

EPIDEMIOLOGIE MIKROBIOLOGIE IMUNOLOGIE

Časopis
Společnosti pro epidemiologii
a mikrobiologii České lékařské
společnosti J. E. Purkyně

VYDÁVÁ
ČESKÁ LÉKAŘSKÁ
SPOLEČNOST
J. E. PURKYNĚ



VEDOUcí REDAKTORKA

MUDr. Pavla Křížová, CSc.
Státní zdravotní ústav
Šrobárova 48, Praha 10

ZÁSTUPKYNĚ VEDOUcí REDAKTORKY

MUDr. Jana Kozáková
Státní zdravotní ústav
Šrobárova 48, Praha 10

REDAKČNÍ RADA

doc. MUDr. Sylvia Bazovská, CSc.
Ústav epidemiologie LF UK
Špitálska 24, Bratislava

MUDr. Jan Kynčl, Ph.D.
Státní zdravotní ústav
Šrobárova 48, Praha 10

prof. MUDr. Miroslav Šplího, DrSc.
Fakulta vojenského zdravotnictví
Třebešská 1575, Hradec Králové

MUDr. Eliška Běbrová
Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF a FN
V Úvalu 84, Praha 5

prof. MUDr. Jindřich Lokaj, CSc.
Ústav klinické imunologie a alergologie
LF MU a FN u sv. Anny v Brně
Pekařská 53, Brno

MUDr. Josef Trmal, Ph.D.
KHS Ústeckého kraje
Moskevská 15, Ústí nad Labem

doc. MUDr. Alexander M. Čelko, CSc.
3. LF UK
Ruská 87, Praha 10

RNDr. Vratislav Němeček, CSc.
Státní zdravotní ústav
Šrobárova 48, Praha 10

MUDr. Jana Vičková, Ph.D.
Ústav veřejného zdravotnictví LF UP
Hněvotínská 3, Olomouc

RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.
Mikrobiologický ústav LF a FN Plzeň
dr. E. Beneše 13, Plzeň

prof. RNDr. František Ondříška, Ph.D.
Trnavská univerzita v Trnave
Univerzitné námestie 1, Trnava

prof. MUDr. Miroslav Votava, CSc.
Mikrobiologický ústav LF MU
a FN u sv. Anny
Pekařská 53, Brno

prof. MUDr. Daniela Kotulová, CSc.
Čestná členka Slovenskej spoločnosti
klinickej mikrobiológie SLS, Bratislava

prof. MUDr. Petr Pazdiora, CSc.
Ústav epidemiologie LF UK
Dr. E. Beneše 13, Plzeň

MUDr. Pavel Žampach
Nemocnice České Budějovice, a. s.
B. Němcové 54, České Budějovice 7

RNDr. Petr Petráš, CSc.
Státní zdravotní ústav
Šrobárova 48, Praha 10

OBSAH

PŮVODNÍ PRÁCE

Krekulová L., Řehák V., Oktábec Z., Vacek J.: Vývoj v zastoupení genotypů HCV u injekčních uživatelů drog v České republice během 15 let.....	3
Dyrhonová M., Hašková K., Vránová J., Chlábek R.: Prevalence infekce virem hepatitidy C u dospělých s rizikovými faktory.....	9
Musil V., Homola L., Vrba M., Braunová A., Malá M., Holečková P., Krbková L.: Klinické a mikrobiologické charakteristiky klostridiové kolitidy u dětí hospitalizovaných na KDIN v Brně za rok 2013–2017.....	15

SOUHRNNÁ SDĚLENÍ

Snopková S., Štourač P., Fašanecká L., Mihalčin M., Havlíčková K., Svačina R., Volfová P., Snopek P., Husa P.: Progresivní multifokální leukoencefalopatie – epidemiologie, imunitní odpověď, klinické rozdíly, léčba.....	24
Ambrožová H.: Botulismus – vzácné, ale stále se vyskytující život ohrožující onemocnění.....	33
Rybka A., Gavel A., Pražák P., Meloun J., Pejchal J.: Dekontaminace zasahujících složek při kontaminaci vysoce rizikovými biologickými agens.....	40

KRÁTKÉ SDĚLENÍ

Špačková M., Mišková E., Dědičová D., Gašpárek M.: Břišní tyfus v České republice a případ importovaného onemocnění po návštěvě Rainbow Gatheringu v Itálii.....	47
--	----

OSOBNÍ ZPRÁVY.....	51, 52
--------------------	--------

POKYNY PRO AUTORY A RECENZENTY.....	54
-------------------------------------	----

CONTENTS

ORIGINAL ARTICLES

Krekulová L., Řehák V., Oktábec Z., Vacek J.: HCV genotype shift occurred over the 15 years in PWIDs in the Czech Republic.....	3
Dyrhonová M., Hašková K., Vránová J., Chlábek R.: Prevalence of hepatitis C virus infection in adults with the risk factors.....	9
Musil V., Homola L., Vrba M., Braunová A., Malá M., Holečková P., Krbková L.: Clinical and microbiological characteristics of <i>Clostridium difficile</i> infection in children hospitalized at the Department of Paediatric Infectious Diseases in Brno between 2013 and 2017.....	15

REVIEW ARTICLES

Snopková S., Štourač P., Fašanecká L., Mihalčin M., Havlíčková K., Svačina R., Volfová P., Snopek P., Husa P.: Progressive multifocal leukoencephalopathy – epidemiology, immunology responses, clinical differences, treatment.....	24
Ambrožová H.: Botulism – a rare but still present, life-threatening disease.....	33
Rybka A., Gavel A., Pražák P., Meloun J., Pejchal J.: Decontamination of CBRN units contaminated by highly contagious biological agents.....	40

SHORT ARTICLES

Špačková M., Mišková E., Dědičová D., Gašpárek M.: Typhoid fever in the Czech Republic and an imported case after return from the Rainbow Gathering in Italy.....	47
---	----

PERSONAL NEWS.....	51, 52
--------------------	--------

INSTRUCTIONS TO AUTHORS AND REVIEWERS.....	54
--	----

<http://www.cls.cz>

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2019

EPIDEMIOLOGIE, MIKROBIOLOGIE, IMUNOLOGIE

Online verze časopisu na: www.prolekare.cz/casopisy/epidemiologie

Registrací a zadáním svého předplatitelského kódu, který najdete na přebalu časopisu, získáte přístup do online verze časopisu a jeho archivu.

Kontakt pro dotazy: info@prolekare.cz nebo +420 602 244 819

Vydáno za podpory Ministerstva zdravotnictví České republiky.

Vedoucí redaktorka:
MUDr. Pavla Křížová, CSc.Zástupce vedoucí redaktorky:
MUDr. Jana KozákováOdpovědná redaktorka:
Ing. Lenka Špíchalová,
e-mail: spichalova.l@seznam.czVydává: Česká lékařská společnost
Jana Evangelisty Purkyně,
Sokolská 31, 120 26 Praha 2

Pro ČLS JEP připravuje Mladá fronta a. s.

Generální ředitel:
Ing. Jan MašekŘeditel divize Medical Services:
Karel Novotný, MBAKoordinační odborných časopisů ČLS JEP:
MUDr. Michaela Lizlerová
e-mail: lizlerova@mf.czProdukční:
Ivana Kapková
e-mail: kapkova@mf.czGrafická úprava, sazba:
Radek KoňáříkŘeditel marketingu, výroby
a distribuce Jaroslav Aujezský
Brand Manager: Petra Trojanová

Tisk: GRAFOTECHNA PLUS, s. r. o.

V ČR rozšiřuje: SEND Předplatné, spol. s r.o.,
Ve Žlíbků 1800/77, hala A3, 193 00 Praha 9
Tel.: 225 985 225, Mobil: 777 330 370
e-mail: mf@send.cz, www.send.czV SR: Mediaprint Kapa-Presssegrosso, a. s.,
Vajnorská 137, P.O. BOX 183
831 04 BratislavaVychází: 4krát ročně
Předplatné: na rok pro ČR je 520 Kč,
SR 23,60 €, jednotlivé číslo 130 Kč,
SR 5,90 €.Informace o předplatném podává
a objednávky předplatitelů přijímá:
ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2,
tel.: 296 181 805Inzerce: Ing. Kristína Kupcová, kupcova@mf.cz
tel.: +420 225 276 355Rukopisy zasílejte na adresu:
MUDr. Pavla Křížová, CSc.Centrum epidemiologie a mikrobiologie SZÚ
Šrobárova 48
100 42 Praha 10
e-mail: emi@szu.cz

Rukopis byl předán do výroby 17. 1. 2019.

Zaslané příspěvky se nevracejí.

Otištěné příspěvky autorů nejsou honorovány,
autoři obdrží bezplatně jeden výtisk časopisu.Vydavatel získává otištěním příspěvku
výlučné nakladatelské právo k jeho užití.
Vydavatel a redakční rada upozorňují,
že za obsah a jazykové zpracování inzerátů
a reklam odpovídá výhradně inzerent.
Žádná část tohoto časopisu nesmí být
kopírována za účelem dalšího rozšiřování
v jakékoliv formě či jakýmkoliv způsobem,
ať již mechanickým nebo elektronickým,
včetně pořizování fotokopíí, nahrávek,
informačních databází na mechanických
nosičích, bez písemného souhlasu vlastníka
autorských práv a vydavatelského oprávnění.

HCV genotype shift occurred over the 15 years in PWIDs in the Czech Republic

Krekulová L.^{1,2}, Řehák V.^{2,3}, Oktábec Z.^{2,3}, Vacek J.³

¹4th Department of Internal Medicine, 1st Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Czech Republic

²Remedis, s.r.o., Prague, Czech Republic

³Department of Addictology, 1st Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Czech Republic

ABSTRACT

Objectives: To follow on the epidemiology of HCV, especially genotypes spreading among people who inject drugs (PWID) in Prague and surrounding Central Bohemia, Czech Republic.

Methods: 546 patients who reported past and/or recent injecting of drugs were recruited in the years 2010–2012. They were initially tested for anti-HCV. Real-time PCR was used for quantification and genotyping of hepatitis C virus. Obtained data from the years 2010–2012 were compared with historical controls from periods of 1998–2000 and 2005–2007.

Results: Of 546 initially recruited and tested patients were 393 (72%) anti-HCV seropositive and of them 269 (68.4%)

had detectable HCV PCR RNA. The most prevalent subtype was 3a in 97 patients (36.1%), 1a was detected in 85 patients (31.6%) and 1b in 57 patients (21.2%). These three genotypes were responsible for nearly 89% of infections.

Conclusion: Significant increase in both genotypes 1a and 3a over the 15 years was apparent and significant, followed by the decrease in genotype 1b. In the genotype 1b and genotype 3a the significance has risen with the years of data collection. Described genotypic shift reflects the evolution of HCV epidemics and corresponds with the mode of transmission.

KEY WORDS

HCV – HCV genotypes – people who inject drugs – Czech Republic

SOUHRN

Krekulová L., Řehák V., Oktábec Z., Vacek J.: Vývoj v zastoupení genotypů HCV u injekčních uživatelů drog v České republice během 15 let

Cíl: Pokračovat ve sledování vývoje epidemie HCV infekce, zvláště genotypového zastoupení u injekčních uživatelů drog (PWID) v Praze a středních Čechách.

Metody: V letech 2010–2012 bylo zařazeno 546 pacientů, bývalých či současných injekčních uživatelů drog, kteří byli vstupně testováni na přítomnost anti-HCV protilátky, u pozitivních byla pomocí Real-time PCR provedena kvantifikace a genotypizace viru. Získaná data z let 2010–2012 byla následně porovnána s kontrolními skupinami z období let 1998–2000 a 2005–2007.

Výsledky: Z 546 zařazených a testovaných pacientů bylo 393 (72 %) anti-HCV pozitivních; z nich 269 (68,4 %) mělo

detekovatelnou HCV PCR RNA. Nejčastější subtyp HCV byl 3a u 97 pacientů (36,1 %), 1a u 85 pacientů (31,6 %) a 1b u 57 pacientů (21,2 %). Tyto tři subtypy byly zodpovědné za téměř 89 % infekcí ve zkoumané skupině.

Závěry: Byl potvrzen statisticky významný nárůst v zastoupení genotypů 1a a 3a se současným poklesem frekvence genotypu 1b. U genotypu 1b a genotypu 3a narůstala statistická významnost změn v závislosti na roce zachytu. Popsaný genotypový posun odráží vývoj epidemie HCV a odpovídá aktuálně převažujícímu způsobu přenosu HCV infekce.

KLÍČOVÁ SLOVA

HCV – genotypy HCV – injekční uživatelé drog (PWID) – Česká republika

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 68, 2019, č. 1, s. 3–8

INTRODUCTION

Hepatitis C remains the most prevalent blood borne disease, affecting predominantly people who inject drugs (PWID) in the Czech Republic (CR). In contrast with common population in CR where the historical HCV prevalence used to be very low [1], the transmission in PWIDs in CR [2] is still ongoing in relatively constant fashion. The introduction of broad variety of preventative and awareness programs in early nineties of the last century has apparently had a favorable influence on the control of HIV transmission in PWID group and the number of reported cases of HIV

remains low and stable [3]. Such interventions were only partially effective in the case of HCV because of virus higher infectivity and complex nature of HCV transmission [4, 5].

PWIDs are generally a group which is difficult to access and manage [6]. Only part of the users is aware of their infection status, thus low-threshold harm reduction interventions, such as needle-syringe exchange programs (NSP) and opioid substitution treatment (OST), including testing for HCV and treatment of HCV, are primary prerequisites for HCV control [7].

HCV genotype distribution possesses distinct epidemiological patterns in different countries and regions. There is

PŮVODNÍ PRÁCE

increasing evidence that the mode of transmission could favor propagation of certain genotypes [8].

Particular genotypes are directly related to clinical outcomes and also determine treatment schedules [9]. The importance of HCV genotypes and subtypes has gained even higher significance with the latest directly acting antivirals (DAA) [10, 11], where the treatment must be tailored precisely according to the subtype, disease stage and resistance scenario. The upcoming pangenotypic medication combinations might resolve this complicated situation. HCV genotype distribution evolves in specific populations in particular locations over time, as was reported on many occasions [8, 9]. Changes in the routes of transmission are considered as one of the major determinants of HCV genotypic shift. Genotypes 1a and 3a have recently been spread mainly by the risky activities such as injecting drugs or risky tattooing in certain groups.

In our previous work we looked at the genotypes in two papers. In the first publication which was a pilot study, we described 1b as dominating genotype in CR. It was a reflection that 1b used to be a baseline genotype at the beginning of the epidemic [12]. With the ongoing widespread habit of injecting drugs in CR we further noticed the changes in HCV epidemiology and genotypic shift in favor of 1a and 3a genotypes as we described in the second paper [13]. The comparison with the 2010–2012 periods will follow in Table 2. Based on the literature, our previous and current experience we expect continuous changes in HCV epidemiology. In this work we further follow on the development in the distribution of genotypes in the population of CR.

Remedis, where all work has been done, is multidisciplinary outpatient clinic. It provides various services for drug users in one place together with regular medical care and non-medical services, e.g. OST, social programs, etc. Program of Comprehensive Care was established in

1997 with the goal to reach drug users and to offer timely and targeted specific health care services for drug users including the individually tailored HCV therapy. The “under-one-roof concept” was established at that time and subsequently became a current good practice. With this approach Remedis evolved in the largest HCV treatment center in the country, which further enhances the impact of the treatment-as-prevention approach applied within this risk group in this clinic.

CR belonged and still belongs to countries with low HCV prevalence. Unfortunately, data available on HCV prevalence in CR are scarce. The last published serological survey was performed in 2001, where the general anti-HCV seroprevalence was 0.2% [1]. More recent data are based on estimates only, where the viremic prevalence was estimated to be 0.4% and seroprevalence was back calculated as 0.6% in 2012 [14]. We believe that the prevalence in general, especially older population in CR was low and remains so also at present. This is witnessed by the limited number of liver transplants secondary to HCV infection [15], low numbers of HCV captures in general laboratories and transfusion facilities [16].

The only published multicentric study described the average country HCV seroprevalence in PWID within the range of 30%, although there were found broad variations among regions and the highest prevalence was detected in large cities [17]. Substantial drop in the HCV incidence in CR could be achieved in reasonably brief period of time, provided the focused prevention, identification of those infected and fully accessible DAA treatment will be available without restrictive limits.

Objectives

The aim of the work was to monitor the epidemiological situation and the spread of viral hepatitis C in the population

Table 1. Characteristics of patients in 2010–2012 (N/I: not investigated)

	whole period		2010	2011	2012
number of patients	546		180	192	174
males	356	65.2%	115	128	113
females	190	34.8%	65	64	61
mean age	30		29.74	29.91	30.45
number of anti-HCV tests	546		180	192	174
negative	153	28.0%	61	52	40
positive	393	72.0%	119	140	134
anti-HCV positives	393		119	140	134
males	269		87	93	89
females	124		32	47	45
mean age anti-HCV positives	31		31.04	30.37	30.87
number of PCR HCV RNA tests	393		119	140	134
PCR HCV RNA positives	269	68.4%	81	98	90
PCR HCV RNA negatives	123	31.3%	38	41	44
N/I (not investigated)	1	0.3%	0	1	0
PCR HCV RNA positives	269		81	98	90
males	184		62	63	59
females	85		19	35	31

of PWID in Prague and Central Bohemia, in particular to monitor the representation of individual HCV genotypes in this subgroup and to compare the results with our data published in the past. The genotypes found in the cohort of patients from the years 2010–2012 were compared with the pilot groups investigated in 1998–2000 and 2005–2007.

PATIENTS AND METHODS

Patients for current work (the last group) were recruited over the years 2010–2012. The basic demographic data and epidemiological and clinical characteristics were obtained from each patient on admission to the study. The study was designed as prospective monocentric study among all PWIDs who were for the first time registered for HCV infection screening (or diagnosis confirmation) without any relation to further individual's cooperation or participation in any subsequent treatment programs. None of the recruited subjects in this study were included in our previous papers.

Study population

All subjects enrolled in the study over the years 2010–2012 were residents of the Czech Republic. All enrolled subjects admitted past or current injecting habit (PWID). They were consecutively referred from cooperating street-work programs or low-threshold facilities or self-referred to Remedis. Informed consent with testing and participation in the study was obtained from all subjects prior to initial interview.

Laboratory methods

The anti-HCV tests and HCV RNA detection, genotype and subtype identification were performed in certified laboratories (ISO 15198) with standard, validated and certified methods. AntiHCV was tested by Monolisa anti-HCV version 2, BioRad, SA. Anti-HCV positive samples (or those suspected from acute HCV) were tested by RT-PCR.

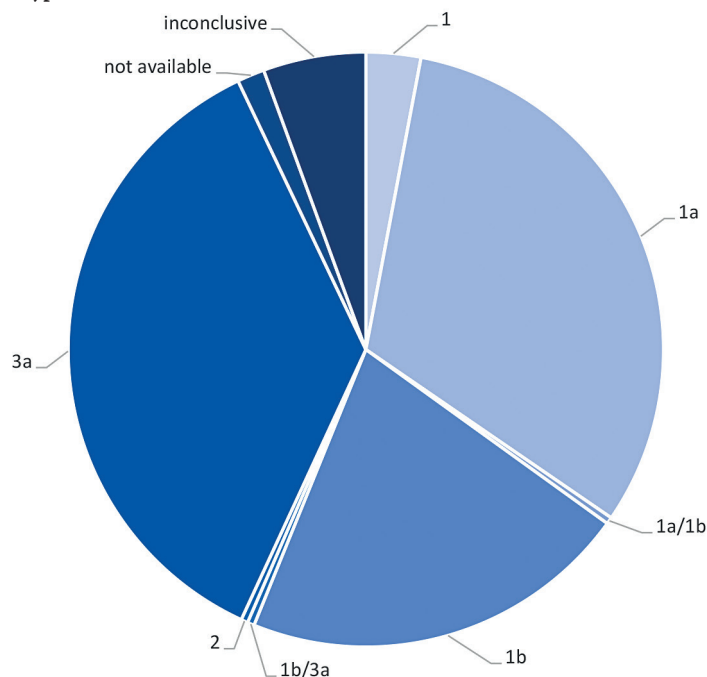
The assessment of HCV RNA in blood samples was done by standardized PCR method (COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan HCV Test, Roche Molecular Systems, Inc., Branchburg, NJ, 08876 USA) with limit of detection 15 IU/ml and linearity $43\text{--}6,9 \times 10^7$ IU/ml and genotyping was performed in samples with detectable viremia (COBAS® HCV GT, Roche Molecular Systems, Inc., Branchburg, NJ, 08876 USA).

In the two previous historical cohorts the direct sequencing of NS5B locus was used as the most reliable method at that time [12, 13].

The statistical data were processed with SPSS Pearson Chi-Square Tests and Z-tests with Bonferroni correction were used for comparison of the three above described periods.

RESULTS

546 new patients, meeting above mentioned criteria were newly registered in Remedis in Prague in the years



Graph 1. Percentage representation of main genotypes in three periods

2010–2012. Majority of them were males (65%), average age of the whole group was 30 years. The basic demographic data and epidemiological and clinical characteristics are described in the Table 1.

All study participants were tested for HIV with negative result.

393 patients (72%) were anti-HCV seropositive and of them 269 were viremic (HCV RNA positive). Amongst HCV replicating patients, there were 184 males and 85 females. Genotype composition is shown in the Graph 1. The most prevalent subtype was 3a in 97 patients (36.1%), 1a was detected in 85 patients (31.6%) and 1b in 57 patients (21.2%). These three genotypes were responsible for nearly 89% of infections, the rest (4.2%) consisted of mixed genotypes or undistinguishable genotype 1, 1 patient had genotype 2. 7.1% of samples were not typeable for different reasons.

Genotype representation in 2010–2012 is summarized in Table 3 and Graph 1.

For the comparison with the two previous time periods (1998–2000 and 2005–2007) see the Table 2 where the characteristics of patients are shown and Table 3 where the genotype comparison is shown.

The development (genotype shift) of main genotypes over these three periods is depicted in Graph 2.

Increase in both genotypes 1a and 3 over the years was apparent and significant, followed by the decrease in genotype 1b.

We have performed the Pearson Chi-Square Tests and Z-tests with Bonferroni correction for comparison of the three periods. As the results indicate there were statistically significant differences between the groups in the meaning of Pearson Chi-Square Tests ($p < 0.001$). When the Z-tests with Bonferroni correction were applied, the results showed that in the three genotypes tested (1a, 1b and 3a) there were significant statistical differences.

PŮVODNÍ PRÁCE

Table 2. Comparison of patients in the three periods (N/I: not investigated)

	1998-2000		2005-2007		2010-2012	
number of patients	53		222		546	
males	29	54.7%	154	69.4%	356	65.2%
females	24	45.3%	68	30.6%	190	34.8%
mean age	22		27		30	
number of anti-HCV tests	53		222		546	
negatives	5	9.4%	7	3.2%	153	28.0%
positives	48	90.6%	215	96.8%	393	72.0%
anti-HCV positives	48		215		393	
number of PCR HCV RNA tests	53		222		393	
positives	53		222		269	
negatives	0		0		123	
N/I (not investigated)	0		0		1	
PCR HCV RNA positives	53		222		269	
males	29		154		184	
females	24		68		85	

In the genotype 1b and genotype 3a the significance of differences of relative prevalence has risen with the years of data collection ($p < 0.001$ in the genotype 1b for period 1998–2000 vs. 2005–2007 comparison and $p = 0.019$ for period 2005–2007 vs. 2010–2012 comparison, in the genotype 3a $p = 0.014$ and $p < 0.001$ respectively). The prevalence of genotype 1a in period 2005–2007 was significantly higher in comparison with the genotype 3a prevalence between all periods ($p = 0.038$).

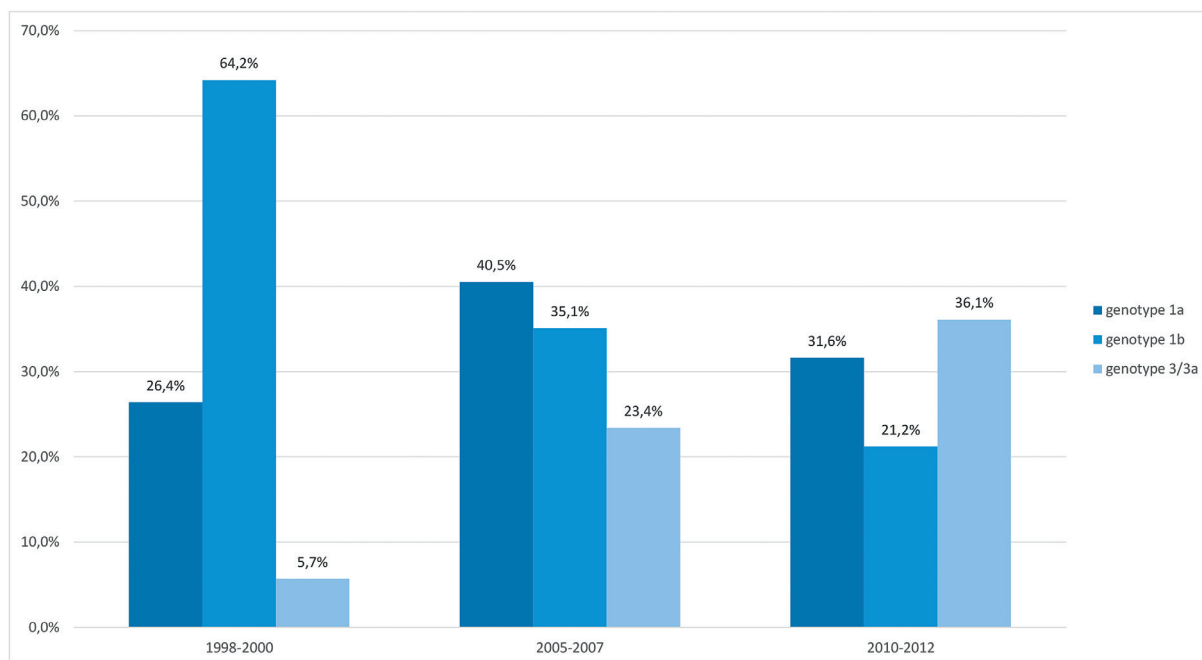
DISCUSSION AND CONCLUSION

In the three subsequent three-year periods we compared our observations and genotyping data of unique newly registered patients. Although ageing, the HCV infected population in the CR is still relatively young, males remain

predominant. The most significant change observed was the steady decrease of initially dominant HCV subtype 1b. Observed directions in genotypic shift testify rather for ongoing HCV epidemic than for stabilized prevalence in the population. The described trends in the evolution of HCV genotypes distribution possess some similarities with other countries. We might assume backwards, that the onset of HCV epidemic among PWID in CR occurred in the times of political isolation and that the initial source was similar like in common population infected from blood transfusions and other medical interventions before 1992. Other subtypes might have been introduced in subsequent years, after the political release from the sources abroad where the 1a and 3a are widely prevalent in high-risk populations. Unlike some countries though, where the incidence of one of the genotypes dominates (either 1a or 3a) [18], in CR we can see the increase in both

Table 3. Comparison of particular genotypes in three periods

genotypes	1998-2000		2005-2007		2010-2012	
1	0	0.0%	0	0.0%	8	3.0%
1a	14	26.4%	90	40.5%	85	31.6%
1a/1b	0	0.0%	0	0.0%	1	0.4%
1b	34	64.2%	78	35.1%	57	21.2%
1b/3a	0	0.0%	0	0.0%	1	0.4%
2	1	1.9%	0	0.00%	1	0.4%
2a	0	0.0%	1	0.5%	0	0.0%
2b	0	0.0%	1	0.5%	0	0.0%
3	3	5.7%	0	0.0%	0	0.0%
3a	0	0.0%	52	23.4%	97	36.1%
not available	0	0.0%	0	0.0%	4	1.5%
inconclusive	1	1.9%	0	0.0%	15	5.6%
Total	53		222		269	



Graph 2. Genotype composition in 2010-2012

Genotype 1-8 patients (3.0%), genotype 1a – 85 patients (31.6%), genotype 1a/1b: 1 patient (0.4%), genotype 1b – 57 patients (21.2%), genotype 1b/3a – 1 patient (0.4%), genotype 2 – 1 patient (0.4%), genotype 3a – 97 patients (36.1%), in 15 patients genotyping was inconclusive (5.6%) and in 4 patients (1.5%) wasn't available.

1a and 3a genotypes. It might be interesting to follow on the further development and result of the “race” of the two competing genotypes. Detailed and updated knowledge of HCV epidemiological characteristics in particular regions can help in precise targeting of eradication campaigns. With the WHO and other authorities goal of HCV elimination in the context of current highly efficacious antiviral treatment [19] the urgent need to precisely document the epidemiological situation and to track all risk groups, excluded communities and another possible reservoirs of HCV possess the greatest challenge.

REFERENCES

- Němeček V, Částková J, Fritz P, et al. The 2001 serological survey in the Czech Republic – viral hepatitis. *Central European Journal of Public Health*, 2003; 11, suppl.:S54–61.
- Mravčík V (Ed.), Chomynová P, Grohmannová K, et al. Výroční zpráva o stavu ve věcech drog v České republice v roce 2014 [Annual Report on Drug Situation 2014 – Czech Republic]. Praha: Úřad vlády České republiky, 2015.
- Malý M, Němeček V, Zákoucká H. Výskyt a šíření HIV/AIDS v České republice v roce 2016 (The prevalence and spread of HIV/AIDS in the Czech Republic in 2016). *Zprávy z centra epidemiologie a mikrobiologie (SZÚ, Praha)*, 2017; 26:6–7.
- The Negative Impact Of The War On Drugs On Public Health: The Hidden Hepatitis C Epidemic: Report of the global commission on drug policy. The global commission on drug policy [online]. 2013, May [cit. 2018-03-24]. Dostupné na www: http://www.globalcommission-nondrugs.org/hepatitis/gcdp_hepatitis_english.pdf.
- Nečas V, Mravčík V (Eds.). *Prevence a kontrola infekčních nemocí u injekčních uživatelů drog: metodický pokyn ECDC a EMCDDA*. Praha: Úřad vlády České republiky, 2012. ISBN 978-80-7440-064-3.
- Bruggmann P. Accessing Hepatitis C patients who are difficult to reach: it is time to overcome barriers. *Journal of Viral Hepatitis*, 2012;19(12):829–835. DOI: 10.1111/jvh.12008. ISSN 13520504. Dostupné na www: <http://doi.wiley.com/10.1111/jvh.12008>.
- Greberly J, Dore GJ, Morin S, et al. Elimination of HCV as a public health concern among people who inject drugs by 2030 – What will it take to get there? *Journal of the International AIDS Society*, 2017;20(1):22146. DOI: 10.7448/IAS.20.1.22146. ISSN 17582652. Dostupné na www: <http://doi.wiley.com/10.7448/IAS.20.1.22146>.
- Pawlotsky J-M, Tsakiris L, Roudot-Thoraval F, et al. Relationship between Hepatitis C Virus Genotypes and Sources of Infection in Patients with Chronic Hepatitis C. *Journal of Infectious Diseases*, 1995;171(6):1607–1610. DOI: 10.1093/infdis/171.6.1607. ISSN 0022-1899. Dostupné na www: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1093/infdis/171.6.1607>.
- Backmund M, Meyer K, Von Zielonka M, et al. Treatment of hepatitis C infection in injection drug users. *Hepatology*, 2001;34(1):188–193. DOI: 10.1053/jhep.2001.25882. ISSN 02709139. Dostupné na www: <http://doi.wiley.com/10.1053/jhep.2001.25882>.
- Pawlotsky J-M. New Hepatitis C Therapies: The Toolbox, Strategies, and Challenges. *Gastroenterology*, 2014;146(5):1176–1192. DOI: 10.1053/j.gastro.2014.03.003. ISSN 00165085. Dostupné na www: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508514003047>.
- Persico M, Coppola N, Rosato V, et al. HCV antiviral therapy in injection drug users: difficult to treat or easy to cure? *Annals Of Hepatology*, 2015;14(3):325–332. Dostupné na www: [http://www.annalsofhepatology.com/revista/numeros/2015/HP153-06-HCV%20\(Antiviral\)%20\(F310315m\)_PROTEGIDO.pdf](http://www.annalsofhepatology.com/revista/numeros/2015/HP153-06-HCV%20(Antiviral)%20(F310315m)_PROTEGIDO.pdf).
- Krekulova L, Rehak V, Madrigal N, et al. Genotypic and Epidemiologic Characteristics of Hepatitis C Virus Infections among Recent Injection Drug User and Nonuser Populations. *Clinical Infectious Diseases*, 2001;33(8):1435–1438. DOI: 10.1086/323199. ISSN 1058-4838. Dostupné na www: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/323199>

PŮVODNÍ PRÁCE

13. Krekulová L, Řehák V, Strunecký O, et al. Situace a trendy v zastoupení genotypů viru hepatitidy C v populaci injekčních uživatelů drog. *Epidemiologie, Mikrobiologie a Imunologie*, 2009;58(2):84–89.
14. Bruggmann P, Berg T, Øvrehus A, et al. Historical epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in selected countries. *Journal Of Viral Hepatitis*, 2014;21:5–33. DOI:10.1111/jvh.12247. ISSN 13520504. Dostupné na www: <http://doi.wiley.com/10.1111/jvh.12247>.
15. Šperl J, Fraňková S, Trunečka P. Transplantace jater pro chronickou hepatitidu C: význam protivirové léčby. *Gastroenterol. Hepatol.*, 2013;67(5):407–412.
16. Němeček V, Strunecký O. Genotypová heterogenita viru hepatitidy C (HCV) u dárců krve v ČR [Genotypic heterogeneity of hepatitis C virus (HCV) from blood donors in the Czech Republic]. *Epidemiologie, Mikrobiologie a Imunologie*, 2009;58(2):63–72.
17. Zábranský T, Mravčík V, Korčíšová B, et al. Hepatitis C Virus Infection among Injecting Drug Users in the Czech Republic – Prevalence and Associated Factors. *European Addiction Research*, 2006;12:151–160.
18. Robayes G, Bielen R, Azar D, et al. Global genotype distribution of hepatitis C viral infection among people who inject drugs. *Journal of Hepatology*;65(6):1094–1103. Dostupné na www: [https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278\(16\)30418-4/fulltext](https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278(16)30418-4/fulltext).
19. Greberly J, Dalgard O, Conway B, et al. Efficacy and safety of sofosbuvir/velpatasvir in people with chronic hepatitis C virus infection and recent injecting drug use: the SIMPLIFY study. *Journal of Hepatology*;66(1), Supplement:S513. Dostupné na www: [https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278\(17\)31428-9/fulltext](https://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278(17)31428-9/fulltext).

Do redakce došlo dne 5. 4. 2018.

Adresy pro korespondenci:

MUDr. Laura Krekulová, Ph.D.

REMEDI, s. r. o
Vladimírova 10
140 00 Praha 4

Mgr. PharmDr. Zbyněk Oktábec, Ph.D.

e-mail: zbynek.oktabec@lf1.cuni.cz

Prevalence of hepatitis C virus infection in adults with the risk factors

Dyrhonová M.¹, Hašková K.¹, Vránová J.², Chlábek R.¹

¹Department of Epidemiology, Faculty of Military Health Sciences, University of Defence, Hradec Kralove, Czech Republic

²Department of Medical Biophysics and Medical Informatics, Third Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

ABSTRACT

In 2017 chronic hepatitis C (CHC) seems to be a curable disease in most cases. Analysis of epidemiologic data of hepatitis C virus (HCV) infection gained from a primary care office shows how HCV is underdiagnosed in the Czech Republic (CZ). The importance of primary care in screening of HCV infection is shown, as is the necessity of spreading information about this disease between common population and healthcare workers. The aim of the study is to determine seroprevalence of HCV antibodies and HCV ribonucleic acid (RNA) positivity among registered patients with risk factors (RF) in medical history in one physician's practice. 1620

complete follow-ups of registered clients were accomplished during a 10-month period between 2016 and 2017 in the office of one general practitioner (GP). Amongst those 627 were confirmed to have RF. Each client with RF was tested for HCV antibodies, including detection of HCV RNA via polymerase chain reaction (PCR) method in cases of HCV antibodies positivity. 19 anti HCV positive clients were found, with a prevalence of 3.03%, 5 were HCV RNA positive, with a prevalence of 0.8%.

KEY WORDS

HCV infection – underdiagnosed – screening – primary care

SOUHRN

Dyrhonová M., Hašková K., Vránová J., Chlábek R.: Prevalence infekce virem hepatitidy C u dospělých s rizikovými faktory

Chronickou hepatitidu C (CHC) lze v současné době již pokládat za vyléčitelné onemocnění v naprosté většině případů. Analýza epidemiologických dat o infekci virem hepatitidy C (HCV) získaných v ambulanci praktického lékaře (PL) poukazuje na podhodnocení této diagnózy v České republice. Ukazuje na důležitost primární péče ve vyhledávání HCV infekce v populaci i na potřebu šíření poznatků o této nemoci mezi laiky i zdravotníky. Cílem této práce je stanovení prevalence anti HCV protilátek a přítomnosti ribonukleové kyseliny (RNA) HCV u jedinců

s rizikovou anamnézou v ambulanci PL. Během 10 měsíců v roce 2016-2017 bylo v jedné ambulanci PL provedeno 1620 komplexních vyšetření registrovaných klientů. Z těchto vyšetřených bylo 627 určeno jako rizikových. Každý rizikový jedinec měl proveden test na detekci anti HCV protilátek, včetně detekce HCV RNA metodou polymerázové řetězové reakce (PCR) v případě anti HCV pozitivitu. Anti HCV pozitivních bylo celkem 19, prevalence 3,03 %, z nich 5 mělo detekovanou HCV RNA, prevalence 0,8 %.

