

**Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové**



**Průnik β -laktamových antibiotik do likvoru
a jeho vztah k markerům zánětu
v průběhu invazivní bakteriální infekce**

Petr Prášil

Disertační práce

Doktorský studijní program *lékařská mikrobiologie*

Hradec Králové

2010

Disertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia doktorského studijního programu lékařská mikrobiologie na Ústavu klinické mikrobiologie Lékařské fakulty University Karlovy v Hradci Králové.

- Autor: MUDr. Petr Prášil
Klinika infekčních nemocí Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice
v Hradci Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
- Školitel: Doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.
Ústav klinické mikrobiologie Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice
v Hradci Králové
- Školitel konzultant: RNDr. Irena Hanovcová, CSc.
Katedra epidemiologie, Fakulta vojenského zdravotnictví
v Hradci Králové, University obrany v Brně
- Prohlášení: Práce nebyla sponzorována ani nezakládá na střet zájmů.
- Čestné prohlášení: Projekt byl schválen etickou komisí Fakultní nemocnice
Hradec Králové pod číslem jednacím 200406 S01.

Obsah

I.	Souhrn	4
II.	Seznam použitých zkratek	8
III.	Úvod	9
	Sepse a purulentní meningitida	10
	Imunologické aspekty invazivní bakteriální infekce	14
	Antibiotická strategie v terapii sepse	16
	Komplexní terapie invazivní bakteriální infekce	18
	Purulentní meningitidy	21
	Klinický obraz	23
	Diagnostika	24
	Terapie	24
	Předpoklady úspěšné antibiotické terapie purulentních meningitid	26
IV.	Cíle práce	32
V.	Materiál a metodika	33
	Zkoumaná antibiotika	33
	Benzylpenicilin (Benzylpenicillinum calcicum), krystalický penicilin G - draselná sůl	33
	Cefotaxim (Cefotaximum natrium)	34
	Ceftriaxon (Ceftriaxonum dinatricum trihemihydricum)	36
	Způsob řešení	37
	Pacienti a odběr materiálu	37
	Zpracování a vyšetření biologického materiálu	38
	Biochemické a hematologické vyšetření	38
	Stanovení baktericidie likvoru	38
	PCR metoda	38
	Biologická metoda vyšetření hladin ceftriaxonu, cefotaximu a krystalického penicilinu G – draselná sůl	39
	Materiálové a přístrojové zajištění	41
	Statistika	42
VI.	Výsledky	44
	Ceftriaxon	44
	Krystalický penicilin G – draselná sůl	45
	Cefotaxim	46
VII.	Diskuse	47
	Hladiny ceftriaxonu	48
	Hladiny krystalického penicilinu G draselná sůl	50
	Hladiny cefotaximu	51
VIII.	Závěr	67
IX.	Literatura	70
	Poděkování	81

I. Souhrn

Cíl: Vyhodnotit průnik β -laktamových antibiotik (ceftriaxon, krystalický penicilin G – draselná sůl a cefotaxim) do mozkomíšního moku přes zánětlivě změněnou hematoencefalickou bariéru. Najít korelaci jeho průniku do likvoru v závislosti na laboratorních markerech zánětu.

Materiál a metody: Hladiny β -laktamových antibiotik byly vyšetřeny u 24 pacientů s invazivní bakteriální infekcí. U všech nemocných byl hodnocen průnik antibiotik do likvoru (kvocient likvor/sérum $K_{l/s}$, likvor $n = 24$, sérum $n = 24$) pomocí mikrobiologické metody vycházející z modifikovaného diskového difúzního testu a korelován s laboratorními markery zánětu (CRP, fibrinogen, počty neutrofilů v likvoru). Kultivačně pozitivní likvory ($n = 13$) byly vyšetřeny na baktericidii. Vedle toho byly stanoveny u 14 pacientů (28 vzorků) sérové hladiny antibiotik před a po podání. Celkem bylo vyšetřeno 76 vzorků biologického materiálu. Na hladiny ceftriaxonu bylo vyšetřeno celkem 52 vzorků, na hladiny penicilinu 20 vzorků a na hladiny cefotaximu 4 vzorky.

Výsledky: Rozdíl průměrné hladiny ceftriaxonu v séru před podáním ($31,2 \text{ mg/l} \pm \text{SD } 12,29$) a po podání ($300,0 \text{ mg/l} \pm \text{SD } 125,9$) byl statisticky významný ($p = 0,000156$). Pokles hladin v mozkomíšním moku v porovnání se sérem byl pozvolnější. Hodnoty testovaných parametrů zánětu byly celkově vyšší u pacientů s $K_{l/s} \geq 0,1$ v porovnání s pacienty s $K_{l/s} < 0,1$, pro počty segmentů v likvoru ($p = 0,0112$), CRP ($p = 0,00192$) a fibrinogen ($p = 0,0178$). Avšak žádný z těchto markerů zánětu (nebo jejich kombinace) spolehlivě nepredikoval rozsah průniku ceftriaxonu do likvoru. Průměrné hladiny penicilinu v séru před podáním ($14,3 \text{ mg/l} \pm \text{SD } 15,8$) a po podání ($110,38 \text{ mg/l} \pm \text{SD } 63,9$) byly statisticky významné ($p = 0,0216$). Koncentrace penicilinu v séru rychle klesaly v průběhu 4 hodinového dávkovacího intervalu. Hodnoty CRP a segmentů v likvoru korelovaly s $K_{l/s}$ jako popis situace vyššího průniku, ale ani zde nebyl nalezen marker zánětu (nebo jejich kombinace) předikující rozsah průniku penicilinu do likvoru. Cefotaxim nebyl pro malé počty dat hodnocen.

