

VI. KONGRES

KLINICKÉ
MIKROBIOLOGIE

INFEKČNÍCH
NEMOCÍ

EPIDEMIOLOGIE

KMINE 2017

25.–27. 10. 2017

Konferenční centrum City, Praha

KNIHA ABSTRAKTŮ



VI. kongres klinické mikrobiologie, infekčních nemocí a epidemiologie

KMINE 2017

25. – 27. 10. 2017

Konferenční centrum City, Praha

KNIHA ABSTRAKTŮ

Kniha abstraktů

VI. kongres klinické mikrobiologie, infekčních nemocí a epidemiologie (KMINE 2017)

Autor: kolektiv autorů

Měsíc a rok vydání: říjen 2017

Online PDF publikace

Vydal GUARANT International spol. s r. o.

pro Společnost pro epidemiologii a mikrobiologii (SEM ČLS JEP)

E-mail: sem@szu.cz

www.sem-cls.cz

Abstrakta neprošla jazykovou úpravou. Za odbornou a jazykovou stránku abstraktů odpovídají jejich autoři. Pracoviště autorů jsou uvedena na základě podkladů dodaných autory.

Všechna práva vyhrazena.

Zveřejněné informace mohou být dále použity za předpokladu úplného citování původního zdroje.

Copyright © Společnost pro epidemiologii a mikrobiologii (SEM ČLS JEP) 2017

Text © autoři 2017

ISBN 978-80-906662-5-2

OBSAH

PŘEDNÁŠKY	6
Přeshraniční hrozby infekčních onemocnění a možnosti jejich kontroly.....	6
Nová a znovu se objevující infekční onemocnění	14
Molekulární metody v diagnostice a epidemiologii infekčních onemocnění.....	21
Infekce spojené se zdravotní péčí a možnosti jejich prevence	28
Infekční onemocnění preventabilní očkováním	38
Aktuality v oborech.....	45
HIV/AIDS, STD, virové hepatitidy	56
Antiinfektiva a rezistence	64
POSTERY	72
Přeshraniční hrozby infekčních onemocnění a možnosti jejich kontroly.....	72
Nová a znovu se objevující infekční onemocnění	77
Infekce spojené se zdravotní péčí a možnosti jejich prevence	86
Antiinfektiva a rezistence	92
Infekční onemocnění preventabilní očkováním	97
HIV/AIDS, STD, virové hepatitidy	98
Molekulární metody v diagnostice a epidemiologii infekčních onemocnění.....	101
Aktuality v oborech.....	116

PŘEDNÁŠKY

Přeshraniční hrozby infekčních onemocnění a možnosti jejich kontroly

Současná rizika přeshraničního šíření tuberkulózy a možnosti kontroly

Wallenfels J.

Národní jednotka dohledu nad tuberkulózou, Nemocnice Na Bulovce, Praha

V roce 2016 bylo v České republice hlášeno 517 nových případů (a recidiv) tuberkulózy všech forem a lokalizací, což představuje 4,9 hlášených tuberkulóz na 100 000 obyvatel. Roční počty hlášených tuberkulóz až do roku 2013 klesaly, od té doby však zůstávají prakticky neměnné v rozmezí 502 až 518. Česká republika i přes současnou stagnaci výskytu nadále patří k zemím s nižší incidencí tuberkulózy v Evropě.

K příznivé epidemiologické situaci tuberkulózy v České republice nepochybně přispívá relativně nízký podíl zde žijících cizinců pocházejících ze zemí s vysokým výskytem tuberkulózy, což se odráží i na stále relativně nízkém (byť rostoucím) počtu i podílu tuberkulóz zjištěných u osob narozených mimo Českou republiku. Česká republika je pro většinu uprchlíků nanejvýše tranzitní zemí, není na hranicích EU.

Podíl osob narozených mimo Českou republiku se zjištěnou tuberkulózou v České republice v roce 2016 představoval 29,2 % z celkové notifikace, což bylo nejvíce v historii. V Praze činil tento podíl dokonce 48,6 %. Jednalo se v absolutních číslech o 151 případů (pro srovnání nejvyšší počet dosud byl zaznamenán v roce 2008 a činil 186 případů) celkem z 22 států, nejvíce z Ukrajiny (41 případů), Rumunska, Slovenska a Vietnamu (po 21 případech). Nebyla hlášena ani jedna tuberkulóza u občana Afghánistánu, Iráku či Sýrie, tj. u občanů ze zemí nejvíce zmiňovaných v souvislosti s evropskou migrační krizí.

Na nárůst podílu tuberkulóz zjištěných u cizinců v České republice zareagovalo Ministerstvo zdravotnictví v roce 2017 vydáním postupu poskytovatelů pracovnělékařských služeb a registrujících poskytovatelů v oboru všeobecné praktické lékařství při pracovnělékařských prohlídkách. Ministerstvo zdravotnictví doporučuje, aby výše uvedení poskytovatelé u uchazečů o zaměstnání ze zemí s vyšším výskytem tuberkulózy než 40 případů na 100 000 obyvatel zvážili mj. indikaci potřebných vyšetření směřujících k zamezení vzniku a šíření tuberkulózy, a to např. skiagram hrudníku a tuberkulínový nebo IGRA test.

V prezentaci budou podrobněji rozebrány odlišnosti výskytu tuberkulózy u cizinců vs. u domácí populace a možnosti (výhody a nevýhody) různých opatření kontroly tuberkulózy.

Literatura

Registr tuberkulózy. <http://eregpublic.ksrzis.cz/cms/web/Stranky/TBC.aspx>

Změní přítomnost cizinců incidenci tuberkulózy v ČR?

Amlerová J.¹, Hrabák J.^{1,2}

¹Ústav mikrobiologie FN a LF UK Plzeň; ²Biomedicínské centrum, LF UK Plzeň

Úvod: Tuberkulóza (TB) patří z epidemiologického hlediska mezi nejsledovanější infekční onemocnění. Česká republika se řadí mezi země s nízkým výskytem TB, v posledních letech se incidence pohybuje do 5 nových případů na 100 000 obyvatel za rok. Sledován je též výskyt rezistentních forem TB, zejména výskyt multirezistentní TB (MDR TB), kdy je prokázána rezistence současně na dvě ze základních antituberkulotik (AT) – rifampicin a isoniazid.

V Plzeňském kraji došlo od roku 2016 k významnému zvýšení výskytu TB v souvislosti s pobytem cizinců zaměstnávaných pracovními agenturami, nejvíce původem z Rumunska. Od 1. 7. 2016 do 31. 5. 2017 byla v Laboratoři pro dg. mykobakterií Ústavu mikrobiologie FN v Plzni TB kultivačně ověřena u 30 cizinců (podle země původu) – Rumunsko (n=14), Bulharsko (n=2), Slovensko (n=8), Ukrajina (n=3), Vietnam (n=2), Lotyšsko (n=1).

Materiál a metodika: U izolátů *Mycobacterium tuberculosis* ve sledovaném souboru byla stanovena citlivost k základním AT metodou metabolickou v Bactec MGIT 960 (Becton Dickinson, US) a metodou proporční dle Canettiho na vaječných půdách (LabMediaServis, CZ). Izoláty od pacientů rumunského původu (n=14) byly vybrány ke genotypizaci metodou celogenomové sekvenace (WGS) na platformě Illumina MiSeq. DNA byla izolována kitem Sorb B (Sacace, IT) s následnou přípravou knihovny za použití kitu DNA Library Nextera XT (Illumina, US). Data z celogenomové sekvenace byla srovnána softwarem REALPHY 1.10. Ze sekvenačních dat byl vyhodnocen genetický podklad rezistence izolátů k antituberkulotikům (detekce mutací v cílových genech).

Výsledky: V souboru bylo prokázáno 26 kmenů citlivých na všech 5 základních AT, jeden kmen byl rezistentní na rifampicin, isoniazid a streptomycin, další tři byly rezistentní na isoniazid a streptomycin. V současnosti probíhá celogenomová analýza izolátů dle metodiky popsané výše.

Závěr: Přestože doposud patří Česká republika k zemím s nízkým výskytem TB, je nutno výskyt tohoto onemocnění sledovat a epidemiologicky analyzovat. Ukazuje se, že příchod cizinců z rizikových zemí stran TB představuje určité riziko pro obyvatele ČR. Zásadní je problematika včasné diagnostiky TB u nemocných, jejich izolace a léčba. Kliničtí lékaři všech odborností musí být neustále edukováni, aby na TB onemocnění mysleli již při prvním kontaktu s pacientem. Epidemiologická analýza a genotypizace izolátů vede k pochopení způsobu šíření onemocnění i rezistentních kmenů, což umožňuje zavedení účinných epidemiologických opatření. WGS je nejmodernější a velmi účinnou metodou této epidemiologické analýzy.

Práce byla podpořena Národním programem udržitelnosti LO 1503 a projektem PROGRES Q39.

Ptačí tuberkulóza/aviární mykobakteriόza

Svobodová J.

Laboratoř pro diagnostiku mykobakterií a TBC, IFCOR, Brno

Ptačí tuberkulóza a aviární mykobakteriόza jsou vyvolány podmíněně patogenními mykobakteriemi aviárního komplexu, které se vyskytují u ptáků (*Mycobacterium avium* subsp. *avium*), ve vodě vč. pitné, rašelině (*M. avium* subsp. *hominissuis*, *M. intracellulare*) i jinde v prostředí.

Netuberkulózní mykobakterie se nepřenášejí z člověka na člověka. Dosud bylo popsáno asi 185 mykobakteriálních druhů. Typicky napadají jedince se sníženou imunitou a dospělé s chronickým postižením plic. U dětí je známé ochranné působení kalmetizace. Poměr pohlaví je vyrovnaný. U dospělých převažují plicní formy onemocnění, u dětí krční lymfadenitidy. Postižené děti jsou obvykle 1–6leté a proti tuberkulóze neočkované. Nejčastějším etiologickým agens mykobakteriόz je *M. avium*. Klinický obraz ani histologický nález se nijak neliší od tuberkulózy. Pro diagnózu je rozhodující kultivační průkaz původce. Péče o pacienty s mykobakteriόzami vyžaduje širokou interdisciplinární spolupráci pneumologů, pediatrů, infektologů, imunologů, mikrobiologů, histologů, chirurgů a dalších specialistů. Léčba je z důvodu rezistence obtížná a vzhledem k vlastnostem mykobakterií dlouhodobá. Využívá se kombinace antituberkulotik i jiných antimikrobiálních léků, u lymfadenitid má přednost chirurgické odstranění uzliny.

M. avium a jemu příbuzné druhy se stávají aktuálním světovým problémem. Je to způsobeno rezistencí druhu na většinu antituberkulotik a přibývajícím počtem imunosuprimovaných osob. Potlačení funkce imunity, především pak její buněčné složky, je signálem pro útok mykobakterií a propuknutí onemocnění. Široké pole působnosti se mykobakteriím otevřelo s epidemií HIV/AIDS.

Od časového limitu přiděleného tomuto sdělení se bude odvíjet zařazení kazuistik: 40letý muž s vrozenou poruchou imunity a aviární mykobakteriόzou objevující se od věku 5 let v nejrůznějších lokalizacích a vyvolanou „ptačím“ subtypem (*M. avium* subsp. *avium*), imunokompetentní 83letá žena s plicní mykobakteriόzou v terénu bronchiektázií, u které bylo *M. avium* subsp. *hominissuis* zachyceno už v r. 2003 a které je terapeuticky těžko ovlivnitelné. Sotva vyjde čas na dětské lymfadenitidy.

Zdravotní rizika spojená s migrací do ČR

Pazdiora P.

Ústav epidemiologie LF v Plzni, UK a KHS Plzeňského kraje se sídlem v Plzni

Úvod: Problematika migrace s sebou nese kromě bezpečnostních, ekonomických, politických a sociálních aspektů i dopady na zdraví populace. Situace v evropských zemích si od roku 2015 vyžaduje v této souvislosti pozornost nejen laické veřejnosti, ale především zdravotnických pracovníků. Cílem práce je analýza dosavadních zkušeností s významem migrantů pro epidemiologickou situaci v ČR.

Materiál a metodika: Na základě dostupných celostátních dat byla provedena analýza významu rezidentů pro vznik některých infekčních onemocnění. Na základě dat poskytnutých Ministerstvem vnitra (MV) ČR byla provedena analýza onemocnění, která souvisejí s pohybem migrantů v ČR v letech 2015–2017.

Výsledky: Podle údajů MV ČR tvoří cizinci cca 5 % obyvatel, v posledních letech bylo uděleno občanství ročně 1 500–2 250 cizincům, vesměs z Ukrajiny, Slovenska, Ruska a Vietnamu. V souvislosti s uplatněním těchto národností na veřejném zdraví je třeba zmínit jejich významný podíl na výskytu virové hepatitidy A (Slovensko, Ukrajina), vrozeného zarděnkového syndromu (Vietnam), tuberkulózy (Rumunsko, Vietnam, Ukrajina, Slovensko), infekce HIV (Slovensko, Vietnam) v ČR. K významnému nárůstu podílu cizinců dochází ale i u virové hepatitidy B, syfilis, kapavky.

K 1.6.2017 byla v rámci vstupních vyšetření 770 žadatelů o azyl zachycena nejčastěji tato onemocnění, resp. markery infekce: syfilis (5x), HIV (3x), shigelóza (2x) – nejčastěji u Ukrajinců.

Závěry: Situace kolem migrantů, uprchlíků a azylantů se v dalších letech bude nepochybně dále vyvíjet. Odborná doporučení zdravotnickým pracovníkům musí vycházet z měnící se epidemiologické situace, národnostního zastoupení, ale i počtů migrujících osob.

Zdravotnické zabezpečení migrantů v zařízeních MV ČR

Toman J.

Odbor zdravotnického zabezpečení Ministerstvo vnitra ČR

Úvod: Rezortní orgán ochrany veřejného zdraví je zřízen dle § 83 zákona č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů.

Materiál: V roce 2015 ovlivnila odbornou činnost oddělení ochrany veřejného zdraví OZZ MV rozsáhlá migrační vlna uprchlíků ze zemí východního světa (Sýrie, Afghánistán, Pákistán, Írán, Irák, Ukrajina...), kteří se přes Českou republiku, jako tranzitní zemi, dostávali do cílových zemí – Německo, Francie a severských států. Všichni zadržení migranti na území ČR byli umístěni v zařízeních Ministerstva vnitra.

Nejvíce vytižené bylo v té době Záchytné zařízení pro zajištění cizinců (dále jen „ZZC“) v Bělé pod Bezdězem – Jezové, kde byla v průběhu roku zvýšena kapacita pro ubytování z 270 míst na cca 700 míst. Navýšení kapacity bylo provedeno instalací mobilních obytných buněk a umístěním lůžek do společných prostor. Všechna tato opatření s sebou z pohledu ochrany veřejného zdraví nesla řadu problémů a situací, které se dařilo na místě operativně řešit (stravování, ubytování, zajišťování lékařských prohlídek, výskyt infekčních onemocnění apod.). Od roku 2016 je toto zařízení určeno pro rodiny s dětmi a ženy (případně partnerské nebo manželské páry). V současnosti je provozní kapacita stanovena na 90 míst.

Dne 6. srpna 2015 bylo zprovozněno ZZC ve Vyšních Lhotách s kapacitou 450 míst, které již v minulosti k těmto účelům sloužilo, a od září 2015 byla od Ministerstva spravedlnosti vypůjčena a upravena bývala mužská věznice v Drahonicích, která poskytovala 240 míst. V roce 2016 byl provoz ZZC Drahonice přesunut do nedaleké obce Balková, kde bylo upraveno již dříve k těmto účelům používané zařízení Ministerstva vnitra. V těchto dvou zařízeních jsou umístěni pouze muži. V současnosti je provozní kapacita stanovena ve Vyšních Lhotách na 198 míst a v Balkové na 200 míst.

V provozu jsou také „Přijímací střediska“ v Zastávce u Brna a v Ruzyni, kterými prochází žadatelé o azyl nebo dočasnou ochranu.

Výsledky: V roce 2015 prošlo těmito zařízeními celkem 3 352 osob. Během roku nebyl zaznamenán významně vyšší výskyt infekčních onemocnění v žádném zařízení pro zajištění cizinců.

V roce 2016 bylo v těchto zařízeních zabezpečeno 1 707 cizinců, za období od 1. ledna do 30. března 2017 zatím „pouze“ 486 cizinců. Ani za toto období nebyla hlášena významná onemocnění infekčními chorobami.

V období omezení na svobodě je klientům zajištěna 24hodinová zdravotní péče.

Závěry: Výše uvedené informace mají přiblížit odborné populaci, že migrantům se v našich zařízeních dostává odborné péče i po stránce zdravotnické. Součástí prezentace budou i přehledy epidemiologické situace za jednotlivá období a fotografie ze zdravotnických zařízení Ministerstva vnitra.

Je difterie opět aktuální?

Fabiánová K.^{1,2}, Košťálová J.¹, Kříž B.^{1,2}

¹Oddělení epidemiologie infekčních nemocí, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha; ²Ústav epidemiologie a biostatistiky, 3. LF UK, Praha

Difterie je známa od starověku. Patřila mezi jednu z hlavních příčin dětské nemoci a úmrtnosti.

Původcem difterie jsou korynebakterie produkující toxin, čistě lidský patogen *Corynebacterium diphtheriae*, případně primárně zvířecí druhy *C. ulcerans* a *C. pseudotuberculosis*.

Po zavedení očkování se na celém světě podařilo významně snížit počty případů onemocnění a úmrtí. Nicméně v některých státech se difterie stále vyskytuje. V roce 2015 evidovala Světová zdravotnická organizace (WHO) 4530 případů difterie. Odhad globálního pokrytí třemi dávkami kombinované vakcíny proti difterii, tetanu a pertusi (DTP3) je sice 86 %, ale pouze 28 % zemí dosáhlo 80% pokrytí DTP3 ve všech regionech.

Smrtnost onemocnění se ani po letech očkování nezměnila; pohybuje mezi 5–10 %; u dětí mladších 5 let věku a u osob nad 40 let dosahuje až 20 %.

V ČR byl poslední případ difterie evidován v roce 1995. Podle výsledků sérologických přehledů z roku 2001 byla antidifterická imunita české populace na velmi dobré úrovni a nehrozilo, že by po zavlečení difterie do ČR mohlo dojít k epidemii, nicméně nebyl vyloučen případný import či onemocnění neočkovaných jedinců.

Přenos původců difterie je možný především kapénkami nebo kontaktem s kontaminovanými předměty nebo nepasterizovanými mléčnými produkty. V úvahu připadá zejména možnost zavlečení infekce z oblastí s endemickým výskytem onemocnění, kde je rovněž vyšší výskyt bezpříznakového nosičství v populaci, tedy také v souvislosti s migrací a uprchlíky. Vliv na výskyt onemocnění má i vyvanutí imunity po očkování, zhoršování socioekonomických podmínek, pokles proočkovanosti populace či bezdůvodné kontraindikace očkování. Také přítomnost netoxigenních kmenů v populaci představuje reálné nebezpečí konverze v toxigenní kmeny.

V současné době je často diskutována otázka dostupnosti či spíše nedostupnosti difterického antitoxinu na evropském území. Přitom včasná specifická terapie nesmí být odkládána; ovlivňuje samotné přežití či vznik případných komplikací onemocnění. V březnu 2016 zemřelo v Belgii na difterii neočkované 3leté dítě čečenského původu narozené v Belgii. První příznaky onemocnění se objevily 6. března. Protože Belgie nemá difterický antitoxin, nabídlo Evropské centrum pro kontrolu nemocí (ECDC) zprostředkovat jeho zajištění. Národní institut pro veřejné zdraví a životní prostředí (RIVM) Nizozemska dodal antitoxin 16. března 2016. Přes veškerou snahu a podání antitoxinu dítě zemřelo 17. března. Příčinou úmrtí bylo srdeční selhání, fatální myokarditida, v souvislosti s progresivním průběhem onemocnění.

Stálá kontrola onemocnění, tedy důsledně prováděná surveillance difterie a udržení vysoké proočkovanosti, vzhledem k nárůstu cestování a současné migrační krizi, je nutná v celém evropském regionu.

Onemocnění importovaná na území České republiky

Roháčová H.

Klinika infekčních, parazitárních a tropických nemocí, Nemocnice Na Bulovce, Praha

Na území České republiky jsou ročně importovány stovky onemocnění z různých oblastí světa s různou mírou epidemiologického rizika. Jde nejen o většinou lehká onemocnění v rámci cestovatelských průjmů, ale o celou řadu dalších – jako horečky, dengue, infekce virem Zika, břišního tyfu, cholery i malárie včetně jejích nejtěžších forem. Nelze opominout ani možnost importu vysoce nebezpečné nákazy některou z hemorrahagických horeček či respiračních onemocnění koronaviry. Pacienti s importovaným onemocněním infekčního charakteru jsou vyšetřováni a léčeni na řadě infektologických pracovišť v rámci celé České republiky. Speciální případy potom směřují na Klinikou infekčních, parazitárních a tropických nemocí, která je připravena se o tyto pacienty postarat. Ve sdělení jsou obsažena statistická data týkající se jednotlivých importovaných onemocnění a zároveň jsou podány informace o činnosti jednotky pro vysoce nebezpečné nákazy včetně informace o cvičeních probíhajících ve spolupráci ZZS všech krajů České republiky a týkajících se převzetí pacientů s podezřením na vysoce nebezpečnou nákazu.

Globální hrozby infekčních nemocí a mezinárodní spolupráce

Dlhý J.

Oddělení epidemiologie, Odbor ochrany veřejného zdraví, Ministerstvo zdravotnictví ČR, Praha

Pandemický výskyt koronaviru SARS začátkem 21. století upozornil nepřehlédnutelným způsobem na současný potenciál přeshraničního šíření infekčních nemocí. Během této první novodobé pandemie do té doby nepoznané infekce došlo k zavlečení nákazy prakticky do celého civilizovaného světa a byla postižena také řada pracovníků zdravotnických zařízení. SARS nám ukázal, že lidstvo zatím není dokonale připraveno čelit novým a znovu se objevujícím infekcím. V praxi byly shledány nedostatky vyplývající z nedostatečně nastavených systémů spolupráce a komunikace napříč zainteresovanými subjekty a taktéž nedostatky v důsledku nejednotných epidemiologických, laboratorně diagnostických a klinických postupů, a to jak na národních úrovních, tak v mezinárodním měřítku.

Na základě uvedených zkušeností, v kontextu implementace související evropské legislativy a revidovaných Mezinárodních zdravotnických předpisů z roku 2005, došlo v řadě zemí v dalším období k vytvoření podmínek pro zlepšení surveillance infekčních nemocí a pro zapojení se do systémů související emergentní komunikace podle požadavků Evropské komise a Světové zdravotnické organizace.

Přes některé úspěchy v oblasti připravenosti a reakce na infekční nemoci se v dalším období projevila celá řada nedostatků v rámci činnosti zdravotnických systémů postižených zemí a také v koordinačních aktivitách zainteresovaných mezinárodních organizací. Příkladem je recentní, v historii dané nákazy nejrozsáhlejší epidemie Eboly v západní Africe, jejíž začátek byl opožděně zachycen na národní úrovni a jejíž průběh byl především během první vlny poznamenán nedostatečnou koordinací ze strany Světové zdravotnické organizace. Dalším příkladem nedostatečného stupně připravenosti byla epidemie nákazy koronavirem MERS, která proběhla v Jižní Koreji v roce 2015 jako následek importu jediného případu infekce ze Středního Východu.

Česká republika je do evropského systému emergentní komunikace týkající se hrozeb infekčních nemocí zapojena od roku 2004, kdy vstoupila do Evropské unie. V rámci členství ve Světové zdravotnické organizaci je ČR vázána povinností informovat o všech hrozbách pro veřejné zdraví cestou systému pro komunikaci národních kontaktních míst pro Mezinárodní zdravotnické předpisy.

V další části sdělení jsou prezentovány informace o oficiálně zdokumentovaných závažných hrozbách infekčních nemocí, které byly předmětem komunikace v rámci výše uvedených systémů během posledních pěti let, včetně výše zmíněné nákazy koronavirem MERS poprvé notifikované v roce 2012 a importovaných případů cholery do ČR v roce 2017.

Cílem sdělení je informovat o infekčních nemocech a opatřeních, které byly ve vybraném období nejčastěji komunikovány v evropském a globálním měřítku a připomenout související členské a smluvní povinnosti České republiky.

Nová a znovu se objevující infekční onemocnění

Infekční onemocnění ve 21. století

Trojánek M.

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

Infekční nemoci významným způsobem ovlivnily vývoj lidské civilizace, nicméně v minulých dvou stoletích se díky vědeckému pokroku a všeobecnému zlepšení hygienických podmínek podařilo snížit jejich celospolečenský dopad. Avšak v posledních desetiletích se stále častěji setkáváme s epidemickým výskytem nových a nově se objevujících infekcí, což v současném globalizovaném světě představuje značné riziko pro celou lidskou populaci.

I v 21. století bylo lidstvo již konfrontováno s celou řadou epidemických výzev. Za první pandemii nového století je považován výskyt viru SARS v letech 2002 až 2003 s celkovým počtem 8273 nakažených a 775 úmrtí. Příbuzný virus MERS byl poprvé identifikován v roce 2012 v Saudské Arábii a dosud bylo hlášeno celkem 2040 případů a 712 úmrtí, přičemž nákaza se stále vyskytuje v zemích Blízkého východu. Během obou epidemií bylo prokázáno, že díky letecké přepravě a rozvinutému cestovnímu ruchu může dojít k rozšíření infekce do jiných států v řádu dnů a značné riziko představuje přenos nákazy ve zdravotnických zařízeních. V letech 2014 až 2016 proběhla dosud největší epidemie hemoragické horečky Ebola v západní Africe, během které se nakazilo více jak 28 tisíc osob. Avšak značná pozornost odborné veřejnosti byla v posledních letech věnována i chřipce (pandemie A/H1N1 2009, vysoce patogenní ptačí chřipka), arbovirózám (dengue, západonilská horečka, chikungunya, Zika, žlutá zimnice) nebo celé řadě zoonotických infekcí. V odborných kruzích se stále častěji diskutuje o demografických, ale i ekologických a klimatických souvislostech, které významně zvyšují riziko šíření nových a znovu se objevujících infekcí.

Celospolečenskou výzvu představuje nárůst incidence nákaz preventabilních očkováním kvůli stupňujícímu se negativnímu přístupu široké veřejnosti k vakcinaci, což je dobře dokumentovatelné na příkladu epidemie spalniček nebo zarděnek v okolních evropských zemích. Zvyšující se věk populace a zastoupení pacientů se závažnými komorbiditami či sekundárním imunodeficitem souvisí s pozorovaným vzestupem incidence infekcí vyvolaných podmíněnými patogeny a nozokomiálních nákaz. Značný problém představuje i výskyt a šíření mikrobiálních agens rezistentních na dostupná léčiva (ESBL, karbapenemázy, plazmidicky kódovaná rezistence na kolistin, MDR/XDR TB).

Přestože problematika infekčních onemocnění byla dříve považována za již vyřešenou, z výše uvedeného vyplývá, že současná realita je zcela odlišná. Odborná veřejnost by měla být připravena reagovat nejen na potenciální výskyt nových či nově se objevujících infekcí, které mohou v moderním globalizovaném světě ohrozit značnou část populace, ale i na změnu spektra pacientů ve stárnoucí polymorbidní populaci a na stále častější výskyt obtížně léčitelných nákaz vyvolaných rezistentními agens.

Situace ve výskytu spalniček v letech 2016 a 2017 v Evropě a České republice

Limberková R., Lexová P.

Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

Podle cíle Světové zdravotnické organizace (WHO) pro Evropský region by měly být spalničky do roku 2020 eliminovány nejméně v pěti WHO regionech. Situace se ovšem nejeví příznivě, zejména díky nedostatečné proočkovanosti dvěma dávkami vakcíny. Ačkoliv Česká republika (ČR) patří mezi 15 zemí EU/EEA, ve kterých byly spalničky eliminovány, jsou stále země s endemickým přenosem spalniček jako Belgie, Francie, Německo, Itálie, Polsko a Rumunsko. V roce 2016 bylo 30 zeměmi EU/EEA hlášeno celkem 3767 případů spalniček s 9 úmrtími. 42 % všech případů bylo z Rumunska, ze kterého se do června 2017 virus spalniček rozšířil již do 12 evropských zemí včetně ČR. Do začátku června bylo v zemích EU/EEA nahlášeno necelých 8500 případů a 21 úmrtí. Ve stejném období je v Moravskoslezském kraji evidováno 126 osob s klinickým obrazem spalniček, z toho 119 laboratorně potvrzených a 114 v NRL potvrzených. Z celkového počtu 126 osob se jedná o 70 dospělých (18 zdravotníků) a 56 dětí. 40 % nemocných nebylo očkováno, 42 % nemocných byly aplikovány 2 dávky vakcíny. 26 % osob, které byly vakcinovány 2 dávkami, spadalo do věkové skupiny 30+ let. V ČR bylo po mnoho let dosahováno vysoké proočkovanosti obyvatel, což dosud umožňovalo udržet status země s přerušeným šířením onemocnění. Ještě v roce 2012 dosahovala proočkovanost dětí příslušného věku 2 dávkami MMR 98,51 %. V roce 2014 to bylo 96,12 % a v roce 2015 nebylo poprvé dosaženo hranice 95 % proočkovaných, která je považována za podmínku spolehlivé kolektivní ochrany společnosti, ale jen 93,46 %. Kontrola navíc prokázala významné rozdíly v proočkovanosti mezi jednotlivými regiony, např. v Praze bylo dosaženo proočkovanosti dvěma dávkami jen 88,28 %. Podle klasifikačního systému je v současnosti definováno 8 clades (A-H) a 24 subclades virů spalniček (A, B1-3, C1-2, D1-11, E, F, G1-3, H1-2). V České republice byly od roku 2012 zachyceny genotypy D4, B3 a D8. Za letošní epidemii v Moravskoslezském kraji je odpovědný genotyp B3. Současnou snahou NRL je zkvalitnění laboratorní diagnostiky onemocnění opřené především o spolehlivější přímý průkaz agens ve slinách nebo moči (izolace viru, PCR), kterým navíc získáme vhodný materiál pro genotypizaci, s jejíž pomocí lze díky celosvětové databázi sledovat cirkulaci spalničkového viru.

Importovaný případ cholery do České republiky – květen 2017

Marejková M.¹, Petráš P.¹, Saganová T.¹, Špačková M.², Jágrová Z.³, Macková B.⁴

¹NRL pro *E. coli* a shigely, CEM, Státní zdravotní ústav, Praha; ²Oddělení epidemiologie infekčních nemocí, CEM-SZÚ, Praha; ³Protiepidemický odbor, Hygienická stanice hl. m. Prahy; ⁴Centrum epidemiologie a mikrobiologie SZÚ, Praha;

Úvod: Cholera je akutní střevní onemocnění vyvolané bakterií *Vibrio cholerae*. Za potvrzený případ cholery je dle definice WHO označen ten, kdy u pacienta s průjmem je laboratorně prokázáno *Vibrio cholerae* O1 nebo O139. Epidemie cholery se vyskytují dodnes v řadě států z tropických oblastí. V současnosti (květen 2017) jsou velké epidemie evidovány v Jemenu a Tanzánii. V zemích EU/EEA se cholera vyskytuje zřídka, za období 2008–2015 bylo do Evropského Surveillance Systému hlášeno 162 potvrzených případů, přičemž v naprosté většině se jedná o importy. Poslední dva importované případy v České republice byly v NRL pro *E. coli* a shigely (NRL/ECS), SZÚ, potvrzeny před 15 lety, kdy dva mladí muži (24 a 29 let) si přivezli choleru z Indie, resp. z Thajska.

Materiál a metodika: Dne 16.5.2017 byl z Oddělení klinické mikrobiologie ÚVN Praha zaslán izolát suspektního *Vibrio cholerae* z rektálního výtěru 30leté ženy hospitalizované po návratu z ostrova Zanzibar s těžkým průběhem průjmového onemocnění.

V NRL/ECS byl kmen identifikován do druhu metodou MALDI-TOF MS (s využitím databáze Biotyper Security Relevant Library), a potvrzen biochemickými testy. Sérotypizace byla provedena pomocí komerčních antisér. Ke zjištění produkce cholerového enterotoxinu byla použita metoda reverzní pasivní latexové aglutinace.

Výsledky: Kmen byl identifikován jako *Vibrio cholerae* O1, sérotyp Ogawa a následně prokázána produkce cholerového enterotoxinu. Případ, spadající do diagnózy A00, byl ohlášen Ministerstvu zdravotnictví, které jej cestou EWRS oznámilo do ECDC. V pomnoženém vzorku rektálního výtěru pacientky, který jsme na vyžádání dostali, bylo dále prokázáno *Vibrio cholerae* non O1/non O139 a bakterie *Shewanella* sp. S pacientkou byl hospitalizován její 29letý přítel, který s ní na Zanzibaru pobýval a měl lehčí průběh průjmového onemocnění. V jeho klinickém materiálu bylo izolováno pouze neenterotoxigenní *V. cholerae* non O1/non O139.

Závěr: I když stoupají počty cestovatelů do tropických zemí, při dodržování základních hygienických pravidel, tj. pití balené/chlorované vody, konzumace dostatečně tepelně ošetřené stravy, mytí ovoce a zeleniny chlorovanou vodou a vyhýbání se konzumaci syrových mořských jídel, je riziko nákazy cholerou nízké. U průjmového onemocnění s anamnézou pobytu v endemických oblastech je nutno i tuto etiologii zvažovat.

Klinické, mikrobiologické a epidemiologické aspekty typického HUS v České republice

Karnišová L.¹, Marejková M.², Bláhová K.¹

¹*Pediatrická klinika 2.LF UK a FN Motol, Praha;* ²*NRL pro E. coli a shigely, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha*

Úvod: Hemolyticko-uremický syndrom (HUS) je jednou z nejčastějších příčin akutního poškození ledvin u dětí. V 90 % se jedná o typickou formu HUS, pro kterou je charakteristické infekční průjemové předchorobí způsobené infekcí Shiga toxin-produkujícími kmeny *Escherichia coli* (STEC/EHEC). V naší studii byla analyzována klinická, mikrobiologická a epidemiologická data od dětských pacientů s typickým HUS hospitalizovaných na dětských odděleních v České republice.

Materiál a metodika: Provedli jsme retrospektivní studii pacientů s typickým HUS hospitalizovaných na 6 dětských klinikách v letech 1999 až 2015. Do studie byli zahrnuti jen ti pacienti s typickým HUS, ke kterým se podařilo získat klinická data (propouštěcí zprávy). Sledovanými údaji byly demografická data, laboratorní hodnoty (Hb, PLT, LDH, kreatinin), nutnost a trvání dialýzy, extrarenální komplikace, doba trvání hospitalizace, fenotypy a genotypy kmenů STEC/EHEC izolovaných ze stolice pacientů s typickým HUS.

Výsledky: Za 16leté období bylo studováno 58 pacientů s diagnózou typického HUS. Medián věku pacientů v době hospitalizace byl 27,5 měsíců (v rozmezí 7–129 měsíců, 25 chlapců a 33 dívek). Dialýza byla nutná u 37 (63,8 %) pacientů, u 13 (22,4 %) byla nutná hospitalizace na ARK s UPV, téměř ¼ pacientů (14/58) měla neurologické komplikace a 5 pacientů zemřelo během akutní ataky. Medián doby hospitalizace byl 18 dnů (rozmezí 3–72 dní). Jako etiologická agens byla ze stolice pacientů izolována STEC ve 33 případech. V dalších 2 případech byly identifikovány kmeny *E. coli* séro skupiny O111, kde lze předpokládat ztrátu genů pro Shiga toxiny. Nejčastější sérotyp STEC byl O26:H11 (48,5 % všech STEC, N=16), dále se podílely kmeny STEC séro skupin O157 (N=12), O111 a 145.

Závěr: STEC séro typu O26:H11 se významně uplatňuje jako původce typického HUS v České republice. V rámci naší studie onemocnění HUS nejčastěji postihovalo děti do 3 let věku, u téměř 2/3 případů s nutností dialýzy a celková smrtnost byla až 8,6 %. I když kmeny STEC/EHEC nepatří v České republice mezi nejčastější bakteriální vyvolavatele průjemového onemocnění, představují tyto infekce závažný zdravotnický problém a je potřeba jim věnovat zvýšenou pozornost. Kromě toho, že jsou schopné vyvolat rozsáhlé epidemie, mohou být původci nejen průjemových onemocnění, ale i život ohrožujícího hemolyticko-uremického syndromu.

Menstruální forma syndromu toxického šoku v ČR, 1983–2016

Sokolová J., Petráš P.

NRL pro stafylokoky, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, SZÚ, Praha

Úvod: Syndrom toxického šoku (STŠ) je charakterizován především čtyřmi příznaky: náhlým zvýšením teploty ($> 38,9\text{ }^{\circ}\text{C}$), skarlatinoformním nebo jiným typem vyrážky, poklesem krevního tlaku a následným olupováním pokožky končetin, obličeje i trupu. Kromě těchto základních příznaků se může vyskytnout řada dalších systémových abnormalit (zvracení, průjem, překrvení sliznic, bolest svalů, poruchy CNS, a j.). Menstruální syndrom toxického šoku (menSTŠ) je jednou ze dvou forem tohoto závažného stafylokokového systémového onemocnění. Nemenstruální forma je komplikací jakéhokoli jiného stafylokokového onemocnění. Původcem menSTŠ jsou především kmeny *Staphylococcus aureus* s produkcí toxinu syndromu toxického šoku (TSST-1). Vzácně to mohou být kmeny *S. aureus* produkující pouze některý z typů enterotoxinů.

Materiál a metodika: Kmeny *S. aureus* byly zaslány z laboratoří klinické mikrobiologie ze všech krajů ČR. Ke zjištění produkce TSST-1 a stafylokokových enterotoxinů byla použita metoda reverzní pasivní latexové aglutinace, přítomnost genů kódujících příslušné toxiny byla zjišťována metodou PCR.

Výsledky: V NRL pro stafylokoky máme za 34 let od roku 1983 do konce r. 2016 zaznamenáno celkem 210 případů STŠ. Z nich je 72 (33,8 %) menstruální formy. Věk patientek se pohyboval od 13 do 37 let, s průměrem 20,4 roku a mediánem 19 let. U většiny (68 případů, tj. 94,4 %) byl jako původce prokázán kmen *S. aureus* s produkcí TSST-1, buď samotně, nebo v kombinaci s některým typem enterotoxinu. Pouze u 4 případů menSTŠ byly jako agens zjištěny kmeny se samotným enterotoxinem (2x enterotoxin typu C, 1x typ B, 1x typ H).

Závěr: Řada onemocnění měla vážný průběh, vyžadující i pobyt na jednotce intenzivní péče. Rizikovými faktory onemocnění menSTŠ jsou přítomnost toxinogenních kmenů *S. aureus*, nějaká imunitní porucha a používání vaginálních tampónů. Pro úspěšnou léčbu je zásadní včasné rozpoznání stafylokokové etiologie a nasazení odpovídající terapie. Ve všech námi prezentovaných případech menstruální formy STŠ bylo v anamnéze uvedeno používání vaginálních tamponů.

Spondylodiscitidy na Klinice infekčního lékařství FN Ostrava v období 1. 1. 2010 až 31. 12. 2016

Bartková D., Rožnovský L.

Klinika infekčního lékařství FN Ostrava, Ostrava

Spondylodiscitida je závažným, spíše subakutně probíhajícím onemocněním postihujícím zejména osoby vyššího věku s četnými komorbiditami. Jedná se o heterogenní onemocnění, které v různé míře postihuje struktury páteře a okolní tkáň. Jako etiologické agens se mohou uplatnit různé mikroorganismy, ve vyspělých zemích je jím nejčastěji *Staphylococcus aureus*. Toto onemocnění vyžaduje dlouhodobou antibiotickou léčbu a často i chirurgický výkon.

Soubor tvoří pacienti hospitalizovaní na Klinice infekčního lékařství FN Ostrava v období od 1. 1. 2010 – 31. 12. 2016. Spondylodiscitida těchto pacientů byla potvrzena zobrazovacími metodami – výpočetní tomografií nebo magnetickou rezonancí. Etiologická agens byla prokázána kulturačně buď z hemokultur nebo z peroperačně získaného materiálu.

Celkem bylo v daném období hospitalizováno 29 pacientů, jednalo se o 23 mužů a 6 žen, věkový medián byl 64 let. Nejčastějším důvodem vyhledání lékařské péče byla několik týdnů trvající bolest zad. Z diagnostického hlediska je metodou s nejvyšší senzitivitou magnetická rezonance, byla provedena u 27 pacientů z našeho souboru. Spondylodiscitida byla nejčastěji lokalizována v oblasti lumbosakrální páteře, a to v 51 %, u 23 pacientů došlo k šíření do paravertebrálních tkání. U 12 pacientů byl zvolen konzervativní terapeutický přístup, u 17 pacientů chirurgický. Důvodem k chirurgickému výkonu byla nejčastěji progresse neurologického deficitu a nutnost drenáže abscesu. Etiologické agens se podařilo prokázat u 16 pacientů, nejčastěji byl zachycen *Staphylococcus aureus*, což představuje 62 % ze všech objasněných případů, u 13 pacientů zůstala etiologie neznámá. Délka intravenózní antibiotické terapie byla v našem souboru v rozmezí 25–90 dnů, celková délka léčby antibiotiky trvala 50 dnů – 6 měsíců. Průběh hospitalizace se obešel u 15 pacientů bez komplikací, 4 pacienti zemřeli, jednalo se o polymorbidní muže.

Spondylodiscitida i nadále zůstává závažným onemocněním s nejistou prognózou. Vzhledem k nespecifickým příznakům je často stanovení správné diagnózy opožděno o týdny až měsíce. Magnetická rezonance je zobrazovací metodou volby při podezření na spondylodiscitidu a měla by být indikována u všech nejasných stavů s bolestmi zad a elevací zánětlivých parametrů. Před nasazením antibiotické léčby je třeba pátrat po původci onemocnění a důsledně odebírat materiál na mikrobiologická vyšetření. Péče o pacienta se spondylodiscitidou by měla být mezioborová, zahrnující podle zvyklosti pracoviště infektology, neurochirurgy nebo ortopedy, neurology a rentgenology.

