotic therapy and cultured isolates was correlated with lower 28-day and 90-day mortality rates.

Keywords: ventilator-associated pneumonia, previous antibiotic therapy, incidence, multidrug-resistant pathogen

Klin mikrobiol inf lék 2019;25(1):7–11

Adresa: MUDr. Jan Papajk, Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Fakultní nemocnice Olomouc, I. P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc, e-mail: jan.papajk@fnol.cz

Došlo do redakce: 19. 3. 2019
Přijato k tisku: 9. 5. 2019

Úvod

Ventilátorová pneumonie (ventilator-associated pneumonia, VAP) je nejčastější nozokomiální infekcí v intenzivní péči. Až polovina aplikovaných antibiotik (ATB) v intenzivní péči souvisí s léčbou VAP [1]. VAP je nozokomiální pneumonií, která se projeví po více než 48 hodinách od napojení na umělou plicní ventilaci (UPV). Je definována přítomností nového či zhoršeného infiltrátu na skiagramu hrudníku, systémovými příznaky infekce (horečka, leukocytóza), hnisavou tracheobronchiální sekrecí a záchytem etiologického agens [2]. Samotný vznik VAP prodlužuje dobu UPV i hospitalizace, a navyšuje tak celkové náklady na léčbu [3]. Jako časnou VAP označujeme pneumonii s nástupem do 4. dne od napojení na UPV. Zpravidla bývá způsobena kmeny citlivějšími k ATB. Naopak pozdní VAP (od 5. dne) bývá častěji zapříčiněna multirezistentními (MDR) bakteriemi [1,2]. Etiologická agens VAP a jejich citlivost k ATB mohou být předchozí aplikací ATB výrazně modifikovány [4]. Riziko incidence VAP je nejvyšší v prvních pěti dnech UPV, a poté se postupně snižuje [5]. Zavedení preventivních opatření vychází z doporučení Institute for Healthcare Improvement (IHI), jako jsou například zvýšená poloha hlavy, omezení profylaxe stresového vředu, profylaxe hluboké žilní trombózy, ústní hygiena a odsávání sekretů ze subglotického prostoru, a přispívá tak k celkovému snížení incidence VAP [6,7].

V současné době dochází k celosvětovému nárůstu nozokomiálních infekcí způsobených MDR bakteriemi, a to se týká i VAP [8]. K této skutečnosti přispívají některé specifické faktory, především předchozí aplikace ATB, acute respiratory distress syndrome (ARDS) předcházející VAP, septický šok v okamžiku vzniku VAP, hospitalizace 5 a ví-

ce dní před vznikem VAP aj. [9]. V naší práci jsme se zaměřili na epidemiologii VAP s ohledem na vliv předchozí antibakteriální terapie. Dále byl hodnocen vliv na 28denní i 90denní mortalitu a frekvenci záchytu MDR bakteriálních patogenů.

Materiál a metody

Studie byla schválena etickou komisí Fakultní nemocnice Olomouc (číslo jednací 173/2018). Pracovištěm bylo lůžkové oddělení Kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny Fakultní nemocnice Olomouc (KARIM), referenčním obdobím listopad 2017 až říjen 2018.

Do této klinicko-mikrobiologické, observační, retrospektivní a srovnávací studie byli zařazeni nemocní starší 18 let s respirační insuficiencí vyžadující UPV, kdy v okamžiku napojení nevykazovali klinické známky pneumonie. Jiný infekt (např. neuroinfekt, ranná infekce hluboká či povrchová, uroinfekt) byl možný. Do studie nebyli zařazeni pacienti se známkami pneumonie v okamžiku napojení na UPV, s neutropenií a pacienti, u kterých během hospitalizace došlo ke změně kategorie léčby na zadrženu či paliativní péči. Zcela pak byli vyloučeni orgánoví dárči. Kontrolní skupinu pak tvořili pacienti vyžadující UPV déle než 48 hodin bez známek pneumonie.

Všem pacientům byl při přijetí a následně 2× týdně (vždy v pondělí a čtvrtek) odebrán sěr z orofaryngu a endotracheální aspirát (ETA) dle standardu oddělení. Každý vzorek byl zpracován běžnými mikrobiologickými postupy.

Identifikace mikroorganismů byla provedena za použití MALDI-TOF MS (Biotyper Microflex, Bruker Daltonics). Citlivost k antibiotikům byla testována diluční mikrome-

Tabulka 1
Demografické údaje pacientů souboru

	Skupina										p
	ATB					bez ATB					
	medián	min	max	mean	SD	medián	min	max	mean	SD	
Věk	61,5	26	80	58,3	15,6	59	22	92	59,8	19,2	0,842
BMI	29	19	48	29,7	6,3	28	20	35	27,4	4,5	0,264
APACHE II	26	11	40	26,5	7,7	24	9	34	24,1	5,5	0,343

*ATB – předchozí ATB terapie, bez ATB – bez předchozí ATB terapie, BMI – Body Mass Index, APACHE II skóre

todou dle doporučení EUCAST [10]. Referenční kmeny *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 byly použity k protokolované kontrole kvality. Produkce širokospektrých beta-laktamáz typu ESBL, AmpC a karbapenemáz byla detekována diskovými difuzními testy příslušnými pro daný typ enzymu [11,12]. Pozitivní fenotypové výsledky byly ověřeny pomocí PCR detekující geny specifické pro daný typ beta-laktamázy [13,14].

Během hospitalizace byla antibakteriální terapie korigována na základě konzultací s Antibiotickým střediskem Fakultní nemocnice Olomouc s ohledem na identifikovanou etiologickou agens a jejich citlivost/rezistenci k ATB. V případě, že se nepodařilo izolovat etiologické agens z ETA, bylo přihlédnuto k mikrobiologickému nálezu ve steru z orofaryngu.

Definitivní potvrzení VAP na základě klinických a laboratorních známek bylo provedeno dodatečným skiagramem hrudníku. Následovalo klinické hodnocení obou skupin na základě zvolených kritérií:

- demografické údaje (věk, pohlaví, APACHE II skóre, index body mass),
- aplikace ATB v předchozích 90 dnech,
- doba vzniku VAP,
- etiologické agens VAP,
- mortalita (28denní, 90denní),
- ostatní parametry (doba UPV, délka pobytu na KARIM, délka pobytu v nemocnici).

Data byla získána ze zdravotnické dokumentace (nemocniční informační systém, zdravotnické záznamy registrujících praktických lékařů).

Statistické zpracování

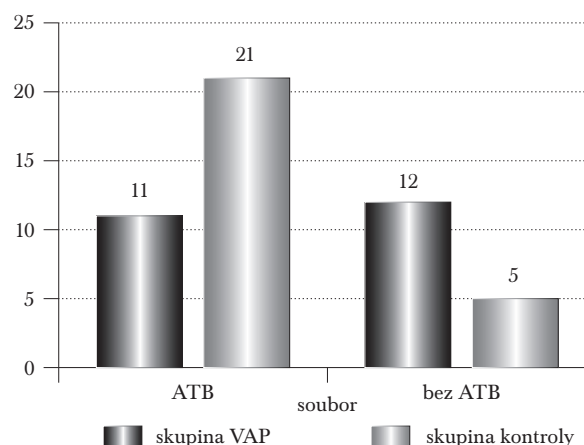
Ke statistickému zpracování byl použit statistický software IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp. Soubor byl popsán pomocí absolutních a relativních četností, kvantitativní veličiny byly vyjádřeny jako medián, minimální a maximální hodnota, průměr a směrodatná odchylka (SD). Srovnání skupin pacientů v kvantitativních znacích (věk, BMI, APACHE) bylo provedeno vzhledem k malým velikostem vzorků pomocí Mann-Whitney *U*-testu. V kvalitativních veličinách (vliv ATB terapie, mortalita) byly skupiny porovnány Fisherovým přesným testem. Za statisticky významnou byla považována hladina signifikance $p < 0,05$.

Výsledky

V referenčním období bylo napojeno na UPV 354 pacientů. Do studie bylo zařazeno 49 pacientů (29 mužů, 20 žen). Předchozí ATB terapii užívalo 32 pacientů (65 %). Obě ramena se v demografických údajích (věk, APACHE II skóre, index body mass) statisticky významně nelišila (tabulka 1).

Pacienti s předchozí ATB terapií měli delší dobu hospitalizace (medián 13, interquartile range, IQR, 5-90) než pacienti bez předchozí aplikace ATB (medián 9, IQR 4-47), ($p = 0,059$). Doba UPV i délka pobytu na KARIM se vý-

Graf 1
Rozdělení pacientů souboru



*VAP – ventilator-associated pneumonia

ATB – ATB terapie v předchozích 90dnech před přijetím na KARIM

Bez ATB – bez ATB terapie v intervalu 90dnů před přijetím na KARIM

znamně nelišily (medián 6 vs. 7 dní, resp. 8 vs. 7 dní). Nejčastěji podávanými antibiotiky v předcházejících 90 dnech byly aminopeniciliny s inhibitory bakteriálních beta-laktamáz (amoxicilin/kys. klavulanová, ampicilin/sulbaktam), amoxicilin, ampicilin, azitromycin, piperacilin/tazobaktam, cefazolin, cefuroxim, ciprofloxacín, kotrimoxazol, metronidazol, gentamicin a jejich případné kombinace. 28denní mortalita byla nižší u pacientů s předchozí ATB terapií (22 % vs. 24 %, $p = 1,000$). Statisticky významný rozdíl nebyl zaznamenán ani u 90denní mortality (22 % vs. 41 %, $p = 0,193$).

Kritéria VAP splnilo 23 pacientů. Předchozí ATB terapii ve skupině VAP mělo 11 pacientů oproti 12 pacientům bez předchozí aplikace ATB. Četnost podání ATB u pacientů s VAP byla v souboru signifikantně nižší (34 %) než u kontrolní skupiny bez VAP (66 %), ($p = 0,02$) (graf 1). U pacientů s předcházející ATB léčbou došlo častěji k pozdnímu nástupu VAP. Nejčastěji izolovanými etiologickými agens byly enterobakterie, včetně kmenů produkujících širokospektré beta-laktamázy, a *Pseudomonas aeruginosa*. U pacientů bez předcházející ATB léčby byl spíše časný nástup VAP. Nejčastěji byly izolovány *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* a *Haemophilus influenzae*. Byl prokázán statisticky významný vyšší podíl MDR patogenů u pacientů s předchozí aplikací antibiotik ($p = 0,047$), z celkového počtu 13 identifikovaných bakteriálních patogenů bylo 10 MDR (77 %). V případě pacientů bez ATB byly pouze 4 bakteriální kmeny z 12 klasifikovány jako MDR (33 %) (tabulka 2). Předchozí ATB terapie u pacientů s VAP prodloužila dobu UPV (medián 9, IQR 5-44) oproti pacientům bez předchozí léčby (medián 7, IQR 4-31). Statisticky významný rozdíl prokázán nebyl ($p = 0,322$).

Tabulka 2

Četnost záchytu etiologických agens VAP v závislosti na předchozí ATB terapii

Etiologické agens	ATB	Bez ATB	Celkem
<i>Burkholderia multivorans</i>	1	1	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0	1
<i>Escherichia coli</i>	0	1	1
<i>Escherichia coli</i> ESBL	2	1	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL	4	1	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	2	2
<i>Morganella morganii</i>	1	0	1
<i>Serratia marcescens</i>	1	1	2
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	0	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	1	1
<i>Klebsiella aerogenes</i> AmpC	1	0	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	2	2
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	1	1
Celkem	13	12	25
Počet MDR bakterií	10	4	14

ESBL, AmpC – širokospektré beta-laktamázy

ATB – ATB terapie v intervalu 90 dnů před přijetím na KARIM

Bez ATB – bez ATB terapie v intervalu 90 dnů před přijetím na KARIM

MDR – multirezistentní

Délka pobytu na KARIM a zejména délka pobytu v nemocnici byla rovněž delší u pacientů s předchozí ATB terapií (medián 13, IQR 7-44, vs. medián 9,5, IQR 4-36), ($p = 0,164$). Nižší 28denní mortalita byla zaznamenána u pacientů s předchozí ATB léčbou (18 %, $n = 2$ vs. 33 %, $n = 4$) ($p = 0,640$). U 90denní mortality byl rozdíl ještě výraznější, avšak na nízké hladině statistické významnosti (18 %, $n = 2$, resp. 58 %, $n = 7$), ($p = 0,089$).

Diskuze

Předložená práce hodnotí vliv předchozí antibakteriální terapie (v intervalu 90 dnů) na incidenci VAP, bakteriální etiologická agens, včetně jejich citlivosti či rezistence k ATB, a mortalitu.

Četnost předchozího podání ATB u pacientů s VAP byla v souboru signifikantně nižší než u kontrolní skupiny bez VAP. Možné vysvětlení lze nalézt v zastoupení antibakteriálních přípravků v předchozí ATB léčbě. Nejčastěji podávanými antibiotiky v předchozích 90 dnech byly aminopeniciliny s inhibitory beta-laktamáz (ampicilin/sulbaktam či amoxicilin/kys. klavulanová), které jsou zároveň i součástí obecných doporučení iniciální ATB terapie těžce probíha-

jících komunitních pneumonií u rizikových pacientů dle Fineho kritérií [15]. V souladu s klinickými guidelines managementu nozokomiální a ventilátorové pneumonie vydaných v roce 2016 společnostmi Infectious Diseases Society of America a American Thoracic Society se tak podařilo ověřit vliv předchozí ATB terapie na incidenci VAP [9].

Odhadovaná prevalence VAP u všech nemocných napojených na UPV činí 9–27 % [1,2]. V našem souboru činila pouze 7 %. Možným vysvětlením je malá velikost souboru, event. relativně krátká doba UPV. Incidence VAP kolísá od 2,0 do 6,4 na 1 000 ventilátorových dní v závislosti na podílu intubovaných pacientů na JIP [16]. Incidence VAP v naší studii byla 3 případy na 1 000 ventilátorových dní.