KEYWORDS

HCV infekce – podhodnocení – vyhledávání – primární péče – séroprevalence

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 68, 2019, č. 1, s. 9–14

INTRODUCTION

HCV can have an acute or chronic course of disease. Acute hepatitis is most commonly asymptomatic and is seldomly diagnosed. Chronic hepatitis can be symptom free for years, but the long-term inflammatory necrotic processes in the parenchyma of the liver lead to significant increase in morbidity and mortality with increased risk of liver cirrhosis (CIH), hepatocellular carcinoma (HCC), risk of hepatic failure and extrahepatic manifestations [1–4]. Disease, which remains unnoticed for years, is often diagnosed when symptoms first appear, this often signalizes significant damage to the liver with all consequences and complications that are responsible for 500 000 deaths yearly worldwide [5]. The global prevalence of hepatitis C (HC) is 3%. 180–200 million individuals infected with HCV are reported in total [6]. In Europe there are 9 million individuals with CHC, the prevalence is 0.5–3.5%, with the highest occurrence in the Mediterranean [7, 8]. Genotype (GT) 1 is most common in Europe and the USA, however the number of people infected with GT 3 is rising rapidly in

Europe, including CZ [9–17]. The prevalence in CZ is 0.6% of the population, which is at least 60 000 patients [18]. Currently, the number of newly reported cases of HCV infected people is around 750–950 people annually [19]. A seroprevalence overview was conducted in CZ in 2001 and the prevalence of antibodies was 0.2% [20]. After this no other larger overview has been conducted for 14 years, but it is assumed that the prevalence is on the rise. Only in 2015 3000 adult subjects from three centres (Hradec Králové, Brno, České Budějovice) were tested and in this group the prevalence was 1.67% for anti HCV antibodies and 0.93% for HCV RNA positive sera, with the largest number in the group of 30–34-year-olds [21]. There is no population screening in CZ which would be similar to the testing of 'baby boomers' in the USA, for example [22]. Only a small amount of people infected with HCV are revealed. The estimate is that around 20–50% of the diseased individuals are not diagnosed, therefore, are not treated. The prevalent problem is insufficient awareness and knowledge of the lay and professional public and insufficient search methods of infected individuals. Only screening of blood donors who are registered in blood

PŮVODNÍ PRÁCE

transfusion departments, which was launched in 1992 in CZ with the testing of specific antibodies against HCV using ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), and later CMIA (chemiluminescent microparticle immunoassay) and ECLIA (electrochemiluminescent immunoassay) to the increase of quality of *in vitro* diagnostics. There is no standard in primary care that would allow blanket testing of infected individuals in CZ. Mathematical models predict a decrease in the number of infected with HCV by 2030, also with the ageing of the population an increase in the number of those with higher degrees of liver fibrosis (LF), CIH, HCC and those who will undergo transplant is predicted [23]. In a country with no screening of the population, without a surveillance database, seroprevalence overviews of the adult population are the gold standard for figuring out prevalence of anti HCV antibodies [24].

The main objective of the study was to find out the prevalence of HCV antibodies in the office of a GP amongst adult clients who were identified of risk for HCV infection. The secondary objective was to identify the most relevant RF in this group of investigated people and to find the dominant genotype of infected individuals with CHC.

MATERIALS AND METHODS

Study design, choice of subjects

This study was led as monocentric in a country district in the Central Bohemian region in one of the offices of a GP as a seroprevalence analysis. From October 2016 until August 2017, 1620 adult (over 18 years-old) clients registered with GP were completely examined with an accent on epidemiologic history, physical examination and liver test results, levels of albumin and thrombocyte count. Because analyses were provided during regular visit as a part of medical care for patients, no written consent or ethics committee approval were required. Individuals with history involving RF were selected, meaning those, who belonged to one of the predefined groups. From an epidemiological point of view 12 groups were formed of individuals with RF that may lead to higher probability of acquiring HCV infection:

1. Recipients of blood derivatives, blood transfusions (TRF), surgeries, trauma or abortions before 1992
2. Liver tests (LT) levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) elevated above normal
3. Individuals with history of injectable recreational drug application
4. Individuals with history of haemodialysis (acute and regular)
5. Sexual partners of HCV positive individuals
6. Medical personnel
7. Individuals with tattoos and/or piercing
8. Individuals with prior imprisonment
9. Recipients of organ transplants
10. Children of HCV positive mothers
11. Haemophiliacs treated before 1987
12. Individuals infected with Human Immunodeficiency Virus (HIV)

Also, individuals with deficient albumin levels or thrombocyte count, or pathologies in physical findings were included in the study. Part of the physical examination

was determination of jaundice, spider naevi, unnormal size and consistency of the liver, enlargement of the spleen, oedema of the lower extremities, signs of tattoos. 627 of the examined individuals were identified as of risk. Those 627 people gave venous blood to determine presence of HCV antibodies.

Testing for anti HCV antibodies

All 627 individuals had their serum tested in qualitative detection of anti HCV antibodies using ECLIA, Anti-HCV II kit from Roche was used (for use inside the immunochemical analyser Cobas e 601, Roche). The results were in form of cut-off indexes (sample signal/cut-off), samples with cut-off indexes < 0.9 were identified as non-reactive, samples with cut-off indexes from 0.9 to < 1.0 were identified as borderline, and samples with cut-off indexes ≥ 1.0 were identified as reactive. Individuals with reactive samples were tested positive.

HCV detection, genotyping

In samples with borderline or reactive results, we proceeded with laboratory testing of the blood samples for HCV RNA detection via Cobas®HCV test, Roche with the use of Cobas®4800 system, Roche (isolation and detection). HCV genotyping: amplification – VERSANT® HCV Amplification 2.0 (LiPA), Roche, primers for 5'UTR (5'untranslated region) and core region; detection-VERSANT® HCV Genotype 2.0 (LiPA), Roche, reverse hybridization method (product created by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) amplification of the mentioned area is hybridized on oligonucleotide probes, which are connected to a nitrocellulose strip). GT HCV was identified in HCV RNA positive samples. Parameters: sample type-serum, EDTA plasma (plasma with Ethylene diaminetetraacetic salt), sample volume – 400 μ l or 200 μ l (so-called paediatric volume), analytical sensitivity – 9.2 IU/ml (400 μ l), 15.3 IU/ml (200 μ l), linear range 400 μ l: 15.0–1.0 $\times 10^8$ IU/ml, 200 μ l: 25.0–1.0 $\times 10^8$ IU/ml, detected HCV genotypes 1–6.

Statistical analysis

Patients were divided into groups according to the following criteria: age (< 40 years-old vs. ≥ 40 years-old), sex, recreational drug use (yes vs. no), HCV detection (negative vs. reactive). The descriptive statistic method was used for presentation of results: calculation of absolute and relative frequency tabs, also calculation of basic parameters of the group of patients – averages, deviations, medians, ranges of monitored variables. For statistical analysis STATISTICA 9.0 programme (StatSoft Inc.) was used.

RESULTS

Characteristics of investigated risk population

From 2016 to 2017 1620 patients were tested in a regular office of a GP for adults. 627 in total were identified to have at least one of the defined RF for acquiring HCV infection. The average age of all 627 subjects was 46.1 years-old, the median age was 45 (19–82 years-old). There were 245 people in the age group under 40 and 382 in the ≥ 40 group. In this group there were 283 men and 344 women. Except for children of HCV positive mothers, haemophiliacs treated before 1987 and people infected with HIV all the other defined groups of people with RF

were present in this cohort. The largest group was of those who have received medical care (groups 1 and 4 – recipients of blood derivatives, TRF, surgery, trauma, and abortions before 1992, haemodialysis) 388 people, prevalence of 24%, the next largest group were individuals with alternated liver tests with a total of 176, prevalence of 10.9% and the group of medical personnel which counted 102 people, with a prevalence of 6.3%. Individuals with tattoos and/or piercing counted 43, with a prevalence of 2.7%. From the entire group of 1620 people, there were 7 individuals who admitted prior recreational drug use, with a prevalence of 0.43%, 5 people were imprisoned in the past, with a prevalence of 0.31%, 3 people admitted to having sexual contact with HCV positive individuals, prevalence of 0.2% and 3 (0.2%) have received organ transplants (1 heart transplant, 2 kidney transplants).

Prevalence of anti HCV positivity

From 627 tested sera 19 samples were positive (9 males, 10 females), prevalence of 3.03%. 7 tested positive in the age group < 40 and 12 in the ≥ 40 age group. 4 of the positive individuals admitted to experimenting with recreational drugs, 11 received medical care, 3 were imprisoned in the past and one was the partner of an HCV infected woman. Only 12 patients out of 19 who tested HCV positive had elevated transaminases (ALT or/and AST) and only 4 (out of 19) knew about their HCV infection and were followed by a specialist. For everyone else the information about their HCV status was new and surprising.

Prevalence of HCV RNA positivity

Amongst the 19 individuals with positive specific anti HCV antibodies 5 were HCV RNA positive with CHC, prevalence of 0.8%. The average age of patients with CHC was 58.4 years (ranging from 39 to 80 years), 4 males, prevalence of 0.64% and 1 woman 0.2%, only one person was under 40 years old, the other 4 were older.

Genotype of HCV

Amongst the HCV RNA positive individuals all 5 with viremia had GT 1b, other genotypes were not found in our cohort.

Determination of level of LF in patients with CHC

All 5 HCV RNA positive individuals had CHC. An essential part of the examination of this type of patients is determining the clinical stages of LF. When staging LF, different criteria and scoring systems may be used. To maximally simplify these systems METAVIR scoring system was introduced into practice and is now widely used [25]. This system divides the stages of fibrosis into 5 stages METAVIR F0–F4. Stage F0–F1 means findings without fibrosis, F2 means significant fibrosis, F3 bridging fibrosis and F4 means liver cirrhosis. Currently, the preferred method for detecting the stage of LF is with non-invasive detection. In the case of our patients the degree of LF was tested with shear wave elastography, a method that uses shear waves. These waves appear as a response of the elastic resistance of tissue to mechanical vibration with low frequency (10–500 Hz) and spread through the entire tissue volume in transverse direction. Shear waves can only spread through environment which resists shear stress, this happens only in solid environment. Elasticity of tissue, the so-called Young module, can be

estimated based on measuring the speed of spread of shear waves in tissue. We usually enforce the density of biological tissues as a constant. The average liver density is approximately $1047 \pm 5 \text{ kg/m}^3$, elasticity is measured in kilopascals (kPa) [26]. Liver elasticity of our patients was METAVIR F2 in 2 cases. There are F3 in 2 cases and F4 in 1 case, in which HCC was also diagnosed. With exception of the man with CIH (F4) patients did not have any subjective complaints. Even in the case of this man the main complaints reflected the symptoms of a growing HCC with generalisation, anorexia, pain in the right hypochondrium, growing malnourishment and finally death.

DISCUSSION

This study was conducted in a cohort of adult patient population in a regular office of a GP in CZ in the time of repossession of clientele by the new physician from the former one. The new physician was acquainted with his patients gradually, completely randomly as they entered the office with their acute problems and wishes. During this first contact everyone's available medical documentation was processed, complete medical history was supplemented, a physical examination was conducted. Judging by all this information, those who had pathological liver test values, lower platelet counts and/or lower albumin values in at least one of the prior three laboratory findings, and those who currently had pathologic findings during physical examination, which supported suspicion of liver damage were chosen, also those who had identified RF listed above in their medical history.

In our cohort we obtained data, which shows being treated in a healthcare facility as the highest RF. Among anti HCV positive there were 11 out of 19 individuals. Contrary to this, amongst the large amount of tested healthcare personnel (102 out of the total number of 1620, prevalence of 6.3%) none were confirmed to have HCV infection, which shows us the low risk of HCV spread from the infected individuals onto medical personnel when all safety precautions are taken, also this shows the low total prevalence of people infected with HCV in the population. In this study a large group of people (2.7%) who had had tattoos and/or piercing were tested. We did not find anyone with HC in this group. There is no comprehensive data on the number of individuals with experience with intravenous recreational drug applications, their numbers are estimated to be from 0.4% to 3% [27]. In its annual report on the status in drug matters in 2013 in CZ the National monitoring centre for drugs and addiction estimated about 44.9 thousand problem drug users. Buprenorphine is on the rise. The phenomena of the last years is the emergence of new synthetic drugs from the cathinone or the phenethylamine group – experience with these drugs plays a major part in the problem of drug usage – about one third in Prague, but only a small fraction reports it as their primary drug [28]. Numbers of individual who have joined the substitution programme for addiction on opiates/opioids in CZ is also known. 529 cases of treatment in 446 people were added to the register in 2017 [29]. In our cohort 7 people admitted experimenting with recreational drugs, prevalence of 0.43%.

PŮVODNÍ PRÁCE

Incidence of new cases of HC in CZ was highest in 1999, from then on it has a declining tendency and has been relatively stable in the last few years. According to mathematical models a further decline is anticipated. On the other hand, increase in patient of middle and older age with higher degrees of fibrosis, compensated and decompensated CIH, CHC and related deaths are predicted [30]. In our cohort seroprevalence of anti HCV antibodies and HCV RNA positivity is found mostly in individuals who are 40-years-old and older, also higher stages of fibrosis are found in this age group, which correlates with mathematical models mentioned above. GT 1, which is most common in the world, is prevalent mainly in developed countries with high income. Its spread is connected mainly to administered transfusions of blood derivatives before HCV was discovered in 1989 [28]. GT 3a, on the other hand, the second most common globally, mainly in Europe is associated with intravenous recreational drug abuse [31, 32, 33] and also with migration to Europe from high incidence countries (India, Pakistan) [34]. This data is consistent with our results, only GT 1b was detected. Those were people, who reported any of the possible means of transmission of HCV, while receiving medical treatment in a healthcare facility – applied blood derivatives, TRF, surgeries, injuries and abortions prior to 1992, those who had haemodialysis or received organ transplants.

In comparison the results of a study from 2001 (0.2%) and from 2015 (1.67%), even with the knowledge, that we targeted people with RF in their personal history, we can confirm that prevalence of anti HCV antibodies and prevalence of CHC in the adult population in CZ has increased in the last 16 years. Unlike the study conducted in 2015 we found more anti HCV positive individuals and more people with CHC in the age group of 40 years and older.

Aside from the study, on closer examination, the main reason of elevated ALT and AST was steatohepatitis due to metabolic syndrome, non-alcoholic steatohepatitis (NASH) with obesity, dyslipidaemia and diabetes mellitus.

CHC is not solely a disease of the liver with extrahepatic complications, it carries with it a change in quality of life, the stigma of disease, it has a psychosocial dimension, it decreases work productivity and has a noticeable economic impact.

We share our results that show a need for a targeted search of people with HC. In CZ there is an increase in people with CIH, who will need liver transplant because of decompensated disease or development of HCC is anticipated. For reduction of morbidity and mortality as a result of CHC a more effective screening than the one used now in CZ is needed, together with an increase of availability of treatment with direct acting antiviral drugs (DAA), which are highly effective, with minimal side-effects. They have a potential to cure all the infected people and, in the future, will lead to eradication of HC. The only crucial obstacle to the spread of this treatment is high price.

There are studies in the world that compare the economic impact of targeted or whole population screening of anti HCV antibodies and antiviral treatment in comparison to treatment of compensated a decompensated CIH. One of the last analyses conducted in South Korea shows the

cost-effectiveness of testing was highest when performed in subjects under 40 year of age [35]. The conclusion of a study performed in 2013 in the USA, targeted screening is cost-effective, if the prevalence of HCV is above 0.84% [36]. The strategies of search of patient with HC in CZ should be reconsidered due to all the available epidemiologic data, which we do not have enough of, expanding and refinement is needed.

CONCLUSIONS

In comparison to the data available from 2001, and from 2015 an increase of seroprevalence of anti HCV positivity in the adult population is noted. In our cohort of adults with defined of acquiring HCV infection (anti HCV prevalence of 3.03%) the dominant group was patients with documented surgeries or trauma, those who have received blood transfusion or blood derivatives prior to 1992 and dialyzed patients (24%). On the other hand, the group with history of intravenous drug use were in the minority (0.43%), this, however, corresponds with the estimated number of occurrences in CZ. Patients with CHC (prevalence of 0.8%) are diagnosed at a higher age (average of 58.4 years-old) and with a higher degree of LF ($\geq$ F2), there are more males than females (4:1). Only GT 1b was detected, which corresponds with the high representation of those who were exposed to medical interventions in healthcare facilities, whereas GT 3a, which is associated with drug abuse, was not detected. Since the epidemiological situation in CZ has a slower change of trends compared to Western Europe and North America, we can predict an increase of GT3 in the future [21].

Our results show the need for a systemic search for patients with HC, more so in the high-risk adult population, we need a change for a more effective screening method in CZ. The general awareness of laymen and experts is insufficient. This is all followed with insufficient reporting of diagnosis, growing morbidity and mortality as a result of complication of CHC and the cost for the entire population which this brings.

REFERENCES

1. Omeland LH, Jepsen P, Krarup H, et al. Increased mortality among persons infected with hepatitis C virus. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2011;9:71–78. pmid:20888437.
2. Omeland LH, Krarup H, Jepsen P, et al. Mortality in patients with chronic and cleared hepatitis C viral infection: a nationwide cohort study. *J Hepatol*, 2010;53:36–42. pmid:20400197.
3. Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, et al. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. *J Hepatol*, 2006;45:529–538. pmid:16879891.
4. Negro F. Epidemiology of hepatitis C in Europe. *Dig Liver Dis*, 2014;46(Suppl5):158–164.
5. Wandeler G, Dufour JF, Bruggmann P, et al. Hepatitis C: a changing epidemic. *Swiss Med Wkly*, 2015;145:w14093.
6. World Health Organization. Hepatitis C–global prevalence (update). *Weekly Epidemiological Record*, 1999;74:425–427. pmid:10645164.
7. Deuffic-Burban S, Deltenre P, Buti M, et al. Predicted effects of treatment for HCV infection vary among European countries. *Gastroenterology*, 2012;143:974–985. pmid:22863764.

MAVIRET
glekaprevir/pibrentasvir

LÉČBA CHRONICKÉ HEPATITIDY C

KOMBINACE 2 DAA* V 8TÝDENNÍM PANGENOTYPOVÉM REŽIMU¹
**= 8 TÝDENNÍ
LÉČBA**
**DOSUD NELÉČENÍ PACIENTI BEZ
CIRHÓZY, PACIENTI S INFEKČÍ GT1-6[†]**
98%²
ITT[‡]
VYLÉČENÝCH PACIENTŮ (SVR12)**

 Napříč GT 1-6 (n = 943/965)²

*DAA = přímo působící antivirotika.

**Vyléčení = setrvalá virologická odpověď (SVR12) definovaná jako HCV RNA nižší než LLOQ za 12 týdnů po ukončení léčby a byla primárním účinnostním cílovým ukazatelem ve všech studiích.

†8týdenní léčba je také doporučena u pacientů bez cirhózy dříve léčených pomocí pegIFN + RBV s nebo bez SOF nebo SOF + RBV s HCV infekcí genotypu 1, 2, 4, 5 a 6.

‡ITT = do analýzy jsou zahrnuti všichni pacienti, kteří byli zařazeni do studie.

Zkrácené informace o léčivém přípravku Maviret 100 mg/40 mg potahované tablety

Složení: Jedna potahovaná tableta obsahuje glekaprevirum 100 mg a pibrentasvirum 40 mg. **Indikace:** Léčba chronické virové hepatitidy C u dospělých. **Dávkování a doba léčby:** Doporučená perorální dávka přípravku Maviret je 300 mg/120 mg (tři tablety 100 mg/40 mg) jednou denně s jídlem. Doporučená doba trvání léčby viz SPC. **Zvláštní populace:** U pacientů s poruchou funkce ledvin a lehkou poruchou funkce jater není třeba dávku upravovat; u pacientů se středně těžkou poruchou funkce jater se Maviret nedoporučuje, těžká porucha funkce jater – viz kontraindikace. U pacientů po transplantaci jater nebo ledvin s cirhózou nebo bez ní je doporučena doba léčby 12 týdnů. Další informace týkající se dávkování viz SPC. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. Pacienti s těžkou poruchou funkce jater (Child-Pugh C). Současné použití s léčivými přípravky obsahujícími atazanavir, atorvastatinem, simvastatinem, dabigatran-etexilátem, přípravky obsahujícími ethinylestradiol, silnými induktory P-gp a CYP3A (např. rifampicinem, karbamazepinem, třezalkou tečkovanou (Hypericum perforatum), fenobarbitalem, fenytoinem a primidonem). **Těhotenství a kojení:** Údaje o podávání glekapreviru nebo pibrentasviru těhotným ženám jsou omezené nebo nejsou k dispozici. Přípravek Maviret není z preventivních důvodů během těhotenství doporučován. **Zvláštní upozornění:** Reaktivace viru hepatitidy typu B: Pacienti s koinfekcí HBV/HCV jsou vystaveni riziku reaktivace HBV, a proto mají být monitorováni a má jim být poskytnuta péče podle aktuálních standardních léčebných postupů. Screening HBV má být u každého pacienta proveden ještě před zahájením léčby. Porucha funkce jater: Maviret se nedoporučuje u pacientů se středně těžkou poruchou funkce jater (Child-Pugh B) a je kontraindikován u pacientů s těžkou poruchou funkce jater (Child-Pugh C). Pacienti, u kterých selhal předchozí režim zahrnující inhibitor NS5A a/nebo inhibitor NS3/4A: Přípravek Maviret není doporučen pro opakovanou léčbu pacientů s předchozí expozicí NS3/4A a/nebo NS5A. Laktosa: Přípravek Maviret obsahuje laktosu. Pacienti se vzácnými dědičnými problémy s intolerancí galaktosy, vrozeným deficitem laktázy nebo malabsorpcí glukosy a galaktosy nemají tento přípravek užívat. U diabetiků může po zahájení léčby infekce HCV přímo působícími antivirotyky dojít ke zlepšení kontroly glykemie, což může potenciálně vést k symptomatické hypoglykémii. U diabetiků, u nichž je zahájena léčba přímo působícími antivirotyky, je třeba pečlivě monitorovat glykémii, zejména v prvních 3 měsících, a v případě potřeby upravit jejich antidiabetickou medikaci. O zahájení léčby přímo působícími antivirotyky je třeba informovat lékaře, který má u pacienta na starosti léčbu diabetu. **Interakce:** Glekaprevir a pibrentasvir jsou inhibitory P-glykoproteinu (P-gp), proteinu rezistence karcinomu prsu (BCRP) a polypeptidu transportujícího organické anionty (OATP) 1B1/3. Současné podávání přípravku Maviret s léčivými přípravky, které jsou substráty P-gp BCRP nebo OATP1B1/3 může zvýšit jejich plazmatickou koncentraci a může vyžadovat úpravu jejich dávky. Současné podávání přípravku Maviret s léčivými přípravky, které jsou středně silnými induktory P-gp/CYP3A (např. oxkarbazepin, eslikarbazepin, lumakaftr, krizotinib), může snížit plazmatické koncentrace glekapreviru a pibrentasviru a není tedy doporučeno. Současné podávání přípravku Maviret s léčivými přípravky, které inhibují P-gp a BCRP (např. cyklosporin, kobicistat, dronedaron, itraconazol, ketokonazol, ritonavir), může zpomalit eliminaci glekapreviru a pibrentasviru a tím zvýšit plazmatickou expozici antivirotyk. Léčivé přípravky, které inhibují OATP1B1/3 (např. elvitegravir, cyklosporin, darunavir, lopinavir), zvyšují systémové koncentrace glekapreviru. Pacienti léčení antagonisty vitamínu K: Během léčby přípravkem Maviret se může změnit funkce jater, je doporučeno pečlivě monitorování hodnot INR. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté: bolest hlavy a únava. Časté: průjem, nauzea, astenie. Zvýšení celkového bilirubinu nejméně na 2násobek horní hranice normálních hodnot (ULN) bylo pozorováno u 1,3 % pacientů v souvislosti s inhibicí transportérů bilirubinu zprostředkovanou glekaprevirem a jeho metabolizmem. **Uchovávání:** Žádné zvláštní podmínky uchovávání. **Balení:** PVC/PE/PCTFE blistr s Al fólií, balení obsahuje 84 (4x21) tablet. **Držitel rozhodnutí o registraci:** AbbVie Deutschland GmbH & Co. KG, Ludwigshafen, Německo. **Registrační číslo:** EU/1/17/1213/001. **Poslední revize textu:** 11/2018. Přípravek je vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. ▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. To umožní rychlé získání nových informací o bezpečnosti. Žádáme zdravotnické pracovníky, aby hlásili jakákoli podezření na nežádoucí účinky. Seznamte se, prosím, s úplnou informací o přípravku dříve, než jej předepíšete. * Všimněte si, prosím, změn v informacích o léčivém přípravku.

Reference: 1. SPC Maviret. 2. Puoti M. et al: High SVR12 with 8-week and 12-week glekaprevir/pibrentasvir therapy: An integrated analysis of HCV genotype 1-6 patients without cirrhosis. J Hepatol. 2018 Aug;69(2):293-300.

abbvie

AbbVie s.r.o., Metronom Business Center, Bucharova 2817/13, 158 00 Praha 5 – Nové Butovice, tel.: 233 098 111, fax: 233 098 100, www.abbvie.cz

CZ-MAVI-190001

PŮVODNÍ PRÁCE

8. Muhlberger N, Schwarzer R, Lettmeier B, et al. HCV-related burden of disease in Europe: a systematic assessment of incidence, prevalence, morbidity, and mortality. *BMC Public Health*, 2009;9:34. pmid:19161623.
9. Cornberg M, Razavi HA, Alberti A, et al. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Europe, Canada and Israel. *Liver Int*, 2011;31(Suppl2):30–60.
10. Kartashev V, Döring M, Nieto L, et al. New findings in HCV genotype distribution in selected West European, Russian and Israeli regions. *J Clin Virol*, 2016;81:82–89. pmid:27367545.
11. Schroter M, Zollner B, Schafer P, et al. Epidemiological dynamics of hepatitis C virus among 747 German individuals: new subtypes on the advance. *J Clin Microbiol*, 2002;40:1866–1868. pmid:11980980.
12. Ross RS, Viazov SO, Holtzer CD, et al. Genotyping of hepatitis C virus isolates using CLIP sequencing. *J Clin Microbiol*, 2000;38:3581–3584. pmid:11015367.
13. Raptopoulou M, Touloumi G, Tzourmakiotis D. Significant epidemiological changes in chronic hepatitis C infection: results of the nationwide HEPNET-GREECE cohort study. *Hippokratia*, 2011;15:26–31. pmid:21607032.
14. Chlabicz S, Flisiak R, Kowalczyk O, et al. Changing HCV genotypes distribution in Poland–relation to source and time of infection. *J Clin Virol*, 2008;42:156–159. pmid:18353714.
15. Prasad L, Spicher VM, Zwahlen M, et al. Cohort Profile: The Swiss Hepatitis C Cohort Study (SCCS). *Int J Epidemiol*, 2007;36:731–737. pmid:17693458.
16. Costella, Annastella and Health Protection Agency United Kingdom. Hepatitis C in the UK 2008. The Health Protection Agency Annual Report. Health Protection Agency Centre for Infections, London, 2008.
17. Messina JP, Humphreys I, Flaxman A, et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*, 2015;61:77–87. pmid:25069599.
18. Bruggmann P, Berg T, Ovrehus AL, et al. Historical epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in selected countries. *J Viral Hepat*, 2014;21(Suppl1):5–33.
19. National Institute of public health. Infekce v ČR 2017, kumulativně. Dostupné na [www: <http://www.szu.cz/publikace/data/kumulativni-nemocnost-vybranych-hlasenych-infekci-v-ceske-republice>](http://www.szu.cz/publikace/data/kumulativni-nemocnost-vybranych-hlasenych-infekci-v-ceske-republice)
20. Nemecek V, Castkova J, Fritz P, et al. The 2001 serological survey in the Czech Republic–viral hepatitis. *Cent Eur J Public Health*, 2003;11 Suppl:54–61.
21. Chlibek R, Smetana J, Sosovickova R, et al. Prevalence of hepatitis C virus in adult population in the Czech Republic – time for birth cohort screening. *PLoS ONE*, 2017;12(4): e0175525. Dostupné na [www: http://doi.org/10.1371/journal.pone.0175525](http://doi.org/10.1371/journal.pone.0175525).
22. Smith BD, Morgan RL, Beckett GA, et al. Recommendations for the identification of chronic hepatitis C virus infection among persons born during 1945–1965. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2012;61(RR-4):1–32.
23. Razavi H, Waked I, Sarrazin C, et al. The present and future disease burden of hepatitis C virus with today's treatment paradigm. *J Viral Hepat*, 2014;21(Suppl.1):34–59. doi:10.1111/jvh.12248
24. Christensen PB, Hay G, Jepsen P, et al. Hepatitis C prevalence in Denmark – an estimate based on multiple national registers. *BMC Infect Dis*, 2012;6(12):178. Dostupné na [www: https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-178](https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-178).
25. XY. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. The French METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*, 1994;20(1 Pt 1):15–20.
26. Samir AE, Dhyani M, Vij A, et al. Shear-wave elastography for the estimation of liver fibrosis in chronic liver disease: Determining accuracy and ideal site for measurement. *Radiology*, 2015;274(3):888–896.
27. Ministry of Health, Czech Republic. Zpráva o zdraví obyvatel ČR (2014), Praha 2014:113–119. ISBN 978-80-85047-49-3. Dostupné na [www: <http://www.mzcr.cz/verejne/dokumenty/zprava-o-zdravi-obyvatele-ceske-republiky2014-_9420_3016_5.html>](http://www.mzcr.cz/verejne/dokumenty/zprava-o-zdravi-obyvatele-ceske-republiky2014-_9420_3016_5.html)
28. National Monitoring Centre for Drugs and Addiction [online]. Výroční zpráva o stavu ve věcech drog v České republice v roce 2013. Dostupné na [www: www:<https://www.vlada.cz/assets/media-centrum/tiskove-zpravy/Vyrocní-zprava-o-stavu-ve-vecich-drog-v-CR-v-roce-2013.pdf>](http://www.vlada.cz/assets/media-centrum/tiskove-zpravy/Vyrocní-zprava-o-stavu-ve-vecich-drog-v-CR-v-roce-2013.pdf)
29. Institute of Health Information and Statistics of the Czech Republic. Substituční léčba závislosti na opiátech/opioidch v ČR v roce 2017 [online]. 2018-01. Dostupné na [www: <https://www.uzis.cz/rychle-informace/substitutni-lecba-zavislosti-na-opiatechopioidech-v-cr-v-roce-2017>](https://www.uzis.cz/rychle-informace/substitutni-lecba-zavislosti-na-opiatechopioidech-v-cr-v-roce-2017)
30. Furione M, Simoncini L, Gatti M, et al. HCV genotyping by three methods: analysis of discordant results based on sequencing. *J Clin Virol*, 1999;13:121–130.
31. Zein NN. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin Microbiol Rev*, 2000;13:223–235.
32. Roman F, Hawotte K, Struck D, et al. Hepatitis C virus genotypes distribution and transmission risk factors in Luxembourg from 1991 to 2006. *World J Gastroenterol*, 2008;14:1237–1243.
33. Morice Y, Cantaloube JF, Beaucourt S, et al. Molecular epidemiology of hepatitis C virus subtype 3a in injecting drug users. *J Med Virol*, 2006;78:1296–1303.
34. Uddin G, Shueb D, Solaiman S, et al. Prevalence of chronic viral hepatitis in people of south Asian ethnicity living in England: the prevalence cannot necessarily be predicted from the prevalence in the country of origin. *J Viral Hepat*, 2010;17:327–335.
35. Kim DY, Han K-H, Jun B, et al. Estimating the Cost-Effectiveness of One-Time Screening and Treatment for Hepatitis C in Korea. *Lu S-N, PLoS ONE*, 2017;12(1):e0167770. doi:10.1371/journal.pone.0167770.
36. Eckman MH, Talal AH, Gordon SC, et al. Cost-effectiveness of Screening for Chronic Hepatitis C Infection in the United States. *Clin Inf Dis*, 2013;56(10):1382–1393.

Acknowledgements

The authors of this article thank Hana Hrubá, MD and Jana Cihlarová, MD from the accredited laboratory of Vidia-Diagnostika, spol. s r.o for the analysis of the blood samples.

Do redakce došlo dne 9. 9. 2018.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Markéta Dyrhonová

Ambulance VLP
Jiřího z Poděbrad 1986/11
276 01 Mělník
e-mail: dyrhonova@gmail.com

Klinické a mikrobiologické charakteristiky klostridiové kolitidy u dětí hospitalizovaných na KDIN v Brně v letech 2013–2017

Musil V.¹, Homola L.¹, Vrba M.², Braunová A.¹, Malá M.¹, Holečková P.¹, Krbková L.¹

¹Klinika dětských infekčních nemocí Fakultní nemocnice, Brno a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno

²Oddělení klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice, Brno

ABSTRAKT

Cíl práce: *Clostridium difficile* (*C. difficile*) sehrává okrajovou, ale významnou úlohu v pediatrii. Cílem práce je objektivizace dat a jejich význam v klinické praxi, sdělit naše zkušenosti s léčbou pediatrických pacientů.

Materiál a metodika: Sběr dat probíhal retrospektivně u pacientů (0–19 let) z pětiletého období 2013–2017 hospitalizovaných s diagnózou klostridiová kolitida na Klinice dětských infekčních nemocí (KDIN) FN Brno. Každý pacient byl testován dvoustupňovým diagnostickým algoritmem metodou imunochromatografického testu a polymerázové řetězové reakce (PCR).

Výsledky: 35 pacientů s mediánovým věkem 10,3 roků (1–17,5 roku) bylo zapsáno do studie. Věková skupina 6–19 let tvořila dohromady téměř 70 %. U jednoho pacienta nebyl odhalen žádný rizikový faktor, 41,6 % případů tvořili pacienti s onkologickou diagnózou a nespecifickými střevními záněty, ve 2,5 % syndrom krátkého střeva. Mediánová doba ústupu průměrně byla 2,5 dne po cílené léčbě na klostridiovou kolitidu. Ve více jak polovině případů

byl použit metronidazol. V 5 případech byl podáván fidaxomicin s dobrou tolerancí. Ve 3 případech došlo k selhání terapie po metronidazolu. K rekurenci po nedokončené léčbě došlo v jednom případě. V 86 % případů se jednalo o klostridiovou kolitidu spojenou se zdravotní péčí. Více atak kolitidy bylo zaznamenáno u čtyř dětí (2krát malignita, 1krát nespecifický střevní zánět, 1krát syndrom krátkého střeva).

Závěr: Průběh klostridiové kolitidy je obecně v pediatrii populaci mírný, bez rizikového faktoru je vzácná. Pediatričtí pacienti dobře odpovídají na léčbu metronidazolem. Fidaxomicin byl úspěšně tolerován ve všech případech. U vysoce rizikových skupin (imunosuprese, syndrom krátkého střeva, nespecifický střevní zánět) preferujeme primárně léčbu fidaxomicinem.

KEYWORDS

Clostridium difficile – klostridiová kolitida – průjem – fidaxomicin – děti

ABSTRACT

Musil V., Homola L., Vrba M., Braunová A., Malá M., Holečková P., Krbková L.: Clinical and microbiological characteristics of *Clostridium difficile* infection in children hospitalized at the Department of Paediatric Infectious Diseases in Brno between 2013 and 2017

Aims: *Clostridium difficile* (*C. difficile*) plays a minor but important role in paediatrics. The aims of this study were to objectivise data, to show their significance in clinical practice, and to present our experience with the treatment of paediatric patients.

Materials and methods: A retrospective study was conducted in patients (0–19 years of age) hospitalized for *Clostridium difficile* infection (CDI) in the Department of Paediatric Infectious Diseases, University Hospital in Brno between 2013 and 2017. Each patient was tested using a two-step diagnostic screening algorithm including immunochromatography and polymerase chain reaction assays.

Results: Thirty-five patients with a median age of 10.3 years (range 1–17.5 years) were enrolled in the study. Almost 70% of patients were aged between 6 and 19 years. No risk factor was identified in one patient, 41.6% of cases were patients with ma-

lignancy or inflammatory bowel disease, and 2.5% of patients had short bowel syndrome. After targeted CDI treatment, the median time to resolution of diarrhoea was 2.5 days. Metronidazole was used in more than half of cases. Five patients received fidaxomicin, which was well tolerated. Metronidazole failed in three cases. Recurrence after incomplete treatment with metronidazole occurred in one patient. Health care-associated CDI was recorded in 86% of cases. Recurrent CDI was reported in four children (two with malignancy, one with inflammatory bowel disease, and one with short bowel syndrome).

Conclusions: The course of CDI is generally mild in the paediatric population. CDI without a risk factor is rare. Paediatric patients respond well to metronidazole. Fidaxomicin was well tolerated by all patients. We prefer the treatment with fidaxomicin in high-risk groups (immunocompromised condition, inflammatory bowel disease, and short bowel syndrome).

KEYWORDS

Clostridium difficile infection – diarrhoea – fidaxomicin – children

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 68, 2019, č. 1, s. 15–22

PŮVODNÍ PRÁCE

ÚVOD

C. difficile představuje dlouhodobě u dospělých celosvětový problém pro svoji morbiditu i mortalitu. V pediatrii se hrávala bakterie spíše okrajovou roli, v posledních letech se zájem zvýšil [1–3]. Většina doporučení však vychází z extrapolací z dospělých doporučení a v některých ohledech nemusí zcela vyhovovat zvláštnostem v jednotlivých dětských věkových skupinách.