Podíl nechřipkových respiračních virů na etiologii ARI – epidemiologická, klinická a virologická charakteristika

Havlíčková M.¹, Jiřincová H.¹, Nagy A.¹, Nováková L.¹, Limberková R.¹, Kočnarová N.², Rodák L.¹, Procházková J.¹, Kyncl J.¹

¹Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha; ²Praktický lékař pro děti a dorost, Praha 6

Nechřipkové respirační viry patří mezi významné původce akutních respiračních infekcí dětí i dospělých. Na rozdíl od chřipky, jejíž sezónnost je poměrně jednoznačně spjata s obdobím zhruba prosinec až březen (duben) a mimo svůj epidemický výskyt bývá cirkulace chřipky sporadická, se nechřipkové viry vyskytují celoročně s určitými maximy. V programu virologické surveillance v ČR jsou vedle chřipky sledovány viry parainfluenzy (HPIV), lidské rhinoviry (HRV), koronaviry (HCoV), lidský bocavirus (hBoV), respirační syncytiální virus (HRSV), lidský metapneumovirus (HMPV) a adenoviry (HAdV). Detailnější pohled na prevalenci nechřipkových respiračních virů umožnilo až široké využití polymerázové řetězové reakce (PCR). Z výsledků vyplývá, že nechřipkové respirační viry se uplatňují na etiologii akutních respiračních infekcí (ARI) v úhrnném poměru ve výrazně vyšší míře než chřipka. Do roku 2009 se dařilo diagnostikovat viry způsobující ARI pomocí izolace v tkáňových kulturách a/nebo detekcí antigenu v průměru v 20 %. Po roce 2009 záchytnost kontinuálně stoupala díky uplatnění PCR a jejímu rozšiřování na maximální spektrum nechřipkových původců až na 70–75 %. Nechřipkový PCR panel byl postupně rozšiřován a od sezóny 2016–2017 doplněn o rutinní vyšetřování rhinovirů. Tato skupina virů prevaluje především na podzim a její incidence opět roste po ústupu chřipkové epidemie. Z hlediska četnosti se rhinoviry zatím řadí hned za viry chřipkové. Adenoviry a koronaviry cirkulují spíše mírně během celé epidemické sezóny, HRSV často nasedá na chřipkovou epidemii, takže jeho zvýšená incidence může splývat s ustupující vlnou chřipky. Tento fenomén se neobjeví každý rok, je závislý na epidemické aktivitě HRSV, ale dobře ilustruje nutnost cílené laboratorní diagnostiky, neboť i v době chřipkové epidemie se na etiologii ARI/ILI podílí nechřipkové respirační viry a především HRSV. Zejména u dětských pacientů se na etiologii ARI může podílet několik respiračních virů současně, smíšené infekce jsou relativně četné. Navíc, i u zcela zdravých dětí lze ve výtěrech detekovat různé respirační viry. V kontrolní skupině 40 dětí zcela bez respiračních příznaků byl některý ze sledovaných virů diagnostikován ve 13 případech (32,5%). Nejčastěji byl zachycen HRV, což potvrzují i údaje z odborného písemnictví. Toto přetrvávání virů (ačkoliv se nebude jednat o klasické nosičství) nemusí, ale může představovat i zdroj infekce, což epidemiologii těchto patogenů dále komplikuje. Klinické projevy nechřipkových ARI zasahují horní i dolní cesty dýchací, bez virologického vyšetření nelze stanovit kauzální diagnózu. Cílená diagnostika je nezbytným předpokladem nejen kvalitní léčby, ale i surveillance a v budoucnu i kontroly očkovacích programů.

Děkujeme firmě GeneProof a.s. za inspirativní spolupráci.

Molekulární metody v diagnostice a epidemiologii infekčních onemocnění

Využití molekulárních metod v surveillance infekčních onemocnění

Křížová P.

Státní zdravotní ústav, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Praha

Rozvoj molekulárních metod v mikrobiologii dává stále větší možnosti zkvalitnění laboratorní diagnostiky infekčních onemocnění. Výsledky molekulárních metod mohou být účinně využity ve zkvalitnění léčby i surveillance infekčních onemocnění.

Přesná surveillance data, včetně molekulárních dat, jsou předpokladem účinné kontroly infekčních onemocnění:

- provádění opatření v ohnisku onemocnění;
- řešení přeshraničních hrozeb infekčních onemocnění;
- hodnocení účinnosti vakcinační strategie a doporučování její aktualizace;
- hodnocení vhodnosti použití nově vyvíjených vakcín.

Molekulární metody jsou postupně zaváděny v evropských zemích do rutinního použití v surveillance infekčních onemocnění. Molekulární epidemiologická data jsou mezinárodně srovnatelná, umožňují provádění globální surveillance a tedy řešení přeshraničních hrozeb infekčních onemocnění.

Podpora celoevropské molekulární surveillance infekčních onemocnění je jednou z hlavních priorit Evropského centra pro kontrolu nemocí (ECDC), které utvořilo pracovní skupiny, s cílem harmonizace metod, zajištění jejich kontroly kvality a určení prioritních okruhů nemocí, kde je žádoucí rychlé zavedení celoevropské molekulární surveillance. V současné době je vybráno 13 infekčních onemocnění/okruhů, u nichž ECDC plánuje prioritní implementaci molekulárních typizačních metod do surveillance a šetření v ohnisku: MDR-tuberkulóza, salmonelóza, listerióza, STEC/VTEC infekce, invazivní meningokokové onemocnění, ATB-rezistentní gonokokové infekce, MRSA infekce, CPE infekce, *C. difficile* infekce, chřipka, HIV, hepatitida, západonilská horečka.

Specifické místo mezi molekulárními metodami zaujímá sekvenace celého genomu infekčních agens (Whole Genome Sequencing, WGS), která se neuvěřitelně rychle přesunula z uplatnění ve výzkumu do rutinního používání v surveillance infekčních onemocnění. V řadě zemí bylo již prokázáno, že kromě zpřesnění dat surveillance, přináší WGS i úsporu finanční a časovou. ECDC podporuje řadu projektů, které jsou zaměřeny na celoevropskou implementaci molekulární surveillance infekčních onemocnění.

Na webových stránkách ECDC (<http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/microbiology/microbiology-activities/Pages/Molecular-typing.aspx>) je dostupná řada materiálů o možnostech využití molekulárních metod v surveillance infekčních onemocnění, například: Molecular surveillance roadmap, Strategy to harness whole genome sequencing for strengthening EU outbreak investigation and public health surveillance.

V České republice je řada pracovišť, která molekulární metody využívají v rutinní i výzkumné činnosti, se zaměřením klinickým, mikrobiologickým i epidemiologickým. Vzájemná spolupráce těchto oborů je pro rozvoj účinné molekulární surveillance infekčních onemocnění nezbytná.

Klinické využití molekulárních metod

Chmelík V.¹, Trubač P.², Piskunová N.², Chrdle A.¹, Filipová P.¹, Musil D.³, Teplý O.⁴

¹Infekční odd., ²Laboratoř molekulární biologie a genetiky, ³Ortopedické oddělení, ⁴Neurochirurgické oddělení Nemocnice České Budějovice a.s.

Molekulárně genetické vyšetření umožňuje poměrně rychlý záchyt původce infekční nemoci a stalo se tak důležitou součástí komplexního vyšetření jednotlivého pacienta i epidemického výskytu infekční nemoci. Na Infekčním oddělení v Českých Budějovicích jsou vyšetřováni a léčeni nejen pacienti s klasickými infekcemi a HIV/AIDS, ale probíhá zde i společná péče o infekce kostí, kloubů abscesů měkkých tkání včetně spondylodiscitid, infekcí totálních endoprotéz a abscesů mozku. Tato péče je založena na každodenní úzké spolupráci s laboratořemi a chirurgickými obory, především ortopedií a neurochirurgií.

Vyšetření molekulárně genetické indikujeme jako součást diferenciálně diagnostické otázky v několika odlišných situacích:

1. Ověření původce při hromadném/epidemickém výskytu nemoci (ARO, chřipka)
2. Verifikaci klinického syndromu v.s. virové etiologie a virovou nálož
3. Monitorování efektu protivirové terapie a vyšetření na rezistenci viru- RAS (HIV a virové hepatitidy B,C).
4. Jako součást komplexního vyšetření vysoce důležitého materiálu (mozkomíšní mok, hnis z abscesu mozku, páteřního kanálu, z kloubu, z totální endoprotézy).

Na cestě od rozpoznání, že jde o infekci/hnisání, přes podání empirické léčby umožňuje v dalším kroku molekulárně genetické vyšetření upřesnění pravděpodobného agens, podání tentokrát již presumptivní terapie a bezpečné vyčkání na definitivní bakteriologický nález s citlivostí původce.

Již léta vedeme kontinuální rozhovor a spolupráci s pracovníky laboratoří a každá vizita a konzultace pak vede k dalšímu pokroku a upřesnění informace o původci a postupné dosažení ideální cílené terapie.

Včasná a správně cílená léčba rozhoduje o osudu našich pacientů. K jejímu dosažení je nezbytná kontinuální spolupráce mezi jednotlivými medicínskými obory. V nalezení vhodné presumptivní terapie pak hraje molekulárně genetické vyšetření mezi ostatními mikrobiologickými obory důležitou roli.

Srovnání výsledků PCR spojené s hmotnostní spektrometrií (PCR/ESI-MS), pan-bakteriální PCR a hemokultivace pro diagnostiku sepse

Tkadlec J.¹, Bébřová E.¹, Beroušek J.², Adámková J.³, Martínková V.³, Moser C.⁴, Florea D.⁵, Dřevínek P.¹

¹Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, Praha; ²Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny 2. LF UK a FN Motol, Praha; ³III. chirurgická klinika 1. LF UK a FN Motol, Praha; ⁴Department of Clinical Microbiology, Rigshospitalet, Kodaň, Dánsko; ⁵National Institute for Infectious Diseases, University of Medicine and Pharmacy Carol Davila, Bukurešť, Rumunsko

Úvod: Rychlé a přesné určení příčiny sepse je stále jednou z hlavních výzev pro klinickou mikrobiologii. Falešná negativita hemokultivace u 30 až 40 % pacientů s vážnou sepsí je důvodem pro hledání nových metod s vyšší senzitivitou. Širokospektré (Broad-range) PCR spojené s ESI-MS (electro-spray ionization mass spectrometry) představuje novou metodu schopnou během 6 hodin detekovat z krve více než 800 mikroorganismů, včetně několika genů rezistence. V naší studii jsme srovnali výsledky tří metod pro detekci patogenů z plné krve: PCR/ESI-MS, klasické hemokultivace a komerční pan-bakteriální PCR (16S rDNA).

Materiál a metodika: Analyzovali jsme 162 vzorků krve od 132 pacientů s podezřením na sepsi hospitalizovaných na jednotkách intenzivní péče III. chirurgické kliniky a kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny FN Motol v obdobích únor-duben 2016 a červen 2016 – únor 2017. Každý vzorek byl zároveň vyšetřen pomocí i.) konvenční hemokultivace (BACTEC™ FX, Beckton Dickinson, USA) ii.) pan-bakteriální PCR genu pro 16S rRNA s následným druhovým určením na základě sekvenace (UMD SelectNA, Molzym, Německo); iii.) PCR/ESI-MS (IRIDICA BAC BSI, Abbott, USA). Klinická významnost nálezů byla určena na základě srovnání výsledků všech metod, klinického stavu a předcházejících nebo dodatečných mikrobiologických nálezů pacienta.

Výsledky: Ze 162 vyšetřených vzorků bylo 100 pozitivních alespoň jednou z metod, z nich 87 pomocí PCR/ESI-MS, 40 pomocí pan-bakteriální PCR a 35 hemokultivačně. Z PCR/ESI-MS pozitivních vzorků byl u 76 (87 %) z nich výsledek hodnocen jako významný: u 46 vzorků to bylo z důvodu unikátního nálezu relevantního agens a u 30 vzorků pro kratší dobu do positivity (6 hodin oproti mediánu 23 hodin hemokultivace a 36 hodin 16S PCR). Z 13 PCR/ESI-MS negativních vzorků, které byly pozitivní pomocí jiné metody, bylo 12 hodnoceno jako pravděpodobná kontaminace.

Závěry: Prezentovaná studie ukazuje vysoký podíl případů, u nichž relevantní patogenní agens detekovala pouze metoda PCR/ESI-MS. Navíc, čas do výsledku PCR/ESI-MS byl signifikantně kratší než u ostatních metod.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR č. AZV15-28157A. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

Molekulární surveillance invazivního meningokokového onemocnění v České republice

Vacková Z., Křížová P.

Národní referenční laboratoř pro meningokokové nákazy, Státní zdravotní ústav, Praha

V Národní referenční laboratoři pro meningokokové nákazy (NRL/MEN) jsou rutinně používány v molekulární surveillance invazivního meningokokového onemocnění (IMO) metody polymerázové řetězové reakce (PCR), real time PCR (rt-PCR) a klasická Sangerova sekvenace, nově je zaváděna sekvenace celého genomu.

Metoda PCR, v současnosti především ve své výhodnější modifikaci rt-PCR, se používá v NRL/MEN nejen k identifikaci izolátů *Neisseria meningitidis* včetně určení séroskupiny, ale také k přímé identifikaci a typizaci tohoto bakteriálního agens z klinických materiálů (likvor, krev, sekční vzorky). Provádění těchto PCR má obrovský význam, jelikož v roce 2016 prokázalo 53,5 % invazivních meningokokových onemocnění v ČR a u 25,6 % bylo dokonce jedinou metodou poskytující pozitivní výsledek. Informace o odběru, transportu a vyšetřovacích metodách viz:

<http://www.szu.cz/pcr-z-ruzneho-klinickeho-materialu-prukaz-n-meningitidis-h-1>.

Klasická Sangerova metoda sekvenace se v NRL/MEN využívá v mnoha schématech. Prvním typem je multilokusová sekvenace *N. meningitis* (Multilocus Sequence Typing, MLST). Jedná se o sekvenaci 7 genů (*abcZ*, *adk*, *aroE*, *fumC*, *gdh*, *pdhC*, *pgm*), na jejichž podkladě se rozeznávají klonální komplexy (cc). Díky MLST je možno definovat tzv. hypervirulentní klonální komplexy, které působí častěji invazivní meningokokové onemocnění. Dalším typem je sekvenační identifikace genů antigenů čtyřkomponentní vakcíny proti meningokoku B, MenB vakcíny (fHbp – factor H binding protein, NHBA – Neisseria Heparin Binding Antigen, nadA – Neisserial adhesin A, porA – protein zevní buněčné membrány PorA P1.4.), která umožní predikci pokrytí izolátů *N. meningitidis* touto vakcínou. Poslední současnou aplikací je sekvenace genů *penA* – penicillin-binding protein 2 důležitého pro antibiotickou citlivost a *fetA* – Iron-regulated outer membrane protein pro typizaci *N. meningitidis*.

Nově se do popředí dostává metoda sekvenace celého genomu (Whole Genome Sequencing, WGS), která poskytuje možnosti detailní charakterizace *N. meningitidis* a umožňuje spojení všech doposud používaných sekvenačních metodik do jednoho testování.

Molekulární surveillance umožňuje mezinárodní porovnání získaných výsledků a tím i zapojení NRL/MEN nejen do českých ale i do mezinárodních aktivit, jakými jsou např. EWRS (Early Warning System), EMGM (European Meningococcal and Haemophilus Disease Society), IBD-Labnet (Invasive Bacterial Disease Laboratory Network), EMERT (European Meningococcal Epidemiology in Real Time), hlášení dat do TESSy či účast v EQA (External Quality Assessment).

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 15-34887A. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

Detekce *Clostridium difficile* PCR ribotypu 027 pomocí molekulárních metod

Krůtová M.¹, Kuijper E.², Matějková J.¹, Šolarová M.¹, Nekvasilová H.¹, Mentula S.³, Nyč O.¹

¹Ústav lékařské mikrobiologie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze a fakultní nemocnice v Motole, Praha. ²Leiden University Medical Centre, Leiden, the Netherlands ³Bacterial Infections Unit, Department of Infectious Diseases, National Institute for Health and Welfare, Helsinki, Finland

Úvod: *Clostridium difficile* patří k nejvýznamnějším nozokomiálním patogenům současnosti. PCR ribotyp 027, který je často spojován s těžkými formami střevních infekcí a četnými rekurencemi, patří k velmi sledovaným PCR ribotypům i vzhledem k jeho celosvětovému rozšíření zejména v nemocnicích. Pro včasnou identifikaci tohoto PCR ribotypu bylo vyvinuto několik komerčních tak i „in-house“ molekulárních metod založených na detekci delece v pozici 117 regulačního genu *tcdC*. Přítomnost této delece byla také publikována u PCR ribotypu 176¹, který byl v ČR detekován v roce 2009² a v posledních letech patří mezi epidemicky významné ribotypy v ČR a v Polsku³.

Materiál a metodika: Z finské sbírky *C. difficile* bylo analyzováno 28 izolátů vybraných na základě genetické podobnosti s PCR ribotypem 027. Kritériem jejich výběru byla přítomnost genů pro produkci binárního toxinu a 18bp delece v regulačním genu *tcdC*, které jsou v genomu PCR ribotypu 027 také přítomny. Izoláty byly charakterizovány pomocí PCR ribotypizace (kapilární elektroforéza), MLVA, MLST a sekvenováním fragmentu genu *tcdC*.

Výsledky: Mezi vyšetřovanými 28 izoláty *C. difficile* jsme identifikovali 13 různých ribotypizačních profilů (ribotypy 016, 034, 075, 080, 153, 176, 328, WEBRIBO typy 411, 475, AI-78, tři nové profily F1-F3) a 11 sekvenačních typů (1, 41, 47, 67, 95, 191, 192, 223, 229, 264, jeden nový sekvenační typ). Analýza variabilních oblastí genomu (MLVA) potvrdila regionální klonální šíření u izolátů *C. difficile* třech PCR ribotypů (016, 176, F3) a také u izolátů *C. difficile* PCR ribotypu 027, které byly zařazeny jako kontrolní kmeny. Navíc 22 izolátů *C. difficile* osmi různých ribotypizačních profilů (016, 080, 176, 328, F1, F2, F3 a AI-78) neslo delecii v pozici 117 genu *tcdC*.

Závěry: Vzhledem k nalezenému vysokému počtu izolátů různých ribotypů nesoucích delecii v pozici 117 genu *tcdC*, cílového místa pro identifikaci ribotypu 027 komerčními soupravami PCR, je nutné výsledky z těchto souprav správně interpretovat jako „pravděpodobný“ výskyt ribotypu 027 s případným doplňujícím komentářem. Vzhledem k existenci dalších ribotypů s delecí v detekované oblasti a s přihlédnutím k současné epidemiologické situaci v ČR se nejspíše jedná o PCR ribotyp 176. Přesná identifikace PCR ribotypu je možná pouze pomocí PCR ribotypizace s detekcí na kapilární elektroforéze.

1. Krutova M. et al., Folia Microbiologica, 2014.
2. Nyč O. et al., Lancet 2011.
3. Pituch H. et al., Euro Surveillance 2015.

Cluster legionelóz z wellness aneb zrádný svět relaxace

Tkadlecová H.¹, Drašar V.², Martinková I.³, Mrázek J.⁴, Kantorová M.⁴

¹Krajská hygienická stanice Zlínského kraje se sídlem ve Zlíně, protiepidemický odbor; ²Národní referenční laboratoř pro legionely; ³Krajská hygienická stanice Moravskoslezského kraje se sídlem v Ostravě; ⁴Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

Úvod: V letech 2014–2015 byly hlášeny 3 případy legionelózy v místní souvislosti s nejmenovaným wellness hotelem. Environmentálním šetřením a díky molekulární epidemiologii se podařilo prokázat příčinnou souvislost porovnáním kmenů od pacientů a kmenů izolovaných z vody z provozovny.

Cíl: Prokázat význam nejen environmentálního šetření s dotypováváním kmenů legionel (i opakovaným), ale i význam získávání klinických kmenů od pacientů. Demonstrovat potíže při státním zdravotním dozoru a epidemiologickém šetření.

Metoda: Epidemiologické šetření – depistáž, environmentální šetření, laboratorní průkaz – kultivace, molekulárně biologická typizace legionel.

Výsledky: Úzkou spoluprací mezi NFP (National Focal Point), kliniky, epidemiology, národní referenční laboratoří, molekulárně biologickou laboratoří se podařil průkaz příčinné souvislosti mezi výskytem legionel ve vodě daného zařízení a onemocněním legionelózou.

Perličkou tohoto případu je výskyt minimálně 2 odlišných kmenů, z nichž každý sám způsobil legionelózu v rámci jednoho clusteru:

Případ	Klinické vyšetření	Environmentální šetření	Průkaz ano/ne
1	L.p. sg 1 MAb Knoxville, ST 435	TUV pokoj - L.p. sg 1 MAb Knoxville, ST 435	A
2	UAg pozitivní	Časová, místní a epidemiologická souvislost, domácnost negativní	? (A)
3	L.p. sg.1, MAb Philadelphia ST new	Voda z whirlpoolu – L.p. sg.1, MAb Philadelphia ST new	A

Závěr: Hodnoty legionel při posledních 2 odběrech vyhověly legislativním požadavkům v parametru *Legionella sp.* (ale stačí to???). V provozovně je prováděn opakovaný SZD i ve spolupráci s dalšími dozorovými orgány. Zařízení trpí typickými nedostatky těchto ubytovacích zařízení se specificky zaměřenou klientelou a je i nadále problematické, protože majitel budovy je zdánlivě někdo jiný než provozovatel.

Klíčová slova: cluster, legionelóza, environmentální šetření, molekulární epidemiologie

Bakteriomi a virom při manifestaci dětského diabetu 1. typu: studie ze čtyř geograficky vzdálených populací Afriky a Asie

Cinek O.¹, Kramna L.¹, Mazankova K.¹, Odeh R.², Alassaf A.², Ugochi Ibekwe M. A.³, Ahmadov G.⁴, Mekki H.⁵, Ahmed Abdullah M.^{5,6}, Mukhtar Elwasila Elmahi B.^{5,6}, Lebl J.¹

¹*Pediatrická klinika a Ústav lékařské mikrobiologie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha;* ²*Department of Pediatrics, School of Medicine, University of Jordan, Amman, Jordan;* ³*Department of Pediatrics, Federal Teaching Hospital Abakaliki, Ebonyi State University, Abakaliki, Nigeria;* ⁴*Endocrine Centre Baku, Azerbaijan;* ⁵*Department of Paediatrics and Child Health, University of Khartoum, Faculty of Medicine, Khartoum, Sudan;* ⁶*Sudan Childhood Diabetes Center, Khartoum, Sudan*

Úvod: Diabetes 1. typu je multifaktoriální polygenní choroba, které vzniká následkem autoimunitní destrukce beta buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu. Běžná infekční agens dětského věku a složení bakteriomu střeva jsou na předním místě mezi kandidáty na spouštěče tohoto procesu. Právě střevo, pro svůj intimní imunologický vztah k oblasti pankreatu, je logickým cílem výzkumu. Konkrétní viry ani bakteriální taxa způsobující diabetes 1. typu nejsou dosud známy. Pokroky metagenomiky vyústily v cca patnáct studií bakteriomu v různých fázích prediabetického procesu, z nichž žádné dvě se neshodují ve svých výsledcích. Několik studií pochází z populací Evropy (zejm. severní) a po jedné z USA, Mexika a Číny. Naše práce měla za cíl charakterizovat střevní bakteriomi a virom u dětí těsně po nástupu diabetu 1. typu ze čtyř afrických a západoasijských zemí a srovnat je s kontrolami podobného věku a bydliště.

Materiál a metodika: Vzorky stolice byly odebrány od 73 dětí a adolescentů krátce po diagnóze diabetu 1. typu (Ázerbájdžán 19, Jordánsko 20, Nigérie 14, Súdán 20) a od 104 kontrolními subjekty podobného věku a místa bydliště. Genotypizace hlavních rizikových genů pro diabetes 1. typu byla provedena ze slin nebo krve. Virom stolice byl charakterizován pomocí metagenomického sekvenování obohacené virové frakce stolice a specifických PCR testů, zatímco profilování střevního bakteriomu proběhlo masovou sekvenací 16S ribozomální DNA. Asociace byla testována regresními metodami adjustovanými na různý geografický původ vzorků a na další zavádějící faktory.

Výsledky: Signifikantní pozitivní asociace s diabetem 1. typu byla zjištěna pro rody *Escherichia* (třída *Gammaproteobacteria*, kmen *Proteobacteria*), *Prevotellamassilia* (tř. *Bacteroidia*, k. *Bacteroidetes*) a *Megasphaera* (tř. *Clostridia*, k. *Firmicutes*). Signifikantní negativní asociace pak byly pozorovány uvnitř třídy *Clostridia* (k. *Firmicutes*) s nejsilnějším efektem rodů *Pseudobutyryvibrio*, *Eubacterium* a *Roseburia*. Několik dalších asociačních signálů bylo omezeno pouze na jednu ze studovaných populací. Ve složení viromu jsme nepozorovali rozdíly mezi případy a kontrolami. Rizikový efekt HLA molekul DQ2 a / nebo DQ8 byl jasně přítomen, což nepřímo svědčí o správnosti diagnózy diabetu 1. typu.

Závěry: Zdá se, že nerovnováha složení střevního bakteriomu v časných stadiích diabetu 1. typu je jev globální; naše studie přináší první data z oblasti Afriky a Předního východu a přidává k již existujícím kandidátním bakteriím další. Nyní je třeba zjistit, zda globálně pozorovaná nerovnováha je důsledkem schopnosti některých bakteriálních taxonů akcelarovat ostrůvkovou autoimunitu směrem k diabetu, nebo zda pozorujeme reverzní kauzalitu, kdy prediabetický stav je příčinou změny mikrobiomu.

Infekce spojené se zdravotní péčí a možnosti jejich prevence

Prevence a kontrola infekcí spojených se zdravotní péčí v systému zdravotní péče České republiky – plníme požadavky Doporučení Rady EU z roku 2009?

Jindrák V.

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

Doporučení Rady EU o bezpečnosti pacientů včetně prevence a kontroly infekcí spojených se zdravotní péčí bylo přijato ministry zdravotnictví všech členských zemí v červnu 2009. S odstupem 8 let je poněkud paradoxní, že zemí, která přivedla tento dokument do pomyslného finišu po několika letech příprav, byla právě Česká republika, která prvním půlroce 2009 Unii předsedala. Jakkoliv jsme v dubnu toho roku uspořádali ministerskou konferenci na téma „Mikrobiální hrozba pro bezpečnost pacientů“ a vynaložili jsme velké úsilí, aby byla tato agenda co nejlépe zvládnuta, zdálo se, jako by po skončení této naší role bylo vše zapomenuto. Trvalo několik let, než toto téma znovu ožilo v oficiální rovině zodpovědných úředníků. Až když byla publikovaná první hodnotící zpráva Evropské komise o implementaci tohoto Doporučení v členských státech, zjistilo, že většinu požadovaných parametrů nesplňujeme. Co pozitivního se v průběhu uplynulých 8 let stalo?

- Když se zjistilo, že v České republice chybí kvalifikovaní profesionálové – specialisté prevence a kontroly infekcí v nemocnicích, konečně bylo možné přesvědčit úředníky o potřebě vzniku vzdělávání, alespoň pro sestry specializované na tuto oblast. Vznikl dlouhodobý kurz, který už má v současnosti třetí cyklus, je vyhodnocený ECDC jako plně kompatibilní s evropskými požadavky na klíčové kompetence těchto pracovníků, a je otevřený pro sestry, lékaře i jiné zdravotníky. Podle současných dat je potřeba sester pro prevenci a kontrolu infekcí naplněna asi z poloviny, lékařů maximálně z jedné třetiny, pokrok je ale značný. Počet absolventů kurzu brzo přesáhne 50.
- V roce 2012 byl schválený zákon o zdravotních službách, v němž se objevil stručný paragraf, který zavazuje nemocnice ke zřízení tzv. programu prevence a kontroly infekcí spojených se zdravotní péčí. Šlo o průlomovou událost, protože do té doby se žádná infrastruktura na úrovni jednotlivých nemocnic nepředpokládala. V době, kdy zákon vstoupil v platnost, ale vůbec nebylo jasné, jak má takový program vypadat.
- Na jaře 2013 publikovalo Ministerstvo zdravotnictví metodický postup popisující program prevence a kontroly infekcí v nemocnicích poskytujících akutní lůžkovou péči. Současně byla publikována sestava strukturálních indikátorů, podle kterých bylo možno úroveň programu v jednotlivých nemocnicích hodnotit a postupně zavádět.
- Na podzim 2012 zřídilo Ministerstvo zdravotnictví ve Státním zdravotním ústavu Národní referenční centrum pro infekce spojené se zdravotní péčí, kterému určilo 6 základních úkolů v dané oblasti.
- Jednou z prvních aktivit NRC byla formulace konsensu o prioritách a metodách národní surveillance infekcí spojených se zdravotní péčí. Roztříštěnost těchto aktivit byla a stále je značná, Doporučení rady přitom jasně říká, že v členských zemích EU má být surveillance organizována podle metod a definic ECDC, nikoliv jiných institucí, či privátních subjektů.
- V roce 2015 přijala vláda České republiky Akční plán strategie Zdraví 2020, kde je v části věnované zvládání infekcí podrobně zpracovaný dílčí akční plán k problematice infekcí spojených se zdravotní péčí. Tato skutečnost je podstatná, protože dává navržené strategii legitimitu a vážnost, i když zatím nejsou k dispozici finanční prostředky, které vláda pro realizaci přislíbila.

Stále mnoho věcí chybí a existuje mnoho překážek na dlouhé cestě k funkčnímu systému prevence a kontroly infekcí v našich nemocnicích. V závěru sdělení bude podán přehled hlavních problémů a bariér, které zlepšení současného stavu brání.

Prevalence infekcí spojených se zdravotní péčí v nemocnicích České republiky – výstupy opakovaných evropských studií v letech 2012–2017

Hedlová D.¹, Jindrák V.¹, Prattingerová J.¹, Vaniš V.¹, Gašpárek M.²

¹Národní referenční centrum pro infekce spojené se zdravotní péčí, Státní zdravotní ústav, Praha;

²Oddělení biostatistiky, Státní zdravotní ústav, Praha

Úvod: V Doporučení Rady EU o bezpečnosti pacientů včetně prevence a kontroly infekcí spojených se zdravotní péčí z roku 2009 se oddíle věnovaném surveillance uvádí, že je v EU třeba v pravidelných intervalech provádět bodová prevalence šetření (Point prevalence surveys – PPS), zaměřená na výskyt infekcí spojených se zdravotní péčí (HAI). Koordinátorem a metodickým garantem těchto studií je síť evropské surveillance HAI-Net, v rámci ARHAI programu Evropského centra pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC). Posléze byla k surveillance HAI přičleněna také surveillance používání antibiotik (síť ESAC-Net jako součást téhož programu ECDC), a také sestava některých strukturálních indikátorů (dostupnost specializovaného personálu prevence a kontroly infekcí v nemocnicích, úroveň hygieny rukou, kapacita pro izolaci pacientů, provádění surveillance, apod.) Interval provádění evropské PPS byl stanoven na každých 5 let. V České republice byl v roce 2012 formulován konsensus o prioritách, zaměření, účelu a metodách národní surveillance HAI. Dokument je k dispozici na webu Ministerstva zdravotnictví České republiky (http://www.mzcr.cz/Verejne/obsah/narodni-surveillance-infekci-v-cr_2925_5.html). Jeho součástí je shoda na tom, že se v České republice mají provádět PPS ve spolupráci s ECDC, zejména za účelem určení zátěže HAI pro národní zdravotní systém.

Materiál a metody: Od roku 2012 proběhly v České republice 3 PPS, první byla evropská PPS v roce 2012 (PPS-EU-2012), další byla národní (PPS-CZ-2015) a poslední, opět evropská podle inovované metodiky, proběhla v květnu a červnu roku 2017 (PPS-EU-2017). Principem patientské části PPS je určení jednodenní (bodové) prevalence HAI na lůžkových odděleních zúčastněných nemocnic a současně vyhodnocení indikací antimikrobiálních léčiv ve shodném časovém uspořádání. Další částí PPS je shromáždění vybraných údajů o zúčastněných nemocnicích (denominátorová data jako počet ošetřovacích dnů, počet přijetí apod., a také strukturální ukazatele, jako je personální kapacita, ukazatele charakterizující úroveň hygieny rukou, apod.).

Výsledky:

PPS-EU-2012 se účastnilo 14 nemocnic, což byl nedostatečný vzorek stran reprezentativnosti. Prevalence HAI byla 4,5 %, zatímco evropský průměr byl 6 %. Tato PPS ukázala zejména na vážný nedostatek specializovaného personálu prevence a kontroly infekcí v našich nemocnicích.

PPS-CZ-2015 se účastnilo 32 nemocnic (9 terciálních, 18 sekundárních, 4 primární a 1 specializovaná) a bylo zařazeno celkem 7 587 pacientů. Celková prevalence HAI byla 7,6 %, prevalence HAI získaných při aktuální hospitalizaci byla 5,5 %. Pneumonie tvořily 17,3 %, katéetrové infekce krevního řečiště 5,2 %, infekce v místě chirurgického výkonu 21,7 %, infekce močového ústrojí 20,1 % a infekce *C. difficile* 5,9 %. Průměrný počet pacientů léčených antibiotiky byl 35,8 %. Bez mála 50 % antibiotik bylo indikováno pro léčbu komunitní infekce, 20 % pro léčbu nozokomiální infekce, 15 % pro chirurgickou profylaxi a 10 % pro jinou preventivní indikaci.

PPS-EU-2017 se účastnilo 45 nemocnic (11 terciálních, 30 sekundárních, 2 primární a 2 specializované), předběžné výsledky poskytlo v termínu požadovaném pro odevzdání přihlášky na kongres KMINE 42 nemocnic, které zařadily 14 515 pacientů, čímž byla splněna nejprísnější kritéria pro reprezentativnost vzorku nemocnic za Českou republiku. Celková prevalence HAI byla 7,1 %, prevalence HAI získaných při aktuální hospitalizaci byla 5,4 %. Pneumonie tvořily 19,9 %, infekce krevního řečiště 5,7 %, katéetrové infekce 2,5 %, infekce v místě chirurgického výkonu 19,4 %, infekce močového ústrojí 27,7 % a infekce *C. difficile* 7,5 %. Průměrný počet pacientů léčených antibiotiky byl 28,3 %. Bez mála 50 % antibiotik bylo indikováno pro léčbu komunitní infekce, 20 % pro léčbu nozokomiální infekce, 14 % pro chirurgickou profylaxi a 9 % pro jinou preventivní indikaci.

Závěry: V České republice jsou základní epidemiologické charakteristiky výskytu HAI blízké evropskému průměru a nemají excesivní charakter. Existuje však významný prostor pro snížení výskytu HAI zavedením cílených, klinicky orientovaných opatření. Předpokladem zlepšení je budování dobře organizovaných lokálních programů prevence a kontroly infekcí v nemocnicích, zajištěných dostatečným počtem kvalifikovaného personálu (lékaři a sestry pro kontrolu infekcí). V oblasti používání antibiotik patříme mezi země s nízkou úrovní, kdy se podíl pacientů exponovaných antibiotikům pohybuje okolo 30 %. Řada dílčích ukazatelů však motivuje k cíleným intervencím omezujícím nadužívání antibiotik (např. zlepšení praxe v léčbě komunitních infekcí, v chirurgické profylaxi apod.).

První zkušenosti s implementací evropského protokolu surveillance infekcí *Clostridium difficile* v České republice

Bareková L.², Jindrák V.¹, Hedlová D.¹

¹Národní referenční centrum pro infekce spojené se zdravotní péčí, Státní zdravotní ústav, Praha;

²Oddělení klinické mikrobiologie, Pardubická nemocnice, Nemocnice Pardubického kraje, a.s.

Úvod: Cílem práce bylo provedení pilotní surveillance infekcí *Clostridium difficile* (CDI) podle aktuálně zaváděné metodiky Evropského centra pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC) ve skupině nemocnic České republiky. Hlavním účelem bylo posouzení přínosu výstupů takto koncipované surveillance pro hodnocení lokální epidemiologie CDI, pro účinnou prevenci a kontrolu této infekce na lokální úrovni, včetně vyhodnocení případných nedostatků a proveditelnosti metodiky v rutinní praxi.

Materiál a metody: Pilotní surveillance CDI proběhla v posledním čtvrtletí 2016 (od 1.10. do 31.12.). Zaregistrovalo se celkem 22 nemocnic, výsledky poskytlo v termínu požadovaném pro odevzdání přihlášky na kongres KMINE 17 nemocnic. V jednotlivých nemocnicích byla pořizována jednak denominátorová data (protokol H) a dále klinické, diagnostické a epidemiologické charakteristiky jednotlivých případů (protokol C). Pouze případy nově zjištěné v určené periodě surveillance, které splnily definiční kritéria metodiky ECDC, byly použity pro další hodnocení. K orientačnímu posouzení podílu možných případů CDI byly nad rámec metodiky ECDC zaznamenávány klinicky suspektní případy, které nespĺnily všechna definiční kritéria. V rámci epidemiologických charakteristik CDI se hodnotil zejména původ jednotlivých případů (nozokomiální, komunitní), u případů nozokomiálního původu se posuzoval vznik při aktuální hospitalizaci nebo přítomnost při přijetí (importované případy), a také typ související péče (akutní lůžková péče, dlouhodobá ošetrovatelská péče). Posuzovala se četnost případů v dané nemocnici ve srovnání s očekávaným výsledkem CDI podle údajů ECDC (7 případů na 300 lůžek v dané nemocnici). Hodnotil se počet zúčastněných nemocnic s nižším, shodným a vyšším výskytem. Individuálně se hodnotila souvislost případného úmrtí pacienta s CDI (jistá, pravděpodobná, nesouvisející), a to podle perspektivy přežití daného pacienta ve vztahu k jeho základnímu onemocnění (McCabe skóre). Do této fáze hodnocení nebyla začleněna agenda molekulární typizace a vyšetření citlivosti původce k antibiotikům (protokol M).

Výsledky: V 17 nemocnicích bylo v dané periodě surveillance zjištěno 187 nových případů CDI, z toho bylo 162 (86,6 %) případů nozokomiálního původu, 135 (72,2 %) vzniklo při aktuální hospitalizaci a 29 (15,5 %) bylo spojeno s dlouhodobou ošetrovatelskou péčí. Komunitního původu bylo 16 (8,5 %) případů. Rekurentních případů bylo 35 (18,7 %), klinicky závažných případů 22 (11,8 %). V 9 nemocnicích (53 %) byl výskyt CDI nižší než předpokládaný, v 5 nemocnicích (29 %) přibližně shodný a ve 3 nemocnicích významně vyšší (18 %). V jedné nemocnici s excesivním výskytem byla většina případů spojena s dlouhodobou péčí (17 z 26 případů). Ve 132 případech byl pacient propuštěn živý, 35 pacientů zemřelo, ve zbývajících případech nebyla informace k dispozici. Z toho v 9 případech šlo o úmrtí nesouvisející s CDI, v 8 případech (4,3 %) byla souvislost hodnocena jako jistá, v 18 případech (9,6 %) jako možná. Ze zemřelých v jisté nebo možné souvislosti s CDI (26 osob) bylo 5 osob (19,2 %) s nepravděpodobným úmrtím na základní onemocnění (McCabe 1), 10 osob (38,5 %) s pravděpodobností úmrtí do 5 let (McCabe 2) a 11 osob (42,3 %) s pravděpodobností úmrtí do 1 roku (McCabe 3). V celé populaci pacientů s CDI bylo 64 osob (34,2 %) s McCabe skóre 1, 86 osob (46 %) s McCabe skóre 2 a 33 osob (17,6 %) s McCabe skóre 3. Zemřelí s jistou nebo možnou souvislostí s CDI měli primárně horší perspektivu přežití než celá populace osob zasažených CDI.

Závěry: Zjištěný výskyt a základní charakteristiky CDI v 17 nemocnicích zúčastněných v pilotní surveillance jsou srovnatelné s evropskými daty. Evropská metodika má ve vztahu k účinným opatřením prevence a kontroly CDI na lokální úrovni některé podstatné nevýhody. Zejména je to

chybění informace o lokalitě (oddělení, klinice, primariátu), kde infekce vznikla, jelikož v protokolu je pouze údaj o pracovišti, kde bylo onemocnění definitivně diagnostikováno. Je tak nesnadné cílit neodkladná opatření proti přenosu původce do těch částí nemocnice, kde problém vzniká. V datové struktuře chybí jednoznačná identifikace pacienta, což dále komplikuje určení epidemiologické souvislosti případů a zachování kontinuity opatření při překladech. Nezbytné je, aby lokální surveillance CDI umožňovala rychlou identifikaci závažných případů a epidemických epizod, které se musí řešit neodkladně v režimu časného varování. Z těchto důvodů je třeba připravit modifikovanou národní metodiku použitelnou v lokálních podmínkách, která bude vycházet z evropského protokolu, ale odstraní jeho nevýhody. Porovnáním populace zemřelých a všech osob zasažených CDI podle McCabe skóre může být hodnocení mortality zatíženo subjektivní chybou, která pravděpodobně vede k přecenění vlivu CDI na úmrtí pacienta (atributivní mortalita se v současnosti udává v hodnotě 6 až 7 %, v našem souboru je podíl případů jistě nebo pravděpodobně vedoucích k úmrtí celkem 13,9 %).