Závěr: Vysoké koncentrace ceftriaxonu a penicilinu po podání v séru jsou předpokladem jeho efektivního průniku přes zánětlivě změněnou hematoencefalickou bariéru. Zvýšený průnik antibiotika byl přímo úměrný výši systémové zánětlivé odpovědi (kromě fibrinogenu u penicilinu), avšak žádný z testovaných markerů zánětu spolehlivě nekoreloval s predikcí velikosti průniku antibiotik do likvoru. Průnik ceftriaxonu a krystalického penicilinu G – draselná sůl do likvoru zůstává (při schématu 24 hodinového režimu podávání u ceftriaxonu a 4 hodinovém schématu u penicilinu), efektivní léčbou, která zajišťuje účinné baktericidní

koncentrace. Prodloužení dávkovacího intervalu u penicilinu nemůžeme doporučit pro riziko poklesu jeho efektivních hladin.

Klíčová slova: ceftriaxon, penicilin, purulentní meningitida, hematoencefalická bariéra, markery zánětu

Penetration of β -lactam antibiotics into cerebrospinal fluid and its relationship to inflammatory markers during invasive bacterial infection

Summary

Aim: In this doctoral thesis, the penetration of β -lactam antibiotics (ceftriaxone, crystallic penicillin G – potassium salt and cefotaxime) into the cerebrospinal fluid (CSF) in patients with bacterial meningitis was evaluated and the correlation between the penetration and laboratory markers of inflammation was determined.

Material and methods: Levels of β -lactam antibiotics in serum and CSF were determined in 24 patients (76 samples) with invasive bacterial infection. In all patients (n=24) the CSF/serum ratio for antibiotics was calculated and it was correlated with laboratory markers of inflammation (C-reactive protein, fibrinogen, and CSF numbers of neutrophils). Besides, CSF was examined by a modified bactericidal test in patients (n=13) with positive bacterial culture. In 14 patients (28 samples) levels of serum antibiotic concentration, both before and after its administration, were measured by biological assay based on agar diffusion test. Ceftriaxone was tested in 52 samples, penicillin in 20 samples and cefotaxime in 4 samples.

Results: Serum levels of ceftriaxone before and after administration ($31.2 \text{ mg/l} \pm \text{SD } 12.29$ and $300.0 \text{ mg/l} \pm \text{SD } 125.9$, respectively) differed with a statistical significance ($p = 0.000156$). A decrease of ceftriaxone levels in CSF was more lenient than in serum. Further, a significant difference between value of inflammatory markers and value of CSF/serum ratio ($K_{1/s}$) of ceftriaxone was observed. Patients with ratio values above 0.1 had higher values of CRP ($p = 0.00192$), fibrinogen ($p = 0.0178$) as well as CSF numbers of neutrophils ($p = 0.0112$), in comparison with patients with ratio lower than 0,1. However, no inflammatory markers or their combination could reliably predict the extent of ceftriaxone penetration into CSF. Serum levels of penicillin before and after administration ($14,3 \text{ mg/l} \pm \text{SD } 15,8$ and $110,38 \text{ mg/l} \pm \text{SD } 63,9$) differed with statistical significance as well ($p = 0,216$). In serum the penicillin concentration was, within 4-hour dosing interval, decreasing fast. CRP values and CSF numbers of neutrophils levels correlated with $K_{1/s}$, tracking the higher penetration. However, no inflammatory markers nor their combination could reliably predict the extent of penicillin penetration into CSF. Cefotaxime was not assessed because of insufficient data.

Conclusion: High serum concentrations of ceftriaxone and penicillin are presumption of their efficient passage through the inflamed blood-brain barrier. The higher antibiotic penetration correlated with an intensity of systematic inflammatory response (with one

exception for fibrinogen in penicillin). However, no inflammatory markers could reliably predict the extent of antibiotic penetration through the blood-brain barrier. Anyway, the passage of ceftriaxone and penicillin into CSF remains, with a 24-hour dosage mode for ceftriaxone and a 4-hour dosage scheme for penicillin, an efficient therapy of purulent meningitis. The prolongation of penicillin dosing interval can not be recommended because of a hazard fall of its effective levels.

Keywords: ceftriaxone, penicilin, bacterial meningitis, blood-brain barrier, inflammatory markers

II. Abecední seznam použitých zkratk:

CCM	Czech Collection of Microorganisms
CNS	centrální nervová soustava
CRB	catheter – related bacteremia
CRS	catheter – related sepsis
CT	počítačová tomografie
DIC	diseminovaná intravaskulární koagulopatie
DNA	deoxyribonukleová kyselina
FBG	fibrinogen
FN HK	Fakultní nemocnice Hradec Králové
FW	sedimentace erytrocytů
HLA	human leukocyte antigens
HPLC	high pressure liquid chromatography
IL	interleukin
KIN	Klinika infekčních nemocí
$K_{l/s}$	kvocient likvor/sérum
$K_{s/s}$	kvocient sérum/sérum
LF	Lékařská fakulta
LWMH	nízkomolekulární heparin
MAM	mykoplasmový antigen
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MIU	milion mezinárodních jednotek
MHC	major histocompatibility komplex
MODS	multiple organ dysfunction syndrome
MR	magnetická nukleární rezonance
PAF	platelet-activating factor
pCO_2	parciální tlak CO_2
PCR	polymerase chain reaction
SIRS	systemic inflammatory response syndrom
SPE – A	enterotoxin stafylokoka A
TFPI	tissue factor pathway inhibitor
TNF	tumor necrosis factor
TSST	toxin šokového syndromu
VAP	ventilator-associated pneumonia

III. Úvod

Diagnostika a léčba pacientů s invazivní bakteriální infekcí je trvalou výzvou pro klinické lékaře a mikrobiology. I přes významný pokrok, kterého bylo v této oblasti v posledních letech dosaženo, včetně rozšíření vakcinace proti četným původcům invazivních bakteriálních infekcí, jsou počty pacientů s diagnózou purulentní meningitidy, sepse či jiných život ohrožujících infekcí nadále vysoké. Těchto onemocnění je ročně v České republice (ČR) hlášeno kolem 300 - 350 případů a u téměř poloviny z nich jde o děti do 15 ti let věku [1].