Účelem práce je objektivizovat naše data a jejich význam do klinické praxe, sdělit naše zkušenosti s léčbou pediatrických pacientů, nikoliv vytvořit všeobecný přehled nebo doporučený postup problematiky klostridiové kolitidy.

MATERIÁL A METODY

Materiál a subjekty

Představujeme retrospektivní shrnutí pediatrických pacientů hospitalizovaných za pětileté období, v letech 2013–2017, na Klinice dětských infekčních nemocí (KDIN) ve FN Brno s diagnózou klostridiová kolitida. Zařízení provozuje ambulantní a lůžkovou část zahrnující jednotku intenzivní péče a 2 standardní oddělení (s celkovým počtem 60 lůžek) pro dětské pacienty do dovršení 19. roku věku s různým spektrem pediatrických diagnóz. Od každého pacienta byl vyšetřen minimálně jeden vzorek stolice v ambulantním úseku Pracoviště dětské medicíny FN Brno nebo za hospitalizace na Klinice dětských infekčních nemocí či jiné klinice. Podmínkou zahrnutí pacienta je hospitalizace na KDIN. Kromě KDIN jsou pacienti v určitých případech s klostridiovou kolitidou izolováni i na Dětské onkologické klinice, v souboru nebyli zařazeni.

Inkluzivní a exkluzivní kritéria

Zahrnutá skupina pacientů byla definována přítomností průjemových stolic nebo změnou charakteru a počtu stolic (přítomnost klinických symptomů) a pozitivního výsledku stolice na toxin/toxigenní kmen (imunochromatograficky toxin +/PCR gen pro toxin +). Definice těžké formy klostridiové kolitidy byla použita z národního doporučeného postupu pro klostridiovou kolitidu, a to podle tabulky „Příznaky svědčící pro těžký průběh klostridiové kolitidy“ [3]. Komunitně získaná klostridiová kolitida byla určena absencí hospitalizace v předchozích 3 měsících a doba hospitalizace netrvala déle než 48 hodin v čase odběru stolice. Klostridiová kolitida spojená se zdravotní péčí byla definována historií hospitalizace (méně než 3 měsíce) a/nebo dobou hospitalizace trvající déle než 48 hodin v čase odběru stolice. Rekurence byla definována jako více než jedna ataka klostridiové kolitidy. Pro praktičnost není rozlišován relaps od reinfekce.

Sběr dat

Data pacienta zahrnující věk, pohlaví, délku hospitalizace, rizikové faktory (malignity, hematologické poruchy, stavy imunosuprese, nespecifické střevní záněty – IBD nebo další gastrointestinální poruchy včetně poruchy motility, předchozí antibiotická expozice do 12 týdnů od odběru stolice; orgánové transplantace nejsou zahrnuty) a detaily terapie. Laboratorní data zahrnující výsledky krve (leukocytóza, posun doleva, C-reaktivní protein, kreatinin, albumin) a mikrobiologické vyšetřování sto-

lice na alternativní střevní patogeny byly zaznamenávány. Informace byly získávány ze zdravotních záznamů databáze FN Brno. Informace o souboru pacientů jsou aktuální k 15. 8. 2018. Od začátku roku 2018 k tomuto datu se žádný pacient ze zahrnutého souboru s diagnózou klostridiová kolitida na KDIN nebo jiném pracovišti dětské medicíny FN Brno s další atakou neobjevil.

Detekce, identifikace *C. difficile*

Vzorek stolice byl po odběru uchováván při teplotě 4 °C a transportován ve sterilním kontejneru. Analýza stolice na *C. difficile* byla provedena do 24 hodin od odběru vzorku. Diagnóza klostridiové kolitidy je založena na dvoustupňovém algoritmu. Každý fekální vzorek byl testován imunochromatografickou metodou na přítomnost glutamát-dehydrogenázy a toxinu A, B (Techlab C. diff quick chek complete, Abbott, Spojené státy americké). Vzorky stolice, které se ukázaly jako glutamát-dehydrogenáza negativní a toxin A/B-negativní, byly hodnoceny jako negativní. Stolic, které byly glutamát-dehydrogenáza pozitivní a toxin A/B-pozitivní, byly hodnoceny jako pozitivní – „klostridiová kolitida“. Vzorky stolice s výsledkem glutamát-dehydrogenáza pozitivní, ale toxin A/B-negativní byly potvrzovány metodou PCR (GeneXpert *Clostridium difficile*, Cepheid, Spojené státy americké) na přítomnost genu pro toxin B, binární toxin a delece *tcdC* v nukleotidu 117. Glutamát-dehydrogenáza

Tabulka 1. Demografické, klinické a laboratorní charakteristiky pacientů s klostridiovou kolitidou, 2013–2017

Table 1. Demographic, clinical, and laboratory characteristics of patients with *Clostridium difficile* infection, 2013–2017

Výsledky	Soubor pacientů (n = 35)
Mediánový věk (rozptyl) v letech	10,3 (1–17,5)
ženy (%)	19 (55,6)
muži (%)	16 (44,4)
Doba hospitalizace – průměr (rozptyl) ve dnech	8,2 (1–22)
tělesná teplota nad 38,5 °C (n)	13
zvracení (n)	2
krev ve stolici (n)	13
hlen ve stolici (n)	14
Ústup průjmu po nasazení antibiotik – medián ve dnech	2,5
Základní laboratoř	
Leukocytóza	8
Posun doleva (tyčky >4 %)	3 ^a
CRP v mg/l (max. a min. hodnota)	35,4 (1–287,5)
Kreatinin >50 % na obvyklou hodnotu	2 ^b
Hypoalbuminémie (g/l)	15 ^c
GDH ^a +/toxin A,B+	22
GDH+/PCR ^a gen B+	12
GDH+/PCR gen B, BT ^d	1

^amikroskopický obraz leukocytů proveden u 9 dětí, ^bodebráno u 34 dětí, ^codebráno u 27 dětí, ^dglutamát-dehydrogenáza, ^epolymérazová řetězová reakce, ^fbinární toxin

^awhite blood cell microscopy performed in nine children, ^bcollected from 34 children, ^ccollected from 27 children, ^dglutamate dehydrogenase, ^epolymerase chain reaction, ^fbinary toxin

pozitivní a PCR gen pro toxin B pozitivní vzorky byly interpretovány jako „suspektní klostridiová kolitida“ (toxigenní kmen *C. difficile*) [3], pacienti s tímto výsledkem jsou zahrnuti v souboru klostridiových kolitid. U jednoho pacienta splňujícího kritéria pro závažnou formu klostridiové kolitidy se pokus o kultivaci a následnou typizaci kmene *C. difficile* nezdařil, jinak kultivace a typizace stolice nebyla prováděna. Každý fekální vzorek byl vyšetřován kultivačně na obligátní střevní patogeny a kromě 7 pacientů s imunochromatografickým testem na detekci rotaviru, noroviru a adenoviru (Immunoquick NoRotAdeno, Biosynex, Francie). Vzorky byly zpracovány v akreditované laboratoři Oddělení klinické mikrobiologie, FN Brno.

Etické schválení

Rodiče pacienta nebo zákonný zástupce podepsali doporučený souhlas FN BRNO, kde mimo jiné souhlasí s odběrem stolice: „Záznam o souhlasu s poskytováním informací o zdravotním stavu“.

VÝSLEDKY

Demografická data, klinické a laboratorní charakteristiky jsou uvedeny v tabulce 1. Do souboru je zahrnuto 35 pacientů s mediánovým věkem 10,3 let (1–17,5 let). Počet případů v jednotlivých letech, 2013–2017, je zřehledněn v grafu 1. Věková distribuce pacientů je zobrazena v grafu 2. U jednoho pacienta nebyl odhalen žádný rizikový faktor, 41,6 % případů tvořili pacienti s onkologickou diagnózou a nespecifickými střevními záněty (IBD), ve 2,5 % se syndromem krátkého střeva. Zahrnuté děti s onkologickou diagnózou byly ve 3 z 8 případů ve febrilní neutropenii. Rizikové faktory jsou zřehledněny v grafu 3, použitá antibiotika do 12 týdnů od propuknutí ataky klostridiové kolitidy v grafu 4. Skupina dětí do tří let se základními charakteristikami je zřehledněna v tabulce 2. Pro srovnání odlišné délky klinických potíží a délky hospitalizace celého vzorku pacientů a vybraných rizikových skupin je prezentováno v grafu 5.

V našem souboru pacientů byl podán ve více než 50 % případů metronidazol s dobrým efektem a krátkou re-

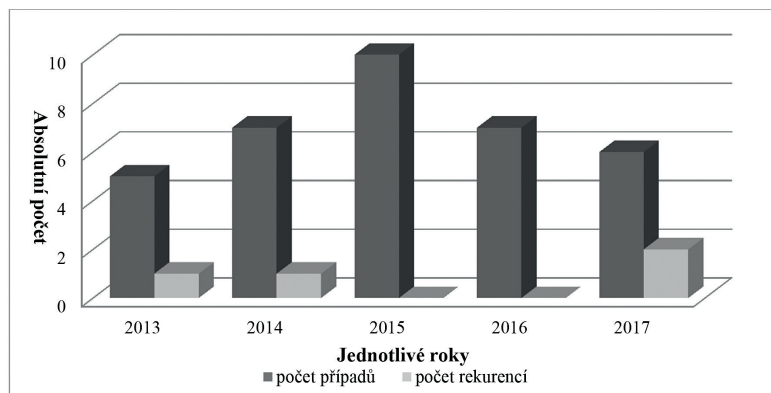
zolucí průměrně (tab. 3). Selhání léčby bylo zaznamenáno u 3 rizikových pacientů (2krát Hirschprungova nemoc, 1krát Crohnova choroba na imunosupresivní terapii), ti byly ve dvou případech dále léčeny fidaxomicinem (FDX), v jednom byla nutná chirurgická intervence, pacient byl dále doléčen FDX. U ostatních léčebných režimů nebylo selhání primárně nastavené terapie zaznamenáno.

Všichni pacienti zařazení do souboru byli kultivačně negativní na obligátní střevní bakteriální patogeny. Z 27 dětí, jejichž stolice byla testována virologicky, byl u jednoho dítěte prokázán ve stolici norovirus. Vzhledem k páté atace klostridiové kolitidy (insuficientní data z předchozích atak klostridiové kolitidy včetně vyšetřování na alternativní patogeny, pacient nebyl v předchozí době nikdy léčen na Pracovišti dětské medicíny FN Brno) byla indikována po terapii vankomycinem (VAN) fekální transplantace. V 86 % případů se jednalo o klostridiovou kolitidu spojenou se zdravotní péčí. Více atak kolitidy bylo zaznamenáno u čtyř dětí, ve dvou případech se jednalo o onkologické pacienty (z toho jeden ve febrilní neutropenii), jeden pacient patřil do skupiny IBD, jeden pacient s Hirschprungovou chorobou zrelaboval po předchozí nedoléčené atace klostridiové kolitidy.

Podle kritérií závažnosti klostridiové kolitidy bylo identifikováno 15 závažných kolitid z 35 pacientů. Čtyři pacienti měli onkologickou diagnózu (z toho dva ve febrilní neutropenii), dva syndrom krátkého střeva na podkladě Hirschprungovy choroby, jeden měl zavedenou perkutánní endoskopickou gastrostomii, jeden se léčil s IBD, zbylých šest pacientů patřilo mezi primárně zdravé jedince a dostali klostridiovou kolitidu kvůli antibiotické terapii při infektu. Medián ústupu průměru po nasazení léčby byl 2,5 dne. Podrobnější údaje o léčbě jsou uvedeny v tabulce 4.

DISKUSE

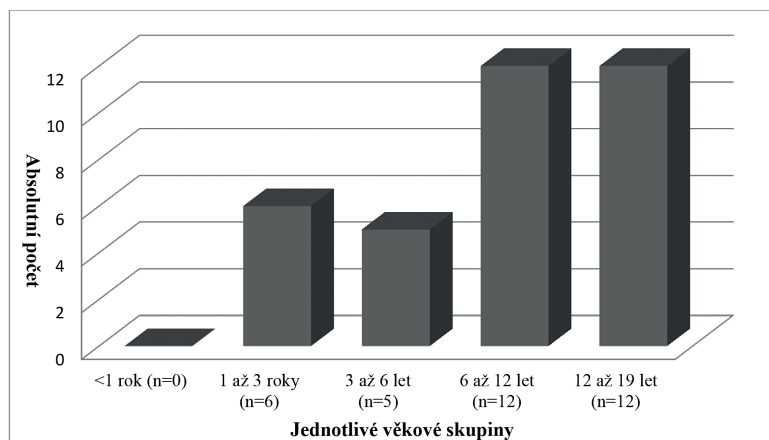
Klostridiová kolitida představuje v pediatrii spíše okrajovou záležitost. V případě trendu incidence a prevalence klostridiových kolitid u pediatrických pacientů některé studie, zejména z USA a Itálie [4–6], zdůrazňují vzestupný trend, naopak recentní práce z Nizozemí a Spojeného království rozporují tyto údaje. U souboru pacientů z KDIN tento trend rovněž nepozorujeme. Odlišné výsledky mohou být dány jednak fenoménem hypervirulentních kmenů, zvýšeným povědomím o nemoci a jejího vyšetřování v dětské populaci, zlepšenou diagnostikou [7–9]. Pediatrická populace se v ČR v roce 2017 podílela asi 2 % na celkovém počtu hlášených případů klostridiové kolitidy (údaj získán ze SZÚ), z toho pracoviště KDIN pouze 0,13 % (tedy necelých 6,5 % v pediatrické populaci). Podobný údaj je prezentován v nedávno zveřejněném holandském epidemiologickém přehledu, kde se pohybuje kolem 2,8 % [7]. Vzhledem k nejednotnosti indikace vyšetřování stolic u nejmladších věkových populací, dostupnosti vyšetření



Graf 1. Počet případů a rekurencí klostridiové kolitidy v jednotlivých letech. Rekurence je definována jako opětovné propuknutí nemoci. Není rozlišován relaps od reinfekce.

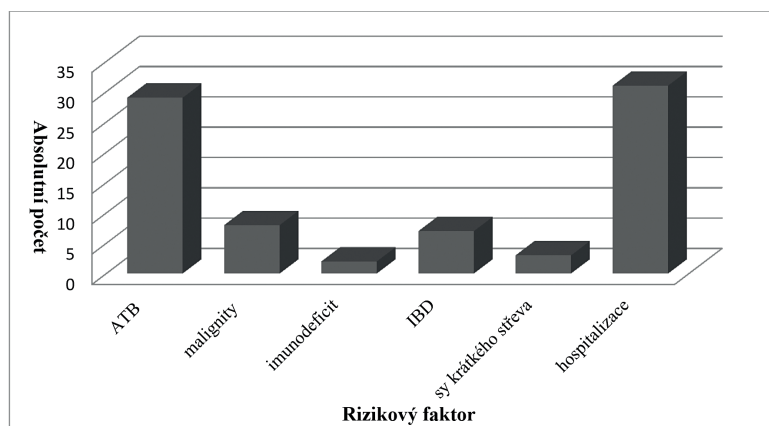
Figure 1. Cases and recurrences of *Clostridium difficile* infection by year. A recurrence is defined as the return of the disease. No distinction is made between recurrence and re-infection.

PŮVODNÍ PRÁCE



Graf 2. Věková distribuce hospitalizovaných pacientů s klostridiovou kolitidou

Figure 2. Age distribution of hospitalized patients with *Clostridium difficile* infection



Graf 3. Rizikové faktory (absolutní počet) u hospitalizovaných pacientů na KDIN 2013–2017
Vysvětlivky: ATB – antibiotická terapie do 12 týdnů od propuknutí ataky kolitidy, IBD – ne-specifické střevní záněty

Figure 3. Risk factors (absolute number) in patients hospitalized at the Clinic for Paediatric Infectious Diseases in 2013–2017

Note: ATB – antibiotic treatment within 12 weeks after the onset of *Clostridium difficile* infection, IBD – inflammatory bowel disease

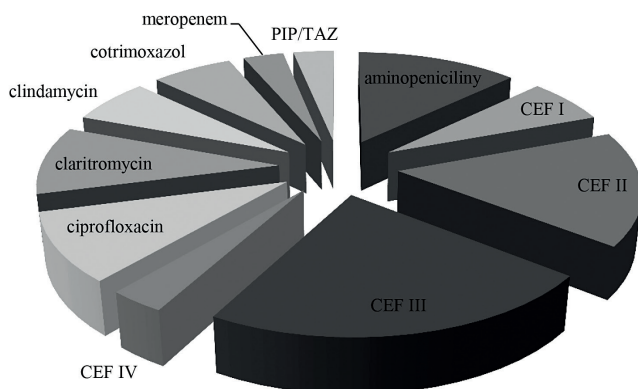
a často limitních znalostí pediatriů se snahou o zjištění etiologie střevních potíží je tento počet orientační a spíše nadhodnocený. V případě doporučení vyšetřování na klostridiovou kolitidu má nejprůnosnější přístup Americká pediatriká společnost, která zohledňuje zvýšené asymptomatické nosičství *C. difficile* u mladší populace dětí, ale za určitých okolností přiznává i možnost propuknutí kolitidy. Do roku věku doporučuje vyšetřování jen v případě specifických poruch motility střeva, např. Hirschprungova choroba, nebo v případě kontaktu s nákazou, u dětí do 3 let pak zdůrazňuje vyšetřovat i alternativní patogeny [10]. Na KDIN cíleně testujeme *C. difficile* v případě přítomnosti rizikového faktoru (viz níže) a kauzální léčbu nasazujeme individuálně, alternativní patogeny testujeme vždy.

Mediánový věk dětských pacientů je v zahraničních studiích udáván v rozmezí 1,5–10 roků [7–9]. Prezentovaný soubor pacientů se pohybuje kolem 10 let, kde jsme ve shodě s nizozemskou prací, naopak např. britská pu-

blikace udává 1,5 roku [7]. V případě věkového rozložení lze v našem souboru předpokládat dominanci věku 6–19 let, které dohromady tvoří téměř 70 % (n = 24). Rozporné výsledky jednotlivých pramenů jsou dány jednak malými soubory zahrnutých pacientů a rovněž například regionálním přístupem k vyšetřování bakterie u nejmladších věkových skupin, tedy odlišnostmi v metodice studie.

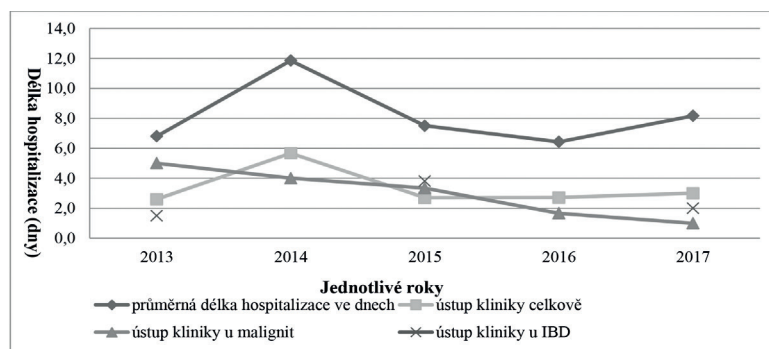
V době porodu je lidské střevo sterilní. Ve starších pramenech je udáváno, že v novorozeneckém věku (do 28 dnů věku) se nosičství toxigenním kmenem *C. difficile* pohybuje s velkou variabilitou, průměrně kolem 37 % [11, 12]. V novějších přehledech navzdory senzitivnějšímu diagnostickému algoritmu se hodnoty pohybují v rámci jednotek procent [12, 13]. Zásadním faktorem, který nízkou hodnotu nosičství u novorozenců mohl ovlivnit, je zřejmě zvýšený hygienický standard v poporodní péči i v domácnostech. Mezi prvním až 12 měsícem klesá nosičství na 10–25 %. Pro zmíněné věkové období je typická přechodná asymptomatická kolonizace toxigenními kmeny *C. difficile* [11]. Tento fakt je dán nižší schopností mikrobiomu potlačovat růst *C. difficile* a jeho proměnlivostí [11, 14], která je do velké míry ovlivněna stravovacími návyky (kojení versus umělé mléčné formule, zavádění příkrmů) a způsobem porodu [11, 15]. Ve druhém roce věku klesá kolonizace k 5–10 %, do 3 let se stabilizuje kolem 3 % [11, 16, 17, 18]. Navzdory vysokému procentu kolonizace toxigenními kmeny, nejmladší věkové skupiny zůstávají poměrně rezistentní vůči infekci *C. difficile* [5, 11]. Mechanismus rezistence je nejasný. Nízká morbidita je často vysvětlována ochrannými protilátkami v mateřském

mléce, progresivním vzestupem IgG protilátek v séru proti toxinu A, B od narození do 24 měsíců [5, 11]. Klíčové jsou hypotézy o absenci buněčných komponent pro internalizaci toxinů či nedostatek receptorů pro toxin A na střevním epitelu. Tyto informace byly demonstrovány na zvířecích modelech králíků a křečků v devadesátých letech [19, 20]. Novější studie ovšem tyto poznatky zpochybňuje a přiznává existenci cytopatického efektu na střevní sliznici novorozenců selat po internalizaci toxinu [21]. Toto tvrzení bylo podpořeno i jednotlivými kazuistikami klostridiové kolitidy u novorozenců [22]. Je tedy jasné, že ačkoliv nemocnost klostridiové kolitidy u nejmladší dětské populace je minimální, nelze přímo potvrdit nebo vyvrátit její existenci. V našem souboru hospitalizovaných pacientů chybí věková skupina mladší 1 roku, skupina batolat (1–3 roky) se podílí 17 % (n = 6). Kromě již výše zmíněných komplikací s diagnostikou může být malý počet pacientů dán absencí nespecifických střevních zánětů a nízkou incidencí onkologických



Graf 4. Antibiotika u hospitalizovaných pacientů podána do 12 týdnů před atakou klostridiovou kolitidou
Vysvětlivky: CEF – cefalosporiny, PIP/TAZ – piperacilin/tazobaktam

Figure 4. Antibiotics in hospitalized patients within 12 weeks before the onset of *Clostridium difficile* infection
Note: CEF – cephalosporins, PIP/TAZ – piperacillin/tazobactam



Graf 5. Srovnání průměrné délky hospitalizace a průměrné délky ústupu kliniky po antibiotikách ve dnech u pacientů s klostridiovou kolitidou v jednotlivých letech
Pacienti s IBD (nespecifickými střevními záněty) v letech 2014 a 2016 nebyli na Klinice dětských infekčních nemocí s diagnózou klostridiová kolitida hospitalizováni.

Figure 5. The mean length of hospital stay and the mean time to resolution of symptoms after the treatment with antibiotics in patients with *Clostridium difficile* infection in days by year
No patient with inflammatory bowel disease and *Clostridium difficile* infection was hospitalized at the Department of Paediatric Infectious Diseases in 2014 and 2016.

Tabulka 2. Pacienti do tří let hospitalizováni pro klostridiovou kolitidu, 2013–2017

Table 2. The patients under 3years old hospitalized due to *Clostridium difficile* infection, 2013–2017

	Věk (roky)	Pohlaví	Doba hospitalizace ve dnech	RF pro klostridiovou kolitidu ^a	Antibiotika do 12 týdnů před atakou ^b	Léčba klostridiové kolitidy	Doba rezoluce průměrná (dny)
P1	2,0	M	22	MAS s PEG ^c	AMP/SUB ^d	MET + VAN ^e	21 ^c
P2	1,4	Ž	6	MAS ^f	cotrimoxazol	MET	1
P3	1,0	Ž	18	UPV ^g	claritromycin	MET	2
P4	2,1	M	4	Hirschprungova nemoc	cefotaxim	MET, FDX ^h	5
P5	1,1	Ž	8	autoimunitní neutropenie	cefuroxim, PIP/TAZ ⁱ	VAN	6
P6	1,5	Ž	13	-	cefotaxim	MET	1

^arizikový faktor pro vznik klostridiové kolitidy (vyjmenovány v sekci „Materiál a metodika“), antibiotika nejsou zahrnuta, ^bantibiotika jsou uvedena bez ohledu na rizikovost pro propuknutí klostridiové kolitidy, ^cimunodeficit (toho času neurčen) s malabsorpčním syndromem a zavedenou perkutánní endoskopickou gastrostomií, ^ddélka rezoluce řidkých stolic ovlivněna primární diagnózou a zvládnutím septického stavu, ^eampicilin/sulbaktam, ^fmetronidazol iv. + vankomycin per os, ^gmalabsorpční syndrom (na podkladě toho času nezjištěného střevního procesu), ^hstav po umělé plicní ventilaci pro refrakterní obstrukční bronchitidu (imobilita pacienta), ⁱmetronidazol pátý den vysazen, doléčen fidaxomicinem, piperacilin/tazobaktam

^a*Clostridium difficile* infection risk factors (listed in the Material and methods section), antibiotics are not included, ^bantibiotics are indicated regardless of *Clostridium difficile* infection risk level, ^cimmunodeficiency (as yet undiagnosed) with malabsorption syndrome and inserted percutaneous endoscopic gastrostomy tube, time to resolution of diarrhoea varies with primary diagnosis and sepsis control, ^dampicillin/sulbactam, ^eintravenous metronidazole + oral vancomycin, ^fmalabsorption syndrome (in the presence of as yet undetermined intestinal pathology), ^gpreviously on mechanical ventilation for refractory obstructive bronchitis (immobilised patient), ^hmetronidazole discontinued on day 5, switched to fidaxomicin, piperacillin/tazobactam

diagnóz v této věkové populaci, což jsou dvě hlavní rizikové skupiny pro klostridiovou kolitidu u hospitalizovaných dětí na našem pracovišti.

Faktory disponující k rozvoji klostridiové kolitidy jsou obecně shodné pro všechny věkové kategorie. Nízký počet kolitid v dětském věku je do velké míry ovlivněn „dobře fungujícím organismem“ dětí a absencí komorbidit. Věková predilekce v pediatrickém věku u klostridiové kolitidy nebyla zjištěna. V našem souboru převládají pacienti s onkologickou diagnózou a nespecifickými střevními záněty, kde dochází ke kumulaci více faktorů. Orgánové transplantace se kvůli centralizaci péče na našem pracovišti objevují sporadicky. Za zmínku stojí pacienti se syndromem krátkého střeva na podkladě Hirschprungovy choroby, jejichž průběhy klostridiové kolitidy bývají podle zahraniční literatury [23] i podle našich zkušeností komplikované a často vyžadují chirurgickou intervenci. Z užívaných antibiotik před atakou klostridiové kolitidy je v popředí cefotaxim. Cefalosporiny patří vzhledem k četnosti užívání v pediatrii k nejčastějším vyvolatelům klostridiové kolitidy u dětí [8]. Naopak po klindamycinu, ačkoliv je používán na KDIN běžně a v literatuře patří k nejrizikovějším antibiotikům [3], epizody kolitidy nevidáme. Pro rekurentní klostridiovou kolitidu Nicholson et al. identifikovali v pediatrii čtyři nejvýznamnější rizikové faktory: malignity, nedávný chirurgický výkon (do 60 dnů od ataky), antibiotická expozice (do 30 dnů od ataky), přítomnost perkutánní endoskopické gastrostomie [24].

C. difficile je historicky spojeno s nemocničním prostředím. Některé pediatrické

PŮVODNÍ PRÁCE

Tabulka 3. Terapie klostridiové kolitidy za hospitalizace, 2013–2017**Table 3.** In-hospital treatment of *Clostridium difficile* infection, 2013–2017

	MET ^a	VAN ^b	MET+VAN	FDX ^c	VAN+MET + FMT ^d	FDX + stomie
Počet použití	22	6	4	5 (2 po MET)	1	1 (po MET)
Medián ústupu kliniky	2,5	2,5	3	1 ^e	? ^f	1
Počet selhání	3 ^g	0	0	0	0	0

^ametronidazol, ^bvancomycin, ^cfidaxomicin, ^dfekální bakterioterapie, ^ev jednom případě pacient nedoléčen, viz pacient č. 3 v odkazu^h, ^fFMT horní cestou nebyla úspěšná, pacient obsah vyzvracel, ^g1. pacient: 16,3 roku, Crohnova choroba na imunosupresivech, změna léčby 6. den na fidaxomicin, 2. pacient: 2,1 roku, Morbus Hirschsprung, rozvoj klostridiové kolitidy po salmonelové sepsi, postupně rozvoj paralytického ileu, stav řešen chirurgicky + doléčen fidaxomicinem, 3. pacient: 4,5 roku, Morbus Hirschsprung, rozvoj klostridiové kolitidy při bronchopneumonii, změna léčby 3. den na fidaxomicin, pro respirační selhání překládá na oddělení anesteziologie a resuscitace, léčba pro klostridiovou kolitidu přerušena, 1 měsíc na extrakorporální membránové oxygenaci, za 2,5 měsíce recidiva kolitidy, léčen vancomycinem

^ametronidazole, ^bvancomycin, ^cfidaxomicin, ^dfaecal bacteriotherapy, ^etreatment failure, see patient 3 in point^h, ^fFMT by upper delivery failed due to vomiting, ^gpatient 1: 16.3 years, Crohn's disease, treated with immunosuppressants, switched to fidaxomicin on day 6, patient 2: 2.1 years, Morbus Hirschsprung, *Clostridium difficile* infection following Salmonella sepsis, progressive development of paralytic ileus, treated by surgery + fidaxomicin, patient 3: 4.5 years, Morbus Hirschsprung, *Clostridium difficile* infection during bronchopneumonia, switched to fidaxomicin on day 3, due to respiratory failure, transferred to PACU, treatment of *Clostridium difficile* infection discontinued, extracorporeal membrane oxygenation for 1 month, *Clostridium difficile* infection recurred 2.5 months later, treated with vancomycin

práce v poslední době zdůrazňují nárůst komunitně získaných infekcí. Obvykle se jedná o epidemiologické přehledy, které neberou v úvahu kliniku [25, 26]. Jiné studie dokonce zpochybňují spojení tradičních rizikových faktorů a komunitně získané klostridiové kolitidy [5, 27]. Pravděpodobně se jedná o chybně určené kolitidy, které mohly souviset se špatným diagnostickým algoritmem na klostridiovou kolitidu, nedostatečnou diagnostikou alternativních patogenů na daném pracovišti, insuficientními anamnestickými daty o pacientovi nebo odlišným nastavením kritéria „komunitně získaná klostridiová kolitida“. V našem souboru hospitalizovaných pacientů představuje pouze 14 % (5/35).

Léčba klostridiové kolitidy v pediatrické populaci je shodná s doporučenou terapií u dospělých. Obecně bývá preferována v dětské medicíně jako první volba metronidazol i přes jeho nižší účinnost a pomalejší nástup účinku [3, 28]. U mírných průběhů klostridiové kolitidy bývá obvykle dostačující, u závažnějších průběhů, rizikových pacientů a rekurentních případů kolitidy selhává a je doporučeno zvolit alternativní léčbu. Lékem první volby je orální vancomycin [2]. Podávání fidaxomicinu je u dětských pacientů off-label terapie. Druhá fáze klinické studie, která probíhala na souboru 38 dětských pacientů (11 měsíců až 17 let) s onkologickou diagnózou nebo gastrointestinální poruchou, prokázala dobrou toleranci a farmakokinetický profil jako u dospělých. Bylo použito dávkování 16 mg/kg na dávku po 12 hod do maximální dávky 200 mg [29]. V našem souboru pacientů byl předepsán ve více než polovině případů metronidazol vesměs s dobrým efektem a krátkou rezolucí průjmů. Zahraniční

literatura podporuje u dětských pacientů jeho podávání při mírném průběhu [9, 28]. Z naší zkušenosti v případech, kde nechceme nebo nemůžeme riskovat selhání léčby (u vysoce rizikových skupin), volíme již při první atace fidaxomicin s výborným efektem. V zahraniční literatuře je zvažován u rizikových dětských pacientů spíše jako rezervní u závažných a rekurentních klostridiových kolitid [28]. Rekurence jsme zaznamenali v 11,4 %, po naší léčbě v jednom případě (3 %). V zahraničních pramenech se pohybuje kolem 20 % [30], tedy obdobně jako u dospělých [3, 31]. Nízký počet rekurencí v našem případě může být ovlivněn jednak celkově malým vzorkem pacientů (statistická chyba), jednak nezahrnutím ambulantních pacientů, kteří zejména na gastroenterologických a onkologických ambulancích jsou při mírném průběhu odesíláni do domácí léčby s metronidazolem. Závažné průběhy klostridiové kolitidy jsou u dětí méně běžné než u dospělých, ale jsou popisovány [2]. Kritéria pro hodnocení těžké kolitidy jsou součástí oficiálních doporučení primárně pro dospělou populaci [1–3]. Řada zahraničních prací se proto snaží o extrapolaci na dětské pacienty, nebo vytvořily vlastní hodnotící postup s různým efektem [1, 3, 7, 8, 13, 32]. Podle „českých“ kritérií [3] vycházejících z evropských doporučení [1] jsme určili 15 pacientů, kteří byli vyhodnoceni jako „závažné klostridiové kolitidy“. Tíže průběhu kolitidy neodpovídala danému zařazení, ačkoliv se v řadě případů jednalo o primárně závažné nemocné pacienty, což např. kritizují i britští autoři [8]. Mediánová doba rezoluce průjmu byla v porovnání celým souborem pacientů totožná. Skupina vesměs dobře odpovídala na léčbu metronidazolem.

Tabulka 4. Terapie závažných klostridiových kolitid za hospitalizace, 2013–2017**Table 4.** In-hospital treatment of severe *Clostridium difficile* infection, 2013–2017

	MET ^a	VAN ^b	MET+VAN	FDX ^c	FDX + stomie
Počet použití	11	2	2	1	1
Medián ústupu kliniky	2,5	3	3	? ^e	1
Počet selhání	2 ^f	0	0	1	0

^ametronidazol, ^bvancomycin, ^cfidaxomicin, ^dfekální bakterioterapie, ^epacient nedoléčen, viz pacient č. 2 v odkazu^h, ^f1. pacient: 2,1 roku, Morbus Hirschsprung, rozvoj klostridiové kolitidy po salmonelové sepsi, postupně rozvoj paralytického ileu, stav řešen chirurgicky + doléčen fidaxomicinem, 2. pacient: 4,5 roku, Morbus Hirschsprung, rozvoj klostridiové kolitidy při bronchopneumonii, změna léčby 3. den na fidaxomicin, pro respirační selhání překládá na oddělení anesteziologie a resuscitace, léčba pro klostridiovou kolitidu přerušena, 1 měsíc na extrakorporální membránové oxygenaci, za 2,5 měsíce recidiva kolitidy, léčen vancomycinem

^ametronidazole, ^bvancomycin, ^cfidaxomicin, ^dfaecal bacteriotherapy, ^etreatment discontinued, see patient 2 in point^h, ^fpatient 1: 2.1 years, Morbus Hirschsprung, *Clostridium difficile* infection following Salmonella sepsis, progressive development of paralytic ileus, treated by surgery + fidaxomicin, patient 2: 4.5 years, Morbus Hirschsprung, *Clostridium difficile* infection during bronchopneumonia, switched to fidaxomicin on day 3, due to respiratory failure transferred to PACU, treatment of *Clostridium difficile* infection discontinued, extracorporeal membrane oxygenation for 1 month, *Clostridium difficile* infection recurred 2.5 later, treated with vancomycin

Ačkoliv námi zvolený hodnotící systém má tendenci nadhodnocovat, na druhou stranu identifikoval všechny pacienty s komplikovaným průběhem.

Studie má řadu limitací. Mezi zásadní omezení patří malý vzorek pacientů, které přináší riziko statistické chyby. Dále zahrnutí pouze našeho pracoviště, ačkoliv představuje majoritu pacientů s diagnózou klostridiová kolitida na Pracovišti dětské medicíny FN Brno. Identifikace virových patogenů byla omezena jen na tři viry. Střevní parazité nebyli určováni pro předpokládanou nízkou incidenci v dané populaci. Autoři si uvědomují, že vyloučení jiné příčiny v rámci této práce u pacienta se „suspektní klostridiovou kolitidou“ je značně kontroverzní i vzhledem k omezenosti použitých mikrobiologických vyšetření a ne zcela vyhovující diagnostice klostridiové kolitidy. V rámci praxe jsou lékaři často nuceni zahájit cílenou terapii na klostridiovou kolitidu po zvážení rizikových faktorů a celkového zdravotního stavu pacienta. Další připomínky jsou již zmíněny v rámci jednotlivých odstavců.

ZÁVĚR

Průběh klostridiové kolitidy je obecně v pediatrické populaci mírný. Klostridiová kolitida bez rizikového faktoru je vzácná. V našem souboru převládala klostridiová kolitida spojená se zdravotní péčí. Pediatričtí pacienti dobře odpovídají na léčbu metronidazolem. Fidaxomicin byl úspěšně tolerován ve všech případech. U vysoce rizikových skupin (imunoprese, syndrom krátkého střeva, nespecifické střevní záněty) preferujeme primárně léčbu fidaxomicinem.