Význam lokální surveillance nozokomiálních infekcí krevního řečiště pro bezpečnost pacientů – 10 let zkušeností v Nemocnici Na Homolce

Vaniš V.^{1,2}, Jindrák V.^{2,1}, Kapounová G.¹, Švec S.³

¹Oddělení klinické mikrobiologie a antibiotická stanice, Nemocnice Na Homolce, Praha; ²Národní referenční centrum pro infekce spojené se zdravotní péčí, Státní zdravotní ústav, Praha; ³Janiga labs s.r.o., Praha; Poznámka: 2. autor působil na pracovišti 1 do 31. května 2014

Úvod: Infekce krevního řečiště (BSI) jsou sice méně četnou skupinou infekcí spojených se zdravotní péčí (HAI), mají ovšem závažné zdravotní důsledky pro nemocné, negativně ovlivňují výsledek léčby a mají významné ekonomické a provozní dopady pro jednotlivé nemocnice i pro zdravotní systém jako celek. Do skupiny primárních BSI patří zejména infekce spojené s cévními katétry, které jsou podle současných poznatků plně preventabilní. Sekundární BSI představují vrcholek ledovce v jednotlivých skupinách HAI, a týkají se obvykle nejzávažnějších případů infekcí močového ústrojí, infekcí v místě chirurgického výkonu, gastrointestinálních a nitrobršních infekcí, nebo vzácněji plicních zánětů či infekcí měkkých tkání (např. dekubitů). Surveillance BSI poskytuje kvalitní, dobře hodnotitelné a využitelné podklady pro prevenci a kontrolu významných skupin HAI, včetně posouzení účinnosti cílených opatření. Mohou být využity jako výsledkové indikátory kvality zdravotní péče, jsou-li k dispozici vhodné denominátory umožňující stratifikaci podle rizika.

Materiál a metody: V Nemocnici Na Homolce byl v letech 2004 a 2005 vybudován systém celonemocniční, incidenční a kontinuální surveillance BSI. Od roku 2006 se tato surveillance provádí rutinně a umožňuje dlouhodobé a strukturované hodnocení výstupů. Systém je založený na aktivním vyhledávání laboratorně potvrzených případů BSI a provádí se jako počítačově asistovaná surveillance. Výstupy jsou vyhodnocovány po čtvrtletích a jednotlivých letech, umožňují selektivní analýzu dílčích skupin BSI podle jejich charakteristik a příčin, které k nim vedou. Cílená opatření se provádějí na odděleních, kde surveillance odhaluje významné problémy. Od roku 2012 byl v nemocnici budován počítačově asistovaný systém rutinní registrace centrálních cévních katétrů, jako zdroj strukturovaných denominátorových dat pro analýzu katéetrových BSI. Ošetrovatelský personál od roku 2014 rutinně registruje všechny centrální cévní katétry zavedené hospitalizovaným pacientům. V databázi se zaznamenává typ katétru, počet jeho lumen, místo zavedení, impregnace a další ukazatele. Výstupy surveillance se pro BSI vyjadřují v přepočtu na 1000 ošetrovacích dnů nebo na 10 000 hospitalizací. Pro katéetrové BSI se používá přepočet na 1000 katéetrových dnů, případně na počet katétrů podle délky jejich inserce. V uvedeném období paralelně probíhal výcvik zdravotnického personálu v správném zavádění a ošetrování cévních katétrů, včetně používání balíčků preventivních opatření a měření compliance auditem.

Výsledky: V letech 2006 až 2016 poklesl výskyt BSI nozokomiálního původu z hodnot v rozmezí 2,4 až 2,5 případu na 1000 ošetrovacích dnů k hodnotám polovičním (kolem 1,2 až 1,3 na 1000 ošetrovacích dnů). Klesající trend byl v uvedeném období zaznamenán dvakrát, a sice od roku 2007, kdy byl v nemocnici zaveden program prevence a kontroly infekcí (z 2,47 v roce 2007 na 1,6 v roce 2010), další pak po zavedení registrace cévních katétrů a cíleného výcviku správné praxe v jejich inserci a používání (z 1,77 v roce 2013 na 1,24 v roce 2016). K poklesu došlo ve všech dílčích skupinách BSI, včetně katéetrových infekcí. Incidenční denzita katéetrových BSI se v letech 2014 až 2016 pohybovala v klesajícím trendu 1,56 (2014), 1,22 (2015), 0,98 (2016) případu na 1000 katéetrových dnů. Obvyklý výskyt v Evropě je kolem 1 až 2 případů na 1000 katéetrových dnů.

Závěry: Dlouhodobé intervence vycházející ze strukturované surveillance BSI vedly k významnému snížení jejich incidence. Prevence a kontrola katéetrových BSI, založená na účinné zpětné vazbě vycházející ze systému surveillance (výsledkové indikátory kvality) a z auditů preventivních opatření (hodnocení compliance formou procesních indikátorů kvality) vede k postupné eliminaci této skupiny HAI.

Surveillance infekcí spojených s intenzivní péčí na ARO Pardubické nemocnice – zkušenosti s implementací evropské metodiky

Barek N.¹, Pařízek J.¹, Bareková L.²

¹Anesteziologicko-resuscitační oddělení, Pardubická nemocnice, Nemocnice Pardubického kraje, a.s., Pardubice; ²Oddělení klinické mikrobiologie, Pardubická nemocnice, Nemocnice Pardubického kraje, a.s., Pardubice

Úvod: Cílem práce bylo provést incidenční, prospektivní surveillance infekce krevního řečiště (IKR) a surveillance pneumonie související s intubací (IAP) dle metodiky ECDC (European surveillance of healthcare-associated infections in intensive care units – HAI-Net ICU protocol, version 1.02. Stockholm: ECDC; 2015) a ověřit, zda je možné využití evropského protokolu v rutinní praxi oddělení a zda je zjištěná incidence těchto infekcí srovnatelná s publikovanými daty.

Materiál a metody: Surveillance IKR a IAP byla prováděna na oddělení ARO v roce 2015 (1. 4. až 30. 9.) a v roce 2016 (1. 1. až 31. 5.) Do sledování byli zařazeni všichni pacienti hospitalizovaní déle než 48 hodin. U těchto pacientů byl vyplněn protokol pro evidenci rizikových faktorů a pro kalkulaci denominátorů. Evidován byl každý případ infekce splňující definiční kritéria (laboratorně potvrzená infekce IKR, pneumonie PN1–PN5). Jako zánět plic spojený s intubací (IAP) byl označen případ, kdy respirační pomůcka (tracheální rourka, tracheostomická kanyla) byla přítomna během 48 hodin před prvními příznaky infekce.

Výsledky: Celkem bylo do sledování zařazeno 94 pacientů v roce 2015 a 75 pacientů v roce 2016. V obou dvou obdobích převažovali muži (2015 54 %, 2016 56 %), medián věku byl vyšší u žen (2015 72 let, 2016 71 let) než u mužů (2015 64 let, 2016 64 let). V souboru převažovali pacienti přijatí překladem z jednotek intenzivní péče a z komunity (2015 88 %, 2016 84 %) Průměrná délka hospitalizace byla v roce 2015 11,2 dne a v roce 2016 15,2 dne. Celkem za obě období bylo zaznamenáno 33 případů IKR a IAP u 29 pacientů (17,2 %). Zjištěná incidence IKR byla 5,3 případů na 1000 OD v roce 2015 a 4,9 případů v roce 2016. V roce 2015 bylo zaznamenáno 12 případů IAP (incidence 12,3 případu/1000 dnů s invazivní respirační pomůckou), incidence IAP v roce 2016 byla nižší (3,8 případu), v roce 2016 byl ale oproti roku 2015 zaznamenán vyšší počet případů hodnocených jako tracheobronchitida. Nejčastějším původcem IKR byl *Staphylococcus aureus*, u IAP to byla *Klebsiella pneumoniae*.

Závěr: Zjištěná incidence IAP a IKR spojených se zdravotní péčí a spektrum bakteriálních původců jsou srovnatelné s evropskými daty. Sběr dat dle evropského protokolu ICU komponenty HAI – Net programu ECDC je v rutinní praxi oddělení proveditelný.

Stafylokokové bakteriémie spojené se zdravotní péčí – primární, sekundární a terciální prevence v rámci multidisciplinárního týmu

Chrdle A.¹, Filipová P.¹, Horníková M.², Šípová I.³, Chmelík V.¹

¹Infekční oddělení, Nemocnice České Budějovice, a.s.; ²Antibiotické středisko, Nemocnice České Budějovice, a.s.; ³Pracoviště nemocničního epidemiologa, Nemocnice České Budějovice, a.s.

Úvod: Bakteriémie způsobené *Staphylococcus aureus* (SAB) jsou závažným onemocněním s vysokou morbiditou a mortalitou, prodlouženou dobou hospitalizace a náročnou léčbou. Významný podíl SAB vzniká v důsledku poskytování zdravotní péče v ambulantní i nemocniční sféře. Zdrojem mohou být infikované rány a invazivní, především cévní vstupy. Nemocnice České Budějovice, a.s. (NCB) diagnostikuje ročně kolem 100 SAB, z toho až 80 % ve spojitosti s poskytováním zdravotní péče (HAI-SAB). Od roku 2013 zavedla NCB program primární, sekundární a terciální prevence SAB v rámci činnosti multidisciplinárního antibiotického týmu. Od roku 2014 je každý případ SAB konsiliárně u lůžka vyšetřen a hodnocen infektologem nebo klinickým mikrobiologem v souladu s doporučeným postupem vytvořeným na podkladě praxe medicíny založené na důkazech.

Metody: Každoročně jsou auditovány všechny SAB diagnostikované v posledním čtvrtletí daného roku. Hodnotí se zdroj nákazy, postup při odběru iniciálních a kontrolních hemokultur, provedení echokardiografie, volba a délka podání antibiotika, monitorování hladin vankomycinu, diagnostika septických fokusů a přidaná hodnota antibiotického konsilia u lůžka. Rok 2013 slouží jako výchozí stav před zavedením doporučeného postupu. Výsledky za poslední čtvrtletí roků 2013 až 2016 jsou hodnoceny metodami popisné statistiky. Výsledky auditu slouží pro systémové změny v rámci primární, sekundární i terciální prevence.

Výsledky: Při srovnání výsledků za roky 2013 až 2016 poklesl podíl HAI-SAB ze 78 na 50 %. Identifikace periferních flebitid jako časté příčiny HAI-SAB vedla ke změně způsobu péče o periferní kanyly včetně zavedení skórovacího systému pro flebitidy. Kontrolní hemokultury jsou odbírány do 96 hodin léčby u 77 % případů (8 % v roce 2013). Hladiny vankomycinu jsou monitorovány u 100 % případů (40 % v roce 2013) mimo jiné díky zavedení validovaného doporučeného postupu dávkování a monitorování hladin vankomycinu. Echokardiografické vyšetření je provedeno u 86 % pacientů (48 % v roce 2013). Fokusy jsou aktivně vyhledávány u 95 % pacientů (64 % v roce 2013). Délka léčby je adekvátní u 100 % pacientů (62 % v roce 2013). Přidaná hodnota antibiotického konsilia u lůžka, vedle rutinního doporučování echokardiografie a odběru kontrolních hemokultur v prvních letech konsilií, spočívala v odhalení primárních i sekundárních fokusů (43–58 % pacientů), racionalizaci antibiotické léčby (29–41 % pacientů) a prodloužení antibiotické terapie většinou ve spojitosti s odhalením hlubokého fokusu (40–52 % pacientů).

Závěr: Systematický multidisciplinární přístup ke stafylokokovým bakteriemiím založený na validovaných datech zvyšuje kvalitu péče v rámci primární, sekundární i terciální prevence SAB.

Stafylokokové bakteriémie v ÚVN v letech 2015–2016

Arientová S.¹, Beran O.¹, Štefan M.¹, Čurdová M.², Holub M.¹

¹Klinika infekčních nemocí 1. LF UK a ÚVN, Praha; ²Oddělení klinické mikrobiologie ÚVN, Praha

Úvod: Bakteriémie vyvolaná *Staphylococcus aureus* (SAB) je nejčastější infekcí krevního řečiště s incidencí 15–40 případů na 100 000 obyvatel. Smrtnost SAB vyvolané *S. aureus* citlivým k methicilinu (MSSA) se pohybuje mezi 20–40 %, pokud je vyvolavatelem *S. aureus* rezistentní k methicilinu (MRSA) je mnohonásobně vyšší. Nejčastějším zdrojem SAB jsou infekce kůže a měkkých tkání, katérové infekce, infekční endokarditida, osteomyelitida, pneumonie a abscesy s hematogenním šířením.

Materiál a metodika: Za sledované období bylo podle pozitivních výsledků hemokultivačních vyšetření vyhledáno 65 pacientů se SAB, kteří byli hospitalizováni na klinikách a odděleních Ústřední vojenské nemocnice – Vojenské fakultní nemocnice Praha.

Výsledky: Průměrný věk pacientů byl 65 let (rozptyl 20–94 let), šlo o 42 mužů a 23 žen s průměrnou délkou hospitalizace 23 dnů (medián 16 dnů). U 60 pacientů (92 %) byl zachycen MSSA a u 5 pacientů (8 %) byly detekovány MRSA. Průměrná smrtnost v našem souboru byla 28 %, u SAB vyvolané MSSA byla 23 %, při infekci vyvolané MRSA 80 %. Zdroj infekce se podařilo prokázat v 83 % případů, nejčastější příčinou byly katérové infekce ve 20 %. Dále ve stejné 14% frekvenci byly příčinou SAB pooperační komplikace, infekce kůže a měkkých tkání a plic. Infekční endokarditida byla jako zdroj infekce odhalena ve 12 % případů, infekce kostí i infekce portu se vyskytly ve stejném procentu, a to u 4,5 % nemocných. Empiricky byla nejčastěji nasazována aminopenicilinová antibiotika a cefalosporiny třetí generace. Při zjištění SAB bylo na cílenou antibiotickou terapii převedeno pouze 45 % pacientů s MSSA, ale všichni pacienti se SAB vyvolanou MRSA. Kontrolní hemokultury byly odebrány jen u 42 % pacientů a infektologické konzilium u lůžka bylo provedeno pouze u 35 % pacientů.

Závěr: Při zjištění SAB je extrémně důležité určit správný vyšetřovací a léčebný postup. Nutné je odhalení a eventuálně odstranění infekčního fokusu, odběr kontrolních hemokultur a brzké zahájení antibiotické terapie, a to nejen správnými antibiotiky, ale i v odpovídající dávce a adekvátně dlouhou dobu. V minulosti bylo opakovaně prokázáno, že infektologické konzilium u lůžka vede ke snížení 30denní mortality SAB z 29 % na 12 %.

Poděkování: práce je podpořena projektem MO1012 a SVV 260369.

Literatura:

1. Vogel M, Schmitz RP, Hagel S, et al. Infectious disease consultation for *Staphylococcus aureus* bacteremia – A systematic review and meta-analysis. J Infect. 2016 Jan;72(1):19–28. doi: 10.1016/j.jinf.2015.09.037.

MRSA v klinické praxi

Polívková S.¹, Kynzlová J.¹, Petrlová K.²

¹*Klinika infekčních, parazitárních a tropických nemocí 3. LF a Nemocnice Na Bulovce, Praha;*

²*Oddělení klinické mikrobiologie, Nemocnice Na Bulovce, Praha*

Úvod: Meticilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) patří mezi nejčastější nozokomiální patogeny. Na jedné straně velmi snadno kolonizuje kůži a sliznice bez zjevné klinické významnosti pro svého hostitele, na druhé straně je vyvolavatelem závažných sekundárních bakteriálních infekcí, často obtížně řešitelných. Informace o epidemiologii tohoto patogena v ČR jsou nedostatečné, hlásí se jenom případy závažných infekcí při průkazu MRSA v klinicky významných mikrobiologických materiálech. Podíl MRSA infekcí na celkovém počtu závažných stafylokokových infekcí v našem regionu je dlouhodobě kolem 13–14 %.

Cíl: Zjistit výskyt a závažnost klinických projevů u pacientů s mikrobiologickým zachytem MRSA v klinických materiálech v Nemocnici na Bulovce (NNB) v Praze.

Metodika: Retrospektivní observační studie pacientů hospitalizovaných nebo ambulantně vyšetřených na Klinice infekčních nemocí v NNB v období od 1.1.2016 do 30.4.2017, s průkazem MRSA z různých mikrobiologických materiálů. Budou popsány základní epidemiologické, klinické a terapeutické ukazatele s ohledem na klinickou symptomatologii u hospitalizovaných a ambulantních MRSA-pozitivních pacientů.

Výsledky: Ve sledovaném období bylo na oddělení klinické mikrobiologie zachyceno 1254 klinických vzorků s kultivačním průkazem MRSA od 270 pacientů získaných z celé nemocnice. Klinicky významných materiálů (hemokultury, abscesy, operační rány a jiné) s průkazem MRSA bylo 131 (10,5 %) u 62 pacientů. Nejvíce zachytů MRSA-pozitivních klinických materiálů bylo na Klinice infekčních nemocí – 598 (47 %), z toho 65 (11 %) klinicky významných, u 74 hospitalizovaných a 70 ambulantních pacientů.

Závěr: Ve sledovaném období byl v naší nemocnici prokázán MRSA asi u 0,5 % pacientů, z toho jenom asi u pětiny pacientů vyvolal klinické onemocnění, pro které byl pacient léčen. V ostatních případech se nejčastěji jednalo o kolonizaci.

Infekční onemocnění preventabilní očkováním

Pravidelné a doporučené očkování v dětském věku

Pazdiora P.

Ústav epidemiologie LF Plzeň, UK; KHS Plzeňského kraje se sídlem v Plzni

Úvod: Během let se i v České republice (ČR) průběžně mění epidemiologická situace, dochází k úpravám očkovacího kalendáře, mění se proočkovanost. Cílem prezentace je podat aktuální přehled epidemiologické situace u infekcí, proti kterým se očkuje v rámci pravidelného a doporučeného očkování.

Materiál a metodika: Pro zpracování celostátní epidemiologické situace byla využita data z Epi-datu, k hodnocení proočkovanosti jsou využita data Krajské hygienické stanice (KHS) Plzeňského kraje a některých dalších KHS.

Výsledky: Po řadě let došlo v r. 2015 ke 2 onemocněním tetanu, tato infekce zůstává výjimečná, nadále je nutné zajišťovat v řádných termínech přeočkování zejména u starších osob. Od 90. let minulého století dochází i v ČR k nárůstu nemocnosti na pertussi, onemocnění je závažné především v kojeneckém věku. Přestože je žádoucí zahájit očkování již během 9. týdne života, očkování probíhá později. O počtu osob, které jsou očkovány v rámci „cocoon strategy“ a během těhotenství, nejsou validní údaje. Krátce po zavedení očkování proti hemofilovým infekcím vyvolaným skupinou B došlo k eliminaci této infekce v dětském věku, v současnosti dochází pouze k výjimečným onemocněním; i přes určité obavy nedošlo k nárůstu onemocnění vyvolaných jinou skupinou hemofilů. Očkování proti virové hepatitidě B vede k výraznému snižování počtu těchto onemocnění, zhruba 30 % všech akutních infekcí je v současnosti v souvislosti s přenosem mezi nitrožilními narkomany.

V ČR byly bohužel v posledních letech znovu zaznamenány epidemické výskyty spalniček, v Ústeckém kraji v r. 2014 bylo hlášeno 199 nemocných, v r. 2017 v Moravskoslezském kraji je zatím podchyceno 121 nemocných. Potvrzuje se, že bez vysoké proočkovanosti 2 dávkami (tj. 99%) nelze eliminaci této infekce zajistit, objektivně to potvrzují i poslední sérologické přehledy. Starovým problémem jsou i epidemie příušnic, dochází k nim znovu ve tříletých intervalech, ale v různých částech republiky. Celkové počty nemocných jsou nižší, podobně procento hospitalizovaných a procento komplikovaných onemocnění. Odlišná epidemiologická situace v různých částech světa byla potvrzena v r. 2011, kdy po porodech 2 vietnamských žen byly poprvé od r. 1994 diagnostikovány v ČR vrozené zarděnkové syndromy.

Po vysokém prvotním zájmu o očkování proti pneumokokovým infekcím u kojenců dochází postupně k poklesu proočkovanosti, která se u ročníků narození 2013–2015 v současnosti celorepublikově pohybuje mezi 70–78 %. Přes klesající proočkovanost došlo k poklesu nemocnosti v nejmladší věkové skupině. Zavedení doporučeného očkování proti lidským papilomavirovým infekcím u 13letých dívek bylo velmi důležité – podle údajů KHS Plzeňského kraje se v ročnících dívek narozených v letech 1999–2001 pohybuje proočkovanost mezi 72,3–76,1 %.

Závěry: Aktuální epidemiologická situace potvrzuje, že bez udržení vysoké proočkovanosti budou problémy s mnoha infekcemi pokračovat. Je třeba, abychom byli připraveni na odlišnou epidemiologickou situaci v jiných zemích, ale i na návrat „starých“ infekcí z různých důvodů.

Surveillance pertuse u nejmenších dětí v ČR

Fabiánová K.^{1,2}, Gašpárek M.³, Jan Kynčl^{1,2}, Šebestová H.³, Kolářová K.¹, Zavadilová J.⁴, Křížová P.⁵, Kříž B.^{1,2}

¹Oddělení epidemiologie infekčních nemocí, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha; ²Ústav epidemiologie a biostatistiky, 3. LF UK; ³Oddělení biostatistiky, Státní zdravotní ústav, Praha; ⁴Národní referenční laboratoř pro pertusi a difterii, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha; ⁵Oddělení bakteriálních vzdušných nákaz, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

Od devadesátých let minulého století je v České republice (ČR) pozorován vzestupný trend hlášené nemoci pertuse. Onemocnění se vyskytuje ve všech věkových skupinách. Od roku 1993 je patrný trvalý nárůst nemoci ve skupině dětí do jednoho roku života. Onemocnění pertusí je svým průběhem a možným vznikem komplikací nejzávažnější právě pro nejmenší děti, zejména pro novorozence a kojence. Od 1. 1. 2015 byla proto v ČR zavedena zvýšená surveillance pertuse u dětí do jednoho roku života.

V letech 1997–2016 bylo v ČR prostřednictvím informačního systému přenosných onemocnění EPIDAT hlášeno celkem 399 dětí do jednoho roku života s onemocněním pertusí. Z tohoto počtu onemocnělo pertusí 79 % dětí během prvních čtyř měsíců života (314/399). Vzhledem k možným závažným komplikacím onemocnění by léčení pertuse u nejmenších dětí mělo vždy probíhat pod dohledem ve specializovaném zdravotnickém zařízení. Počet hospitalizovaných dětí v tomto období se pohyboval od 55 do 100 %. Před začátkem onemocnění nebylo v letech 1997–2016 očkováno 77 % nejmenších dětí.

V letech 2005, 2007, 2008 a 2009 zemřely na pertusi čtyři dosud neočkované děti z věkové skupiny do jednoho roku ve věku dvou a čtyř měsíců, jeden chlapec a tři dívky.; Očkování nebylo ve třech případech provedeno z důvodů nízkého věku a v jednom případě bylo zahájení očkování odloženo pro nachlazení, které však již patřilo k prvním příznakům fatálního onemocnění pertusí. V roce 2014 bylo hlášeno 1 úmrtí v souvislosti s pertusí u muže ve věku 75 let. V roce 2016 bylo registrováno jedno úmrtí; dívka ve věku 2 měsíců zemřela na kardiální selhání v důsledku plicní hypertenze.

U novorozenců a dětí do tří let věku je doporučena přímá diagnostika pertuse, tedy odběr na kulturační a PCR (polymerázovou řetězovou reakci) vyšetření, a to co nejdříve po vyslovení podezření na onemocnění. Nepřímá diagnostika, tedy sérologické vyšetření, se u dětí do jednoho roku nedoporučuje.

Jedním z cílů surveillance pertuse nejen u nejmenších dětí by měla být rychlá a přesná diagnostika onemocnění pertusí, aby bylo možné včas zahájit cílenou antibiotickou léčbu, výrazně tak ovlivnit průběh celého onemocnění a zároveň minimalizovat šíření infekce na další kontakty.

Epidemie spalniček na Ostravsku z pohledu klinika

Petroušová L., Rožnovský L., Širůček P.

Klinika infekčního lékařství, FN Ostrava

Úvod: Spalničky představují závažné virové onemocnění, preventabilní vakcinací, bez možnosti cílené protivirové léčby.

Materiál a metodika: V období od poloviny února doposud probíhá epidemie spalniček na Ostravsku. Soubor pacientů představují hospitalizovaní pacienti na Klinice infekčního lékařství v Ostravě. První pacient byl hospitalizován 14. 2. 2017. Diagnostika je hlavně sérologická, metodou ELISA, protilátky IgG, IgM a KFR. Byla využita i polymerázová řetězová reakce k přímému průkazu viru ze stěru z nosohltanu, ze sputa či moče.

Výsledky: Nejvíce postiženou věkovou skupinou jsou neočkovaní kojenci a batolata, dále osoby starší 30 let, které jsou očkovány jednou dávkou vakcíny. Mezi nemocnými jsou i osoby očkovány 2 dávkami vakcíny. Závažné komplikace, které jsou běžně pozorovány, jsou pneumonie. Pneumonie jsou intersticiální, s klinicky výraznou dušností, nutností oxygenoterapie. Zatím nebyla nutná u žádného pacienta umělá plicní ventilace. Do 1.6 2017 nebyl zaznamenán rozvoj neurologických komplikací. U vakcinovaných pacientů se často jedná o lehký průběh onemocnění. K 1. 6. 2017 bylo hospitalizováno celkem 93 pacientů. Epidemie dále probíhá, budou referovány aktuální počty nemocných i klinická závažnost onemocnění. Ve spolupráci s Národní referenční laboratoří byl stanoven genotyp viru spalniček, jedná se o genotyp B3.

V úvodu epidemie byly vyšetřeny protilátky u personálu Kliniky infekčního lékařství včetně úklidové firmy. Jednalo se celkem o 73 osob, u 9 osob nebyly přítomny IgG protilátky, osoby narozené v letech 1968–1976. Vakcinováno bylo celkem 8 osob, navíc 9 pracovníků v úvodu epidemie bez vyšetření protilátek. V souboru zaměstnanců byly u 2 osob zjištěny IgM protilátky, u jedné zdravotní sestry nespecificky, druhá prodělala mitigovaný průběh spalniček. Klinicky výraznější onemocnění prodělala 1 zdravotní sestra, která neměla protilátky IgG. Další onemocnění personálu nebylo zaznamenáno. V péči o pacienty jsou používány osobní ochranné pomůcky, rukavice a roušky.

Závěr: Vzniku epidemií by měla zabránit dostatečná proočkovanost populace, minimálně 95 %. Epidemie, které jsme svědky, nás znovu přesvědčila o závažnosti onemocnění, zvláště u malých dětí a kojenců. Snahou lékařské veřejnosti by mělo být udržení dostatečné proočkovanosti české populace.

Spalničky – sérologická survey u vybrané skupiny cestovatelů

Jílková E.¹, Stiborová I.²

¹Oddělení očkování a cestovní medicíny, ²Centrum imunologie a mikrobiologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem

Úvod: Spalničky jsou vysoce kontagiózní onemocnění s možnými závažnými komplikacemi. V rozvojových zemích patří mezi pět nejvýznamnějších zabijáků dětí do 5ti let. Přitom mohou být díky svým epidemiologickým charakteristikám eliminovány. Původním cílem WHO bylo dosáhnout eliminace do roku 2015. Probíhající epidemie v mnoha evropských zemích ale ukazují, že dosažení eliminace nebude jednoduché. Sérologický přehled 2013 prokázal, že i v ČR existují věkové kohorty, ve kterých zdaleka není dosažena 95% sérokonverze. Následné epidemie spalniček v roce 2014 a 2017 to prakticky potvrdily.

Cíl, materiál, metodika: Ověřit v souboru cestovatelů rizikových věkových kohort (ročníky narození 1966–1980) podíl vnímavých osob, vyhodnotit dostupnost dat o očkování proti spalničkám a negativním osobám nabízet očkování. Cestovatelé dotčených věkových kategorií byli dotázáni na dostupnost dat o očkování proti spalničkám, informováni o možném riziku onemocnění a byly vyšetřeny protilátky IgG proti viru spalniček (LAISON Measles IgG).

Výsledky: V období 1. 3. 2016–30. 3. 2017 jsme vyšetřili 220 cestovatelů, z nich 71 (32,3 %) bylo vnímavých, 6 (2,7 %) mělo výsledek hraniční. K přeočkování se dostavilo 47 osob (61 % vnímavých). Nejvíce séronegativních (40 %) bylo ve věkové skupině osob narozených v 1973–77. Dostupnost dat o očkování se shodovala s výsledky SP 2013 – u většiny cestovatelů byly údaje nedostupné.

Diskuse a závěr: Regionální výsledky u specifické skupiny osob potvrzují, že séropozitivita v definovaných věkových skupinách nedosahuje požadovaných 95 %. Doporučení WHO se soustřeďují na rizikové skupiny – zdravotníky a cestovatele, u kterých je přeočkování jednoznačně doporučováno. V této souvislosti se jako vhodné opatření diskutuje provádění sérologického screeningu na spalničky u zdravotníků při nástupu do zaměstnání. Očkování proti spalničkám se považuje za stejně důležité jako povinná vakcinace zdravotníků proti VHB.

Naše výsledky potvrdily, že cestovatelé patří mezi rizikové a navíc dobře ovlivnitelné skupiny populace. Centra cestovní medicíny by proto přeočkování proti spalničkám měla osobám dotčených věkových skupin před odjezdem do zahraničí rutinně nabízet.

Polioeradikace, úspěchy a úskalí

Částková J., Králová R., Rainetová P.

Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

V roce 2016 byl endemický přenos polia zaznamenán ve třech zemích světa, v Afgánistánu, Pákistánu a Nigérii. Z výše uvedených zemí bylo hlášeno 37 případů paralytické poliomyelitidy v důsledku infekce divokým poliovirem (WPV1). V historii polioeradikačního programu WHO se jednalo o nejnižší počet případů. Přesto, deklarace WHO PHEIC (Public Health Emergency of International Concern) platí nadále. Cirkulující, od vakcinálních kmenů derivované polioviry (cVDPV) jsou příčinou epidemií v populacích s nízkou proočkovaností a trvale nízkou imunitou, kde virus může perzistentně cirkulovat, akumulovat genetické mutace až do vývoje patogenního kmene VDPV, který vyvolá chabé parézy.

V dubnu 2016 bylo ve všech 155 členských zemích a oblastech WHO změněno používání trivalentní poliovakcíny (tOPV) na bivalentní (bOPV1+3) a to globálně, synchronizovaně. Odstranění komponenty typu 2 z OPV má za cíl prevenci paralýz vyvolaných VDPV2. Zavedení alespoň jedné dávky IPV (inaktivované poliovakcíny) do schémat všech zemích je komplikováno deficitem IPV z důvodu technických problémů u výrobců.

Rigorózní pozornost je věnována containmentu, zničení nebo bezpečnému uchování poliovirů typu 2, divokých i vakcinálních. Do 28.2.2017 WHO požadovala od všech členských zemí formální potvrzení PV2 containmentu veškerých laboratorních vzorků. Na světě je materiál bezpečně uchováván v tzv. „polio-essential facilities“.

Národní referenční laboratoř pro enteroviry prostřednictvím MZČR oznámila WHO likvidaci veškerých archivovaných laboratorních vzorků s obsahem PV2. Proces destrukce proběhl 27.7.2016 a byl zaprotokolován.

Rizika pro země EU/EEA: Navzdory relativně vysoké proočkovanosti proti poliomyelitidě a seriózní surveillance (AChP, prostředí) se ve státech EU/EEA připouští riziko expozice importovanému polioviru v důsledku migrace nebo expozice v důsledku úniku z laboratoří.

Všechny EU/EEA země používají pouze IPV. IPV strategie eliminuje sice riziko VDPV, ale také eliminuje potenciální vliv boosteru cirkulujících kmenů OPV. I v Evropě existují populační kapsy s nedostatečnou imunitou navzdory vysoké proočkovanosti na národních úrovních. Pouze surveillance prostředí může odhalit cirkulaci cVDPV před objevením se paralytických případů. V roce 2015 tuto surveillance rutinně provádělo pouze 9 členských států EU.

V případě eradikace polioviru budou OPV Sabinovy viry nadále cirkulovat po dobu dalších cca pěti let v populacích vakcinovaných ve schématech IPV-bOPV a budou importovány cestou migrace do oblastí s pouze IPV strategií jako je EU/EEA. Globální certifikace polioeradikace je aktuálně plánována na rok 2020, surveillance bude pokračovat.

Mezery ve vědeckých poznatcích v problematice poliomyelitidy vyvolávají řadu kritických otázek nejen v zemích EU/EEA.

Ve sdělení budou prezentovány aktuální informace v oblasti surveillance poliomyelitidy v ČR.

Varicela s multiorgánovým selháním – kazuistika

Rožnovský L.¹, Sagan J.¹, Kutěj M.²

¹Klinika infekčního lékařství, Fakultní nemocnice, Ostrava; ²Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Fakultní nemocnice, Ostrava

Průběh varicely u pacientů s imunosupresí může být závažný. V kazuistice uvedena 24letá pacientka, která měla ulcerosní kolitidu s dlouhodobou léčbou kortikoidy a azathioprinem. Pacientka byla pro několik dnů trvající bolesti na hrudi ošetřena na interní ambulanci s vyloučením kardiální etiologie obtíží. Téhož dne byla přijata na spádové neurologické oddělení, vertebrogenní etiologii obtíží podporovala počítačová tomografie s nálezem zhojené kompresivní fraktury 11. hrudního obrátle, pro střední zvýšení aminotransferáz měla sonografické vyšetření břicha s negativním nálezem, pro pozitivitu D-dimerů a trombocytopenii byla provedena počítačová angiografie s vyloučením plicní embolie. Pacientka byla na vlastní žádost po 2 dnech hospitalizace propuštěna, ale téhož dne byla znovu ošetřena neurologem pro horečky a zhoršení bolestí v hrudní a bederní oblasti, při vyšetření byla zjištěna varicela, a proto byla odeslána k hospitalizaci na infekční kliniku. Zpočátku byla zvažována neuroinfekce, ale lumbální punkce nebyla provedena pro závažné zhoršení jaterních funkcí s těžkou hypokoagulací při diseminované intravaskulární koagulaci. Od přijetí byla nemocná léčena aciclovirem, zpočátku byla zvažována i fulminantní varicelová hepatitida, pro kterou ale nespovídala nepřítomnost výraznější poruchy vědomí. Třetího dne hospitalizace byla prokázána pneumonie s vysazením imunosuprese a zahájením léčby meronemem. Následně téhož dne se rozvinula hemateméza s melénou a hypotenzí, pro rozvoj multiorgánového selhání byla pacientka přeložena na anesteziologicko-resuscitační oddělení. Další den byla nutná intubace s umělou plicní ventilací, která trvala téměř měsíc (přechodně tracheostomie). Pro septický šok byla aplikována intenzivní vazopresorická podpora, pro akutní selhání ledvin byla prováděna eliminační léčba, pro hemoragickou diatézu s opakovaným krvácením do zažívacího traktu byla nutná masivní substituce krevními deriváty (24x deleukotizované erytrocyty, 23x mražená plasma, 19x trombocytární koncentrát). Závažný stav přetrvával téměř měsíc s postupným ukončením dialyzační léčby, podpory oběhu vazopresory a umělé plicní ventilace. Pacientka byla nadále léčena aciclovirem, neužívala azathioprin, přechodně dostávala menší dávku hydrokortizonu pro stabilizaci oběhu, přesto u ní trvale přetrvávala pozitivní virémie (VZV DNA) stanovená metodou polymerázové řetězové reakce, a to i po 35 dnech léčby, kdy byla ve stabilizovaném stavu přeložena na spádové anesteziologické oddělení. Léčba aciclovirem pokračovala dalších 16 dnů při hospitalizaci na anesteziologickém a následně interním oddělení. Pro další ambulantní péči byla nemocná doporučena malá dávka acicloviru vzhledem k průkazu nízké virémie i za 65 dnů od zahájení uvedené léčby.

Nastal čas pro přechod ke čtyřvalentní vakcíně proti chřipce?

Kynčl J., Havlíčková M.

Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

Vývoj první generace chřipkových vakcín následoval bezprostředně po objevu chřipkového viru v 30. letech 20. století. První inaktivované vakcíny byly monovalentní, resp. bivalentní (po objevu chřipky typu B). Kocirkulace dvou subtypů chřipky typu A od roku 1977 vedla ke vzniku trivalentní vakcíny obsahující dva kmeny chřipky typu A a jeden kmen chřipky typu B. Tato vakcína je používána do současnosti, přičemž je každoročně aktualizováno její složení.

Od poloviny 80. let 20. století cirkulují celosvětově dvě antigenně odlišné linie viru chřipky typu B (Yamagata a Victoria), které čím dál více geneticky divergují, takže aktuálně vakcína obsahující jednu linii viru neposkytuje ochranu vůči druhé linii. Výskyt virů chřipky typu B se významně liší v jednotlivých sezónách, cirkulace linií je obtížně odhadnutelná, někdy kocirkulují obě dvě. Proportion virů chřipky B na všech cirkulujících chřipkových virech činí v průměru téměř 25 %.

Současná doporučení Světové zdravotnické organizace navrhuje zahrnout do vakcíny oba dva kmeny chřipky typu B ve formě čtyřvalentní vakcíny. Podobně se vyjadřují i další národní a nadnárodní instituce. Čtyřvalentní vakcína proti chřipce, poprvé licencovaná roku 2013, by měla významně zlepšit ochranu vůči cirkulujícím virům chřipky, což by ve svém důsledku mělo zvýšit celkovou účinnost chřipkové vakcíny. Přípravě či výrobě této vakcíny se věnují všichni stávající výrobci, existuje jak v podobě inaktivované vakcíny podávané injekčně, tak v podobě živé atenuované intranazální vakcíny. V rámci klinických studií čtyřvalentní vakcíny je prokazována non-inferiorita s „klasickou“ trivalentní vakcínou a superiorita pro alternující linii viru chřipky B. Frekvence nežádoucích reakcí po očkování je shodná u trivalentní i čtyřvalentní vakcíny.

Vytvoření čtyřvalentní vakcíny proti chřipce je přirozenou reakcí na evoluci chřipkových virů a i v České republice by tato vakcína měla být co nejdříve začleněna do rutinního použití.

Aktuality v oborech

Life-threatening infections of the central nervous system: the neurointensivist's approach

Schmutzhard, E.

Department of Neurology, NICU, Medical University Innsbruck, Austria

Acute bacterial meningitis, acute viral encephalitis and cerebral malaria may run a dramatic, acutely life-threatening course and still account for thousands of deaths worldwide, even in central Europe.

Acute bacterial meningitis (ABM): In ABM the earliest possible initiation of the appropriate antimicrobial chemotherapy is absolutely essential and the pre-requisite for a potentially "benign" course. The entire spectrum of intensive care medicine, aiming at acute resuscitation, management of septic shock and management of intracranial pressure has to be applied at the very beginning in case of severe ABM-associated impairment of consciousness ($GCS \leq 8$). Glimaker et al (2014) have shown that in such severely sick ABM patients external ventricular drainage and ICP/CPP adjusted management improves outcome (case fatality rate 10 % versus 30 %). Beside the hydrocephalus/pyocephalus, acute brain edema and vascular affection may add to worse outcome. Continuous osmotherapy, however, has been shown to be deleterious increasing morbidity and mortality, confirming the notion of shock-induced endotheliopathy also for ABM (Johannsson, 2017).

In view of the most recent changes in epidemiology, rendering potentially multiresistant gram-positives and gram-negatives likely to be causative pathogens in ABM and in view of the fact that more than half of the patients with ABM have been treated by antibiotics when the diagnosis is made, molecular biological techniques may be helpful to confirm the diagnosis. CSF-is indispensable in the acute diagnostic work-up in ABM (Sacchi 2016).

Viral encephalitis: Herpes-simplex-virus-type I-encephalitis (HSV-E) is still the most frequent non-epidemic viral encephalitis in Central Europe. In HSV-E earliest possible antiviral therapy is essential. In spite of acyclovir therapy, patients with HSV-E may develop space-occupying brain edema, in which decompressive craniectomy might allow meaningful survival. Invasive multimodal neuromonitoring – employing beside ICP and CPP also oxygen and metabolic monitoring in brain tissue (via microdialysis) – enables the neurointensivist to recognize early enough both pending brain tissue hypoxia as well as brain tissue metabolic stress (Schiefecker, 2017), thereby giving an instrument into the hands of the neurointensivist to optimize energy delivery to stressed brain tissue without the potential side effects of uncontrolled hyperglycemia. It is of utmost importance to keep in mind that encephalitic brains have a highly divergent course of glucose demand over time, inflammation and secondary hyperemia leading to neuroglucopenia, whereas later in the course (second week of disease) too high blood glucose levels might be even disadvantageous (Dietmann 2017).

Cerebral malaria: Plasmodium falciparum accounts for almost all cases of cerebral malaria (CM), with 430.000 deaths/y (WHO 2016). Wherever possible, a CM patient needs earliest possible initiation of intravenous artesunate and neurocritical care management. Dexamethasone and continuous glycerol have been shown to be deleterious in CM. The pathophysiologic background is the increased disturbance of microcirculation and severe endotheliopathy in CM (Idro 2012). Optimization of cerebral perfusion pressure is the only therapeutic option in CM, which always is part of a multiorgan disease, frequently accompanied by shock or shock-like condition. Earliest possible ventilation, invasive measures to stabilize the circulatory situation might help to optimize the cerebral perfusion in CM.

Listeriová meningoencefalitida u mladého muže – když selžou i aktuální guidelines...

Bartoš H., Fabianová L.