Nejčastěji izolovanými bakteriálními původci VAP jsou *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* a *Escherichia coli* [16]. V našem souboru byly nejčastěji izolovány enterobakterie, včetně kmenů produkujících širokospektré beta-laktamázy, a *Pseudomonas aeruginosa*. Nepodařilo se prokázat statisticky významnou souvislost mezi etiologickým agens, dobou vzniku VAP a předchozí ATB terapií. U pacientů s předcházející ATB léčbou však došlo častěji k pozdnímu nástupu VAP.

K důležitým parametrům hodnocení léčby VAP patří mortalita. Atributivní riziko úmrtí v souvislosti s VAP se v současnosti pohybuje kolem 9 % (3–17 %) [17]. V naší studii bylo toto riziko 12 %. I přes nižší hladinu statistické významnosti ($p = 0,089$) výsledky naznačují, že pacienti s VAP a předchozí ATB terapií mají nižší nejen 28denní, ale zejména 90denní mortalitu.

U pacientů s předchozí aplikací antibiotik byly častěji prokázány MDR bakterie, ale mortalita je nižší. Pravděpodobně u těchto pacientů byly vzaty v úvahu předcházející mikrobiologické nálezy a antibiotická léčba. Následná ATB terapie již byla tedy cíleněji zaměřena. U pacientů bez předchozí aplikace antibiotik a znalosti předchozího antibiogramu tak mohlo častěji dojít k selhání iniciální ATB terapie z důvodu bakteriální rezistence. V této souvislosti práce Planquette et al. hodnotila prediktivní faktory rekurence VAP způsobené *Pseudomonas aeruginosa* s ohledem na předchozí antibakteriální terapii [18]. Užití fluorochinolonů v předchozí léčbě bylo jednoznačně rizikovým faktorem rekurence VAP. Antibakteriální léčbu je tedy nutné modifikovat s ohledem na předchozí ATB terapii a výsledky předcházejících mikrobiologických vyšetření, čili aplikovat individualizovanou léčbu. Pokud výsledky nejsou k dispozici, je vhodné postupovat podle obecných doporučení ini-

ciální antibiotické terapie VAP, které však musí vycházet z výsledků lokální surveillace bakteriálních patogenů a jejich rezistence k ATB [19].

Nejvýraznějším limitem studie je nízký počet pacientů, nicméně jedná se o pilotní studii, jejímž úkolem bylo ověřením metodiky pro následnou klinickou studii.

Závěr

Předchozí podávání ATB je spojeno s nižší incidencí VAP, současně však s vyšším výskytem MDR bakterií. ATB léčba VAP modifikovaná znalostí předchozí aplikace ATB a výsledky mikrobiologických nálezů přispěla k nižší 28denní i 90denní mortalitě pacientů.

Práce byla podpořena grantem IGA_LF_2019_21.

Literatura

- Hunter JD. Ventilator associated pneumonia. *BMJ* 2012;344:e3325.
- American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America: Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171(4):388–416.
- Warren DK, Shukla SJ, Olsen MA, et al. Outcome and attributable cost of ventilator-associated pneumonia among intensive care unit patients in a suburban medical center. *Crit Care Med* 2003;31:1312–1317.
- Herkel T, Uvizl R, Doubravská L, et al. Epidemiology of hospital-acquired pneumonia: results of a Central European multicenter, prospective, observational study compared with data from the European region. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2016;160(3):448–455.
- Cook DJ, Walter SD, Cook RJ, et al. Incidence of and risk factors for ventilator-associated pneumonia in critically ill patients. *Ann Intern Med* 1998;129:433–440.
- Institute for Healthcare Improvement, Ventilator-Associated Pneumonia bundle, cited: 2016 January 22, Available from: <http://www.ihl.org>
- Eom JS, Lee M, Chun H, et al. The impact of a ventilator bundle on preventing ventilator-associated pneumonia: a multicenter study. *Am J Infect Control*. 2014;42:34–378.
- Gupta R, Malik A, Rizvi M, et al. Epidemiology of multidrug-resistant Gram-negative pathogens isolated from ventilator-associated pneumonia in ICU patients. *J Glob Antimicrob Resist*. 2017;9:47–50.
- Kalil AC, Metersky ML, Klompas M, et al. Management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin Infect Dis*. 2016;63:e61.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Antimicrobial susceptibility testing, revised: 2010 December 01, Available from: <http://www.eucast.org>
- Htoutou-Sedlakova M, Hanulík V, Chroma M, et al. Phenotypic detection of broad-spectrum beta-lactamases in microbiological practice. *Med Sci Monit*. 2011;17:BR147–152.
- Htoutou-Sedláková M, Hanulík V, Chromá M, et al. Rezistence enterobakterií ke karbapenemům. *Klin Mikrobiol Inf Lek*. 2011;17:12–18.
- Perez-Perez FJ, Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol*. 2002;40:2153–2162.
- Pagani L, Dell'Amico E, Migliavacca R, et al. Multiple CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases in nosocomial isolates of Enterobacteriaceae from a hospital in northern Italy. *J Clin Microbiol*. 2003;41:4264–4269.
- Kolek V, Kolář M, Kašák V, Beneš J, Dindoš J. Diagnostika a léčba komunitní pneumonie dospělých, (Klinické doporučení) vydané ČPFŠ a Společností infekčního lékařství, updated 2016, Available from: www.pneumologie.cz
- European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2016 – Healthcare-associated infections acquired in intensive care units. Stockholm: ECDC; 2016. Available online: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/health>
- Melsen WG, Rovers MM, Koeman M, Bonten MJM. Estimating the attributable mortality of ventilator-associated pneumonia from randomized prevention studies. *Crit Care Med* 2011;39:2736–2742.
- Planquette B, Timsit JF, Misset BY, et al. OUTCOMEREA Study Group. Pseudomonas aeruginosa ventilator-associated pneumonia: predictive factors of treatment failure. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;188:69–76.
- Kolář M. Respirační infekce a jejich léčba. Maxdorf Jessenius, 2016.

První zkušenosti s detekcí *tcdB* genu *Clostridioides difficile* pomocí Simplexa *C. difficile* Direct Kit

M. KRACÍK^{1,2}

¹Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, Krajská nemocnice Liberec, a. s.

²Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova

SOUHRN

Kracík M.: První zkušenosti s detekcí *tcdB* genu *Clostridioides difficile* pomocí Simplexa *C. difficile* Direct Kit

Cíl práce: *Clostridioides difficile* (dříve *Clostridium difficile*) je jedním z hlavních původců nozokomiálních nákaz současnosti. Kolonizuje střevo pacientů s antibiotickou léčbou a způsobuje nepříjemné až život ohrožující stavy (průjmy, toxické megakolon). Správná a rychlá detekce toxigenity kmene je zásadní pro terapii a izolační režim pacienta. Simplexa *C. difficile* Direct Kit je *real-time* PCR souprava detekující *tcdB* gen *C. difficile*. Souprava nevyžaduje izolaci DNA a do reakce je použit přímo eluát stolice. Cílem této práce bylo ověření analytických vlastností soupravy za podmínek použití ve třetím diagnostickém kroku (došetření vzorků s nejasnými výsledky). Jako referenční metoda byla použita kultivace s následnou multiplexní *in-house* PCR.

Materiál a metody: Prospektivně bylo testováno 130 vzorků neformované stolice dvěma druhy imunoenzymatických souprav (*C. diff* Quik Chek Complete a LIAISON *C. difficile* GDH, *C. difficile* Toxins A&B). Třicet vzorků mělo nejasné (GDH+TOX-, GDH+TOX+) výsledky alespoň jedním testem a jeden vzorek měl výsledky testů opačné (GDH-TOX-/GDH+TOX+). Tyto vzorky byly kultivovány a testovány pomocí multiplexní *in-house* PCR a soupravou Simplexa.

Výsledky: Souprava Simplexa dosáhla shodných výsledků s kultivací a následnou *in-house* PCR. Senzitivita, specifita, pozitivní prediktivní hodnota a negativní prediktivní hodnota byla ve vztahu k referenční metodě 100%. Vedlejším výsledkem této studie bylo porovnání soupravy *C. diff* Quik Chek Complete se soupravami LIAISON *C. difficile* GDH a LIAISON *C. difficile* Toxins A&B.

Závěr: Analytické vlastnosti soupravy Simplexa byly testovány na 31 vzorcích. Tyto vzorky byly vybrány pro své nejasné (GDH+TOX, GDH-TOX+) nebo rozdílné výsledky po testování imunoenzymatickými metodami. V porovnání s kultivací a následnou *in-house* PCR detekcí genu *tcdB* dosáhla souprava Simplexa vlastností deklarovaných výrobcem. Významným pozitivem soupravy byla absence inhibic při přímém použití eluátu stolice do PCR reakce.

Klíčová slova: *Clostridioides difficile*, *Clostridium difficile*, *tcdB*, PCR, Simplexa, Liaison, Quik Chek

SUMMARY

Kracík M.: First experiences with detection of the *tcdB* gene of *Clostridioides difficile* using Simplexa *C. difficile* Direct Kit

Objective: *Clostridioides difficile* (formerly *Clostridium difficile*) is one of the main pathogens causing nosocomial infections today. It colonizes the intestines of patients receiving antibiotic therapy, causing unpleasant or even life-threatening conditions (diarrhea, toxic megacolon). Rapid and correct detection of strain toxigenicity is essential for treatment and isolation of patients. Simplexa *C. difficile* Direct Kit is a *real-time* PCR kit detecting the *tcdB* gene of *C. difficile*. The kit does not require DNA isolation; stool eluates are directly used for the reaction. The study aimed to verify the analytical properties of the kit used in the third diagnostic step (assessment of samples yielding unclear results). Culture and subsequent *in-house* multiplex PCR were used as a reference method.

Material and methods: A total of 130 unformed stool samples were prospectively tested using two types of immunoenzymatic kits (*C. diff* Quik Chek Complete and LIAISON *C. difficile* GDH, Toxins A&B). In 30 samples, the results were shown to be unclear (GDH+TOX-, GDH+TOX+) by at least one test; one sample yielded opposite test results (GDH-TOX-/GDH+TOX+). These samples were cultured and tested using *in-house* multiplex PCR and the Simplexa kit.

Results: The Simplexa kit showed results consistent with those obtained by culture and subsequent *in-house* multiplex PCR. The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value were 100% with respect to the reference method. Another outcome of the study was comparison of the *C. diff* Quik Chek Complete kit with the LIAISON *C. difficile* GDH and LIAISON *C. difficile* Toxins A&B kits.

Conclusion: The analytical properties of the Simplexa kit were tested on 31 samples. These samples were selected for their unclear (GDH+TOX, GDH-TOX+) or discrepant results yielded by immunoenzymatic methods. Compared with culture and subsequent *in-house* PCR detection of the *tcdB* gene, the Simplexa kit showed properties declared by the manufacturer. An important advantage of the kit was the absence of inhibitions when stool eluates were directly used for PCR reactions.

Keywords: *Clostridioides difficile*, *Clostridium difficile*, *tcdB*, PCR, Simplexa, Liaison, Quik Chek

Klin mikrobiol inf lék 2019;25(1):12–15

Adresa: Mgr. Martin Kracík, Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, Krajská nemocnice Liberec, a. s., Husova 357/10, 460 63 Liberec, e-mail: Martin.Kracik@nemlib.cz

Došlo do redakce: 14. 3. 2019

Přijato k tisku: 10. 5. 2019

Úvod

Clostridioides difficile byl dříve řazen jako *Clostridium difficile* do rodu *Clostridium*. Vzhledem k významné molekulárně biologické odlišnosti od typického zástupce rodu *Clostridium butyricum* byl nově zařazen do vlastního rodu *Clostridioides* [1]. Jedná se o anaerobní, gram pozitivní tyčinku tvořící spory, která se přirozeně vyskytuje v prostředí člověka a zvířat.

Asymptomaticky kolonizuje střeva 5 % dospělé populace a až 66 % dětí [2]. *C. difficile* se šíří odolnými spory, které mohou kontaminovat nemocniční prostředí a způsobovat nozokomiální nákazy. Nejčastěji je přenášen fekálně orální cestou na polymorbidní pacienty s antibiotiky narušeným mikrobiomem střev. Pro minimalizaci šíření *C. difficile* v nemocničním prostředí je třeba pacienta izolovat a dodržovat speciální hygienický režim.

Hlavním příznakem klostridiové kolitidy jsou průjmy rozvíjející se 2–3 dny po infekci v četnosti 10–15 případů za den [2]. Mohou být komplikovány pseudomembranózní kolitidou nebo život ohrožujícím toxickým megakolon (mortalita 30–80 %) [3]. Kolonizace střeva sama o sobě není příčinou vzniku klinických obtíží, tou jsou toxiny, které *C. difficile* produkuje. Časté jsou rekurence způsobené reinfekcí nebo relapsem původní ataky [3].

Standardní postup pro diagnostiku infekcí způsobených *C. difficile* (CDI) je dvoukrokový. V prvním kroku je ve stolici testována přítomnost antigenu glutamát dehydrogenázy (GDH) a v případě pozitivity je proveden druhý krok – detekce toxinů A a B [3,4,5]. Pro tento účel je dostupná celá řada komerčních, nejčastěji imunoenzymatických souprav. Jednou z nich je *C. diff* Quik Chek Complete, TechLab, U.S.A., která využívá princip chromatografie, kdy po membráně testu jsou v mobilní fázi unášeny rozpuštěné GDH ne-

bo toxiny. K nim specifické protilátky jsou vázány v podobě proužků na pevnou fázi membrány a zachytávají komplex konjugát s GDH/toxinem. Po přidání substrátu se v případě pozitivity zabarví testovací proužek. Metoda je jednoduchá, rychlá a nepotřebuje speciální vybavení laboratoře. Jiné soupravy LIAISON *C. difficile* GDH a *C. difficile* Toxins A&B, Diasorin, Itálie, mají vyšší nároky na přístrojové vybavení, ale dosahují vyšší citlivosti [6]. Pro záchyt GDH/toxinu využívají specifické protilátky vázané na paramagnetické částice. Tyto částice jsou volně rozpuštěny v reakčním roztoku, a jsou tak dostupnější pro nasednutí antigenu/toxinu. Jako konjugát je použita specifická protilátka s navázaným isoluminolem. Isoluminol za přítomnosti startovacích reagensů (H_2O_2) oxiduje a zároveň uvolňuje foton, který je zachycen fotonásobičem.