LITERATURA

- Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect Dis*, 2014;20 Suppl 2:1–26.
- McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, et al. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis*, 2018;66(7):e1–48.
- Beneš J, Husa P, Nyč O, et al. Diagnosis and therapy of *Clostridium difficile* infection: Czech national guidelines. *Klin. Mikrobiol. Inf. Lek*, 2014;20:56–66.
- Borali E, Ortisi G, Moretti C, et al. Community-acquired *Clostridium difficile* infection in children: A retrospective study. *J Ital Soc Gastroenterol Ital*, 2015;47(10):842–846.
- Antonara S, Leber AL. Diagnosis of *Clostridium difficile* Infections in Children. *J Clin Microbiol*, 2016;54(6):1425–1433.
- Sammons JS, Toltzis P. Recent trends in the epidemiology and treatment of *C. difficile* infection in children. *Curr Opin Pediatr*, 2013;25(1):116–121.
- van Dorp SM, Smajlović E, Knetsch CW, et al. Clinical and Microbiological Characteristics of *Clostridium difficile* Infection Among Hospitalized Children in the Netherlands. *Clin Infect Dis*, 2017;64(2):192–198.
- Pai S, Aliyu SH, Enoch DA, et al. Five Years Experience of *Clostridium difficile* Infection in Children at a UK Tertiary Hospital: Proposed Criteria for Diagnosis and Management. *PLOS ONE*, 2012;7(12):e51728.
- McFarland LV, Ozen M, Dinleyici EC, et al. Comparison of pediatric and adult antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infections. *World J Gastroenterol*, 2016;22(11):3078–3104.
- Schutze GE, Willoughby RE. *Clostridium difficile* Infection in Infants and Children. *Pediatrics*, 2013;131(1):196–200.
- Jangi S, Lamont JT. Asymptomatic colonization by *Clostridium difficile* in infants: implications for disease in later life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2010;51(1):2–7.
- Rousseau C, Lemée L, Le Monnier A, et al. Prevalence and diversity of *Clostridium difficile* strains in infants. *J Med Microbiol*, 2011;60(Pt 8):1112–1118.
- Sathyendran V, McAuliffe GN, Swager T, et al. *Clostridium difficile* as a cause of healthcare-associated diarrhoea among children in Auckland, New Zealand: clinical and molecular epidemiology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014 Oct;33(10):1741–1747.
- Adlerberth I, Huang H, Lindberg E, et al. Toxin-producing *Clostridium difficile* strains as long-term gut colonizers in healthy infants. *J Clin Microbiol*, 2014;52(1):173–179.
- Penders J, Vink C, Driessen C, et al. Quantification of *Bifidobacterium* spp., *Escherichia coli* and *Clostridium difficile* in faecal samples of breast-fed and formula-fed infants by real-time PCR. *FEMS Microbiol Lett*, 2005;243(1):141–147.
- Nicholson MR, Thomsen IP, Edwards KM. Controversies Surrounding *Clostridium difficile* Infection in Infants and Young Children. *Child Basel Switz*, 2014;1(1):40–47.
- Lees EA, Miyajima F, Pirmohamed M, et al. The role of *Clostridium difficile* in the paediatric and neonatal gut – a narrative review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2016;35(7):1047–1057.
- Schäffler H, Breitrück A. *Clostridium difficile* – From Colonization to Infection. *Front Microbiol*, 2018;9:646.
- Eglow R, Pothoulakis C, Itzkowitz S, et al. Diminished *Clostridium difficile* toxin A sensitivity in newborn rabbit ileum is associated with decreased toxin A receptor. *J Clin Invest*, 1992;90(3):822–829.
- Rolfe RD. Binding kinetics of *Clostridium difficile* toxins A and B to intestinal brush border membranes from infant and adult hamsters. *Infect Immun*, 1991;59(4):1223–1230.
- Keel MK, Songer JG. The distribution and density of *Clostridium difficile* toxin receptors on the intestinal mucosa of neonatal pigs. *Vet Pathol*, 2007;44(6):814–822.
- Parsons SJ, Fenton E, Dargaville P. *Clostridium difficile* associated severe enterocolitis: a feature of Hirschsprung's disease in a neonate presenting late. *J Paediatr Child Health*, 2005;41(12):689–690.
- Mc Laughlin D, Friedmacher F, Puri P. The impact of *Clostridium difficile* on paediatric surgical practice: a systematic review. *Pediatr Surg Int*, 2014;30(8):853–859.
- Nicholson MR, Thomsen IP, Slaughter JC, et al. Novel risk factors for recurrent *Clostridium difficile* infection in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2015;60(1):18–22.
- Wendt JM, Cohen JA, Mu Y, et al. *Clostridium difficile* infection among children across diverse US geographic locations. *Pediatrics*, 2014;133(4):651–658.
- Sammons JS, Toltzis P. Pitfalls in Diagnosis of Pediatric *Clostridium difficile* Infection. *Infect Dis Clin North Am*, 2015;29(3):465–476.
- Kocielek LK, Patel SJ, Zheng X, et al. Clinical and Microbiologic Assessment of Cases of Pediatric Community-associated *Clostridium difficile* Infection Reveals Opportunities for Improved Testing Decisions. *Pediatr Infect Dis J*, 2016;35(2):157–161.
- D'Ostroph AR, So T-Y. Treatment of pediatric *Clostridium difficile* infection: a review on treatment efficacy and economic value. *Infect Drug Resist*, 2017;10:365–375.
- O'Gorman MA, Michaels MG, Kaplan SL, et al. Safety and Pharmacokinetic Study of Fidaxomicin in Children With *Clostridium difficile*-Associated Diarrhea: A Phase 2a Multicenter Clinical Trial. *J Pediatr Infect Dis*, 2017;31.

PŮVODNÍ PRÁCE

30. Nicholson MR, Crews JD, Starke JR, et al. Recurrent Clostridium difficile Infection in Children: Patient Risk Factors and Markers of Intestinal Inflammation. *Pediatr Infect Dis J*, 2017;36(4):379–383.
31. McFarland LV, Elmer GW, Surawicz CM. Breaking the cycle: treatment strategies for 163 cases of recurrent Clostridium difficile disease. *Am J Gastroenterol*, 2002;97(7):1769–1775.
32. Jacobson SM, Slain D. Evaluation of a bedside scoring system for predicting clinical cure and recurrence of Clostridium difficile infections. *Am J Health-Syst Pharm*, 2015;72(21):1871–1875.

Konflikt zájmů

Autoři prohlašují, že nemají žádný konflikt zájmu.

Poděkování

Děkujeme MUDr. Michaelu Špačkové z Oddělení epidemiologie infekčních nemocí, CEM, Státní zdravotní ústav a PhDr. Martinu Gašpárkovi z Národního referenčního

centra pro analýzu epidemiologických dat, Oddělení biostatistiky, Státní zdravotní ústav za poskytnutí údajů celostátní nemocnosti dětské populace na klostridiovou kolitidu v roce 2017.

Do redakce došlo dne 10. 9. 2018.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Václav Musil

Fakultní nemocnice Brno
Jihlavská 20

625 00 Brno

e-mail: Musil.Vaclav@fnbrno.cz

Očkejte vakcínou **TRUMENBA®** a pomáhejte chránit dospívající a mladé dospělé před meningokokovým onemocněním séro skupiny B¹

Protože sdílejí

TRUMENBA® je vakcína proti meningokokům skupiny B, která:

- Cílí na obě podčeledi proteinu vázacího faktor H (fHbp), A i B¹
- V klinických hodnoceních prokázala imunogenitu proti 4 primárním a 10 dalším kmenům meningokoků skupiny B, ze kterých každý vytváří variantu fHbp, která není identická s těmi obsaženými v očkovací látce^{1,2}
- Byla v klinických hodnoceních zkoumána při podání souběžně s^{1,3}

HPV4*

MenACWY

Tdap

Tdap-IPV
- Byla hodnocena v 11 klinických studiích, které zahrnuly více než 15 000 jedinců ve věku 10 let a starších^{1,*}

TRUMENBA® je navržena tak, aby poskytovala široké pokrytí proti meningokokům skupiny B u dospívajících a mladých dospělých^{1,2}

Zkrácená informace o přípravku Trumenba

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování.

Zkrácená informace o přípravku: Trumenba injekční suspenze v předplněné injekční stříkačce. Vakcína proti meningokokům skupiny B (rekombinantní, adsorbovaná). **Složení:** 1 dávka (0,5 ml) obsahuje: Neisseria meningitidis B proteinum (fHbp) subfamília A 60 µg, Neisseria meningitidis B proteinum (fHbp) subfamília B 60 µg a další pomocné látky. Antigeny adsorbovány na fosforečnan hlinitý (0,25 miligramů hlinitku na dávku). **Indikace:** Aktivní imunizace osob od 10 let a starších proti invazivnímu meningokokovému onemocnění způsobenému kmeny bakterie Neisseria meningitidis sérotypu B. Aktivní imunizace osob od 10 let a starších proti invazivnímu meningokokovému onemocnění způsobenému kmeny bakterie Neisseria meningitidis sérotypu B. **Dávkování a způsob podání:** Primární série: Dvě dávky (jedna 0,5 ml) podané v intervalu 6 měsíců. Tři dávky: 2 dávky (jedna 0,5 ml) podané s odstupem nejméně 1 měsíce, po nichž následuje třetí dávka nejméně 4 měsíce po druhé dávce. Posilovací dávka: Je třeba zvážit podání posilovací dávky po kterémkoliv režimu dávkování u jedinců s přetrvávajícím rizikem invazivního meningokokového onemocnění. Jiná pediatrická populace: Bezpečnost a účinnost u dětí mladších 10 let nebyla stanovena. Způsob podání: Intramuskulární injekce. Upřednostňovaným místem injekce je deltový sval v horní části paže. Nejsou k dispozici žádné údaje týkající se zaměnitelnosti přípravku Trumenba s jinými vakcínami proti meningokokům skupiny B při dokončení vakcinační série. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivé látky nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:** Vakcinace má být odložena u jedinců s akutním závažným febrilním onemocněním. Trumenba se nemá podávat jedincům s trombocytopenií nebo s koagulačními poruchami, které by představovaly kontraindikaci intramuskulární injekce. Stejně jako u jiných vakcín podávaných injekčně může dojít k případům synkopy. Po aplikaci vakcíny Trumenba, stejně jako u jiných vakcín, nemusí dojít k vyvolání protektivní imunitní odpovědi u všech očkovanych osob. U osob s familiárními komplementovými deficiencemi (např. deficiencie C5 nebo C3) a osob dostávajících léčbu inhibující terminální aktivaci komplementu (např. ekulizumab) hrozí zvýšené riziko invazivního onemocnění způsobeného Neisseria meningitidis séro skupiny B, a to i když si vytvoří protilátky po očkování vakcínou Trumenba.* Imunokompromitovaní jedinci mohou mít sníženou imunitní odpověď. Data o použití vakcíny Trumenba u osob starších 65 let nejsou k dispozici. **Interakce:** Vakcínu Trumenba lze podávat souběžně s jakoukoliv z následujících vakcín: vakcína obsahující tetanický toxoid, redukovaný difterický toxoid, acelulární pertusovou složku a inaktivovaný poliovirus (Tdap/IPV), kvadrivalentní vakcína proti humánnímu papilomaviru (HPV4), konjugovaná vakcína proti meningokokům séro skupin A,C,Y,W (MenACWY) a adsorbovaná vakcína obsahující tetanický toxoid, redukovaný difterický toxoid a acelulární pertusovou složku (Tdap). **Fertilita, těhotenství a kojení:** Údaje o podávání vakcíny Trumenba v těhotenství nejsou k dispozici. Není známo, zda se vakcína Trumenba vylučuje do lidského mateřského mléka, během kojení se smí podávat, pouze pokud možné výhody převažují nad potenciálními riziky. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté: Bolest hlavy, průjem, nauzea, myalgie, artralgie, zimnice, únava, zarudnutí, zduření a bolest v místě injekce. **Předávkování:** V případě předávkování se doporučuje sledovat životní funkce a zavést případnou symptomatickou léčbu. **Uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2 °C - 8 °C). Injekční stříkačky je nutné uchovávat v chladničce horizontálně, aby se minimalizovala doba opětovné dispergace. Chraňte před mrazem. Balení: 0,5 ml suspenze v předplněné injekční stříkačce s jehlou. **Jméno a adresa držitele rozhodnutí o registraci:** Pfizer Europe MA EEIG, Boulevard de la Plaine 17, 1050 Bruxelles, Belgie. **Registrační číslo:** EU/1/17/1187/001. **Datum poslední revize textu:** 08.11.2018. Přípravek Trumenba je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění pro osoby splňující podmínky dané zákonem č.48/1997 Sb. v aktuálním znění. Před předepsáním léku se, prosím, seznáme s úplnou informací o přípravku. *Všimněte si, prosím, změny v informacích o léčivém přípravku.

* Bylo dosaženo všech cílů imunogenity pro všechny kmeny meningokoků skupiny B a souběžně podané antigeny ve vakcínách, s výjimkou HPV-18.

¹ Účinnost vakcíny Trumenba nebyla v klinických hodnoceních hodnocena. Účinnost vakcíny byla odvozena na základě prokázání indukce sérových baktericidních protilátkových odpovědí na 4 testované meningokokové kmene sérotypu B.

Reference: 1. Souhrn údajů o přípravku Trumenba 2. Zlotnick GW, Jones TR, Liberator P, et al. The discovery and development of a novel vaccine to protect against Neisseria meningitidis serogroup B disease. *Hum Vaccin Immunother*. 2015;11(1):5-13. 3. Folarinmi T, Rubin L, Martin SW, et al. Use of serogroup B meningococcal vaccines in persons aged ≥10 years at increased risk for serogroup B meningococcal disease: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices, 2015. *MMWR*. 2015;64(22):608-612.



Pracujeme společně pro zdravější svět™

Pfizer PFE, spol. s r.o., Stroupežnického 17, 150 00 Praha
tel.: +420 283 004 111, fax: +420 251 610 270, www.pfizer.cz

Trumenba®
Vakcína proti meningokokům skupiny B

TRU-2019.01.001

Progressive multifocal leukoencephalopathy – epidemiology, immune response, clinical differences, treatment

Snopková S.¹, Štourač P.², Fašanecková L.¹, Mihalčín M.¹, Havlíčková K.¹, Svačinka R.¹, Volfová P.³, Snopek P.⁴, Husa P.¹

¹Klinika infekčních chorob FN Brno a LF MU, Brno

²Neurologická klinika FN Brno a LF MU, Brno

³Interní hematologická klinika FN Brno a LF MU, Brno

⁴Fakulta humanitních studií UTB, Zlín

ABSTRACT

Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) is a severe disease of the central nervous system with very high mortality. It is caused by the JC virus with high seroprevalence, at up to 80%. Development of PML is typically opportunistic, particularly in acquired immunodeficiency syndrome, and usually affects patients with profound immunodeficiency. Furthermore, as a result of highly efficient immunosuppressive and immunomodulatory treatments in recent years, the number of PML cases has increased

in the general population. In this article, the authors mention virological and epidemiological relationships and characteristic manifestations of PML. Possible relationships of humoral and cellular immunity are discussed and limited treatment options including prophylaxis are mentioned.

KLÍČOVÁ SLOVA

cellular immunity – CD4/CD8 ratio – HIV – multiple sclerosis – progressive multifocal leukoencephalopathy

SOUHRN

Snopková S., Štourač P., Fašanecková L., Mihalčín M., Havlíčková K., Svačinka R., Volfová P., Snopek P., Husa P.: Progresivní multifokální leukoencefalopatie – epidemiologie, imunitní odpověď, klinické rozdíly, léčba

Progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML) je závažné onemocnění centrální nervové soustavy s velmi vysokou mortalitou. Příčinou onemocnění je JC virus s vysokou séroprevalencí dosahující až 80 %. PML je typické oportunní onemocnění vyskytující se zejména u syndromu získané imunodeficiency u pacientů s hlubokým imunodeficientem. Počet případů PML se

však v posledních letech zvyšuje také u všeobecné populace jako důsledek vysoce účinných imunosupresivních a imunomodulačních léčebných postupů. V tomto článku autoři uvádějí virologické a epidemiologické souvislosti a charakteristické projevy PML. Jsou diskutovány možné vztahy humorální a buněčné imunity a jsou zmíněny omezené možnosti léčby včetně profylaxe.

KLÍČOVÁ SLOVA

buněčná imunita – poměr CD4/CD8 – HIV – sclerosis multiplex – progresivní multifokální leukoencefalopatie

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 68, 2019, č. 1, s. 24–31

INTRODUCTION

Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) is a severe demyelinating disease of the central nervous system (CNS) with rapid progression and fatal outcome, which affects the white matter of the cerebral hemisphere [1–3]. It is caused by the JC virus (JCV), a polyoma virus found worldwide with high seroprevalence, at up to 80% [1, 4]. JCV was named after the patient with PML whose initials were J.C. in 1971 [4]. But PML is not the only brain disorder. Besides the infection of **oligodendrocytes** also disorders induced by infection of neurons were detected. Other disorders that have been described include granule cell neuronopathy (GCN) of the cerebellum [5] and a fulminant JCV encephalopathy involving cortical pyramidal neurons [6, 7]. In addition, PML can present clinically as a JCV-associated meningitis in the absence of encephalitis [4].

The overall incidence of PML in the general population is recorded to be 4.4/100 000 inhabitants/year [8].

A dramatic 50-fold increase in the incidence occurred with the **human immunodeficiency virus (HIV) epidemic** [9]. Patients with HIV-1 infection make up 4/5 of all patients analyzed in literature [8]. PML is the 3rd most common infectious neurological disease seen in HIV-positive patients, and was an extremely rare disorder prior to the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) pandemic [10]. Development of PML is typically opportunistic and it usually affects patients with profound immunodeficiency due to HIV infection [1, 8]. The 1-year survival in HIV-positive patients treated with ART is 38–62% [11, 12]. Furthermore, as a result of highly efficient **immunosuppressive and immunomodulatory treatments** in HIV-negative patients in recent years, the number of PML cases has increased in this population [4]. In multiple sclerosis (MS), PML has been reported in two MS patients treated with fingolimod and in one patient treated with dimethyl fumarate [13]. PML was also reported in three patients receiving dimethyl fumarate both with and without lymphopenia, but these

patients were treated for psoriasis and not for MS [14]. Three cases of PML were reported in patients treated with natalizumab in 2004, two of them were treated for MS and one of them for Morbus Crohn. The drug was reintroduced in the market in 2006 with new precautions as monotherapy for relapsing-remitting MS patients with high disease activity. Despite this new precautions, additional three cases were diagnosed in 2008, nine cases were diagnosed in 2009 [15] and numbers of PML cases steadily rose with 566 confirmed cases by 2015 [16–19]. The global overall risk for patients on natalizumab is estimated to be 3.96/1000 patients [11, 20]. The risk of PML increases with **longer treatment duration** with maximum risk of 6.11–8.3/1000 patients at 24 months. Previous treatment with immunosuppressant drugs increases risk reaching a maximum incidence of 13/100 000 JC antibody negative patients on natalizumab for more than 49 months. The mortality rate in natalizumab associated PML is approximately 22%.

PML was originally rarely associated with lymphoma [21]. PML is also associated with other conditions such as other hematological malignancies, organ transplantation, solid malignancies, sarcoidosis, autoimmune disorders (e. g. lupus, rheumatoid arthritis), and congenital immune deficiencies (e. g. idiopathic CD4+ T lymphocytopenia) [21, 22]. These populations account for less than 10% of all reported PML cases [23].

Taken together, conditions associated with PML are as follows: HIV-AIDS defining 1/100/year without ART; 6/10 000/year with ART; hematologic malignancies 8.3/100 000/year in lymphoma; rheumatologic conditions 1/100 000/year, organ transplants (heart, lung, kidney) 1/1000; bone marrow transplants 3.5/10 000/year; immunomodulatory treatments (i. e. in MS) 1/1000/year [11, 20].

THE JCV GENOME

JCV is a dsDNA naked neurotropic polyomavirus; but it is still incompletely understood how the virus infects the CNS [9]. Severe, prolonged immunosuppression may lead to JCV dissemination to the CNS from sites of persistence (kidney, bone marrow, lymphoid organs, tonsils, spleen), or to reactivation of dormant virus already present in the CNS [24, 25].

Nucleotide sequence analysis of JCV in peripheral blood mononuclear cells (PBML), urine, and cerebral spinal fluid (CSF) of PML patients has revealed JCV sequence variations and rearrangements that influence viral pathogenicity and tropism [24, 26, 27].

JCV persists in at least two forms: a **non-pathogenic form (archetypal virus)** and a neurotropic form that contains a rearranged non-coding control region (NCCR) [23, 24, 28].

Kidney-resident archetypal JCV strains which was isolated from the urine of healthy individuals, is highly conserved [7]. The archetypal virus was isolated from sewage samples from different geographical areas suggesting a possible transmission by contaminated food, water and fomites [29].

Archetypal JCV strains can turn into **neurotropic JCV strains during immunosuppression** [7, 9, 30]. Upon immunosuppression and reactivation of the virus, rear-

rangements within the hyper-variable region occur and contain determinants for neurotropism and neurovirulence correlating with viral spread and development of PML [7, 31].

Glial cells (the main targets of JCV in the brain) and B cells, but not T cells, both express nuclear **DNA binding proteins** that interact with the regulatory region of the JCV genome and may permit JCV replication [24]. Two **transcription factors (NF-1 κ and Spi-B)** important for JCV genome transcription are upregulated in glial cells, B cells and hematopoietic progenitor cells [24, 27, 32]. Spi-B binding sites are present in the promoter/enhancer of JCV neurotropic variants but not in the archetypal virus [24]. Replication of the JCV genome is dependent on a viral protein, termed **T antigen (T-ag)**. T-ag contains several functional regions, including **the helicase domain** [7, 33–35]. T-ag is a hexameric protein with a helicase activity that is powered by ATP binding and hydrolysis. The helicase and ATPase function is critical for viral replication [35]. The induction of early gene transcription by JCV T-ag is the first step in viral replication and a key potential target for blocking reactivation of JCV [33, 36, 37].

Thus, the following conditions are required for JCV-induced PML to occur: changes in the NCCR that enhance viral transcription and replication; presence of transcription factors that bind to the rearranged NCCR; immunodeficiency [24]. Other factors such as an individual genetic predisposition may also be necessary [11, 24, 38].

IMMUNOPATHOGENESIS OF PML

Innate immunity plays a central role in CNS protection against a variety of neurotropic viruses [39]. On the other hand, symptomatic JCV infection of the CNS is associated with disturbances of adaptive immunity affecting B cells, antibodies, and CD4+ and/or CD8+ T cells. But it is still not fully understood, **which components of the immune system prevents development of PML and which immune mechanisms are involved in eliminating the virus from CNS** [30]. Upon the suppression of CD4+ and CD8+ T-cell mobilization, as occurs with HIV infection or during immunomodulating therapy, the JCV enters the brain, either with B cells or as a cell-free virus, where it infects and kills oligodendrocytes, leading to demyelination [9]. Patients who develop PML have **a pathogenic form of the virus**, with specific changes in the regulatory region and the major viral capsid protein VP1 that may facilitate the spread of the virus from the periphery to the brain [40].

B cells, the antibody producing cells of the immune system, can serve as a viral reservoir and may help disseminate the virus in the brain [20, 24]. At the same time B cells are not an important component of the adaptive immune response which do not may play a role in JCV control [24]. Neutralizing antibodies against JCV, typically found in most individuals, neither protect against the development of PML, nor effectively clear the virus from the body [36]. Intrathecal synthesis of oligoclonal antibodies against VP1, the major structural protein of JCV, is also found in PML patients, but its protective effect is unclear [24] and the **humoral response alone is inefficient at clearing JCV infected cells** [15].

SOUHRNNÉ SDĚLENÍ

Many disorders lead to oligoclonal IgG bands (OBs) in serum, which may also be presented in the CSF due to disruption of the blood-brain barrier (BBB). Identical OBs in CSF and serum (type 4) – so called “mirror-pattern” – suggest systemic immune activation, without local IgG synthesis in the CNS. OBs in the CSF with additional identical OBs in both CSF and serum indicate systemic and intrathecal immune activation (type 3) – a combination of type 2 and 4. Presence of OBs type 2 confirmed intrathecal IgG production without systemic activation suggests an alteration in the CNS parenchyma or CSF compartment. It is non-specific and can be demonstrated in numerous affections of the CNS [41]. In fact it is unclear what the OBs are [42].

The role of B cells in JCV infection and PML is likely more complex. B cells may help to control JCV infection through functions other than antibody production. B cells secreting Th1-type cytokines such as INF- γ probably enhance the Th1 response and thereby help to establish effective CD8 T cell activity against JCV [24].

Cell-mediated immunity plays a more effective role in clearing initial or reactivated JCV infection before PML occurs [43]. Cellular immunity and increase in **CD4+ cell counts** appears to play a crucial role in the control of the JCV infection [24]. Several lines of circumstantial evidence exist suggesting that CD4+ helper T cells are crucial to the prevention of JCV spread [36]. Specific CD4+ T cells have been detected in the blood of patients who have survived PML, and the number of these cells correlates with JCV clearance from the CSF [9]. However, **CD4+ T cell count alone cannot predict disease progression**, suggesting that other cell types are also crucial for viral containment [36, 44].

A low CD4/CD8 ratio reflects immunologic dysregulation because cytotoxic CD8+ cells (CTLs) are extremely destructive and induce apoptosis in the target cells [45]. Expansion of the CD8+ compartment is accompanied by adverse cellular changes and excessive defense anti-JCV response. This CD8+ CTL response plays an important role in controlling replication of JCV by killing infected cells [4] and controlling replication of many viruses [36]. CTLs recognize the epitopes of viral proteins presented on the class I HLA molecules preventing further spread of the virus. Increased CTLs are usually detected in the blood of PML survivors [9, 17], in PML lesions where they aggregate around infected cells and rarely in patients with PML, who have a fatal outcome within 1 year from disease onset [9]. Even if the CD8+ T cell population stayed constant, the CD4/CD8 ratio has improved with improvement in the CD4+ count alone. It also seems to lead to normalization of immunological functions. A reduction of the CD4/CD8 ratio might facilitate the occurrence of PML [46]. More recent studies have suggested that while overall CTL responses are dampened in PML patients, those patients who do elicit a CTL response against T-antigen or VP1 may have better clinical outcomes [47]. Comparatively, PML seen in MS patients on natalizumab appears to be associated with a better clinical outcome compared to the course of the disease in HIV-1 positive PML patients [18, 36]. It suggests that the **ability to effectively reconstitute relevant lymphocyte populations** within the CNS is a critical feature of survival [48]. HIV-positive patients have long-term T cell depletion and a limited regenerative potential.

PML-IRIS

In the immunocompromised host, classical PML causes lytic infection of oligodendrocytes and morphological changes of astrocytes in the absence of an inflammatory response [49, 50].

Once immune function is restored following ART in **HIV-positive patients**, adaptive immune mechanisms lead to an inflammation in the area of the PML lesion, which is referred to as **immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS)**. Inflammation in IRIS also seems to be driven by a dominant cytotoxic T cell response, which is massively exaggerated during IRIS [4]. Although the immune mechanisms underlying IRIS mediate the elimination of JCV from the brain, the resulting inflammation can cause additional brain damage and may lead to the death of the patients.

Immune reconstitution in PML can lead to IRIS in 10 to 30% of HIV-positive patients [49].

Another risk population is patients treated with **natalizumab**, mainly anti-JCV positive patients. IRIS is caused by an **excessive immune response and inflammatory damage to neuronal and glial tissue**. In natalizumab cases after the effective clearing of natalizumab, lymphocytes enter the central nervous system to attack JCV. The clinical impact of IRIS should not be underestimated, because it can worsen the disability and increase mortality to up to 30% [18].

The risk increases significantly after 2–4 years of treatment. IRIS is observed in majority (70%) of patients within days or weeks following discontinuation and removal of natalizumab [23]. In some studies PML-IRIS is found in up to 86% [14]. The survival rate is 77%, however, 40% of survivors suffered of severe disability, disability of 47% was classified as moderate and 13% developed mild disability [23].

CLINICAL SYMPTOMS

Common **clinical findings** include motoric weakness, gait abnormalities, mono- and hemiparesis, visual field deficits, speech and language disturbances, and incoordination. Symptoms tend to progress rapidly over several weeks to months [12, 51, 52, 53].

PML should be considered in the differential diagnosis of any MS patient on **natalizumab** treatment with new neurological symptoms. The PML must be considered in any MS case treated with natalizumab when new neurological symptoms emerge. If the diagnosis is delayed, symptoms progression may accelerate and worsen over time.

The clinical presentation of PML in natalizumab-associated cases is heterogeneous and may include focal and non-focal neurological deficits including neurobehavioral, motoric, language and visual functions. Cognitive deficits usually are not the most common symptoms. However, rare brainstem involvement causes the most severe symptoms. PML can also be detected in patients who are asymptomatic – then the first symptoms can be non-specific and subtle and may be considered as symptoms of a multiple sclerosis relapse [54, 55]. Symptoms in the mid and later stages of the disease can be diagnosed as stroke or seizures disorder; especially seizures occur in 20% of patients with PML [56]. In HIV-positive

patients the most common findings at the time of initial physical examination were weakness (54%), followed by gait abnormalities (20%), cognitive abnormalities (20%), dysarthria (24%), aphasia (19%), sensory loss (19%), visual impairment (17%), and oculomotor palsy (6%). In some cases, the coexistence of encephalitis with HIV infection could have accounted for some of the symptoms [53]. The mortality rate in natalizumab-associated PML cases is approximately 22% [57]. This is a considerably lower number than in the HIV-associated form with rapid progression and fatal outcome [18]. But the survivors suffer in 90% by moderate or severe disability.

DIAGNOSIS OF PML

No single criterion establishes the diagnosis of PML. It requires clinical, imaging, and virological evidence. However, a working group of **the American Academy of Neurology (AAN)** has proposed an algorithm for the diagnosis of this disease. The presence of classic radiographic findings and clinical features consistent with diagnosis, coupled with a positive CSF JCV polymerase chain reaction (PCR) is sufficient for the unequivocal diagnosis of PML [51].

The first step in positive diagnosis is **magnetic resonance imaging (MRI)**. Cranial MRI is very sensitive to the presence of white matter lesions. Irregular multifocal lesions of demyelination occur usually in parietal, frontal or occipital lobes and less often in temporal lobes [12, 19, 51–55]. Currently there is no consensus how often **MRI scan** should be done in MS patients on natalizumab treatment, but usually MRI scans are performed every 3–4 months in the subgroup of patients with the highest risk of PML with the aim to catch the preclinical stage of PML and to ensure a better prognosis.

The presence of JCV antibodies in the serum of MS patients expressed and stratified as JCV **antibody index** reflects the risk in a semi-quantitative manner. A high index value indicates that the risk to develop PML is significantly elevated, although probably about 99% of patients with this index value will not develop PML [60]. The value of the JCV antibody index in the range of 0–0.9 is considered negative, in the range 0.9–1.5 as a mild risk factor and values higher than 1.5 represent relatively high risk values [11, 20]. It is unclear why natalizumab patients with higher JCV antibody titers would be a greater risk of developing PML [36]. JCV antibody index can only reflect statistical risk estimations that need to be combined with individual risk-assessment [61].

PCR detection of JCV DNA in CSF can be used to confirm the PML diagnosis and has been shown to have diagnostic sensitivity of 70–80% and specificity of virtually 100% [7]. The sensitivity with newer ultrasensitive techniques is as high as 95% [62]. CSF sampling is of greatest value in demonstrating JCV presence by PCR [51]. Lower CSF JCV DNA at the time of diagnosis is related to less disability prior to PML diagnosis. High viral load of JCV DNA > 10,000 copies/ml of CSF is associated with poor prognosis [48]. The absence of JCV DNA by CSF PCR does not exclude the PML diagnosis and it therefore should not be assumed that the CSF compartment provides an accurate representation of infections within the brain parenchyma [36].

Examination of CSF samples (cell counts, CSF proteins, glycorrhachia) has no predictive value in diagnosing PML [1, 51]. Also, the absence of JCV in urine does not rule out the possibility of developing PML [63].

TREATMENT

Specific PML treatment is not yet available [1, 8, 52].

Reconstituting the protective immunity or reversing the immunosuppression is so far the best way to eliminate JCV infection from the CNS and to overcome PML.

The therapy for the PML-IRIS syndrome includes high dose of **corticosteroids** to limit this excessive inflammatory reaction [65]. But the use of corticosteroids to treat IRIS may limit JC viral clearance [66]. In some cases maraviroc (antiviral agent) can be used as a corticosteroid-saving agent in the treatment of IRIS. In three cases, maraviroc did not show any clear effect in modulating the clinical course of PML preventing IRIS. Moreover, once PML-IRIS emerged, the clinical stabilization was achieved only with the use of corticosteroids. Thus, the use of maraviroc should be regarded with extreme caution according to some authors [67]. On the other hand although some investigators have recommended corticosteroid therapy for PML-IRIS, no controlled trials have been conducted and caution has been advised [53]. In some PML populations, immune reconstitution cannot be achieved - patients with depressed bone marrow, organ recipients, in whom it could lead to graft rejection. Some PML patients may not develop IRIS at all because of persisting severe immunosuppression related to haematological malignancy, or treatment with rituximab or alemtuzumab [49]. PML is a lethal disease for these patients. The only effective treatment option for these PML patients would be a **direct anti-JCV therapy**, which is currently unavailable [23, 49].

Previous studies have also identified the **5HT2A serotonin receptor** as a receptor for the virus, but most evidence suggest that the initial steps of viral infection can occur in a broad range of cell types. Since JCV infection of glial cells involves serotonergic 5HT2A receptors, medications targeting these receptors have also been proposed as potential adjuncts [25, 67, 68]. 5HT2A receptors inhibitors are active in vitro against JCV [69]. The atypical antidepressant **mirtazapine** has been shown to inhibit viral entry into unaffected glial cells and to block infection of oligodendrocytes with JCV, preventing further demyelination [25]. Use of the mirtazapine has been associated with clinical improvement in some PML patients, with earlier treatment related to better outcomes [67, 70].

Mefloquine works through a different mechanism, inhibiting JCV replication in cells after viral entry [71]. Mefloquine is able to cross the blood-brain barrier (BBB) and reach a concentration sufficient to suppress JCV replication in the brain by binding to the T-ag [23, 25, 71]. T-ag and its helicase domain are critical for viral replication [21]. Mefloquine showed significant suppression of JCV DNA replication [23, 72].

Moreover, mefloquine is an inhibitor of the efflux protein P-glycoprotein (P-gp) and it is an ATP-binding cassette (ABC) transporter [73–75]. ATP-binding cassette transporter

SOUHRNNÉ SDĚLENÍ

ters are known to function as barrier proteins to extrude toxins and xenobiotics from cells. P-gp is critical among these transporters [76].

The case of a man with PML treated with mirtazapine and mefloquine has recently been described. Under treatment, the rearrangement changed toward the archetypal sequence [31].

In another case clinical progression of PML stopped immediately after mefloquine treatment was described in a woman with sarcoidosis [77]. However, the results of all observations are not entirely unambiguous and mefloquine did not show evidence of in vivo antiviral activity against JCV in some studies [78, 79]. A clinical trial of mefloquine in patients with PML had to be prematurely terminated due to lack of efficacy [79].

Potential candidate for treatment or prophylaxis of PML can be broadly categorized into three groups: antiviral agents, immune response modulators, and immunization strategies [23]. More identified potential drug candidates can be investigated. So far significant limitations in the development of treatment include e.g. lack of good animal PML models, the toxicity profile of potential anti-JCV drugs, the lacking ability to cross the BBB, recruitment of study subjects and others [23, 36].

Clinical settings concerning PML in natalizumab patients are continuously evolving in the MS treatment algorithm [11, 20]. The treatment and subsequent clinical course in patients with natalizumab-associated PML are based on restoration of immune functions by immediate removal of drug [64]. This is typically done by **plasma exchange or immunoadsorption** which clears natalizumab from the circulation. Three to five plasma exchanges usually are required over two weeks. Discontinuation of monoclonal antibody treatment triggers rapid expansion and enhanced trafficking of immune cells across the BBB and often leads to the development of immune-mediated IRIS and the temporary worsening of clinical symptoms [36]. Some PML patients treated with plasma exchange will experience rapid worsening of neurological symptoms after clearance and develop IRIS [4]. MS patients, after temporarily stopping the immunomodulatory agent, have to begin a new with some other immunomodulatory agent to prevent progression of their MS disease. It means a relapse is possible.

Antiretroviral therapy should be started immediately in HIV-positive patients [1, 52]. Disease progression seems to be slower in patients on effective ART [1,8], because the most important determinant for survival is restoration of the immune system [53] and HIV-positive patients stay on lifelong ART.

RECAPITULATION

In the classical era, PML was an extreme rare disorder which occurred in patients with lymphoproliferative and myeloproliferative disorders possibly due to a lack of a JCV specific immune response as a result of uncontrolled expansion of other immune cell types due to the cancer. PML became exponentially more prevalent with the onset of the HIV-1 pandemic. HIV-1 positive patients with depleted CD4⁺ T cell counts, became increas-

gly vulnerable to the development of PML, suggesting that this cell type plays an important role in immune surveillance of JCV [36]. More recently, cases of PML have been documented in immunocompromised patients undergoing immunosuppressive and immunomodulatory therapy, which seems to disrupt normal immune surveillance by CD8⁺ T cells in the CNS and allows for the uncontrolled reactivation of JCV and the PML onset [9, 36]. Also PML has been reported in the number of distinct immunodeficiency such as Wiskott-Aldrich syndrome, severe combined immunodeficiency syndrome, X-linked hyper-IgM syndrome, hyper IgE syndrome, adenosine deaminase deficiency, X-linked agammaglobulinemia, purine nucleoside phosphorylase deficiency and others [38, 49]. Immunodeficiency is highly relevant risk factor, but alone does not predict who will develop PML, since the vast majority of individuals with classical risk factors will not develop the disorder. Other factors need to be considered and there is growing evidence for the role of **host genetic factors** in susceptibility to PML [38].