Infekční oddělení, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem

Listeria monocytogenes je malá grampozitivní tyčka, která je značně odolná vůči zevnímu prostředí. Nejčastější branou vstupu do lidského organismu je střevní sliznice, zdrojem infekce jsou nejčastěji kontaminované potraviny-především syrová zelenina, zrající sýry či hovězí a kuřecí maso. Za nejrizikovější skupiny z hlediska invazivní listeriové infekce jsou považovány děti mladší 1 roku, dospělí starší 50 let, těhotné ženy a ostatní jinak imunokompromitovaní nemocní. Hlavním úskalím v léčbě listerové meningoencefalitidy je primární rezistence mikroba na cefalosporiny – tedy na doporučenou empirickou terapii purulentních meningitid.

Dle současných evropských doporučení pro léčbu purulentních meningitid (ESCMID 2016) představuje *Listeria monocytogenes* třetí nejčastější etiologické agens s podílem asi 4 %, daleko za pneumokokovou (53 %) a meningokokovou (27 %) etiologií. Antibiotikum účinné na listerie-tedy ampicilin, je jako součást kombinované antibiotické terapie doporučen u dětí do 1 měsíce věku, u dospělých nad 50 let nebo u imunokompromitovaných dospělých (diabetiků, pacientů s rakovinou, s jiným známým imunodeficitem, či pacientů užívajících imunosupresivní léky).

Kazuistika popisuje třicetiletého, doposud zdravého muže, který byl v dubnu 2017 doma nalezen vlastním otcem v bezvědomí. Přivolaná RLP zajistila dýchací cesty a podávala diazepam při tonicko-klonických křečích a následně transportovala pacienta na spádové ARO okresní nemocnice. Zde byla zahájena parenterální rehydratace a při horečkách a elevaci zánětlivých parametrů byla podána iniciální antibiotická léčba co-amoxicilem, klarithromycinem a aciclovirem. Provedené CT mozku prokázalo počínající edém, i přesto byla provedena lumbální punkce s obrazem suspektní rozvíjející se purulentní meningitidy. Pacient byl referován a přeložen na naše pracoviště. Zde jsme v souladu s platnými doporučeními změnili antibiotickou terapii na ceftriaxon v monoterapii. Po dohodě s neurology byla nasazena antiepileptická terapie. V likvoru kultivačně zachycena *Listeria monocytogenes*, proto došlo k úpravě terapie na kombinaci ampicilinu a gentamicinu. Na takto zavedené terapii se pacient postupně probral k vědomí, byl extubován po 5 dnech. Na magnetické rezonanci mozku byl prokázán obstrukční hydrocefalus postranních komor, neurochirurgem indikován konzervativní postup, na kontrolní rezonanci již byl nález výrazně zlepšen. V klinickém obraze dominovala paréza LDK s postupným ústupem, přechodně se rozvinula polyurie. Antibiotická terapie byla ukončena po 21 dnech, pacient byl poté přeložen na rehabilitační oddělení spádové nemocnice. Imunologické vyšetření prokázalo deficit protilátkové i buněčné imunity, zatím nepřesně definovaný.

Vyšetření chemokinů CXCL13 u pacientů s neuroborreliózou a dalšími neuroinfekcemi – prospektivní studie

Pícha D., Moravcová L., Smíšková D.

Infekční klinika 2. LF UK a NNB, Praha

Úvod: Diagnostika neuroborreliózy (NB) je komplikována především nízkou specifitou laboratorních metod a absencí diagnostických markerů, které by potvrzovaly aktivitu onemocnění. Chemokin CXCL13 (chemoatraktant pro B lymfocyty) byl prokázán ve zvýšené koncentraci v mozkomíšním moku u NB i jiných neuroinfekcí. Cílem naší studie bylo zhodnotit diagnostický význam chemokinů CXCL13 u pacientů s NB a jinými aseptickými infekcemi CNS.

Metodika: Do prospektivní studie bylo zařazeno 244 pacientů. Diagnostika neuroinfekce byla založena na klinických příznacích a vyšetření mozkomíšního moku. Pacienti byli rozděleni do následujících skupin: A – pacienti s NB, kteří byli na základě pleocytózy v moku a positivity protilátkového indexu AI dále rozděleni na skupiny A1 až A4 (110); B – pacienti s aseptickou neuroinfekcí neboreliového původu (94); C – negativní kontroly (52). Lymfokin CXCL13 byl vyšetřován soupravou Human CXCL13/BLC/BCA-1 Immunoassay (R&D Systems, INC, USA.).

Výsledky: Nejvyšší koncentrace CXCL13 (max. 81287,60 pg/ml; median 1766,90 pg/ml) byla nalezena u skupiny A1 (pozitivní AI, pleocytóza v moku), a A3 (negativní AI, pleocytóza v moku; max. 7201,60 pg/ml, median 56,22 pg/ml). Skupina A2 (pozitivní AI bez pleocytózy) a A4 (negativní AI bez pleocytózy) měly koncentraci CXCL13 nízkou – A2 max. 650,50 pg/ml, median < 7,80 pg/ml; – A4 max. 118,56 pg/ml; median < 7,80 pg/ml. Ve skupině B byla nejvyšší koncentrace CXCL13 595,87 pg/ml, median 28,10. Nejnižší koncentrace CXCL13 byla naměřena v kontrolní skupině C (max. 83,83 pg/ml, median < 7,80 pg/ml). Použitím ROC analýzy byly porovnány skupiny pacientů s NB a vypočítány cut-off hodnoty pro koncentraci CXCL13. Při nižší hodnotě cut-off (29 pg/ml) byla senzitivita 90% a specifita 72,2%, při vyšší hodnotě (400 pg/ml) byla senzitivita 59,6% a specifita 94%.

Závěr: Bylo prokázáno, že koncentrace chemokinů CXCL13 v mozkomíšním moku je u NB vyšší ve srovnání s jinými aseptickými neuroinfekcemi i kontrolní skupinou pacientů. Nejvyšší koncentrace byly nalezeny v akutním stádiu onemocnění před antibiotickou léčbou. Zvýšená koncentrace CXCL13 lépe korelovala s pleocytózou než s pozitivitou AI. U pacientů v subakutním stádiu onemocnění s pozitivním AI a současně bez pleocytózy byla nalezena nízká koncentrace CXCL13, což může nepřímo podporovat diagnózu odeznívající infekce.

Protilátková odpověď proti borreliovým proteinům OppA a NapA u lymeské artritidy u dětí

Krbková L.¹, Holečková P.¹, Mikolášek P.¹, Kýr M.², Stoklásková I.³, Pokorná L.³

¹Klinika dětských infekčních nemocí, LF MU a FN Brno; ²Klinika dětské onkologie, LF MU a FN Brno;

³TestLine, Clinical Diagnostics, Brno

Úvod: Laboratorní diagnostika lymeské artritidy je založena na detekci vysoké hladiny protilátek proti borreliím ve třídě IgG. Celobuněčné antigeny mohou obsahovat epitopy, které zkříženě reagují s jinými bakteriálními druhy. Rekombinantně vyrobené fragmenty borreliových proteinů OppA (oligopeptide permease A, p58) a NapA (neutrophil-activating protein A) vykazují stálost mezi jednotlivými patogenními druhy borrelií.

Materiál a metodika: Cílem vyšetření bylo vyhodnotit protilátkovou odpověď proti uvedeným antigenům u dětí s lymeskou artritidou (LA). Artritida s výpotkem byla přítomna u všech sledovaných dětí, 5 z nich mělo opakovanou ataku artritidy. Všechny děti byly léčeny ceftriaxonem i.v. 28 dní. K vyšetření byla použita technologie Blot-line založená na vysoce specifických rekombinantních antigenech nanesených na nitrocelulózovou membránu s následným zpracováním na analyzátoru a softwarovým hodnocením. Reaktivita OppA (získaného z *B. garinii*) a NapA (získaného z *B. burgdorferi sensu stricto*) byla sledována u 133 vzorků séra od 41 dětí s LA. Protilátková odpověď byla srovnávána s rekombinantním EIA testem, který zahrnuje následující antigenní fragmenty: p17, OspC, p39, p41i, p83 a VlsE ve třídě IgG.

Výsledky: Pozitivní protilátková odpověď proti OppA byla zjištěna u 100 vzorků (86,2 %) ve srovnání s protilátkami proti NapA, kde bylo pozitivních pouze 33 vzorků (28,4 %). Diagnostická hodnota OppA byla vyšší (OR=1.5, $P=0.44$) než u NapA (OR=27.7, $P<0.0001$) ve srovnání s EIA testem. Rozdíl pro OppA byl statisticky významný. Z výsledků vyplývá, že protilátky proti povrchovému lipoproteinu OppA jsou indikativní pro diagnózu LA.

Závěr: Rekombinantní EIA test obohacený o tento antigen by přispěl ke zlepšení diagnostiky pacientů s LA.

Paretické komplikace u klíšťové meningoencefalitidy a lymeské borreliózy

Smišková D.

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

Úvod: Lymeská borrelióza a klíšťová meningoencefalitida jsou nejčastější klíšťaty přenášená onemocnění v České republice. Obě infekce mohou atakovat nervový systém a u pacientů způsobovat řadu neurologických deficitů. K častým a v řadě případů závažným neurologickým komplikacím patří parézy. Naše práce hodnotí a srovnává paretické komplikace u pacientů s neuroborreliózou (NB) a klíšťovou meningoencefalitidou, hospitalizovaných na Klinice infekčních, parazitárních a tropických nemocí Nemocnice Na Bulovce v letech 2006–2016.

Metody: U pacientů s výše uvedenými neuroinfekcemi byly analyzovány všechny paretické komplikace, byla hodnocena jejich četnost, závažnost a doba trvání.

Výsledky: Paretické komplikace byly signifikantně častější u pacientů s NB. Byly zaznamenány u 66,7 % pacientů (73 % dětí a 64 % dospělých). MEK byla komplikována parézou u 7,7 % případů, nebylo mezi nimi žádné dítě. Neurologický deficit přetrvával déle než 12 měsíců u 50 % pacientů s parézou při MEK, ale pouze u 5,4 % pacientů s parézou komplikující neuroborreliózu.

Závěr: Paretické komplikace s dlouhodobými až trvalými následky jsou jednoznačně častější u pacientů s klíšťovou meningoencefalitidou. Správně diagnostikování a léčení pacienti s neuroborreliózou mají málo trvalých neurologických následků. Naproti tomu při klíšťové meningoencefalitidě symptomatická léčba nedokáže ovlivnit nepříznivý průběh onemocnění a těžké paretické komplikace byly zaznamenány i u mladých pacientů.

Aspekty vývoje vakcíny proti Lymeské borrelióze ve veterinárním i humánním lékařství – přehled a kandidátní vakcíny

Žákovská A., Janeček J.

Oddělení fyziologie a imunologie živočichů, ÚEB, Přírodovědecká fakulta MU, Brno

Nejúčinnějším opatřením pro prevenci šíření nebezpečných onemocnění je očkování. Prevence proti Lymeské borrelióze, rozšířené klíšťaty přenášené zoonóze, spočívá v současné době pouze v individuálním vyvarování se rizikových oblastí a používání repelentních přípravků, a to kvůli nedostupnosti vakcíny pro lidské užití. Vývoj vakcíny proti Lymeské borrelióze je i přes počáteční komerční neúspěch první dostupné humánní vakcíny stále živý, jak dokazuje dostupnost několika funkčních a bezpečných veterinárních vakcín pro domácí zvířata. Potenciální cíle zahrnují antigenní struktury spirochéty *Borrelia burgdorferi* sensu lato, původce borreliózy, jako jsou vnější povrchové lipoproteiny A či C, adhezivní proteiny či povrchové glykolipidy. Jako perspektivní se zdá použití rekombinantních multivalentních vakcín, které by poskytly ochranu před širokým spektrem evropských i severoamerických borrelií. Zajímavou strategií pro kontrolu a narušení enzootického cyklu borrelií je cílená perorální vakcinace rezervoárových hostitelů, která by vedla ke snížení promořenosti klíšťat. Použití proteinů klíštěte důležitých pro přenos patogenů, rozmnožování či vývoj pro přípravu vakcíny je slibnou strategií, která má potenciál poskytnout protekci před několika patogenními mikroorganismy zároveň.

Spektrum pacientů hospitalizovaných na jednotce intenzivní péče infekční kliniky

Džupová O.¹, Hrášková J.²

¹Klinika infekčních nemocí 3. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha; ²3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

Úvod: Intenzivní péče je nedílnou součástí léčby v mnoha oborech. Jednotka intenzivní péče na infektologickém pracovišti poskytuje péči především pacientům s infekčními diagnózami, avšak nezřídka jsou důvodem hospitalizace diagnózy zcela mimo rámec infektologie.

Cíl studie: Cílem klinicko-epidemiologické studie bylo zjistit diagnózy a další charakteristiky pacientů léčených na Jednotce intenzivní a resuscitační péče (JIP-RES) Kliniky infekčních, tropických a parazitárních nemocí Nemocnice Na Bulovce v Praze.

Metoda a materiál: Do retrospektivní observační studie byli zařazeni všichni pacienti hospitalizovaní na JIP-RES v období od 1. 1. 2012 do 31. 12. 2016. Sledovanými parametry byly věk, pohlaví, bydliště, diagnózy, etiologické agens, léčebné postupy, komplikace, délka hospitalizace a výsledky léčby.

Výsledky: Ve sledovaném období bylo hospitalizováno 652 pacientů, 418 mužů (64,1 %) a 234 žen (35,9 %), ve věkovém rozmezí 16–96 let, s mediánem 61 let. Délka hospitalizace na JIP-RES byla 1–200 dnů, medián 8 dnů. Nejvíce pacientů pocházelo z Prahy (447 osob; 68,6 %) a ze Středočeského kraje (139 osob; 21,3 %), 35 pacientů (5,4 %) z jiných krajů a 10 pacientů (1,5 %) byli cizinci. Průměrná obsazenost lůžek činila 87,2 %.

Celkem 564 pacientů (86,0 %) mělo infekční diagnózu. Diagnózu vyžadující izolaci mělo 109 pacientů (16,7 %). Nejčtenější diagnózy byly sepse (190; 29,1 %), infekce centrálního nervového systému (108; 16,6 %), pneumonie (82; 12,6 %) a střevní infekce (53; 8,1 %).

Umělá ventilace byla poskytnuta polovině pacientů (330; 50,6 %), katecholaminy dostávalo 339 pacientů (52,0 %), eliminační metodou bylo léčeno 124 (19,0 %) a operováno bylo 117 pacientů (17,9 %). Komplikace se vyskytly u 573 pacientů (87,9 %). Nejčastější byly insuficience a selhání orgánů (466; 71,5 %), porucha vědomí (322; 49,4 %), nozokomiální infekce (222; 34,1 %) a krvácení (130; 19,9 %).

Domů bylo propuštěno 233 pacientů (35,7 %), 262 (40,2 %) bylo přeloženo na jiná oddělení či do jiných zdravotnických zařízení a 157 pacientů (24,1 %) zemřelo na infekční klinice nebo jiném oddělení Nemocnice Na Bulovce.

Závěr: JIP-RES infekční kliniky představuje významný segment kapacity intenzivních lůžek v Nemocnici Na Bulovce. Jsou zde léčeni jak nemocní s infekcemi vyžadujícími izolační režim, tak nemocní bez nutnosti izolace, kteří však potřebují specializovanou infektologickou léčbu. Péče je zde poskytována i pacientům s neinfekčními interními nebo chirurgickými diagnózami.

Neobvyklé bakteriální nálezy v hemokulturách – kazuistiky

Tejkalová R., Růžicka F., Štůsková I.

Mikrobiologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

Přednáška se zabývá dvěma poněkud neobvyklými bakteriálními nálezy v hemokulturách na Mikrobiologickém ústavu Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně.

V prvním případě se jednalo o nález kmene *Corynebacterium diphtheriae* v hemokulturách u pacienta, který byl hospitalizován na ARK FN u sv. Anny v Brně. Pacient byl přijat jako *casus socialis*, bezvědomí po pádu, s mnohočetnými zraněními a s akutním respiračním selháním. Ve druhém případě šlo o ženu s onkologickou diagnózou, která byla hospitalizovaná v Masarykově onkologickém ústavu. V hemokulturách této pacientky jsme zachytili kmen *Rhodococcus equi*.

Oba kmeny byly po kultivaci na pevných půdách identifikovány metodou hmotností spektrometrie Maldi ToF. Ani v jednom případě nebylo třeba reagovat antibiotiky.

Práce byla podpořena z projektu MV VI20172020069.

Naše zkušenosti s fekální bakterioterapií u dítěte

Prokeš Z., Leblová Z.

Infekční oddělení Nemocnice Prostějov, Středomoravská nemocniční a.s.

Předkládáme kazuistiku 13leté dívky s 3 roky trvajícími průjmy nejasné etiologie, u které jsme s úspěchem provedli fekální bakterioterapii, poprvé u dětské pacientky. Dárkyní stolice byla její 20letá sestra, která se následně stala naší universální dárkyní.

Využití průtokové cytometrie v klinické mikrobiologii

Ryšková L., Habalová K., Kukla R.

Ústav klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice v Hradci Králové

Tradiční metody mikrobiologických laboratoří založené na kultivačním vyšetření vzorků poskytují výsledky obvykle až po průměrně 48 až 72 hodinách, ale diagnostika urgentních stavů vyžaduje rychlejší odezvu. Proto nabývají na významu postupy, které umožňují vydat výsledky do několika hodin. Jedná se především o metody, kdy se prokazuje antigen nebo nukleová kyselina suspekt-ních etiologických agens. Ukazuje se, že i průtoková cytometrie, jako metoda přinášející výsledky do několika hodin, může najít své uplatnění v mikrobiologické laboratoři.

Průtoková cytometrie obecně umožňuje analýzu buněčné suspenze rozptýlené v laminárně proudící tekutině. Při vyšetření dochází k měření optických vlastností buněk obsažených ve vzorku po obarvení fluorescenčním barvivem a ozáření světlem. Jednotlivé buňky jsou tříděny dle velikosti, morfologie, intenzity fluorescence a jsou počítány.

Průtokovou cytometrii je možné využít v mikrobiologické laboratoři pro přímý průkaz bakterií ve vzorku. Jedná se především o vyšetření močí, kdy je možné stanovit velikost bakteriurie a hodnotit, zda je nález signifikantní. Moderní systémy pro analýzu moči navíc umožňují využívat metody barvení dovolující odlišit gramnegativní a grampozitivní bakterie. Dalšími možnostmi využití průtokové cytometrie je vyšetření fyziologicky sterilních tělních tekutin jako jsou kloubní a pleurální výpotky, ascites apod.

Autoři uvádí přehled možného využití průtokové cytometrie v mikrobiologických laboratořích včetně vlastních zkušeností.

Oční toxoplasmóza a těhotenství

Stejskal F.

Klinika infekčních nemocí 2. LF UK a Nemocnice Na Bulovce, Praha; Infekční oddělení KN Liberec; Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN v Praze

Toxoplasmóza je systémové onemocnění vyvolané parazitickým intracelulárním prvokem *Toxoplasma gondii* z kmene Apicomplexa. Tento prvok, příbuzný malarickým plasmodiím, byl popsán u hlodavců v roce 1908, ale jako původce lidského onemocnění byl poprvé rozpoznán v roce 1923 českým oftalmologem Josefem Janků v chorioretinických lézích u 11 měsíčního dítěte s kongenitální infekcí. Definitivním hostitelem parazita jsou kočkovité šelmy, v jejichž střevě se pohlavně množí a produkuje oocysty. Po jejich požití teplokrevnými obratlovci včetně člověka se ve vnitřních orgánech (lymfatické orgány, svalovina, CNS) parazit dále nepohlavně množí a vyvolává akutní infekci, která je ve většině případů asymptomatická nebo se projevuje krčním uzlinovým syndromem. Po překonání akutní infekce parazit přetrvává v hostitelských tkáních celoživotně v latentní formě (tkáňové pseudocysty) a může být aktivován při výrazném poklesu buněčné imunity, např. při AIDS. K přenosu toxoplasmózy může dojít: 1) požitím potravy nebo vody kontaminované oocystami; 2) konzumací nedostatečně tepelně upraveného masa obsahujícího tkáňové pseudocysty; 3) transplacentárně při akutní infekci v těhotenství; 4) transplantací orgánu (srdce, jater) od seropozitivních dárců. V České republice je v dospělé populaci infikováno asi 45 % žen a 35 % mužů. Oční toxoplasmóza (toxoplasmová chorioretinitida) je obvykle důsledkem nerozpoznané kongenitální infekce a manifestuje se u dětí a mladých dospělých osob. Vzácně k ní může dojít následkem postnatální akutní infekce nebo reaktivací latentní infekce u imunosuprimovaných osob. Akutní toxoplasmová chorioretinitida se projevuje zamženým viděním, skotomy, bolestí očí a fotofóbií. Je obvykle jednostranná a může vést k částečné i úplné ztrátě zraku. I po úspěšné léčbě často recidivuje. Podkladem patologických změn je ložisková nekrotizující retinitida, při níž se nejčastěji v centrálních částech sítnice tvoří typické zánětlivé žlutobílé, vyvýšené pláty s neostrými okraji („cotton patch“). Při postižení makuly dochází ke ztrátě centrálního vidění. Během hojení pláty blednou, dochází k atrofii a tvorbě jizvy s depozity černého pigmentu. Presentován bude klinický případ pacientky s podezřením na oční toxoplasmózu v prvním trimestru těhotenství a diskutován bude mezioborový přístup k této problematice.

Tento příspěvek vznikl s částečnou podporou grantu Vědecké rady KN Liberec č. VR 1701.

HIV/AIDS, STD, virové hepatitidy

Virová hepatitida C včera, dnes a zítra

Plíšek S.

Klinika infekčních nemocí LF UK a FN Hradec Králové

Zdravotnická veřejnost vzpomínala před 3 lety na teprve 25. výročí objevení viru hepatitidy C (HCV). V tomto relativně krátkém období došlo k významnému pokroku jak v diagnostice, tak v léčbě tohoto závažného onemocnění. Nové poznatky o viru hepatitidy C vedly k vývoji velmi účinných léků.

Na celém světě je infikováno HCV 130–180 miliónů lidí, uvádí se, že v souvislosti s HCV infekcí každý rok zemře tři čtvrtě miliónu lidí. Celosvětová prevalence infekce HCV se pohybuje v běžné populaci mezi 2 až 2,6 %. Od zahájení testování krevních dárců (1992) je hlavní cestou šíření infekce intravenózní podávání drog. Infekce HCV je v počátečních stádiích asymptomatická, později se však mohou objevit závažné a obávané komplikace jako jaterní cirhóza, event. hepatocelulární karcinom. U všech pacientů, kde je prokázána přítomnost HCV, je potřeba posoudit možnost antivirové léčby. Určení stadia jaterního postižení je jedním z nejdůležitějších kroků v péči o pacienta s tímto onemocněním. Nejdříve by měli být léčeni pacienti s možností výskytu komplikací (nemocní se závažnou fibrózou nebo cirhózou, po transplantaci jater, se závažnými extrahepatálními manifestacemi). Objevení nových vysoce účinných protivirových léků – DAA znamenal přelom v léčbě chronické virové hepatitidy C. Využití této moderní léčby je stále limitované vysokými náklady na léčbu, přesto se objevují úvahy o možnosti globální eradikace tohoto onemocnění.

Séroprevalence virové hepatitidy typu C v ČR

Chlíbek R.

Katedra epidemiologie, Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany, Hradec Králové

Úvod: Virová hepatitidy typu C patří mezi hepatitidy s nejvyšším rizikem přechodu do chronicity a současnými novými možnostmi úplného vyléčení. Hlášená incidence virových hepatitid byla za posledních více jak 10 let nejvyšší právě u hepatitidy C. Pro svůj velmi častý asymptomatický průběh nebývá dlouho u jedince diagnostikována, proto lze očekávat podhlášenost ve skutečné incidenci chronické HCV infekce a neznámou prevalenci nemoci. Cílem studie bylo stanovit prevalenci HCV infekce, HCV virémie a HCV genotypů v dospělé populaci a odhadnout počet osob žijících s chronickou HCV infekcí v ČR.

Materiál a metody: Celkem bylo vyšetřeno 3000 dospělých osob ve věku 18–90 let. Anti-HCV protilátky byly vyšetřeny CMIA (enzymatic immunoassay with chemiluminiscent detection) testem 3. generace na Architect i2000 (Abbott), s cut off hodnotou S/CO < 1 = negativní (nereaktivní); 1–2 = hraniční (reaktivní); > 2 = pozitivní (reaktivní). Hraniční vzorky byly potvrzeny pomocí imunoblot testu (INNO-LIA HCV Score) v národní referenční laboratoři. Všechny hraniční a pozitivní vzorky byly vyšetřeny metodou RT-PCR na přímou detekci HCV, u HCV-RNA pozitivních vzorků byl určen genotyp.

Výsledky: Z 3000 vzorků sér bylo 50 stanoveno jako anti-HCV pozitivních, prevalence 1,67 % (2,39 %/0,98 % u mužů resp. žen). 12 hraničních vzorků bylo potvrzeno jako negativní. Celková prevalence HCV-RNA pozitivních vzorků byla 0,93 % (1,5 %/ 0,39 % u mužů resp. žen). Přechod do chronicity v 56 % případů. Nejvyšší pozitivita anti-HCV/HCV-RNA byla ve věkové kategorii 30–44 let (3,58 % resp. 2,08 %). V souboru bylo celkem 47 narkomanů, anti-HCV pozitivních bylo 51,06 % z nich, HCV RNA pozitivních 23,4 %. Prevalence anti-HCV/HCV-RNA pozitivních vzorků s vyloučením narkomanů byla 0,88 % resp. 0,58 %. Prevalence HCV genotypů v souboru: 1a (25 %), 1b (25 %), 3a (46%) a 4% neurčeno.

Závěr: Byla zaznamenána vyšší séroprevalence HCV infekce v porovnání s rokem 2001, potvrzena vyšší prevalence u mužů a narkomanů. Byl zaznamenán vyšší výskyt genotypu 3a v porovnání s publikovanými daty z ČR. Z výsledků se lze domnívat, že v ČR žije > 140 000 dospělých osob s anamnézou HCV infekce a > 80 000 osob s chronickou HCV infekcí což může být podnětem pro zavedení cíleného věkového nebo rizikového populačního skríninku.

Okultní hepatitida B: případ opakovaného přenosu transfuzními přípravky

Němeček V.¹, Farbiaková V.²

¹NRL pro virové hepatitidy, SZÚ; ²Hematologické a transfuzní oddělení, Nemocnice Třinec

Okultní hepatitida B (OBI) je charakterizována přítomností HBV DNA v játrech ve většině případů i v séru a negativitou HBsAg při vyšetření v současnosti dostupnými testy. Pokud jsou přítomny protilátky anti-HBc a/nebo anti-HBs je OBI označována jako seropozitivní, při nepřítomnosti těchto protilátek jako seronegativní. V ČR je u dárců krve povinný skrínink HBsAg, což neumožňuje zachyt dátčů s OBI. Testování anti-HBc protilátek provádí na podkladě vlastního rozhodnutí jen některá transfuzní pracoviště a skrínink HBV DNA jen dvě (FN Brno a ÚVN, Praha).

U pacienta po kardiologické operaci byla zjištěna v prosinci 2016 akutní hepatitida B s pozitivitou HBsAg. Pacient v souvislosti s operací dostal 10 transfuzních přípravků. Zpětnou analýzou anti-HBc protilátek v archivních vzorcích těchto přípravků byl identifikován potencionální zdroj HBV u kterého byla následně prokázána seropozitivní OBI. Tento dárcce v průběhu roku 2016 třikrát dával krev, ve které při skríninku nebyl zjištěn HBsAg. Erytrocyty z jednotlivých odběrů byly podány třem pacientům, z nichž jeden onemocněl hepatitidou B, jedna pacientka zemřela na základní onkologické onemocnění dříve, než bylo zahájeno šetření přenosu a jedna pacientka nebyla infikována, protože byla imunní (pozitivní anti-HBs). Jedna plazma z uvedených odběrů byla podána onkologickému pacientovi, u kterého byla následně prokázána infekce HBV. Plazmy z dvou dalších odběrů byly předány k průmyslovému zpracování firmě Baxalta, kde byl proveden skrínink HBV DNA ve směsi 96 vzorků v jednom případě s negativním v druhém s pozitivním výsledkem.

Závěry: Až případ potransfuzní hepatitidy B umožnil odhalení dárcce krve s okultní hepatitidou B. HBV z přípravků z celkem tří odběrů krve tohoto dárcce byli exponováni čtyři pacienti, z nichž dva byli infikováni, u jednoho nemohl být přenos prokázán a u jedné imunní pacientky k nákaze nedošlo. K nákaze by v těchto případech nemuselo dojít, pokud by součástí skríninku bylo vyšetření anti-HBc protilátek, případně vyšetření HBV DNA. Ukázalo se však, že vyšetření v příliš početné směsi 96 vzorků nemusí vést k zachytu OBI, pro kterou je charakteristické, že množství HBV DNA je nízké.

Epidemie virové hepatitidy A v Jihomoravském kraji

Boháčová R., Ciupek R., Ovesná V.

Protiepidemické oddělení, Krajská hygienická stanice Jihomoravského kraje se sídlem v Brně, Brno

V roce 2016 onemocnělo v ČR celkem 930 osob virovou hepatitidou A (VHA). Téměř polovina nemocných byla hlášena z Jihomoravského kraje (JMK). V JMK se jednalo o nejvyšší počet hlášených onemocnění VHA za posledních 20 let. Vzájemná epidemiologická souvislost jednotlivých případů byla potvrzena na molekulární úrovni genotypizací virů hepatitidy A (HAV) izolovaných ze stolice nemocných, etiologickým agens byl určen HAV, genotyp IA se sekvencemi charakteristickými pro epidemii VHA v JMK. První sporadické případy VHA etiologicky se řadí k epidemii byly hlášeny na podzim roku 2015 a na začátku roku 2016. V prvních třech měsících 2016 se onemocnění šířilo výhradně mezi osobami, jejichž společným znakem bylo užívání pervitinu, příp. marihuany nebo epidemiologicky významný kontakt s uživateli drog, nejčastěji život ve společné domácnosti. Jednalo se o mladé dospělé osoby, většinou bez trvalého zaměstnání, v některých případech squattery. Nízká compliance těchto osob k základním hygienickým pravidlům a neochota ke spolupráci při epidemiologickém šetření vedla k postupnému šíření onemocnění do majoritní populace bez vazby na komunitu uživatelů drog. Většina nakažených (80%) pocházela z Brna a okolí. Téměř polovina nemocných osob spadala do věkové skupiny 25–44 let, 1/3 nemocných tvořili nepracující. Při šíření nákazy se uplatňoval přímý i nepřímý přenos fekálně-orální cestou. Protiepidemická opatření byla zajištěna u více než 2500 osob, u 80 % byla provedena postexpoziciční profylaktická vakcinace.

I když počty hlášených onemocnění v roce 2017 ve srovnání s letními měsíci roku 2016, kdy epidemie s největší pravděpodobností vrcholila, jsou výrazně nižší, stále evidujeme nové případy onemocnění VHA a nelze tak epidemii prohlásit za ukončenou.

Sdělení analyzuje základní epidemiologické charakteristiky epidemie, protiepidemická opatření a shrnuje zkušenosti nabyté v jejím průběhu.

Aktuální problematika infekce HIV v České republice

Kapla J.

Klinika infekčních nemocí, LF a FN Hradec Králové

Od roku 1981, kdy se začaly u mladých mužů v USA objevovat případy pneumocystové pneumonie a Kaposiho sarkomu provázené významnou deplecí CD4+ T lymfocytů dosáhla infekce HIV v současnosti rozměrů pandemie čítající zhruba 37 milionů osob žijících s touto nemocí. Záhy po potvrzení virového původu v letech 1983–1984, dominantně sexuálního přenosu a zoonotického původu infekce (přenos infekce na člověka od primátů žijících v centrální Africe) byl v roce 1987 zaveden do praxe první protivirový lék azidotymidin. Postupně byla vyvinuta celá plejáda vysoce účinných antiretrovirotik, která způsobila zásadní změnu z nemoci fatální na nemoc chronickou s významným snížením mortality i morbidity.

V České republice byly již v roce 1984 potvrzeny první případy infekce HIV a v roce 1985 byla zřízena NRL pro AIDS v SZÚ Praha. V roce 1987 bylo velmi osvědčeně zavedeno vyšetřování anti-HIV protilátek u dárců krve. K 30.6.2017 bylo v České republice evidováno 3041 případů infekce HIV u občanů ČR. Hlavním způsobem přenosu zůstává pohlavní styk, přičemž dominantní roli hrají muži, kteří mají sex s muži. Nejvíce HIV+ osob je koncentrováno do Prahy, významné zastoupení pacientů má i Jihomoravský, Moravskoslezský a Ústecký kraj. Péče o nemocné s infekcí HIV je v ČR koncentrována do 8 HIV center, která poskytují svým pacientům komplexní zdravotní péči nejen v oblasti infekčních nemocí, ale zajišťují multioborovou spolupráci s ostatními odbornostmi. Úroveň péče v oblasti infekce HIV, včetně dostupnosti moderních antiretrovirotik, odpovídá standardu vyspělých evropských zemí. Velký důraz je kladen na co nejčasnější zahájení antiretrovirové terapie, moderní terapeutické režimy, komfortní i bezpečné pro pacienty a v neposlední řadě i na profylaxi vertikálního přenosu infekce a postexpoziční profylaxi.

Racionální diagnostika STI

Zákoucká H., Bajtaková M.

Odd. sexuálně přenosných infekcí, Státní zdravotní ústav, Praha

Sexuálně přenosné infekce (STI) patří mezi nejčastější onemocnění, WHO udává v roce 2005 incidenci 457 200 000. I přesto, že výskyt v ČR je přiměřeně nižší – v roce 2015 bylo zachyceno 754 případů syfilis, 1438 případů kapavky a 286 případů HIV infekce, je znalost diagnostických možností nezbytná.

Zejména váha detekce nukleových kyselin (NAAT) je v případě sexuálně přenosných infekcí velmi variabilní a kolísá od významu testu volby (průkaz *Chlamydia trachomatis*) až po spíše výzkumné vyšetření (průkaz *Treponema pallidum*). Základní mírou úspěšnosti NAAT testů v oblasti STI je znalost biologie infekce a dostupnosti etiologického agens ve zpracovatelném biologickém materiálu – první porce moče, výtěr z urethry, výtěr z cervixu, stěr z erozivního projevu, stěr ze spojivkového vaku, výtěr z krku, výtěr z rektu, plasma, plná nesrážlivá krev, liquor, biopsie apod. Významnou výhodou NAAT vyšetření je však také možnost multiplexní detekce různých patogenů vzhledem k tomu, že koinfekce (i multiplicitní) jsou pro STI typické.

Z výše uvedených důvodů je zřejmá zejména potřeba dobré znalosti klinického průběhu STI a limitů přímého stanovení původce nebo nepřímé detekce protilátkové odpovědi ve vztahu k inkubační době, klinické manifestaci, podaným antibiotikům apod.

Je málo prevence? Pacienti s pozdní diagnózou HIV infekce

Zjevíková A.¹, Olbrechtová L.¹, Martinková I.²

¹Klinika infekčního lékařství, FN Ostrava, Ostrava; ²Krajská hygienická stanice se sídlem v Moravskoslezském kraji, Ostrava

Úvod: Pandemie způsobená virem HIV stále pokračuje. K dosažení ambiciózního cíle WHO 90-90-90 do roku 2020 je třeba intenzivní snahy WHO i jednotlivých státních organizací. Prvním úkolem je diagnostikovat 90 % všech HIV pozitivních, aby jich 90 % mohlo být léčeno a 90 % léčených dosáhlo uspokojivé suprese viru. Nediagnostikovaní a neléčení pacienti představují pro zdravou populaci epidemiologické riziko.

V ČR se zvýšily možnosti testování anti HIV protilátek a je zajištěna efektivní léčba HIV pozitivních. Přesto u nás těchto nemocných stále přibývá. V roce 2016 se počet HIV pozitivních zvýšil o 286 a incidence vzrostla na 2,71 /100 000 obyvatel.

Každý lékař může indikovat vyšetření anti HIV při zdravotních potížích. Největší výtěžnost má ale testování na vlastní žádost.

Materiál a metodika: V AIDS centru Ostrava bylo na vlastní žádost do konce roku 2016 vyšetřeno celkem 1 735 osob, ročně 50–200 klientů. Problémem zůstává vysoký počet HIV pozitivních pacientů, kteří jsou diagnostikováni v pozdním stadiu onemocnění. Zaměřili jsme se na věk, pohlaví a sexuální orientaci těchto pacientů. Zároveň jsme popsali průběh a epidemiologické charakteristiky u tří pacientů s rychlým úmrtím v důsledku HIV infekce.

Výsledky: V našem centru to bylo v letech 2000–2016 pozdně diagnostikováno 62 z 216, což je 29 %. V roce 2015 byla pozdně diagnostikována více jak polovina našich nových pacientů.

Přestože ženy tvoří v ČR jen asi 14 % infikovaných, tvořily ženy v našem souboru pozdně diagnostikovaných 20 %.

Alarmující je věkové rozložení těchto HIV pozitivních. Celých 50 % bylo ve věkové skupině do 34 let.

Podíváme-li se na sexuální orientaci pacientů, zjistíme, že zejména od roku 2010 jsou v našem centru zastoupeny asi z jedné třetiny ženy a heterosexuálně orientovaní muži.

Uvádíme případy tří pozdně diagnostikovaných pacientů, kteří onemocněli prakticky "z plného zdraví". U jedné ženy a jednoho muže vedla diagnóza mozkové toxoplasmózy k úmrtí během několika dnů, respektive týdnů. Další žena byla přijata v závažném stavu s pneumocystovou pneumonií, jícnovou kandidózou, plicní formou atypické mykobakterií a s wasting syndromem. Po relativním zvládnutí oportunních infekcí a snížení virémie na 119 kopií/ml zemřela na agresivní velkobuněčný lymfom.

Závěr: Pozdní diagnostika se týká i mladých, sexuálně spíše více aktivních osob. V kontextu tohoto sdělení je prevence onemocnění virem HIV vhodné rozšířit. Důležité je se zaměřit zejména na mladistvé a vždy zdůrazňovat vhodnost vyšetřování i heterosexuální populace. Heterosexuálové u nás sice nepatří k rizikové skupině, ale o to závažnější následky může mít, když opomeneme pátrat i po HIV pozitivitě. Nejdůležitějším krokem k ukončení pandemie a zachování dobrého zdravotního stavu a kvalitního života je totiž včasná léčba všech infikovaných.

Nárast epidémie infekcie HIV na Slovensku – výzva pre dosiahnutie cieľov UNAIDS „90-90-90“

Staneková D.

NRC pre prevenciu HIV/AIDS, Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava

Slovenská republika patrí ku krajinám EU s najnižšou prevalenciou infekcie HIV. Od r. 1985 do 31. 12. 2016 bolo v SR evidovaných 898 prípadov infekcie HIV. U 97 z 756 občanov SR prešla HIV infekcia do štádia AIDS, z nich 62 zomrelo. Väčšina osôb (64,7%) sa nakazila nechráneným sexuálnym stykom muža s mužom – MSM, 23,6 % heterosexuálnym stykom, 2,1 % injekčným užívaním drog, 0,1% transfúziou krvi a v 9,5 % prípadov nebol spôsob prenosu stanovený. Zatiaľ nebol v SR potvrdený vertikálny prenos infekcie HIV. Výskyt 32 delta polymorfizmu koreceptora CCR5 v populácii SR je porovnateľný s inými krajinami EU.

Od začiatku 21. storočia však možno v SR pozorovať vzostupný trend vo výskyte nových prípadov, v r. 2016 bol zaznamenaný doteraz najvyšší počet (87, 1,60/100 tis.). Zmeny epidemiologickej situácie v SR odrážajú aj zmeny zastúpenia HIV subtypov a cirkulujúcich rekombinantných foriem (CRF). Kým v období r. 2004–2008 bol v SR najviac rozšírený subtyp HIV-1 B prevládajúci hlavne u MSM (93,0%), v r. 2009–2012 jeho výskyt klesol na 86.1% a na Slovensku pribudli aj vďaka mobilite obyvateľstva a migrácii ďalšie non-B subtypy vrátane cirkulujúcich CRF. Rovnako výskyt rezistencie HIV na ART u novo diagnostikovaných pacientov v SR koreluje s výsledkami EU štúdií. Štúdie surveillance infekcie HIV uskutočnené priebežne v rôznych skupinách s vysoko rizikovým správaním odhalili nové prípady infekcie HIV, a to v r. 1996 5,6% u MSM a v r. 2001 0,82% u osôb pracujúcich v sex biznise. EU štúdia SIALON I v r. 2008–2009 odhalila 6,1% prípadov infekcie u MSM, pričom až 75% osôb o svojej infekcii nevedelo. Výsledky EU projektu SIALON II (2011–2015) v skupine MSM v SR a ďalších 12 štátoch EU sa t.č. vyhodnocujú.

S pribúdajúcim počtom pacientov vzrástol počet infekčných kliník poskytujúcich antiretrovirovú terapiu (ART) v SR na päť. Liečba je uskutočňovaná na základe odporúčaní EACS. Testovanie prognostických markerov (VL, rezistencia, tropizmus) sa stali jej štandardnou súčasťou a sú vykonávané centrálné v NRC na SZU. Skorá diagnostika infekcie HIV a následná terapia sa stali dôležitou súčasťou boja proti HIV/AIDS.

S cieľom naplniť výzvu UNAIDS „90-90-90“ aj na Slovensku vyvstáva potreba zvýšiť pretestovanosť obyvateľstva, sprísniť testovanie tehotných žien, zvýšiť edukáciu tak odbornej ako aj laickej verejnosti, podporiť prácu mimovládnych organizácií (MVO) pôsobiacich v skupinách s vysokým rizikom infekcie HIV, vrátane MVO pre HIV-pozitívnych pacientov a tiež eliminovať brzdy úspešnej prevencie HIV/AIDS, ktorými sú o.i. sociálna exklúzia a skrytá diskriminácia pacientov.

Táto práca bola vytvorená realizáciou projektu „Centrum excelentnosti environmentálneho zdravia“, ITMS č. 26240120033, na základe podpory operačného programu Výskum a vývoj, financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Antiinfektiva a rezistence

Kolistin: náhradník kapitánem týmu

Štefan M.