Větší klinický význam má detekce toxinů. Bohužel k tomu účelu používané soupravy nedosahují dostatečné citlivosti [3,4,5], což diagnostiku komplikuje. Pozitivní záchyt GDH a toxinů je považován za laboratorní potvrzení probíhající CDI, ale negativita toxinu při pozitivitě GDH neumožňuje z důvodu možných falešných negativit učinit jednoznačný závěr. Tyto vzorky jsou interpretačně problematické a je vhodné u nich provést další testy – zařadit třetí diagnostický krok. Tímto krokem může být například PCR detekce genů kódujících toxiny A, B nebo binární toxin (*tcdA*, *tcdB*, *cdtA*, *cdtB*). V rutinním provozu je využívána především detekce genu *tcdB*, který se vyskytuje u většiny toxigenních kmenů. Komerčně je dostupná řada souprav, ať už v podobě systému cíleného na jeden gen (*tcdB*), nebo v podobě multiplexů (*tcdB*, *tcdA*, stanovení hypervirulence). Některé laboratoře využívají *in-house* PCR, dle publikovaných postupů [7]. V naší práci bylo využito multiplexní *in-house* PCR a komerčně dostupná souprava Simplexa *C. difficile* Direct Kit,

Tabulka 1
Složení směsi primerů

Primer	Gen	Sekvence	Koncentrace	Amplikon
tcdA-F	<i>tcdA</i>	5'-GCATGATAAGGCAACTTCAGTGGTA-3'	0,6 μM	629 bp
tcdA-R		5'-AGTTCCTCCTGCTCCATCAAATG-3'	0,6 μM	
tcdB-F	<i>tcdB</i>	5'-CCAAARTGGAGTGTTACAAACAGGTG-3'	0,4 μM	410 bp
tcdB-RA		5'-GCATTTCTCCATTCTCAGCAAAGTA-3'	0,2 μM	
tcdB-RB		5'-GCATTTCTCCGTTTTTCAGCAAAGTA-3'	0,2 μM	
cdtA-FA	<i>cdtA</i>	5'-GGGAAGCACTATATTAAGCAGAAGC-3'	0,05 μM	221 bp
cdtA-FB		5'-GGGAAACATTATATTAAGCAGAAGC-3'	0,05 μM	
cdtA-R		5'-CTGGGTTAGGATTATTTACTGGACCA-3'	0,1 μM	
cdtB-F	<i>cdtB</i>	5'-TTGACCCAAAGTTGATGTCTGATTG-3'	0,1 μM	262 bp
cdtB-R		5'-CGGATCTCTTGCTTCAGTCTTTATAG-3'	0,1 μM	
PS-F	16S-rDNA	5'-GGAGGCAGCAGTGGGGAATA-3'	0,05 μM	1 062 bp
PS-R		5'-TGACGGGCGGTGTGTACAAG-3'	0,05 μM	
GluD-F	<i>gluD</i>	5'-GTCTTGATGGTTGATGAGTAC-3'	0,1 μM	159 bp
GluD-R		5'-TTCCTAATTTAGCAGCAGCTTC-3'	0,1 μM	

Diasorin, Itálie. Jedná se o real-time PCR soupravu určenou pro přístroj Liaison MDX.

Materiál a metody

Studie probíhala v období únor až duben 2018 na Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie Krajské nemocnice Liberec. Do studie bylo zařazeno 130 vzorků neformované stolice, které byly zaslány do laboratoře za účelem rutinní diagnostiky *C. difficile*.

Pro primární screening byly použity imunoenzymatické testy *C. diff* Quik Chek Complete, TechLab, U.S.A., LIAISON *C. difficile* GDH a LIAISON *C. difficile* Toxins A&B, Diasorin, Itálie. Vzorky s nejasnými nebo rozdílnými výsledky byly dále testovány soupravou Simplexa *C. difficile* Direct Kit, Diasorin, Itálie.

Jako referenční metoda k soupravě Simplexa byla použita kultivace s následnou multiplexní PCR z izolované DNA. Před samotnou kultivací byly vzorky 30 minut inkubovány v etanolu (96 %) a následně centrifugovány 5 min při 200 g. Sediment byl použit na inokulaci komerčních půd Brazier's *Clostridium difficile* Selective Agar, Oxoid, Česká republika. Kultivace probíhala 48 hodin za teploty 37 °C a anaerobních podmínek. Izolace DNA ze získaných kmenů byla provedena pomocí kolonkové izolace PathogenFree DNA Isolation Kit, Geneproof, Česká republika.

Multiplexní *in-house* PCR bylo provedeno s pomocí specifických primerů pro geny *tcdA* (toxin A), *tcdB* (toxin B), *cdtA*, *cdtB* (binární toxin), *gluD* (GDH) a 16S-rDNA. Reakční směs se skládala z 12,5 µl HotStarTaq MasterMix, Qiagene, Nizozemí, 5 µl směsi primerů (složení viz tab. 1) [7], 5 µl DNA free H₂O a 5 µl izolované DNA. K provedení reakce byl použit přístroj PTC-100, Bio-Rad, U.S.A. v nastavení: 15 min 94 °C, 35× 45 s 94 °C, 45 s 50 °C a 1 min 72 °C, finální extenze 30 min 72 °C. Elektroforéza k detekci amplikonů byla provedena pomocí přístroje MultiNA, Shimadzu, Japonsko.

Tabulka 2
Klinicko-diagnostický závěr případů
testovaných soupravou Simplexa

Závěr	Počet	%
Nastupující ¹ nebo mírné CDI bez nasazení léčby	10	32,3
CDI – odběr po nasazení léčby	7	22,6
Netoxigenní kmen	2	6,5
Nespecifický záchyt	12	38,7
Celkem	31	100,0

¹Nastup CDI zachycen v jednom případě, kdy další odběr byl již GDH a toxin pozitivní

Výsledky

Ze 130 vzorků testovaných imunoenzymatickými metodami bylo 81 (62,3 %) shodně negativních (GDH-TOX-), 18 (13,9 %) shodně pozitivních (GDH+TOX+), 30 (23,1 %) nejasných (GDH+TOX-, GDH-TOX+) alespoň jedním testem a jeden (0,8 %) vzorek měl testovanými metodami rozdílné výsledky (GDH+TOX+ / GDH-TOX-).

Třicet jedna (23,8 %) vzorků s nejasnými nebo rozdílnými výsledky bylo kultivováno a jejich toxigenita byla stanovena pomocí multiplexní *in-house* PCR. Dvanáct vzorků bylo *tcdA*, *tcdB* pozitivních, 5 vzorků *tcdA*, *tcdB*, *cdtA*, *cdtB* pozitivních a 2 obsahovaly netoxigenní kmen. Celkem byl prokázán *tcdB* gen u 17 (54,8 %) vzorků z 31. Přítomnost GDH byla potvrzena u 19 (61,3 %) vzorků.

Stejných 31 vzorků bylo testováno soupravou Simplexa. Sedmáct vzorků bylo *tcdB* pozitivních a 14 *tcdB* negativních. Žádný vzorek nevykazoval inhibici PCR reakce. Ve všech 31 případech bylo dosaženo soupravou Simplexa stejných výsledků jako referenční metodou. Z klinicko-diagnostického hlediska bylo 10 vzorků od pacientů s nastupující nebo mírnou, neléčenou CDI a 7 vzorků od pacientů s léčenou CDI. Dva vzorky obsahovaly netoxigenní kmen a ve 12 případech se jednalo o nespecifický záchyt imunoenzymatickými testy. Přehledně uvádí klinicko-diagnostické závěry tabulka 2. U 17 vzorků byla pozitivita PCR jediným diagnostickým údajem pro možné nasazení léčby.

V případě testování pouze soupravami Liaison bylo zachyceno 23 nejasných vzorků. Pozitivita testu Simplexa byla prokázána u 9 z nich. Zbylých 8 vzorků z 31 s nejasnými nebo rozdílnými výsledky bylo Liaison GDH+TOX+. Testem Quik Chek bylo zachyceno 15 nejasných nebo rozdílných případů. Dvanáct z nich bylo pozitivních testem Simplexa. Z 16 vzorků negativních (GDH-TOX-) testem Quik Chek, bylo 5 Simplexa pozitivních a Liaison nejasných (GDH+TOX-) nebo pozitivních (GDH+TOX+).

Diskuze

Sto třicet vzorků neformované stolice bylo testováno dvěma druhy imunoenzymatických metod na přítomnost GDH a toxinů (A, B). Třicet jedna z nich s nejasnými (GDH+TOX-) nebo rozdílnými výsledky (GDH-TOX-/GDH+TOX+) bylo dále testováno pomocí soupravy Simplexa *C. difficile* Direct Kit a referenční metodou. Zjištěná senzitivita soupravy byla 100 % – výsledky soupravy byly totožné s výsledky referenční metody. Během studie nebyla u soupravy Simplexa pozorována inhibice PCR reakce. Obdobné vlastnosti soupravy Simplexa byly popsány i v jiných publikovaných pracích [12,13].

Vedlejším výsledkem studie bylo porovnání imunoenzymatických souprav LIAISON *C. difficile* GDH a LIAISON *C. difficile* Toxins A&B s testem *C. diff* Quik Chek Complete. U souprav Liaison byla potvrzena vyšší senzitivita při detekci jak GDH, tak toxinů [10]. Z 31 nejasných nebo rozdílných vzorků nebylo testem Quik Chek detekováno 8 (25,8 %) vzorků GDH pozitivních a 5 (16,1 %) toxin pozitivních. Prevalence nejasných (GDH+TOX-) výsledků u testu Quik Chek se dle literatury pohybuje v rozmezí 6,2–30,5 % [11]. V našem případě byla 11,5 % (15/130) a u souprav Liaison 17,7 % (23/130). Vyšší prevalence nejasných výsledků

u souprav Liaison byla dána větším množstvím vzorků GDH-TOX+. Výskyt těchto vzorků potvrzuje dříve popsanou [10] nižší specifitu soupravy LIAISON *C. difficile* Toxins A&B.

Z důvodu nižší citlivosti imunoenzymatických metod při detekci toxinů [10,12] a také významného vlivu empirické léčby (13) je výskyt vzorků s nejasnými výsledky (GHD+TOX-) poměrně častý. Zařazení třetího diagnostického kroku pro jejich došetření může být významným faktorem při stanovení správné diagnózy. V naší studii byla toxigenita 17 vzorků určena teprve v rámci testování pomocí amplifikace DNA. Výsledky těchto vzorků by ve dvoukrokovém diagnostickém postupu neindikovaly nasazení léčby.

Závěr

Diagnostická souprava Simplexa *C. difficile* Direct Kit dosáhla při stanovení toxigenity kmene *C. difficile* vyšší citlivosti než imunoenzymatické testy a stejné citlivosti jako multiplexní *in-house* PCR. Ačkoli cílí pouze na detekci genu *tcdB*, může být díky své jednoduchosti a robustnosti vhodným doplněním diagnostiky *C. difficile* ve středních až malých laboratořích.

Práce byla podpořena projektem SVV 260398.

Literatura

- Lawson PA, et al. Reclassification of *Clostridium difficile* as *Clostridioides difficile* (Hall and O'Toole 1935) Prévot 1938. *Anaerobe*. 2016;40:95–99.
- Kazanowski M, et al. *Clostridium difficile*: epidemiology, diagnostic and therapeutic possibilities – a systematic review. *Techniques in Coloproctology*. 2014;18:223–232.
- Beneš J a další. Doporučený postup diagnostiky a léčby kolitidy vyvolané *Clostridium difficile*. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. 2014;2:56–66.
- Crobach MJT, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016;22:63–81.
- Krůtová M, Nyč, O. Aktualizace českých doporučených postupů pro laboratorní diagnostiku infekcí vyvolaných *Clostridium difficile*. *EPIDEMIOLOGIE, MIKROBIOLOGIE, IMUNOLOGIE* 2018;67:2.
- Krůtová M, et al. Diagnostika *Clostridium difficile* infekcí – porovnávací studie dvou imunoenzymatických metod s konfirmací pomocí PCR a kultivace s následnou ribotypizační kmene. *EPIDEMIOLOGIE, MIKROBIOLOGIE, IMUNOLOGIE*. 2014, 2, stránky 99–102.
- Persson S, Torpdahl M, Olsen KEP. New multiplex PCR method for the detection of *Clostridium difficile*. *Clinical Microbiology and Infection*. 2008;14:1057–1064.
- Landry ML, Ferguson D, Topal J. Comparison of Simplexa Universal Direct PCR with Cytotoxicity Assay for Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection: Performance, Cost, and Correlation with Disease. *Journal of Clinical Microbiology*. 2014;52:275–280.
- Paitan Y, Miller-Roll T, Adler A. Comparative performance study of six commercial molecular assays for rapid detection of toxigenic *Clostridium difficile*. *Clinical Microbiology and Infection*. 2017;23:567–572.
- Makrithathis A, et al. Comprehensive evaluation of chemiluminescent immunoassays. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2017;36:1253–1259.
- Akamatsu Y, et al. Evaluation of antigen-positive toxin-negative enzyme immunoassay results for the diagnosis of toxigenic *Clostridium difficile* infection. *The Journal of Medical Investigation*. 2018;65:131–135.
- Yoo IY, et al. Simultaneous Detection of *Clostridioides difficile* Glutamate Dehydrogenase and Toxin A/B: Comparison of the C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE and RIDASCREEN Assays. *Ann Lab Med*. 2019;39:214–217.
- Sunkesula VCK, et al. Does Empirical *Clostridium difficile* Infection (CDI) Therapy Result in False-Negative CDI Diagnostic Test Results? *Clinical Infectious Diseases*. 2013;57:494–500.