The biological properties, the pathological transformation and the life cycle of the JCV in the host organism are still poorly understood. Recent data suggest that CD4⁺ and CD8⁺ T cells of the cellular immune system are crucial to the prevention of JCV spread. Some research suggests that the occurrence of PML in the context of B-lymphocyte depletion are not the principal vehicle for JCV to enter the brain, but also that humoral immunity might play a role in the control of JCV replication [46]. So far, we know very little about the interaction of different virological, immunological, genetic and other factors that allow some individuals to clinically manifest PML.

There is no effective therapy for treating JCV infections and fatal PML [62]. Treatment is complicated. The main approach to treatment is **to preserve immune function or reverse immunosuppression**. The most important determinant for survival is restoration of the immune response by antiretroviral therapy in HIV-positive patients and discontinuation of immunomodulatory therapy in HIV-negative patients. But only a minority of these patients recover with mild to moderate disability [23], because these measures are not a factual PML treatment, but only **non-specific measures** that reduce the impact of immunodeficiency as a risk factor for development of PML.

However, it is not always possible to stop immune suppression, for example in organ transplant patients, in whom it could lead to graft rejection, in patients with persisting severe immunosuppression related to hematological malignancy or in patients with immunosuppression during chemotherapy of solid cancers [49]. Outcomes in these PML populations are poor [23]. There is no effective specific antiviral therapy for treating as well as preventing JCV infection or PML [62]. Completed and published PML treatment clinical studies reveal the difficulty of studying potential therapies, including rarity and rapid progression of the disease and short life expectancy.

Studies aimed at **prevention of PML** may have a better chance at delivering positive outcome [23]. Prevention of progressive immunosuppression by initiation of antire-

troviral therapy is the most effective way to prevent PML in HIV-positive patients [52]. **Active prophylactic immunization** of healthy individuals or patients under treatments with PML risk has the potential to prevent PML or, in seronegative individuals, even the establishment of latent/persistent infection altogether. The **active therapeutic immunization** would be most suitable for patients with residual and restorable immune function [49] whereas **passive immunization** would be an attractive alternative for populations in which immune system response cannot be boosted due to chronic immunodeficiency [23].

CONCLUSIONS

With the introduction of antiretroviral treatment, the incidence of PML in HIV-positive patients decreased, but the growing use of immunosuppressive and immunomodulatory therapies for various diseases has led to an alarming increase of PML cases among patients with conditions that were previously not associated to any significant PML risk. We can expect to meet PML more frequently than hitherto due to the high seroprevalence of the JCV and a worldwide distribution in the population. A better understanding of the complex relations between JCV and different cell compartments may have significant implications for the prevention and treatment of PML. Accurate identification and stratification of the risky populations, as well as biomarkers and cytokine profiles which are evidence of JCV activation are needed to monitoring and early intervention. Also important is the development of specific drugs and prophylaxis. Further biological, clinical and pharmacological research and studies are necessary.

REFERENCES

- Hoffmann C. Opportunistic infections. In: Hoffmann C, Rockstroh JK. HIV 2015/2016. Hamburg: Medizin Fokus Verlag; 2015. pp. 377–380.
- Smolle E, Trojan A, Schuster SJ, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy – a case report and review of the literature. *In Vivo*, 2014;28(5):941–948.
- Sudhakar P, Bachman DM, Mark AS, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy: recent advances and a neuro-ophthalmological review. *J Neuroophthalmol*, 2015;35(3):296–305.
- Bauer J, Gold R, Adams O, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy and immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Acta Neuropathol*, 2015;130(6):751–764.
- Koralnik IJ, Wuthrich C, Dang X, et al. JC virus granule cell neuroinopathy: a novel clinical syndrome distinct from progressive multifocal leukoencephalopathy. *Ann Neurol*, 2005;57(4):576–580.
- Wuthrich C, Dang X, Westmoreland S, et al. Fulminant JC virus encephalopathy with productive infection of cortical pyramidal neurons. *Ann Neurol*, 2009;65(6):742–748.
- Shin J, Phelan PJ, Chhum P, et al. Analysis of JC virus DNA replication using a quantitative and high-throughput assay. *Virology*, 2014;468–470:113–125.
- Rozsypal H, Jilich D, Hubacek P, et al. Úskalí diagnostiky progresivní multifokální leukoencefalopatie u pacientů infikovaných lidským virem imunodeficiency – kazuistiky. *Cesk Slov Neurol N*, 2013;76/109(4):501–507.
- Bellizzi A, Anzivino E, Rodio DM, et al. New insight on human polyomavirus JC and pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Clin Dev Immunol*, 2013;2013:839719 [cit. 2017-12-12]. Dostupné na [www: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3652120/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3652120/)
- Delbue S, Elia F, Carloni C, et al. JC virus load in cerebrospinal fluid and transcriptional control region rearrangements may predict the clinical course of progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Cell Physiol*, 2012;227(10):3511–3517.
- Mateen FJ, Muralidharan R, Carone M, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy in transplant recipients. *Ann Neurol*, 2011;70:305–322.
- Augusto L, Neves N, Reis C, et al. Clinical and radiological characterization of progressive multifocal leukoencephalopathy in HIV-infected patients: A retrospective analysis and review of the literature. *Acta Med Port*, 2015;28(3):286–296.
- US Food and Drug Administration (2014): Drug safety and availability – FDA Drug Safety Communication: FDA warns about rare case of brain infection PML with MS drug Tecfidera (dimethyl fumarate) [cit. 2017-04-10]. Dostupné na [www: http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm424625.htm](http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm424625.htm)
- Ermis U, Weis J, Schulz JB. PML in a patient treated with fumaric acid. *N Engl J Med*, 2013;368(17):1657–1658.
- Linda H, von Heijne A Major EO, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy after natalizumab monotherapy. *N Engl J Med*, 2009;361(11):1081–1087.
- Nieuwkamp DJ, Murk JL, Van Oosten BW, et al. PML in a patient without severe lymphocytopenia receiving dimethyl fumarate. *N Engl J Med*, 2015;372(15):1474–1476.
- Perkins MR, Ryschewitsch C, Liebner JC, et al. Changes in JC virus-specific T cell responses during natalizumab treatment and in natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Plos Pathog*, 2012;8(11):e1003014 [cit. 2017-11-12]. Dostupné na www: https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003014
- Vermersch P, Kappos L, Gold R, et al. Clinical outcomes of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurol*, 2011;76(20):1697–1704.
- Yousry TA, Pelletier D, Cadavid D, et al. Magnetic resonance imaging pattern in natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Ann Neurol*, 2012;72(5):779–787.
- Amend KL, Turnbull B, Foskett N, et al. Incidence of progressive multifocal leukoencephalopathy in patients without HIV. *Neurol*, 2010;75(15):1326–1332.
- Power C, Brown Gladen JG, Halliday W, et al. AIDS and non AIDS – related PML association with distinct p53 polymorphism. *Neurol*, 2000;54(3):743–746.
- Aotsuka Y, Uzawa A, Nishimura K, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy localized in the cerebellum and brainstem associated with idiopathic CD4+ T lymphocytopenia. *Intern Med*, 2016;55(12):1645–1647.
- Pavlovic D, Patera AC, Nyberg F, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy: current treatment options and future perspectives. *Ther Adv Neurol Disord*, 2015;8(6):255–273.
- Durali D, de Goer de Herve M-G, Gasnault J, et al. B cells and progressive multifocal leukoencephalopathy: search for the missing link. *Front Immunol*, 2015;6:241 [cit.2017-07-10]. Dostupné www: https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00241.
- Epperla N, Medina-Flores R, Mazza JJ, et al. Mirtazapine and mefloquine therapy for non-AIDS-related progressive multifocal leukoencephalopathy. *WMJ*, 2014;113(6):242–245.
- Tan CS, Dezube BJ, Bhargava P, et al. Detection of JC virus DNA and proteins in the bone marrow of HIV-positive and HIV-negative patients: implications for viral latency and neurotropic transformation. *J Infect Dis*, 2009;199(6):881–888.
- Marshall LJ, Ferenczy MW, Daley EL, et al. Lymphocyte gene expression and JC virus noncoding control region sequences are linked

- with the risk of progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Virol*, 2014;88(9):5177–5183.
28. Bellizzi A, Nardis C, Anzivino E, et al. Human polyomavirus JC reactivation and pathogenetic mechanisms of progressive multifocal leukoencephalopathy and cancer in the era of monoclonal antibody therapies. *J Neurovirol*, 2012;18(1):1–11.
 29. White MK, Khalili K. Pathogenesis of progressive multifocal leukoencephalopathy-revisited. *J Infect Dis*, 2011; 203(5):578–586.
 30. Jelcic I, Faigle W, et al. Immunology of progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neurovirol*, 2015;21(6):614–622.
 31. Kurmann R, Weisstanner C, Kardas P, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy in common variable immunodeficiency: mitigated course under mirtazapine and mefloquine. *J Neurovirol*, 2015;21(6):694–701.
 32. Marshall LJ, Dunham L, Major EO. Transcription factor Spi-B binds unique sequences present in the tandem repeat promote/enhancer of JC virus and supports viral activity. *J Gen Virol*, 2010;91(12):3042–3052.
 33. Bonafoux D, Nanthakumar S, Bandarage UK, et al. Fragment-based discovery of dual JC virus and BK virus helicase inhibitors. *J Med Chem*, 2016; 59(15):7138–7151.
 34. Randhawa P, Zeng G, Bueno M, et al. Inhibition of large T antigen ATPase activity as potential strategy to develop anti-polyomavirus JC drugs. *Antiviral Res*, 2014;0:113–119.
 35. Seguin SP, Ireland AW, Gupta T, et al. A screen for modulators of large T antigen's ATPase activity uncovers novel inhibitors of Simian Virus 40 and BK virus replication. *Antiviral Res*, 2012;96(1):70–81.
 36. Beltrami S, Gordon J. Immune surveillance and response to JC virus infection and PML. *J Neurovirol*, 2014;20(2):137–149.
 37. Sariyer IK, Merabova N, Patel PK, et al. Bag3-induced autophagy is associated with degradation of JCV oncoprotein, T-Ag. *PLoS One*, 2023;7:e45000 [cit. 2017-09-12]. Dostupné na [www: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045000](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045000).
 38. Hatchwell E. Is there a (host) genetic predisposition to progressive multifocal leukoencephalopathy? *Front Immunol*, 2015;6:216 [cit. 2017-10-12]. Dostupné na [www: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2015.00216/full](https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2015.00216/full).
 39. Mori I. Translational neuroinvasion by viruses threatens the human brain. *Acta virol*, 2015;59(4):338–349.
 40. Warnke C, Ramanujam R, Plavina T, et al. Changes to anti-JCV antibody levels in a Swedish national MS cohort. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2013;84(11):1199–1205.
 41. Trbojevic M. Detection of oligoclonal Ig bands: clinical significance and trends in methodological improvement. *eJIFCC*, 2004;15 [cit. 2017-08-11]. Dostupné na [www: http://www.ifcc.org/ejifcc/vol-15no3/150309200413.htm](http://www.ifcc.org/ejifcc/vol-15no3/150309200413.htm).
 42. Khanna N, Wolbers M, Mueller NJ, et al. JC virus-specific immune responses in human immunodeficiency virus type 1 patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Virol*, 2009;83(9):4404–4411.
 43. Monaco MCG, Major EO. Immune system involvement in the pathogenesis of JC virus induced PML: what is learned from studies of patients with underlying diseases and therapies as risk factor. *Front Immunol*, 2015;6:159 [cit. 2017-08-11]. Dostupné na [www: http://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00159](http://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00159).
 44. Du Pasquier RA, Clark KW, Smith PS, et al. JCV-specific cellular immune response correlates with a favorable clinical outcome in HIV-infected individuals with progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neurovirol*, 2001;7(4):318–322.
 45. Seng R, Goujard C, Krastinova E, et al. Influence of lifelong cumulative HIV viremia on long-term recovery of CD4+ count and CD4+/CD8+ ratio among patients on combination antiretroviral therapy. *AIDS*, 2015;29(5):595–607.
 46. Sokol J, Lisá L, Zelenáková J, et al. Rituximab – associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Vnitř Lék*, 2017;63(1):60–64.
 47. Lima MA, Berna-Cano F, Clifford DB, et al. Clinical outcome of long-term survivors of progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2010;81(11):1288–1291.
 48. Černý R, Machala L. Neurologické komplikace HIV/AIDS. Praha: Karolinum; 2007.
 49. Jelcic I, Combaluzier B, Jelcic I, et al. Prevention and therapy of JC polyomavirus-mediated progressive multifocal leukoencephalopathy – a realistic possibility? *Swiss Med Wkly*, 2017;147:w14520 [cit. 2017-05-09]. Dostupné na [www: http://www.zora.uzh.ch/id/eprint/142365/1/Jelcic_et_al.pdf](http://www.zora.uzh.ch/id/eprint/142365/1/Jelcic_et_al.pdf).
 50. Aly L, Yousef S, Schippling S, et al. Central role of JC virus-specific CD4+ lymphocytes in progressive multi-focal leukoencephalopathy-immune reconstitution inflammatory syndrome. *Brain*, 2011;134:2687–2702.
 51. Berger JR, Aksamit AJ, Clifford DB, et al. PML diagnostic criteria – consensus statement from the AAN Neuroinfectious Disease Section. *Neurol*, 2013;80(15):1430–1438.
 52. Polsky B, Suh JS. Viral Infections. In Kuritzke DR, Eron JJ, Squires KE. *InPractice HIV* [on line]. Jointly Provided by USF Health and Clinical Care Opinions, LLC. 2014 [cit. 2017-11-09]. Dostupné na [www: http://www.inpractice.com/Textbooks/HIV/Management_of_Specific_Disease_States/ch29_pt1_Viral/Chapter-Pages/Page-5.aspx](http://www.inpractice.com/Textbooks/HIV/Management_of_Specific_Disease_States/ch29_pt1_Viral/Chapter-Pages/Page-5.aspx).
 53. Berger JR. The clinical features of PML. *Cleve Clin J Med*, 2011;78(S2):8–12.
 54. Boster A, Hreha S, Berger JR, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy and relapsing – remitting multiple sclerosis; a comparative study. *Arch Neurol*, 2009;66(5):593–599.
 55. Coyle P, Foley J, Fox E, et al. Best practice recommendations for the selection and management of patients with multiple sclerosis receiving natalizumab therapy. *Mult Scler*, 2009;15:26–36 [cit. 2017-10-10].
 56. Lima MA, Drislane FW, Koralnik IJ. Seizures and their outcome in progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurol*, 2006;66(2):262–264.
 57. O'Connor PW. Natalizumab risk stratification: role of two – step anti JCV antibody assay. *Can J Neurol Sci*, 2012;39(5):670–675.
 58. Anzai Y. Infectious and demyelinating disease. Progressive multifocal leukoencephalopathy. In: Osborn AG, Salzman KL, Barkovich AJ. *Diagnostic imaging brain*. 2nd ed. Amirsys: Altona. 2010. p. 92–93.
 59. Metz I, Radue EW, Oterino A, et al. Pathology of immune reconstitution inflammatory syndrome in multiple sclerosis with natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Acta Neuropathol*, 2012;123(2):235–245.
 60. Reuwer AQ, Heron M, van der Dussen D, et al. The clinical utility of JC virus antibody index measurements in the context of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Acta Neurol Scand*, 2017; 136(S 201):37–44.
 61. Salmen A, von Ahsen N, Trampe AK, et al. Longitudinal analyses of anti-JCV antibody index for risk assessment of progressive multifocal leukoencephalopathy. *Mult Scler J Exp Transl Clin*, 2016;2:2055217316630008 [cit. 2017-10-10]. Dostupné na [www: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5433507/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5433507/).
 62. Guidelines for Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents. October 28, 2014 [on line]. Recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention, the National Institutes of Health, and the HIV medicine Association of the Infectious Diseases Society of America [cit. 2017-06-02]. Dostupné na [www: https://aidsinfo.nih.gov/guidelines/html/4/adult-and-adolescent-opi-prevention-and-treatment-guidelines/](https://aidsinfo.nih.gov/guidelines/html/4/adult-and-adolescent-opi-prevention-and-treatment-guidelines/).
 63. Polák P. Editoria on Sokol J, Lisá L, Zelenáková J, et al. Rituximab – associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *Vnitř Lék*, 2017;63(1):22–23.
 64. Tan IL, McArthur JC, Clifford DB, et al. Immune reconstitution

- inflammatory syndrome in natalizumab-associated PML. *Neurol*, 2011;77(11):1061–1067.
65. Antoniol C, Jilek S, Schluep M, et al. Impairment of JCV-specific T-cell response by corticotherapy: effect on PML-IRIS management? *Neurology*, 2012;79(23):2258–2264.
66. Scarpazza C, Prosperini L, Mancinelli CR, et al. Is maraviroc useful in multiple sclerosis patients with natalizumab-related progressive multifocal leukoencephalopathy? *J Neurol Sci*, 2017; 378:233–237.
67. Himedan M, Camelo-Piragua S, Mills EA, et al. Pathologic findings of chronic PML-IRIS in a patient with prolonged PML survival following natalizumab treatment. *J Investig Med High Impact Case Rep*, 2017;5:2324709617734248 [cit. 2017-09-08]. Dostupné na [www: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5624358/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5624358/).
68. Elphick GF, Querbes W, Jordan JA, et al. The human polyomavirus, JCV, uses serotonin receptors to infect cells. *Science*, 2004;306(5700):1380–1383.
69. Trentalange A, Calcagno A, Ghisetti V, et al. Clearance of cerebrospinal fluid JCV DNA with mirtazapine in a patient with progressive multifocal leukoencephalopathy and sarcoidosis. *Antivir Ther*, 2016;21(7):633–635.
70. Cettomai D, McArthur JC. Mirtazapine use in human immunodeficiency virus-infected patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Arch Neurol*, 2009;66(2):255–258.
71. Brickelmaier M, Lugovskoy A, Kartikeyan R, et al. Identification and characterization of mefloquine efficacy against JC virus *in vitro*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009;53(5):1840–1849.
72. Nukuzuma S, Kameoka M, Sugiura S, et al. Suppressive effect of PARP-1 inhibitor on JC virus replication *in vitro*. *J Med Virol*, 2013;85(1):132–137.
73. Kock K, Grube M, Jedlitschky G, et al. Expression of adenosine triphosphate-binding cassette (ABC) drug transporters in peripheral blood cells. *Clin Pharmacokinet*, 2007;46(6):449–470.
74. Barraud de Lagerie S, Comets E, Gautrand C, et al. Cerebral uptake of mefloquine enantiomers with and without the P-gp inhibitor elacridar (GF1210918) in mice. *Br J Pharmacol*, 2004;141(7):1214–1222.
75. Senarathna SM, Page-Sharp M, Crowe A. The interactions of P-glycoproteins with antimalarial drugs, including substrate affinity, inhibition and regulation. *PloS One*, 2016;11(4): e0152677 [cit. 2017-10-10]. Dostupné na [www: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4821601/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4821601/).
76. Oga EF, Sekine S, Shitara Y, et al. Potential P-glycoprotein-mediated drug-drug interactions of antimalarial agents in caco-2 cells. *Am J Trop Med Hyg*, 2012;87(1):64–69.
77. Gofton TE, Al-Khotani A, O'Farrell B, et al. Mefloquine in the treatment of progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2011;82(4):452–455.
78. Moenster RP, Jett RA. Mirtazapine and mefloquine therapy for progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient infected with human immunodeficiency virus. *Am J Health Syst Pharm*, 2012;69(6):496–498.
79. Clifford DB, Nath A, Cinque P, et al. A study of mefloquine treatment for progressive multifocal leukoencephalopathy: results and exploration of predictors of PML outcomes. *J Neurovirol*, 2013;19(4):351–358.
80. Khatri BO, Man S, Giovannoni G, et al. Effect of plasma exchange in accelerating natalizumab clearance and restoring leukocyte function. *Neurol*, 2009;72(5):402–409.

Do redakce došlo dne 19. 3. 2018.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Svatava Snopková, Ph.D.

KICH FN Brno a LF MU

Jihlavská 340/20

625 00 Brno-Bohunice

e-mail: Snopkova.svatava@fnbrno.cz



XXVIII. Tomáškovy dny mladých mikrobiologů

Vážené kolegyně a kolegové,

rádi bychom Vás pozvali na konferenci Tomáškovy dny mladých mikrobiologů, kterou od roku 1992 každoročně organizuje Mikrobiologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u svaté Anny v Brně ve spolupráci s Československou společností mikrobiologickou. Dalšími oficiálními spolupořadateli konference jsou Společnost pro epidemiologii a mikrobiologii České lékařské společnosti J. E. Purkyně a Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS J. E. Purkyně.

Konference je určena především pro začínající autory, kteří zde mají možnost přednést své příspěvky na témata mikrobiologie v klinických a epidemiologických souvislostech, novinky z vědeckého výzkumu nebo na téma narůstajícího fenoménu bakteriální rezistence.

Letošní ročník proběhne v termínu 6. – 7. června 2019 v Kongresovém centru Masarykovy univerzity, Komenského náměstí 2, Brno.

Veškeré informace o XXVIII. Tomáškových dnech mladých mikrobiologů naleznete také na internetových stránkách www.med.muni.cz/tomdny.

Těšíme se s Vámi na viděnou!

Odborný garant:

doc. MUDr. Filip Růžička, Ph.D.
Mikrobiologický ústav LF MU
a FN u sv. Anny v Brně
Pekařská 53 CZ-65691 Brno

Hlavní organizátor:

Mgr. Lukáš Vacek
tomdny@med.muni.cz
tel: 543 183 097, 543 183 166
Mikrobiologický ústav LF MU
a FN u sv. Anny v Brně
Pekařská 53 CZ-65691 Brno

Botulismus – vzácné, ale stále se vyskytující život ohrožující onemocnění

Ambrožová H.

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

SOUHRN

Botulismus způsobený toxiny *Clostridium botulinum* a dalších neurotoxicých klostridií patří ke vzácným, ale život ohrožujícím onemocněním s neurologickými příznaky. Celosvětově je nejčastějším typem botulismus z potravin (alimentární intoxikace), vzácněji se vyskytuje raný či kojenecký botulismus a někdy i botulismus nejasné etiologie. V České republice se jedná o raritní onemocnění, od roku 2008 do současnosti bylo u nás hlášeno jen 9 případů (EPIDAT). Jednalo se většinou o sporadické případy potravinového botulismu, s výjimkou malé rodinné epidemie se třemi případy

vzniklé po požití doma připravené vepřové paštiky (2013). Tato epidemie pomohla ke vzniku Pohotovostní zásoby život zachraňujících antiinfektiv pro celou Českou republiku v Praze. Článek se zabývá etiologií, epidemiologií, klinickým obrazem, diagnostikou a léčbou botulismu.

KLÍČOVÁ SLOVA

botulismus – *Clostridium botulinum* – epidemiologie – klinický obraz – diagnostika – léčba

ABSTRACT

Ambrožová H.: Botulism – a rare but still present, life-threatening disease

Botulism caused by toxins of *Clostridium botulinum* and other neurotoxic clostridia is a rare but life-threatening disease with neurological symptoms. Food-borne botulism (food poisoning) is the most common type worldwide; rarely, wound botulism, infant botulism, or botulism of unknown etiology may also occur. Botulism is a very rare disease in the Czech Republic as well, with only nine cases reported since 2008 (EPIDAT). These

were mostly sporadic cases of food-borne botulism except a small family outbreak with three cases due to the consumption of homemade pork pate (2013). This outbreak prompted the creation of a national standby supply of life-saving anti-infective drugs in Prague. This article reviews the etiology, epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, and therapy of botulism.

KEYWORDS

botulism – *Clostridium botulinum* – epidemiology – clinical picture – diagnosis – treatment

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 68, 2019, č. 1, s. 33–38

ÚVOD

Botulismus patří ke vzácným, ale stále se vyskytujícím, život ohrožujícím alimentárním intoxikacím vyvolaných botulotoxiny neurotoxigenních klostridií, v jejichž klinickém obraze dominují neurologické příznaky. Vedle nejčastějšího botulismu po požití potravin se vyskytují i méně časté formy, a to raný a kojenecký botulismus, ale byly popsány i případy botulismu s ne zcela nejasnou etiologií. Terapeuticky se botulotoxin používá v neurologii v terapii některých spastických stavů a v korektivní dermatologii k vyhlazování vrásek. Při jeho nesprávném užití může dojít i k iatrogennímu botulismu a velmi obávané je i jeho možné zneužití k bioterorismu cestou kontaminovaných potravin či aerosolu (inhalační botulismus) [1].

HISTORIE

Botulismus je onemocnění známé v Evropě již od počátku 19. století, kdy se začaly objevovat epidemie otrav z jídla, především klobás. Právě z latinského botulus = klobása pochází jeho název. V roce 1820 německý hygienik

Justinus Kerner jako první objevil vztah mezi klobásami a paralytickým onemocněním u 230 pacientů, ve stejné době se v Rusku vyskytlo podobné onemocnění po požití ryb [2]. *Clostridium botulinum* bylo popsáno poprvé v roce 1897 van Ermengemem, který zjistil i produkci toxinu a jeho souvislost s neurologickými příznaky u zvířat. Jednalo se o toxin A, který však byl izolován a purifikován až v roce 1946, zatímco toxin B byl objeven již v r. 1904 [2]. Další typy botulismu byly popsány později, a to raný botulismus v roce 1943, kojenecký v roce 1976 a v roce 1986 byly hlášeny i sporadické případy botulismu související zřejmě s gastrointestinální kolonizací [2].

ETIOLOGIE

Původci botulismu jsou sporulující anaerobní grampozitivní neurotoxigenní klostridia, nejčastěji *Clostridium botulinum*, vzácně pak *Clostridium butyricum* a *Clostridium baratii* [3, 4, 5, 6]. Klostridia produkují botulinické neurotoxiny (BoNT), kterých je zatím známo 8 (A-H) a které patří k nejúčinnějším přírodním jedům. Lidská onemocnění vyvolávají typy A, B, E a velmi vzácně i F [3, 5] a H, který byl objeven teprve v roce 2014 [7]. Neurotoxiny C

SOUHRNNÉ SDĚLENÍ

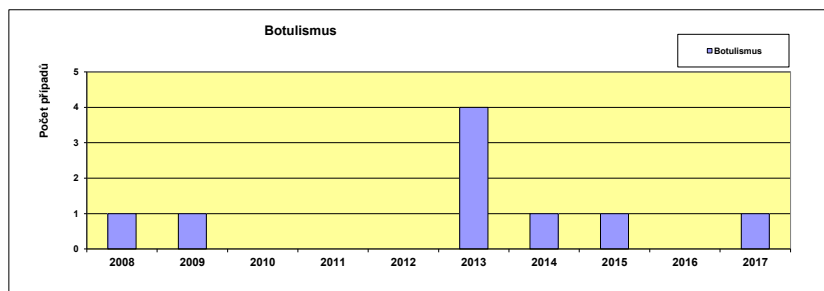
a D působí závažná, mnohdy epidemická onemocnění teplokrevných živočichů, zejména drůbeže, vodních ptáků, ale i hovězího dobytka, koní a kozešinových zvířat [8, 9]. Spory jsou termostabilní, zatímco toxiny jsou termolabilní.

EPIDEMIOLOGIE A VÝSKYT

Klostridia jsou běžnými komenzály gastrointestinálního traktu zvířat, s jejichž výkaly se dostávají do zevního prostředí. Zdrojem onemocnění u **botulismu z potravin** jsou klasicky hlavně doma připravené masové konzervy, paštiky, klobásy, ve kterých je již přítomen klostridiem vyprodukovaný toxin. Zdrojem však mohou být i zelenina, ovoce a ryby. Popsána byla onemocnění po požití doma připravené paštiky [10], klobás [11], tofu [12], barbecue [13], častým zdrojem byla i doma připravená zelenina – chřest, artyčoky, fazole či zeleninové polévky [14, 15, 16]. Ve Francii se rozvinul botulismus po požití šunky [17], v USA byly opakovaně zaznamenány epidemie botulismu u vězňů po požití domácího připraveného alkoholického nápoje z brambor [18]. Rizikové jsou také některé méně obvyklé kuchyňské úpravy potravin, jako je např. kvašení, které je oblíbené v mnoha zemích, např. v Číně (fazole) či na Aljašce (ryby). V Kanadě u Eskymáků byla popsána řada epidemií po požití takto připravených ryb a mořských savců [19, 20] či ptáků [21]. Narůstá také význam komerčně vyráběných potravin, zejména vakuově balených s prodlouženou trvanlivostí, které se před konzumací již tepelně neupravují, k otravám dochází i po požití jídla v restauracích. Příkladem může být epidemie po konzumaci vakuově balené fazolové polévky s nudlemi v Japonsku [22] či botulotoxin prokázaný v jahodovém kompotu z Německa [23], jindy byla zdrojem komerčně vyráběná chilli omáčka [24]. Potravinový botulismus je vyvolán nejčastěji toxinem A, méně často B či F, u pokrmů z ryb pak dominuje typ E [19], který byl v posledních dvou letech původcem epidemického výskytu botulismu po konzumaci ryb v Německu, Španělsku a na Ukrajině [25, 26]. Na rozdíl od ranného a kojeneckého botulismu se botulismus z potravin vyskytuje nejen sporadicky, ale i v epidemiích, inkubační doba je obvykle 6–72 hodin. Botulismus z potravin je v Evropě nejčastějším typem botulismu, zatímco v USA je častější botulismus kojenecký. V USA bylo v letech 1993–2008 hlášeno celkem 416 případů botulismu z potravin, epidemií bylo 58 [27]. **Ranný botulismus** je vzácnější než botulismus z potravin a vzniká po kontaminaci rány sporami klostridií, které klíčí, přeměňují se na vegetativní formu a produkují toxin, což je spojeno s delší inkubační dobou (4–14 dní). Může se jednat o infekci ran při traumatech, např. u otevřených zlomenin [28], infikovány mohou být i operační rány ve špatných hygienických podmínkách. Popsány byly i sinusitidy vzniklé po intranazální aplikaci kontaminovaného kokainu s následně vzniklým botulismem. Vůbec největší nárůst zaznamenal ranný botulismus v souvislosti s rozšířením heroinu (black – tar heroin) z Mexika do USA od 80. let 20. století [29]. První případy se v západních státech USA objevily v 90. letech, a to nejvíce v Kalifornii, kde byla hlášena řada případů u narkomanů užívajících subkutánně či intramuskulárně heroin. V letech 1991–2005 byl v Kalifornii potvrzen ranný botulismus u 29 uživatelů drog [29], v letech

1993–2006 se u 17 narkomanů vyskytl ranný botulismus dokonce opakovaně (14krát jedna rekurence, 3krát dvě rekurence) [28, 30]. Vzestup případů u narkomanů se v USA odrazil i v celkových číslech – zatímco v letech 1943–1985 bylo hlášeno CDC ve Spojených státech jen 33 případů ranného botulismu [31], v letech 1990–2002 to bylo již 217 případů, z toho 210 u uživatelů drog [31]. V Evropě je nejvyšší výskyt v Německu, kde byla na podzim 2005 během 3 měsíců zaznamenána epidemie u 16 narkomanů užívajících heroin [32, 33, 34], další případy byly hlášeny z Anglie [35], Švédska [36], Itálie [37], Norska, ale i jiných zemí [38]. Ranný botulismus byl popsán i u narkomanky po intravenózní aplikaci drog v souvislosti s infekcí hlubokých měkkých tkání krku [39]. Ranný botulismus vyvolávají toxiny A, B a vzácně E [34].

Kojenecký botulismus vzniká u kojenců do 1 roku života po kolonizaci gastrointestinálního traktu spory *Clostridium botulinum* a vzácně i *Clostridium butyricum* a *Clostridium baratii* s toxiny A, B a F [2, 5, 6]. Nový toxin H byl popsán rovněž u kojeneckého botulismu [7]. Neznalé střeva je nejprve kolonizováno spory, které se mění ve vegetativní formu a produkují toxin, který je ze střeva absorbován a vede ke vzniku onemocnění. Odhaduje se, že ke vzniku onemocnění stačí méně než 10–100 spór [40]. Jako zdroj se tradičně udává med, který může být kontaminován celosvětově v 6–10 %, a proto by dětem do 1 roku neměl být podáván [40, 41, 42]. V poslední době se však ukazuje, že neurotoxigenní klostridia ohrožující kojence mohou být nejen v medu, ale i jinde v prostředí. Při pátrání po zdroji onemocnění v rodinách nemocných kojenců byly spory klostridií nalezeny např. v domácím prachu [43, 44], půdě, studniční vodě používané pro přípravu kojenecké stravy [45], ale také ve vodě v teráriu se želvami [6]. Ukazuje se, že doma chovaní plazi nejsou ideálními domácími mazlíčky pro děti do 5 let a při manipulaci s nimi je nutná dostatečná hygiena. Kojenecký botulismus se vyskytuje i u velmi malých kojenců, starých jen několik dní; většina případů pak vzniká do 6 měsíců života. Kojenecký botulismus je v Evropě relativně vzácným, ale zřejmě nedostatečně diagnostikovaným onemocněním [40]. Od roku 1976 do roku 2006 bylo potvrzeno 65 případů ve 13 evropských zemích, nejvíce ve Španělsku, Itálii a Velké Británii [46]. Od roku 2006 do roku 2012 pak dalších 54 případů [46]. Výskyt v některých zemích a oblastech byl vyšší, např. v Andalusii bylo od roku 1997 potvrzeno 11 případů, zatímco v celém Španělsku jen 14 [46]. Ojedinelé případy kojeneckého botulismu byly popsány i ve Slovinsku, Finsku, Irsku a dalších zemích [6, 40, 43]. Nejvyšší počet případů kojeneckého botulismu s průměrně 80–110 případy ročně je hlášen z USA, kde kojenecký botulismus patří k nejčastějším formám, přičemž 90 % případů je u dětí mladších než 6 měsíců [47]. V letech 1992–2006 bylo hlášeno v USA 2 419 případů kojeneckého botulismu [2, 48]. Po prodělání kojeneckého botulismu se klostridia mohou vylučovat stolicí týdně až měsíce a mohou představovat riziko pro rodinné příslušníky [41]; u tříměsíčního finského dítěte s kojeneckým botulismem bylo popsáno vylučování *Clostridium botulinum* stolicí trvající ještě sedm měsíců po propuštění z nemocnice a normalizaci klinického stavu [43]. I u **botulismu z nejasného** zdroje u dospělých se předpokládá podobná patogenese, tj. jeho vznik po požití spor klostridií s kolonizací střeva, jejich vyklíčení ve střevě s následnou produkcí toxinu. Predisponujícím fak-



Graf 1. Výskyt botulismu v České republice v letech 2008–2017

Figure 1. Cases of botulism in the Czech Republic in 2008–2017

torem kolonizace gastrointestinálního traktu klostridií u dospělých může být achlorhydrie a antibiotická terapie. Konečně u inhalačního botulismu toxin přestupuje skrze plicní alveolární epitel do krevního oběhu. Klinické manifestace záleží spíše na typu produkovaného toxinu než na místě jeho produkce. Toxin typu A je nejúčinnějším přírodním toxinem.

BOTULISMUS V ČESKÉ REPUBLICE

Botulismus patří dlouhodobě v České republice (ČR) k velmi vzácným onemocněním. Šrámková a Vaništa uvádějí ve své práci z roku 1967, že v letech 1947–1967 bylo v ČR hlášeno jen 25 případů botulismu, z nichž většina byla diagnostikována pouze na základě klinického obrazu [49]. Průkaz toxinu byl tehdy prováděn jen výjimečně a všechny laboratorně prokázané případy byly vyvolány toxinem typu B. V letech 1960–2013 bylo u nás podle epidemiologických hlášení zasílaných do Státního zdravotního ústavu hlášeno celkem 119 případů botulismu, z toho nejvíce v letech 1966, 1998 a 2002, a to po 11, 6, respektive 8 případech [50–53]. Nejvyšší výskyt byl ve Středočeském, Severomoravském a Jihomoravském kraji, častěji byli postiženi muži, případy byly sporadické, ale i v malých epidemiích. Až na 2 případy kojeneckého botulismu se vždy jednalo o botulismus alimentární vyvolaný nejčastěji botulotoxinem typu B, ale vzácně i typem E a F [54]. Zdrojem onemocnění byly většinou masové a zeleninové konzervy domácí výroby (tlačenka, vepřové maso, klobása z divočáka, uzené maso, huspenina, paštika, konzervovaný salám, zavináče a naložení sledí), ale někdy i konzervy průmyslově vyráběné (lečo s moravskou klobásou, zavináče z konzervy, paštika a jahodový kompot z Německa, po jehož požití onemocněly tři ženy z jedné rodiny na Dobříši v roce 1998 [23]). V roce 1980 byl botulotoxin typu E příčinou onemocnění studenta nikoli po požití ryb, jak je obvyklé, ale zřejmě po požití doma připravené tlačenky [54]. O 10 let později pak vznikla malá epidemie na okrese Liberec, vyvolaná botulotoxinem typu F v nevhodně připravených sledích, při které byla zaznamenána i první u nás oficiálně potvrzená úmrtí – ze tří mužů dva zemřeli [53]. Další úmrtí následovalo v roce 1993, kdy na severní Moravě zemřel muž po požití zavináčů. Kojenecký botulismus se u nás vyskytl jen dvakrát, a to v letech 1979 a 1989 ve Východočeském kraji. V obou případech bylo ve stolici prokázáno *Clostridium botulinum* produkující toxin typu B. U prvního dítěte se příznaky onemocnění objevily již ve věku 24 dnů. V klinickém

obrazu dominovaly polykací obtíže a hypomimie, dítě bylo nutné krmit nazogastrickou sondou. Po 60 dnech hospitalizace skončilo onemocnění úzdavou. Zdrojem infekce byla pravděpodobně zavadná voda ze studny používaná k přípravě mléka [55]. Ve druhém případě se jednalo o osmiměsíčního kojence, který zvracel, byl plačtivý, spavý a náhle zemřel pod obrazem syndromu náhlého úmrtí kojence. Jako předpokládané vehikulum nákazy byl uváděn dudlík namáčený do medu, ale

vzorky medu byly negativní. V posledních deseti letech počet onemocnění botulismem ještě poklesl. Od roku 2008 do současnosti bylo hlášeno v České republice jen 9 případů s průměrným ročním výskytem 0–1 případ (graf 1). Výjimkou byl rok 2013 se čtyřmi případy, kdy se vyskytla u tří členů jedné rodiny malá rodinná epidemie alimentárního botulismu po požití doma připravené paštiky z vepřového masa a jater. Byli hospitalizováni na Infekční klinice Nemocnice na Bulovce a kazuistiku tohoto případu jsme publikovali v roce 2014 [56]. Zatím naposled jsme se s botulismem setkali v březnu 2015, kdy byla na naší klinice hospitalizována mladá žena s typickými neurologickými příznaky svědčícími pro botulismus [57]. Před přijetím k nám byla ambulantně vyšetřována a následně i hospitalizována ve dvou jiných zdravotnických zařízeních, kde byla provedena řada vyšetření včetně lumbální punkce, CT a magnetické rezonance mozku, ale správná diagnóza byla stanovena až za týden od počátku příznaků. Přesný zdroj onemocnění se nepodařilo určit, v úvahu přicházela konzumace sushi při cestě vlakem, vakuovaných párků či vakuované nakládané zeleniny zakoupené v obchodním řetězci. Žádný z našich pacientů neměl respirační insuficienci a onemocnění skončilo u všech čtyř postupnou úzdavou. Obtíže spojené se zajištěním antitoxinu pro více pacientů najednou vedly k vytvoření celostátní Pohotovostní zásoby život zachraňujících antiinfektiv pro Českou republiku při Toxikologickém středisku v Praze, kde je v případě potřeby dostupné sérum pro několik pacientů.