Klinika infekčních nemocí 1. LF UK a ÚVN, Praha

Kolistin je polymyxinové antibiotikum s účinkem na většinu gramnegativních bakterií, včetně řady multirezistentních kmenů. Kolistin byl objeven na konci čtyřicátých let minulého století, pro svou nefrotoxicitu a neurotoxicitu byl však záhy po uvedení do praxe nahrazen bezpečnějšími antibiotiky. V poslední době dochází k renesanci zájmu o kolistin, a to právě kvůli jeho účinku na některé multirezistentní kmeny gramnegativních bakterií (např. *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter baumannii*). V prezentaci autor shrnuje recentní poznatky o indikacích, dávkování a toxicitě kolistinu. Zmíněny budou také informace o lokální aplikaci kolistinu (inhalační a intraventrikulární podání, kostní cement s kolistinem), rezistenci na kolistin (včetně nově objeveného genu *mcr-1*) a o synergickém účinku s jinými antibiotiky (tzv. *see-saw effect*).

Prezentace byla podpořena projekty MO 1012 a SVV 206 369.

Nová antibiotika a nevyhovující léková legislativa

Beneš J.¹, Košťálová D.²

¹*Klinika infekčních nemocí 3. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha;* ²*Státní ústav pro kontrolu léčiv, Praha*

V posledních dvou letech byla na náš trh uvedena tři nová antibiotika: dalbavancin (Xydalba), ceftolozan/tazobaktam (Zerbaxa) a ceftarolin-fosamil (Zinforo). Ve všech případech jde o cenné léky s unikátními vlastnostmi, které umožňují elegantní terapii u různých, dosud obtížně zvládnutelných infekcí. Bohužel použití těchto antibiotik v takových situacích je off-label, protože neodpovídá indikacím, pro které byly tyto léky schváleny.

Příčinou tohoto paradoxu je fakt, že antibiotika mají některé specifické charakteristiky, které způsobují, že standardní léková legislativa, vycházející důsledně z výsledků registračních studií, vyznívá jako neúčelná nebo dokonce jako kontraproduktivní.

Hlavním cílem přednášky je ukázat, že (a) u antibiotik není radno se bezvýhradně řídit platným doporučením ohledně indikací a dávkování, které je obsaženo v textu SPC (Summary of Product Characteristics); (b) je nutno mít stále na paměti, že antibiotika představují zcela zvláštní skupinu léků, jejichž použití by se mělo řídit specifickými pravidly.

Proč potřebujeme „Antimicrobial stewardship“ v našich nemocnicích?

Žemličková H.

¹Národní referenční laboratoř pro antibiotika, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha; ²Ústav klinické mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Hradci Králové a Fakultní nemocnice, Hradec Králové

Antimikrobiální rezistence je schopnost mikroorganismu odolat účinku antibiotik. Následky infekce vyvolané mikrobem rezistentním k antibiotikům mohou být velmi závažné, neboť včasná a účinná antibiotická terapie je rozhodujícím faktorem ovlivňující prognózu pacientů s těžkým život ohrožujícím onemocněním. Antibiotika, která zajišťují prevenci vzniku a léčbu případných bakteriálních komplikací, jsou také nepostradatelná u řady lékařských výkonů zejména v oblasti chirurgie, transplantologie (solidních orgánů či krevetvorných buněk), intenzivní péče a onkologie.

Tzv. Antimicrobial stewardship (ABS) je soubor opatření, jehož účelem je pomocí vhodných nástrojů a aktivit dosáhnout optimálního používání antibiotik s co nejlepším léčebným efektem a zároveň takovým způsobem, aby byla účinnost antibiotik dlouhodobě zachována. ABS by měl omezovat empirické podávání antibiotik a podporovat především cílenou léčbu infekcí. Praktickými nástroji ABS jsou například pozitivní list antibiotik a jejich kategorizace, konzultační a konziliární činnost, doporučené postupy pro léčbu a profylaxi infekcí zohledňující prevalenci rezistence na lokální úrovni, sledování spotřeby antibiotik, kontinuální vzdělávání ošetřujícího personálu. Mezi opatření, která mají praktický dopad na užívání antibiotik, patří např.: dokumentace důvodů pro indikaci antibiotika, délka terapie a dávkování, revize léčby pro 48–72 h, deeskalace či ukončení terapie na základě mikrobiologických a laboratorních výsledků (prokalcitonin řízená terapie), změna i v podání na perorální aplikaci.

Cílem ABS programu je zabezpečení správné antibiotické terapie pro konkrétního pacienta (vhodné antibiotikum, dávka, délka, načasování podání) a prevence nadužívání a nesprávného užívání antibiotik. Kvalita a funkčnost naplňování ABS strategie je měřitelná pomocí strukturálních a procesních indikátorů. Výsledkem účinného a správně prováděného ABS programu je snížení morbidit a mortalit pacientů a pokles výskytu bakteriálních rezistentních patogenů v nemocnici.

Rezistence u gramnegativních bakterií: vidíme světlo na konci tunelu?

Hrabák J.

Ústav mikrobiologie, Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice v Plzni, Plzeň

V posledním desetiletí dochází k výraznému nárůstu rezistence na antibiotika. Na přelomu tisíciletí byly za hlavní hrozbu považovány grampozitivní bakterie, především kmeny *Staphylococcus aureus* rezistentní k oxacilinu (MRSA) a enterokoky rezistentní ke glykopeptidům (VRE). Později se však ukázalo, že u těchto mikrobů velmi obtížně dochází k horizontálnímu přenosu genetické informace, přičemž jejich šíření je tak především klonálního charakteru. Rovněž kmeny, které by byly rezistentní na všechna dostupná antibiotika byly a dosud jsou izolovány pouze výjimečně. Zmíněné epidemiologické charakteristiky umožňují s takovými kmeny účinně bojovat správně prováděnými izolačními opatřeními a antibiotickou politikou. V případě rezistence u gramnegativních bakterií je však situace odlišná. Mezi nejvýznamnější multirezistentní bakterie patří kmeny z čeledi Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter baumannii*. Především u enterobakterií je průběžně dokumentován frekventovaný přenos genetické informace, zvláště pak epidemicky úspěšných plazmidů. Plazmidy se mohou nacházet u klinicky nevýznamných bakterií, které tak mohou být skrytými zdroji rezistence. Tento fenomén jsme dokumentovali na příklad u plazmidu IncHI1 nesoucím gen pro karbapenemázu VIM-1 u *Leclercia adecarboxylata* izolované z rukou zdravotnického personálu v Nemocnici Na Homolce. Plazmid se shodným MDR regionem byl detekován i u klinického izolátu *Klebsiella pneumoniae* v jiné pražské nemocnici. Komplexita epidemiologie antibiotické rezistence u gramnegativních bakterií jím dává možnost vzniku kmenů, které jsou rezistentní na všechna dostupná antibiotika. I takové izoláty již byly v České republice zaznamenány. Možnosti léčby infekcí způsobených takovými kmeny jsou omezené obvykle pouze na kombinaci dvou antibiotik různých skupin. V tomto souhrnném sdělení budou představena specifika epidemiologie antibiotické rezistence u grampozitivních a gramnegativních bakterií a diskutovány možnosti prevence jejich šíření.

Fenotypová detekce kmenů *Haemophilus influenzae* s neenzymatickou rezistencí k β -laktamovým antibiotikům a sekvenční analýza genu *ftsI*

Jakubů V.¹, Mališová L.¹, Urbášková P.¹, Čechová M.¹, Žemličková H.^{1,2}

¹Národní referenční laboratoř pro antibiotika, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha; ²Ústav klinické mikrobiologie, FN a LF UK v Hradci Králové, Hradec Králové

Úvod: Tradičními léky pro léčbu infekcí způsobených *Haemophilus influenzae* jsou aminopeniciliny, používané v kombinaci s inhibitory β -laktamázy i pro infekce způsobené producenty tohoto enzymu. Výsledky pravidelné surveillance antibiotické rezistence bakteriálních původců infekcí dýchacích cest, kterou Národní referenční laboratoř pro antibiotika (NRL pro ATB) provádí každoročně od roku 1996, ukázaly rostoucí trend výskytu kmenů *H. influenzae* s neenzymatickou rezistencí k β -laktamovým antibiotikům.

Rezistenci u těchto kmenů způsobuje snížená vazba β -laktamů na stěnu buňky v důsledku alterace PBP3 (penicillin-binding-protein3) kódovaného genem *ftsI*. Průkaz tohoto typu rezistence je obtížnější než detekce β -laktamázy, která je u *H. influenzae* stále nejčastější příčinou rezistence k aminopenicilinům.

S cílem ověřit možnosti fenotypového průkazu neenzymatické rezistence v rutinní praxi pomocí disků s vybranými β -laktamy byly mikrobiologické laboratoře ČR vyzvány k zasílání kmenů *H. influenzae* s podezřením na neenzymatickou rezistenci do NRL pro ATB.

Materiál a metodika: V průběhu let 2010–2017 bylo do NRL pro ATB zasláno z 34 laboratoří 160 kmenů *H. influenzae* s podezřením na neenzymatickou rezistenci k β -laktamům. Při výběru kmenů postupovaly laboratoře vesměs podle doporučení EUCAST.

V NRL pro ATB byla u všech kmenů ověřena necitlivost k β -laktamům pomocí screeningového testu s penicilinem a vyšetřena citlivost k ampicilinu, amoxicilin/klavulanátu, cefuroximu a cefotaximu pomocí diskové difúzní metody a mikrodiluční metody dle EUCAST.

Produkce β -laktamázy byla vyšetřena nitrocefinovou metodou. Detekce mutací *ftsI* genu byla provedena pomocí sekvenace úseku 977-1597bp genu *ftsI* (fragment 621bp). Získaná nukleotidová sekvence byla převedena do sekvence aminokyselin a porovnána s aminokyselinovou sekvencí referenčního nemutovaného kmene.

Výsledky: V roce 2016 pokračoval vzestup rezistence k aminopenicilinům u *H. influenzae* a činil 18,8 %, z toho na neenzymatickou rezistenci připadá téměř 5 %.

Senzitivita detekce neenzymatické rezistence pomocí jednotlivých antibiotik dosahovala v našem souboru kmenů těchto hodnot: penicilin 94 %; ampicilin – 75 %; amoxicilin/kyselina klavulanová – 81 %; cefuroxim – 95 %.

Pomocí srovnávací analýzy bylo nalezeno 17 různých aminokyselinových záměn, a to: D350N, S357N, A368T, M377I, S385T, A388V, L389F, A437S, I449V, G490E, A502T, A502V, V511A, R517H, N526K, A530S, T532S. Tyto záměny se vyskytují samostatně nebo v kombinacích. Celkem bylo nalezeno 20 možných uspořádání uvedených záměn.

Závěr: Analýzou souboru 160 kmenů *H. influenzae* bylo zjištěno, že izoláty s neenzymatickou rezistencí způsobenou mutacemi v genu *ftsI* je možno v rutinní praxi spolehlivě prokázat pouze současným vyšetřením penicilinu, ampicilinu, amoxicilin/klavulanátu a cefuroximu diskovou difúzní metodou. Pouze při této čtyřkombinaci byla fenotypová senzitivita 100 %. Pro rutinní vyhledávání kmenů s PBP3 mutací lze doporučit screening s penicilinem doplněným o cefuroxim (výsledná senzitivita cca 98 %).

Zkušenosti s přístrojem Accelerate pheno™ system

Kabelíková P., Opálková S., Kejdanová H., Nyč O., Dřevínek P.

Ústav lékařské mikrobiologie FN Motol

Úvod: Hemokultivace je stěžejním diagnostickým postupem mikrobiologické diagnostiky. Rychlost a validita určení původce septického stavu hraje zásadní úlohu pro odpovídající antibiotickou léčbu a tím i následnou prognózu pacienta. Accelerate pheno TM je plně automatizovaný systém, který umožňuje rychlou identifikaci některých bakteriálních kmenů a kvasinek přímo z pozitivních hemokultur (ID) s následným určením hodnoty minimální inhibiční koncentrace u definovaného spektra antibiotik (AST). Výsledky ID jsou známy za zhruba 90 minut, AST přibližně za 7 hodin od vložení vzorku krve do přístroje.

Materiál a metodika: V průběhu testování bylo na přístroji Accelerate vyšetřeno celkem 32 vzorků krve, které byly paralelně vyšetřovány další rutinní metodou. Jednalo se o hemokultury pacientů různého věku, pohlaví z různých oddělení FN Motol. Principem ID v přístroji Accelerate je metoda fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) a podstatou AST je morfokinetická buněčná analýza (MCA). Rutinní srovnávací metoda zpracování pozitivních hemokultur laboratoři zahrnuje mikroskopii, vyočkování na kultivační půdy, identifikaci z obohacené bakteriální frakce hemokultur pomocí MALDI-TOF a následné stanovení antibiogramu diskově difusním testem případně určení MIC mikrodiluční metodou.

Výsledky: Mezi 32 paralelně vyšetřovanými hemokulturami bylo 19 s nálezem bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae*, 3 hemokultury obsahovaly gram negativní nefermentující tyčinky, dále byl ve 3 vzorcích prokázán *Staphylococcus aureus*, jednou *Staphylococcus lugdunensis* a dvakrát *Enterococcus faecium*. V ostatních případech se identifikace pomocí Accelerate nezdařila. Naprostá shoda výsledků ID i AST byla u 50 % hemokultur vyšetřovaných paralelně oběma metodami. V ostatních případech docházelo k neshodám ve výsledcích obou metod jak v identifikacích zejména u hemokultur s více než jedním bakteriálním kmenem, tak v hodnotách MIC.

Závěr: Přístroj Accelerate přináší nespornou výhodu ve velmi časně identifikaci a brzkém stanovení antibiotické citlivosti. Nevýhodou je oproti rutinním identifikačním metodám (např. MALDI-TOF) limitované spektrum bakterií a kvasinek, které je přístroj schopen identifikovat, a následně stanovit MIC. Zřejmý rozpor nastává i u nálezů 2 a více kmenů v jedné hemokultuře, které Accelerate, i z důvodu omezeného spektra, v některých případech není schopen správně rozlišit. Rutinní využití vyžaduje kvalifikovanou rozvahu volby vzorku vhodného k příslušné analýze a výsledky je třeba dodatečně konfirmovat dalšími metodami.

Rezistence HSV k antivirotikům – rešerše a závěry pre-seed studie RVO-FN HK2016-3

Fajfr M.¹, Bolehovská R.², Plíšková L.²

¹Ústav klinické mikrobiologie, Lékařská fakulta UK a Fakultní nemocnice Hradec Králové, ²Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Úsek molekulární biologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové

Úvod: Popisu rezistencí u bakterií k antimikrobiálním látkám je věnováno poměrně značné vědecké úsilí a jsou zpravidla dobře popsány. Ve virologii je tomu s problematikou rezistencí spíše naopak. Jistou výjimku tvoří rezistence cytomegaloviru k antiherpetikům a rezistence virů hepatitidy B a C k používaným antivirovým preparátům, které jsou poměrně dobře probádány. Virus herpes simplex (HSV) stojí poněkud v pozadí, a to i přestože působí velmi závažné infekční komplikace u pacientů s imunodeficitem. Z těchto důvodů je například u hematologických pacientů po transplantaci kostní dřeně podávána dlouhodobá profylaxe acyklovirem, což s sebou nese i riziko vzniku rezistence.

Rešerše: Literárně se udává rezistence HSV k acykloviru u imunokompetentních jedinců jako velmi nízká od 0,1 do 0,7 %. U pacientů s imunosupresí a ve spojitosti s déletrvající profylaxí reaktivace HSV acyklovirem se v literatuře popisuje záchyt rezistentních mutací viru již v mnohem větším měřítku – v případě HIV pozitivních jedinců až u 3,5 – 7,0 % a nejvyšší procento rezistencí bylo popisováno u pacientů po transplantaci kostní dřeně, 4,1 – 10,9 %, ale výjimečně až 29–36 % (*Piret et Boivin, 2016; Mofin et Thouvenot, 2003*). Nejčastěji jsou mutace spojené se vznikem rezistence ve dvou hlavních genech – genu pro virovou thymidinkinázu (UL 23) a genu pro virovou polymerázu (UL30), podobně jako je tomu u dobře popsaných rezistentních kmenů lidského cytomegaloviru.

Studie RVO-FN HK2016-3: jednoletá studie s cílem zavedení a validace metodiky detekce rezistence HSV 1 a 2 k antiherpetikům metodou klasického sekvencování dle Sengera i novou metodou masivního paralelního sekvencování na přístroji Illumina MiSeq. Po zavedení metodiky bylo otestováno celkem 15 sbírkových kmenů HSV1 a 8 kmenů HSV2 na přítomnost polymorfismů spojených se vznikem rezistence. Kmeny byly získány z období 2009–2017 od pacientů z FN HK jak ambulantních, tak i hospitalizovaných.

Výsledky: Metodika klasického sekvencování dle Sengera prošla validací formou mezinárodní QCMD kontrolou v roce 2016 a byla uvolněna pro rutinní provoz. Byla zjištěna vysoká míra zastoupení genomových polymorfismů jak u viru HSV1, tak i HSV2 a to v obou genech UL23 i UL30. Zjištěny byly také polymorfismy spojené se vznikem rezistence, a to mutace Asp672Asn, 7 kmenů z 15 testovaných HSV1 a mutace Glu678Gly, 7 kmenů z 8 testovaných HSV2.

Závěry: Závěry naší jednoleté pre-seed studie potvrzují přítomnost mutací spojených s rezistencí k antiherpetikům u virů HSV1 i HSV2 u českých pacientů, ale pro další závěry je nutné vyšetření většího souboru pacientů.

Podpořeno RVO-FN HK2016-3.

Laboratorní průkaz kmene viru HSV1 rezistentního k acikloviru u pacientky s chronickou lymfatickou leukémií

Labská K.¹, Plodková H.¹, Benešová K.^{2,3}, Pummannová M.¹, Špaček M.^{2,3}

¹Národní referenční laboratoř pro herpetické viry, CEM, Státní zdravotní ústav, Praha; ²1. Interní klinika – klinika hematologie, Všeobecná FN, Praha; ³1. Interní klinika – klinika hematologie, 1. LF UK, Praha

Úvod: Aciklovir (ACV) je v terapii infekcí vyvolaných virem Herpes simplex (HSV) používán již od 80. let a je oblíbený pro svou nízkou toxicitu. Rezistence proti tomuto preparátu se vyskytuje jak přirozená (0,3–0,7%), tak získaná. Riziko vzniku rezistence je vyšší u pacientů na dlouhodobé terapii (recidivující HSV1 keratitida 6,4%, recidivující HSV2 herpes genitalis 5%) a defekty buněčné imunity (HIV pozitivní 3–7%, pacienti po SOT 2,5–10%, pacienti po HSCT 4–11%). Rezistence HSV k antivirotikům se ideálně vyšetřuje kombinací molekulárně –genetických metod (sekvenace genů pro thymidinkinázu a DNA polymerázu) a fenotypových (kultivace na tkáňové kultuře, stanovení IC₅₀ na podkladě redukce počtu plaků)

Materiál a metodika: Genotypická analýzu provádíme konvenčním Sangerovým sekvenováním. Celkovou DNA izolujeme kitem QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen). Metodou real-time PCR (artus HSV-1/2 LC PCR Kit, Qiagen) ověřujeme přítomnost DNA HSV a kvantifikujeme virovou nálož ve vzorku. Vzorky musí obsahovat aspoň 10³ kopií HSV1 DNA/ml nebo 10⁴ HSV2 DNA /ml.

Gen pro thymidinkinázu (UL23) amplifikujeme ve dvou úsecích, gen pro DNA polymerázu (UL30) amplifikujeme v 8 úsecích, s použitím publikovaných primerů (Burrell a kol., 2010; Sauerbrei a kol., 2010; Bohn a kol., 2010). Kapilární elektroforézu provádíme na 3500xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems) a výsledky hodnotíme softwarem SeqScape v3.0 (Applied Biosystems). Získané sekvence porovnáváme s publikovanými referenčními sekvencemi viru HSV1 a HSV2 (HSV1 17, GenBank accession number X14112, HSV2 –HG52, GenBank accession number Z86099).

Fenotypovou analýzu provádíme metodou redukce plaků. 1.kultivace probíhá na lidských embryonálních fibroblastech, titrace viru a vlastní plaque redukční assay na VERO buňkách. IC₅₀ stanovujeme dle Reed Mucha.

Výsledky: Uvedenými metodami se podařilo zachytit rezistentní HSV1 u pacientky s CLL (13 q-, ZAP -70+, IgVH 6%(VH3-49*05) ve stádiu progresu. U pacientky byla prokázána mutace v genu pro thymidinkinázu (kodon 125, Gln/His) a kultivačně byla potvrzena rezistence k ACV s IC₅₀ >5μg/ml

Pacientka trpěla rozsáhlými mukokutánními lezemi v orofaciální oblasti a stav se upravil po regresi základního onemocnění (3 cykly terapie bendamustin + rituximab). Alternativní antivirotika (foskarnet, cidofovir) nebyla pacientce podána.

Závěry: Rezistence viru HSV se vyskytuje jak přirozená, tak získaná. Její diagnostika je esenciální u imunokompromitovaných pacientů, kde HSV vyvolává systémové onemocnění. Od r.2016 je vyšetření rezistence HSV k ACV dostupné v NRL pro herpetické viry (sekvenace i plaque redukční assay) a plánujeme i rozšíření fenotypových testů o další antivirotika (cidofovir, foskarnet).

POSTERY

Přeshraniční hrozby infekčních onemocnění a možnosti jejich kontroly

P-01

Kojenecký botulismus – med jako rizikový faktor

Špačková M., Mandáková Z.

Oddělení epidemiologie infekčních nemocí, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

Kojenecký botulismus (KB) je vzácné infekční onemocnění způsobené bakterií *Clostridium botulinum*. Střevní mikroflóra kojenců (dětí do jednoho roku života) ještě není zralá k zabránění infekce a botulotoxin, jež je produkován bakterií ve střevech, pak způsobuje toxickou zánětlivou reakci. Většina (> 95 %) případů se objevuje v průběhu prvních šesti měsíců života. Infekce může mít mírný nebo až fulminantní průběh a nerozpoznána může skončit jako syndrom náhlého úmrtí kojence. Ke smrti dochází zástavou dechu ochrnutím dýchacích svalů. Diagnostika botulotoxinu je možná ze stolice, základem léčby je intravenózní podání lidského hyperimunního globulinu. Prognóza onemocnění je při podání imunoglobulinu dobrá (< 2 % úmrtí). Přibližně u poloviny dětí zasažených KB je k podpůrné léčbě vyžadována umělá plicní ventilace.

V posledních letech byl celosvětově zaznamenán vzestup případů KB. V USA bylo do roku 2007 hlášeno 80–110 případů ročně, od roku 2012 se trend mírně zvýšil. USA jsou v četnosti případů následovány Argentinou, Austrálií, Kanadou, Itálií a Japonskem. Výskyt KB v Evropě je zatím nízký. V posledních letech byl však i zde zaznamenán výrazný vzestup počtu hlášených případů, což může být mj. způsobeno lepší diagnostikou. Za období 1976–2006 bylo v Evropě souhrnně registrováno 65 případů ve 13 evropských zemích, nejvíce v Itálii a Španělsku následováno Velkou Británií. Od roku 2006 do roku 2012 bylo v Evropě v rámci surveillance systému TESSy registrováno 54 případů (51 potvrzených a 3 pravděpodobné případy); nejvíce v Itálii (12 případů), Španělsku (celkem 12 případů, z nich 9 v Andalusii), Francii (8 případů), Velké Británii (6 případů). V České republice bylo v letech 1998–2015 hlášeno 35 případů botulismu u jedinců ve věku 7–78 let. Nebyl hlášen žádný případ KB. U všech dosud zaznamenaných případů botulismu v ČR se jednalo o alimentární přenos.

Clostridium botulinum je ubikviterní bakterie; vyskytuje se na celém světě, v půdě, na rostlinách, ve vodě a také ve střevním traktu savců (například v chovech prasat). Pro výskyt KB je med jediným významným potravinovým rizikovým faktorem.

Spóry *Clostridium botulinum* byly opakovaně zjištěny ve vzorcích medu z různých států světa (prevalence spor v medu 6–10 % u vzorků). Med byl také možnou příčinou více než poloviny (59,2 %) rozpoznaných případů KB v Evropě. Konzumace medu byla zjištěna v anamnéze nemocných KB v italské studii u 74 % případů, v kalifornské u 30 % případů.

Konzumace medu dětem do jednoho roku není doporučena organizacemi, jako jsou WHO, CDC, Americká akademie pediatriů aj. stejně jako některými státy (např. Itálie, Velká Británie).

P-02**Cholera – kazuistika**

Marešová Z., Jágrová Z.

Protiepidemické oddělení, protiepidemický odbor, Hygienická stanice hl. m. Prahy, Praha

Je popisována kazuistika zavlečeného onemocnění cholerou Dg. A00 Vibrio cholerae O1 typ Ogawa u 29leté ženy, která byla na dlouhodobém pracovním pobytu na Zanzibaru – v Tanzanii. Se začátkem období dešťů došlo k akviraci nákazy a onemocnění 8. 5. 2017 u neočkované osoby. Popsáno epidemiologické šetření, změny ve sděleních a informacích nemocné osoby, hlášení MZ ČR a zahraničním institucím. Byly dohledány a vyšetřeny kontakty – spolucestující ze 2 leteckých spojů z 11. 5. a 12. 5. 2017 včetně leteckého personálu. Byly dohledány a vyšetřeny kontakty ze schůzek po návratu do Prahy. Z Prahy byla hygienickou službou (Orgánem ochrany veřejného zdraví-OOVZ) zajišťována protiepidemická opatření v místě bydliště, dále v místě působení nemocné a dalších českých pracovníků (zajištění studní, dezinfekce vody, vakcinace, rizikové chování). Jedná se o stavaře působící ve vyšších funkcích – stavební dozor, management atd. při výstavbě hotelů v resortu ZURI. Zmíněno onemocnění partnera, povoláním kuchaře, které nebylo nakonec zahrnuto do EPIDATu pod Dg. A00 z důvodu zjištěného agens V. cholerae non O1/non O139 neprodukujícího toxin.

P-03**Role SZÚ Praha při výskytu VNN a podmínky transportu infekčních a potenciálně infekčních látek**

Macková B.

Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

Od začátku procesu implementace Mezinárodních zdravotnických předpisů (IHR 2005) do české legislativy a posléze do praxe se Státní zdravotní ústav Praha (SZÚ) podílí aktivně jak na tvorbě směrnic, tak i na jejich naplňování. Specifická role SZÚ v situaci s podezřením na vysoce nakažlivou nákazu (VNN) spočívá především v zajištění a vyhodnocení informací z veřejných zdrojů, v koordinaci transportu vzorků biologického materiálu a v zajištění jejich vyšetření v příslušné laboratoři.

Velmi důležitou součástí celého procesu připravenosti je vytvoření algoritmů, komunikačních cest a zajištění spolupráce na všech úrovních systému tak, aby ČR byla připravena na řešení krizové situace v oblasti ochrany veřejného zdraví.

Transport infekčních a potenciálně infekčních látek je předmětem mezinárodních a národních legislativních předpisů. Základním právním předpisem pro přepravu nebezpečných věcí je Evropská dohoda o mezinárodní silniční přepravě nebezpečných věcí (ADR). V předpisech je popsáno balení, podmínky transportu, značení a dokumentace příslušných materiálů. Základním systémem balení infekčních a potenciálně infekčních látek pro transport je dle předpisů Světové zdravotnické organizace (WHO) trojobal.

Infekční látky kategorie 6.2 pro účely transportu rozdělujeme do následujících tří skupin:

Název	UN číslo	Balící instrukce
Infekční látky, Kategorie A	UN2814, UN2900	P620
Biologické látky, Kategorie B	UN3373	P650
Neregulované lidské/zvířecí vzorky		trojobal

Seznam agens spadajících do Infekčních látek, Kategorie A vydávaný WHO je každoročně aktualizován.

Cílem opatření je zajistit maximální bezpečnost přepravy pro všechny zúčastněné subjekty, okolní prostředí a omezit na minimum riziko expozice potenciálnímu infekčnímu agens.

P-04**Tuberkulóza a migrace**

Müllerová M.

CITYLAB spol. s r.o., Seydlerova 2451/8, Praha 5 – Stodůlky, Detašované pracoviště: Pod Marjánkou, Praha 6

Tuberkulóza je stále závažné infekční onemocnění staré jako lidstvo samé, postihuje populaci celého světa. Tuberkulóza je v posledních letech trvale v popředí zájmu World Health Organisation (WHO), podléhá povinnému hlášení ohledně výskytu. Téměř třetina světové populace je tuberkulózou infikována. Z těchto závažných epidemiologických důvodů je tuberkulóza WHO označena jako „globální ohrožení“. V České republice je situace v počtu nově hlášených případů a recidiv tuberkulózy v posledních letech zatím příznivá, incidence kolem 5/100 000 obyvatel:

2012 – tbc celkem 611 (552 dýchací ústrojí + 59 jiná), incidence 5,8

2013 – 502 (455+47), 4,8

2014 – 512 (461+51), 4,9

2015 – 518 (451+67), 4,9, z celkového onemocnění tbc bylo 110 cizinců

2016 – 515 (446+69), 4,9, z toho 150 cizinců.

Migrace do Evropy kulminovala v roce 2015 a vedla ke zvýšení výskytu tuberkulózy. To se může negativně projevit i v budoucnu v České republice. Západoevropské statistiky uvádějí, že až 30 % imigrantů jsou nemocní akutně či chronicky, včetně infekčních onemocnění. Doklady o zdravotním stavu ze zemí původu jsou nevalidní a nelze je použít pro odhad rizika, údaje dětí o očkování jsou neprůkazné. Zavlečení infekčních onemocnění a možnost šíření v komunitě imigrantů se vyskytuje celá řada běžně ale i méně běžně se vyskytujících onemocnění dětí i dospělých: tuberkulóza, hepatitida A, B, C, E, HIV/AIDS, záškrť, černý kašel, spalničky, zarděnky, příušnice, průjemová onemocnění i malárie. Tato onemocnění byla již diagnostikována v uprchlických a záchytných zařízeních ČR. Uprchlická krize se na výskytu tbc v ČR zatím neprojevila. Zdravotnické zařízení Ministerstva vnitra: „V roce 2015 se u námi kontrolovaných nelegálních migrantů či žadatelů o azyl objevila tuberkulóza ve 3 případech, stejně tak i v dalším roce.“ Nejvíce případů onemocnění tuberkulózou v ČR je v Praze, téměř čtvrtina ze všech nemocných. Jedná se o sociálně slabé jedince a cizince. V Německu v rámci migrace došlo k vzestupu počtu onemocnění tbc i MDR formy zejména v roce 2015. Proto musíme být na podobnou situaci jako v Německu připraveni. V případě předpokládané tuberkulózní infekce v rámci migrantů je potřeba snížit riziko zavlečení nález. Použít odpovídající vyšetřovací metody, u všech skiagram hrudníku, krevní test QuantiFERON TB Gold-in-Tube, který odhaluje i latentní tbc a mimoplicní formy. Doočkovat děti, pokud se neprokáže přítomnost postvakcinační jizvy. U osob s respiračními problémy vyšetření sputa na M.tbc, použít rychlé laboratorní vyšetřovací metody, z nichž GeneXpert MTB/RIF je nejrychlejší a nejprůnosnější, za 2 hodiny detekce M.tbc komplexu a zároveň citlivosti k rifampicinu.

P-05

Současně probíhající malárie a rickettsióza u pacienta po návratu z Jihoafrické republiky

Pellantová V.¹, Kosina P.¹, Prášil P.¹, Zelená H.², Čermáková Z.³, Plíšek S.¹

¹Klinika infekčních nemocí FN a LF UK v Hradci Králové; ²Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě;

³Ústav klinické mikrobiologie FN a LF UK v Hradci Králové

Je prezentována kasuistika šedesátiletého pacienta s horečkami a lokálním nálezem po zákusu hmyzu po návratu z Jihoafrické republiky, u kterého byla stanovena diagnóza malárie se současně probíhající rickettsiózou. V České republice bylo za rok 2016 případů 30 malárie, z toho pět na našem pracovišti, a tři rickettsiové infekce. Ve sdělení jsou zdůrazněny praktické obtíže diagnostiky chorob u cestovatelů s konkrétním zaměřením na problematiku Jihoafrické republiky, stručně je shrnuta léčba malárie a rickettsiózy.

Nová a znovu se objevující infekční onemocnění

P-06

Molekulární změny *Burkholderia cenocepacia* během chronické infekce pacientů s cystickou fibrózou

Nunvář J., Dřevínek P.

Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Úvod: Plíce pacientů s cystickou fibrózou (CF) jsou kolonizované komunitou různých bakterií. Infekce druhem *Burkholderia cenocepacia* jsou považovány za nejzávažnější, z důvodu možnosti vývoje tzv. Cepacia syndromu (CS). CS je charakterizován jako nekrotizující pneumonie s diseminací bakterií do krevního řečiště. Tento syndrom je ve většině případů fatální. Český epidemický klon *B. cenocepacia* ST32 způsobil během devadesátých let velký outbreak, při němž se nakazilo přes 50 CF pacientů. Účelem této studie bylo prozkoumat evoluci genomu *B. cenocepacia* ST32 v průběhu chronické infekce a pokusit se objasnit možné genetické mechanismy související s dlouhodobou perzistencí infekce a vývojem letálního CS.

Materiál a metodika: Pro analýzu byly použity izoláty od 8 pacientů, kteří podleli CS. Od každého pacienta byly vybrány 4 izoláty z různých stadií chronické infekce. Vybrané izoláty pokrývaly v průměru 8 let trvání infekce a zahrnovaly vždy první dochovaný izolát a izoláty ze sputa a krve v době propuknutí CS. Sekvenování nové generace bylo provedeno s využitím technologie Illumina (2 x 150 bp). Sekvence izolátů byly podrobené komplexní komparativní analýze.

Výsledky: V genomech byla zjištěna vysoká abundance inzerčních sekvencí (IS). Nejčtenější IS (50 kopií na genom) se ukázala být zároveň nepohyblivější v průběhu diverzifikace ST32. Tato IS je zároveň specifická pro ST32, nevyskytuje se ani u nejbližší příbuzných kmenů *B. cenocepacia*. Relativně často byly pozorovány velké delece (>10 kb), predominantně jako důsledek rekombinace mezi dvěma kopiemi IS ve stejné orientaci. Porovnáním genomů izolátů od různých pacientů jsme identifikovali geny podléhající paralelním změnám, tj. nezávislé konvergentní evoluci determinované životními podmínkami bakterie. Kromě genů ATB rezistence jsme pozorovali nejsilnější paralelní evoluci u genů souvisejících s obranou vůči reaktivním formám kyslíku (ROS – peroxid vodíku, chlornan) a s metabolismem dvojmocných kovů, především mědi. Tyto mutace se vyskytovaly hlavně u izolátů z terminální fáze infekce.

Závěry: Vzhledem k zásadní baktericidní funkci ROS a mědi při respiračním vzplanutí fagocytů výsledky komparativní genomiky naznačují, že modulace kontroly imunitním systémem je klíčová pro perzistentní chronickou infekci *B. cenocepacia* ST32 a její vývoj směrem k fatálnímu CS.

P-07

Skríning oportúnnych patogénov *Encephalitozoon intestinalis* a *Enterocytozoon bieneusi* u imunodeficientných pacientov

Halánová M.¹, Jarčuška Pa.², Valenčáková A.³, Kalinová Z.¹, Babinská I.¹, Čisláková L.¹

¹Ústav epidemiológie, UPJŠ LF, Košice; ²Klinika infektológie a cestovnej medicíny, UPJŠ LF, Košice;

³Katedra biológie a genetiky, UVLF, Košice

Úvod: V ostatnom období sa čoraz viac dostávajú do popredia nové, resp. novo sa objavujúce infekčné choroby, tzv. emerging diseases. Zahrňajú choroby s pre ne typickou symptomatológiou spôsobené úplne novým alebo predtým nedetegovaným patogénnym mikroorganizmom. Vo všeobecnosti sa však do tejto skupiny radia aj choroby spôsobené známym etiologickým agensom, ktorý sa začal šíriť na nových geografických územiach alebo v novej skupine hostiteľov, známym etiologickým agensom, ktorého patogenita predtým nebola známa a odhalila sa len nedávno, a tiež znovu sa objavujúcim mikroorganizmom, ktorého incidencia v populácii bola v minulosti výrazne zredukovaná. V súčasnosti do tejto skupiny radíme aj mikrosporídie, ktoré sa ako oportúnne patogény najčastejšie detegujú u ľudí s primárnou alebo sekundárnou imunodeficienciou.

Materiál a metodika: Na detekciu *Encephalitozoon intestinalis* a *Enterocytozoon bieneusi* sme vyšetrili spolu 161 osôb, z ktorých bolo 91 pacientov s rôznym stupňom imunodeficiencie a 70 zdravých osôb, ktoré sa zúčastnili pravidelnej preventívnej prehliadky a neudávali žiadny z príznakov, ktorý by poukazoval na možnú infekciu vyššie uvedenými mikroorganizmami. Každému pacientovi bola komerčným testom (Bordier, Switzerland) vyšetrená stolica metódou nepriamej imunofluorescencie za použitia špecifických monoklonálnych protilátok anti-*E. bieneusi* a anti-*E. intestinalis*. Na analýzu údajov bola použitá základná deskriptívna štatistika a následne bolo prepočítané relatívne riziko výskytu medzi sledovanými skupinami.

Výsledky: Z 91 vyšetrených imunodeficientných pacientov boli na *E. intestinalis* pozitívni 30 (33%), na *E. bieneusi* 13 (14.3%). V skupine zdravých osôb bola zistená 4.3% pozitivita v prípade *E. intestinalis* a 5.7% pozitivita v prípade *E. bieneusi*. Pri porovnaní relatívneho rizika výskytu *E. intestinalis* medzi skupinami sa zistilo viac ako 7-násobne vyššie riziko v skupine imunodeficientných v porovnaní s kontrolnou skupinou (RR 7.7; 95%CI 2.44–24.17, p=0,0005). Vyššie relatívne riziko pre pacientov s imunodeficienciou bolo zistené aj v prípade infekcie *E. bieneusi*, viac ako 2.5-násobné (RR 2.5. 95%CI 0.85–7.33, p=0,095).

Záver: Aj na základe nami dosiahnutých výsledkov môžeme konštatovať, že riziko vzniku sledovaných oportúnnych infekcií je vyššie v skupine imunodeficientných pacientov v porovnaní so zdravou populáciou. Na druhej strane, imunodeficientní pacienti sú v našich podmienkach pod stálym lekárskeym dohľadom a majú neobmedzený prístup k adekvátnej terapii nielen základného ochorenia, ale i pridružených infekcií. V prípade vzniku akejkoľvek oportúnnej infekcie táto býva u nich vo väčšine prípadov zachytená a eliminovaná už v iniciálnom štádiu, preto sa s klinicky manifestnou mikrosporidiózou u nich v súčasnosti stretávame zriedkavo. Aj napriek týmto skutočnostiam, ale na výskyt oportúnnych infekcií v tejto skupine pacientov nesmieme zabúdať a v prípade akýchkoľvek i nešpecifických príznakov sa snažiť o vylúčenie alebo potvrdenie diagnózy s cieľom okamžitej terapie v prípade pozitívneho výsledku.

Práca podporená projektmi APVV-15-0134, VEGA MŠVVaŠ 1/0196/15.

P-08

Skríning anaplazmózy v rizikovej skupine populácie

Kalinová Z., Halánová M., Čisláková L., Babinská I.

Ústav epidemiológie, LF UPJŠ, Košice

Úvod: Humánna granulocytárna anaplazmóza je na základe svojho charakteru radená do skupiny novo sa objavujúcich infekčných ochorení, tzv. „emerging diseases“. Pôvodcom ochorenia je obligátne intracelulárna baktéria *Anaplasma phagocytophilum* z čeľade *Anaplasmatacea*. Replikuje sa v cytoplazmatických vakuolách granulocytov, kde vytvára mikrokolonie, takzvané moruly, ktoré sú vymedzujúcim znakom tejto skupiny baktérií. Ako hlavný vektor *A. phagocytophilum* sa v Európe uplatňuje kliešť obyčajný *Ixodes ricinus*. Symptómy ochorenia sú nešpecifické a môžu napodobňovať symptómy rôznych iných infekčných i neinfekčných ochorení.

Materiál a metodika: V rámci našej štúdie boli IgG protilátky proti *A. phagocytophilum* vyšetrené spolu u 395 osôb (174 mužov a 221 žien). U ľudí s podozrením na kliešťami prenášané ochorenie (riziková skupina) bolo analyzovaných 327 krvných sér a v kontrolnej skupine, ktorú tvorili zdravé osoby s negatívnou anamnézou týkajúcou sa kontaktu s kliešťom, 68 sér.

Na diagnostiku bol použitý komerčný test *Anaplasma phagocytophilum* IFA IgG (f. FOCUS DIAGNOSTIC INC., California, USA). Jedná sa o nepriamy imunofluorescenčný test určený na stanovenie protilátok triedy IgG proti *A. phagocytophilum* v ľudskom sére.

Na analýzu získaných údajov bola v prvom kroku použitá základná deskriptívna štatistika. V nasledujúcom kroku bolo prepočítané relatívne riziko výskytu IgG protilátok proti *A. phagocytophilum* medzi rizikovou a kontrolnou skupinou.

Výsledky: Z celkového počtu 395 krvných sér bolo 47 (11.9%) pozitívnych. Z 327 vyšetrených osôb s podozrením na kliešťami prenášané ochorenie boli IgG protilátky proti *A. phagocytophilum* detegované v 37 (11.3%) prípadoch. V kontrolnej skupine bola zistená 14.7% pozitivita (10 pozitívnych vzoriek). Vypočítané relatívne riziko výskytu IgG protilátok proti *A. phagocytophilum* v skupine osôb s podozrením na kliešťami prenášané ochorenie bolo 0.8, čo znamená, že riziko infekcie v rizikovej skupine bolo približne rovnaké v porovnaní s kontrolnou skupinou.