V průběhu let dochází k rozšíření počtů a skupin rizikových pacientů, kteří jsou ohroženi vznikem těchto infekcí. Přibývá imunokompromitovaných nemocných (infekce HIV/AIDS, hematoonkologická onemocnění, transplantovaní pacienti, hemodialyzovaní nemocní, nedonošenci...), rostou počty invazivních výkonů (centrální katétry, epidurální katétry, fibroskopická vyšetření...), stále častěji se setkáváme s implantovanými cizorodými materiály. Tato diagnostika, medicínské postupy a léčba je i přes svoje nesporné přínosy zatížena dalším rizikem vzniku život ohrožující infekce. Další skupinu představují cestovatelé. Cestovní ruch se v posledních letech nebývale rozšířil i do exotických oblastí a je vždy spojen s možností získání závažné infekce.

I v současné době vysoce účinných antibiotik, včetně antibiotik s dobrým průnikem přes hematoencefalickou bariéru a do dalších tělních kompartmentů, v době vysoce specializovaných jednotek intenzivní péče se špičkovým materiálním, přístrojovým i personálním zázemím, je smrtnost těchto onemocnění nadále vysoká a jen u purulentních meningitid neklesla pod 10%. Asi 15 % nemocných má po prodělané invazivní bakteriální infekci trvalé následky [2-4].

Obecně přijímanou kauzální terapií těchto onemocnění je u nás i ve světě podávání vysokých dávek β -laktamových antibiotik. Tato léčba je volena nejenom na základě empirie, ale především má podklady v mikrobiologické diagnostice - stanovení antibiotické citlivosti, minimální inhibiční koncentrace, baktericidie v jednotlivých tělních kompartmentech. Vysoké dávky těchto léků jsou předpokladem zajištění jejich dostatečné koncentrace v cílových biologických strukturách i přes zvýšené riziko jejich vedlejších nežádoucích účinků. [5-13]. Benefity a rizika spojené s takto vedenou léčbou jsou v poslední době v odborné veřejnosti diskutovány [14, 15].

Transport β -laktamových antibiotik je uskutečňován poměrně složitými fyzikálně-biologickými mechanizmy [16-23]. Je zřejmé, že v zánětlivě změněném organismu dochází k řadě dysregulací, které způsobují změny v jejich transportu a ve svém důsledku zásadně

ovlivňují farmakokinetiku a farmakodynamiku těchto léčiv. Finální koncentrace antibiotika v cílových strukturách je významnou měrou modifikována rozsahem zánětlivé odpovědi organismu s teoretickou možností úpravy dávky léčiva. Důležitou roli hraje zánětlivě změněná hematoencefalická bariéra při onemocnění purulentní meningitidou [24-28]. Výška zánětlivé odpovědi je dobře monitorovatelná řadou rutinních laboratorních vyšetřovacích metod – sedimentace (FW), stanovením počtu leukocytů a neutrofilů, hodnot C – reaktivního proteinu (CRP), prokalcitoninu, fibrinogenu (FBG) nebo je možno využít i sofistikovanějších metod vyšetřením zánětlivých cytokinů časné fáze (tumor necrosis factor α a β , interleukin-1, interleukin-2) a nebo cytokinů druhého sledu (interleukin-6, interleukin-8) [29-32].

Racionálně vedená antibiotická terapie by se měla opírat o mikrobiologickou diagnostiku, efekt léčby by měl korespondovat se zlepšujícím se klinickým stavem nemocného a v klesajících laboratorních parametrech zánětu. Základním předpokladem úspěchu antibiotické terapie je nejenom dobrá citlivost vyvolávajícího agens k podávanému antibiotiku, ale i dostatečná koncentrace antibiotika v místě zánětu.

Rutinní stanovení hladin β -laktamových antibiotik v tělních tekutinách je komplikované a není běžně prováděno u nás ani ve světě [10, 15, 18]. Tyto hladiny lze však mimo jiné experimentálně vyšetřit biologickou metodou pomocí citlivých laboratorních bakteriálních kmenů [33].

V konečném důsledku se zde nabízí možnost úpravy rutinně podávaných vysokých dávek β -laktamových antibiotik, nebo změny v jejich časových schématech u pacientů v těžkých, život ohrožujících infekčních stavech na základě výsledku monitorování hladin antibiotika a vyhodnocení míry zánětlivé odpovědi organismu.

Mezi výše uvedené stavy v infektologii řadíme především sepsi, purulentní meningitidu a sepsi s purulentní meningitidou.

Sepse a purulentní meningitida

Sepse je uváděna jako jedna z nejčastějších příčin nemocniční mortality, jde o stav vystupňované systémové odpovědi organismu na přítomnost infekce [34, 35].

Pro nejednoznačnou definici sepsy spojenou se zaměňováním řady pojmů (bakteriémie, septikémie, sepsy, septický šok...) a pro absenci jednoznačných kritérií sepsy v roce 1991 definovaly American College of Chest Physicians a Society of Critical Care medicine kritéria jednotlivých stádií infekce: bakteriémie, sepsy, těžká sepsy, septický šok a multiorgánové selhání (MODS – multiple organ dysfunction syndrome) [36].

Dále byl zaveden nový pojem – systémová zánětlivá odpověď (SIRS – systemic inflammatory response syndrom), který definuje známky zánětu infekční i neinfekční povahy. SIRS je dán přítomností minimálně dvou následujících stavů: abnormální tělesná teplota (méně jak 36,0 °C a více jak 38,0 °C), abnormální srdeční frekvence (více jak 90 tepů/min), abnormální dechová frekvence (více jak 20 dechů/min), abnormální počet leukocytů (více jak 12^9 v mm^3 , méně jak 4^9 v mm^3 , nebo více jak 10% tyčí v diferenciálním rozpočtu leukocytů). Dalším kritériem může být pCO_2 nižší než 4,3 kPa. Pojem sepse je vyhrazen pro nemocné s průkazem infekce. Jako těžká sepse je hodnocena sepse a orgánová dysfunkce dvou či více orgánů. Septický šok je pak charakterizován hypotenzí nereagující na volumoterapii se známkami orgánové hypoperfúze. Termín MODS označuje alterace funkce více orgánů nezávisle na tom, zda se tak stalo mechanismem infekčním či jiným.