Kliešťová meningoencefalitída u gravidnej pacientky

I. HOCKICKOVÁ¹, J. SEKULA¹, D. HUDÁČKOVÁ², Z. PARALIČOVÁ¹

¹Klinika infektológie a cestovnej medicíny, LF UPJŠ a UN LP Košice

²Detské infekčné oddelenie, DFN Košice

SOUHRN

Hockicková I., Sekula J., Hudáčková D., Paraličová Z.: **Kliešťová meningoencefalitída u gravidnej pacientky**

O priebehu kliešťovej encefalitídy (KE) v gravidite, ako aj o riziku vertikálneho prenosu je v literatúre len veľmi málo informácií. V práci predkladáme kazuistiku pacientky, ktorá ochorela na KE v 37. týždni gravidity alimentárnou cestou. Ochorenie u nej prebehlo pod obrazom meningitídy, bez neurologického poškodenia. Tri týždne po vypuknutí ochorenia porodila zdravé dieťa, ktoré vo veku 2 a pol roka malo negatívny výsledok protilátok proti KE obidvoch tried IgM aj IgG a počas celého obdobia sledovania u neho neboli zaznamenané žiadne známky neurologického poškodenia, či narušený psychomotorický vývin.

Kľúčové slová: kliešťová encefalitída, tehotenstvo, kazuistika

SUMMARY

Hockicková I., Sekula J., Hudáčková D., Paraličová Z.: **Tick-borne encephalitis in a pregnant patient**

There is a lack of information in the literature about the course and risk of vertical transmission of tick-borne encephalitis (TBE) during pregnancy. Presented is a case report of a female patient in the 37th week of pregnancy infected by foodborne transmission. She developed meningitis with no neurological damage. Three weeks after the first symptoms, she gave birth to a healthy child who, at the age of 30 months, had a negative result of anti-TBE antibodies in both IgM and IgG classes. In the child, no signs of neurological injury or impaired psychomotor development were observed throughout the follow-up period.

Keyword: tick-borne encephalitis, pregnancy, case report

Klin mikrobiol inf lék 2019;25(1):16–19

Adresa: doc. MUDr. Zuzana Paraličová, PhD., Klinika infektológie a cestovnej medicíny UNLP, Rastislavova 43, 041 90 Košice, Slovenská republika, e-mail: zuzana.paralicova@unlp.sk

Došlo do redakcie: 26. 2. 2019

Prijato k tisku: 18. 4. 2019

Úvod

Kliešťová encefalitída (KE) je ochorenie vyvolané RNA vírusom kliešťovej encefalitídy, ktorý patrí do čelade Flaviviridae. Ide o arbovirózu, teda infekciu prenášanú na človeka článkonožcami, konkrétne prisatím kliešťa [1]. Pre európsky subtyp KE je hlavným vektorom *Ixodes ricinus* a okrajovým *Ixodes gibbosus*, príležitostne sa na prenose môžu podieľať aj iné druhy kliešťov [2]. Výskyt ochorenia je sezónny a súvisí s aktivitou kliešťov, t.j. predovšetkým v období od apríla do októbra [3]. V súčasnej dobe rozoznávame 3 podtypy vírusu, ktoré majú rozličnú geografickú distribúciu, aj keď sú dôkazy o ich prekrytí na jednotlivých územiach:

- Ďalekovýchodný typ (predtým označovaný ako Ruská jar-no-letná encefalitída),

- Sibírsky (predtým označovaný ako západosibírsky typ),
- Európsky – západný typ (predtým označovaný ako stredo-európsky typ) [4,5].

V našej geografickej oblasti sa stretávame najčastejšie s európskym – západným typom kliešťovej encefalitídy. Tá sa vyskytuje vo viacerých krajinách Európy, vrátane Slovenska. V roku 2016 bolo najviac ochorení hlásených z Litvy (633), na 2. mieste s počtom 565 prípadov bolo Česko, na Slovensku bolo v uvedenom roku hlásených 169 ochorení [6]. Na Slovensku je známych asi 33 endemických ohnísk kliešťovej encefalitídy, jedným z nich je aj oblasť Košice-okolie [7]. Rezervoárom vírusu KE sú drobné cicavce, vysoká zver, ale aj domáce zvieratá (kozy, ovce, hovädzí dobytok). Okrem prenosu prisatím kliešťa, je možný aj prenos konzumáciou nepasterizovaného mlieka, najmä kozieho

alebo ovčieho. Práve Slovensko je krajina s najčastejším výskytom KE prenesenou alimentárnou cestou [8].

Každoročne je na Slovensku diagnostikovaných niekoľko desiatok ochorení, často aj s veľmi závažným klinickým priebehom. S ochorením sa môžeme stretnúť vo všetkých vekových skupinách, ale najčastejšie sa vyskytuje u dospelých vo vyššom veku. Klinický priebeh je typicky dvojfázový. Po inkubačnej dobe (3–30 dní) dochádza k rozvoju prvého klinického štádia vo forme nešpecifických príznakov pripomínajúcich chrípku. V klinickom obraze dominuje zvýšená telesná teplota, bolesti hlavy, bolesti svalov a kĺbov, malátnosť a únava [1]. Toto prvé štádium trvá väčšinou 4–6 dní a po prechodnom období dochádza k rozvoju druhého klinického štádia. Manifestuje sa vo forme meningitídy (cca 50 % pacientov), meningoencefalitídy (40 % pacientov) alebo meningoencefalomyelitídy (10 % pacientov) [9]. Typické sú vysoké horúčky, bolesti hlavy, nauzea až zvracanie, pozitívne meningeálne príznaky. Pri závažnom priebehu môžeme pozorovať aj kvalitatívne a kvantitatívne poruchy vedomia, extrapyramídový syndróm, bradykinézu, tremor končatín, jazyka, hypomímiu až vznik paréz. Raritné, ale veľmi nebezpečné sú bulbárne príznaky v podobe porúch motoriky v oblasti mäkkého podnebia, faryngu a laryngu. Najnápadnejším príznakom je huhňavá reč a porucha prehltnutia [1].

ECDC (Európske centrum pre kontrolu chorôb) vo svojom reporte z roku 2011 navrhlo kritéria na určenie diagnózy kliešťovej encefalitídy, ktoré vychádzajú z klinických príznakov, epidemiologickej súvislosti a laboratórneho nálezu. Tieto kritéria sú uvedené v *tabuľke 1* a klasifikácia jednotlivých prípadov na základe uvedených kritérií v *tabuľke 2* [10].

Liečba KE je symptomatická, špecifická antivírusová liečba dostupná nie je. Aplikuje sa kľud na lôžku, polyvitaminózna liečba, antipyretiká, antiemetiká, analgetiká. Častokrát je nutná aj antiedematózna liečba vo forme infúzie manitolu, eventuálne parenterálne kortikosteroidy, ktoré majú aj protizápalový účinok [11].

Kazuistika

V máji 2016 sme na Kliniku infektológie a cestovnej medicíny v Košiciach prijali 31 ročnú pacientku v 37. týždni gravidity. Pacientka udávala, že pred dvomi týždňami mala 3 dňové subfebrility a bola hospitalizovaná na gynekologickej klinike, kde jej podávali magnéziové infúzie. Stav sa postupne upravil a z gynekologickej kliniky bola prepustená afebrilná do domácej starostlivosti s diagnózou falošná pôrodná činnosť pred ukončením 37. týždňa gravidity. Pri vyšetrení na našej ambulancii pacientka udávala jeden deň trvajúce febrility do 39 °C, mierne pocity „tvrdnutia“ bruška. Nauzeu, zvracanie negovala. Udávala aj mierne bolesti hlavy, svalov a kĺbov. Anamnesticky bola doteraz zdravá, s negatívnym predchorobím, v epidemiologickej anamnéze udávala len kontakt s dcérou, ktorá bola nachladená. Negovala poštipanie kliešťom. Pacientka bola pri prijíme febrilná, kardiopulmonálne kompenzovaná so známkami miernej dehydratácie, bez príznakov meningeálneho dráždenia, ostatný neurologický nález bol primeraný. Pacientka bola prijatá na infekčnú kliniku s pracovnou diagnózou virózy. Vo vstupnom laboratórnom náleze bola prítomná hraničná leukocytóza ($10,69 \times 10^9/l$) s miernou prevahou neutrofilov (73 %), normocytová normochrómna anémia ľahkého stupňa a normálna hladina C – reaktívneho proteínu. Na druhý deň hospi-

Tabuľka 1
Kritéria na definovanie kliešťovej encefalitídy (KE) podľa ECDC [10]

Klinické kritéria	Osoba s klinickými prejavmi zápalu centrálného nervového systému – meningitídy, meningo-encefalitídy, encefalomyelitídy, encefaloradikulitídy
Epidemiologické súvislosti	Osoba vystavená rovnakému zdroju potravín (nepasterizované mliečne výrobky) ako potvrdený prípad KE počas epidémie Možné zaklieštenie v endemickej oblasti alebo pobyt v endemickej oblasti
Laboratórne kritéria:	
Pre pravdepodobný prípad	Detekcia KE špecifických IgM protilátok v jednorázovej vzorke séra ^a
Pre potvrdený prípad	Detekcia KE špecifických IgM a IgG protilátok v sére ^{a,b}
	Detekcia IgM alebo IgM a IgG protilátok v mozgovomiešnom moku ^c
	Sérokonverzia alebo signifikantný vzostup KE špecifických protilátok v párových vzorkách séra ^{a,b}
	Detekcia vírusovej RNA v klinickej vzorke ^c
	Izolácia vírusu KE z klinickej vzorky ^c

^a Poznámka pre akékoľvek sérologické testovanie: interpretácia sérologických výsledkov musí byť v súlade s vakcinačným stavom a predchádzajúcou expozíciou iným flavivírusovým infekciám.

^b Potvrdenie špecifických anti KE protilátok sérum neutralizačným testom.

^c Likvor, krv, alebo iné telesné tekutiny alebo tkanivá.

Tabuľka 2

Klasifikácia prípadov kliešťovej encefalitídy na základe kritérií, podľa ECDC [10]

Možný prípad KE	Neaplikovateľné
Pravdepodobný prípad KE	Osoba spĺňajúca klinické kritéria a laboratórne kritéria pre pravdepodobný prípad, ALEBO Osoba spĺňajúca klinické kritéria s epidemiologickou súvislosťou
Potvrdený prípad KE	Osoba spĺňajúca klinické kritéria a jedno z konfirmačných laboratórných kritérií

talizácie pacientka priznala konzumáciu nepasterizovaného ovčieho syra pred 3 týždňami. V tomto období prebiehala v našom kraji epidémia kliešťovej encefalitídy súvisiaca s konzumáciou nepasterizovaného ovčieho syra z jedného salaša, celkovo bolo potvrdených 43 prípadov, 36 z nich bolo hospitalizovaných. Vzhľadom na nemožnosť vylúčiť rozvoj kliešťovej encefalitídy sme u pacientky, po realizovaní vyšetrenia očného pozadia, pristúpili ku lumbálnej punkcii. Likvor bol číry, vytekal pod mierne zvýšeným tlakom. V likvore bol prítomný celkový počet elementov $35/\text{mm}^3$, z toho mononukleáre $11/\text{mm}^3$ a polymorfonukleáre $24/\text{mm}^3$. Proteinorachia bola 642 mg/l, glykorachia 4,4 mmol/l (sérová glykémia bola 4,6 mmol/l), chloridy v likvore boli v norme (116 mmol/l). Zároveň bola dokázaná sérová aj intratekálna tvorba protilátok proti kliešťovej encefalitíde v triede IgM. U pacientky bola zahájená podporná, antiedematózna a polyvitaminózna terapia. Realizovali sme aj neurologické konziliárne vyšetrenie, ktoré bolo negatívne v zmysle rozvoja neurologickej symptomatiky. V klinickom obraze ďalej dominovali vysoké horúčky, silné bolesti hlavy a celková alterácia. Pri uvedenej liečbe sa stav pacientky postupne upravil a po 7 dňoch hospitalizácie bola prepustená domov s diagnózou stredo európska kliešťová encefalitída. Ochorenie u pacientky spĺňalo kritéria ECDC pre potvrdený prípad KE (klinické kritéria + pozitívne IgM protilátky v likvore). Dva týždne po prepustení bola opätovne prijatá na gynekologickú kliniku, kde porodila spontánne v termíne zdravé dievčatko. Dieťa nevykazovalo príznaky choroby, USG mozgu po narodení bolo bez nálezu štrukturálnych zmien. Dieťa bolo plne dojčené a počas 2 a pol ročného sledovania sa dieťa vyvíja normálne, bez akýchkoľvek odchýlok od psychomotorického vývoja. Vo veku 2 a pol roka bolo u dieťaťa zrealizované sérologické vyšetrenie protilátok proti kliešťovej encefalitíde, ktoré boli negatívne v triede IgM aj IgG.