PATOGENEZE

U botulismu z potravin je preformovaný toxin přítomen přímo v potravíně, po jejímž požití je absorbován primárně v duodenu a jejunu a hematogenní cestou se dostává k periferním cholinergním synapsím [2]. Toxin zabírá uvolnění acetylcholinu a tím přenosu vzruchu na nervosvalové ploténce. Každý toxin má specifické místo aktivity; toxiny B, D, F a G štěpí synaptobrevin, toxiny A a E působí na protein SNAP-25, toxin C1 pak působí na syntaxin [2]. Výsledkem je postižení motorického systému ve formě chabých paréz s kraniokaudálním postupem. U kojeneckého botulismu a botulismu dospělých neznámé etiologie je nutné požití spór a teprve následná produkce toxinu ve střevě, u raného botulismu pak v ráně, s čímž souvisí delší inkubační doba, jak bylo výše uvedeno. Minimální infekční dávka je odhadována na 10–100 spor [40]. Při včasné terapii je botulismus reverzibilní onemoc-

SOUHRNNÉ SDĚLENÍ

nění; počáteční obnova funkce u typu A zahrnuje klíčení presynaptických axonů a následnou tvorbu nové synapse, později se obnoví i funkce původních synapsí [2].

KLINICKÝ OBRAZ

Přestože se jedná obvykle o alimentární intoxikaci, gastrointestinální příznaky nejsou pro botulismus typické. Někdy se může objevit nauzea, zvracení, křeče v břiše či průjem, který je ale mnohem méně častý než zácpa a je obvykle způsoben jiným vyvolávajícím agens [2]. V klinickém obraze dominují neurologické příznaky, průběh je afebrilní. Jedná se o symetrické chabé parézy, které postihují nejprve hlavové nervy a postupují kaudálně. Prvními příznaky, na které si pacient obvykle stěžuje, je sucho v ústech a rozmazané či dvojité vidění, následuje dysfagie, dysartrie, slabost horních i dolních končetin, častá je obstipace, případně rozvoj ileózního stavu. Nejzávažnější, život ohrožující komplikací je postižení interkostálních nervů, které může vést až k respirační insuficienci s nutností umělé plicní ventilace, případně úmrtí [21]. Při neurologickém vyšetření můžeme najít ptózu víček, mydriázu, strabismus, nystagmus, pacient má potíže s polykáním, řečí, vyprazdňováním, šlachové reflexy jsou slabé či vymizelé. Příznaky se mohou lišit podle typu toxinu, výše uvedené typické příznaky jsou spojeny hlavně s typem A, zatímco typy B a E působí spíše autonomní dysfunkci, jejímž projevem může být např. retence moči, hypotermie, změny klidové tepové frekvence aj. [2]. U dětí s kojeneckým botulismem dominují hlavně poruchy příjmu potravy spojené se ztíženým sáním a polykáním, děti zvýšeně sliní a jsou výrazně hypotonické [6, 46]. Kojenci neudrží hlavu, slabě pláčou, mají mydriázu, obstipaci a neurogenní dysfunkci močového měchýře, mohou být i letargičtí [6, 46]. Vzácná není ani respirační insuficience s nutností umělé plicní ventilace [3, 47]; k respirační insuficienci dochází až v 50 % případů [2]. U dětí je často nutné i krmení sondou [47]. Kojenecký botulismus je v Evropě zřejmě podhlášen, mnohdy se na něj nemyslí; lehčí případy mohou uniknout pozornosti, těžké mohou končit jako syndrom náhlého úmrtí kojence. Ranný botulismus nemá žádné gastrointestinální příznaky, ale při lokálním zánětu v ráně vyvolaném bakteriální superinfekcí může dojít ke zvýšení teploty či k horečce. Inhalací botulismus se projevuje podobně jako botulismus z potravin, popsáno bylo i několik případů botulismu po nesprávném použití botulotoxinu z kosmetických důvodů [58].

DIAGNOSTIKA

Diagnostika je založena na průkazu specifických protilátek proti botulinickému neurotoxinu (BoNT) metodou ELISA a na přímém průkazu botulinických neurotoxinů BoNT pomocí PCR (detekce genů exprimujících BoNT). Nejnovější metodou průkazu botulinických neurotoxinů BoNT je metoda SIMOA – Single Molecules (Protein) Assay detekující imunokomplexy bílkovinných botulotoxinů BoNT a jejich specifických protilátek. K vyšetření je třeba odeslat 10 ml srážlivé krve v chladicím boxu, případně vzorky podezřelých potravin. Toxin může být nalezen i ve stolici či v žaludečním obsahu [2]. V České republice provádí vyšetření Laboratoř pro anaerobní nákazy Státního zdravotního ústavu v Ostravě, botu-

lotoxiny u zvířat vyšetřují i Státní veterinární ústavy. Kultivace klostridií ze séra, stolice a vzorků z prostředí vyžaduje striktní anaerobní podmínky, provádí se v anaerobních boxech a anaerostatech a je dnes standardní metodou průkazu klostridií v klinických materiálech. K diagnostice svalového postižení lze využít elektromyografii.

DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA

Botulismus je velmi vzácné onemocnění, a protože většina lékařů se s ním nikdy nesetkala, obvykle se na něj nemyslí a stanovení diagnózy může někdy trvat delší dobu [54]. Botulismus má specifický klinický obraz – typický je afebrilní průběh bez poruchy vědomí s chabými symetrickými parézami postupujícími kraniokaudálně. V diferenciální diagnostice by mohla být brána v úvahu některá neurologická onemocnění, která však mají s botulismem shodné jen některé příznaky, zatímco jiné naopak postrádají, a obvykle se vyvíjejí déle a nemají fulminantní průběh [2]. Jedná se např. o myasthenia gravis a další myasthenické syndromy, např. Lambertův-Eatonův myasthenický syndrom [2, 59]. Pro syndrom Guillainův-Barrého jsou typické poruchy cití, rychlejší areflexie a postiženy jsou především dolní končetiny. Poliomyelitida má typické horečky a parézy jsou asymetrické. Botulismu se může podobat i intoxikace magnesiem, otrava organofosfáty, difterie či cévní mozková příhoda.

TERAPIE

Rozhodujícím léčebným opatřením je podání antitoxinů (botulinum antitoxin). Běžně se používá trivalentní koňské sérum Botulism-antitoxin Behring, které se podává v základní dávce 2 x 250 ml intravenózně, v případě potřeby je možné dávku opakovat. Podání je vhodné za monitorování pacienta nejlépe na JIP vzhledem k možné alergické reakci. Od roku 2010 se ve světě používá i heptavalentní varianta s antitoxiny A–G [60]. Vzhledem ke zvířecímu původu není sérum vhodné pro kojence (riziko závažných alergických reakcí a senzibilizace ke koňským proteinům [61]). Ve světě (např. v USA i v různých evropských zemích) je u nich používán lidský antitoxinální imunoglobulin BabyBIG s obsahem sedmi antitoxinů A–G [46]. Zatím není k dispozici antitoxin H. Vedle podání antitoxinu je v indikovaných případech nutná i intenzivní péče, případně umělá plicní ventilace. U ranného botulismu je nutné také ošetření rány a likvidace klostridií v ráně krystalickým penicilinem G v denní dávce 10–20 mil. j. i. v. Vedle penicilinu je možné použít i metronidazol [2]. Podání antibiotik je doporučováno i u kojeneckého botulismu k likvidaci klostridií ve střevě. Závěrem poznámka k praxi: V případě potřeby Botulism-antitoxin Behring je třeba jeho poskytnutí předem dojednat v Toxikologickém informačním centru v Praze (ulice Na Bojišti) a zajistit si jeho dopravu na pracoviště.

PROGNÓZA

Botulismus je při příznivém průběhu reverzibilní onemocnění, byť plná úprava klinického stavu si někdy vyžaduje několik týdnů až měsíců; nejdéle přetrvává svalová

slabost. Při postižení interkostálních svalů s respirační insuficiencí je prognóza nejistá a často jsou popisována úmrtí. Nejrizikovější je botulismus způsobený toxiny A a E, méně rizikový toxinem typu B.

PREVENCE

V prevenci je nejdůležitější správné zacházení s potravinami a jejich příprava. Nejvhodnější je dostatečná tepelná úprava, protože botulotoxin je termolabilní a varem či ohřevem je ničen. U kojenců není vhodné podávání medu. Imunita po prodělaném onemocnění nevzniká a jsou popisovány i opakované případy. Podávání pentavalentní vakcíny používané u laboratorních pracovníků a vojáků bylo přerušeno v roce 2011 pro nedostatečnou účinnost a četné lokální reakce. Ve vývoji jsou nové vakcíny včetně rekombinantní toxin A/B vakcíny a inhalačních vakcín [2].

ZÁVĚR

Přestože je botulismus u nás velmi vzácným onemocněním, stále se (byť ojediněle) vyskytuje a je třeba na něj myslet při diferenciální diagnostice onemocnění s afebrilním průběhem, symetrickými chabými parézami s kraniokaudálním šířením a podezřelou epidemiologickou anamnézou. Z několika možných forem botulismu je v České republice nejčastější botulismus po požití potravin s preformovaným toxinem; vedle tradičních doma připravených konzerv či klobás se však v poslední době uplatňují i další zdroje – např. suší a zejména vakuované potraviny s delší trvanlivostí, které se před použitím již tepelně nezpracovávají. Pacient s podezřením na botulismus by měl být vždy hospitalizován (ideálně na infekčním oddělení) až do potvrzení či vyloučení diagnózy a v případě průkazu botulotoxinu pak i adekvátně léčen na jednotce intenzivní péče. Vzhledem k nebezpečí z prodlení však zahajujeme léčbu antitoxinem již při podezření na botulismus z klinického obrazu a nečekáme na jeho definitivní laboratorní potvrzení.

LITERATURA

- Adalja AA, Toner E, Inglesby TV. Clinical management of potential bioterrorism – related conditions. *N Engl J Med*, 2015;372:954–962.
- Hodowanec A, Bleck TP. Botulism (*Clostridium botulinum*) in Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Elsevier Saunders, Philadelphia 2015, Eight ed.; Vol. 2:2763–2767.
- Tréhard H, Poujol I, Mazuet C, et al. A cluster of three cases of botulism due to *Clostridium botulinum* type F, France, August 2015. *Euro Surveill*, 2016;21(4). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.4.300117.
- Dykes JK, Luquez C, Raphael BH, et al. Laboratory investigation of the First Case of Botulism caused by *Clostridium butyricum* Type E in the United States. *J Clin Microbiol*, 2015;53(10):3363–3365.
- Moodley A, Quinlisk P, Garvey A, et al. Notes from the field: infant botulism caused by *Clostridium botulinum* type F – Iowa, 2013. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2015;64(14):4006.
- Shelley EB, O'Rourke D, Grant K, et al. Infant botulism due to *C. butyricum* type E toxin: a novel environmental association with pet terrapins. *Epidemiol Infect*, 2015;143(3):461–469.
- Lafuente S, Barasah JR, Aron SS. A Novel Strain of *Clostridium botulinum* that Produces Type B and type H Botulinum Toxins. *J Infect Dis*, 2014;209(2):183–191.

- Anza I, Skarin H, Vidal D, et al. The same clade of *Clostridium botulinum* strains is causing avian botulism in southern and northern Europe. *Anaerobe*, 2014;26:20–23.
- Krüger M, Neuhaus J, Herrenthey AG, et al. Chronic botulism in a Saxony dairy farm: sources, predisposing factors, development of the disease and treatment possibilities. *Anaerobe*, 2014;28:220–225.
- Lafuente S, Nolla J, Valdezate S, et al. Two simultaneous botulism outbreaks in Barcelona: *Clostridium botulinum* and *Clostridium botulinum*. *Epidemiol Infect*, 2013;141(9):1993–1995.
- Zhang S, Wang Y, Qiu S, et al. Multilocus outbreak of foodborne botulism linked to contaminated sausage in Hebei province, China. *Clin Infect Dis*, 2010;51(3):322–325.
- Foodborne botulism from home-prepared fermented tofu – California 2006. *Centre for CDC MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2007;56(5):96–97.
- Meusbürger S, Reichert S, Heibel S, et al. Outbreak of foodborne botulism linked to barbecue, Austria 2006. *Euro Surveill*, 2006;11(12):E061214.4.
- Date K, Fagan R, Crossland, et al. Three outbreaks of foodborne botulism caused by unsafe home canning of vegetables – Ohio and Washington, 2008 and 2009. *J Food Prot*, 2011;74(12):2090–2096.
- Oriot C, D'Aranda E, Castanier M, et al. One collective case of type A foodborne botulism in Corsica. *Clin Toxicol (Phila)*, 2011;49(8):752–754.
- Daminelli P, De Nadai V, Bozzo G, et al. Two unlinked cases of foodborne botulism in Italy at the beginning of 2010. *New Microbiol*, 2011;34(3):287–290.
- Mazuet C, Sautereau J, Legeay C. An atypical outbreak of food-borne botulism due to *Clostridium botulinum* types B and E from ham. *J Clin Microbiol*, 2015;53:722–726.
- Williams BT, Schlein SM, Caravati EM, et al. Emergency department identification and critical care management of a Utah prison botulism outbreak. *Ann Emerg Med*, 2014;64(1):26–31.
- Leclair D, Fung J, Isaac-Renton JL, et al. Foodborne botulism in Canada, 1985 – 2005. *Emerg Infect Dis*, 2013;19(6):961–968.
- Fagan RP, McLaughlin JB, Castrodale LJ, et al. Endemic foodborne botulism among Alaska Native persons – Alaska, 1947–2007. *Clin Infect Dis*, 2010;51(3):585–592.
- Hammer TH, Jespersen S, Kanstrup J, et al. Fatal outbreak of botulism in Greenland. *J Infect Dis*, 2015;47(3):190–194.
- Momose Y, Asakura H, Kitamura M, et al. Food-borne botulism in Japan in March 2012. *Int J Infect Dis*, 2014;24:20–22.
- Chmelář, D. Průkaz botulotoxinu v konzervovaných jahodách. *Zprávy CEM* 1998;7(10):394–395.
- Juliao PC, Maslanka S, Dykes J, et al. National outbreak of type a foodborne botulism associated with a widely distributed commercially canned hot dog chili sauce. *Clin Infect Dis*, 2013;56(3):376–382.
- Špačková M, Fabiánová K. Epidemický výskyt botulismu po konzumaci ryb na Ukrajině. *Zprávy CEM*, 2017;26(6-7):236.
- Špačková M, Fabiánová K. Výskyt botulismu po konzumaci ryb v Německu a Španělsku v roce 2016 a 2017. *Zprávy CEM*, 2017, 26(4):152–156.
- Newkirk RW, Hedberg CW. Rapid detection of foodborne botulism outbreaks facilitated by epidemiological linking of cases: implications for food defense and public health response. *Foodborne Pathog Dis*, 2012;9(2):150–155.
- Taylor SM, Wolfe CR, Dixon TC, et al. Wound botulism complicating internal fixation of a complex radial fracture. *J Clin Microbiol*, 2010;48(2):650–653.
- Davis LE, Koing MK. Wound botulism from heroin skin popping. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2008;8(6):426–428.
- Yuan J, Inami G, Mohle – Boetani J, Vugia DJ. Recurrent wound botulism among injection drug users in California. *Clin Infect Dis*, 2011;52(7):862–866.
- Reller ME, Douce RW, Maslanka SE, et al. Wound botulism acquired in the Amazonian rain forest in Ecuador. *Am J Trop Med Hyg*, 2006;74(4):628–631.

SOUHRNNÉ SDĚLENÍ

32. Schroeter M, Alpers K, Van Treeck U, et al. Outbreak of wound botulism in injection drug users. *Epidemiol Infect*, 2009;137(11):1602–1608.
33. Kalka-Moll WM, Aurbach U, Schaumann R, et al. Wound botulism in injection drug users. *Emerg Inf Dis*, 2007;13(6):942–943.
34. Galldiks N, Bewermeyer H, Walger P, et al. Rapid geographical clustering of wound botulism in Germany after subcutaneous and intramuscular injection of heroin. *Neurocrit Care*, 2007;6(1):30–34.
35. Akbulut D, Dennis J, Gent M, et al. Wound botulism in injectors of drugs: upsurge in cases in England during 2004. *Euro Surveill*, 2005;10(9):172–174.
36. Artin I, Björkman P, Cronquist J, et al. First case of type E wound botulism diagnosed using real-time PCR. *J Clin Microbiol*, 2007;45(11):3589–3594.
37. Rodolico C, Barca E, Fenicia L, et al. Wound botulism in injection drug users: a still underestimated diagnosis. *Neurol Sci*, 2010;31(6):825–827.
38. MacDonald E, Arnesen TM, Brantsaeter AB, et al. Outbreak of wound botulism in people who inject drugs, Norway, October to November 2013. *Euro Surveill*, 2013;18(45):20630.
39. Gouveia C, Mookherjee S, Russell MS. Wound botulism presenting as a deep neck space infection. *Laryngoscope*, 2012;122(12):2688–2689.
40. Radšiel A, Andlovic A, Neubauer D, et al. Infant botulism: First two confirmed cases in Slovenia and literature review. *Eur J Pediatr Neurol*, 2013;23:doi:pii:S1090-3798(13)00066-4.
41. Hoarau G, Pelloux I, Gayot A, et al. Two cases of type A infant botulism in Grenoble, France: no honey for infants. *Eur J Pediatr*, 2012;171(3):589–591.
42. Abdulla CO, Ayubi A, Zulfiguer F, et al. Infant botulism following honey ingestion. *BMJ Case Report* 2012, published online, 2012, Sep7.doi:10.1136/bcr.11.2011.5153.
43. Dertman Y, Korkeala H, Salo E, et al. Infant botulism with prolonged faecal excretion of botulinum neurotoxin and *Clostridium botulinum* for 7 months. *Epidemiol Infect*, 2013;1–5 (Epub ahead of print).
44. Krüger M, Grose-Herrenthey A, Schrödl W, et al. Visceral botulism at dairy farms in Schleswig Holstein, Germany – Prevalence of *Clostridium botulinum* in feces of cows, in animal feeds, in feces of the farmers and in house dust. *Anaerobe*, 2012;18(2):221–223.
45. Kobayashi T, Haginoya K, Morimoto T, et al. A case of infant botulism infection due to consumption of untreated well-water. *J Pediatr*, 2014;164(4):931–933.
46. López-Laso E, Roncero-Sánchez-Cano I, Arce-Portillo et al. Infant botulism in Andalusia (Southern Spain). *Eur J Paed Neurol*, 2014;18:321–326.
47. Brown N, Desai S, et al. Infantile botulism: a case report and review. *J Emerg Med*, 2013;45(6):842–845.
48. Koepke R, Sobel J, Arnon, SS. Global occurrence of infant botulism. 1976–2006. *Pediatrics*, 2008;122:e73–e82.
49. Šrámková L, Vaništa. Botulismus. *Therapie der Gegenwart*: Monatsschrift für praktische Medizin, 1967;106(3):361–362.
50. Šrámková H, Beneš J. Výskyt botulismu v České republice v období 1990–1998. *Prakt Lék*, 1999;79(5):260–263.
51. Šrámková H, Beneš Č. Výskyt botulismu v České republice. *Zprávy CEM*, 1998;7(10):395–397.
52. Šrámková J, Beneš Č. Výskyt botulismu v České republice. *Medica revue*, 1998;5(5):18–19.
53. Šrámková H, Beneš Č. Botulismus v České republice. *Čas Lék Čes*, 1991;130(4):103–107.
54. Lasovská J, Zavadová M, Doulík S, Vaništa J. Neobvyklý průběh botulismu vyvolaného botulotoxinem typu E. *Prakt Lék*, 1983;63(1):12–13.
55. Neubauer M, Miláček V. Kojenecký botulismus. *Českoslov Ped*, 1981;36(9):527–529.
56. Ambrožová H, Džupová O, Smíšková D, Roháčová H. Familiární výskyt botulismu – kazuistika. *Klin Mik Inf Lék*, 2014;20(2):40–42.
57. Ambrožová H, Smíšková D. Botulismus – co nového? Kazuistika dalšího případu botulismu na infekční klinice Nemocnice Na Bulovce. *Klin Mik Inf Lék*, 2015, 21(3). (Kongres klinické mikrobiologie, infekčních nemocí a epidemiologie – KMINE 2015. Špindlerův Mlýn, 23.–25. září 2015), s. 104.
58. Chertow DS, Tan ET, Maslanka SE, et al. Botulism in 4 adults following cosmetic injections with an unlicensed, highly concentrated botulinum preparation. *JAMA*, 2006;296:2476–2479.
59. Ha JC, Richman DP. Myasthenia gravis and related disorders: Pathology and molecular pathogenesis. *Biochem Biophys Acta*;1852(4):651–657.
60. Centers for Disease Control and Prevention. Investigational heptavalent botulinum antitoxin (HBAT) to replace licensed botulinum antitoxin AB and investigational botulinum antitoxin E. *MMWR Morb Mortal Wkly*, 2010;59:299.
61. Arnon SS, Schechter R, Maslanka SE, et al. Human botulism immune globulin for the treatment of infant botulism. *N Engl J Med*, 2006;354:462–464.

Do redakce došlo dne 4. 5. 2018.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Helena Ambrožová, Ph.D.

Klinika infekčních nemocí 2. LF UK a Nemocnice Na Bulovce
Budínova 2
180 00 Praha 8
e- mail: helena.ambrozova@bulovka.cz

ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE

Nové možnosti rychlé diagnostiky ABT rezistence přímo z bakteriální kultury

NG-Test CTX-M



NG-Test CARBA 5



NG-Test CTX-M Multi

Rychlá detekce
karbapenemáz

(KPC, OXA, VIM, IMP, NDM)

Rychlá detekce
širokého spektra β -laktamáz (ESBLs)

Group 1: CTX M-1, -3, -10, -15, -32, -37, -55, -57,
-71, -82, -101, -182

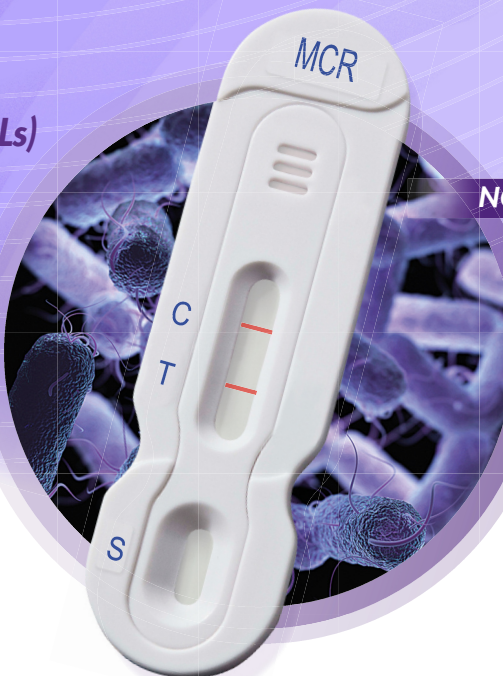
Group 2: CTX-M-2

Group 8: CTX-M-8

Group 9: CTX-M-9, -13, -14, -17, -18, -19, -24,
-27, -65, -93

Group 25: CTX-M-94, -100

NG-Test MCR-1



Rychlá detekce
rezistence
ke Colistinu



Dekontaminace zasahujících složek při kontaminaci vysoce rizikovými biologickými agens

Rybka A.¹, Gavel A.², Pražák P.³, Meloun J.⁴, Pejchal J.⁵

¹Vojenský zdravotní ústav, Agentura vojenského zdravotnictví Armády České republiky, Praha

²Institut ochrany obyvatelstva, Hasičský záchranný sbor České republiky, Praha

³Katedra informatiky a kvantitativních metod, Fakulta informatiky a managementu, Univerzita obrany, Hradec Králové

⁴Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem

⁵Katedra toxikologie a vojenské farmacie, Fakulty vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Hradec Králové

SOUHRN

Dekontaminace je jedním z klíčových procesů snižujících riziko šíření vysoce rizikových biologických patogenů, mezi které řadíme i mikroorganismy ze skupiny vysoce nakažlivých nemocí. Zatímco dekontaminace objektů a povrchů obvykle nevyžaduje urgentní řešení, dekontaminace personálu používajícího osobní ochranné prostředky je prováděna bezprostředně po skončení činnosti v nebezpečné zóně. Účinnost tohoto procesu, pro který je vyhrazen relativně krátký časový úsek, závisí zejména na množství mikroorganismu, bezprostřední dezinfekci spojené s následným mechanickým očištěním kontaminovaného místa, druhu dezinfekčního přípravku, jeho koncentraci, spektru účinku, délce expozice, vnějších podmínkách (teplota, pH, vlhkost, biologická

i nebiologická zátěž), technických prostředcích, druhu dekontaminovaného povrchu (zejména pórovitost) i s ohledem na materiálovou kompatibilitu a v neposlední řadě na zkušenostech osoby, která dekontaminaci provádí nebo podstupuje. Experimentální testy za použití vhodného biologického simulantu jsou nezbytné k identifikaci vlivů výše uvedených faktorů. Po nalezení optimálního způsobu dekontaminace by měl následovat praktický výcvik všech složek a jeho zavedení do výcvikového programu.

KLÍČOVÁ SLOVA

biologické agens – dekontaminace – spory – antrax – osobní ochranné prostředky – ohnisko nákazy – CBRN

ABSTRACT

**Rybka A., Gavel A., Pražák P., Meloun J., Pejchal J.:
Decontamination of CBRN units contaminated by highly contagious biological agents**

A decontamination process plays a key role in management of biological incidents. While decontamination of surfaces and buildings located in the hot zone can be usually postponed until an agent is confirmed and an adequate planning phase is established, personnel wearing personal protective equipment must be decontaminated prior to their final exit from the hot zone. Because CBRN units require the shortest possible duration of this procedure, many factors must be considered, including concentration of biological agents, precleaning, disinfectant

formulae, its concentration and spectrum of efficacy, contact time, external conditions (temperature, pH, relative humidity, soil load), technical assets used for decontamination, decontaminated surface (compatibility, pores), and staff performance. Experimental tests with surrogates of biological agents are thus necessary to identify above-mentioned points. Once an optimal decontamination procedure is recognized, a field rehearsal must follow and the method using a surrogate must be implemented into a training process of CBRN units.

KEYWORDS

biological agents – decontamination – spores – anthrax – personal protective equipment – hot zone – CBRN

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 68, 2019, č. 1, s. 40–45

ÚVOD

Mimořádné události nebo epidemie spojené s výskytem vysoce rizikových biologických patogenů kladou velmi vysoké nároky na všechny složky, které se podílí na jejich likvidaci. Jedním z klíčových procesů snižujících riziko šíření těchto biologických agens (B-agens) a možnost nákazy osob je správné provedení dekontaminace zasahujícího personálu, který používá adekvátní osobní ochranné prostředky (OOP). Dekontaminace B-agens se týká nejen složek integrovaného záchranného systému (IZS), ale i personálu laboratoří a zdravotnických zařízení vyhrazených pro práci s vysoce rizikovými B-agens. Pro účely tohoto textu se B-agens rozumí heterogenní skupi-

na vysoce rizikových mikroorganismů, do které spadají i patogeny řazené mezi vysoce nakažlivé nemoci. Existuje několik definic dekontaminace. Pro účely tohoto textu je dekontaminace chápána jako proces, při němž dochází k odstranění a/nebo inaktivaci etiologických agens z materiálů, kapalin, prostor, popř. prostředí. Mezi základní dekontaminační postupy se řadí mechanická očista, dezinfekce a sterilizace. Mechanickou očistou se rozumí soubor mechanických postupů, které snižují a odstraňují zejména viditelné anorganické a organické nečistoty a biofilm z ploch a materiálů. Dezinfekce je soubor opatření vedoucích k zneškodnění mikroorganismů pomocí fyzikálních, chemických, fyzikálně-chemických nebo biologických (mezidruhový parazitismus mikroorgani-

smů) postupů, jež mají přerušit cestu nákazy od zdroje k vnímavé osobě. Sterilizaci se nazývá proces, který vede k usmrcení všech mikroorganismů schopných rozmnožování, včetně jejich spor, vede k nezvratné inaktivaci virů a usmrcení zdravotně významných červů a jejich vajíček. Sterilizace uplatňuje pouze fyzikální, chemické a kombinované fyzikálně-chemické postupy [1].

Účinnost procesu dekontaminace závisí zejména na množství B-agens, bezprostřední dezinfekci a následném mechanickém očištění kontaminovaného místa, druhu dezinfekčního přípravku, jeho koncentraci, spektru účinku, délce expozice, vnějších podmínkách (teplota, pH, vlhkost, biologická i nebiologická zátěž), technických prostředcích, druhu dekontaminovaného povrchu (zejména pórovitost) i s ohledem na materiálovou kompatibilitu a v neposlední řadě i na zkušenostech osoby, která dekontaminaci provádí nebo podstupuje [2–4]. Výběr dezinfekčního přípravku a způsob jeho použití probíhá na základě doporučení výrobce, jež se opírá o laboratorní testy provedené v rámci uvádění přípravku na komerční trh. Laboratorní podmínky nemusí postihnout variabilitu reálného prostředí a aplikací ovlivňujících výsledný efekt (např. lidský faktor při nanášení roztoku, aktivní přístup dekontaminovaného, teplota okolního prostředí). Ideálním způsobem zhodnocení účinnosti dezinfekčního přípravku pro reálné prostředí by bylo testování, podobně jako v případě klinických studií při vývoji nových léků. Přestože je zavedení těchto metod do rutinního testování dezinfekčních přípravků nepraktické, v případě B-agens je ověření způsobu jejich dekontaminace v praxi více než žádoucí i s vědomím částečně limitované reprodukovatelnosti výsledků [3].

SPEKTRUM, KONCENTRACE, SLOŽENÍ A EXPOZIČNÍ DOBA DEZINFEKČNÍCH PŘÍPRAVKŮ

V současné době na trhu existuje celá řada dezinfekčních přípravků s různým použitím v odlišných odvětvích (např. potravinářství, zemědělství, zdravotnictví). Oblast a způsob aplikace přípravku uvádí výrobce v návodu na etiketě, v příbalové informaci nebo v bezpečnostním listu. Dekontaminaci zasahujícího personálu v OOP lze přirovnat k tzv. dezinfekci velkých ploch a povrchů ve zdravotnictví, přičemž průměrná velikost plochy ochranného oděvu při započítání záhybů činí cca 2,5–3 m² (např. orientační výpočet vycházející z výšky a hmotnosti osoby). Při výběru dezinfekčního přípravku je rozhodující jeho spektrum účinnosti. Rozlišuje se působení statické, které znamená dočasnou ztrátu schopnosti množení nebo pokles růstové aktivity (bakteriostatické, fungistatické a sporistatické), a působení cidní, při němž dochází k trvalému usmrcení (baktericidní – A, virucidní – B, sporicidní – C, tuberkulocidní – T, mycobaktericidní – M, fungicidní – V) [1]. Při výskytu vysoce rizikových biologických patogenů budou vždy použity biocidní přípravky, např. pro usmrcení spor *Bacillus anthracis* jsou klíčové dezinfekční přípravky se sporicidním účinkem. Mezi nejběžněji používané látky s dezinfekčním účinkem patří přípravky s oxidačními schopnostmi, např. peroxosloučeniny I. a II. generace, peroxid vodíku nebo chlorové preparáty [5, 6]. Koncentrace účinných látek v připraveném dezinfekčním přípravku obvykle dosa-

huje jednotek procenta [1]. Faktorem vstupujícím do výsledného účinku může být i celkové složení výrobku. Dva různé komerční produkty se stejnou účinnou látkou mohou vykazovat v praktických testech odlišné účinky, např. z důvodu rozdílných přídavných látek. Obdobně je vhodné vnímat kompatibilitu dezinfekčních přípravků a mycích a čisticích prostředků. Zbytky čisticích prostředků, které ulpí na povrchu, mohou negativně interferovat s dezinfekčním přípravkem během závěrečného úklidu kontaminovaného prostoru (např. anionické detergenty s dezinfekčními přípravky na bázi kvarterních amoniových solí) [3].

Další rozhodujícím kritériem pro zasahující složky je expoziční doba (kontaktní čas). Tato doba by měla být co nejkratší při současném zachování požadovaného účinku [7]. Důvodem tohoto požadavku je limitace použití OOP, zejména s ohledem na omezenou zásobu vzduchu v tlakových lahvích, které zasahující složky používají. Zasahující složky budou preferovat dekontaminační metody, jejichž celková doba nepřesáhne 5 minut. Zkrácení expozičního času a rozšíření spektra účinku může být podle některých autorů dosaženo zvýšením koncentrace dezinfekčního přípravku. Tuto premisu však nelze aplikovat univerzálně. Nevýhodou použití vysokých koncentrací dezinfekčních látek může být např. poškozování dekontaminovaného materiálu a s tím související nárůst finančních nákladů. Je proto potřeba laboratorních i experimentálních testů k prokázání ideálního vztahu mezi těmito veličinami s ohledem na další faktory (např. dekontaminovaný materiál, organickou/anorganickou zátěž [viz dále]), které mohou ovlivnit výsledný efekt [4].

VLIV PROSTŘEDÍ

Při experimentálním testování účinnosti dekontaminace B-agens nelze opomíjet hodnocení vlivu prostředí. Snížení účinku dezinfekčního přípravku může dojít mj. při změně teploty, pH, vlhkosti, přítomnosti organické/anorganické (inhibiční) zátěže (viz dále) nebo tvrdosti vody používané k ředění.

Při používání dezinfekčních přípravků je nutné postupovat podle doporučení výrobce, který stanoví aplikační teplotní rozmezí. Obecně platí, že dezinfekční přípravky jsou nejúčinnější při pokojové teplotě [3, 4]. Na druhou stranu bylo prokázáno, že v případě chlornanů v kombinaci s nízkou organickou zátěží lze dosáhnout srovnatelných výsledků i při teplotě 4 °C [8]. V předpisech HZS ČR je povoleno používat peroxyoctovou kyselinu a dvou-složkový přípravek Hvězda (složka A tvoří alkalizovaná směs tenzidů, složka B peroxid vodíku) od teploty 0 °C [6]. Výrobce rovněž doporučuje ideální pH roztoku přípravku k použití. Vyšším zásaditějším pH lze dosáhnout antimikrobiálního účinku v případě glutaraldehydu nebo přípravku Hvězda, chlorové preparáty naopak svůj efekt ztrácí [1, 9].

Relativní vlhkost vzduchu ovlivňuje dezinfekční účinek negativním i pozitivním způsobem. Při zaslhlém kontaminantu vyšší relativní vlhkost vzduchu pomáhá rehydratovat povrch, čímž usnadní průnik aktivní látky. Nízká relativní vlhkost vzduchu naopak urychlí zasychání dezinfekčního přípravku a tím zkrátí expoziční dobu nutnou ke zničení cílového mikroorganismu [3].