Mortalita sepse je vysoká. U sepse se uvádí až 36 %, u těžké sepse až 52% a u septického šoku až 82 %. [37]. Při podezření na tuto diagnózu musí klinik vždy zhodnotit tělesnou teplotu, frekvenci srdeční, frekvenci dechu, známky periferní vazodilatace a změny mentálního stavu.

Z hemodynamických a laboratorních příznaků mohou být přítomny: nízká systémová cévní rezistence, zvýšený srdeční výdej, zvýšená spotřeba kyslíku, leukocytóza a neutropenie, laktátová acidóza, abnormality v jaterních a renálních funkcích, trombocytopenie či jiné známky diseminované intravaskulární koagulopatie (DIC), zvýšená koncentrace prokalcitoninu, CRP a cytokinů – především pak cytokinů akutní fáze ($\text{TNF } \alpha$, IL-1, IL-6, IL-8, IL-14). Všechny tyto hodnoty a stav pacienta nutno sledovat v čase a v kontextu s celkovým stavem nemocného. Je tedy zřejmé, že zhodnocení sepse není jednoduché a patří do rukou zkušeného odborníka.

Přítomnost infekčního agens je podmínkou rozvoje sepse, proto je velmi důležité rychle stanovit mikrobiologickou diagnózu pro nasazení účinné a cílené antimikrobiální terapie. Diagnostické úsilí musí vycházet z předpokladu fokusu infekce, který se snažíme odhalit především v kontextu s mikrobiologickými nálezy či naopak. U pacienta s diagnózou sepse je však nutná jistá obezřetnost při interpretaci mikrobiologických nálezů. Především je třeba odlišit mikrobiální kolonizaci od původce invazivní infekce, zhodnotit záchyty podmíněně patogenních mikroorganismů, zvážit možnost smíšené infekce, význam smíšených mikrobiálních agens, dále je nutné vzít v úvahu předchozí antibiotickou terapii. Vždy je nezbytné provádět mikrobiologické odběry „lege artis“ a především hemokultivace odebírat opakovaně a neopomenout provedení kožního stěru. U podezření na sepsi odebíráme minimálně dva vzorky krve do hemokultury, senzitivity převyšující 99% dosaženo minimálně

dvěma hemokultivacemi Pokud se jedná o infekční endokarditidu, pak v případě jedné pozitivní hemokultivace se pravděpodobnost positivity další hemokultivace zvyšuje na 95 % [38]. Validní hodnocení pouze jediné odebrané (byť pozitivní hemokultivace) je velmi riskantní pro možnost kontaminace, která je udávána mezi 1 - 4,5 % [39].

V současné době nám etiologickou diagnostiku sepse usnadňuje rozvoj molekulární biologie. Stanovení deoxyribonukleové kyseliny (DNA) patogena z periferní krve metodou polymerázové řetězové reakce (PCR – polymerase chain reaction) je o to cennější, že její záchyt neovlivní předchozí podání antibiotika.

Jako nezbytností se jeví pátrání po zdroji sepse a jeho sanace. Situace je značně usnadněna, pokud je známý buď patogen, nebo fokus infekce. Od diagnostikovaného patogena můžeme usuzovat na eventuální zdroj a na druhou stranu, pokud se zdaří lokalizovat zdroj sepse, potom můžeme odhadovat patogena.

Mezi nejčastější zdroje sepse jsou řazeny: infekce centrálního žilního katétru, bronchopneumonie, infekce operační rány a intraabdominální sepse, akalkulozní cholecystitida, sinusitida a otitida, spondylodiscitida a invazivní kandidová infekce [35], ale u komplikovanějších případů lze hledat fokus infekce prakticky kdekoliv.

Infekce centrálního žilního katétru jsou poměrně frekventní a míra pravděpodobnosti této infekce často závisí na vykultivovaném mikroorganismu. Záchyt *Staphylococcus aureus* z periferní krve zvyšuje tuto pravděpodobnost až na 92 % [40]. Mezi další podezřelé mikroorganismy řadíme koaguláza – negativní stafylokoky, *Corynebacterium* spp., druh *Bacillus* spp. a plísně, především pak *Candida* spp. [41]. Z praktických důvodů je však nutno rozlišovat, zda se jedná o bakteriémiu související s katétrelem (catheter – related bacteremia, CRB), nebo o sepsi související s katétrelem (catheter – related sepsis, CRS). Podle toho se pak odvíjí terapie. U catheter – related bacteremia se nepovažuje za chybu žilní katétr ponechat a léčit ho spolu pacientem, pokud nová kanylace přináší zdravotní riziko. Infekci centrálního žilního katétru považujeme za jistou, pokud prokážeme stejné agens z periferní krve a z odstraněného katétru. Některé studie k potvrzení infekce centrálního žilního katétru doporučují používat kvantitativní kultivace z centrálního žilního katétru, jejichž kvantita by měla být 5 × vyšší v porovnání s kultivacemi z periferní krve [42].

Faktory, které zvyšují riziko této infekce jsou: kanylace jiné žíly než vena subclavia, víceluminární katétr, obtížná a opakované kanylace, používání centrálního žilního katétru k účelům parenterální výživy, výměna katétru po vodiči, doba ponechání katétru více než jeden týden, netunelizovaný katétr (subkutánně), antiseptiky neimpregnované či antibiotiky nepotažené katétr. Velkému riziku je vystaven nemocný s popáleninami a s polytraumatem.