Diskusia

Po prisatí infikovaného kliešťa dochádza k lokálnej replikácii vírusu KE v mieste prisatia. Predpokladá sa, že toto primárne pomnoženie prebieha v dendritických kožných bunkách a následne vírus preniká do lokálnych lymfatických uzlín. Následne je vírus KE diseminovaný do extraneurálnych tkanív, najmä do sleziny, pečene a kostnej drene, kde prebieha replikácia vírusu KE, čo sa prejaví v klinickom obraze ako prvá fáza ochorenia [12]. Počas tejto fázy dochádza aj k virémii, ktorá pretrváva niekoľko dní po nástu-

pe symptómov ochorenia. Samotné trvanie virémie nie je dobre zdokumentované. Následne u časti pacientov (približne u 20–30 % chorých) dochádza k prieniku vírusu cez hematoencefalitickú bariéru do mozgu [13]. Presný mechanizmus prieniku cez hematoencefalitickú bariéru nie je jasný. Cieľovými bunkami vírusu KE sú neuróny, kde dochádza k ďalšej replikácii vírusu. Počas virémie by mohlo dôjsť aj k transplacentárnemu prenosu vírusu KE na dieťa. Vo vedeckej literatúre je pomerne málo známych prípadov kliešťovej encefalitídy u gravidných žien. Je pomerne náročné aj nájsť informácie ohľadom možného transplacentárneho prenosu u človeka a taktiež je málo známy aj vplyv gravidity na priebeh kliešťovej encefalitídy. Dostupné literárne zdroje sa odkazujú na výsledky ruskej štúdie, v ktorej bol dokázaný vertikálny prenos vírusu KE u drobných hlodavcov, a to prenatálne, perinatálne aj postnatálne [14]. Na základe toho sa nedá vylúčiť, že môže dochádzať k transplacentárnemu prenosu infekcie aj u ľudí. K transplacentárnemu prenosu dochádza častejšie koncom gravidity ako na jej začiatku. Napríklad pri akútnej CMV infekcii sa transplacentárny prenos v 1. trimestri udáva na 20 % a v 3. trimestri na 75 %, aj keď rozsah neurologického poškodenia je závažnejší pri infekcii v 1. trimestri [15]. Podobné informácie o možnom transplacentárnom prenose kliešťovej encefalitídy nie sú známe. Vírus TBE sa nachádza aj v mlieku infikovaných zvierat a alimentárne infekcie po požití nepasterizovaného mlieka, či syra sú známe, podobne tomu bolo aj u našej pacientky. Na základe toho sa nedá vylúčiť, že môže vírus prechádzať do materského mlieka infikovaných žien, a teda môže dôjsť k prenosu vírusu KE dojčením. V literatúre však nenachádzame údaje o takto získanej KE u dojčiat. Naša pacientka rodila tri týždne po vypuknutí kliešťovej meningitídy. Podľa výsledkov maďarskej štúdie vírus môže byť v mlieku kôz prítomný do 18 dní od prieniku vírusu do organizmu [16]. Dá sa predpokladať, že v čase pôrodu a neskôr už naša pacientka nemala vírus v materskom mlieku. Negatívny výsledok protilátok proti KE obidvoch tried IgM aj IgG u dieťaťa nasvedčuje, že dieťa nebolo vírusom KE infikované transplacentárnou cestou, perinatálne ani postnatálne dojčením.

Záver

Uvedenou kazuistikou chceme zdokumentovať priebeh kliešťovej encefalitídy u gravidnej pacientky v 37. týždni gravidity. Ochorenie u nej prebehlo bez komplikácií. U novorodenca neboli zaznamenané žiadne známky ochorenia,

či narušený psychomotorický vývin v priebehu 2 a pol ročného sledovania. Negatívny výsledok protilátok proti KE obidvoch tried IgM aj IgG vo veku dieťaťa 2 a pol roka nasvedčuje, že u neho nedošlo ku transplacentárnej ani postnatálnej infekcii vírusom KE. Nakoľko však ide iba o jeden zdokumentovaný prípad, nedá sa na jeho podklade jednoznačne vyvodiť záver, či kliešťová encefalitída u gravidnej ženy predstavuje zvýšené riziko pre matku a plod.

Literatúra

1. Kumpel P. Kliešťová meningoencefalitída. In Beneš J, et al. Infekční lékařství. 1. vyd. Praha: Galen 2009; s. 125–127.
2. Hubálek Z, Rudolf I. Tick-borne viruses in Europe. *Parasitol Res.* 2012;111:9–36.
3. Süss J. Tick-borne encephalitis 2010: epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia-an overview. *Ticks Tick Borne Dis.* 2011;2(1):2–15.
4. Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, et al. Virus taxonomy. Eighth report of the international committee on taxonomy of viruses. San Diego: Elsevier Academic Press; 2005.
5. Thomas SJ, et al. Flaviviruses (Dengue, Yellow Fever, Japanese Encephalitis, West Nile Encephalitis, St. Louis Encephalitis, Tick-Borne Encephalitis, Kyasanur Forest Disease, Alkhurma Hemorrhagic Fever, Zika). In Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 8th edition. Elsevier Saunders, Philadelphia 2015; pp 1881–1903.
6. ECDC Surveillance Atlas of infectious diseases. Available from: <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>.
7. Maderová E. Kliešťová encefalitída na Slovensku. *Via pract.* 2005; 2(1):51–54.
8. Kerlik J, Avdičová M, Štefkovičová M et al. Slovakia reports highest occurrence of alimentary tick-borne encephalitis in Europe: Analysis of tick-borne encephalitis outbreaks in Slovakia during 2007–2016. *Travel Medicine and Infectious Disease.* 2018;26:37–42.
9. Mansfield KL, Johnson N, Phipps LP, et al. Tick-borne encephalitis virus – a review of an emerging zoonosis. *J Gen Viol.* 2009;90(8): 1781–1794.
10. ECDC Meeting Report 2011. Second expert consultation on tick-borne diseases with emphasis on Lyme borreliosis and tickborne encephalitis. Available from: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/Tick-borne-diseases-meeting-report.pdf>
11. Bogovic P, Strle F. Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management. *World J Clin Cases* 2015; 3(5):430–441.
12. Bogovic P, Lotric-Furlan S, Avsic-Zupanc T, et al. Factors associated with severity of tick-borne encephalitis: A prospective observational study. *Travel Medicine and Infectious Disease* 2018;(26):25–31.
13. ECDC Factsheet about tick-borne encephalitis (TBE). <https://ecdc.europa.eu/en/tick-borne-encephalitis/facts/factsheet>
14. Bakhvalova VN, Choicherina GS, Potapova OF, et al. Tick-borne encephalitis virus diversity in ixodic ticks and small mammals in South-Western Siberia, Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2016;16(8): 541–549.
15. Pass RF, Anderson B. Mother-to-Child Transmission of Cytomegalovirus and Prevention of Congenital Infection. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2014; (Suppl 1):S2–S6.
16. Balogh Z, Egyed L, Ferenczi E, et al. Experimental infection of goats with tick-borne encephalitis virus and the possibilities to prevent virus transmission by raw goat milk. *Intervirology.* 2012;55(3):194–200.

Doporučený postup péče o pacienty s porušenou či zaniklou funkcí sleziny (hyposplenismem/asplenií)

Aktualizace Doporučeného postupu Společnosti infekčního lékařství a České vakcinologické společnosti České lékařské společnosti J. E. Purkyně

P. KOSINA¹, Z. BLECHOVÁ², J. KOTEN³, H. ROZSYPAL⁴, R. CHLÍBEK⁵,
J. BENEŠ⁴, L. PETROUŠOVÁ⁶, L. ROŽNOVSKÝ⁶

¹Klinika infekčních nemocí, FN a LF UK, Hradec Králové;

²Klinika infekčních nemocí, 2. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha; ³Interní klinika, Thomayerova nemocnice, Praha;

⁴Klinika infekčních a tropických nemocí, 1. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha;

⁵Katedra epidemiologie, Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany, Hradec Králové;

⁶Klinika infekčního lékařství, FN a LF OU, Ostrava

Úvod

Jako hyposplenismus označujeme stavy, kdy je slezina sice anatomicky přítomna, neplní však adekvátně svoje funkce. Jako asplenie označujeme stav, kdy slezina definitivně chybí (anatomická asplenie), nebo definitivně ztratila svou funkci (funkční asplenie).

Syndrom fulminantně probíhající sepse u splenektomovaných – tzv. OPSI-syndrom (z anglického názvu *Overwhelming PostSplenectomy Infection*) – poprvé popsali King a Schumacker [1]. Všichni pacienti s hyposplenismem/asplenií jsou v celoživotním riziku závažně probíhajících infekcí (způsobených především opouzdřenými mikroby – *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*), tromboembolických komplikací a v dlouhodobém horizontu i nádorových onemocnění [2–5]. Slezina funguje mj. jako fagocytární filtr – odstraňuje přestálé a poškozené krevní elementy, erytrocytární tělíška a cirkulující mikroorganismy. Zvláštní význam má slezina v záchytu a odstranění cirkulujících opouzdřených patogenů, především pak pneumokoků (*S. pneumoniae*). Tyto patogeny jsou efektivně opsonizovány pentamery protilátek třídy IgM, přímo produkovanými paměťovými B-lymfocyty přítomnými ve slezině, čímž je zahájena efektivní imunitní obrana makroorganismu. Při zániku těchto buněk (po splenektomii, po ozáření sleziny apod.) není adekvátně rozvinuta časná fáze specifické vrozené imunitní odpovědi. U dětí do 2 let věku, u jedinců s běžným variabilním imunodeficiencím (*common variable immunodeficiency*, CVID) a u jedinců s hyposplenismem je marginální zóna nezralá, funkce paměťových B-lymfocytů není plně vyvinuta, proto jsou tyto jedinci rovněž zvýšeně náchylní především k infekcím způsobeným opouzdřenými mikrobiálními patogeny [2,3,5,6].

Etiologie asplenie/hyposplenismu

Základní možné příčiny funkčního hyposplenismu jsou vypsány v *tabulce 1*. Všichni pacienti s uvedenými nemoce-

mi a stavy nemusí vykazovat známky funkčního poškození sleziny, a proto nemohou být automaticky považováni za osoby s hyposplenismem. Hyposplenismus musí být stanoven na základě kritérií uvedených v části diagnostika. Nejčastější příčiny anatomické asplenie představují splenektomie z jakékoli indikace a anatomické kongenitální anomálie. Parciální splenektomie vede pouze k přechodné poruše humorální imunity při zachovalé fagocytární schopnosti. Při nutnosti totální splenektomie může vést implantace části slezinné tkáně (o objemu minimálně cca 30 ml) do kapsy vytvořené z omenta k zachování alespoň částečné funkce sleziny (tzv. splenóza, která může vzniknout i intraperitoneálním rozsevem útržků slezinné tkáně při traumatu sleziny). Vzhledem k tomu, že dosud nejsou dostupné jednoznačné údaje, zda je u těchto pacientů rovněž vyšší riziko invazivních infekcí, doporučují se u nich stejná opatření, jako kdyby podstoupili totální splenektomii [2].

Epidemiologie

Výskyt OPSI-syndromu lze posoudit obtížně. Jednotlivé studie mají značně variabilní složení zkoumané populace, různě dlouhou dobu následného sledování apod. Celoživotní riziko OPSI-syndromu se odhaduje na 5 %, z toho 30 % infekcí se projeví v prvním roce po splenektomii a 50 % během prvních dvou let po splenektomii [7]. V metaanalýze 78 studií z let 1966–1996 byla prevalence OPSI-syndromu odhadnuta na 3,2 % s mortalitou 1,4 % [8]. Vyšší riziko fulminantních infekcí bylo pozorováno u pacientů po splenektomii provedené z důvodu thalasemie, srpkovité anémie, Hodgkinova lymfomu, sférocytózy a idiopatické trombocytopenické purpury (u těchto jedinců je i častější výskyt běžného variabilního imunodeficitu). U pacientů po post-traumatické splenektomii byla pozorována prevalence OPSI-syndromu 2,3 % s mortalitou 1,1 % [2].

Riziko infekcí po splenektomii je celoživotní a je do značné míry ovlivněno komorbiditami, stavem výživy, alkoholo-

lismem nebo léčbou (chemoterapie apod.). Riziko OPSI-syndromu u splenektomovaných je až 50× vyšší než u běžné populace. V 50–90 % případů se jedná o infekce způsobené *S. pneumoniae*, přičemž nebyla zaznamenána prevalence některých sérotypů a závažnost OPSI-syndromu nebyla sérotypem ovlivněna [9]. Pneumokoková infekce zpravidla nemá typickou manifestaci (sinusitida, otitida, pneumonie) a zdroj bakteriémie je často neznámý. První příznaky rozvíjející se sepse jsou často velmi nespecifické: celková slabost, artralgie, myalgie, cefalea, nausea a vomitus. Během několika málo následujících hodin se však může rozvinout fulminantní sepse s těžkým multiorgánovým selháním, diseminovanou intravaskulární koagulopatií a Waterhouse-Friedrichsenovým syndromem. Nejčastějším klinickým příznakem je horečka nad 38 °C [2,4,5,8–11]. Ostatní patogeny se v rozvoji OPSI-syndromu uplatňují výrazně méně (gramnegativní tyčinky, *Capnocytophaga canimorsus* aj.) [2,4,5]. Asplenie představuje zvýšené riziko těžkého průběhu a/nebo komplikací u malárie a babesiózy. Zvýšené riziko OPSI-syndromu při hyposplenismu je rozdílné u jednotlivých onemocnění, např. se udává do 10 % u systémového lupusu, v desítkách procent u celiakie, transplantace kostní dřeně a jaterní cirhózy, nejvyšší riziko je u srpkovité anémie, lymfoproliferativních chorob a talasémie [23,24]. Opakované antigenní stimuly mohou vést k postupné atrofizaci se zmenšením sleziny (pozdní stadia srpkovité anémie, celiakie, nespecifických střevních zánětů).

Hyposplenismus se postupně rozvíjí i při zvětšení sleziny, které je typické při onemocnění jater a infiltrativní procesy ve slezině. Hyposplenismus při atrofizaci sleziny provázejí hematologické abnormality charakteru mírné leukocytózy a trombocytózy, což zvyšuje riziko trombotických komplikací. Pro pokročilejší jaterní onemocnění je typická naopak trombocytopenie.

Diagnostika

Pro diagnostiku anatomické asplenie postačují anamnestická data a jizva po chirurgickém zákroku. Diagnostika hyposplenismu je obtížná (viz *tabulka 3*). Funkční i morfoloogické zhodnocení sleziny lze provádět pomocí radioizotopových metod, jejich použití je však v každodenní klinické praxi obtížně dostupné a není standardizováno. Proto se častěji používají metody prokazující morfoloogické alterace erytrocytů. Pro dysfunkci sleziny svědčí přítomnost Howell-Jollyho tělísek v erytrocytech (zbytky erytrocytárních jader) – senzitivita i specifická však není dostatečná.