SOUHRNNÉ SDĚLENÍ

Organická/anorganická zátěž představuje směs organických a/nebo anorganických látek, které mohou přímo inhibovat aktivní složku dezinfekčního přípravku nebo zabránit jejímu průniku k cílovému agens [3]. Technická norma ČSN EN 13 704 doporučuje za účelem hodnocení sporicidního účinku chemických dezinfekčních přípravků použití 0,3 g/l hovězího albuminu za čistých podmínek, někteří autoři používají koncentraci i vyšší (3 g/l hovězího albuminu) [10]. V zahraniční literatuře lze dohledat pro imitaci lehké organické zátěže 5% sérum nebo trojsložkový roztok tryptonu, hovězího albuminu a mucinu [8, 11]. Použití simulantů zaschlé krve nebo jiných výmětů není podporováno z důvodu požadavku na bezprostřední dezinfekci a následné provedení mechanické očisty při potřísnění OOP [3]. Zatímco účinek některých dezinfekčních přípravků je prudce snižován v přítomnosti organických látek (např. chlornany, chloraminy) [1], u peroctové kyseliny je jejich vliv minimální [9, 11, 12]. V případě chlornanových preparátů lze však vhodnou kombinací s jinými látkami dosáhnout adekvátního výsledku, jak ukázala práce s relativně novým, dvousložkovým přípravkem PTSPCH-J, který obsahuje ve složce A N-metyl-2-pyrrolidon tri-n-butylfosfát a tenzid a ve složce B 0,64 mol/dm³ chlornanu sodného [9]. Při laboratorním testování dezinfekčních přípravků se pro jejich ředění ve většině případů používá destilovaná voda. Při zásahu složek IZS při výskytu B-agens není tento druh vody k dispozici, proto by ředění dezinfekčního přípravku k ověření účinnosti dekontaminace v praxi mělo být prováděno s běžně dostupnou kohoutkovou vodou. Někteří autoři doručují jako výchozí hodnotu tvrdosti vody 400 ppm CaCO₃, podle technické normy ČSN EN 13 704 je doporučena tvrdost vody pod 300 ppm CaCO₃ [3].

VLIV TECHNICKÝCH PROSTŘEDKŮ

Způsob nanášení dezinfekčního přípravku a s ním spojený objem roztoku patří mezi další klíčové faktory ovlivňující efektivnost prováděné dekontaminace. Dekontaminace zasahujících v OOP je prováděna nanášením dezinfekčního roztoku pomocí aplikačních (postřikovač, sprcha) nebo mechanických prostředků (kartáč). Pro jednotku požární ochrany HZS ČR je v případě použití sprchy doporučený objem 0,5 l/m², v případě mechanického prostředku se jedná o objem minimálně 1 l/m² [6]. Dekontaminační stany obsahující sprchy se v množství nanášeného roztoku liší v závislosti na tlaku čerpadla, počtu hlavice a trysek, jejich velikosti apod. Některé trysky umožňují průtok 0,8–1,1 l/min, v jiném případě se udává celkový sprchovací objem až 120 l/min (např. stan ES-56LDK, Dekonta). Podobné údaje lze nalézt i v zahraničních zdrojích, ve kterých je průměrný objem dekontaminačního roztoku velkoobjemových dekontaminačních stanů odhadnut na cca 100 l/min [13]. Nevýhodou těchto stanů se sprchou je velká spotřeba vody a dekontaminačního přípravku a s tím související veliký objem odpadu, který je nutné odborně zlikvidovat. Podobně i v BSL-4 laboratořích se celkové množství odpadní tekutiny pohybuje v rozmezí 45–228 l/cykus [14]. Z těchto důvodů někteří autoři doporučují použití speciálních trysek generujících jemný aerosol o velikosti částic 20 µm. Při použití osmi trysek o průměru výstupního otvoru 0,3 mm a tlaku 90 barů bylo dosaženo průtoku 0,55 l/min

v trysce a kompletního pokrytí všech částí figuríny lidského těla. Souhrnný průtok činil 4,4 l/min, což je více než dostačující při potřebě roztoku 0,5 l/m² podle Řádu chemické služby HZS ČR [13]. V té samé studii bylo navíc prokázáno, že při použití jemného aerosolu bylo zachyceno až 50 % nanášené vody na povrchu figuríny. V případě vysokoprůtokových sprch se toto číslo pohybuje okolo 2 % (hodnoceno na figuríně bez nesmáčivého povrchu). Dalším negativním faktorem je vyšší pravděpodobnost aerosolizace kontaminantu [15]. Dekontaminaci aerosolem podporuje i studie, která porovnávala efekt dekontaminace s ohledem na vzdálenost od trysky. Umístění vzorků materiálu oděvu s nanesenými sporami cca 15 cm od trysky nevedlo k významnější redukci mikrobiální zátěže v porovnání s dekontaminací figuranta v celotělovém oděvu, jenž stál ve větší vzdálenosti od sprchových hlavice [14].

Další variantou jsou tzv. jednotrýskové (bodové) aplikační prostředky podobné zahradním postřikovačům, které mohou být poháněny tlakovým vzduchem nebo ovládány ručně. Průtok daným zařízením se liší v závislosti na tlaku. Calfee et al. nepozorovali rozdíl v účinnosti relativně nízkotlakých ručních (2,4 bar, 1 l/min) a vysokotlakých (228 bar, 12 l/min, respektive 20 bar a 39,7 l/min) přístrojů během dekontaminace povrchů [15]. Negativní stránkou těchto přístrojů je nanášení roztoku pouze na určitou část osoby, což vyžaduje spolupráci obsluhy a dekontaminovaného. Na druhou stranu jsou snadno ovladatelné, rychleji rozvinutelné a neprodukují velké množství odpadní tekutiny.

Při testech s fluorescenčním práškem bylo prokázáno, že tekutina může být nosičem kontaminantu, proto by měly být omezeny postupy s použitím velkého množství roztoku a manuálním čištěním pomocí kartáče. Jedním z výstupů pokusu kromě úpravy postupu dekontaminace včetně svlékání OOP bylo použití dezinfekčního roztoku ve formě mlhy nebo jemného spreje vedoucí ke snížení stupně aerosolizace kontaminantu [16].

Pouze nečetné studie se věnovaly posouzení mechanického vlivu na odstranění spor, tj. bez vlivu dezinfekčního přípravku. Výsledky byly ovlivněny výběrem metodiky a materiálů, na které byly biologické simulanty naneseny. Při použití nerezových destiček byl zaznamenán pokles mikrobiální nálože (virus VSV v biologické zátěži) až o šest řádů, zatímco v práci britských autorů, jež nanesli spory přímo na ochranný oděv, byl mechanický vliv oplachu vodou minimální (pokles o jeden řád) [14, 17]. Vysvětlením tohoto rozdílu mohou být rozdílné sprchovací systémy a přilnavost simulantů na zvolený povrch. Podobně byly pozorovány rozdíly v účinnosti dekontaminace na zorníku obleku, materiálu oděvu a obuvi, a proto autoři zdůrazňují nutnost testování dekontaminace na odpovídajících materiálech.

VLIV POUŽITÝCH OOP

Při dekontaminaci zasahujících složek v OOP je žádoucí zajistit neustálý kontakt dezinfekčního přípravku s povrchem OOP. To může být v případě nesmáčivého a z velké části vertikálního povrchu velmi komplikované. Pouhé nanesení může vést k rychlému zaschnutí nebo odtoku přípravku a tím zkrácení doporučeného expozičního času a nedostatečného účinku (tj. selhání metody) [3, 10, 18]. V souladu s interními předpisy Hasičského záchranného sboru ČR (HZS ČR) a s ohledem na typ

technických prostředků je nutné definovat i minimální množství přípravku nanášeného na daný povrch a současně upřesnit minimální čas nanášení [6]. Aplikovaná dávka dezinfekčního přípravku by měla být tedy vnímána v kontextu (koncentrace x čas x objem)/plocha [3]. Pěnotvorné přípravky většinu výše zmíněných nevýhod do značné míry odstraňují. Jsou ale vázány na vhodný aplikační prostředek. Přítomnost povrchově aktivních látek zajišťuje kromě lepší smáčivosti povrchu i odstranění kontaminantu a nečistot pomocí detergentního účinku. Pěna setrvává na vertikálním povrchu déle než vodný roztok a současně umožňuje vizuální kontrolu kompletního pokrytí dezinfikované oblasti. Na základě zkušeností s dekontaminací radionuklidů lze předpokládat, že tloušťka vrstvy pěny přibližně 1–1,5 mm bude dostatečná k odstranění biologického kontaminantu [19]. Mezi další výhody patří jednodušší likvidace zbytkové pěny, která se buď samovolně rozpadne, případně se odsaje a rozloží působením tzv. zhášeče pěny. Objem odpadní vody je tak minimální [10]. Pěnotvorné přípravky mají největší uplatnění v dekontaminaci porézních povrchů, jež patří mezi nejhůře dekontaminovatelné. Personál pracující v infekčním prostředí používá OOP, které poskytují ochranu proti infekčním agens a vzhledem k požadavku na dekontaminaci i ochranu proti chemikáliím (ve většině případů se jedná o oděv typu 3B podle technických norem ČSN EN 14 605 a ČSN EN 14 126). Teoreticky by proto nemělo docházet k nežádoucí interakci mezi použitým dezinfekčním přípravkem a materiálem, na který je tento přípravek nanášený. Obdobně materiály používané pro OOP by neměly být porézní, a neměly by tak docházet k situacím, v nichž se dezinfekční přípravek nedostane k cílovému agens, např. kvůli překrytí mikroorganismu v póru bublinou vzduchu [3].

ZKUŠENOSTI PERSONÁLU

Mimo chyby ve skladování a přípravě dezinfekčních přípravků nebo aplikačních zařízení jsou významné negativní dopady během vlastního procesu dekontaminace způsobené člověkem (tzv. lidský faktor). Při použití sprchy i bodových přístrojů je nezbytný aktivní přístup operátora i dekontaminovaného. V předpisech HZS ČR i v zahraniční literatuře je zmiňováno použití kartáče, který pomáhá mechanicky odstraňovat biologický materiál z OOP. Až čtyřnásobná redukce spor byla pozorována při aktivním přístupu za použití kartáče v porovnání s pouhým statickým pohybem při sprchování vodou [14]. Na druhou stranu mechanické odstraňování kontaminantu může vést k narušení struktury materiálu ochranného oděvu a „slabých míst“, jimiž jsou např. spoje rukavic a obleku přelepené páskou. Kartáč, který je v řadě případů používán opakovaně, může navíc vést k šíření kontaminace [16]. Osoba v OOP, která podstupuje dekontaminaci, není ani v případě použití kartáče samostatně schopná dosáhnout adekvátních výsledků a největší biologickou zátěž lze pozorovat v obtížně dostupných místech v dolních partiích oděvu a na podrážce obuvi [14]. Dekontaminace je ztížena i použitím nevhodné velikosti oděvu. Nadměrná velikost oděvu vede ke tvorbě záhybů, ve kterých může přetrvávat zbytková kontaminace. I z těchto důvodů je nezbytné, aby se vlast-

ního dekontaminačního cyklu účastnily minimálně dvě osoby, z nichž jedna se soustředí na správnou dekontaminaci hůře dostupných částí OOP.

Hrozba úmyslného šíření spor *Bacillus anthracis* a současně absence jednoduchého a účinného způsobu dekontaminace vedly v roce 2004 k zavedení jednotné metody dekontaminace jednotek požární ochrany HZS ČR pomocí 2% roztoku Persterilu 36 (resp. 4% roztoku Persterilu 15). Cílem expertů bylo vybrat širokospektrý, dezinfekční roztok, který je dostupný, jednoduše připravitelný, má krátkou expoziční dobu, snadno se nanáší a likviduje [7]. Výběr dezinfekčního přípravku byl proveden formou rešerší a laboratorních testů. V rámci taktických cvičení HZS ČR a AČR nicméně neprobíhalo systematické mikrobiologické ověřování účinnosti prováděné dekontaminace příslušníky HZS ČR i AČR a nelze tedy doložit, jak velký vliv má lidský faktor na výsledek dekontaminace. Pravděpodobnost použití biologického indikátoru ke zhodnocení účinnosti dekontaminace v reálném čase je prakticky nulová i vzhledem k různorodým podmínkám, které v době zásahu panují, proto je klíčové provedení praktických testů v reálném prostředí se simulantom biologické kontaminace [5].

HODNOCENÍ ÚČINNOSTI DEKONTAMINACE

Hodnocení účinnosti dekontaminace s biologickým simulantom lze stanovit na základě doporučení americké agentury Enviromental Protection Agency (EPA). *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus atrophaeus* a *Bacillus subtilis* jsou považované za nepatogenní bakterie, a tudíž představují vhodné varianty nahrazující *B. anthracis* [20]. Výběr vhodného simulantu se odvíjí od zaměření laboratorních prací, morfologických a genetických požadavků a zvyklostí pracoviště. Z pohledu dekontaminace povrchů plynou formou peroxidu vodíku vykazoval *B. subtilis* shodnější výsledky s *B. anthracis* než další testovaný mikroorganismus *Geobacillus stearothermophilus* [20, 21]. Podobně tomu bylo i v případě testování řady dezinfekčních přípravků na různých materiálech [22].

Pro účely registrace sporicidního dekontaminačního přípravku účinného proti sporům *B. anthracis* bylo poradením panelem agentury EPA navrženo, aby technologie určená k dekontaminaci povrchů dosáhla redukce v počtu viabilních spor minimálně o šest řádů [22]. Na druhou stranu podle ČSN EN 13 704, resp. ČSN EN 14 347 je pro účely prokázání sporicidního účinku nutné dosáhnout poklesu alespoň o tři, resp. čtyři řády. Dosažení nulové kontaminace, jak je navrženo některými autory, je při provedení praktických testů s větším souborem vzorků prakticky nemožné [23]. Požadavek na redukci spor během dekontaminace by měl vycházet ze zhodnocení rizika nákazy, tj. z infekční dávky nutné k vyvolání onemocnění. Zdroje uvádějící letální dávky (LD_{50}) v případě inhalační formy antraxu se liší. Zatímco vojenské zdroje hovoří o LD_{50} 8 000–10 000 spor, konsensus amerických specialistů uvádí LD_{50} 2 500–55 000 spor [24, 25]. Přestože byly uveřejněny studie, které na základě matematického modelování a extrapolování výsledků ze studií na zvířatech považují i jednotky spor schopné vyvolat fatální onemocnění ($LD1$) [26, 27], jinými autory jsou tyto výsledky považovány za spekulativní a zavádějící z důvodu chybějících epidemiologických a experimentálních

SOUHRNNÉ SDĚLENÍ

důkazů [28, 29]. Tito autoři nachází oporu v práci z roku 1960, podle které ani 8hodinová expozice přibližně 1 300 spor (z toho 510 spor v respirabilní velikosti do 5 μm) nevedla u zaměstnanců továrny zpracovávající koží srst ke vzniku onemocnění [30]. Na základě této práce bylo navrženo, aby celodenní inhalační dávka 600 spor u jinak zdravých osob byla považována za ještě přiměřenou v rámci hodnocení rizika nákazy [31].

Při analýze rizik lze teoreticky vycházet i z hodnocení účinnosti dezinfekčních a sterilizačních postupů. V případě kontroly dezinfekčních procesů jsou biologickými indikátory bakterie *Enterococcus faecium*, resp. *Staphylococcus aureus* o denzitě suspenze 10^5 CFU (colony-forming unit) na nosiči. Pro kontrolu parní, horkovzdušné, plazmové a plynové sterilizace se používají např. spory *Geobacillus stearothermophilus* v denzitě suspenze 10^6 CFU/ml. Proces je hodnocený jako účinný, pokud nedojde k nárůstu spor [1]. V případě hodnocení účinku sterilizace hovoříme o tzv. SAL 10^{-6} (sterility assurance level, úroveň bezpečné sterility), tj. pravděpodobnost, že nepřežije více než jeden mikroorganismus z jednoho miliónu [1, 32]. V případě termínu „logaritmická“ redukce hovoříme o procentuálním množství eliminovaného mikroorganismu (redukce o 10^6 vede k poklesu o 99,9999 %). Lze tedy předpokládat, že nárůst maximálního počtu sto kolonií (10^2) po skončení dekontaminace při vstupní denzitě více než 10^6 CFU/ml je možné považovat za dostatečnou úroveň prokazující účinnost metody dekontaminace B-agens v experimentálních podmínkách.

Další z klíčových částí testování dekontaminace B-agens je vyloučení pokračujícího biocidního nebo biostatického účinku dezinfekčního přípravku po provedení oplachu. Většina postupů popsaných v literatuře uvádí ponoření zkoumaného materiálu do neutralizačního roztoku, což není v případě experimentálních zkoušek s většími plochami (např. kompletní ochranný oděv) možné [33]. Modifikací tohoto způsobu je provedení stěru dekontaminované plochy a následné ponoření odběrového prostředku do transportního média, které obsahuje neutralizační složku, např. thiosíran sodný [34].

Pro zhodnocení experimentálního testování dekontaminace B-agens je klíčová statistická analýza, na kterou budou kladeny zvýšené nároky zejména v podobě malého počtu pozitivních výsledků. Výběr vhodné analýzy bude záviset na velikosti testovaného souboru. Při malém souboru vzorků, jejichž výsledky se budou blížit 1 nebo 0, bude nutné provést přesný bodový a intervalový odhad binomické pravděpodobnosti nebo přesný test binomické pravděpodobnosti [35]. V případě, že jsou počet realizací pokusu a očekávaná hodnota pravděpodobnosti účinnosti dekontaminace dostatečně velké, lze použít aproximace binomického rozdělení rozdělením normálním, případně provést modifikaci tohoto testu zvanou Yatesova korekce [36]. Závislost nebo nezávislost různých uspořádání pokusu lze testovat pomocí testu nezávislosti v kontingenční tabulce.

ZKŘÍŽENÁ KONTAMINACE

Experimentální testy mají pochopitelně řadu limitů, mezi něž patří např. zkřížená kontaminace nebo přítomnost biologického simulantu v okolním prostředí. Některé rizikové faktory lze minimalizovat na únosnou mez za-

vedením kontrol kvality (pozitivní a negativní kontrola, duplikáty stěrů apod.), výběrem experimentálního prostředí, řádným úklidem, zkušeností testerů a v neposlední řadě robustním designem studie. Použití fluorescenční látky snižuje riziko falešných výsledků, na druhou stranu neposkytuje zpětnou vazbu při potřebě analýzy dekontaminačního procesu jako celku, tj. dezinfekčního účinku a lidského faktoru. Hlavní výhodou barevného indikátoru představuje možnost jednoduchého sledování přenosu kontaminantu během dekontaminace, procesu svlékání OOP a další manipulace s dekontaminovaným materiálem. V praxi se fluorescenční látka používá zejména pro kontrolu řádné dezinfekce rukou.

Žádná metoda dekontaminace B-agens nemůže garantovat 100% účinnost, z tohoto důvodu je nutné stanovit riziko zbytkové kontaminace, které je pro zasahující složky ještě akceptovatelné [5, 31]. Je proto nezbytné identifikovat slabá místa vedoucí k přenosu kontaminace mimo nebezpečnou zónu a přizpůsobit tomu postupy zasahujících jednotek. Dekontaminace s vyloučením aerosolizace kontaminantu je sice klíčovým, ale pouze prvním krokem. K dalšímu snížení rizika druhotné kontaminace je nutné upravit postupy navazující na vlastní proces dekontaminace, např. používání pouze jednorázových kartáčů/smetáčků pro mechanické odstranění hrubších nečistot, postup svlékání OOP a výměna rukavic u osob, které při svlékání asistují. Po svléknutí OOP je zásadní provedení hygienické celotělové čistoty mýdlem a vodou [16].

ZÁVĚR

Ideálního stavu, ve kterém dekontaminace vysoce rizikových biologických patogenů proběhne ve všech případech prakticky bezchybně, nelze dosáhnout. Analýza dekontaminačního procesu personálu v OOP, který vystupuje z nebezpečné zóny, je velmi komplikovaná. Zasahující složky se tak mohou v reálných podmínkách spoolehnout pouze na kontrolu správné koncentrace dezinfekčního přípravku. Simulant biologické zátěže, který by poskytoval obdobně rychlé, okamžité výstupy, bohužel neexistuje a použití standardních biologických indikátorů je z časového hlediska nepraktické. Lze ovšem celý proces připravit tak, abychom se k ideálnímu stavu maximálně přiblížili. V první fázi je nezbytné identifikovat dezinfekční přípravek, určit jeho koncentraci a dobu expozice. V dalším kroku proběhne výběr vhodných aplikačních prostředků. Následovat musí experimentální, praktické ověření zvolených postupů na základě testů se simultánním biologickým zátěží. Konečným výsledkem by měl být postup, ve kterém je možnost člověka negativně ovlivnit proces dekontaminace výrazně redukován. K tomu pomůže i důraz na adekvátní výcvikový proces, jenž musí všechny výše uvedené fáze doplnit.

LITERATURA

1. Melicherčíková V. Sterilizace a dezinfekce. Praha: Galén; 2015.
2. Hawley RJ, Eitzen EM. Biological weapons – a primer for microbiologists. Annu Rev Microbiol, 2001; 55:235–253.
3. Springthorpe VS, Sattar SA. Carrier tests to assess microbicidal activities of chemical disinfectants for use on medical devices and environmental surfaces. J AOAC Int, 2005; 88(1):182–201.

4. Rutala WA, Weber DJ. Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, 2008 [on line]. Centers for Disease Control and Prevention; c2008 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <<https://www.cdc.gov/infectioncontrol/pdf/guidelines/disinfection-guidelines.pdf>>.
5. Bodurtha P, Dickson EFG. Decontamination science and Personal Protective Equipment (PPE) selection for Chemical-Biological-Radiological-Nuclear (CBRN) events [on line]. Report No.: DRDC-RDDC-2016-R236. Defence Research and Development Canada; c2016 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <http://cradpdf.drdrddc.gc.ca/PDFS/unc263/p805114_A1b.pdf>.
6. Řád chemické služby Hasičského záchranného sboru České republiky. Praha: Ministerstvo vnitra – Generální ředitelství HZS ČR; 2017.
7. Kotinský P. Dekontaminace. 150 Hoří, 2002;12(10):14–16.
8. Guan J, Chan M, Brooks BW, et al. Influence of temperature and organic load on chemical disinfection of *Geobacillus stearothermophilus* spores, a surrogate for *Bacillus anthracis*. Can J Vet Res, 2013;77(2):100–104.
9. Severa J, Klavan V, Cerný T, et al. Sporidical Agents Highly Effective in Inactivating *Bacillus anthracis* Spores. Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2010;59(4):205–208.
10. Votava M, Slitrová J, Matusková Z. Microbicidal efficacy of a new foam disinfectant. Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2005; 54(2):84–89.
11. Majcher MR, Bernard KA, Sattar SA. Identification by Quantitative Carrier Test of Surrogate Spore-Forming Bacteria To Assess Sporidical Chemicals for Use against *Bacillus anthracis*. Appl Environ Microbiol, 2008;74(3):676–681.
12. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. Clin. Microbiol. Rev., 1999;12(1):147–179.
13. Nasr GG, Yule AJ, Lloyd SE, et al. The Application of Fine Sprays for Chemical, Biological, and Radiological or Nuclear (CBRN) Decontamination [on line]. In Proceedings of the 21th ILASS-Europe Meeting; 2007 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <<http://www.ilasseurope.org/ICLASS/ILASS2007/Full%20text/Texts/CBRN-final-nasr-et-al.doc>>.
14. Parks S, Gregory S, Fletcher N, et al. Showering BSL-4 Suits to Remove Biological Contamination. Appl Biosaf., 2013;18(4):162–171.
15. Calfee MW, Ryan SP, Wood JP, et al. Laboratory evaluation of large-scale decontamination approaches. J. Appl. Microbiol., 2012;112(5):874–882.
16. Gray M, Serre S, Mickelsen RL, et al. Decontamination Line Protocol Evaluation for Biological contamination Incidents Assessment and Evaluation Report [on line]. Report No.: 600/R-144/76. Washington, D.C.: U.S. Environmental Protection Agency; c2015 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?dirEntryId=307093>.
17. Klaponski N, Cutts T, Gordon D, et al. A Study of the Effectiveness of the Containment Level-4 (CL-4) Chemical Shower in Decontaminating Dover Positive-Pressure Suits. Appl Biosaf., 2011;16(2):112–117.
18. Hong Y, Teska PJ, Oliver HF. Effects of contact time and concentration on bactericidal efficacy of 3 disinfectants on hard nonporous surfaces. Am J Infect Control, 2017; 45(11):1284–1285.
19. Knajfl J, Severa J. Dekontaminace s použitím pěn II. Experimentální ověřování vlastností pěn. Jaderná energie, 1990; 36(12):476–479.
20. Greenberg DL, Busch JD, Keim P, et al. Identifying experimental surrogates for *Bacillus anthracis* spores: a review. Investig Genet, 2010; 1(1):4.
21. Rogers JV, Sabourin CLK, Choi YW, et al. Decontamination assessment of *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, and *Geobacillus stearothermophilus* spores on indoor surfaces using a hydrogen peroxide gas generator. J Appl Microbiol, 2005; 99(4):739–748.
22. Technical Brief: Evaluation of Liquid and Foam Decontamination Technologies for Surfaces Contaminated by *Bacillus Anthracis* Spores [on line]. Report No.: 600S11003. Washington, D.C.: U.S. Environmental Protection Agency; c2011 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <https://cfpub.epa.gov/si/si_public_file_download.cfm?p_download_id=525579>.
23. Rastogi VK, Smith LS, Wallace L. Laboratory-scale Study in Determining the Decontamination Standards for Personnel Protective Equipment Used by Homeland Defense Personnel: Evaluation of Commercial Off-the-shelf Technologies for Decontamination of Personnel Protective Equipment-relevant Surfaces [on line]. Report No.: ECBC-TR-631. Edgewood Chemical Biological Center; 2008 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <<https://www.hsdl.org/?abstract&did=34965>>.
24. Soviet Biological Warfare Threat [on line]. Report No.: DST-1610F-057-86. Washington, D.C.: US Dept of Defense, Defense Intelligence Agency; c1986 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <<http://insidethecoldwar.org/sites/default/files/documents/DIA%20Report%20on%20Soviet%20Biological%20Warfare%20Threat%201986.pdf>>.
25. Inglesby TV, O'Toole T, Henderson DA, et al. Anthrax as a biological weapon, 2002: updated recommendations for management. JAMA, 2002; 287(17):2236–2252.
26. Fennelly KP, Davidow AL, Miller SL, et al. Airborne Infection with *Bacillus anthracis* – from Mills to Mail. Emerg Infect Dis, 2004;10(6):996–1001.
27. Peters CJ, Hartley DM. Anthrax inhalation and lethal human infection. The Lancet, 2002; 359(9307):710–711.
28. Coleman ME, Thrane B, Morse SS, et al. Inhalation Anthrax: Dose Response and Risk Analysis. Biosecure Bioterror, 2008; 6(2):147–160.
29. Price PN, Hamachi K, McWilliams J, et al. Anthrax Sampling and Decontamination: Technology Trade-Offs, 2008 [on line]. Report No.: 8LBNL-1519E. Lawrence Berkeley National Laboratory; c2009 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <<http://eta-publications.lbl.gov/sites/default/files/lbnl-1519e.pdf>>.
30. Dahlgren CM, Buchanan LM, Decker HM, et al. *Bacillus anthracis* Aerosols in Goat Hair Processing Mills. Am J Hyg, 1960;72(1):24–31.
31. Cohen ML, Whalen T. Implications of Low Level Human Exposure to Respirable *B. Anthracis*. Appl Biosaf., 2007;12(2):109–115.
32. von Woedtke T, Kramer A. The limits of sterility assurance. GMS Krankenhhyg Interdisziplin, 2008;3(3):1–10.
33. Calfee MW, Choi Y, Rogers J, et al. Lab-Scale Assessment to Support Remediation of Outdoor Surfaces Contaminated with *Bacillus anthracis* Spores. J Bioterror Biodef, 2011;2(3):2–8.
34. Darby SM, Glass MJ. Formal Test Report for the Tactical Personnel Biological Decontamination Validation [on line]. Report No.: 8-CO-410-000-065. U.S. Army Dugway Proving Ground WDTC-TR-02-072; c2002 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <<http://www.unitedtacticalsupply.com/wp-content/references/biologicalfinalreport.pdf>>.
35. Likeš J, Machek J. Matematická statistika. Praha: SNTL; 1983.
36. Zvára K. Základy statistiky v prostředí R. Praha: Nakladatelství Karolinum; 2013.

Práce byla podpořena projektem bezpečnostního výzkumu Ministerstva vnitra ČR – VI20172020095.

Do redakce došlo dne 21. 6. 2018.

Adresa pro korespondenci:

pplk. doc. MUDr. Jaroslav Pejchal, Ph.D. et Ph.D.

Katedra toxikologie a vojenské farmacie
Fakulta vojenského zdravotnictví
Univerzita obrany
Třebešská 1575
500 01 Hradec Králové
e-mail: jaroslav.pejchal@unob.cz

Imunologie a imunoterapie nádorů

Současné poznatky snadno a rychle



Jan Bauer, Viera Bajčiová, Ivana Krajsová,
Aleš Ryška, Blanka Říhová, Marek Šťastný,
Jan Uhlíř

Imunologie a imunoterapie nádorů

Současné poznatky snadno a rychle



mladá fronta

První léta jednadvacátého století přinesla v oblasti nádorové imunologie a protinádorové imunoterapie velmi významné poznatky, které se ve stále větší míře promítají do běžné klinické praxe. Nové poznatky jsou mimo jiné spojeny s významným rozšířením odborného slovníku, který nemusí být vždy zcela srozumitelný a může mnohé zájemce o problematiku odrážet. Cílem všech autorů je, aby monografie, při zachování odbornosti, byla čtivá a srozumitelná. Kniha zahrnuje kapitoly zabývající se problematikou nádorové imunologie a imunoterapie na obecné úrovni a kapitoly přinášející souhrn poznatků o klinickém využití imunoterapie, jejích výsledcích a omezeních v protinádorové léčbě.

Kapitola **Etiopatogeneze lidských nádorů** poskytuje přehled o aktuálních poznatcích v oblasti onkogenních mutací, v kontextu vzniku a progresu nádoru, genomické a chromosomální nestability a ovlivnění klíčových signálních buněčných cest.

Nosným tématem kapitoly **Imunologie nádorů** je koncept nádorové imunoeditace a dynamického vztahu mezi nádorem a imunitním systémem hostitele, s důrazem na význam nádorového mikroprostředí a na mechanismy umožňující nádorům unikat z imunologického dohledu.

Kapitola **Imunoterapie nádorů** se zabývá přehledem principů a možnostmi klinického využití adoptivní imunoterapie, imunoterapie zacílené na kontrolní body imunity, protinádorové vakcinoterapie na bázi onkolytických virů a buněčných toxinů, spolu s možnostmi jejich kombinace.

Kapitola **Možnosti a omezení imunoterapie v klinické praxi** uvádí stručné přehledy o účinnosti moderní imunoterapie u solidních i hematologických malignit jak u dospělých, tak dětských pacientů. Pozornost je věnována též specifické toxicitě imunoterapie a problematice zvládnutí nežádoucích příhod spojených s imunoterapií.

**Autoři: Jan Bauer, Viera Bajčiová,
Ivana Krajsová, Aleš Ryška,
Blanka Říhová, Marek Šťastný,
Jan Uhlíř**

Doporučená cena 880 Kč

Při objednání na **kniha.cz** sleva 10%

Břišní tyfus v České republice a případ importovaného onemocnění po návštěvě Rainbow Gatheringu v Itálii

Špačková M.¹, Míšková E.², Dědičová D.¹, Gašpárek M.³

¹Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

²Infekční oddělení a Centrální laboratoř, Nemocnice Třebíč

³Národní referenční centrum pro analýzu epidemiologických dat, Oddělení biostatistiky, Státní zdravotní ústav, Praha

SOUHRN

Břišní tyfus je onemocnění způsobené vysoce virulentní bakterií *Salmonella Typhi*. K nákaze dochází fekálně-orální cestou. V České republice se v letech 1997–2017 vyskytlo celkem 53 případů břišního tyfu. Pouze 7 těchto případů bylo autochtonních. V srpnu 2017 byl v České republice zaznamenán případ importovaného onemocnění u 25leté neočkované ženy, která se v týdnu před začátkem onemocnění účastnila Rainbow Gatheringu. Zde spala ve stanu, stravovala se z vlastních zásob a požívala nepřevařenou vodu. Pro neustupující kašel, únavu, bolesti svalů, kloubů a teploty

až 40 °C byla pacientka po návratu hospitalizována v Nemocnici Třebíč, kde byl potvrzen nález *S. Typhi*. Epidemiologickým šetřením bylo zajištěno 6 kontaktů. Při propuštění i následném lékařském dohledu měla pacientka všechny odběry již negativní. Nikdo další neonemocněl.

KLÍČOVÁ SLOVA

břišní tyfus – tyfová horečka – *Salmonella Typhi* – importovaný případ – Rainbow gathering

ABSTRACT

Špačková M., Míšková E., Dědičová D., Gašpárek M.: Typhoid fever in the Czech Republic and an imported case after return from the Rainbow Gathering in Italy

Typhoid fever is a disease caused by the highly virulent bacterium *Salmonella Typhi*. It is transmitted by the oral-faecal route. In the Czech Republic, 53 cases of typhoid fever were reported in 1997–2017. Only seven of these cases were autochthonous. In August 2017, an imported case of typhoid fever was recorded in a 25-year-old unvaccinated woman who participated in the Rainbow Gathering in Italy one week prior to the onset of the disease. During her stay in Italy, she slept in a tent, ate her own

food, and drank unboiled water. Presenting with persisting cough, tiredness, muscle and joint pain, and fever up to 40 °C after her return, she was admitted to the Třebíč Hospital where she was diagnosed with *S. Typhi*. The epidemiological investigation identified six contacts. On discharge from hospital and at follow-up, the patient was tested negative. None of the contacts became ill.

KEYWORDS

Typhoid fever – *Salmonella Typhi* – imported case – Rainbow Gathering

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 68, 2019, č. 1, s. 47–50

BŘIŠNÍ TYFUS

Břišní tyfus (starší český název hlavnička) je nemoc způsobená vysoce virulentní bakterií *Salmonella enterica* subspecies I sérovar Typhi (*Salmonella Typhi*, antigenní struktura 9, 12; Vi; d) [1].

Lidé jsou jediným známým rezervoárem tohoto onemocnění. K nákaze dochází fekálně-orální cestou dvěma různými způsoby:

1. krátkým cyklem – kontaminací vody nebo stravy v bezprostředním okolí nosiče při nedodržování základních hygienických pravidel;
2. dlouhým cyklem – kontaminací širšího okolí při kontaminaci zdroje pitné vody nebo použitím lidských výkalů jako hnojiva [2].

V zemích s nízkým hygienickým standardem se onemocnění vyskytuje běžně [1].

Inkubační doba je 7–14 dnů (v rozmezí 3–60 dnů). Následné onemocnění může mít celou škálu různých klinických příznaků a často také probíhá bezpříznakově. Vážnější průběh se projevuje horečkou, bolestmi hlavy, břicha, nechutenstvím a malátností. V průběhu dne může mít nemocný zastřené vědomí, které je vystřídáno noční nespavostí. K průjmu dochází jen ve dvou třetinách případů, zejména u malých dětí. Diagnóza je stanovena kultivací *S. Typhi* z krve, kostní dřeně nebo stolice. Klinické příznaky u léčených pacientů (antibiotická a symptomatická léčba) rychle ustupují. Horší průběh onemocnění mají starší lidé. Komplikace se vyskytují u hospitalizovaných jedinců v 10–15 %, spíše u osob nemocných déle než dva týdny (hemoragie, perforace střev, peritonitida a cholangitida, která se častěji vyskytuje u žen a vede k bacilonosičství ve 2–5 %). Smrtnost je u léčených pacientů 1–4 %, mj. s ohledem na včasnost

KRÁTKÉ SDĚLENÍ

a adekvátnost léčby, u neléčených dosahuje 10–20 %. Smrtnost u dětí mladších 4 let je 10krát vyšší než u starších dětí [1, 2].

V posledních letech se vyskytují kmeny multirezistentní *S. Typhi* vůči antibiotikům, z nichž nejběžněji je zachycena *S. Typhi* typ H58 (genotyp 4.3.1) nesoucí mj. geny rezistence vůči fluorochinolonům [2]. Výskyt rezistentních kmenů podtrhuje důležitost preventivních opatření, obzvláště očkování.

Břišní tyfus je rozšířený ve všech zemích s teplým klimatem a nízkým hygienickým standardem, včetně turistických oblastí v rozvojových zemích [2]. Celosvětově je odhadován výskyt onemocnění na 11–21 miliónů nových případů a 128 000–161 000 souvisejících úmrtí ročně. Většina případů se vyskytuje v zemích jižní a jihovýchodní Asie (Indii, Srí Lance, Nepálu) a v subsaharské Africe. Mnoho ostrovních států Oceánie rovněž hlásí vysokou incidenci tohoto onemocnění a rozsáhlé epidemie [1, 3]. V průmyslově vyspělých zemích se břišní tyfus stal vzácným onemocněním, a to především díky dobrým hygie-

nickým podmínkám a kvalitnímu zdravotnictví. Většina nových případů v těchto zemích je importována cestovateli nebo migranty. Onemocnění břišním tyfem je rizikové zejména pro cestovatele na indický subkontinent [4].

V České republice (ČR) se v letech 1997–2017 vyskytlo celkem 53 případů břišního tyfu; z toho 30 případů se vyskytlo u mužů, 50 případů bylo hospitalizováno. Nejvíce případů se vyskytlo ve věku 20–34 let a dále 50–54 let (graf 1). Pouze 7 těchto případů bylo autochtonních a ve 46 případech se jednalo o importovaná onemocnění cestovatelů (graf 2.).