Bronchopneumonie jsou dalším zdrojem sepse, především pokud se jedná o tzv. ventilátorové pneumonie (VAP – ventilator-associated pneumonia).

Incidence tohoto onemocnění stoupá s dobou mechanické plicní ventilace, ale při dlouhodobé arteficiální ventilaci se denní zvyšování rizika v čase snižuje (3% zvýšení rizika za každý den v 1. týdnu, 2% zvýšení rizika za každý den v druhém týdnu a poté se zvyšuje riziko o 1 % denně) [43]. Dalšími nezávislými faktory jsou případná aspirace, enterální výživa nazogastrickou sondou, léky zvyšující pH v gastrointestinálním traktu, farmaka snižující obranné reflexy dýchacích cest [44]. VAP, je velmi často spojena se septickým šokem. Možnost záchytu příčinného agens z hemokultury je až 25 % [45]. Je tedy zřejmé, že pozitivní záchyt agens z hemokultury při VAP nemusí diagnostikovat VAP jako primární zdroj sepse. Nezbytným se pak jeví odběr dalších biologických materiálů – nejčastěji bronchoalveolární aspirát, ke zcela jednoznačnému identifikaci původce.

Významným problémem jsou infekce operační rány a intrabdominální sepse. Povrchová infekce operační rány se často manifestuje během 30 dnů po operaci, postihuje kůži nebo kůži a podkoží a jeví klinické atributy zánětu. Je - li přítomen implantát, pak se hluboká infekce operační rány může projevit i do doby jednoho roku od operačního výkonu. Tato zahrnuje fascii a hluboké svalové vrstvy. Infekce břišního orgánu či tkáně s rozvojem intrabdominální sepse se taktéž může projevit až do jednoho roku v případě přítomnosti implantátu [46]. Podezření je pak podpořeno pozitivní kultivací v místě léze. I zde je nutný odběr hemokultur, včetně odběru na anaerobní bakterie i když pozitivní záchyty nejsou příliš časté.

Akalkulózní cholecystitida je raritní, ale záradnou komplikací. Anatomickým podkladem je gangréna žlučníku, která bez včasné diagnostiky a léčby vede k perforaci. Poměrně častým vyvolavatelem je *Clostridium perfringens*, zvláště v koincidenci s traumatem či operací biliárního systému [47]. K podezření na tuto komplikaci nás vede septický stav s klinickou symptomatologií z horních břišních kvadrantů, vzestup jaterních obstrukčních enzymů a laboratorních markerů zánětu. Diagnózu potvrdí nález na ultrazvukovém vyšetření či provedené CT.

Sinusitida je stále častěji diagnostikovanou příčinou sepse u nemocných s umělou plicní ventilací. Tato komplikace je častější především v souvislosti s nazotracheální intubací, zavedenou nazogastrickou sondou či v souvislosti s úrazem hlavy. Kromě (někdy nenápadné) sekrece z vedlejších nosních dutin nemusí být příznaky patrné. Tento fokus bývá velmi častým zdrojem purulentní meningitidy. Etiologicky se uplatňuje především *Streptococcus pneumoniae*. Při podezření na sinusitidu je nezbytné provedení RTG snímku vedlejších

nosních dutin, který při pozitivním nálezu doplňujeme o CT. Punkce dutiny a odběr aspirátu na kultivaci je předpokladem cílené antibiotické terapie [48].

Spondylodiscitida může být zdrojem jak sekundární purulentní meningitidy, tak sepse. Většinou vzniká na podkladě hematogenní metastázy nejčastěji do oblasti Th-L páteře. Etiologicky se téměř vždy potvrdí *Staphylococcus aureus*. Vždy se jedná o závažný stav. Podezření na tuto jednotku vzniká u stafylokokové sepse či meningitidy z nejasného zdroje, kdy bývají přítomny bolesti bederní páteře. Spondylodiscitida bývá často spojena s infekční endokarditidou a naopak. V pokročilejších stádiích onemocnění jsou přítomny zánikové či iritační neurologické příznaky z oblastí kořenů v dané oblasti páteře. Spolehlivým diagnostickým řešením je provedení MR páteře. Starší práce zdůrazňují i vyšetření tzv. značenými leukocyty k topizaci zánětlivého procesu [49]. CT páteře nebývá přínosné.

Invazivní kandidová infekce se stává v době, kdy přibývá imunokompromitovaných pacientů, nemocných na imunosupresivní terapii a invazivních výkonů, stále závažnějším problémem. Přestože je *Candida albicans* stále nejčastěji izolovaným kmenem, stoupá incidence i jiných druhů, potenciálně rezistentních k běžným antimykotikům. Invazivní mykotické infekce jsou obecně zatíženy vysokou mortalitou od 21 % do 38 % [50]. Protože klinické známky invazivní kandidové infekce jsou velmi variabilní a nespecifické, je nutno vždy dobře odlišit kolonizaci pacienta a invazivní infekci. Rozvoj kandidové invazivní infekce však koreluje s předchozí kolonizací [50]. Pozitivní kandidová hemokultura je jednoznačnou indikací k podání antimykotik, nicméně jen 50% nemocných s diseminovanou kandidózou má pozitivní hemokultury.

Imunologické aspekty invazivní bakteriální infekce

Názory na rozvoj sepse se syndromem multiorgánové dysfunkce se přičítají hlavně vlastním obranným mechanismům pacienta a úloha mikroorganismů ustupuje do pozadí [51]. Na bakteriální infekci lidský organismus reaguje místní i celkovou imunitní odpovědí. Vždy jde o stereotypní odpověď, o tzv. akutní fázi zánětu. Na počátku infekce dochází k aktivaci nespecifické imunity. Nejprve se aktivuje komplement, a to jak cestou klasickou (vazba antigen/protilátka), tak cestou alternativní (cestou aktivátorů). Výsledkem aktivace je vznik komplementových štěpů (anafylatoxiny – především C3a a C5a), které způsobují vazodilataci se zvýšením permeability kapilár a změnou vlastností endotelu. Dále dochází k atrahování polymorfonukleárů se zvýšením jejich adherence. Změna vlastností cévních kapilár umožňuje zvýšený prostup plazmatických mediátorů zánětu (serotonin, histamin, bradykinin) a imunoglobulinů do tkání. Poté dochází (působením C5a) k aktivaci monocytů/makrofágů,

kteřé ve zvýšené míře produkují cytokiny [52, 53, 54]. Cytokiny řídí aktivaci buněk imunitního systému, řídí genovou expresi a expresi povrchově aktivních buněčných molekul, dále ovlivňují endokrinní a nervový systém.