Záver: Nakoľko laboratórna diagnostika anaplazmózy sa v mikrobiologických laboratóriách na Slovensku nevykonáva, oficiálne údaje o chorobnosti na anaplazmózu stále chýbajú. Nami zistená 11.9% pozitivita anti-*A. phagocytophilum* protilátok v humánnej populácii svedčí o existencii rizika expozície ľudskej populácie pôvodcom anaplazmózy a preto v diferenciálnej diagnostike treba myslieť aj na diagnózu humánnej granulocytárnej anaplazmózy.

Práca riešená v rámci projektov APVV-15-0134 a VEGA MŠVVaŠ SR č. 1/0196/15.

P-09

Uzlinový syndrom u felinózy na Klinice infekčního lékařství FN Ostrava od roku 2008–2016

Hozáková L.^{1,2}, Rožnovský L.², Janout V.¹

¹Ústav epidemiologie a ochrany veřejného zdraví Ostravské univerzity, Ostrava; ²Klinika infekčního lékařství FN, Ostrava

Úvod: Felinóza neboli nemoc z kočičího škrábnutí je jednou z příčin uzlinového syndromu. Cílem práce je zhodnocení uzlinového syndromu u felinózy u pacientů ošetřených na KIL Ostrava za 9 let od roku 2008–2016.

Materiál a metodika: Na felinózu bylo pomýšleno v rámci diferenciální diagnostiky uzlinového syndromu nebo na základě histologického vyšetření uzliny s nálezem granulomatozního, granulomatózně-nekrotického nebo granulomatózně-abscedujícího zánětu. Sérologická diagnostika spočívala v průkazu protilátek proti *Bartonella henselae* (*B. henselae*) metodou nepřímé imunofluorescence. Za pozitivní byl považován titr protilátek ve třídě IgG minimálně 1:256 nebo jakékoli pozitivita IgM. Při léčbě felinózy byla sledována volba antibiotika a délka přetrvávání uzlinového syndromu.

Výsledky: Na KIL v Ostravě od 1. 1. 2008 – 31. 12. 2016 bylo ošetřeno 49 pacientů s felinózou, z toho 26 mužů a 23 žen, průměrný věk byl 26.5 roku. Kontakt s kočkou byl zjištěn u 43 pacientů (88 %), z toho poškrábání kočkou uvádělo 12 pacientů (24 %). Byl prokázán sezónní výskyt felinózy s převahou na podzim a v zimě. Horečka byla zjištěna u 19 pacientů (39 %). Vesikulo-pustulozní exantém v místě poranění kočkou byl pozorován jen u 1 pacientky. Krční uzliny byly postiženy 23x (47 %), axilární 8x (16 %), tříselné 6x (12 %), jedenkrát byla zvětšená uzlina atypicky nad levou lopatkou (2 %). V několika oblastech byly uzliny zvětšeny 11x (22 %). Postižení krčních uzlin bylo vždy oboustranné, axilární a tříselné byly zvětšeny jednostranně. Změněná barva kůže nad uzlinou byla pozorována u 5 pacientů (10 %).

Zvětšené uzliny přetrvávaly v průměru 4 měsíce (1–24 měsíců). Pozitivita protilátek ve třídě IgM byla zjištěna u 32 pacientů (65 %). IgM protilátky přetrvávaly maximálně 1 měsíc, jen u jednoho pacienta přetrvávala pozitivita IgM protilátek 7 měsíců. Protilátky třídy IgG byly v rozmezí 1:64–1:8182. Na hodnotu 1:64–1:128 klesl titr IgG protilátek v průměru za 6 měsíců (1–20 měsíců). Z diagnostických důvodů byla exstirpace provedena u 8 pacientů (16 %), z terapeutických důvodů pro abscedující lymfadenitidu u 5 pacientů (10 %). U 2 dětí došlo k regresi kolikvující uzliny bez nutnosti chirurgického zásahu. Po stanovení diagnózy felinózy byly použity makrolidy 14x a tetracykliny 8x.

Závěry: Na felinózu je nutno pomýšlet u pacientů s akutní či subakutní lymfadenitidou, zejména v krční oblasti. Diagnózu podporuje údaj o kontaktu s kočkou, přitom se nemusí jednat o poranění kočkou. Sérologicky bývá pozitivita protilátek proti *B. henselae* ve třídě IgG, pozitivita protilátek třídy IgM nemusí být vždy zachycena. Byl prokázán sezónní výskyt s častějším výskytem onemocnění na podzim a v zimě.

P-10

HANTAVIRY – podceněná nákaza?

Procházková J., Rainetová P., Vodičková I.

Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

Úvod: Hantavirové nákazy jsou sylvatické zoonózy, kde se rezervoár nachází ve volné přírodě a k vlastní nákaze dochází pobytem v přírodním ohnisku a vystavení se infekčnímu agens. V přírodě jsou z velké části adaptovány na myšovitě hlodavce, u kterých vyvolávají bezpříznakové perzistentní nákazy. Způsobují dva hlavní typy onemocnění: v Evropě a v Asii hemoragickou horečku s renálním selháním (HFRS) či její mírnější formu označovanou také jako nephropathia epidemica (NE), na americkém kontinentě pak hantavirový pulmonální syndrom (HPS). Na člověka se přenáší exkrementy – močí, slinami a stolicí. Přenos nákazy se uskutečňuje inhalací kontaminovaného prachu, pokousáním nebo přímým kontaktem s exkrementy hlodavců. Potencionální rizikové přenašeče hantavirových nákaz představuje hraboš polní, myšice lesní a křovinná, hrabošík podzemní a norník rudý. Antigeny byly prokázány také u zajíců, srnců, daňků, psů a koček, nově též u rejšků, krteků a netopýrů. Rezervoárem hantavirů jsou hlodavci čeledi *Apodemus*, *Clethrionomys* nebo *Sigmodontinae*.

Materiál a metody: V naší laboratoři vyšetřujeme hantavirové nákazy metodou ELISA a sérotypy prokazujeme metodou IMUNOBLOT. Pro vyšetření prezentované skupiny pacientů bylo použito krevní sérum, ve kterém byla metodou ELISA prokazována přítomnost specifických protilátek IgG a IgM. Vedle těchto metod se na prokázání infekce může použít metoda polymerázová řetězová reakce (PCR) spolu se sekvenací.

Výsledky: V našem souboru pacientů vyšetřovaných od roku 2012 až do května 2017 sledujeme vedle samotného průkazu pozitivitu také diagnózu a oblast, kde se pacient mohl nakazit. Od roku 2012 do května 2017 jsme z 238 vyšetřených vzorků potvrdili 59 hantavirových nákaz. U prokázaných infekcí převládají diagnózy akutního selhání ledvin (N17) nebo diagnózy spojené s netypickým onemocněním ledvin (např. R50.9, Z03.9). Diagnóza hemoragická horečka s renálním selháním (A98.5) se vyskytuje velmi sporadicky – například v roce 2013 a 2014 nebyla uvedena u žádného vyšetřovaného vzorku.

Závěr: Ze současných epidemiologických dat nelze spolehlivě určit, zda údaje uvedené ve studiích odpovídají skutečným počtům nákaz způsobených hantaviry. Z dat, která jsou publikována (jak pro Českou republiku, tak pro převážnou část evropského kontinentu) spíše vyplývá, že ne všechny hantavirové nákazy jsou zachyceny nebo ne všechna onemocnění ledvin končící renálním selháním jsou primárně spojována s hantavirovými nákazami. V současné době neexistuje účinné antivirotikum a v ČR není zatím realizována celorepubliková surveillance, nicméně je s ní počítáno v návrhu novely vyhlášky pro surveillance infekčních nemocí. Nejdůkladněji hantavirové nákazy sleduje Finsko a Německo. Česká republika patří, společně s ostatními evropskými zeměmi, do souboru zemí, které vykazují velmi nízké počty hantavirových nákaz.

P-11**Klasifikace bartonel a jejich význam v epidemiologii, patogenezi a terapii bartonelových infekcí**

Melter O.

Ústav lékařské mikrobiologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a FN v Motole, Praha

Taxonomicky bartonely patří do řádu *Rhizobiales*, který zahrnuje zejména symbiotické rostlinné bakterie. Z důvodu patogeneze, symptomatologie, diagnostiky a léčby jsou však bartonely pořád asociovány spíše s řádem *Rickettsiales*, kam historicky po desetiletí patřily. Do rodu *Bartonella* v současnosti patří 35 druhů (*B. acomydis*, *B. alsatica*, *B. ancashensis*, *B. apis*, *B. bacilliformis*, *B. birtlesii*, *B. bovis*, *B. callosciuri*, *B. capreoli*, *B. chomelii*, *B. clarridgeiae*, *B. coopersplainsensis*, *B. doshiae*, *B. elizabethae*, *B. florencae*, *B. fuyuanensis*, *B. grahamii*, *B. heixiaziensis*, *B. henselae*, *B. jaculi*, *B. japonica*, *B. koehlerae*, *B. pachyuromydis*, *B. peromysci*, *B. queenslandensis*, *B. quintana*, *B. rattaustraliani*, *B. rochalimae*, *B. schoenbuchensis*, *B. senegalensis*, *B. silvatica*, *B. talpae*, *B. taylorii*, *B. tribocorum* a *B. vinsonii*) se 4 poddruhy. Bartonely jsou pravděpodobně intracelulární bakterie s výraznou afinitou k erytrocytům – hemotropie. *B. bacilliformis* a *B. quintana*, mohou způsobit těžké infekce člověka s vysokou letalitou. Infekce *B. bacilliformis* je však pouze endemická v oblasti And v Peru. Zdrojem těchto dvou bartonelových infekcí je výhradně člověk a vektorem ektoparazitů. Kromě *B. bacilliformis* ostatní druhy bartonel nazýváme moderní bartonely a podle genomických studií se zdá, že vznikly adaptací *B. bacilliformis* na různé živočišné druhy s redukcí jejího genomu. Hostiteli těchto bartonel jsou domácí nebo divoce žijící zvířata, zejména savci, včetně drobných savců a dokonce hmyzu (*B. apis*). Bartonely notoriously porušují jeden z Kochových postulátů o tom, že krev a tkáň zdravých zvířat a člověka jsou sterilní. Například *B. henselae* je možné prokázat ve venózní krvi asymptomatických koček v počtu až $10^7/1$ ml. Infekce způsobené moderními bartonelami se přenáší ektoparazity nebo při náhodném poranění zvířetem nebo při manipulaci s nimi (např. eviscerace králíků a infekce *B. alsatica*). Moderní bartonely mohou být původci horečnatých onemocnění s pestrými klinickými symptomatologiemi včetně systémových infekcí jako je například endokarditida. Infekce jsou běžně rozšířené v Evropě i u nás a jsou poddiagnostikovány. Diagnostika je v mikrobiologických laboratořích založená zejména na průkazu specifických IgM a IgG protilátek a na specializovaném pracovišti může být doplněna přímým průkazem pomocí PCR z postižené tkáně. Bartonely jsou dobře citlivé k antibiotikům, z nichž se snad nejčastěji používají tetracykliny, makrolidy nebo fluorochinolony. Léčba by měla být dlouhodobá a u systémových infekcí doprovázena monitorováním struktury nebo funkce postižených orgánů.

P-12

Infekční endokarditida asociovaná s rakovinou tlustého střeva: 4 případy

Vaněrková M., Mališová B., Pol J., Fiedorová K., Němcová E., Černochová M., Freiburger T., Němec P.
Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie Brno, Brno

Infekční endokarditida (IE) je vzácné onemocnění, u něhož je, navzdory rozvoji antimikrobiálních strategií a chirurgických technik, morbidita a mortalita stále vysoká. Identifikace zdroje a patogenního agens, uplatňujícího se při rozvoji IE, se ukazuje být důležitým faktorem pro odhalení jiných závažných a často skrytých onemocnění pacienta. Mezi takové případy řadíme IE způsobenou *Streptococcus bovis*, jež je dávána do souvislosti s rakovinou tlustého střeva. Jsou popsány i jiné bakterie, považované za běžnou součást střevní mikroflóry, u nichž zároveň existuje podezření, že se mohou uplatňovat v počátečních stádiích rozvoje kolorektálního karcinomu a nebo narušenou sliznicí v důsledku rozvoje adenomu mohou diseminovat mimo střevo. Mezi ně výsledky studií řadí *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Bacillus fragilis*, *Shigella sp.*, *Citrobacter sp.*, *Salmonella sp.*, v pozdějších fázích rakoviny potom *Fusobacterium sp.*, *Streptococcus gallolyticus* (*S. bovis*) a *Clostridium septicum*, u něhož jsou sporadické případy IE téměř vždy navázány na střevní malignitu.

V letech 2005 až 2016 jsme v našem centru diagnostikovali 311 případů IE. V rámci tohoto souboru jsme identifikovali 4 pacienty, kteří prodělali IE v přímé souvislosti s rakovinou tlustého střeva v různé fázi rozvoje. Dva pacienti prodělali IE (*Enterococcus faecium* a *Streptococcus gordonii*) dva měsíce po chirurgickém řešení střevního nálezu. Třetí pacient prodělal IE způsobenou *Enterococcus faecalis* a do 6-ti měsíců u něj byl diagnostikován adenokarcinom tlustého střeva. U čtvrtého pacienta, zemřelého v důsledku *Streptococcus bovis* (*gallolyticus*) IE, bylo onemocnění tlustého střeva ve stadiu tubulárního adenomatózního adenomu odhaleno až při pitvě.

Identifikace agens u IE je velmi důležitá, a ne vždy snadná, hlavně z hlediska léčby akutního onemocnění, jímž IE často je. Nicméně samotný druh bakterie může odhalit jiná závažná onemocnění, která se v tu chvíli nejeví jako akutní, přestože představují pro pacienta velké nebezpečí.

P-13

Výskyt a laboratorní diagnostika rotavirových infekcí

Dvořáková Heroldová M.¹, Holá V.¹, Moutelíková R.², Prodělalová J.²

¹Mikrobiologický ústav LF MU, Brno; ²Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno

Rotaviry jsou celosvětově hlavním původcem gastroenteritid u dětí a mohou rovněž způsobovat průjemová onemocnění u starších lidí. Rotavirová infekce má rozmanitý průběh od asymptomatického až po fatální. Hlavní příčinou úmrtí bývá závažná dehydratace bez včasného lékařského zásahu. K úmrtí dochází zejména v rozvojových zemích. V ČR jsou fatální případy pouze ojedinělé.

Za zlatý standard laboratorní diagnostiky se považuje elektronová mikroskopie, která však není vhodná pro rutinní laboratorní diagnostiku. V běžné klinické praxi se nejčastěji pro diagnostiku rotavirové infekce používá průkaz rotavirového antigenu ve stolici imunochromatograficky nebo EIA metodami.

V naší studii jsme od dubna 2016 do ledna 2017 vyšetřili 311 vzorků stolice. Všechny vzorky byly vyšetřeny na přítomnost rotavirového antigenu jak metodou EIA (Ridascreen rotavirus, R-biopharm AG, Německo), tak i imunochromatografickým testem (Immunoquick rotavirus, Biosynex S. A, Francie).

Pět vzorků s hraničním výsledkem bylo ze statistického hodnocení vyloučeno. Pro epidemiologické zhodnocení dat byly za pozitivní považovány vzorky pozitivní alespoň v jednom z testů.

Pozitivních bylo celkem 38 vzorků z 306. Z 38 vzorků bylo 29 pozitivních oběma testy, osm pouze imunochromatograficky a jeden pouze v reakci EIA. Výsledky vyšetření získané metodou EIA a imunochromatografickým testem se shodovaly v 97 %. Chí testem nebyl na 5% hladině významnosti nalezen rozdíl mezi oběma metodami ($X_1^2 = 2,365$).

Nejvíce vyšetřených vzorků (107) bylo od dětských pacientů do 3 let. V kategorii 4–6 let bylo vyšetřeno 30 vzorků, v kategorii 7–10 let 5 vzorků, 11–18 let 5 vzorků a od pacientů starších 19 let 159 vzorků. Ve věkové kategorii do 3 let bylo také nejvíce pozitivní vzorků 30 (28 %), následovala věková kategorie 4–6 let s 5 pozitivními vzorky (17 %). Po jednom pozitivním vzorku bylo zjištěno i v kategorii 7–10 a 11–18 let. U pacientů starších 19 let byl zachycen 1 pozitivní vzorek.

Námi provedené porovnání obou nejběžnějších metod používaných v rutinní laboratorní diagnostice rotavirů naznačuje, že oba testy jsou rovnocenné.

Výsledky potvrzují, že nejvíce onemocnění probíhá u dětí ve věku 0–3 rok.

Studie byla podporována grantem AZV MZČR 16-29937A

P-14

Detekce klíšťaty přenášených patogenů v klíšťatech *Ixodes ricinus* z pražských parků a lesoparků

Kybicová K., Balátová P., Berenová D., Lukavská A., Navrátil J.

Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

Nejdůležitějším vektorem *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia* spp. a *Babesia* spp. je klíště obecné *Ixodes ricinus* vyskytující se nejčastěji na okrajích smíšených a opadavých lesů a v blízkosti vodních ploch a potoků. V posledních letech bylo zaznamenáno velké množství klíšťat i v zelených zónách velkých evropských měst. Cílem naší studie bylo zjištění promořenosti klíšťat infekčními agens v pražských městských parcích a lesoparcích.

Zaměřili jsme se na čtyři odlišné městské parky (Satalická obora, Klánovický les, Kunratický les a Prokopské údolí) se smíšenými a opadavými lesy, potoky, rybníky a mokřady. V těchto parcích se volně vyskytuje mnoho drobných i velkých savců a ptactvo, kteří jsou rezervoárovými hostiteli klíšťaty přenášených patogenů. Tyto parky jsou denně navštěvovány velkým množstvím lidí, kteří tu tráví volný čas a venčí svá domácí zvířata. Klíšťata byla sbírána metodou vlajkování na jaře 2014 a 2015. Byl určen druh klíšete a vývojové stádium a klíšťata byla skladována individuálně při -20°C. Po izolaci DNA byly všechny vzorky testovány pomocí cPCR, nested PCR nebo real-time PCR na přítomnost DNA infekčních agens. Všechny pozitivní vzorky byly následně sekvenovány.

Celkem bylo testováno 675 klíšťat (128 samic, 160 samců, 387 nymf). Dvě stě dvacet jedna klíšťat (32.7 %) bylo pozitivních na *B. burgdorferi* s.l., nejvíce infikováni byli samci (33.8 %) a nymfy (34.9 %). Nejčastějším genodruhem byla zjištěna *B. garinii* (49.8%). V klíšťatech jsme také detekovali *B. afzelii* (26.2 %), *B. bavariensis* (7.2 %), *B. burgdorferi* s.s. (3.6 %), *B. spielmanii* (0.5 %). Čtyřicet sedm klíšťat (7%) bylo infikováno *A. phagocytophilum*, nejčastěji byli pozitivní samci (13.8 %). Dvacet klíšťat (3 %) bylo pozitivních na *Rickettsia* spp., a nejčastěji byli pozitivní také samci (4.4 %). Čtrnáct klíšťat (2.1 %) bylo infikováno *Babesia* spp. Zjistili jsme, že celkově bylo 39.6 % klíšťat infikováno alespoň jedním patogenem. Dvacet šest klíšťat (3.9%) bylo infikováno dvěma patogeny.

Tyto výsledky ukazují, že výskyt *Borrelia* a *Anaplasma* v klíšťatech v městských parcích je vyšší než v jiných evropských městech. Monitoring klíšťaty přenášených onemocnění je velmi důležitý z hlediska veřejného zdraví, a to zvláště v městských a příměstských zónách, kde hrozí vyšší riziko nákazy pro člověka i jeho domácí zvířata než mohlo být z dřívějších studií patrné.

Podpořeno MZ ČR – RVO („Státní zdravotní ústav – SZU, 75010330“).

Infekce spojené se zdravotní péčí a možnosti jejich prevence

P-15

Analýza hlášených profesionálních poranění ostrými předměty v zařízeních zdravotní a sociální péče v Jihomoravském kraji za období 2014–2016

Juráš P., Eclerová P.

Protiepidemické oddělení, Krajská hygienická stanice Jihomoravského kraje se sídlem v Brně, Brno

Úvod: Poranění ostrými předměty patří mezi nejčastější pracovní úrazy ve zdravotnických zařízeních a sociálních službách. Dochází k nim i přesto, že jsou známy příčiny a důvody jejich vzniku a jsou k dispozici vhodné ochranné pracovní pomůcky. Nejčastějším důvodem je selhání lidského faktoru. Prezentace analyzuje profesionální poranění ostrými předměty a nástroji, které byly hlášeny v Jihomoravském kraji v letech 2014–2016.

Materiál a metodika: K získání dat byla retrospektivně použita sumace rutinních hlášení poranění za sledované období 2014–2016. Hlášení byla podána orgánu ochrany veřejného zdraví poskytovateli zdravotní péče dle platných právních předpisů, zejména směrnice Rady 2010/32 EU a její implementace do české národní legislativy.

Povinnost hlásit vznik poranění ostrým kontaminovaným předmětem nebo nástrojem v zařízeních poskytovatele zdravotních služeb a sociálních služeb vyplývá ze znění § 75 b) zákona č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví v platném znění. Toto ustanovení mimo jiné *ukládá poskytovateli zdravotních služeb povinnost bezodkladně oznámit příslušnému orgánu ochrany veřejného zdraví každé poranění zdravotnického nebo jiného odborného pracovníka, které vzniklo při manipulaci s ostrým kontaminovaným předmětem nebo nástrojem použitým k provádění zdravotních výkonů během poskytování zdravotní péče, v jehož důsledku by mohlo dojít ke vzniku infekčního onemocnění přenosného krví.*

Poskytovatelé zdravotních služeb, především praktičtí lékaři pro dospělé a závodní lékaři, hlásí profesionální poranění pracovníků na formuláři „Hlášení poranění ostrým kontaminovaným předmětem nebo nástrojem“ obsahujícím všechny potřebné informace vycházející z Vyhlášky č. 473/2008 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce v platném znění, příloha č. 8 – systém epidemiologické bdělosti nákaz vyvolaných virem lidského imunodeficitu (HIV/AIDS), příloha č. 18 – systém epidemiologické bdělosti akutní VHB, příloha č. 19 – systém epidemiologické bdělosti VHC. Předpokladem je, že poskytovatel zdravotních služeb provede laboratorní diagnostiku.

Výsledky a závěry: Shromážděná data byla analyzována dle epidemiologických charakteristik – pohlaví, věková distribuce, typ zařízení, kde došlo k poranění, pracovní zařazení a činnost, při níž poranění vzniklo. Navzdory edukaci a proškolení zdravotnických pracovníků nedochází k poklesu počtu případů poranění, proto považujeme za nezbytné na tuto problematiku znovu upozornit, vzhledem k rizikům přenosu infekcí a jejich dopadům na lidské zdraví.

P-16

Výskyt typově specifických protilátek proti polyomaviru BK u příjemců transplantátu ledviny a běžné populace

Roubalová K.¹, Forejtová A.¹, Žáčková J.², Španielová H.², Sekavová A.², Forstová J.²

¹Vidia s.r.o., Vestec; ²Přírodovědecká fakulta UK, Praha

Úvod: Polyomavirus BK (BKV) je ubikvitně rozšířený lidský virus, který u cca 80 % dospělé populace vyvolává dlouhotrvající perzistentní infekci v epiteliálních buňkách urogenitálního traktu, spojenou s občasným bezpříznakovým vylučováním viru v moči. Jsou známy 4 sérotypy BKV. U 1–10 % příjemců transplantátu (Tx) ledviny je BKV původcem polyomavirové nefropatie (PVaN), u 10–15 % příjemců transplantátu hematopoetických kmenových buněk vyvolává hemoragickou cystitidu. Riziko rozvoje komplikací BKV infekce u imunodeficientních pacientů může záviset na sérostatusu donora a recipienta transplantátu, nebo na hladině specifické imunity před imunosupresí.

Metodika: Pro průkaz BKV- specifických protilátek byl vyvinut ELISA test s rekombinantním antigenem ve formě subvirových částic (VLP), odvozených od dvou dominantních sérotypů BKV-I a BKV-IV (ELISA-VIDITEST anti- BKV IgG). IgG protilátky proti polyomaviru JC (JCV) byly stanoveny pomocí ELISA-VIDITEST anti JCV IgG, Vidia). Aktivní infekce BKV byla u pacientů sledována 3. měsíc po Tx pomocí průkazu BKV DNA v moči a krvi metodou Q-PCR. Pro genotypizaci byla použita amplifikace variabilní části VP1 BKV pomocí nested PCR a RFLP analýza po štěpení restrikčními endonukleázami Alu I, Xmn I a Ava II.

Výsledky: Citlivost a specifita testu byla ověřena na souborech sér od zdravých dárců krve, příjemců Tx ledviny a dětí ve stáří 1 roku. Zjištěné séroprevalence BKV byly 85, 80 a 5 %. 28 % dárců krve i příjemců transplantátu mělo protilátky pouze proti BKV-I. Protilátky pouze proti BKV-IV mělo 10 % dárců krve a 20 % příjemců Tx ledviny. U 10 % příjemců Tx ledviny byl prokázán polyomavirus BKV v krvi nebo v moči. U 4 z nich byl určen genotyp BKV-I, u 3 genotyp BKV-4, u 1 genotyp BKV-2 a u 1 smíšená infekce více genotypy. Všichni pacienti s prokázanou aktivní infekcí měli protilátky proti BKV. Schopnost testu rozlišovat druhově specifické protilátky proti BKV byla ověřena na souboru sér od příjemců Tx ledviny: 16 pacientů s protilátkami proti BKV bylo negativních na IgG protilátky proti JCV a 6 BKV-negativních pacientů mělo naopak protilátky proti JCV.

Závěr: ELISA-VIDITEST anti BKV IgG je nová diagnostická souprava, vhodná pro laboratorní diagnostiku BKV. Má dostatečnou citlivost i specifitu a nezachycuje protilátky proti JCV.

Tato práce je součástí projektu TAČR TH-0101548.

P-17

Rekonstituce buněčné imunity proti CMV u příjemců transplantátu ledviny

Roubalová K.¹, Forejtová A.¹, Jinoch P.², Parolová L.³, Hubáček P.⁴, Lužová H.⁵, Kolářová M.⁵, Viklický O.⁵

¹Vidia s.r.o.; ²Exbio s.r.o.; ³MBÚ ČAV, Praha; ⁴Virologie FN Motol, Praha; ⁵Klinika nefrologie IKEM, Praha

Lidský cytomegalovirus (CMV) je závažným oportunním patogenem u transplantovaných pacientů. CMV- specifická buněčná imunita (BI) má klíčový význam pro kontrolu infekce. Vyšetřování CMV-specifické BI je důležité pro prognózu infekce a pro odhad rizika cytomegalovirové nemoci. V rámci projektu TAČR (TA-03010331) byl ve Vidia vyvinut soubor přípravků pro laboratorní diagnostiku CMV-specifické BI. Jejich účinnost byla ověřena v prospektivní studii rekonstituce CMV-specifické BI u 58 příjemců transplantátu (Tx) ledviny. Pacienti byli sledováni v měsíčních intervalech 6 měsíců po Tx. Pro testování byly použity zamrazené leukocyty, izolované z nesrážlivé krve, které byly následně stimulovány specifickým antigenem (CMV-BI combi r.t.u., Vidia) in vitro a v kultivačním mediu byly měřeny koncentrace IFN γ v ELISA (ELISA-VIDITEST IFN γ , Vidia). Jako negativní kontrola byl použit kontrolní antigen (CONTROL-BI r.t.u., Vidia), připravený z neinfikovaných lidských buněk. Jako pozitivní kontrola byl použit PHA. Všechny odběry od pacienta byly vyšetřeny v jednom testu. Aktivní infekce CMV byla sledována pomocí průkazu hladiny CMV DNA v krvi nebo izolovaných leukocytech Q-PCR. V souboru bylo identifikováno 19 pacientů (33%) s reaktivací CMV, prokázanou pomocí PCR. U 5ti pacientů se rozvinula symptomatická infekce (horečky, kolitida). Ve dvou případech se jednalo o pozdní infekci CMV u D+R- příjemců, kteří byli během prvních 6ti měsíců po Tx na profylaxi valgancyklovirem. U dalších dvou nemocných se jednalo o exacerbaci infekce po rejekci štěpu, léčenou vysokými dávkami kortikoidů. Pacienti s vysokou náloží CMV v krvi (≥ 2500 kopií/ml), kteří byli následně léčeni gancyklovirem, měli před aktivací CMV minimální nebo nulové hladiny CMV-specifické BI. Pacienti s prokazatelnou CMV-specifickou BI v prvních dvou měsících po Tx prodělali kontrolovanou infekci s nízkou náloží CMV v krvi. Výjimkou byli pacienti, léčení vysokými dávkami kortikoidů. Aktivní infekci většinou provázela přechodný pokles a následný vzestup hladiny CMV- specifické BI. Krátkodobá profylaxe VGCV neměla na CMV-specifickou BI významný vliv.

Závěr: Sledování CMV- specifické BI je vhodným nástrojem pro predikci průběhu infekce u transplantovaných pacientů. Specifický a kontrolní antigen (CMV-BI r.t.u. a CONTROL-BI r.t.u., Vidia) a detekční ELISA pro průkaz IFN γ v kultivačním mediu ze stimulovaných leukocytů (ELISA-VIDITEST IFN γ , Vidia) jsou vhodné pro laboratorní diagnostiku BI proti CMV.

Práce bylo sponzorována TAČR v rámci projektu TA-03010331.

P-18

Detekce a charakterizace bakterií produkujících beta-laktamázy izolovaných od pacientů s leukémií

VIČKOVÁ J., HOLÝ O.

Ústav preventivního lékařství, LF UP v Olomouci

Úvod: V srpnu 2015 byla zahájena studie na téma onkologicky nemocných pacientů zaměřená mimo jiné i na pacienty s leukémií, ve které jsme sledovali charakterizace bakterií produkujících beta-laktamázy. Práce byla ukončena v září 2016. Cílem této studie bylo provést aktivní sledování rezistence vůči antibiotikům u enterobakterií izolovaných od pacientů s akutní leukémií.

Metodika: Od září 2015 do srpna 2016 bylo celkem získáno 101 klinických izolátů od 95 pacientů. Z nich celkem 26 nemocných trpělo akutní lymfoblastickou leukémií a 69 pacientů akutní myeloidní leukémií. Bakteriální izoláty byly identifikovány za použití MALDI-TOF MS. Tato metoda byla také použita pro typizaci kmenů. Citlivost na antibiotika byla stanovena standardní mikrodiluční metodou. Všechny 101 izoláty enterobakterií bylo testováno na beta-laktamázy geny (blaTEM, blaSHV a blaCTX-M) metodou PCR.

Výsledky: Celkem bylo získáno 101 klinických kmenů od 95 pacientů. Nejčastěji bylo provedeno kultivační vyšetření krku (n = 35), stolice (n = 29) a moči (n = 18). Nejčastěji byla přítomna *K. pneumoniae* (n = 31) a *K. oxytoca* (n = 10), následně *E. coli* (n = 22). Byla pozorována také vysoká klonalita mezi kmeny. Geny kódující produkci typů beta-laktamáz TEM, SHV a CTX-M byly detekovány ve 40 (39,6%), 33 (32,7%) a 29 (28,7%) izolátech. Jedenáct kmenů *K. pneumoniae* a 1 kmen *Enterobacter cloacae* obsahovalo všechny tři geny.

Závěr: Dlouhodobě hospitalizovaní pacienti a pacienti s imunosupresí, ke kterým řadíme nemocné s leukémií, jsou velmi vnímaví k nozokomiálním nákazám. Vzhledem k vysoké imunosupresi je aktivní sledování naprosto zásadní, a to z důvodu infekčních komplikací a také z důvodu stoupající rezistence vůči antibiotikům, což je vážný a narůstající problém zejména u čeledi *Enterobacteriaceae*.

Studie byla podpořena "Research Support Foundation Vaduz – Comprehensive Study at the Issue of Oncological Diseases"

P-19

Výskyt protilátek proti čtyřem vybraným patogenním mikroorganismům u volně žijících malých savců (výsledky z r. 2015)

Švejsová B.¹, Marková J.³, Žáková A.¹, Nejezchlebová H.¹, Janeček J.¹, Nádeníčková N.¹, Valtrová M.¹, Satková M.¹, Cvrček A.², Tremel F.⁴

¹Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Brno; ²Ústav experimentální biologie, Recetox, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Brno; ³Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat, FVHE VFU, Brno; ⁴Ústav infekčních chorob a epizootologie, FVL VFU, Brno

Úvod: Zoonotické infekce přenášené klíšťaty se se zvyšující aktivitou klíšťat stávají aktuálnějším problémem. Populace malých volně žijících savců je významným rezervoárem zoonotických patogenů. Cílem naší dlouhodobé studie je monitoring (od roku 2010) výskytu vybraných patogenů u volně žijících hlodavců a hmyzožravců na několika lokalitách v České republice.

V tomto příspěvku jsou prezentovány výsledky získané vyšetřením hlodavců a hmyzožravců odchycených v roce 2015 na dvou lokalitách České republiky (Moravský kras a Poodří). Z odchycených jedinců (n = 164) byly na obou lokalitách zastoupeny následující druhy: myšice lesní (*Apodemus flavicollis*), myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus*), norník rudý (*Clethrionomys glareolus*) a rejsek obecný (*Sorex araneus*). V Poodří byl navíc odchycena myšice temnopásá (*Apodemus agrarius*).

Metodika: Získaná krevní séra a výplachy srdcí byly analyzovány pomocí imunoenzymové metody (ELISA) na přítomnost specifických protilátek proti patogenům *Coxiella burnetii* a *Francisella tularensis*. Protilátky proti *Leptospira interrogans* s. l. byly zjišťovány v otisku srdce metodou modifikovaného aglutinačního testu (MAT).

Výsledky: Protilátky (pozitivní – pozitivní s hraničními dohromady) proti *C. burnetii* byly zjištěny v krevních sérech (11–16 %) i ve vzorcích z výplachů srdce (3–6 %) a to u *C. glareolus* (8x), *A. sylvaticus* (2x), *A. flavicollis* (2x) a *A. agrarius* (1x). Protilátky proti *F. tularensis* byly přítomny v krevních sérech (5–12 %) a ve výplachu srdce (0–6 %) a to u *C. glareolus* (6x), *A. flavicollis* (3x), *A. sylvaticus* (1x) a *A. agrarius* (1x). Protilátky proti *L. grippityphosa* byly přítomny u 1,8 % jedinců (2x *A. flavicollis* a 1x *S. araneus*) a protilátky proti *L. pomona* u 0,6 % jedinců (1x *A. agrarius*).

Závěr: Oproti předchozím rokům nedošlo k výrazným změnám v prevalenci, došlo pouze k mírnému poklesu v počtech jedinců nakažených leptospirami a u obou, jak u *C. burnetii*, tak u *F. tularensis* došlo k mírnému nárůstu.

P-20

Vrozená CMV infekce – podceňovaný velký problém

Hubáček P.^{1,2}, Schiplock A.³, Chramostová P.¹, Šumová J.¹, Briksí A.¹, Černý M.³, Zajac M.¹

¹Ústav lékařské mikrobiologie, 2. Lékařská fakulta UK a FN Motol, Praha; ²Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. Lékařská fakulta UK a FN Motol, Praha; ³Novorozenecké oddělení, Gynekologicko-porodnická klinika, 2. Lékařská fakulta UK a FN Motol, Praha

Infekce lidským cytomegalovirem (CMV) je nejčastější vrozenou infekční komplikací. Její výskyt se udává v evropských zemích mezi 0,5–1 % živě narozených dětí. Děti s typickými příznaky vrozené CMV infekce (cCMV) však tvoří pouze 10 % z těchto dětí a většina proto zcela unikne jak vlastní diagnóze, tak případné prevenci pozdních následků této infekce. Většina dětí s cCMV se tak narodí donošená a pozdní následky, zejména spojené s jedno- či oboustrannou senzoneurální hluchotou se projeví až v pozdějším věku – udává se až do pěti let věku. Následné genetické testování příčin postižení sluchu pak vychází zpravidla negativní. CMV asociovaná senzoneurální hluchota je pak udávána jako příčina až 30 % všech závažných problémů se sluchem v dětském věku. Naším cílem bylo alespoň v malé studii ověřit výskyt cCMV v ČR.

V průběhu července 2014 jsme testovali přítomnost CMV DNA pomocí real-time PCR ve vzorcích moči získaných z jednorázových plen od 156 dětí (81 dívek a 75 chlapců) narozených ve FN Motol s mediánem 4 dní věku při testování (rozptyl 2–14 dní). Izolace nukleové kyseliny byla provedena pomocí MoBio UltraClean® BloodSpin® DNA Isolation Kit po centrifugaci přibližně 1 cm³ jednorázové plenky.

cCMV jsme detekovali díky přítomnosti CMV v moči a následně v plné periferní krvi u jedné asymptomatické dívky narozené v termínu. Skriningový test potvrdil v moči ($2,2 \times 10^6$ /ml) a následně 110 CMV /100 000 g.e. v plné periferní krvi ($1,05 \times 10^4$ /ml). To představuje prevalence 0,64% cCMV obdobně jako se uvádí v jiných evropských zemích.

S vědomím výrazného limitu naší studie spojeného s malým počtem testovaných dětí, nevíme o dostatečně velké studii v ČR, která by výskyt cCMV popsala tak, jako je tomu v jiných zemích. Na základě výskytu by šly následně kalkulovat náklady a ušetření, které by vyplývalo ze zavedení celopopulačního novorozeneckého skríningu tak, jak se zavádí v některých západních zemích, či některých částech USA.

Podpořeno projektem RVO MZ ČR 00064203.

Antiinfektiva a rezistence

P-21

Rezistence kryptických druhů aspergilů k systémovým antimykotikům: testování citlivosti zástupců z komplexu *Aspergillus viridinutans* (sekce *Fumigati*) metodikou EUCAST a kolorimetrickým testem Sensititre YeastOne

Lyskova P.^{1,2}, Hubka V.^{3,4}, Svobodova L.², Barrs V.⁵, Yaguchi T.⁶, Matsuzawa T.⁷, Horie Y.⁶, Kolařík M.^{3,4}, Dudova Z.³, Dobiáš R.^{2,8}, Hamal P.²

¹Laboratoř mykologie, Odd. parazitologie, mykologie a mykobakteriologie Praha, Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem; ²Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého Olomouc; ³Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy; ⁴Laboratoř genetiky a metabolismu hub, Mikrobiologický ústav AV ČR; ⁵Faculty of Veterinary Science, University of Sydney, Camperdown, NSW, Australia; ⁶Medical Mycology Research Center, Chiba University, 1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba 260-8673, Japan; ⁷University of Nagasaki, 1-1-1 Manabino, Nagayo-cho, Nishi-Sonogi-gun, Nagasaki 851-2195, Japan; ⁸Laboratoř lékařské mykologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

Úvod: Invazivní aspergilóza (IA) je jednou z nejčastějších infekcí vyvolaných oportunními vláknitými houbami s vysokou mortalitou zejména u imunokompromitovaných pacientů. Hlavním etiologickým agens IA je *Aspergillus fumigatus*, avšak i jiné druhy patřící do sekce *Fumigati* (tzv. kryptické druhy) mohou příležitostně vyvolávat IA. Tyto druhy jsou morfologicky velmi podobné a proto je obvykle nelze odlišit konvenčními identifikačními postupy. Tyto „*A. fumigatus*-příbuzné“ druhy často vykazují určitý stupeň přirozené rezistence k azolům anebo jiným antimykotikům. *Aspergillus viridinutans* species komplex (AVSC) zahrnuje morfologicky podobné půdní druhy, které jsou v posledních letech se vzrůstající frekvencí publikovány v literatuře jako původci oportunních infekcí člověka a zvířat. Ve srovnání s druhem *A. fumigatus*, u druhů z AVSC byla zjištěna rezistence k širšímu spektru antifungálních látek.

Materiál a metodika: Cílem této studie bylo *in vitro* stanovit antifungální citlivost 90 izolátů z AVSC (27 *A. felis*, 17 *A. udagawae*, 15 *A. wyomingensis*, 13 *A. arcoverdensis*, 7 *A. pseudoviridinutans*, 5 *Aspergillus* sp., tři *A. aureolus*, dva *A. siamensis*, a jeden *A. viridinutans*) k sedmi antimykotikům (vorikonazol, itrakonazol, posakonazol, amfotericin B, anidulafungin, mikafungin a kaspofungin). Izoláty pocházely z humánního a zvířecího klinického materiálu, a zároveň byly izolovány i z různých celosvětových environmentálních zdrojů. Identifikace byla ověřena sekvenací DNA, genu pro calmodulin. Výsledky MIC popř. MEC (minimálních inhibičních/efektivních koncentrací) byly získány referenční metodikou EUCAST-AFST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Antifungal Susceptibility Testing). Výsledky MIC byly srovnány s široce užívaných panelem Sensititre YeastOne pro zjištění míry shody a vhodnosti tohoto testu pro testování kryptických druhů *A. fumigatus*.

Výsledky a závěry: Většina testovaných kmenů měla zvýšené MIC k vorikonazolu a itrakonazolu, citlivost k amfotericinu B byla variabilní. Hodnoty MIC k posakonazolu a MEC k echinokandinům byly většinou nízké. Shoda mezi YeastOne panelem a referenční metodou byla relativně dobrá po 72 hodinách pro vorikonazol, posakonazol a amfotericin B (93.3, 87.8 and 91.1%), zatímco shoda pro itrakonazol byla u většiny druhů nízká. YeastOne panel dával pro itrakonazol vysoké procento falešně citlivých výsledků, zejména pokud se metoda odečítala po 48 hodinách. Zdá se, že u většiny zástupců AVSC metoda YeastOne není vhodná pro detekci rezistence k itrakonazolu.