Mezi další známky dysfunkce sleziny patří tečkování erytrocytů (anglicky *pitting*), které lze prokázat fázovou interferenční mikroskopií. Tímto vyšetřením lze opakovaně kvantifikovat tečkované erytrocyty, jejichž počet dobře koreluje s objemem funkční slezinné tkáně.

Někteří autoři doporučují vyšetřovat funkční schopnost sleziny u všech stavů jmenovaných v *tabulce 1* a také při ná-

Tabulka 1
Příklady nemocí a stavů, které mohou vést k funkčnímu hyposplenismu

Kongenitální formy	izolovaný kongenitální hyposplenismus APECED-syndrom (autoimunitní polyendokrinopatie, kandidóza, ektodermální dystrofie)
Autoimunitní onemocnění	systémový lupus erythematoses revmatoidní artritida Wegenerova granulomatóza Goodpastureův syndrom Sjögrenův syndrom polyarteritís nodosa
Onemocnění GIT	celiakie, Crohnova choroba, ulcerózní kolitida morbus Whipple
Infekční onemocnění	infekce HIV/AIDS
Onemocnění jater	primární biliární cirhóza jater, portální hypertenze
Iatrogenní příčiny	kortikoterapie ve vysokých dávkách ozáření sleziny
Hematoonkologická onemocnění	srpkovitá anémie, talasémie chronická reakce štetu proti hostiteli (GvHD) chronické myeloproliferativní onemocnění
Porucha krevního průtoku slezinou	obliterace a. lienalis obliterace v. lienalis
Různé	amyloidóza

Upraveno dle Di Sabatino et al. [2].

lezu zmenšené sleziny při zobrazovacím vyšetření břišní dutiny (sonografie, výpočetní tomografie) [2,12,17]. Autoři českého DP však s tímto názorem nesouhlasí a požadavek na plošné vyšetřování funkční schopnosti sleziny u jmenovaných stavů považují za neúměrně nadsazený a nerealistický. Pro vytipování rizikového pacienta, který splňuje kritéria hyposplenismu může sloužit *tabulka 2*, která zohledňuje kombinaci základního onemocnění, velikost sleziny a vyšetření krevního obrazu s určením počtu trombocytů a přítomnosti Howell-Jollyho tělísek v erytrocytech. Hyposplenismus je nutno vždy zvažovat i bez splnění níže uvedených kritérií u pacientů se srpkovitou anémií, lymfoproliferativními chorobami, talasémií a po ozáření sleziny. Pokud pacient kritéria splňuje, tak je indikován k péči, která je popsána níže, pokud kritéria nespĺňuje, tak platí následující: Rozhodnutí o vyšetřování funkční schopnosti sleziny je přísně individuální a spočívá v kompetenci ošetřujícího lékaře.

Zpravidla se provádí jen tehdy, jestliže u pacienta je klinicky patrná porucha imunity, pro kterou není jiné vysvětlení.

Zásady péče o pacienty s asplenií/hyposplenií

Následující konkrétní doporučení se týkají pacientů po úplné nebo částečné splenektomii a případně i pacientů, u nichž byl prokázán hyposplenismus pomocí metod uvedených výše. Stejná opatření mohou být uplatněna i vůči nemocným, kteří mají některou z diagnóz shrnutých v *tabulce 1*, jestliže u nich existuje vážné klinické podezření na hyposplenismus (neobvykle závažný nebo prudký průběh infekcí vyvolaných opouzdřenými kmeny bakterií).

Potřebnou edukaci, dispenzarizaci a vakcinaci poskytnou těmto pacientům pracovníci infekčních oddělení nebo samostatně pracující infektologové spolupracující s lékaři primární péče.

Tabulka 2
Kritéria pro stanovení hyposplenismu

Možný hyposplenismus	Velikost sleziny	Počet trombocytů	Přítomnost Howell-Jollyho tělísek
Onemocnění v tabulce 1 s níže uvedenými výjimkami	zmenšena	zvýšený	ano
Onemocnění jater	zvětšena	snížený	ano
Infiltrace sleziny, např. nádory	zvětšena	nerozhoduje	ano

Upraveno dle Kirkeska et al. [23].

Tabulka 3
Možnosti detekce a kvantifikace dysfunkce sleziny

Metoda	Přednosti	Nevýhody
scintigrafie s ^{99m} Tc	kvantifikace vychytávání ve slezině umožňuje poměrně přesné zhodnocení funkce sleziny	limitujícím faktorem může být hypertrofie levého jaterního laloku
clearance autologních značených erytrocytů (^{99m} Tc nebo ^{81m} Rb)	clearance erytrocytů v čase umožňuje dynamické zhodnocení funkce sleziny	výtěžnost testu je omezena při preexistujících defektech erytrocytární membrány nebo při porušeném vychytávání radiofarmaka erytrocyty
průkaz Howell-Jollyho tělísek (zbytky jaderného materiálu v erytrocytech)	relativně jednoduchý test, nenáročný na vybavení	nevhodné pro kvantifikaci funkce sleziny
průkaz tečkování erytrocytů pomocí fázové interferenční mikroskopie	možnost kvantifikace; výsledky korelují s nálezy zjištěnými pomocí radioizotopových metod	nevýhodou je požadavek na vybavení (fázově-interferenční mikroskop)

Upraveno dle Di Sabatino et al. [2].

Pozn.: V běžné praxi je u pacientů s možným hyposplenismem nejspíše dostupné vyšetření trombocytů, při jejich anomálním počtu je indikováno sonografické vyšetření sleziny a následně mikroskopické vyšetření krve na přítomnost Howell-Jollyho tělísek.

Tabulka 4
Optimální schéma vakcinace u jedinců s porušenou či zaniklou funkcí sleziny

Typ vakcíny	Doporučené přípravky	Dávkovací schéma	Poznámky
vakcína proti pneumokokovému onemocněním	Prevenar 13 [®] , (Pneumovax [®])	1 dávka	je vhodné obě vakcíny kombinovat (viz text)
vakcína proti meningokokovému onemocněním	proti séro skupině A, C, W, Y: Menveo [®] nebo Nimenrix [®]	2 dávky v odstupu minimálně 2 měsíců (pro děti do 12 měsíců věku třetí dávka za 6 měsíců po druhé dávce); Po 5 letech přeočkování 1 dávkou proti séro skupině A, C, W, Y	Menveo pro osoby ≥ 2 let věku
	proti séro skupině B: Bexsero [®] nebo Trumenba [®]	Bexsero: • věk 2–5 měsíců: 3 dávky v odstupu minimálně 1 měsíce, přeočkování mezi 12–15 měsíci věku, • věk 6–11 měsíců: 2 dávky v odstupu minimálně 2 měsíců, přeočkování v druhém roce života, • věk 12–24 měsíců: 2 dávky v odstupu minimálně 2 měsíců, přeočkování za 12–23 měsíců • věk 2–10 let: 2 dávky v dostupu minimálně 2 měsíce • věk ≥ 11 let: 2 dávky v odstupu minimálně 1 měsíc.	Trumenba pro osoby ≥ 10 let věku
Trumenba: • 3 dávky s odstupem minimálně 1 měsíc mezi první a druhou dávkou, třetí dávka s minimálním odstupem 4 měsíce po druhé dávce			
vakcína proti onemocněním vyvolaným <i>Haemophilus influenzae</i> b	Hiberix [®] , (Act-Hib [®])	1 dávka	jednorázová aplikace
vakcína proti chřipce	Vaxigrip Tetra [®] , Influvac Tetra [®] , Fluarix Tetra [®]	1 dávka	každoročně na začátku chřipkové sezóny aplikace jedné dávky (dle dostupnosti na trhu)

Pozn.: V tabulce jsou v závorce uvedeny i přípravky t. č. neregistrované v ČR. Polysacharidová vakcína Pneumo 23[®] se již nevyrobí. O dovozu alternativní vakcíny Pneumovax[®] a její registraci se jedná, ale nebude zřejmě hrazena ze zdravotního pojištění.

Edukace

Každý pacient s porušenou či zaniklou funkcí sleziny by měl být upozorněn na celoživotně trvající riziko závažně probíhajících infekcí. Jako potenciálně rizikové je třeba hodnotit pokousání či poškrábání zvířaty, především psovitými a kočkovitými šelmami. Je třeba zvýšené opatrnosti při kontaktu s nemocnými se známkami respirační infekce. Pacient by měl být poučen o doporučeném očkování a možnostech úhrady očkovacích látek ze zdravotního pojištění.

Pacient by měl být informován o zvýšeném riziku při cestování do zemí s výskytem malárie nebo břišního tyfu. Při nutnosti cestovat do těchto zemí by měl v předstihu konzul-

tovat infektologa – odborníka na cestovní medicínu ohledně možnosti antimalarické profylaxe a vakcinace proti břišnímu tyfu. Součástí vstupní edukace je vystavení průkazu pacienta se sníženou nebo zaniklou funkcí sleziny (obr. 1). Průkaz je součástí textu doporučeného postupu.

Vakcinace

Hyposplenickým/asplenickým pacientům může být všeobecně a bez zvláštního rizika aplikována jakákoli (i živá, atenuovaná) vakcína. Současně však platí, že použití polysacharidových vakcín vyvolává u asplenických osob nižší

tvorbu protilátek než u zdravých kontrol. Naopak proteino-
vé nebo konjugované vakcíny si u asplenických jedinců za-
chovávají dobrou imunogenicitu.

Dispenzarizující lékař (nejčastěji infektolog) zajišťuje, ve
spolupráci s lékařem primární péče, očkování proti pneumo-
kokům, meningokokům a hemofilům. Měl by pacientovi
rovněž doporučit každoroční očkování proti chřipce, případ-
ně očkování proti dalším infekcím v souladu s doporučenými
postupy České vakcinologické společnosti ČLS JEP
(www.vakcinace.eu). Veškerá očkování u hyposplenic-
kých/asplenických jedinců je potřeba zapsat nejen ve vlast-

ní lékařské dokumentaci, ale i v Průkazu pacienta se sniž-
nou nebo zániklou funkcí sleziny a informaci předat lékaři
primární péče. U osob podstupujících plánovanou imuno-
supresivní léčbu (chemoterapie, celotělová radioterapie) je
žádoucí aplikovat všechny vakcíny nejpozději 14 dnů před
zahájením imunosupresivní léčby nebo až za 3 měsíce od
jejich ukončení [17]. (Pozn.: Vybrané typy imunosupresivní
léčby mohou vyžadovat i delší časový odstup.) Očkování
proti chřipce je možné provádět také v průběhu imunosu-
presivní léčby. V případě elektivní splenektomie je žádoucí
aplikovat základní doporučené vakcíny (proti pneumokoko-

Obrázek 1
Průkaz pacienta se sníženou nebo zániklou funkcí sleziny

<p>POHOTOVOSTNÍ ANTIBIOTIKA </p> <p>Pro osoby s omezenou dostupností zdravotní péče</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th style="width: 33%;">Název přípravku</th> <th style="width: 33%;">Doporučené dávkování</th> <th style="width: 33%;">Datum/podpis</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 10px;">Příklad pohotovostního antibiotika: amoxicilin/klavulanát 1g à 6 - 8 hodin; cefuroxim-axetil 500 mg à 6 - 8 hodin; moxifloxacin (při alergii k β-laktamům) 400 mg à 1 - 2x denně. Doporučené dávkování antibiotik je vyšší než běžné, protože u nemocného s chybějící slezinou lze očekávat prudší rozvoj infekce.</p>	Název přípravku	Doporučené dávkování	Datum/podpis																												<p>POUČENÍ PACIENTA </p> <p>Slezina je orgán, jenž slouží mimo jiné k vychytávání bakterií, které se dostanou do krevního řečiště. U osob s porušenou funkcí sleziny hrozí nebezpečí, že bakterie, které pronikly do krevního řečiště, vyvolají sepsi (otravu krve). Průběh těchto infekcí je často velmi prudký, velmi těžký stav se může rozvinout během několika hodin.</p> <p>Při náhle vzniklé horečce, která nemá jasnou příčinu, musíte ihned vyhledat lékaře, který vás vyšetří, odebere krev na hemokultivaci a poté vám podle okolností podá antibiotikum. Vyhledat lékaře doporučujeme i při každém významnějším poranění, je-li spojeno se znečištěním rány, a také při pokousání zvířetem. Při nejistotě můžete kontaktovat svého dispenzarizujícího lékaře nebo nejbližší infekční oddělení.</p> <p>Doporučujeme Vám informovat se u svého dispenzarizujícího lékaře o možnostech očkování. Konzultace je vhodná před každou cestou do států jižní a východní Evropy a zejména před cestou do tropických a subtropických mimoevropských zemí. Konzultace by měla proběhnout optimálně v předstihu 1-2 měsíců před odjezdem, aby bylo možné včas zahájit případné očkování, profylaxi proti malárii a podobná opatření.</p> <p>Tuto průkazku u sebe noste trvale spolu s ostatními osobními doklady a předkládejte ji lékařům při každé hospitalizaci a před každým výkonem.</p> <p style="font-size: x-small;">Vytlačeno za podpory společnosti Pfizer. PRV-2019.01.013</p>	<p>PRŮKAZ PACIENTA S PORUŠENOU NEBO ZANIKLOU FUNKCÍ SLEZINY</p> <p>Jméno:</p> <p>Rodné číslo:</p> <p>Adresa:</p> <p>.....</p> <p>Dispenzarizující lékař:</p> <p>.....</p> <p>Zdravotnické zařízení:</p> <p>.....</p> <p>Telefon:</p> <p>E-mail:</p> <p>Datum vystavení průkazku:</p> <div style="text-align: right; margin-top: 10px;"> </div>																																							
Název přípravku	Doporučené dávkování	Datum/podpis																																																																					
<p>ÚDAJE O PACIENTOVI </p> <p>Splenektomie provedena (rok):</p> <p>Příčina:</p> <p>Hyposplenismus od roku:</p> <p>Příčina/diagnóza:</p> <p>.....</p> <p>Alergie na antibiotika v anamnéze:</p> <p>.....</p> <p>Reakce na očkování:</p> <p>Hyposplenii lze předpokládat u některých chronicky probíhajících chorob (např. celiakie, autoimunních onemocnění apod.).</p> <p>Upozornění pro lékaře: Tento průkaz vydal výbor Společnosti infekčního lékařství ČLS JEP v roce 2019. Podrobnosti o využití průkazky a odbornou argumentaci nalezne lékař na webových stránkách SIL (v položce Dokumenty). Kromě této průkazky existuje též Vakcinační karta hematologicky nemocného po splenektomii, který byl vytvořen speciálně pro potřeby hematologických pacientů. Předpokládaná doba platnosti průkazky je 10 let.</p>	<p>ZÁZNAMY O VAKCINACI </p> <div style="border: 1px solid gray; padding: 2px; margin-bottom: 5px;"> <p>PROTI PNEUMOKOKŮM</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Očkovací látka</th> <th>Datum</th> <th>Poznámka</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table> </div> <div style="border: 1px solid gray; padding: 2px; margin-bottom: 5px;"> <p>PROTI MENINGOKOKŮM</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Očkovací látka</th> <th>Datum</th> <th>Poznámka</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table> </div> <div style="border: 1px solid gray; padding: 2px;"> <p>PROTI HEMOFILŮM</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Očkovací látka</th> <th>Datum</th> <th>Poznámka</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table> </div>	Očkovací látka	Datum	Poznámka										Očkovací látka	Datum	Poznámka										Očkovací látka	Datum	Poznámka							<p>PROTI CHŘIPCE</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Očkovací látka</th> <th>Datum</th> <th>Poznámka</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table> <div style="border: 1px solid gray; padding: 2px; margin-top: 5px;"> <p>JINÁ OČKOVÁNÍ (NAPŘ. PROTI TETANU)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Očkovací látka</th> <th>Datum</th> <th>Poznámka</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table> </div>	Očkovací látka	Datum	Poznámka																									Očkovací látka	Datum	Poznámka						
Očkovací látka	Datum	Poznámka																																																																					
Očkovací látka	Datum	Poznámka																																																																					
Očkovací látka	Datum	Poznámka																																																																					
Očkovací látka	Datum	Poznámka																																																																					
Očkovací látka	Datum	Poznámka																																																																					