K nejdůležitějším prozánětlivým cytokinům patří IL-6, IL-1, IL-8 a TNF α . Interleukin - 1 je hlavním mediátorem zánětu. Ovlivňuje růst a diferenciaci regulačních faktorů T a B lymfocytů, indukuje další cytokiny (především IL-2 a IL-6) a zvyšuje expresi adhezivních molekul na povrchu endotelu. Taktéž ovlivňuje sekreci kortikosteroidů. TNF α stimuluje polymorfonukleáry a endoteliární buňky k další produkci cytokinů, zvyšuje expresi adhezivních molekul na buněčných membránách, má vliv na uvolňování faktoru aktivujícího trombocyty (platelet-activating factor - PAF) a zvyšuje syntézu proteinů akutní fáze. Zdá se, že hladina tohoto faktoru přímo koreluje s tíží sepse [55].

IL-6 je zodpovědný za aktivaci hepatocytů, které pak produkují CRP a komplementový faktor 3. Literatura uvádí i určitou korelaci mezi přetrváváním zvýšených hladin IL-6 a vyšší mortalitou [56]. IL-8 především aktivuje polymorfonukleární leukocyty. Vlivem prozánětlivých cytokinů dochází k aktivaci stresové osy. Stoupá horečka, která je důsledkem působení především IL-1 na hypotalamická centra. Dochází k vyplavování polymorfonukleárů z kostní dřene a ke zvýšené syntéze proteinů akutní fáze. Cytokiny dále aktivují monocyty/makrofágy, které produkují faktory stimulující kolonie. Zvažuje se, že TNF α a IL-1 jsou zodpovědné za hypotenzi cestou spouštění dalších mediátorů (endorfiny, bradykininy, leukotrieny, prostacykliny a endotelem produkovaný myorelaxační faktor – oxid dusnatý). Tyto mediátory druhého řádu jsou zodpovědné za poškození endotelu v rámci MODS [52].

Intenzita imunitní reakce při sepsi je ovlivněna charakterem antigenního podnětu. K nejvíce imunogenním patří endotoxin *Neisseria meningitidis* a lipopolysacharidy gramnegativních enterobakterií. Podle experimentálních prací provedených na zvířeti se po podání infuze gramnegativních bakterií koncentrace tumor necrosis faktoru zvyšují za 30 minut po infuzi a vrcholí za 90 minut, zatímco sérové hladiny IL-6 a IL-8 rostou relativně pomalu a vrcholí za 2 až 4 hodiny po aplikaci bakterií [52] (Graf 1).

Specifická imunita se aktivuje po nezvládnutí infekce v linii nespecifické obranyschopnosti. Zdá se, že pokud je bakteriální patogen beze zbytku fagocytován, nedochází k rozvoji specifické imunity.

Jestliže fagocytární elementy (monocyty/makrofágy) bakteriální antigen nezlikvidují, následně dochází k aktivaci těchto buněk (působením C5a, TNF, IL - 1) a k prezentaci antigenu na jejich povrchu. Aktivace se projeví zvýšenou expresí molekul hlavního

histokompatibilního komplexu II. (major histocompatibility komplex – MHC II). Na molekulách MHC II. třídy (human leukocyte antigens – HLA) dochází k prezentaci bakteriálních antigenů, které jsou rozpoznávány imunokompetentními buňkami (především CD4 lymfocyty). Bakteriální antigen je tedy specifickou imunitou rozpoznán pouze ve vazbě na vlastní struktury – molekuly HLA (DR). Tento jev se nazývá MHC restrikce [53, 54, 57]. Po prezentaci antigenu dojde ke spuštění specifických imunitních dějů. Výsledkem aktivace CD4 T lymfocytů je u sepse vyžívání těchto lymfocytů do subpopulace Th2, která aktivuje B lymfocyty a stimuluje produkci imunoglobulinů. Výsledkem je masivní produkce efektorových protilátek. Při sepsi se uplatní především opsonizující protilátky, které též neutralizují jejich produkty a vazbou na Fc receptory fagocytujících buněk zvyšují jejich účinnost, a to především u polymorfonukleárů [53, 54].

V imunopatogenezi sepse a septického šoku je vymezen i pojem superantigenů. Jde například o enterotoxin stafylokoka A (SPE-A), toxin šokového syndromu (TSST-1) či mykoplasmový antigen (MAM). Tyto bakteriální produkty se vážou s HLA-DR bez nitrobuněčného zpracování a tudíž obcházejí antigenprezentující buňky a proces prezentace antigenu na těchto strukturách. Následně masivně indukují celkovou obrannou reakci ve velmi širokém spektru, včetně mitogenní aktivity na T lymfocyty. Tato široká aktivace však spíše napomáhá rozvoji sepse a septického šoku [51].

Laboratorní metody, které jsou rutinně používány v diagnostice sepse, by se v budoucnu mohly rozšířit o další sofistikovaná imunologická data, která by dávala přesnější informaci o stavu a průběhu septického stavu. Bohužel jejich širšímu využití brání především vysoká cena a technická náročnost vyšetření, proto se dosud do klinické praxe dostávají jen ve velmi omezeném rozsahu.

Antibiotická strategie v terapii sepse.