Tato práce byla podpořena z grantu IGA_LF_2017_031.

P-22

Sledování rezistence chřipkových virů na oseltamivir

Nováková L., Jiřincová H., Havlíčková M.

Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

Úvod: Neuraminidáza (NA) a hemaglutinin (HA) jsou základní membránové glykoproteiny chřipkového viru. Jsou velmi proměnlivé a podmiňují rozlišování antigenních subtypů. Doposud bylo identifikováno 18 různých typů hemaglutininu (H1 až H18) a 11 typů neuraminidázy (N1 až N11). Při léčbě chřipky se využívají antivirové preparáty, které můžeme rozdělit do dvou stěžejních skupin. První skupina antivirotik (Adamantany-inhibitory M2 proteinu) se již nevyužívá, neboť viry chřipky typu A si již vyvinuly téměř 100% rezistenci a na viry typu B tato skupina nepůsobí. Byla nahrazena tzv. inhibitory neuraminidázy (oseltamivir, zanamivir, peramivir a lanimivir) působícími na oba typy A i B. V současné době se vyvíjejí nové preparáty, např. inhibitory RNA-dependentní RNA polymerázy (favipiravir), které mají teprve experimentální využití. Masivnější používání inhibitorů neuraminidázy s sebou přineslo nutnost průběžného monitoringu případné rezistence, podobně jako je tomu v problematice antibiotické. K dispozici sledování rezistence máme dva postupy: sekvenace neuraminidázových a hemaglutinačních genů (genotypové testování) a měření enzymatické aktivity neuraminidázy (fenotypové testování – MUNANA a NA-STAR). Výhodné je vždy postupovat od fenotypového testování ke genotypovému. Naznačení rezistence pomocí fenotypového přístupu může upozornit i na mutace, které dosud neznáme.

Materiál a metodika: Izoláty virů chřipky typu A i B byly postupně získány množením v MDCK SIAT-1 buňkách v průběhu sezón 2013/2014, 2014/2015, 2015/2016 a 2016/2017. Pro testování jsou vhodné izoláty s hemaglutinačně inhibičním titrem minimálně 1:8. Rezistence byla vyšetřována pomocí kitu NA-Star Influenza Neuraminidase Inhibitor Resistance Detection Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA) a výsledky zpracovány softwarem volně dostupným na internetu. Pozitivní záchyty byly potvrzeny sekvenací.

Výsledky: K 31.5. 2017 jsme celkem vyšetřili 273 materiálů, a to jak od nemocničních pacientů, tak i ambulantních. Ve čtyřech případech se nám podařilo zachytit rezistentní kmen. Jednalo se o subtyp A/H1N1 (mutační gen H275Y). Dále jsme zachytili jeden částečně rezistentní kmen a v letošní sezóně máme záchyt dvou kmenů, subtypu A/H3N2, u kterých je podezření na částečnou rezistenci.

Závěr: Sledování rezistentních kmenů pomáhá kontrolovat účelnou indikaci preparátu. V současné době se stává neoddelitelnou součástí virologické surveillance chřipkového viru. Kontrola rezistence u hospitalizovaných, často imunokompromitovaných pacientů, u nichž se může při léčbě rezistence snadno vyvinout, má význam jak pro sledování léčby samotné, tak i pro monitoring nemocničních infekcí. Oproti tomu, sledování rezistence u ambulantních pacientů s nekomplikovaným průběhem infekce je zcela zásadní pro zhodnocení citlivosti běžně cirkulujících kmenů.

P-23

Štúdium virulenčných faktorov CoNS izolovaných z bazénových vôd

Čuvalová Z.¹, Mojžišová A.¹, Kantíková M.¹, Čuvalová A.²

¹Štátny veterinárny a potravinový ústav. Veterinárny a potravinový ústav v Dolnom Kubíne, Dolný Kubín; ²Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, SAV v Košiciach, Košice

Úvod: Trend výskytu meticilín rezistentných stafylokokov v enviromentálnom prostredí má v poslednom období stúpajúcu tendenciu. Podľa Vyhlášky MZ SR č. 308/2012 o kritériách na kvalitu bazénovej vody, *Staphylococcus aureus* nesmie byť prítomný v bazénovej vode. Okrem *S. aureus* majú však v humánnej medicíne klinický význam aj koaguláza negatívne stafylokoky (CoNS). Preto sa predložená štúdia zamerala na detekciu a identifikáciu týchto baktérií v prostredí bazénových vôd.

Materiál a metodika: Zbierku tvorilo 51 izolátov CoNS získaných zo vzoriek bazénovej vody doručených do laboratória VPÚ v Dolnom Kubíne v rámci pravidelných odberov. Vzorky vody boli následne spracované podľa platnej legislatívy ISO 8199. Pozitívne izoláty boli zaradené do jednotlivých druhov prostredníctvom identifikačnej súpravy STAPHY-test 24 a Maldi BioTyper™. Druh *S. epidermidis* identifikovaný pomocou druhovo špecifickej PCR. Na detekciu génu *meaA*, kódujúceho rezistenciu voči meticilínu sa použila klasická PCR podľa Poulsena a kol. (2003). Mikrobiálny profil sa stanovil pomocou mikrotitračných platničiek Sensitrek.

Výsledky: Izoláty CoNS z bazénovej vody boli spolu zaradené do 11 druhov (18 izolátov *S. haemolyticus*, 8x *S. warneri*, 5x *S. capitis* ssp. *urealyticus*, 4x *S. saprophyticus* ssp. *saprophyticus* a *S. xylosus*, 3x *S. caprae*, *S. simulans* a *S. epidermidis*, 1x *S. cohnii* ssp. *cohnii*, *S. hominis* ssp. *hominis*, *S. pasteurii*). Prítomnosť génu *meaA* sa potvrdila u 4 izolátov (3x *S. haemolyticus*, 1x *S. simulans*). Vyhodnotením kvantitatívnej metódy stanovenia citlivosti u všetkých štyroch testovaných meticilín-rezistentných izolátov CoNS z bazénovej vody sa potvrdila multirezistencia. Tri izoláty *S. haemolyticus* boli rezistentné až voči 8 skupinám antimikrobiálnych látok (β-laktámy, aminoglykozidy, makrolidy, linkozamíny, chinolóny, sulfónamidy, diaminopyrimidíny a ansamycíny). Jeden izolát *S. simulans* vykazoval rezistenciu voči štyrom skupinám antimikrobiálnych látok (β-laktámy, aminoglykozidy, makrolidy a diaminopyrimidíny). Naopak, všetky MRS izolované z bazénovej vody boli citlivé voči vankomycínu, tetracyklínu, quinupristín-dalfopristínu, linezolidu, mupirocínu chloramfenikolu a kyseline fusidovej. Z pohľadu ďalších virulenčných faktorov bola potvrdená produkcia želatinázy (16 izolátov), lecitinázy (18x), a povrchová hydrofobicita stafylokokov (20x). Žiadny z testovaných izolátov netvoril virulenčný faktor plazmokoagulázu ani hyaluronidázu.

Záver: Bazénová voda kontaminovaná baktériami – koaguláza negatívnymi stafylokokmi môže pre imunosuprimovaného človeka predstavovať riziko rôznych infekčných ochorení. Autor De Araujo a kol. (1990) zhodnotili riziko stafylokokových infekcií v rekreačných vodách s vysokou hustotou kúpajúcich sa, ako porovnateľné s rizikom gastrointestinálnych ochorení spojené s kúpaním sa vo vodách s možnou fekálnou kontamináciou. Zároveň z pohľadu mikrobiálnej rezistencie sa môže stať rezervoárom rezistentných génov a v kombinácii s ďalšími virulenčnými faktormi môže byť jednou z príčin zlyhania terapeutického liečby.

P-24

Výskyt kmenů enterobakterií s produkcí karbapenemáz ve FN Olomouc v roce 2016

Vágnerová I., Röderová M.

Ústav mikrobiologie LF UP a FN Olomouc

Úvod: Enterobakterie s produkcí širokospektrých betalaktamáz (ESBL, AmpC) představují velký terapeutický problém. Jako rezervní antimikrobiální přípravky k léčbě infekcí vyvolaných těmito kmeny je nutno použít karbapenemy, tigecyklin, amikacin, případně colimycin. V poslední době jsou izolovány kmeny s rezistencí i ke karbapenemům, která se může projevit u enterobakterií produkujících širokospektré betalaktamázy (ESBL, AmpC) v kombinaci se ztrátou porinů. Epidemiologicky nebezpečné jsou však kmeny s produkcí karbapenemáz, hydrolyzujících betalaktamová antibiotika. Geny odpovědné za tvorbu těchto enzymů jsou většinou na plazmidech, jsou transferabilní, a tak může docházet k rychlému horizontálnímu, příp. i klonálnímu šíření rezistentních kmenů. Karbapenemázy se dělí do 3 tříd: třída A – serinové karbapenemázy KPC, inhibované kyselinou boritou, třída B – metalobetalaktamázy MBL (VIM, IMP, NDM aj.), jejichž inhibitorem je EDTA, a třída D (OXA-23, OXA-48 aj.).

Materiál a metodika:

Kmeny enterobakterií byly izolovány z různých biologických materiálů pacientů FNOL běžnými kultivačními technikami na krevním a MacConkey agaru. Stolicí nemocných Hematoonkologické kliniky (HOK) byly v rámci pravidelného bakteriologického monitoringu očkované také na chromogenní vyhledávací půdy pro záchyt enterobakterií s produkcí širokospektrých betalaktamáz a vankomycin-rezistentních enterokoků. Izoláty byly identifikovány pomocí MALDI-TOF. Jejich citlivost k antimikrobním přípravkům byla stanovena diluční mikrometodou a interpretována podle kritérií EUCAST 2016. Enterobakterie s minimální inhibiční koncentrací (MIC) cefalosporinů 3. a 4. gen. ≥ 1 mg/l byly testovány na průkaz ESBL a AmpC. U všech kmenů s MIC meropenemu $\geq 0,25$ mg/l byla detekována produkce karbapenemáz pomocí CARBA testu, založeného na hydrolyze karbapenemu s následnou změnou barvy z červené na žlutou. Pro detekci genů kódujících produkci vybraných typů karbapenemáz (NDM, IMP, VIM, KPC, OXA-23 a OXA-48) byla použita metoda PCR s využitím specifické sady primerů. Příbuznost izolátů enterobakterií s pozitivní produkcí karbapenemáz byla stanovena pomocí pulzní gelové elektroforézy (PFGE).

Výsledky: Kmeny s produkcí karbapenemáz byly izolovány z biologických vzorků 12 pacientů:

- 2 kmeny *Enterobacter cloacae* (NDM) – pacientů TRN
- 8 kmenů *Enterobacter cloacae* (IMP) – pacientů HOK
- 1 kmen *Enterobacter asburiae* (IMP) – pacientů HOK
- 1 kmen *Escherichia coli* (IMP) pacientů HOK

Dendrogram všech izolátů *E. cloacae* s produkcí karbapenemáz prokázal identitu:

- 2 izoláty *E. cloacae* NDM pacientů TRN, primární zdroj nezjištěn, cestovatelská anamnéza nejasná
- 5 izolátů z celkem 8 *E. cloacae* IMP pacientů HOK

Závěr: Výsledky potvrzují klonální šíření těchto nebezpečných kmenů a naznačují možnost jejich přežívání v prostředí a přenosu genů odpovědných za produkci karbapenemáz mezi druhy a rody enterobakterií.

Podpořeno grantem IGA_LF_2016_022.

P-25

Fenotypová a genotypová charakteristika kmenů *Staphylococcus aureus* nesoucích gen *mecC* v České republice

Fridrichová M.¹, Jakubů V.¹, Vrbová I.¹, Žemličková H.^{1,2}

¹Národní referenční laboratoř pro antibiotika, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha; ²Ústav klinické mikrobiologie FN a LF UK v Hradci Králové, Hradec Králové

Úvod: Kmeny *S. aureus* označené jako MRSA (meticillin/oxacillin rezistentní *Staphylococcus aureus*) mají nezanedbatelný podíl na nemocnosti a úmrtnosti hospitalizovaných pacientů. V roce 2011 byl v izolátech humánního i animálního původu nalezen nový homolog genu *mecA*, označený jako *mecA_{LGA251}*, který byl později mezinárodní skupinou pracující na klasifikaci SCC přejmenovaný na *mecC*. Tyto kmeny nelze detekovat pomocí aktuálně používaných molekulárních technik ani při latex aglutinačním testu na PBP2a, proto bylo nutné vyvinout novou metodiku detekce genu *mecC*.

Výskyt kmenů MRSA nesoucích gen *mecC* byl již prakticky potvrzen v celé Evropě u volně žijících zvířat, hospodářských a domácích zvířat i lidí. Humánní izoláty jsou zachycovány zejména z mimoinvazivních materiálů. Záměrem tohoto sdělení bylo zjistit výskyt a charakteristiku MRSA nesoucích *mecC* v České republice.

Materiál a metodika: Kriterium pro výběr souboru kmenů zasílaných v letech 2007–2016 spolupracujícími laboratořemi do Národní referenční laboratoře pro antibiotika (NRL pro ATB) byly hodnoty diskové metody u cefoxitinu (CXT), kde byl jako interval určen CXT ≥ 10 mm a CXT < 22 mm. U těchto izolátů *S. aureus* (n=682) byla vyšetřena MIC vybraných antibiotik (oxacilin, erytromycin, klindamycin, ciprofloxacin, vankomycin, gentamicin, trimetoprim-sulfametoxazol, fusidová kyselina, rifampicin a linezolid) mikrodiluční metodou (dle EUCAST) a dále byla provedena PCR na gen *mecA* a *mecC* (dle metodiky DTU Food). Pozitivní kmeny *mecC* byly dále typovány pomocí *spa* typizace (dle metodiky Ridom StaphType) a MLST (multilocus sequence typing)

Výsledky: V období let 2007–2016 bylo v NRL pro ATB detekováno celkem 13 *mecC* pozitivních MRSA izolátů zaslaných ze sedmi laboratoří. 7 izolátů pochází z výtěrů (nos, nosohltan, krk), 3 izoláty jsou z chirurgické rány, 1 izolát z traumatické rány, 1 izolát ze stěru (nespecifikováno) a 1 izolát z krve. K oxacilinu bylo rezistentních 12 kmenů; k erytromycinu, klindamycinu, kotrimoxazolu a rifampicinu byl rezistentní jeden kmen. Žádný kmen nevykazoval rezistenci k linezolidu, ciprofloxacinu, gentamicinu, kyselině fusidové a vankomycinu. První záchyt pozitivního *mecC* MRSA izolátu v NRL pro ATB se datuje do roku 2010 a pochází z výtěru (lokalizace nespecifikována).

Závěr: První popsany záchyt *mecC* pozitivního MRSA v NRL pro ATB koreluje se zachycenými případy v Evropě uvedenými v literatuře. Vzhledem k tomu, že do NRL pro ATB jsou referovány zejména invazivní izoláty (v rámci European Antimicrobial Resistance Surveillance-Network), nemusí záchyt pozitivních kmenů odpovídat reálné situaci v České republice.

MecC pozitivní izoláty MRSA budou dále v NRL pro ATB analyzovány molekulárními typizačními metodami.

Infekční onemocnění preventabilní očkováním

P-26

Genová analýza složek čtyřkomponentní peptidové vakcíny proti *Neisseria meningitidis* séro skupiny B u izolátů z invazivního meningokokového onemocnění z České republiky v období 2007–2016

Musílek M., Jandová Z., Vacková Z., Kozáková J., Křížová P.

Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

Úvod: Invazivní meningokokové onemocnění (IMO) patří k nejzávažnějším bakteriálním infekcím v rozvinutých i v rozvíjejících se oblastech světa. U souboru izolátů z IMO jsme na genové úrovni sledovali varianty čtyř antigenů zařazených do peptidové vakcíny nové generace (Bexsero™) registrované v České republice. Vakcína je cílena proti *Neisseria meningitidis* séro skupiny B aktuálně převažující u kmenů působících IMO v ČR.

Materiál a metody: U souboru 340 izolátů *N. meningitidis* od pacientů s IMO v ČR z období 2007–2016 jsme určili klonální příslušnost metodou multilokusové sekvenční typizace a zastoupení variant genů čtyř vakcinálních antigenů, fHbp (factor H binding protein), NHBA (Neisseria Heparin Binding Antigen), NadA (Neisseria adhesin A) a proteinu zevní buněčné membrány PorA P1.4.

Výsledky: Klonální analýza izolátů ukázala rozšíření hypervirulentních komplexů *N. meningitidis* zejména séro skupiny B (cc32, cc35, cc41/44, cc213, cc269). Všechny izoláty vykazovaly přítomnost genů kódujících fHbp a NHBA. Genová varianta *fHbp1* antigenu použitého ve vakcíně převažovala nad variantami *fHbp2* a *fHbp3*. Gen NHBA antigenu, poskytujícího zkříženou ochranu proti všem svým variantám, byl zjištěn u všech izolátů. Gen *nadA* byl přítomen u přibližně třetiny izolátů, gen *porA* ve variantě P1.4 téměř nebyl přítomen. Ve vztahu k antigennímu složení vakcíny obsahovaly izoláty nejčastěji kombinaci NHBA + fHbp1, následovanou samotným antigenem NHBA a kombinací NHBA + fHbp1 + NadA-1+2/3.

Závěry: Klonální složení bakteriální populace *N. meningitidis* působící IMO v České republice si zachovává značně konzervovaný obraz. Geny peptidových antigenů obsažených ve čtyřkomponentní vakcíně jsou u zvýšeně virulentních kmenů meningokoků přítomny ve významné míře, ukazující na velmi dobrou ochrannou účinnost. Čtyřkomponentní B-vakcína umožňuje spolu s konjugovanou tetra vakcínou A, C, Y, W účinnou ochranu proti zvýšeně virulentním kmenům meningokoků rozšířeným v České republice. Sledování klonální a antigenní struktury kmenů *N. meningitidis* přítomných ve středoevropském regionu je potřebné ve vztahu k perspektivně proměnlivější skladbě hostitelské populace.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 15-34887A. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

HIV/AIDS, STD, virové hepatitidy

P-27

Hepatitis E v pardubickém regionu

Svobodová M.¹, Zálabská E.¹, Židlická A.²

¹Oddělení klinické mikrobiologie, Pardubická nemocnice, Nemocnice Pardubického kraje a. s., Pardubice; ²Infekční oddělení, Pardubická nemocnice, Nemocnice Pardubického kraje a. s., Pardubice

Úvod: Hepatitis E je nejčastější virovou hepatitis na světě. Předpokládaný výskyt je 20 miliónů případů ročně, z toho asi 3,3 miliónu symptomatických. Původcem je neobalený RNA virus z čeledi *Hepeviridae*. V rozvinutých zemích preváluje genotyp 3, v zemích s nižším hygienickým statutem genotyp 1. Jedná se většinou o samouúzdravnou infekci, ale onemocnění může být i fatální nebo může přejít do chronicity. Byly popsány i extrahepatální symptomy infekce. Přenos se děje fekálně orální cestou především kontaminovanou vodou v případě genotypu 1. Infekce genotypem 3 patří mezi zoonózy, zdrojem je především prase domácí. V České republice bylo do r. 2007 hlášeno do 50 případů onemocnění ročně, které byly často v souvislosti s cestovatelskou anamnézou. Od roku 2007 dochází k pozvolnému nárůstu počtu případů a začínají převládat onemocnění získaná v České republice.

Materiál a metodika: V období od dubna 2015, kdy jsme na našem pracovišti zavedli dianostiku HEV, do prosince 2016 bylo na Oddělení klinické mikrobiologie Pardubické nemocnice vyšetřeno 564 sér od 559 pacientů, z toho 341 mužů a 218 žen. Byly detekovány protilátky třídy IgM a IgG metodou ELISA. Použity byly soupravy recomWell HEV IgM a recomWell HEV IgG firmy MIKRO-GEN GmbH, Německo. V 10 případech byl výskyt protilátek verifikován metodou Western blot pomocí soupravy recomLine HEV IgM/IgG firmy MIKROGEN GmbH.

Výsledky: Za průkaz akutní hepatitidy E byla považována současná reaktivita IgG a IgM protilátek. V případě izolované reaktivity IgM byl požadován druhý odběr séra. V případě nízké hladiny protilátek-do trojnásobku cut-off-jsme reaktivitu verifikovali metodou Western blot. Akutní hepatitis E byla zachycena u 32 pacientů, z toho u 21 mužů (65,5 %) a 11 žen. Věk pacientů s akutní hepatitidou E se pohyboval od 23 do 84 let s mediánem 60 let. Klinický průběh byl většinou lehký. U 12 pacientů (37,5 %) se vyskytoval ikterus, u 2 pacientů byl průběh těžký na hranici jaterního selhávání. Jednalo se u muže ve věku 72 a 76 let. U jednoho se zvažovalo současné poškození jater paracetamolem, druhý udával denní konzumaci alkoholu. Nebyly zachyceny žádné extrahepatální příznaky.

Závěry: V souladu s publikovanými daty se i v našem regionu vyskytuje autochtonní hepatitis E. Postiženými jsou převážně starší muž. Většinou se jedná o lehké samouúzdravné onemocnění. Rizikovým faktorem pro těžký průběh se jeví předchozí poškození jater.

P-28

Výskyt *Chlamydia trachomatis* infekcie v kontexte sexuálneho správania sa v populácii žijúcej v rómskych osadách na východnom Slovensku

Babinská I., Halánová M., Kalinová Z., Čisláková L., Čechová L., HepaMeta tím

Ústav epidemiológie, UPJŠ LF v Košiciach, Košice

Úvod: *Chlamydia trachomatis* je intracelulárna gramnegatívna baktéria, ktorá vyvoláva infekcie urogenitálneho traktu u oboch pohlaví. Neliečené a opakované infekcie u žien môžu viesť k závažným komplikáciám, ako je chronická panvová bolesť, neplodnosť, mimomaternicové tehotenstvo a pod. Nízky vek (15 až 24 rokov), rizikové sexuálne správanie (vysoký počet sexuálnych partnerov, nechránený pohlavný styk), predchádzajúca prítomnosť, resp. koexistencia iných pohlavne prenosných ochorení sú rizikové faktory asociované s touto infekciou. Cieľom tejto štúdie bolo detegovať výskyt infekcie *Chlamydia trachomatis* v populácii žijúcej v rómskych osadách na východnom Slovensku, kde predpokladáme odlišné vzorce sexuálneho a reprodukčného správania v porovnaní s majoritnou populáciou.

Materiál a metodika: Analyzované údaje boli získané v rámci prierezovej štúdie HepaMeta realizovanej v Košickom kraji. Súbor tvorilo 452 Rómov (priemerný vek = 34,7; SD = 9,14; 35,2% mužov) a 403 respondentov majoritnej populácie (priemerný vek = 33,5; SD = 7,4; 45,9% mužov). Behaviorálne a socio-ekonomické údaje boli získané dotazníkovou metódou. Na potvrdenie prítomnosti *Chlamydia trachomatis* v moči bola použitá polymerázová reťazová reakcia (PCR).

Výsledky: Rómovia začínajú svoj sexuálny život skôr. 27,9% Rómov malo prvý pohlavný styk vo veku 15 rokov alebo pred jeho dovŕšením (vs 4,5% nerómov). V porovnaní s majoritnou populáciou častejšie udávajú nechránený pohlavný styk (88,1% Rómov nepoužíva kondóm vôbec alebo ho používa veľmi zriedka, vs 60,3% nerómov), pričom len 22,8% Rómov (vs 43,9%) používa kondóm kvôli ochrane pred nechceným tehotenstvom a iba 8,8% Rómov (vs 21,8%) kvôli ochrane pred infekčnými chorobami. Rómovia však udávajú nižší počet sexuálnych partnerov v porovnaní s majoritnou populáciou (päť alebo viac sexuálnych partnerov uviedlo 11,5% Rómov vs. 20,6% nerómov). Výskyt infekcie *Chlamydia trachomatis* bol potvrdený u 25 respondentov (2,9%). Prevalencia bola vyššia v rómskej populácii (16 osôb, 3,5%; 13 žien, 4,4%; 3 muži, 1,9%) v porovnaní s majoritnou populáciou (9 osôb, 2,2%; 5 žien, 2,3%; 4 muži, 2,2%), avšak tento rozdiel nebol signifikantný.

Záver: Napriek významným rozdielom v sexuálnom správaní sme nepotvrdili rozdiely vo výskyte urogenitálnej chlamýdiovej infekcie medzi rómskou a majoritnou populáciou.

Práca podporená projektom APVV-15-0134.

P-29

Dotazníkové šetření u mediků LF v Plzni

Jelínková H., Pazdiora P.

Ústav epidemiologie LF v Plzni, UK, Plzeň

Úvod: Infekce HIV je významným celosvětovým problémem. Česká republika se sice stále řadí mezi země s nízkým výskytem HIV/AIDS, ale v posledních letech je i zde patrný vzestupný trend počtu nově diagnostikovaných případů. Díky antiretrovirové léčbě se pacienti dožívají vyššího věku a stávají se dříve či později pacienty interních a dalších oborů. I díky tomuto vývoji se musí věnovat velká pozornost výuce problematiky HIV/AIDS na lékařských fakultách.

Materiál a metodika: Dlouhodobě studenti 5. ročníku LF v Plzni vyplňují dotazník po ukončení blokové výuky na Ústavu epidemiologie. Odpovídají na zjišťovací a doplňovací otázky, které se týkají infekce HIV, jejich vlastních zkušeností s rizikovým chováním a vyšetřením krve na přítomnost anti-HIV protilátek. Přednáška obsahuje analýzu odpovědí studentů ve dvou obdobích (školní roky 2008/2009–2012/2013 a 2013/2014–2016/2017). Ve školním roce 2016/2017 se samostatně hodnotily odpovědi studentů na vybrané otázky na základě účasti na výuce zajištěné HIV pozitivním lektorem. Odpovědi byly statisticky zpracovány, statistická významnost určena pomocí chí kvadrát testu s hladinou významnosti $p < 0,05$.

Výsledky: V prvním období byly zpracovány odpovědi 662 respondentů (39,7 % muži, 60,3 % ženy) s průměrným věkem 25,1 let, ve druhém 542 studentů (34,1 % muži, 65,9 % ženy) s průměrným věkem 25,3 let. Respondenti se mj. vyjadřovali k cestám přenosu HIV. Naprostá většina uvedla správně základní cesty přenosu HIV, někteří (4,0 %, resp. 5,5 %) se domnívali, že k přenosu může dojít i bodnutím hmyzu. U možností ochrany před přenosem HIV statisticky významně poklesl počet kladných odpovědí u hormonální antikoncepce (z 3,5 % na 0,7 %) a u přerušované soulože (z 4,9 % na 1,3 %). Ve druhém období by významně více studentů bylo ochotno pracovat ve společnosti známého HIV pozitivního člověka, stravovat se u něho, pečovat o něho v době jeho nemoci, či nechat své děti v jeho společnosti. Výuka HIV pozitivního lektora neovlivnila významně odpovědi studentů na vybrané otázky. V odpovědích byl zaznamenán nárůst zkušeností s užitím drog mezi studenty (z 29,1 % na 43,0 %). Také vzrostl významně počet studentů (z 12,1 % na 15,2 %), kteří v nejbližší době uvažovali o vyšetření anti-HIV protilátek.

Závěr: Je důležité zařazovat problematiku infekce HIV do výuky různých oborů na lékařských fakultách, předávat studentům nejnovější informace a během praktické výuky jim zprostředkovat kontakt s HIV pozitivními pacienty. Pro vyučující na LF v Plzni je důležité, že studenti považují výuku o této infekci za dostačující nejen pro osobní život, ale i pro budoucí lékařskou praxi.

Molekulární metody v diagnostice a epidemiologii infekčních onemocnění

P-30

Využití PCR při přímé detekci rDNA původců dermatomykóz ze vzorků kůže a jejích adnex

Dobiáš R.^{1,3}, Jaworská P.¹, Mrázek J.², Kantorová M.², Lysková P.^{3,4}, Hamal P.³

¹ Oddělení Bakteriologie a mykologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Ostrava; ² Oddělení Molekulární biologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě; ³ Oddělení Mykologie, LF UP, Olomouc; ⁴ Laboratoř klinické mykologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem, Praha

Úvod: Konvenční metody pro detekci a identifikaci dermatofytů z klinických vzorků kůže zahrnují mikroskopické a kulturační metody. Časová náročnost kompletní diagnostiky dermatomykóz je minimálně 10–15 dní a mnohdy trvá 3–4 týdny. Mikroskopické a kulturační metody mají nízkou sensitivitu, cca 70%. Proto je nutné odběr klinického vzorku vícekrát opakovat, aby bylo dosaženo zvýšení zachytu původce dermatomykózy, a tím se časová náročnost klinické diagnózy zvyšuje. Diagnostiku dermatomykózy je možné urychlit a zvýšit její výtěžnost pomocí přímé detekce rDNA původce až na 96%.

Cílem studie je optimalizovat izolaci rDNA a kombinovat dostupné specifické rDNA primery tak, abychom byli schopni zachytit co největší diverzitu dermatofytických druhů (patogenů) přímo z klinického materiálu kůže a jejích adnex. Metodika povede ke zrychlení diagnostiky dermatomykóz a ke zkvalitnění péče o pacienta.

Materiál a metody: Pro izolaci rDNA mikromycetů z klinického materiálu byl použit izolační KIT ZR Fungal/Bacterial DNA MiniPrep™, Zymo Research, k detekci rDNA byly využity primery zachycující široké spektrum dermatofytů [1]. Pro druhovou identifikaci nejvýznamnějších druhů byla použita metoda High Resolution Melting Analysis (HRMA) [2].

Výsledky a závěry: Výtěžnost PCR metody byla ve srovnání s konvenčními metodami vyšší, test má nejčastější dermatofyty (*Trichophyton rubrum*, *T. interdigitale*, *T. benhamiae*) byly touto metodikou spolehlivě zachyceny.

1. Bergmans AM, van der Ent M, Klaassen A, Bohm N, Andriesse GI, Wintermans RG: Evaluation of a single-tube real-time PCR for detection and identification of 11 dermatophyte species in clinical material. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2010, 16(6):704–710.
2. Didehdar M, Khansarinejad B, Amirrajab N, Shokohi T: Development of a high-resolution melting analysis assay for rapid and high-throughput identification of clinically important dermatophyte species. *Mycoses* 2016, 59(7):442–449.

Tato práce byla podpořena Interní grantovou agenturou Univerzity Palackého v Olomouci (číslo projektu: IGA_LF_2017_031).

P-31

Výsledky sběru klíšťat v Praze v letech 2008–2016 vyšetřovaných na KE a LB a nemocnost KE a LB v letech 2006–2016 v Praze a Česku

Zelenková J., Laflinová C., Kybicová K.

Hygienická stanice hlavního města Prahy, Státní zdravotní ústav Praha

Hygienická stanice hlavního města Prahy dlouhodobě monitoruje aktuální promořenost klíšťat ve sledovaných lokalitách hlavního města Prahy, s cílem sledovat aktivitu klíšťat, přenašečů nálezů Lymeské borreliózy a Klíšťové encefalitidy v přírodních ohniscích nákazy, v podmínkách hlavního města. Národní referenční laboratoř pro arboviry Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě pro HSHMP vyšetřuje vzorky klíšťat na přítomnost viru Klíšťové encefalitidy metodou RT – PCR RNA TBEU a pokusem na zvířeti. Od roku 2016 SZÚ NRL pro Lymeskou borreliózu vyšetřuje pro Hygienickou stanici hlavního města Prahy výhradně specifickou metodou PCR na přítomnost DNA Borrelií. Průkaz pozitivitu klíšťat potvrzuje potřebnost průběžného sledování výskytu viru Klíšťové encefalitidy a záchytu bakterií Lymeské borreliózy u klíšťat. Promořenost klíšťat ve vztahu k výše uvedeným onemocněním ukazuje na nezbytnost dodržování preventivních opatření (očkování proti KE, vhodné oblečení, používání repelentů, dezinfekce místa přisátí klíštěte a včasné odstranění klíštěte) při návštěvě v přírodě. Na posteru jsou uvedena data sledování od roku 2006–2016.

P-32

Distribuce PCR ribotypů *Clostridium difficile* a rezistence k moxifloxacinu u selat v ČR

Krůtová M.¹, Zouharová M.², Matějková J.¹, Krejčí J.², Faldyna M.², Bernardy J.², Nyč O.¹

¹Ústav lékařské mikrobiologie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze a Fakultní nemocnice v Motole, Praha; ²Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

Úvod: *Clostridium difficile* je významným lidským patogenem způsobujícím různě závažné střevní infekce nemocničního i komunitního původu. Výskyt *C. difficile* včetně klinických projevů je popisován také u zvířat. Cílem této studie bylo zmapovat výskyt *C. difficile* u prasnic a selat v České republice.

Materiál a metodika: Celkem bylo vyšetřeno 197 vzorků trusu (48 vzorků od prasnic a 149 od selat) z 23 farem. Stolice byly kultivovány na selektivním agaru pro *C. difficile* v anaerobním prostředí. Izoláty *C. difficile* byly charakterizovány pomocí PCR ribotypizace (kapilární elektroforéza), MLVA (multi-locus variable tandem-repeats analysis) a sekvenováním fragmentů genů *gyrA* a *tcdC*. Přítomnost genů pro tvorbu toxinů (*tcdA*, *tcdB*, *cdtA*, *cdtB*) byla detekována pomocí multiplex PCR. Citlivost k metronidazolu, vankomycinu, tetracyklinu a moxifloxacinu byla stanovena gradientovou difuzní metodou (E-test).

Výsledky: Ze 197 vzorků trusu (23 farem) bylo 57 vzorků (56 selat, 2 prasnice, z 12 farem) pozitivních na přítomnost *C. difficile*. Pomocí PCR ribotypizace jsme identifikovali devět různých profilů (002 n=1, 011 n=5, 014 n=1, 033 n=9, 078 n=24, 078 – varianta n=5, 126 n=1, 150 n=7, 413 n=4). Izoláty ribotypů 033, 078, 078 – varianta a 126 (n=39) byly pozitivní na přítomnost genů pro produkci binárního toxinu (*cdtA* and *cdtB*) a nesly 39 bp delecii a substituci C184T v genu *tcdC*. Klonální příbuznost pomocí MLVA byla detekována v rámci jednotlivých farem. Všechny izoláty byly citlivé k metronidazolu a vankomycinu. Jedenáct izolátů (PCR ribotypy 150 n=7, 078 – varianta n=5) bylo rezistentních k moxifloxacinu (MIC≥32 mg/l) a neslo aminokyselínovou záměnu Thr82Ile v GyrA.

Závěry: Výsledky dílčí pilotní studie odhalily rozdílnou distribuci PCR ribotypů *C. difficile* v ČR. PCR ribotyp 078 byl nejčastěji detekovaným ribotypem, který je prevalentním ribotypem u zvířat v Evropě¹. Dále jsme na dvou farmách prokázali výskyt izolátů rezistentních k moxifloxacinu. Rezistence k moxifloxacinu je jedním ze sledovaných markerů šíření *C. difficile* v nemocničním prostředí. Pro získání informací zda lze hledat spojitost mezi výskytem *C. difficile* u selat a humánními infekcemi, je nutná další podrobná genetická analýza zvířecích a lidských izolátů.

Podpořeno: QJ1510218 Ministerstvo zemědělství ČR, MZ ČR – RVO, FN v Motole 00064203

1. Janezic S et al. International *Clostridium difficile* animal strain collection and large diversity of animal associated strains. BMC Microbiol. 2014;14:173.

P-33

Genotypová a fenotypová charakterizace recentních českých klinických izolátů *Bordetella pertussis*

Zavadilová J.¹, Fabiánová K.^{1,2}, Štipl D.³, Držmíšek J.³, Čapek J.³, Večerek B.³, Dienstbier A.³

¹Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha; ²Ústav epidemiologie, 3. LF UK, Praha; ³Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i., Praha

Úvod: *B. pertussis* je původce dávivého kašle (pertuse), vysoce nakažlivého respiračního onemocnění. I přes vysokou proočkovanost v ekonomicky vyspělých zemích se incidence onemocnění pertusí zvyšuje. Zvýšená incidence pertuse je vysvětlována krátkodobou imunitou, která je navozená acelulárními vakcínami. Navíc jsou současné cirkulující kmeny *B. pertussis* v reakci na antigeny obsažené v acelulárních vakcínách značně geneticky variabilní což vede ke změnám v produkci faktorů virulence.

Cílem tohoto výzkumu byla analýza celogenomové sekvence a produkce faktorů virulence u současných českých klinických izolátů *B. pertussis*.

Materiál a metodika: Bylo analyzováno 5 izolátů *B. pertussis*, které byly v programu surveillance dávivého kašle doručeny do NRL pro pertusi a difterii v letech 2008 až 2015. Zároveň byl analyzován referenční kmen *B. pertussis* Tohama I.

Celogenomové sekvenování bylo provedeno pomocí platformy PacBio RSII. Produkce faktorů virulence byla analyzována technikou Western blot.

Výsledky: Srovnání celogenomových sekvencí klinických izolátů s genomem referenčního kmene *B. pertussis* Tohama I prokázalo velké strukturní změny v genomech recentních izolátů *B. pertussis*. Na rozdíl od významného počtu kmenů, které v současné době cirkulují v několika zemích Evropy a v USA, všechny české izoláty produkovaly pertaktin, jednu ze složek současně používaných vakcín. Všechny kmeny produkovaly klíčové faktory virulence, adenylát cyklázový toxin a filamentozní hemaglutinin.

Závěry: Naše výsledky naznačují, že izoláty *B. pertussis*, které v současné době cirkulují v ČR, prodělaly změnu ve stavbě a organizaci genomu. Bude zajímavé sledovat, jak se tato genetická variabilita projeví ve změnách v genové expresi a v produkci důležitých faktorů virulence.

Tento projekt je podpořen výzkumným grantem 16-30782A uděleným AZV ČR.

P-34

Molecular diagnosis of *Cryptosporidium parvum* and *Blastocystis hominis* in human faeces samples

Valenčáková A.¹, Hatalová E.¹, Danišová O.¹, Ondriska F.², Boldiš V.³

¹University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Komenského 73, 04181 Košice, Slovak Republic; ²Trnava University, Faculty of Care and Social Work, Univerzitné námestie 600/1, 917 01 Trnava, Slovak Republic; ³Medirex (Ltd.), Galvaniho 17/C, Bratislava, Slovak Republic

Aims of study: *Cryptosporidium parvum* and *Blastocystis hominis* are in most cases diagnosed by common routine diagnostic methods in microbiological laboratories, which include mostly microscopy and serology. Our aim was to examine 11 fecal samples with molecular methods for the presence of *C. parvum* and *B. hominis*. These samples were examined with standard methods for the presence of both pathogens, with a positive finding of *B. hominis* in all samples and negative finding of *C. parvum*.

Methods: We have used nested PCR for the detection of *C. parvum*, where primers of choice for routine diagnostics of *Cryptosporidium* targeting the SSU rRNA region were used. For the second experiment, we have used primers targeting the GP60 gene, used for genotyping *C. parvum*. The same samples were examined by standard PCR for the presence of *B. hominis*. Standard primers targeting the SSU rRNA were used (Blast F, Blast R).

Results: The detection of *C. parvum* with primers targeting the SSU rRNA region was negative in all samples. However, with the use of primers GP60 we have detected the presence of *C. parvum* in 5 samples from 11 (45.45%), identified as *C. parvum* IIaA14G2R1, IIaA12G1R1, IIaA5G1R1, IIaA17G1R1 and IIaA14G1R1 and verified by two independent sequencing companies. The detection of *B. hominis* with standard PCR was successful only in 2 samples out of 11 (18.18%), genotype II, which were microscopically and serologically identified as positive. This can be caused by the limitation of primers BlastF/BlastR, because these primers are capable of detecting only 7 subtypes of the 17 genotypes *B. hominis*.

Conclusion: Our experience shows, that the choice of primers for the detection of unicellular pathogens in clinical samples is crucial, in the aspect of the hybridization capability and the type of DNA isolation methods in clinical samples, which can contain many PCR blockers. These can affect the outcome of PCR on a large scale. Molecular methods are highly sensitive, however, even in these false positive and false negative results can occur when a wrong protocol is chosen. It is necessary, though more expensive, to confirm the results with several diagnostic methods. False negative results are commonly the cause of not solving the problem, causing damage to the health of patients. On the other side, false positive results multiply the chemotherapeutic load on the organism of the patient.

Acknowledgement: This work was supported by GP APVV 15-0134.

P-35

Occurrence of various genotypes of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* in immunosuppressed and immunocompetent patients

Hatalová E.¹, Valenčáková A.¹, Danišová O.¹, Halánová M.², Gabzdilová J.², Ondriska F.³, Boldiš V.⁴

¹University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Komenského 73, 04181 Košice, Slovak Republic; ²University of Pavol Jozef Šafárik, 040 01, Košice, Slovak Republic; ³Trnava University, Faculty of Care and Social Work, Univerzitné námestie 600/1, 917 01 Trnava, Slovak Republic; ⁴Medirex (Ltd.), Galvaniho 17/C, Bratislava

Aim of study: *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* are the cause of diarrhea mostly in immunosuppressed patients, although they may occur in immunocompetent patients as well. In this work, we have collected 4 samples from immunocompetent patients suffering from diarrhea, and 16 samples from patients with diarrhea, hospitalized at the Clinic of oncohematology.

Methods: In the first experiment, four samples from immunocompetent hosts were run on nested PCR with the use of primers Xiao F2/R2 and VKSS F1/R2, targeting the SSU rRNA region. After species identification, nested PCR was conducted with primers targeting the GP60 gene, used for genotyping. These four samples were also run using HRM analysis, for the purpose of optimization of our HRM protocol, using these samples as a control group. HRM was conducted with primers AP58SF and APITSR, targeting the SSU and ITS region of rRNA. In the second experiment, 16 samples from oncological patients were run directly with primers GP60, because of the high probability of the occurrence of *C. parvum* or *C. hominis*. Positive samples were sent for DNA sequencing.