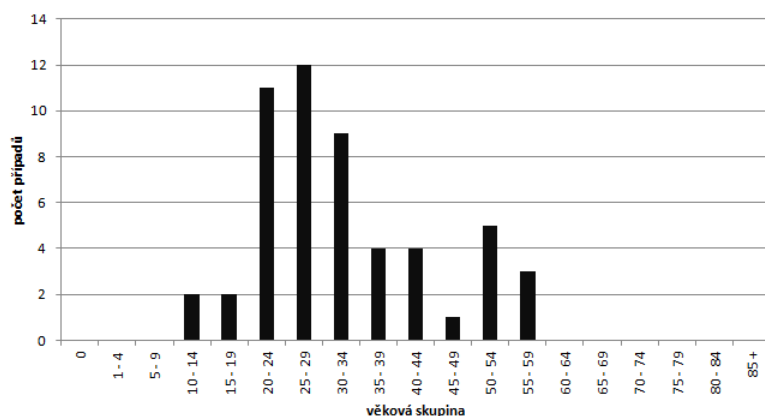
PREVENCE ONEMOCNĚNÍ

Při cestování do rizikových oblastí a také všeobecně je potřeba dodržovat základní hygienická pravidla prevence přenosných onemocnění. Bezpečné jsou pouze dostatečně tepelně opracované potraviny, vlastnoručně oloupané ovoce, balená voda. Rizikové jsou kromě jídla veškeré

předměty, které někdo držel v ruce a následně jsou vkládány do úst, například i cigareta. Je také vhodné vyhnout se syrovým potravinám, nebaleným či nepřevařeným nápojům a kostkám ledu. Dezinfekční prostředky na ruce je potřeba používat pravidelně.

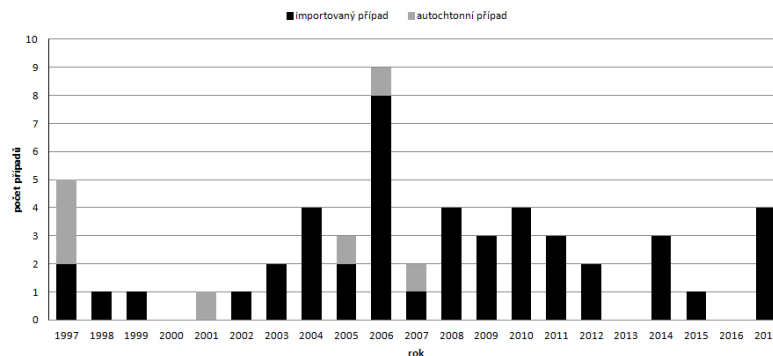
Specifickou ochranou proti onemocnění břišním tyfem je očkování. Očkování je doporučeno cestovatelům do rizikových oblastí v závislosti na typu ubytování, délce pobytu a typu stravování, zdravotnickým pracovníkům a vojákům [2, 4]. Očkování spolu s antimalarickou profylaxí jsou nejvýznamnějšími preventivními opatřeními u osob s porušenou či zaniklou funkcí sleziny a u splenektomovaných [1].

V ČR je v současné době dostupná jediná vakcína proti břišnímu tyfu, Typhim Vi. Jedná se o inaktivovanou purifikovanou subjednotkovou parenterální Vi polysacharidovou vakcínu. Vakcínu Typhim Vi lze podat osobám starším dvou let v jedné dávce do deltového svalu, a to nejpozději dva týdny před odjezdem do rizikové oblasti. Dětem i dospělým se podává stejná dávka, ochrana po aplikaci nastupuje za 14 dní. Vakcína je dobře tolerována. Osobám s trombocytopenií a poruchami srážlivosti krve může být vakcína opatrně aplikována subkutánně do deltové oblasti. U 1 % očkovaných osob se může objevit mírná lokální reakce: bolestivost, zarudnutí a otok. Celkové nežádoucí účinky (zvýšená teplota, bolesti hlavy, svědění, nauzea) a alergické reakce jsou vzácné. Kontraindikací očkování proti břišnímu tyfu je přecitlivělost na kteroukoliv složku vakcíny a akutní horečnaté onemocnění. Účinnost vakcíny se pohybuje mezi



Graf 1. Počet případů infekce břišním tyfem v České republice v letech 1997–2017, podle věkové skupiny (zdroj EpiDat (n = 53))

Figure 1. The number of cases of typhoid infection by age group in the Czech Republic in 1997–2017 (source EpiDat (n = 53))



Graf 2. Počet případů infekce břišním tyfem v České republice v letech 1997–2017, importované a autochtonní případy (zdroj EpiDat (n = 53))

Figure 2. The number of imported and autochthonous cases of typhoid infection in the Czech Republic in 1997–2017 (source EpiDat (n = 53))

43–96 %, proto údaj o provedeném očkování onemocnění jednoznačně nevylučuje. Očkování může vést k falešnému pocitu bezpečí, proto je nutné důležitost nespecifické prevence náležitě zdůraznit. V případě přetrvávajícího rizika nákazy je přeočkování doporučováno po třech letech. Očkování proti břišnímu tyfu v ČR patří mezi doporučená nehrzená očkování. Je možné jej aplikovat společně s dalším očkováním (vždy do různého ramene) [1]. Očkování proti břišnímu tyfu není účinné proti paratyfům.

RAINBOW GATHERING

Rainbow gatheringy jsou setkání inspirovaná starými indiánskými legendami a rituály. V táborech se žije přírodním způsobem. Jídlo se jí společně u posvátného ohně. Na jídlo a další potřeby se pořádají dobrovolné sbírky. Nesmějí se zde užívat tvrdé drogy, maso a alkohol. Základním principem je tolerance a soulad s přírodou a všemi sestrami a bratry [5].

IMPORTOVANÝ PŘÍPAD BŘÍŠNÍHO TYFU V ČESKÉ REPUBLICCE

V srpnu 2017 jsme v ČR zaznamenali případ onemocnění břišním tyfem u 25leté ženy. Tato žena v předchorobí s kamarádem cestovala, nejprve po Čechách, dále přes Německo a Švýcarsko do italských Alp. Od 7. do 11. srpna se oba zúčastnili Rainbow Gatheringu v italských Alpách ve vysokohorském sedle u města Tramonti di Sopra. Místo bylo přístupné pouze pěšky a bylo vzdálené cca 3 km od silnice. Akce označená jako „Evropské setkání alternativně smýšlejících lidí“ se konala 14 dní před úplňkem a 14 dní po něm. V době úplňku 7. srpna 2017 se v místě konání akce mohlo nacházet až 3 000 osob. Naši cestovatelé spali ve stanu, stravovali se z vlastních zásob a z jídla připravovaného ostatními účastníky akce. Vodu požívali nepřeřazenou z čerpacích stanic, studní a studánek.

První potíže se u pacientky objevily 15. srpna 2017, dva dny po návratu do ČR – bolesti v krku, bolesti hlavy a průjem, následující den se přidaly kašel, únava, bolesti svalů, kloubů, zimnice a teploty až 40 °C. Pacientka obdržela od obvodního lékaře k užívání Fromilid tbl. Pro opakované zvracení při nelepším se celkovém zdravotním stavu byla dne 25. srpna 2017 hospitalizována na plicním oddělení Nemocnice Třebíč. Při přijetí laboratorně dominovala vysoká hladina CRP (158 mg/l), byly lehce elevované jaterní enzymy (ALT 0,69 µkat/l, AST 1,07 µkat/l) a v krevním obraze byly zvýšené hodnoty neutrofilních granulocytů při normálním počtu leukocytů. Hodnota prokalcitoninu byla 0,6 µg/l. Fyzikálním vyšetřením nebyla zjištěna žádná nápadná patologie kromě horečky 40,2 °C. Po odebrání vzorků na kultivační vyšetření byla zahájena i. v. antibiotická terapie potencionálním aminopenicilinem. 27. srpna 2017 signalizovaly pozitivitu všechny hemokultivační lahvičky s nálezem gramnegativních tyčků. Antibiotická terapie, i s ohledem na přetrvávající febrilie, byla 4. den léčby změněna na cefotaxim v kombinaci s gentamicinem. Vykultivovaný kmen *S. Typhi* byl citlivý k cefalosporinům III. generace, k chloramfenikolu, ale rezistentní k ciprofloxacinu. Pozitivní nález *S. Typhi* byl týž den hlášen ošetřujícímu

lékaři a protiepidemickému oddělení Krajské hygienické stanice kraje Vysočina (KHS) a pacientka byla přeložena na infekční oddělení Nemocnice Třebíč. Kmen byl odeslán ke confirmaci do Národní referenční laboratoře pro salmonely, která 30. srpna 2017 potvrdila nález *S. Typhi* 9,12,[Vi]:d:-. Léčba pacientky pokračovala pouze cefotaximem. Pacientka udávala zlepšení stavu až na přetrvávající, intermitentně zvýšené teploty. Postupně klesaly zánětlivé parametry, mírně stoupaly hodnoty jaterních enzymů a poklesl hemoglobin. Sérologicky byla vyloučena současně probíhající akutní hepatitida A, B nebo C. Na sonografii břicha byla zjištěna hraniční velikost sleziny. Celkem 6krát bylo provedeno kultivační vyšetření výtěru z rektu a 2krát moči, ale v žádném z těchto vzorků se přítomnost *S. Typhi* neprokázala. Vzhledem k přetrvávající horečce byla 5. den léčby cefotaximem terapie změněna na i. v. chloramfenikol. Horečky zcela ustoupily až 11. den léčby chloramfenikolem, který byl podáván celkem 14 dní. Následně provedené laboratorní odběry ukázaly plnou normalizaci hodnot jaterních enzymů i CRP. Jiné potíže v průběhu hospitalizace pacientka neudávala, byla poučena o protiepidemických opatřeních a 19. září 2017 propuštěna domů. KHS provedla v souladu s metodickým návodem protiepidemická opatření v ohnisku nákazy. Celkem bylo zjištěno 6 osob v kontaktu s nemocnou. Těmto osobám byl stanoven lékařský dohled v délce 21 dnů a byly jim nařízeny odběry biologického materiálu (4krát výtěr z konečníku a 1krát odběr krve na sérologické vyšetření). Všechny tyto odběry byly negativní. Nikdo z kontaktů neonemocněl. Pacientka měla při propuštění negativní nález ve stolici a podle metodického návodu jí byly rovněž provedeny 3 následná kultivační vyšetření moči a stolice, všechna s negativním výsledkem. Pacientka proti břišnímu tyfu nebyla očkována.

Pozn.: Tento případ byl zároveň šetřen Evropským centrem pro prevenci a kontrolu nemocí v rámci mezinárodního výskytu případů onemocnění břišním tyfem po návštěvě Rainbow Gatheringu v italských Alpách v létě 2017 [6].

DISKUSE

Břišní tyfus je závažné onemocnění, které se nadále vyskytuje v zemích s teplým klimatem a nízkým hygienickým standardem. Ačkoliv existují účinné možnosti prevence tohoto onemocnění, celosvětově se vyskytuje ročně 11–21 miliónů nových případů a z toho 128 000–161 000 souvisejících úmrtí. V České republice bylo v posledních dvaceti letech zjištěno 53 případů tohoto onemocnění, avšak 50 z těchto případů (94 %) muselo být pro svou závažnost hospitalizováno. Pro české cestovatele a pracovníky v endemických oblastech zůstává toto onemocnění jedním z možných rizik, a je tudíž vhodné si před cestou osvojit pravidla nespecifické prevence přenosných onemocnění a zvážit možnost očkování proti břišnímu tyfu. V ČR je v současné době dostupná inaktivovaná polysacharidová vakcína Typhim Vi. Vakcínu lze podat osobám starším dvou let v jedné dávce do deltového svalu, a to nejpozději dva týdny před odjezdem do rizikové oblasti. Ochrana po aplikaci nastupuje za 14 dní. Toto očkování patří mezi doporučená, nehrzená očkování a je dostupné na vlastní žádost v očkovacích centrech, centrech cestovní medicíny či na vybraných klinikách pracovního lékařství.

KRÁTKÉ SDĚLENÍ

ZÁVĚR

V ČR se onemocnění břišním tyfem vyskytuje pouze vzácně. Většinou se jedná o importované případy, které se však s ohledem na stoupající oblibu alternativních životních stylů a stále rostoucí trend cestování do exotických zemí mohou nadále objevovat. Je tedy vhodné dbát na prevenci tohoto onemocnění při vycestování do rizikových oblastí nebo při pobytu v ne zcela vhodných hygienických podmínkách. Při výskytu horečnatého onemocnění s bolestmi břicha, malátností a průjmem v ČR v kombinaci s pozitivní cestovatelskou anamnézou je nadále nutné na toto onemocnění pomyslet.

Literatura

1. Chlíbek, R., *Očkování dospělých* Edice postgraduální medicíny ed. 2018, Praha: Mladá fronta a.s.
2. WHO, *Typhoid vaccines: WHO position paper. March 2018*. Weekly Epidemiological Record, 2018. 93(13): p. 153-172.
3. Mogasale, V., et al., *Burden of typhoid fever in low-income and middle-income countries: a systematic, literature-based update with risk-factor adjustment*. The Lancet Global health, 2014. 2(10): p. e570-e580.
4. Pavli, A. and H. Maltezou, *Pre-travel vaccinations and malaria prophylaxis for international travelers*. Public Health Open J, 2017. 2(1): p. 21-25.

5. Kynclová, Ž. *Evropská forma Woodstocku „Rainbow gathering“ u nás za chalupou*. 2009; Available from: <https://kynclova.blog.idnes.cz/blog.aspx?c=92991>.

6. ECDC. *Typhoid fever outbreak linked to Rainbow gathering in Northern Italy* 2017 15 Sep 2017; Available from: <https://ecdc.europa.eu/en/news-events/typhoid-fever-outbreak-linked-rainbow-gathering-northern-italy>.

Poděkování

Autoři by rádi poděkovali MUDr. Haně Pavlasové z Krajské hygienické stanice kraje Vysočina, územního pracoviště Třebíč, za poskytnutí dat epidemiologického šetření.

Do redakce došlo dne 29. 6. 2018.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Michaela Špačková

Centrum epidemiologie a mikrobiologie
Státní zdravotní ústav
Šrobárova 48
100 00 Praha 10
e-mail: michaela.spackova@szu.cz

Zemřel prof. MUDr. Jan Šejda, DrSc.

Dne 9. listopadu 2018 se česká epidemiologická obec rozloučila s prof. MUDr. Janem Šejdou, DrSc., který náhle zemřel 1. listopadu v nedožitých 84 letech. Tato smutná událost zarmoutila mnoho kolegů, přátel a spolupracovníků.

Profesora Šejdu znali nejen pracovníci epidemiologické obce a spolupracujících oborů. Znali jej jako široce vzdělaného člověka, výborného organizátora, badatele, pedagoga, přísného a obávaného examinatora, kolegu a kamaráda, ale také břitkého kritika všech forem lidské hlouposti. Jeho celoživotní práce potvrdila, že byl mimořádnou osobností, a to nejen v českých podmínkách. Jeho význam překročil zcela jistě hranice české kotliny. Prvním působištěm profesora Šejdy, rodáka z Poděbrad, byla Vysočina. Nejprve krátce působil v nemocnici v Jihlavě a poté přešel do Havlíčkova Brodu, kde se roku 1960 stal vedoucím epidemiologického oddělení Okresní hygienické stanice. V roce 1963 začal působit jako odborný asistent tehdejšího Ústavu epidemiologie a mikrobiologie v Praze. Poté v roce 1965 přešel do Institutu pro další vzdělávání lékařů a farmaceutů v Praze na katedru epidemiologie, která se na dlouhá léta stala jeho trvalým pracovištěm. Zde posléze převzal funkci vedoucího této katedry. Působení na katedře epidemiologie proložil činností v zahraničí. V období let 1972–1975 se stal expertem Světové zdravotnické organizace pro epidemiologii v oblasti Karibiku a jeho sídlem se stala Venezuela. Po ukončení zahraniční mise se vrátil na domovské pracoviště a stal se postupně nositelem vědeckých hodností, byl jmenován hlavním odborníkem ministerstva zdravotnictví pro obor epidemiologie, stal se členem řady poradních a expertních orgánů včetně členství ve výboru Společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně.

V 90. letech minulého století pracoval na Hygienické stanici hlavního města Prahy, kde těžištěm jeho odborné činnosti byla problematika drogové epidemiologie. Vypracoval zde návrh koncepce Ústředního pracoviště drogové epidemiologie České republiky, které v tehdejších podmínkách bylo vnímáno jako integrovaná součást vznikajícího systému ochrany veřejného zdraví. Počáteční období nového tisíciletí je spjato s působením prof. Šejdy na Zdravotně sociální fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích.

V této souvislosti je nutno zdůraznit jeho širokou publikační a pedagogickou činnost. Jeho odborné zaměření je doloženo desítkami publikací v tuzemském i zahraničním odborném tisku.

Například je možno zmínit monografii zabývající se problematikou spalniček a snahou o jejich úspěšnou eliminaci v České republice, či problematikou prevence léčby a dalších aspektů nákazy HIV/AIDS.

Pro jeho působení v pozici hlavního odborníka byl rozhodující zájem týkající se epidemiologické metodologie a snahy o přesnou a jednoznačnou aplikaci terminologie v epidemiologii.

Během jeho působení se podařilo téměř beze zbytku naplnit díky tehdy platných předpisů, týkajících se operativního usměrňování strategie pravidelného očkování dětí ve státě a řízení, organizace a kontroly vakcinace tak,



aby vycházela z prověřených objektivních dat a zjištěného stavu kolektivní imunity. K tomu významně napomáhaly výsledky periodicky prováděných víceúčelových sérologických přehledů. Díky tomu se Česká republika dostala na jedno z předních míst v efektu pravidelného očkování dětí.

Na vysokou úroveň se podařilo přivést odborné a metodické vedení zdravotnických pracovníků v terénu, a to nejen v hygienické službě. Teprve dnes, v „ěře internetu“, můžeme porovnat a dostatečně ocenit význam odborných recentních informací pravidelně publikovaných pracovištěm profesora Šejdy v době, kdy jejich tok byl přísně regulován.

Všichni účastníci školících aktivit, kurzů a školících míst v přípravě na získání odborných specializací, pořádaných katedrou epidemiologie, vždy oceňovali jejich úroveň a přínos pro praktickou činnost. Přispěly k pochopení řady „epidemiologických axiomů“, například že být dobrým epidemiologem neznamená jen osvojení si množství poznatků z mnoha medicínských a dalších oborů. Epidemiologie v širším slova smyslu je především třeba vnímat jako způsob myšlení.

My, kteří jsme kolegu Šejdu osobně znali a považovali nejen za kolegu, ale i za osobního přítele, na něj nemůžeme zapomenout. Po více jak půl století jeho profesní činnosti přišla na jeho životní pouti konečná stanice, a to v situaci, kdy mohl díky své vysoké kompetenci oslovit své posluchače a čtenáře dalšími tématy. Místo toho však po něm zůstává velká mezera, ale také památka v podobě životního díla.

České epidemiologii přejme, aby mezery vzniklé střídáním generací byly v krátké době nahrazeny příchodem vzdělaných a plně kompetentních lidí.

České Budějovice 14. 1. 2019

MUDr. Jan Augustin

Po dohodě šéfredaktorů je příspěvek otištěn i v časopise Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie.

Zemřela RNDr. Eva Aldová, CSc. (*21. 11. 1922 – †20. 12. 2018)

Měsíc po svých 96. narozeninách zemřela 20. prosince 2018 přední česká a československá mikrobioložka v problematice střevních bakterií, RNDr. Eva Aldová, CSc.

Dr. Eva Aldová nastoupila po maturitě na reálném gymnáziu 3. června 1941 do Státního zdravotního ústavu jako mikrobiologická laborantka a tomuto ústavu zůstala věrná po celou dobu své profesní kariéry. Těsně ke konci války, v dubnu 1945, byla dr. Aldová jedním ze spolupracovníků prof. Karla Rašky, který byl pověřen řízením likvidace epidemie skvrnitého tyfu v koncentračním táboře Malá pevnost v Terezíně.

Pod vedením prof. Rašky se dr. Aldová podílela na řešení řady dalších epidemií. Po návratu z roční stáže v Severní Koreji se její zájem přesunul ke střevním bakteriím, které se pak staly jejím celoživotním koníčkem. Závěrem roku 1957 ustanovil prof. Raška první tři Národní referenční laboratoře v České republice a dr. Aldová se stala vedoucí NRL pro shigely.

V polovině šedesátých let rozšířila její laboratoř spektrum své působnosti o čeleď *Vibrionaceae*. V roce 1966 měla dr. Aldová příležitost pracovat s kmeny pravé cholery při epidemii v Iráku a dále potom i v roce 1970 v Guinei a v Libérii. Do pražské laboratoře byly zasílány k identifikaci kmeny *Vibrio cholerae* z různých světových epidemií i díky spolupráci se Světovou zdravotnickou organizací. První kmeny *Vibrio cholerae* O1 izolované v Československu se do laboratoře dr. Aldové dostaly v roce 1970. Byly to izoláty z menší zavlečené epidemie cholery na staveništi elektrárny ve Vojanech na východním Slovensku.

Dr. Aldová se dlouhá léta věnovala i podmíněným patogenům z čeledi *Enterobacteriaceae*. Se svými spolupracovníky se snažila o taxonomické zařazení všech obtížně identifikovatelných kmenů, které byly zaslány od kolegů z bakteriologických pracovišť v celém Československu. V roce 1967 zahájila dr. Aldová diagnostiku yersinií a též enteroinvazivních *E. coli*. Několik let vedla dr. Aldová odbornou skupinu střevních bakteriálních infekcí CEM SZÚ. Díky výborné spolupráci dr. Aldové s kolegy z terénních pracovišť byly objeveny a popsány dva původní české bakteriální rody z čeledi *Enterobacteriaceae*: *BUDVICIA* s druhem *Budvicia aquatica* (1983) a *PRACIA* s druhem *Pragia fontium* (1988).

Doktorka Aldová spolupracovala i s četnými zahraničními vědeckými kolektivy. V posledních letech své odborné činnosti patřila k jejím mezinárodně významným aktivitám sérotypizace kmenů *Plesiomonas shigelloides*. Měla v této oblasti rozsáhlou spolupráci s japonskými, německými, švédskými, kanadskými a dalšími badateli.

Jméno paní doktorky Aldové je navždy zapsáno do taxonomie střevních bakterií: na její počest nazval v roce 1984



Bercovier se spolupracovníky nový druh yersinie, který byl izolován z vodních ekosystémů, *YERSINIA ALDOVAE*. Bez nadsázky lze říci, že paní doktorka Aldová byla celosvětově známou a uznávanou mikrobioložkou.

Dr. Aldová se celou svou vědeckou kariéru věnovala pilně i pedagogické činnosti. Její laboratoř prošlo několik set mikrobiologů nejen z naší republiky, ale i ze zahraničí. Všichni, kterým rozdávala nezištně a osobitě svoje bohaté zkušenosti, na ni rádi vzpomínají.

Své aktivní působení v Centru epidemiologie a mikrobiologie SZÚ skončila po **58 letech činnosti** v srpnu v roce 1999.

V roce 1999 slavila Americká mikrobiologická společnost (American Society for Microbiology, ASM) 100. výročí založení. Při této příležitosti byla dr. Aldová, na návrh Československé společnosti mikrobiologické, poctěna titulem „Heroine of Microbiology“, který ASM udělila dvanácti nejvýznamnějším světovým mikrobioložkám za posledních 100 let.

Na návrh Společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii ČLS JEP byla paní dr. Aldové udělena Zlatá pamětní medaile České lékařské společnosti J. E. Purkyně. Byla nositelkou i nejvyššího ocenění Československé společnosti mikrobiologické, Patočkovy medaile.

Paní doktorky Aldové jsme si všichni, kdo měli to štěstí a mohli s ní spolupracovat, hluboce vážili. Do svých posledních dnů si zachovala jasnou mysl a zájem o svůj milovaný obor.

Čest buď její památce!

Za všechny spolupracovníky

Petr Petráš

Pod dohodu šéfredaktorů je příspěvek otištěn i v časopise Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie.

Představujeme publikaci

Vysoce nebezpečné nákazy



Kniha pojednává o problematice vysoce nebezpečných nákaz v podmínkách České republiky. Definuje problematiku vysoce nebezpečných nákaz (VNN), dominantně se zaměřením na VNN s interhumánním přenosem, resp. s potenciálem interhumánního přenosu. Popsán je aktuální stav a možnosti v České republice. Uvedeny jsou příklady výskytu VNN a charakteristika vybraných onemocnění, obecně jsou rovněž popsány systémy řešení výskytu VNN v ČR a pohled na jejich řešení z různých úrovní systému (např. epidemiolog, zdravotnické zařízení, centrum VNN na Bulovce, možnosti AČR – Centrum Těchonín). Uvedeny jsou i možnosti laboratorní diagnostiky a současné možnosti očkování jako významného preventivního opatření. V neposlední řadě bude nastíněna spojitost s problematikou bioterorismu. Aktuální je i téma rizika VNN při migraci obyvatel.

Podobně zaměřená publikace dosud v našem lékařském písemnictví chybí.

Kniha je určena pro odborníky z řad lékařů, kteří se zabývají problematikou vysoce nebezpečných nákaz (integrovaný záchranný systém, epidemiologové, kliničtí pracovníci). Je i vhodným studijním materiálem.

Autor: Jan Smetana et al.

Doporučená cena 550 Kč

Při objednání na **kniha.cz** sleva 10%

Pokyny pro autory a recenzenty

Časopis *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie* přináší nejnovější poznatky a pohled do problematiky těchto oborů. Využívají ho nejen pracovníci zmíněných oborů, ale užitečné poznatky pro svou práci v něm najdou i ostatní zdravotničtí odborníci. Redakce časopisu *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie* přijímá rukopisy v češtině, slovenštině nebo angličtině. Časopis vychází čtvrtletně.

Časopis *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie* získal v roce 2012 IF (Impact Factor) a stále se daří ho udržet. Získání IF je pro náš časopis velmi povzbudivé, ale zároveň také zavazující. Hodnocení kvality časopisů, které získaly IF, se každoročně opakuje, takže můžeme jeho hodnotu postupně zvyšovat, ale můžeme o IF také zcela ztratit. Publikování kvalitních článků je tedy výzvou jak pro autory, tak pro recenzenty našeho časopisu. Redakční rada si váží práce autorů, kteří předkládají své rukopisy do našeho časopisu, a očekává od nich porozumění v situacích, kdy výsledek recenzního řízení nedoporučí publikovat jejich rukopis. Pro udržení IF časopisu do budoucna je nezbytné zajistit kvalitní články s vysokou citovaností a minimálním počtem autocitací.

Od ledna 2015 časopis *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie* zpoplatňuje publikování článků s dedikací grantového či jinak finančně podporovaného výzkumu a vývoje z veřejných zdrojů. Cena jedné tiskové strany v časopisu je 1 800 Kč včetně DPH. Potřebnou částku lze čerpat z prostředků na tento výzkum. Korespondující autor článku s uvedenou dedikací bude kontaktován vedoucí redaktorkou časopisu a obdrží pokyny ohledně platby. Pokud platba nebude provedena, bude dedikace vyškrtána ve stadiu druhé korektury textu.

Časopis má pravidelné rubriky: **souborný referát** (cca 20 stránek rukopisu), **původní práce** (cca 12 stránek rukopisu), **krátké sdělení** (maximálně 6 stránek rukopisu, nestrukturovaný souhrn maximálně 10 řádek, počet tabulek/grafů maximálně 1-2, počet referencí maximálně 10), **zprávy ze zahraničních sjezdů** (maximálně 2 stránky rukopisu), **zprávy, oznámení, osobní sdělení** (maximálně 3 stránky rukopisu), **recenze knih** (maximálně 3 stránky rukopisu).

U původní práce je doporučena následující struktura: úvod, materiál a metody, výsledky, diskuse, závěry, literatura. Součástí souborného referátu, krátkého sdělení a původní práce je souhrn, který má být co nejstručnější, psaný ve 3. osobě, s minimálním počtem zkratk, které mají být při prvním použití vysvětleny. **Souhrn původní práce má být strukturovaný: cíl práce, materiál a metodika, výsledky, závěry.** Souhrn krátkého sdělení je maximálně na 10 řádek, nestrukturovaný. Pod souhrnem má být uvedeno 3-5 klíčových slov. **Články publikované v časopisu *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie* jsou dostupné na webových stránkách časopisu:**

pisu: <https://www.prolekare.cz/casopisy/epidemiologie>

Pro stažení plného textu publikovaných článků v PDF je nutno provést registraci na webových stránkách časopisu.

Vyzýváme autory, aby nepodceňovali provedení aktuální rešerše zahraniční i české literatury na dané téma a aby náležitě diskutovali o svých výsledcích.

Redakci je nutno dodat rukopisy psané na počítačím typem písma Times New Roman, velikost 12, po jedné straně listu formátu A4, řádkování 1,5. U textu je vhodné provést automatickou kontrolu podle slovníku „ABC“ ve Wordu. Taxonomické názvy se píšou kurzivou, text určený ke zdůraznění tučným písmem. Při prvním použití druhového názvu je třeba název rodu vypsat celý (např. *Escherichia coli*), při druhém a dalším použití se název rodu zkracuje (*E. coli*).

Redakce přijímá rukopisy v textovém editoru Word for Windows. Příspěvky musí být napsány formou tzv. hladké sazby: bez zarážek, odrážek, neúčelných tvrdých „enterů“ na konci řádky („enterem“ oddělovat pouze odstavce, ne běžný konec řádky), podtrhávání, změny velikosti písma, formátování (na střed, pomocí tabulátorů), automatické číslování odstavců (např. u citací v literatuře nutno číslice vypisovat) a veškerých grafických experimentů, které moderní tiskový editor umožňuje. Veškerá přednastavení je nutné zrušit. **Každý elektronicky dodaný příspěvek musí být zároveň dodán i v tištěné formě v jednom vyhotovení.** Papírový a elektronický text musí být identické.

Pod názvem práce je třeba uvést jméno autora či autorů (v pořadí: příjmení, křestní jméno) a jeho (jejich) pracoviště. **Křestní jména autorů se uvádějí pouze iniciálami.**

Na zvláštním listě (v elektronické podobě v odděleném souboru) přikládá korespondující autor prohlášení, že práce nebyla dosud publikována, ani nabídnuta k publikaci v jiném časopisu. Je povinností korespondujícího autora zajistit, aby všichni spoluautoři souhlasili s publikováním předložené verze rukopisu. Tuto skutečnost rovněž uvede do zmíněného prohlášení. Na uvedené prohlášení není žádný formulář – jedná se o volné sdělení korespondujícího autora, které předkládá redakci časopisu spolu s rukopisem.

Seznam literatury je nutno zpracovat podle státní normy ČSN ISO 690, 010197, s číslováním podle abecedy nebo podle pořadí uvedení citace v textu rukopisu, čísla citací jsou v textu rukopisu uvedena v hranatých závorkách.

Autoři jsou nabádáni, aby v časopisu *Epidemiologie, mikrobiologie a imunologie* omezili autocitace pouze na zásadní a nezbytné.

U citací s větším počtem autorů se jméno čtvrtého a dalších nahrazuje zkratkou et al. V citacích monografií lze při více než dvou autorech zkratkou et al. nahradit již jméno druhého a dalšího autora.

Příklady citací:

• monografie

Křížová P, Rožnovský L. Meningokokové onemocnění. Praha: Maxdorf; 2011.

• příspěvek v monografické publikaci

Křížová P. Epidemiologie invazivního meningokokového onemocnění. In: Křížová P, Rožnovský L. Meningokokové onemocnění. Praha: Maxdorf; 2011. s. 167-195.

• článek v seriálových publikacích

Vogel U, Taha MK, Vazquez JA et al. Predicted strain coverage of a meningococcal multicomponent vaccine (4CMenB) in Europe: a qualitative and quantitative assessment. Lancet Infect Dis, 2013;13(5):416-425.

Pokud jsou použity zkratky časopisů, je nutné dodržovat ČSN 01 01 96 Zkracování názvů časopisů a jiných periodik. U odkazů na práce dosud nepublikované, avšak přijaté k uveřejnění, je třeba uvést název časopisu s poznámkou (v tisku).

• informace o lokaci elektronických dokumentů

– odkaz na elektronickou monografii

Olson, Nancy (ed.) Cataloging Internet resource: A Manual and Practical Guid [on line]. 2nd ed. Dublin: OCLC, c1997[cit. 2003-04-09]. Dostupný na [www:<http://www.oclc.org/oclc/man925cat/toc.htm>](http://www.oclc.org/oclc/man925cat/toc.htm). ISBN 1-556553-236-9.

– citování online dokumentu (neznámý autor)

Dlouhodobý záměr Univerzity Karlovy v Praze [online]. 1999-09-09 [cit. 2001-11-201]. Dostupný na [www: <http://certik.ruk.cuni.cz/asuk/dlouhodobyzamer.html>](http://certik.ruk.cuni.cz/asuk/dlouhodobyzamer.html)

• elektronické seriálové publikace

– odkaz na časopis v elektronické podobě

JEP: The Journal of Electronic Publishing [online]. Ann Arbor (MI): University of Michigan Press. 1995- [cit. 2003-04-02]. 12x ročně. Dostupný také z [www: <http://www.přes.umich.edu/jep>](http://www.přes.umich.edu/jep) index.html. ISSN 1080-2711.

– odkaz na webovskou verzi tištěného časopisu

Forum: časopis Univerzity Karlovy. Praha: Univerzita Karlova, 1995- 1x za 14 dnů. Dostupný také na [www: <http://enlil.ff.cuni.cz/>](http://enlil.ff.cuni.cz/)

Všechny grafy, schémata, obrázky a tabulky (formát A4) v tištěné formě je nutno označit na rubu jménem autora, názvem práce a číslem grafu. Tabulky a grafy se zařazují až na konec rukopisu na samostatných listech, nikoliv do textu. Příkládá se seznam tabulek, grafů, obrázků a k nim potřebná legenda.

Obrázky a grafy lze tisknout i barevně. Elektronickou obrazovou dokumentaci (tj. grafy, fotografie i barevné, výstupy z přístrojů) přijímá redakce časopisu pro

přímé tiskařské zpracování, a to ve formátech tiff a eps. Grafy musí být zpracovány například ve formátu Excel, kde je připojena zdrojová tabulka. **Tabulky mohou být ve Wordu nebo Excelu, tabulky naskenované nelze použít.** Veškerá dokumentace musí být zaslána i v papírové podobě. Pokud jsou obrázky ve formátu jpg, je třeba užít velkého rozlišení (300 dpi) z důvodů kvality. **Pozor: obrázky vložené do Wordu nejsou kvalitní (příliš malé rozlišení), je vhodné dodávat je samostatně.**

Pro urychlené doručení korektur je nutno uvést u korespondujícího autora jméno a příjmení i s tituly a přesnou adresou, včetně PSČ, telefonem a e-mailem (e-mailová adresa bude uvedena v publikaci).

Po přijetí práce k publikování dostane autor na opravu tiskových chyb první korekturu. V korektuře lze opravit všechny nedostatky a chyby, ale nelze nic měnit na původním textu. **Rukopis opravený podle korektorských značek autor musí vrátit podle pokynů redakce do týdne.**

Souborné referáty, původní práce a krátká sdělení procházejí recenzním řízením. V souladu s recenzními pravidly časopisu je rukopis nejprve posouzen v předrecenzním řízení redakční radou a pokud jím úspěšně projde, je zahájeno vlastní recenzní řízení. Oba procesy probíhají oboustranně anonymizované. Pro rukopisy jsou určeni dva nezávislí recenzenti. V případě rozporných recenzí je osloven třetí nezávislý recenzent. Konečné rozhodující slovo má redakční rada časopisu při sestavování nového čísla. O negativním výsledku recenzního řízení je informován korespondující autor, nikoli však recenzenti rukopisu. Redakční rada časopisu si váží práce recenzentů a velmi za ni děkuje. Zároveň však redakční rada připomíná, že nemá kapacitu oznamovat konečné výsledky recenzního řízení recenzentům, ani je předběžně oslovovat s dotazem, zda chtějí článek recenzovat. Pokud recenzent nemůže z jakéhokoli důvodu recenzi provést, informuje o této skutečnosti co nejdříve redakční radu časopisu, popř. jí nabídne za sebe jiného vhodného recenzenta.

Rukopisy všech členů redakční rady podléhají stejně jako všechny ostatní rukopisy nezávislému recenznímu řízení, bez možnosti ovlivnění výsledků tohoto řízení. Redakční rada velmi hlídá transparentnost svých postupů a jejich soulad s mezinárodně uznávanými etickými zásadami vydávání odborných časopisů. Na základě posudku recenzentů rozhoduje redakční rada o přijetí a uveřejnění rukopisu. Redakční rada si vyhrazuje právo provádět opakované recenze. Autor je povinen reagovat na připomínky recenzního řízení a vysvětlit eventuální neakceptování doporučení recenzentů.

Redakce si vyhrazuje právo určit pořadí prací při jejich zveřejňování i právo na konečnou jazykovou úpravu textu do tisku.

Přijaté práce se archivují v redakci a nevyžádané rukopisy se nevracejí autorům.

POKYNY PRO AUTORY A RECENZENTY

Rukopisy v kvalitní elektronické formě je nutno posílat redakci e-mailem na adresu emi@szu.cz a současně jeden výtisk poštou na adresu:

MUDr. Pavla Křížová, CSc.
vedoucí redaktorka časopisu Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie
Centrum epidemiologie a mikrobiologie
Státní zdravotní ústav
Šrobárova 48
100 42 Praha 10
e-mail: emi@szu.cz

Rukopisy opravené podle připomínek recenzentů je třeba vrátit e-mailem a v jednom vytištěném exempláři na stejnou adresu.

Pokyny pro autory a recenzenty jsou dostupné na webových stránkách časopisu Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie:
<https://www.prolekare.cz/casopisy/epidemiologie/informace>

Aktualizováno 28. 2. 2019.