Terapie sepse musí být komplexní. Zahrnuje léčbu nejen farmakologickou, v případě jasného zdroje infekce i terapii chirurgickou. Detekce primárního zdroje sepse a jeho kontrola je nejdůležitější částí péče o nemocného se sepsí.

Stěžejní farmakologická léčba je dána především léčbou antimikrobiální. Tato terapie se musí řídit základními pravidly antibiotické terapie. To znamená podávat antibiotika indikovaně a cíleně, v dostatečné dávce a dostatečně dlouho. Volba odpovídajícího antibiotika není vždy jednoduchou záležitostí, především pak v úvodních fázích sepse, kdy je etiologické agens neznámé a nemusí být zřejmý primární fokus infekce. V těchto fázích se často rozhoduje o dalším osudu nemocného nejen stran „quad santionem“ ale i „quad vitaem“.

V šedesátých a sedmdesátých letech minulého století byla většina infekcí krevního oběhu způsobována gramnegativními bakteriemi. Od osmdesátých let však začal stoupat podíl grampozitivních sepsí, a tento trend trvá doposud. V posledním desetiletí je podíl grampozitivních původců asi 34 %, gramnegativních asi 42 %, 14 % je způsobeno infekcí smíšenou. 10 % připadá na sepse mykotické (především *Candida* spp. – až 5%), a anaerobní. U grampozitivních infekcí si zachovávají vedoucí úlohu stafylokoky (*Staphylococcus aureus* - 12 % a koaguláza - negativní stafylokoky - 7%). Enterokoky jsou izolovány v 8 % a pneumokoky ve 4 %. Enterobakterie (29 %, s podílem *Escherichia coli* – 13 %) jsou nejčastějšími vyvolavateli gramnegativních sepsí, následované kmeny *Klebsiella pneumoniae* (8 %) a *Pseudomonas aeruginosa* (8 %) [58].

Strategie empirické antibiotické terapie sepse prodělává názorový vývoj - řeší se problematika volby antibiotik, jejich kombinace a zvažují se profity antibiotické monoterapie či kombinace. Z hlediska efektivity jsou srovnávány výsledky monoterapie karbapenem nebo ureidopeniciliny s inhibitory β -laktamáz či cefalosporiny 3. a 4. generace, versus β -laktamové antibiotikum s aminoglykosidem [59-62]. Proběhlé studie na tuto otázku nedaly prozatím jednoznačnou odpověď, ale pro kombinační antibiotickou léčbu hovoří fakta, že tato léčba rozšiřuje antibakteriální spektrum, správně zvolená kombinace antibiotik má aditivní či synergní efekt, může snížit riziko vzniku rezistence a výskyt superinfekce [35]. Antibiotická monoterapie proto nemůže být doporučena jako univerzální postup. Podle současných názorů by proto měli být nemocní v iniciálních fázích sepse (kdy doposud není známa etiologie či zdroj) léčeni β -laktamovým antibiotikem v kombinaci s aminoglykosidem.

Od osmdesátých let minulého století dochází k celosvětovému zvýšení výskytu kandidových nozokomiálních infekcí [63]. Přítomnost kandidémie je popisována ve 45% všech fungémií [64]. Nicméně se prokazuje, že kvasinky (ačkoliv zachycené v krevním oběhu) jsou příčinou těžké sepse jen asi v 5% a proto by antimykotika neměla být používána jako rutinní součást empirické terapie. Terapie kandidové sepse je stejně účinná při použití flukonazolu či amfotericinu B, ale některé kandidové kmeny (*Candida crusei*, *Candida glabrata* aj.) vykazují vůči flukonazolu rezistenci. Na druhou stranu je indikace podání flukonazolu vyvážena vysokou toxicitou amfotericinu B. Proto se podle současných zkušeností kloníme spíše k podávání flukonazolu jako antimykotika první volby a amfotericin B (nebo i jiná modernější antimykotika) indikujeme až po určení kmene a citlivosti, nebo při jednoznačném neúspěchu terapie. V případě, že nemocný byl již flukonazolem léčen před vznikem sepse, pak je vhodné použít jiné antimykotikum [65, 66].

Komplexní terapie invazivní bakteriální infekce

Jde o soubor postupů a doporučení, který má zvládnout život ohrožující septický šok pacienta a racionálně postupovat při terapii invazivní bakteriální infekce. Zahrnuje nejenom léčbu kauzální (tj. antibiotickou či antimykotickou), ale i léčbu podpurnou (umělá plicní ventilace, podpora krevního oběhu, imunologická léčba...). V případě nalezení infekčního ložiska je většinou nutný i chirurgický zákrok k sancí zdroje sepse.

Chirurgická intervence zahrnuje především tyto výkony: drenáž abscesů, nekrektomie včetně odstranění infikovaných nekrotických tkání, odstranění infikovaných a kolonizovaných cizích těles z tělních dutin a tkání, diverzi infekční kontaminace, chirurgickou úpravu nebo excizi kontaminovaného ložiska z infikovaného terénu či vynětí orgánu prostoupeného abscesy [35].

Tato infekční ložiska je nutno radikálně eliminovat co možno nejčasněji, ale tento operační výkon je nutno optimálně načasovat. V okamžiku zahájení výkonu je třeba dosáhnout co nepříznivějších výchozích parametrů, a to především v oblasti hemodynamiky. Výše popsané výkony patří zcela jistě k operacím neodkladným, ale většinou nejde o výkony bezprostředně nutné k záchraně života [67].

I přes snahu chirurga a intenzivisty je však někdy třeba plánovaná reoperace. Indikace tohoto výkonu se řídí klinickým stavem nemocného. V praxi však jednoduché algorithmy pro volbu optimálního postupu u individuálního pacienta nedostačují a rozhodnutí o invazivním postupu je vždy vyhrazeno zkušenému chirurgovi [68].