Results: In the first experiment, two samples out of four were identified as positive on gel electrophoresis. DNA sequencing confirmed the presence of *C. hominis*. Subsequently, the genotypes IbA12G3R2 and IaA12G3T3 were confirmed. Surprisingly, HRM analysis shown positive peaks in all four samples. The subsequent analysis with the GP60 primer of the two previously negative samples after Xiao and VKSS were positive and after sequencing, *C. parvum* genotype IIaA12G2R1 was identified in both samples. In the second experiment, two from 16 samples shown positivity on gel electrophoresis and DNA sequencing confirmed the presence of *C. parvum* genotypes IIaA17G1R1 and IIaA16G1R1.

Conclusion: In our study, we have not only confirmed the presence of various genotypes of *C. parvum* and *C. hominis* in both immunosuppressed and immunocompetent patients, but also confirmed that standardized methods for detecting *Cryptosporidium* spp. with primers targeting the SSU rRNA region are less reliable and have a lower detection rate than primers GP60. This can be explained by the higher specificity of GP60 primers, which are nowadays used for genotyping not only *C. parvum* and *C. hominis*, but also *C. meleagridis*, *C. ubiquitum* and *C. fayeri*, increasing their range of species, which there are capable of identifying. High Resolution Melting analysis has proven to be a useful tool for screening, offering immediate results, after which additional examinations may follow.

Acknowledgement: This work was supported by GP APVV 15-0134.

P-36

Genotypizace adenovirů v sentinelové surveillance ARI v České republice 2013–2017

Jiřincová H., Nagy A., Procházková J., Trinklová K., Nováková L., Limberková R., Havlíčková M.

Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

Úvod. Přestože adenoviry (ADV) nejsou v sentinelovém vyšetření majoritně prokazovanou skupinou virů, vyvolávají poměrně široké spektrum onemocnění – podílí se na respiračních a gastrointestinálních onemocněních a některé genotypy dokonce vykazují onkogenní potenciál. Některé genotypy adenovirů (především 8 a 37) mohou být vyvolavateli epidemické keratokonjunktivitidy a podíl ADV na nozokomiálních infekcích u imunokompromitovaných pacientů rovněž není zanedbatelný. Tyto okolnosti podtrhují důležitost přehledu o cirkulujících genotypech v běžné populaci. Proto jsme od sezóny 2013/14 přistoupili k jejich genotypizaci, a to v klinickém materiálu získaném v rámci sentinelové surveillance ARI (akutní respirační infekce).

Materiál a metodika: V sentinelu ARI vyšetřujeme vždy 2 vzorky z každého kraje týdně, a to na přítomnost virů chřipky a dalších 7 respiračních patogenů (RSV, MPV, ADV, BOCA, COV, PIV, RV). Klinickým materiálem je nasopharyngeální stěr, ze kterého je izolována celková virová DNA/RNA manuálně na separačních kolonkách nebo na magnetických kuličkách automatickým izolátorem Roche MagNA. Průkaz virové DNA/RNA je prováděn qPCR komerčními soupravami Argene a Diagenode. ADV pozitivní vzorky s $C_q < 30$ vybíráme pro genotypizaci na základě partiální sekvenace hexonového genu.

Výsledky: V sezóně 2013/14 jsme vyšetřili celkem 27 vzorků, většina (18) spadala do genotypu B, 17 vzorků představoval genotyp 3B a 1 vzorek genotyp 7B. Ve třech případech jsme zaznamenali genotyp C, a to 2x 2C a jedenkrát 1C. V jednom materiálu jsme zachytili genotyp 4E. Sezóna 2014/15 byla pro nás překvapivá, ve všech 13 materiálech jsme našli jediný genotyp 4E. V sezóně 2015/16 jsme vyšetřili 24 vzorků, které vykazovaly podobnou pestrost v zastoupení cirkulujících genotypů jako sezóna 2013/14, ale s majoritními genotypy ze skupiny C. Opakující se genotypy byly 3B (3 materiály), 1C (7materiálů) 2C (9 materiálů), 6C (jediný záchyt) a 41F (jediný záchyt). Výsledky za sezónu 2016/17 doposud nejsou kompletní a budou zveřejněny v posteru.

Diskuse a závěr: V surveillance adenovirů jsme většinou zachytili genotypy ze skupiny B, C a E. Skupina B se podílí nejen na respiračních onemocněních a konjunktivitidách, ale vyvolává i neuroinfekce či hemorhagickou cystitidu. Genotypy C a E jsou popsány výhradně ve spojení s konjunktivitidami a respiračními infekcemi. Jediným – pro respirační infekce netypickým genotypem – byl 41F popsán v souvislosti s průjemovými onemocněními u dětí. Tento genotyp byl zachycen u třináctiletého dítěte s diagnózou J119 a J029 (příznaky: rýma, bolest hlavy a břicha, bolest na hrud., konjunktivits, tracheitis, tonsilitis).

Předkládané výsledky opodstatňují sledování aktuálně cirkulujících genotypů ADV v naší populaci.

P-37

Specifické vlastnosti izolátů *Staphylococcus aureus* od pacientů s cystickou fibrózou

Tkadlec J.¹, Dřevínek P.¹, Fila L.², Bartošová J.³, Lichá I.⁴, Melter O.¹

¹Ústav lékařské mikrobiologie, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a FN v Motole, Praha;

²Pneumologická klinika, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a FN v Motole, Praha; ³Pediatrická klinika, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a FN v Motole, Praha; ⁴Katedra genetiky a mikrobiologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha

Úvod: Produkce hustého hlenu v dýchacích cestách pacientů s cystickou fibrózou (CF) je příčinou poklesu mukociliární funkce, která je důležitým faktorem pro vznik chronické infekce dýchacích cest. *Staphylococcus aureus* je jedním z původců chronické infekce dýchacích cest pacientů s CF. Chronická infekce spolu se zánětlivou odezvou vede k nevratnému progresivnímu poškození plic a plicní nedostatečnost je primární příčinou smrti u většiny těchto pacientů.

Materiál a metodika: Do studie bylo vybráno 100 izolátů *S. aureus* od 92 pacientů, které byly identifikovány pomocí hmotnostní spektrometrie (MALDI-TOF MS). Citlivost k antibiotikům byla stanovena pomocí diskového difuzního testu (EUCAST) a známé determinanty rezistence prokazovány pomocí PCR. Z důvodu absence determinant rezistence k makrolidům, linkosamidům a streptograminu B (MLS_B antibiotika) u více než poloviny rezistentních izolátů, byly sekvenovány geny pro V doménu 23S rRNA (*rrl*) a ribozomální proteiny L4 (*rplD*) a L22 (*rplV*), neboť mutace v nich mohou měnit topologii zásahového místa pro tato antibiotika. Klonální klasifikace izolátů byla provedena na základě *spa* typu, MLST, SCC*mec* a pomocí PCR byl též stanoven profil genů virulence.

Výsledky: Více než polovina izolátů byla rezistentní k MLS_B antibiotikům (56%). Více než polovina těchto rezistentních kmenů (29 z 56) měla mutaci v cílovém místě MLS_B antibiotik. Rezistence na metilicilin byla detekována pouze u 3 % izolátů a míra rezistence vůči jiným antibiotikům nepřekročila 12%. Prevalence kmenů *small colony variants S. aureus* (SCV) byla poměrně nízká (9%) a osm z devíti izolátů s fenotypem SCV byly auxotrofní na tymidin. Klonálně byla populace izolátů heterogenní a zastoupeny byly rovnoměrně nejdůležitější klony *S. aureus* komunitní a ty, které způsobují nemocniční infekce.

Závěr: Ke specifickým těmto bakteriálním izolátům patřila vysoká míra rezistence k MLS_B antibiotikům, která byla nejčastěji podmíněná mutací v cílovém místě pro tato antibiotika. Výskyt této rezistence a mutací, byl spojen s léčbou azitromycinem. Klonální klasifikace izolátů prokázala, že zdrojem infekce pro pacienty s CF byly rovnoměrně kmeny *S. aureus* jak z nemocničního prostředí, tak z komunity. Dalším specifickým těmto izolátů byla tvorba *small colony variants S. aureus* (SCV), které mohou dělat v mikrobiologické laboratoři potíže při identifikaci.

P-38

Častá detekce HHV6 DNA v krvi u dětí se závažným popáleninovým traumatem

Labská K.¹, Marinenko E.², Matějková E.², Plodková H.¹, Pumannová M.¹, Šuca H.³, Zajíček R.³

¹NRL pro herpetické viry, Státní Zdravotní Ústav, Praha ²Klinika popáleninové medicíny, FN Královské Vinohrady, Praha; ³Klinika popáleninové medicíny, 3. LF UK, Praha

Úvod: Popáleninové trauma zasahuje imunitní systém na mnoha úrovních včetně poklesu buněčné imunity a vyvolání cytokinové bouře. Tyto podmínky jsou známým spouštěčem reaktivace herpetických virů (HV). Reaktivace HV u imunokompromitovaných pacientů je schopna vyvolat systémové infekce s fatálními následky. Cílem naší studie bylo zjistit, jak častý je výskyt reaktivace herpetických virů u dětí s popáleninovým traumatem a jak tato reaktivace ovlivňuje rekonvalescenci.

Materiál a metodika: Kritéria zařazení do souboru: věk do 10ti let, závažné popáleninové trauma (grade II, >5% BSA, nutnost intenzivní péče), horečka (odběry 3. den trvání) a nízké zánětlivé parametry (CRP, PCT, normální počet leukocytů). Pacienti zařazení do studie byli testováni na přítomnost DNA virů HSV, VZV, EBV, CMV a HHV6 DNA v periferní krvi metodou multiplex PCR (Seeplex Meningitis – V1, Seegene) a real-time PCR (CMV HHV6,7,8 R-gene, Biomerieux).

Protilátky proti viru HHV6 včetně avidity byly stanoveny metodami nepřímé imunofluorescence (IgM – Anti HHV6 II FT IgM, Euroimmun, IF-VIDITEST anti-HHV-6 IgG, Vidia) a ELISA (VIDITEST anti-HHV-6 IgG, Vidia, včetně avidity

U pacientů se zachytem HHV6 DNA v krvi byl vyšetřen buffy coat na přítomnost HHV6 RNA (in – house metoda, primery proti kapsidovému proteinu).

Výsledky: Do dnešního dne bylo zařazeno do studie 17 dětí. Průměrný věk byl 2 roky (median 2, v rozmezí od 1 do 7 let). Nejčastěji zachycenou virovou DNA byla HHV6 DNA (10/17 pacientů), z toho 2x v kombinaci s CMV a EBV a jednou v kombinaci s EBV DNA. Vždy se jednalo o HHV6 typ B, virová nálož se pohybovala od 91 do 2410 kopií / ml plné krve (median 323 kopií/ml). HHV6 RNA nebyla zachycena ani v jednom vzorku.

Pouze u jednoho HHV6 DNA pozitivního dítěte nebyly detekovány anti HHV6 protilátky (IgG and IgM; ELISA i NIF). Dvě děti s HHV6 DNA měly anti HHV6 IgM i IgG protilátky, zbylých 7 dětí mělo jen anti HHV6 IgG. U všech zachytů anti HHV6 IgG se jednalo o vysoceavidní protilátky. Anamnestický záznam o proběhlé 6. nemoci (exanthema subitum) byl pouze u jednoho dítěte. V průběhu hospitalizace nebyly pozorovány žádné cytopenie ani exantémy.

Závěry: V našem souboru dětí s popáleninovým traumatem jsme nepozorovaly příznaky, které se popisují při aktivní HHV6 infekci u imunokompromitovaných pacientů, přestože zachyt HHV6 DNA v periferní krvi byl častý. Naši pacienti byli ve věku blízkém primoinfekci. Přítomnost HHV6 DNA lze vysvětlit reziduální populací progenitorových buněk kostní dřeně s integrovanou HHV6 DNA, která s delším časovým odstupem od primoinfekce mizí. Recentní primoinfekce nebyla potvrzena, protože děti měly již vysokoavidní anti HHV6 IgG protilátky.

P-39

Využití celogenomové sekvenace (WGS) v molekulární surveillance invazivních meningokokových onemocnění v České republice

Honskus M., Vacková Z., Musílek M., Křížová P., Kozáková J.

Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

Úvod: Invazivní meningokokové onemocnění (IMO) patří celosvětově mezi nejzávažnější infekční onemocnění. Má stabilně vysokou smrtnost a vysoké množství vážných celoživotních následků u přeživších pacientů. Je proto důležité pečlivě sledovat výskyt a šíření původce tohoto onemocnění – bakterie *Neisseria meningitidis*. V Národní referenční laboratoři pro meningokokové nákazy se k molekulární charakterizaci izolátů běžně používají metody klasické sekvenace: multilokusová sekvenační typizace (MLST) a sekvenační identifikace genů, které kódují antigeny čtyřsložkové vakcíny proti meningokoku B (4CMenB). Nová metoda celogenomové sekvenace (WGS) má potenciál klasické metody nahradit a detailní molekulární charakterizaci izolátů zefektivnit. Cílem této studie bylo ověření možnosti molekulární charakterizace izolátů *N. meningitidis* metodou WGS.

Materiál a metodika: Do studie byl vybrán soubor 20 izolátů IMO z roku 2015. Izoláty byly charakterizovány standardizovaným postupem klasické sekvenace a zároveň novou metodou WGS. Celogenomová sekvenace vybraných izolátů proběhla externě, na pracovišti EMBLEM (Heidelberg, Germany). Výsledná surová data byla zpracována pomocí softwaru Velvet de novo assembler. Z výsledných WGS dat byla poté za pomoci *Neisseria* profile/sequence database (<https://pubmlst.org>) provedena analýza, ve které byly hodnoceny alely MLST lokusů (*abcZ*, *adk*, *aroE*, *fumC*, *gdh*, *pdh*, *pgm*) a genů, které kódují antigeny vakcíny 4CMenB.

Výsledky: Nejčastěji zjištěnými hypervirulentními komplexy v charakterizovaném souboru izolátů byly klonální komplexy cc41/44 a cc32. Jedná se o typické komplexy seroskupiny B. Na druhém místě v četnosti výskytu byly hypervirulentní klonální komplex cc11, typický pro seroskupinu C, a komplexy seroskupiny B, konkrétně cc269 a cc35. Ve všech studovaných izolátech byly zjištěny geny antigenů vakcíny 4CMenB.

Závěry: Výsledky molekulární charakterizace, které byly získány novou metodou WGS, byly shodné s předchozími výsledky získanými klasickými sekvenačními metodami. Perspektivně plánujeme rutinní zařazení metody WGS do molekulární surveillance IMO v České republice.

S podporou Ministerstva zdravotnictví ČR, grant č. 15-34887A. Všechna práva vyhrazena.

P-40

Význam PCR a sekvenování u pacientů s chirurgicky řešenou infekční endokarditidou a negativními výsledky hemokultur

Mališová B., Pol J., Vaněrková M., Němcová E., Kotásková I., Černochová M., Němec P., Freiburger T.

Centrum kardiovaskulární a transplatační chirurgie, Brno

Úvod: Infekční endokarditida je závažné infekční onemocnění srdce, jehož léčba se opírá především o včasnou detekci infekčního agens a cílenou antibiotickou terapii. V důsledku přítomnosti obtížně kultivovatelných mikrobů či antibiotické terapie jsou výsledky přibližně 30 % hemokultur negativní, což představuje závažné terapeutické a diagnostické dilema. Cílem příspěvku je u těchto pacientů prokázat význam širokospektré PCR a sekvenování části genu 16S rDNA pro detekci a identifikaci etiologického agens.

Materiál a Metodika: Za období 2005–2016 bylo na našem pracovišti chirurgicky léčeno 311 pacientů s jistou/možnou IE (dle Duke kritérií). U každého pacienta byla provedena hemokultivace, kultivace a širokospektrá PCR, zaměřená na část genu pro 16S rDNA, z chirurgického materiálu, a u některých pacientů rovněž histologie z peroperačně odebrané tkáně.

Výsledky: Z celkového počtu 311 chirurgicky řešených pacientů s jistou/možnou diagnózou IE mělo 39 (13 %) pacientů negativní výsledek hemokultur při jisté diagnóze IE.

Histologicky bylo vyšetřeno 30/39 kultivačně negativních případů a IE byla tímto vyšetřením potvrzena v 87 % (26/30) případů hemokultivačně negativní IE.

Výsledek kultivace z chirurgického materiálu byl pozitivní v 10/39 (26 %) hemokultivačně negativních případů, jednalo se o *streptokoky* (4), *stafylokoky* (4) a *enterokoky* (2).

Výsledek PCR byl pozitivní v 34/39 (87 %) hemokultivačně negativních případů, byly detekovány *streptokoky* a jejich nutriční varianty (20), *stafylokoky* (7), *enterokoky* (3) a bakterie náročné na růst (4).

Závěr: Širokospektrá PCR se sekvenací dokázala identifikovat z chirurgického materiálu větší spektrum mikroorganismů než běžná kultivace. Domníváme se proto, že molekulárně biologické metody mohou vhodně doplnit výsledek kultivace a histologie a jsou důležitou součástí běžné diagnostiky IE, především u pacientů s negativními výsledky hemokultur.

P-41

Emm typizace

Chmelová V., Kozáková J.

NRL pro streptokokové nákazy, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

Úvod: Emm typizace je nová typizační molekulární metoda založená na sekvenaci části emm genu, kódujícího M protein streptokoků. Streptokoky skupiny A rozřazuje do více než 120 typů, z nichž každý zahrnuje několik subtypů. Je vhodná i pro typizaci skupin C a G.

Materiál a metodika: V současné době se molekulární typizace *S. pyogenes* provádí pomocí sekvenční analýzy části emm genu za použití dvou vysoce konzervovaných primerů. Hypervariabilní sekvence určující sérospecifitu M proteinu leží v blízkosti jednoho z primerů a zesiluje sekvence, což umožňuje přímé sekvenování. Gen emm je amplifikován a sekvenován dle protokolu na http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/protocol_emm-type.htm. Určení typu a subtypu emm se provádí na webových stránkách Centra pro kontrolu a prevenci nemocí CDC <http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/strepblast.htm>. Emm typ je pak definován minimálně 95% shodou prvních 150 bází kódujících zralý M protein.

Emm typizace umožňuje sledování typové příslušnosti kmenů a porovnání výsledků na mezinárodní úrovni i v časově nezávislých souborech a nahrazuje dříve používanou M typizaci. Utvoření evropské databáze poskytuje celoevropsky srovnatelná data o distribuci emm typů v populaci.

Výsledky obdržené ze sekvenátoru jsou prohlíženy základním programem „Segman Expert Sequence Analysis Program“ verze 32,4,03, nebo programem BioNumerix. Dále jsou odeslány k porovnání s nukleotidovými sekvencemi všech celosvětově evidovaných emm typů a jejich alel.

Výsledky: V období let 2012–2016 bylo v NRL pro streptokokové nákazy vyšetřeno celkem 323 izolátů *Streptococcus pyogenes*. Bylo zjištěno 52 různých emm typů. V uvedeném období prevalence typ *emm1* (27,96%) následovaný typem *emm89* (12,07%) a typem *emm28* (11,46%).

Závěr: Databáze CDC v současné době zahrnuje M typově specifické hypervariabilní oblasti okolo 200 variant emm typů a 50–100 jejich alel.

NRL pro streptokokové nákazy je jedinou laboratoří v ČR, která provádí typizaci kmenů *S. pyogenes* od roku 2003 pro regionální laboratoře a klinická pracoviště v ČR. Od té doby bylo provedeno více než 900 emm typizací.

P-42

Tvorba perzisterů *Staphylococcus aureus* u pacientů s chronickou infekcí

Váchal M.¹, Kubištová L.¹, Tkadlec J.², Melter O.², Lichá I.¹

¹Katedra genetiky a mikrobiologie, Přírodovědecká Fakulta Univerzity Karlovy, Praha; ²Ústav lékařské mikrobiologie, 2. Lékařská Fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní Nemocnice Motol, Praha

Úvod: *Staphylococcus aureus* patří mezi dominantní původce infekcí respiračního traktu pacientů s cystickou fibrózou (CF). Chronickým zánětem změněné prostředí v dolních dýchacích cestách vede k adaptačním změnám v populaci *S. aureus*, které lze pozorovat rovněž na úrovni fenotypu. Nejznámějšími jsou např. zvýšená tvorba intracelulárně lokalizovaných auxotrofních stafylokoků (*small colony variants* – SCV), změna hemolytické aktivity a zisk rezistence. Rovněž schopnost bakterií perzistovat a odolávat účinku antibiotik je sice dávno známý fenomén, ale doposud nejsou zcela objasněny mechanismy, jakými perzistentní subpopulace bakterií vznikají.

Materiál a metodika: Do studie byly vybrány čtyři klinické izoláty *S. aureus*, které byly chronologicky vykultivované ze sputa jednoho pacienta s CF v průběhu tří let, z toho tři z nich byly klonální. Měřením křivek hynutí byla stanovena schopnost perzistovat po účinku různých antibiotik. Pilotně byl sledován účinek gentamicinu a ciprofloxacinu, které se u pacientů CF používají rovněž na léčbu ko-infekce vyvolanou *Pseudomonas aeruginosa*.

Výsledky: Perzistence klinických izolátů ve srovnání s referenčním kmenem *S. aureus* (ATCC 25923) se měnila a to jednak u jednotlivých izolátů, tak antibiotika a jejich koncentrace. Největší rozdíly byly stanoveny pro ciprofloxacin a izolát po antibiotické léčbě pacienta. U izolátu byla schopnost tvořit perzistery k ciprofloxacinu zvýšená o dva řády a rovněž v křivce hynutí nevykazoval typický bifázický průběh ani při stonásobné minimální inhibiční koncentraci (MIC). I po působení ostatních antibiotik vykazoval zvýšenou schopnost tvořit perzistery o minimálně jeden řád. Izolát nebyl rezistentní k ciprofloxacinu před, ani po experimentech stanovení křivek hynutí.

Závěr: Působení antibiotik při léčbě chronických infekcí může u bakteriálních buněk zvyšovat schopnost perzistovat, i přesto, že nebyla vyvinuta rezistence k tomuto antibiotiku. V této schopnosti se testované izoláty lišily v závislosti na datu odběru, historii léčby a použitém antibiotiku. Perzistence byla zvýšená u izolátu bezprostředně po antibiotické léčbě, po vysazení antibiotik se tato schopnost opět snižovala. Nicméně byla vždy vyšší než u referenčního kmene. Příčiny budou nadále studovány dalšími fenotypovými a genotypovými přístupy.

Projekt byl financován z grantu Ministerstva zdravotnictví (AZV) číslo 17-30460A/2017 a Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy – SVVV 2017-260426.

P-43

Celogenomová analýza sérotypů adenovirů u pacientů po alogenní transplantaci hematopoetických kmenových buněk

Kramná L.¹, Briksí A.², Železná I.¹, Šumová J.², Veselá K.¹, Hubáček P.², Cinek O.¹

¹*Pediatrická klinika, 2. lékařská fakulta UK a Fakultní nemocnice v Motole, Praha;* ²*Ústav lékařské mikrobiologie, Fakultní nemocnice v Motole, Praha*

Úvod: Adenoviry představují závažný problém pro pacienty s imunosupresivní léčbou, včetně imunosuprese po transplantacích. Způsobuje u nich nejen průjemová onemocnění, ale i těžké hepatitidy a pneumonie, které mohou vést i k úmrtí. Přenos probíhá zpravidla kapénkovou infekcí, ale mohou se rozvinout i v důsledku endogenní reaktivity viru. V letech 2011 až 2016 bylo ve Fakultní nemocnici v Motole transplantováno 171 dětských pacientů, z toho u 111 (65 %) byly zaznamenány adenovirové infekce, což představuje nárůst oproti roku 2010 o 30 %.

Cílem analýzy bylo provést sekvenaci celých genomů vybraných adenovirů a porovnat jejich fylogenetickou příbuznost. Dále pak určit, zda dochází k endogenním reaktivacím různých adenovirových genomů či k přenosu jednoho viru v rámci transplantační jednotky.

Materiál a metodika: Náš soubor obsahoval 17 dětských pacientů (5 dívek), kteří podstoupili transplantaci hematopoetických krevních buněk ve věku od 0.4 do 16.8 let (medián 6.9 let). Pacienti byli vybráni pro závažnější průběh infekce (pozitivita na adenovirus nalezena ve stolici i v krvi). Od každého z nich byla sekvence provedena z 1 až 22 vzorků stolice (medián 4 vzorky na pacienta), odebraných 640 dní před až 468 dní po transplantaci (medián 116 dní pro odběr vzorku po transplantaci). Celkem bylo sekvenováno 96 vzorků. Příprava vzorků spočívala v přepisu náhodných fragmentů virové DNA, jejich amplifikaci, opatření fragmentů indexy a provedení sekvenování nové generace (NGS) na přístroji MiSeq, Illumina.

Výsledky: Z nalezených sérotypů převládal ve většině případů adenovirus A sérotyp 31, 12 pacientů (71%). U 4 pacientů (24%) byl nalezen adenovirus C sérotyp 2. V naprosté většině případů nedošlo za zkoumané období ke změně sérotypu v rámci pacienta. Výjimku tvořil jeden pacient, u něž došlo k výskytu dvou episod adenovirové infekce s ročním odstupem. Data z NGS stačila k pokrytí celých adenovirových genomů pouze u 48 % vzorků. Proto byl pro následnou fylogenetickou analýzu vybrán gen pro hexon, protein virové kapsidy. Maximální nalezená variabilita v tomto genu byla 0.07 % (2 báze na 2800 bazí) v rámci sérotypu 31 a 0.1 % (3 báze na 2800 bazí) v rámci sérotypu 2. Vliv sérotypu na mortalitu pacientů nebyl prokázán, stejně jako se neprokázal rozdíl mezi nalezeným sérotypem a jeho množstvím ve vzorku měřeným kvantitativním PCR.

Závěr: Celogenomové sekvenování umožňuje sledování vývoje virů v čase. Fylogenetická analýza genu pro hexon naznačuje výskyt dvou stabilních adenovirových genomů ve zkoumaných vzorcích.

P-44

Biologické souvislosti chromosomálně integrovaného 6. lidského herpesviru (HHV-6) u pacientů po transplantacích

Hubáček P.^{1,3}, Šumová J.¹, Chramostová P.¹, Nováková V.¹, Konkolyová J.¹, Havlín J.², Keslová P.³, Janečková J.³, Šrámková L.³, Kouba M.⁴, Válková V.⁴, Marková-Šťastná M.⁴, Vydra J.⁴, Briksí A.¹, Sedláček P.³, Cetkovský P.⁴, Lischke R.², Zajac M.¹

¹Ústav lékařské mikrobiologie, 2. Lékařská fakulta UK a FN Motol, Praha; ²3. chirurgická klinika, 1. Lékařská fakulta UK a FN Motol, Praha; ³Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. Lékařská fakulta UK a FN Motol, Praha; ⁴Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

Chromosomální integrace HHV-6 (Ci-HHV-6) je zajímavý biologický fenomén ojedinělý mezi lidskými herpesviry s různými biologickými a diagnostickými souvislostmi u pacientů po transplantacích. Obě varianty viru mohou být zděděny a až dosud nebyla popsána de-novo integrace. Je známo že se některé proteiny těchto integrovaných prozánětlivě působících virů přepisují. Díky mendelovské dědičnosti a tak výskytu HHV-6 DNA ve všech tkáních nosiče s poměrem 1:1 k lidské DNA a potvrzení je pak detekce HHV-6 ve vzorku vlasů, či nehtů. Proto je třeba zejména u vysokých pozitivit HHV-6 DNA mít možnost Ci-HHV-6 na paměti.

Mezi roky 2003–2016 jsme testovali přítomnost HHV-6 pomocí kvantitativní real-time PCR v 8126 vzorcích od 326 dětí a 652 dospělých po alogenní transplantaci kmenových buněk krvetvorby (HSCT) a od 141 převážně dospělých pacientů po uni-bilaterální transplantaci plic. U 990 pacientů jsme zároveň otestovali před transplantační vzorek. Kvantita HHV-6 byla vyjádřena pomocí po normalizaci na 10000 lidských genomických ekvivalentů pomocí normalizované virové nálože (NVCs). Případné vzorky BAL, stolice, moči a dalších biologických nízce až acellulárních materiálů jsme vyjádřili na 1 ml. Diskriminaci mezi HHV-6A a HHV-6B jsme provedli také pomocí real-time PCR.

HHV6 DNA jsme detekovali u 904 vzorcích (11,5%) a 94 dětí (28,8%) a 100 dospělých pacientů po HSCT, 46 dětech a 25 dospělých pacientech před HSCT a 11 pacientech po a 6 pacientech před transplantací plic.

Mezi těmito pacienty jsme potvrdili Ci-HHV-6 u 5 příjemců transplantace (4 HSCT (0,4%) a 1 plic (0,7%)) a 8 dárců (7 HSCT a 1 plic; další 3 jsou suspektní). U 8 pacientů s Ci-HHV-6 jsme prokázali HHV-6A, u zbylých pak HHV-6B; 7 z pacientů transplantovaných buď s Ci-HHV-6, či od dárce s Ci-HHV-6 již zemřelo a pokud jsme měli možnost vyšetřit tkáň byly také vysoce pozitivní. U jednoho pacienta po HSCT jsme potvrdili EBV-LPD od dárce s Ci-HHV-6. U pacientů s Ci-HHV-6 po transplantaci plic jsme pozorovali nálože HHV-6 DNA mezi 931000 a 33447000 kopiemi / 1 ml BAL. Při transplantaci plic od dárce s Ci-HHV-6 jsme pak pozorovali kontinuální pozitivitu v periferní krvi 58 dní po transplantaci.

V naší práci jsme potvrdili obdobný výskyt Ci-HHV-6 jako v jiných zemích a našich předchozích studiích. Dlouhodobá přítomnost HHV-6 DNA pak přináší otázku možného dopadu přítomnosti HHV-6 DNA a některých přepisovaných proteinů na klinických stav pacienta, průběh transplantace a jejích komplikací a zároveň na nutnost opatrného posuzování výsledků.

Podpořeno projektem RVO MZ ČR 00064203.

Aktuality v oborech

P-45

Prevence vybraných zoonóz s využitím produktů na rostlinné bázi

Nejezchlebová H., Žákovská A., Čvanda R.

Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta MU Brno

Úvod: Stále vysoký počet pacientů s nemocemi, jejichž původce přenášejí klíšťata, a respekt k averzi části veřejnosti k syntetickým repelentům nás přivedl k myšlence provést studii zaměřenou na analýzu vybraného spektra přírodních látek s repelentním potenciálem – rostlinných esenciálních olejů.

Materiál a metodika: K testování rostlinných esenciálních olejů (*in vitro*) byla použita vertikálně orientovaná aparatura vyhřívaná na 36,5 °C, umožňující imitovat některé aspekty ataku klíštěte na člověka v přírodě (tělesná teplota aj.). Benefitem této studie je také to, že testovaná klíšťata (*Ixodes ricinus* L.) pocházela ze sběru ve volné přírodě (lokalita Ruda a Pisárky, Brno), vykazovala reálnou motivaci přichytit se na hostitele a chování testovaných jedinců celkově nebylo ovlivněno historií umělého laboratorního chovu.

Výsledky: Při testované koncentraci 0,8 mg/cm² se ukázalo, že v intervalu 0–30 minut po nanesení oleje jsou tyto látky schopny odpudit vysoké procento členovců: 100 % (mateřídouškový, levandulový olej), 97 % (hřebíčkový), 80 % (mátový), 77 % (rozmarýnový a citronový), 67 % (eukalyptový).

V intervalu 2–2,5 hod. po nanesení byla repelentní schopnost následující: 100 % (levandulový, hřebíčkový olej), 90 % (mátový), 77 % (rozmarýnový, mateřídouškový), 60 % (citronový), 54 % (eukalyptový).

Závěry: Výsledky komparační studie ukazují, že užití esenciálních olejů může mít významný potenciál v ochraně člověka proti klíšťatům, nicméně efekt může být ovlivněn mnoha faktory (chemická povaha testované látky, rychlost vypařování, teplota prostředí, ...)

Práce byla finančně podpořena z prostředků Specifického vysokoškolského výzkumu MU.

P-46

Vzdělávací programy ECDC v epidemiologii a mikrobiologii pro veřejné zdraví

Orlíková H., Křížová P., Kynčl J., Macková B.

Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha

Systémy veřejného zdraví i struktura vzdělávání ve zdravotnictví se markantně liší v jednotlivých zemích Evropy. Proto Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC) vypracovalo seznamy navrhovaných základních kvalifikačních předpokladů pro odborníky na všech úrovních správy veřejného zdraví pracující v oblasti dozoru nad přenosnými nemocemi.

ECDC organizuje vzdělávací programy určené odborníkům v oblasti veřejného zdraví v členských státech Evropské unie. Tyto vzdělávací aktivity směřují k posílení budování lidských zdrojů v evropských státech ve sféře veřejného zdraví a infekčních nemocí a podporují zapojení do evropských odborných sítí.

K vzdělávacím programům ECDC patří především „European Programme for Intervention Epidemiology Training“ (EPIET) a „EU Public Health Microbiology training programme“ (EUPHEM), což jsou dvouleté stáže doplněné řadou školení v epidemiologii nebo v mikrobiologii pro veřejné zdraví, určené pro odborníky na začátku či uprostřed kariéry. Pro oba programy jsou k dispozici dvě formy stáže: EU-Track a MS-Track. Státní zdravotní ústav (SZÚ) je aktuálně aktivním školícím místem pro EUPHEM. EU-Track v SZÚ úspěšně proběhl v letech 2012–2014, v roce 2017 bude v září zahájen MS-track. Důležitou součástí tréninku je i účast na vědecké a vzdělávací konferenci ECSAIDE „European Scientific Conference on Applied Infectious Diseases Epidemiology“, navštěvované odborníky ve veřejném zdraví v oblasti přenosných nemocí.

V rámci celoživotního vzdělávání specializovaných odborníků jsou organizovány krátké kurzy zaměřené na zkušené pracovníky ve specifické oblasti. V posledním období ECDC zastřešuje některé výměnné pobyty na školících pracovištích „Senior Exchange Initiative“ a podporuje projekty členských zemí v rámci pilotního programu „Country Support Strategy“.

Počet účastníků na školeních, workshopech, odborných mítincích, stážích a výměnných pobytech pořádaných ECDC je limitovaný, proto je zdůrazňována potřeba návazného předávání získaných informací, znalostí a dovedností v rámci členské země.

Další možností, která se nabízí širší odborné veřejnosti, je bezplatné vzdělávání online. Lze využít nabídku e-learningových kurzů vytvořených ECDC nebo e-learning jiných firem, např. Future Learn, Coursera apod. „ECDC Virtual Academy“ (EVA) je nová online výuková platforma, přes kterou se registruje na kurzy ECDC. „Field Epidemiology Manual Wiki“ (FEM Wiki) poskytuje jednak řadu studijních materiálů pro školící programy v terénní a intervenční epidemiologii a slouží i jako platforma pro diskusi o teoretických a praktických aspektech terénní epidemiologie. Efektivní formou výuky je kombinovaný přístup s využitím online přípravy a následného školení na místě.

Je žádoucí využít nabídky vzdělávacích programů ze strany ECDC a zkušenosti následně implementovat v praxi v rámci České republiky.

Přehled o vzdělávacích aktivitách ECDC je dostupný na webu ECDC:

http://ecdc.europa.eu/en/aboutus/what-we-do/training_activities/Pages/index.aspx

P-47

Elektronické hlášení infekčních nemocí v reálném čase

Šípková I.¹, Chrdle A.², Tůma L.³, Ochozka V.³, Chmelík V.²

¹Pracoviště nemocničního epidemiologa, Nemocnice České Budějovice, a.s., České Budějovice;

²Infekční oddělení, Nemocnice České Budějovice, a.s., České Budějovice; ³STAPRO, s.r.o., Pardubice

Česká republika má dlouholetou tradici ve sledování výskytu infekčních onemocnění. Statistiky a vývojové trendy vyhodnocuje Státní zdravotní ústav, který získává data od pracovníků Krajských hygienických stanic (KHS) prostřednictvím softwaru EpiDat. Platná legislativa (Vyhláška Ministerstva zdravotnictví (MZ ČR) č. 306/2012 Sb.) ukládá osobám poskytujícím zdravotní péči (což podle naší interpretace znamená lékař) hlásit infekční onemocnění orgánu ochrany veřejného zdraví (tj. místně příslušné Krajské hygienické stanici) podle místa výskytu onemocnění. Vyplňování klasického papírového formuláře „Hlášení infekčních nemocí“ (tzv. „červená hlášenka“) a jeho odesílání poštou je pracný, časově náročný a pomalý způsob předávání informací spojený s určitým procentem podhlášení nemocí.

V Nemocnici České Budějovice, a.s. jsme proto vznesli požadavek na našeho dodavatele nemocničního informačního systému (NIS) na elektronické zasílání dat na KHS. Základním požadavkem bylo, že systém musí být pro hlásící lékaře rychlý a uživatelsky příjemný, a dále že musí napovídat povinnost hlásit a hlídat případné nenahlášené případy.

V prvním kroku byl do NIS implementován základní formulář „červené hlášenky“ doplněný o údaj o registrujícím praktickém lékaři a telefonickým spojení na pacienta. Základní údaje o pacientovi již jsou uvedeny v centrálním registru NIS a do předepsaného formuláře se automaticky „natáhnou“ ze zdravotnické dokumentace. Lékař pouze doplní upřesňující údaje o nemoci. Po uložení formuláře se pomocí zabezpečené šifrované komunikace hlášenky elektronicky přepošlou na KHS.

Ve druhém kroku byl do systému vykazování diagnóz nastaven filtr, který lékaře automaticky upozorňuje na povinnost hlásit při každém zadání nové diagnózy, která je uvedena v systému EpiDat, a nabízí možnost rovnou nahlásit krátkým odskočením do hlásícího formuláře.

O provedeném nahlášení infekční nemoci je veden elektronický záznam s časovým razítkem, který se překopíruje do propouštěcí zprávy. Při uzavření nemocniční epizody (chorobopisu) NIS zkontroluje, zda bylo hlášení provedeno a tam, kde chybí, zablokuje uzavření chorobopisu až do doby, než je infekční nemoc nahlášena.

Systém byl pilotně vyzkoušen nejprve na infekčním oddělení. V současné době je program instalován v celé nemocnici na všechny počítače, které používají lékaři. Jedná se o uživatelsky velmi příjemný nástroj, který eliminuje repetitivní, intelektuálně nepodnětnou práci vyplňování hlášení, velmi významně zkracuje čas potřebný pro splnění této zákonné povinnosti, zabrání podhlášení a navíc umožňuje rychlou komunikaci v epidemiologicky závažných situacích v reálném čase.

P-48

Mohou myši reprodukovat lidský střevní mikrobiom? Zkušenost získaná od dvou dětí reprezentujících extrém ztráty beta-buněk během intervenční studie s bezlepkovou dietou

Neuman V.¹, Cinek O.¹, Funda D.², Hudcovic T.³, Kramná L.¹, Petruželková L.¹, Šumník Z.¹

¹*Pediatrická klinika 2. LF a FN v Motole, Praha;* ²*Mikrobiologický ústav Akademie věd ČR, Praha;*

³*Mikrobiologický ústav Akademie věd ČR, Nový Hrádek*

Úvod: Období krátce po manifestaci diabetu 1. typu je v současné době často cílem intervenčních studií se snahou zastavit progresi inzulitidy. Náš tým v současné době provádí otevřenou multicentrickou studii se zavedením bezlepkové diety v prvním roce po manifestaci diabetu, během níž primárně porovnáváme odpověď stimulovaného C-peptidu po provedení testu smíšenou stravou. Zde přinášíme výsledky přenosu dvou lidských střevních mikrobiomů do kolonií bezmikrobních NOD myši. K přenosu mikrobiomu byla použita stolice dětí na obou extrémech odpovědi C-peptidu.

Metodika: Dvacet čtyři dětí bylo do května 2017 zařazeno do studie krátce po manifestaci diabetu 1. typu a sledováno dle protokolu, který zahrnoval tři testy smíšenou stravou (krátce po zahájení, v šestém a dvanáctém měsíci) a odebráním pěti vzorků stolice na monitoraci mikrobiálního profilu. Třinácti z těchto dětí bylo zařazeno do intervenční skupiny, již byla nasazena bezlepková dieta. Její dodržování bylo kontrolováno pomocí imunoreaktivního peptidu glutenu. Protokol rovněž zahrnoval odběr čerstvých vzorků stolice, které byly ihned zpracovány a zmrazeny pro následný přenos bezmikrobním samičkám NOD myši. Myši byly poté krmeny běžným sterilním krmivem obsahujícím lepek.

Výsledky: Diverzita mikrobiomu u našich pacientů v rámci skupiny se výrazně nelišila a svoje mikrobiální osídlení si udržovali stále. U myši měl převzatý mikrobiom signifikantně menší diverzitu ($p < 10^{-5}$ pro všechny indexy) než dárcovský, zejména v souvislosti s výraznějším zastoupením kmene *Bacteroides* na úkor kmene *Firmicutes*. To mohlo být způsobeno různou citlivostí anaerobů ke kyslíku během zpracování nebo variabilitu ve schopnosti myši a lidí hostit jednotlivé druhy. Zajímavé je, že mnoho důležitých druhů (např. *Akkermansia* z kmene *Verrucomicrobia*) adekvátně odráželo četnost v dárcovském mikrobiomu. Jednotlivé profily byly těsně spojeny a během sledování se měnily pouze mírně.

Závěr: Bezmikrobní NOD myši jsou schopné převzít velkou část lidského střevního mikrobiomu i když poměry některých kmenů jsou suboptimálně reprodukovány. Užití tohoto modelu může pomoci rozlišit míru vlivu střevního mikrobiomu od efektu samotné bezlepkové diety.

ISBN 978-80-906662-5-2