Tabulka 5
Základní antibiotika a jejich dávkování při dlouhodobé profylaxi (preemptivní léčbě)

Děti do 6. měsíce věku	Děti do 5 let	Děti nad 5 let	Dospělí ve vysokém riziku
co-trimoxazol sirup 1× denně 5 mg TMP a 25 mg SMX/kg/d	penicilin-V 125 mg à 12 hod. amoxicilin 20 mg/kg à 12 hod. (od druhého roku života) při alergii klarithromycin 7,5 mg/kg co 24 hod.	penicilin-V 250 mg à 12 hod. amoxicilin 250 mg à 12 hod. při alergii klarithromycin 7,5 mg/kg co 24 hod.	penicilin-V 500 mg à 12 hod. cefuroxim axetil 500 mg à 24 hod. co-trimoxazol 960 mg à 24 hod. klarithromycin 500 mg à 24 hod. – při alergii na penicilin

Pozn.: Při preskripci amoxicilinu je třeba upozornit pacienty na riziko vzniku exantému při infekci EB virem. V-PNC v této indikaci lze podat již dětem od 2 měsíců věku, přitom je třeba vzít v úvahu, že naředěný sirup vydrží maximálně 14 dní.

Tabulka 6
Pohotovostní antibiotická terapie

Název antibiotika	Dávkování u dětí	Dávkování u dospělých
amoxicilin/klavulanát	30 mg/kg/dávku (max. 1 g) à 8 hodin	1 g tbl à 6–8 hodin
cefuroxim/axetil	10–15 mg/kg/dávku (max. 500 mg) à 8 hodin	500 mg tbl à 6–8 hodin
Moxifloxacin	–	400 mg tbl 1× denně

Pozn.: Při preskripci ko-amoxicilinu je třeba upozornit pacienty na riziko vzniku exantému při infekční mononukleóze. Intervaly mezi jednotlivými dávkami u beta-laktamových antibiotik jsou oproti běžným preskripčním doporučením zkráceny, protože se předpokládá, že u nemocného jde o život-ohrožující stav. Jestliže pacient zůstane na orální antibiotické léčbě, lze po 48 hodinách přejít na standardní léčebný režim.

vým onemocněním, proti onemocněním vyvolaným *Haemophilus influenzae* b a proti meningokokovým onemocněním) nejpozději 14 dnů před operací (postoperační vakcinace je již méně účinná).

Ideální základní očkovací schéma u jedinců s porušenou či zaniklou funkcí sleziny podává *tabulka 4*. Aplikace uvedených vakcín zajišťuje nejlepší ochranu proti zmíněným třem bakteriálním patogenům a chřipce. Od 1. 1. 2018 je v rámci novelizace zákona č. 48/1997 Sb. plně hrazeno očkování konjugovanými vakcínami proti pneumokokovým onemocněním, proti onemocněním vyvolaným *Haemophilus influenzae* b, proti meningokokovým onemocněním a proti chřipce z veřejného zdravotního pojištění.

a) Očkování proti pneumokokovým onemocněním

Podle recentně publikovaných údajů vykazuje pneumokoková konjugovaná vakcína (PCV, *pneumococcal conjugate vaccine*) vyšší imunogenicitu než polysacharidová vakcína (PPSV, *pneumococcal polysaccharide vaccine*) a zároveň indukuje produkci paměťových buněk bez nutnosti dalšího přeočkování. Konjugovaná vakcína je registrována pro

všechny osoby od 6 týdnů věku bez dalšího věkového omezení. Současně platí, že konjugovaná vakcína Prevenar chrání proti 13 sérotypům pneumokoka (PCV13, Prevenar 13®), zatímco polysacharidová vakcína poskytuje ochranu proti 23 sérotypům (PPSV23, Pneumovax®).

Ideální očkovací schéma u hyposplenických/asplenických pacientů zahrnuje jednu dávku konjugované vakcíny (Prevenar 13®) a následně v odstupu minimálně 8 týdnů jednorázovou aplikaci polysacharidové vakcíny (Pneumovax®) k rozšíření spektra pokrytých sérotypů. U těchto pacientů považujeme za nezbytné podat konjugovanou vakcínu všem osobám starším 6 týdnů. U dětí s hyposplenií/asplenií by měl dispenzarizující lékař zkontrolovat, zda byla vakcína v kojeneckém věku skutečně podána. Dodatečná aplikace PCV13 je možná při dodržení odstupu minimálně 12 měsíců od podání polysacharidové vakcíny [20].

V odstupu minimálně 5 let od první dávky polysacharidové vakcíny se doporučuje jednorázové přeočkování. Další revakcinace polysacharidovou vakcínou není u dospělých osob doporučována, neboť při opakovaných revakcinacích bylo popsáno snížení imunogenicity. U dětí tento fenomén

zatím popsán nebyl. Laboratorní potvrzení adekvátní imunitní odpovědi je obtížná: Je možné stanovit titer vytvořených protilátek proti několika různým sérotypům, toto vyšetření má však jen minimální vypovídající hodnotu pro posuzování míry ochrany proti pneumokokovým invazivním onemocněním a vhodnosti revakcinace [17–19]. Doposud nejsou žádné údaje o délce protekce po aplikaci vakcíny PCV13, a tedy i nutnosti přeočkování.

b) Očkování proti meningokokovým onemocněním

Vzhledem k dominantnímu zastoupení séroskupiny B a C v ČR je doporučena aplikace obou typů vakcín – konjugované tetravalentní vakcíny (Menveo®, Nimenrix®), které poskytují ochranu proti séroskupinám A, C, W, Y – a také monovalentní vakcíny (Bexsero®, Trumenba®) proti séroskupině B. Při očkování se aplikují dvě nebo tři dávky podle použité vakcíny (viz *tabulka 3*). Aplikace obou vakcín je doporučena v odstupu minimálně 14 dnů, v případě potřeby lze aplikovat současně, avšak do odlišných míst. Přeočkování tetravalentní vakcínou se provádí vždy po 5 letech 1 dávkou, potřeba přeočkování proti séroskupině B nebyla dosud stanovena.

c) Očkování proti onemocněním vyvolaným *Haemophilus influenzae b*

Očkování proti onemocněním vyvolaným *Haemophilus influenzae b* se vzhledem k plošnému proočkování dětské populace již v některých zemích (např. Švýcarsko) pro nízké riziko rozvoje infekce nedoporučuje [17,19]. V České republice se toto očkování zatím stále doporučuje pro dosud neočkované osoby. Vakcínu Hiberix, která je dle SPC určena pro očkování pouze dětí (od 2 měsíců věku), lze v rámci specifického léčebného programu použít také u dospělých. Dětem ve věku ≥ 1 rok a dospělým se aplikuje jednorázově jedna dávka této vakcíny.

d) Očkování proti chřipce

Přestože asplenismus/hyposplenismus není spojen s rizikem závažnějšího průběhu chřipky, očkování proti chřipce má svoje opodstatnění, neboť chřipka vede k závažnému poškození respirační sliznice a tento stav umožňuje adhezi a invazi dalších patogenů. Protichřipková vakcína se aplikuje každoročně před začátkem chřipkové sezóny, zpravidla v září – říjnu každého roku. Pro vakcinaci hyposplenických/asplenických osob jsou vzhledem k širšímu pokrytí cirkulujících typů chřipkového viru a vyšší imunogenicitě doporučena tetravalentní štěpená vakcína než vakcína trivalentní.

e) Očkování proti jiným onemocněním

U dospělých osob necestujících mimo oblast střední Evropy přichází v úvahu zejména vakcinace proti klíšťové meningoencefalitidě, virovým hepatitidám typu A a B, případně i proti varicelle a pertusi. Obecně lze říci, že u jedinců s omezenou nebo zaniklou funkcí sleziny nebyla pozorována větší vnímavost k uvedeným infekcím nebo jejich závažnější průběh. Indikace těchto očkování se proto u hyposplenických/asplenických osob neliší od ostatní zdravé populace. Totéž platí o očkování, respektive přeočkování,

proti tetanu: u pacientů s OPSI-syndromem se interval přeočkování proti tetanu nezkracuje.

Dlouhodobá antibiotická profylaxe a preemptivní léčba

V názorech na dlouhodobou antibiotickou profylaxi nepanuje celosvětově jednoznačný konsensus. Ve studiích byla prokázána nízká adherence jedinců s hyposplenismem či asplenií k dlouhodobé antibiotické profylaxi. Současně panují oprávněné obavy z indukce bakteriální rezistence k antibiotikům a z rozvoje postantibiotické kolitidy způsobené *Clostridium difficile* [5,11–14]. Paušální antibiotická profylaxe se proto doporučuje pouze u dětí do 5 let věku, a to po dobu minimálně 1 roku po splenektomii – důvodem je omezená schopnost vyvíjejícího se imunitního systému reagovat na polysacharidové antigeny [2,7–9,12].

U větších dětí a dospělých pacientů se dlouhodobá antibiotická profylaxe podává jen v případech, kdy přínos jasně převažuje nad riziky. Takovou situací může být současná imunosupresivní terapie, antibiotika se pak podávají preemptivně na krytí období těžkého imunodeficitu.

Základní přehled používaných antibiotik a jejich dávkování je uveden v *tabulce 5* [11–14]. Profylaxe je cílena především proti invazivním pneumokokovým infekcím. Výběr přípravku se řídí individuálními vlastnostmi pacienta (alergie), ale také citlivostí pneumokoků v daném regionu. Překročil-li počet rezistentních kmenů pneumokoků 10–15 %, přestává mít profylaxe smysl.

Péče o pacienty s hyposplenií/asplenií, kteří dostanou horečku

Lékař prvního kontaktu u těchto pacientů vyšetří zánětlivé parametry (CRP z prstu) a zajistí biologický materiál k průkazu mikrobiálního agens (podle stavu pacienta: hemokultura, výtěr z krku, sputum, moč na kultivaci). Poté podá antibiotikum; výběr přípravku a jeho dávkování je uveden v *tabulce 5*.

Je-li pacient s hyposplenií/asplenií vyšetřen v nemocnici nebo přijat k hospitalizaci, bude rozsah provedených vyšetření adekvátně větší (krevní obraz s diferenciálním rozpočtem, koagulogram, C-reaktivní protein, rychlost sedimentace erytrocytů, aminotransferázy, renální parametry, hemokultivace).

Pohotovostní antibiotická terapie

Pacientům, u nichž není zajištěna dostupnost léčebné péče v průběhu 2 hodin, je možné vydat recept na jedno balení antibiotika, které začne pacient užívat v případě náhlého rozvoje horečnatého stavu, než se dostane do nemocnice. Přehled antibiotik, která lze použít k pohotovostní antibiotické terapii, uvádí *tabulka 6*. Lékař vystavující recept na pohotovostní balení antibiotika musí pacienta poučit o tom, že antibiotika mají určenou expirační dobu, která je vyznačena na každém obalu (a může být zkrácena při nevhodných podmínkách uskladnění). Nevyužité léky se vracejí do lékárny. Na rozdíl od profylaxe infekční endokarditidy není u OPSI indikováno ATB krytí stomatologických výkonů.

Poznámka

Nový aktualizovaný Doporučený postup vychází z původního Doporučeného postupu z roku 2013 [22].

Literatura

- Shumacker HB, King H. Splenic studies. *AMA Arch Surg* 1952;65(4):499–510.
- Di Sabatino A, Carsetti R, Corazza GR. Post-splenectomy and hyposplenic states. *Lancet* 2011;378(9785):86–97.
- Ráčil Z. Prevence septických stavů u dospělých pacientů s funkčním hyposplenismem a po splenektomii. *Vnitř Lek* 2001;47(11):781–789.
- Coignard-Biehler H, Lanternier F, de Montalembert M, et al. Infections in splenectomized patient. *Rev Prat* 2008;58(20):2209–2214.
- Davies JM, et al. Review of guidelines for the prevention and treatment of infection in patients with an absent or dysfunctional spleen. *Brit J Haematol* 2011;155:308–317.
- Cameron PU, Jones P, Gorniak M, et al. Splenectomy associated changes in IgM memory B cells in an spleen registry cohort. *PLoS One* 2011;6(8):e23164.
- Price VE, Dutta S, Blanchette VS, et al. The Prevention and Treatment of Bacterial Infections in Children With Asplenia or Hyposplenia: Practice Considerations at the Hospital for Sick Children, Toronto. *Pediatr Blood Cancer* 2006;46:597–603.
- Bisharat N, Omari H, Lavi I, Raz R. Risk of infection and death among post-splenectomy patients. *J Infect* 2001;43:182–186.
- Hansen K, Singer DB. Asplenic-hyposplenic overwhelming sepsis: postsplenectomy sepsis revisited. *Pediatr Dev Pathol* 2001;4:105–121.
- Ráčil Z. Infekční komplikace a jejich prevence u dospělých pacientů s funkčním hyposplenismem a po splenektomii. *Postgrad Med* 2004;6(1):7–15.
- Polák P, Freibergarová M, Husa P, et al. Upozornění na nebezpečí invazivních infekcí u splenektomovaných pacientů. Zkušenosti z FN Brno, 2011. *Vnitř Lek* 2012;58(9):665–668.
- de Porto AP, Lammers AJ, Bennink RJ et al. Assessment of splenic function. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010;29:1465–1473.
- Polák P, Šlesinger P, Pařízková R et al. Asplenický pacient: odpovědnost nás všech. *Prakt Lek* 2010;90(7):396–397.
- Kaplinsky C, Spierer Z. Post-splenectomy antibiotic prophylaxis – unfinished story: to treat or not to treat? *Pediatr Blood Cancer* 2006;47(5 Suppl):740–741.
- Hasse B, Moll C, Oehy K, et al. Anti-infectious prophylaxis after splenectomy: current practice in an eastern region of Switzerland. *Swiss Med Wkly* 2005;135(19–20):291–296.
- Coignard-Biehler H, Lanternier F, Hot A, et al. Adherence to preventive measures after splenectomy in the hospital setting and in the community. *J Infect Public Health* 2001; 4(4):187–194.
- Davies JM, Lewis MPN, Wimperis J, et al. Review of guidelines for the prevention and treatment of infection in patients with an absent or dysfunctional spleen: Prepared on behalf of the British Committee for Standards in Haematology by a Working Party of the Haemato-Oncology Task Force. *Brit J Haematol* 2011;155:308–317.
- Llupira A, Vilella A, Costa L, et al. Can the response to 23-valent pneumococcal vaccine in splenectomised patients be predicted? *Vaccine* 2012;30:2382–2386.
- Meerveld-Egginka, de Weerdta O, van Velzen-Blad H, et al. Response to conjugate pneumococcal and *Haemophilus influenzae* type b vaccines in asplenic patients. *Vaccine* 2011;29:675–680.
- Doporučení vydané americkým CDC: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6140a4.htm>
- Doporučení vydané Českou vakcinologickou společností ČLS JEP: <http://www.vakcinace.eu/doporuzeni-a-stanoviska>
- Polák P, Kosina P, Blechová Z, Koteň J, Rozsypal H, Chlábek R, Beneš J. Doporučený postup péče o pacienty s porušenou či zaniklou funkcí sleziny (hyposplenismem/asplenií). *Vakcinologie* 2013;7(3):102–107.
- Kirkineska L, Perifanis V, Vasiliadis T. Functional hyposplenism. *Hippokratia* 2014;18(1):7–11.
- Bonanni P, Grazzini M, Niccolai G, et al. Recommended vaccination for asplenic and hyposplenic patients. *Hum Vaccin Immunother* 2017; 13(2):359–368.

Obsah 24. ročníku

M. Kolář – úvodník	3
L. Doubravská, R. Uvížl, T. Gabrhelík, O. Klementová, M. Kolář: Nozokomiální pneumonie ve světle aktuálních doporučení – je prostor pro zlepšení péče o pacienta?	4
Z. Bartovská, M. Zlámal, I. Murínová, T. Tyll, M. Holub: Příklad pacienta s AIDS a pneumocystovou pneumonií komplikovanou cytomegalovirovou pneumonitidou	10
L. Blahut, I. Vágnerová, J. Janečková, P. Zbořil, O. Klementová: Letální průběh komplikovaných infekcí cévních protéz	14
L. Hozáková, J. Slonková, Š. Blahutová: Anti-NMDAR encefalitida jako závažná nežádoucí reakce pravděpodobně v souvislosti s očkováním proti žluté zimnici	17
F. Stejskal, E. Nohýnková, P. Kosina, J. Kulichová: Diagnostika, léčba a profylaxe malárie v ČR	20
Obsah 23. ročníku	31
Rejstřík 23. ročníku	32
J. Bardoň – úvodník	35
D. Kučerová, I. Kolářková, R. Karpíšková: Zoonotický význam kmenů <i>Escherichia coli</i> izolovaných ze skotu a prasat	36
J. Wipler, Z. Čermáková, T. Hanzálek, H. Horáková, V. Buchta: Zvířecí mazlíček (pes, kočka) jako možný zdroj oportunně patogenních hub pro člověka	41
M. Kolář: Problematika vankomycin-rezistentních enterokoků	50
S. Polívková, L. Vojtilová, P. Husa, J. Beneš: Doporučený postup fekální bakterioterapie pro léčbu rekurentní klostridiové kolitidy	57
L. Rožnovský – úvodník	67
O. Holý, I. Matoušková, S. Zatloukalová, M. Dvořáčková, J. Petrželová, L. Raida, F. Růžička: Prevalence kmenů <i>Staphylococcus epidermidis</i> a dalších koaguláza negativních stafylokoků se schopností tvorby biofilmu na hematologické klinice	68
E. Skladaný, S. Adamcová Selčanová, M. Janičko, Z. Bečková, L. Helmová, J. Vnenčáková: Akútna dekompenzácia pokročilého chronického ochorenia pečene a infekcia vírusom hepatitídy E ako spúšťača	82
E. Smělková, O. Melter, J. Tkadlec, I. Lichá: Fenomén perzistence bakterií k antibiotikům	73
L. Krbková, K. Kybicová, D. Pícha, H. Roháčová, D. Smíšková: Doporučený postup diagnostiky a léčby lymeské borreliózy	88
M. Holub: Zpráva z kongresu SepsEast 2018	100
S. Plíšek – úvodník	103
L. Rožnovský, L. Kabieszová, J. Mrázek, A. Kloudová, L. Petroušová, I. Orságová, M. Konečná: Vertikální přenos viru hepatitidy C – vlastní zkušenosti	105
R. Dziejzinská, M. Slaný, I. Slaná, V. Ulmann: <i>Mycobacterium marinum</i> jako původce infekcí u člověka a zvířat	112
J. Sagan, P. Širůček, P. Folwarczny, M. Sporková, P. Hurník: Těžký průběh chřipky B komplikované rabdomyolýzou a akutním respiračním selháním s letálním koncem	118
H. Rozsypal, Z. Blechová, L. Krbková, K. Labská: Doporučený postup profylaxe a léčby varicely u těhotných a novorozenců	121

Rejstřík 24. ročníku

- ACLF 3/82
 AIDS 1/10
 akutní dekompenzace 3/82
 akutní kardiopulmonální selhání 4/118
 antibiotická léčba nozokomiální pneumonie 1/4
 antibiotická rezistence 3/68
 antibiotika 3/73
 Anti-NMDAR encefalitida 1/17
 bet-hedging 3/73
 biofilm 3/68, 3/73
Borrelia burgdorferi sensu lato 3/88
Clostridium difficile 2/57
 cytomegalovirová pneumonie 1/10
 cytomegalovirus 1/10
 dACLD 3/82
 diagnostika malárie 1/20
 diagnostika *Mycobacterium marinum* 4/112
 diagnostika varicely 4/121
 doporučený postup – varicela 4/121
 doporučené postupy nozokomiální pneumonie 1/4
 doporučený postup – malárie 1/20
 doporučený postup fekální bakterioterapie 2/57
 doporučený postup lymeské borreliózy 3/88
 EHEC 2/36
 enterokoky 2/50
 erythema migrans 3/88
Escherichia coli 2/36
 etiologická agens 1/4
 fekální bakterioterapie 2/57
 fish tank granuloma 4/112
 glykopeptidy 2/40
 gravidita 4/105
 hepatitida C 4/105
 HEV indukovaná AD/ACLF 3/82
 HIV 1/10
 chemoprolaxe malárie 1/20
 chovatel 2/40
 chřipka 4/118
 infekce cévní protézy 1/14
 intersticiální pneumonitida 1/10
 intimin 2/36
 koaguláza negativní stafylokoky 3/68
 kočka 2/40
 komplikovaná antibiotická léčba 1/14
 kožní infekce 4/112
 kreatinináza 4/118
 léčba malárie 1/20
 léčba *Mycobacterium marinum* 4/112
 léčba varicely 4/121
 lymeská artritida 3/88
 lymeská borrelióza 3/88
 lymeská karditida 3/88
 malárie 1/20
Mycobacterium marinum 4/112
 mykobakterií 4/112
 myoglobin 4/118
 myozitida 4/118
 neuroborelióza 3/88
 neurotropní nemoc 1/17
 nozokomiální pneumonie 1/4
 očkování 1/17
 oportunně patogenní houby 2/40
 (p)ppGpp 3/73
 paliativní léčba 1/14
 peritonitida 1/14
 perzistence 3/73
 perzistence bakterií 3/73
 pes 2/40
 plasmodium 1/20
Pneumocystis jirovecii 1/10
 pneumocystová pneumonie 1/10
 prevence nozokomiální pneumonie 1/4
 profylaxe varicely 4/121
 protivirová léčba 4/105
 rabdomyolýza 4/118
 rekurentní klostridiová kolitida 2/57
 respirační selhání 4/118
 rezistence 2/40
 sdílené mikroskopické houby 2/40
 sepse 1/14, 3/100
 SepsEast 3/100
 Shiga toxiny 2/36
Staphylococcus epidermidis 3/68
 STEC 2/36
 transplantace stolice 2/57
 vankomycin-rezistentní enterokoky 2/40
 ventilátorová pneumonie 1/4
 ventilátorová tracheobronchitida 1/4
 vertikální přenos 4/105
 virová hepatitida C 4/105
 virus hepatitidy C 4/105
 virus hepatitidy E 3/82
 výměnná léčebná plazmaferéza 1/17
 zvířecí mazlíčci 2/40
 žlutá zimnice 1/17

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 ne-lékařských oborech. Přednost se dává informacím s praktickým výstupem.

Zásady vztahu mezi autory a redakcí:

Redakce přijímá příspěvky v češtině nebo ve slovenštině, které odpovídají odbornému profilu časopisu. Kromě dopisů redakci, diskuzí, zpráv a společenské rubriky jsou všechny přijaté příspěvky podrobeny nezávislé 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 článek v pdf 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 dvojí formě:

- jeden kompletní výtisk s veškerou obrazovou dokumentací, opatřený titulní stranou s podpisem hlavního autora,
- text rukopisu v elektronické podobě e-mailem (nebo CD s článkem) 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 sloužící pro další komunikaci mezi hlavním autorem a redakcí.
- Prohlášení, že zasláný text je určen pro otištění v časopise *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství* a nebyl ani nebude jinde publikován a klauzuli, že spoluautoři souhlasí s textem zasláného sdělení a s uveřejněním v tomto časopise.
- U původních a přehledných prací a u krátkých sdělení připojí autor prohlášení (a to i v negativním případě) o sponzorování či střetu zájmů; je-li práce sponzorována (grantem, jinou organizací, výrobcem apod.) nebo dochází-li ke střetu zájmů (např. autor je přímo či nepřímo zainteresován na výsledcích výroby či prodeje, je majitelem 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 vlastnoruční podpis hlavního autora.
- Redakce netrvá na „imprimatur“ přednosty pracoviště autora/autorů.

Typy sdělení:

Každý příspěvek musí být samotnými autory označen jako jedna z následujících variant; podle tohoto zařazení bude v redakci posuzován, v nejasných případech bude konečné zařazení provedeno po dohodě redakce s autorem. Má-li předkládaná práce atypické charakteristiky, je vhodné kontaktovat 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 v rozsahu 10–20 řádků musí být strukturovaný, tj. dělený na oddíly: Cíl práce – Materiál a metody – Výsledky – Závěr. Ze souhrnu musí vyplývat, jakou výchozí otázku si autor položil, k jakým výsledkům došel a jaký je praktický výstup jeho sdělení.

Vlastní text se dělí na Úvod – Materiál a metody – Výsledky – Diskuzi – Závěr. Prochází recenzním řízením.

2. Přehledná práce (Review)

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

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 podobné. 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., z významných jednání apod. Redakce přijímá taková sdělení, zabývají-li se jasně definovanou a pro naše obory relevantní problematikou. U zprávy z kongresu se zpravidla jedná o jedno téma, jehož prezentaci autor podrobně zpracuje a případně i komentuje. Naopak není žádoucí uvádět výčet přednášek či událostí a o každé z nich se zmínit jednou větou. Rozsah je 1–5 normostran, výjimečně po dohodě s redakcí více. 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.

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@boh-em-net.cz).

Je-li k rukopisu připojena obrazová dokumentace, je nevhodnější použít originální fotografie, pérovky nebo diapozitivy (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 zkratk více, je alternativní možnost připojit jako zvláštní přílohu seznam použitých zkratk.

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

Názvy léků se uvádějí v generické formě; pouze v případech, 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 píšou 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

Mobil redakce: 605 159 450