Indikace a zásady vedení umělé plicní ventilace patří do rukou erudovanému intenzivistovi, který rozhoduje o zahájení a ukončení těchto postupů orgánové podpory a jeho režimového vedení. V praxi jde nejenom o zajištění oxygenace tkání, ale taktéž o metabolickou podporu septického pacienta.

Cílem hemodynamické podpory v septickém šoku je obnovení efektivní orgánové perfúze a obnovení buněčného metabolismu. Na rozdíl od hypovolemického či kardiogenního šoku (kde hlavní příčinou hypoperfúze je pokles srdečního výdeje), je u septického šoku srdeční výdej zachován a hlavní příčinou tkáňové hypoperfúze je kolaps mikrocirkulace. Další lézi buněčného metabolismu způsobuje pak řada mediátorů zánětlivé reakce. Míru tkáňové hypoperfúze a poruchy buněčného metabolismu lze monitorovat jednak klinickým vyšetřením (hypotenze, porucha vědomí, oligurie, porucha funkce gastrointestinálního traktu...), dále pak laboratorními metodami (koagulopatie, elevace N – látek, vzestup jaterních testů...). Normální saturace O₂ v periferní krvi nám nedává záruku dostatečného okysličení tkání. Na druhou stranu perzistující zvýšená hodnota laktátu má vysokou

výpovědní hodnotu k horší prognóze pacienta [69]. Monitorování perfúze splachnické oblasti metodou gastrické tonometrie není příliš efektivní [70].

Cílem podpory oběhu v sepsi je normalizace výše uvedených klinických a laboratorních parametrů. Protože septický šok je provázen absolutní či relativní hypovolemií je terapie krystaloidy (či koloidy) intravenózně léčebná metoda první volby. Hovoříme zde o objemové resuscitaci oběhu. Pokud není dosaženo touto léčbou efektu, je nutno přikročit k podání vazopresorů za monitorace krevního tlaku invazivními metodami. Noradrenalin je považován za lék volby [71-73].

Imunologická terapie zahrnuje podání protizánětlivých léků, především kortikosteroidů. Jedině u těchto látek, při podání v nízkých dávkách, se prokázal profit pro pacienta. U látek typu nesteroidních antirevmatik, prostaglandiny, pentoxyphyllin, zametači kyslíkových radikálů (N-acetylcystein...), selen, vitamíny A, C, E, antitrombin III, intravenózní gamaglobuliny, interferon gama, granulocyty stimulující faktor nebyl prokázán profit u nemocného v sepsi [74-83].

Podle posledních doporučení jsou kortikoidy indikovány u pacientů v septickém šoku, který je rezistentní vůči standardní terapii. Dávka je vztažena k hydrokortizonu a pohybuje se cca 100 mg ve třech denních dávkách po dobu 5 dní s následným snižováním dávek podle aktuálního stavu hemodynamiky a potřeby podávání vazopresorických látek [35]. Vysoké dávky kortikoidů neprokázaly snížení mortality [84, 85], naopak, podle některých studií mají dokonce nepříznivý efekt [86-88]. Pozitivní efekt nízkodávkovaných kortikosteroidů je vysvětlován substitučním vlivem při relativní nadledvinkové nedostatečnosti při nepoměru produkce kortikotropních hormonů a jejich zvýšené utilizaci (při vystuňovaném metabolismu při sepsi) a zvýšením senzitivity adrenergních receptorů na exogenní katecholaminy s jejich protizánětlivým efektem [89, 90].

Ačkoliv vlastní biologické agens je naším hlavním cílem terapie, ukazuje se, že rozvoj excesivní multiorgánové dysfunkce je dán vlastní nadměrnou systémovou zánětlivou odpovědí, která je zprostředkována imunitními mechanizmy. Pod dojmem těchto skutečností se začíná prosazovat i experimentální imunologická terapie, která však doposud zcela nepronikla do klinické praxe. Jedná se o antiendotoxinovou terapii (podávání intravenózních imunoglobulinů, monoklonálních protilátek proti lipidu A či baktericidní a permeabilitu zvyšující protein), léčbu antagonistou receptoru pro interleukiny, anti-TNF terapie, inhibice fosfolipázy A₂, oxidu dusnatého, faktoru Xa, podávání tissue factor pathway inhibitor (TFPI) [91-99]. Látkou s vyhrazeným klinickým použitím pro specializovaná pracoviště je

v současné době aktivovaný protein C (XigrisTM), který vykazuje silnou protizánětlivou aktivitu jednak svým stabilizujícím efektem na endotel, tak inhibicí trombinu [100].

Nedílnou součástí péče o pacienta s invazivní bakteriální infekcí je problematika nutriční, profylaxe hluboké žilní trombózy a stresových peptických vředů. Podáváním nízkomolekulárního heparinu (LWMH), nebo nízkých dávek heparinu byl jednoznačně prokázán přínos pro pacienta [101-103] ve smyslu snížení jeho morbidit a mortality. Rizikové faktory pro vznik tromboembolické příhody jsou především věk nad 40 let, výskyt hluboké žilní trombózy či cévní mozkové příhody v anamnéze, imobilita delší než 5 dnů, maligní onemocnění, pooperační stav, fraktura pánve, bérce či stehenní kosti, polytrauma, městnavé srdeční selhání, infarkt myokardu, hyperkoagulační stav, podávání estrogenů. Přítomnost alespoň dvou těchto faktorů významně zvyšuje pravděpodobnost tromboembolické příhody [104, 105]. Jako nezávislé faktory jsou uváděny: zavedené centrální žilní katétry, koagulopatie, léčba myorelaxancii a zavedená hluboká sedace [106-109]. U nemocných, kterým nemůže být z různých důvodů (hyperkoagulační stav, trombocytopenie, ruptura intrakraniálního aneurysmatu ...) podávána tato léčba je indikace k zavedení pomůcek k mechanické intermitentní kompresi dolních končetin [110].

Pacient v sepsi vykazuje zvýšený energetický obrat, který je nevozen vystupňovaným katabolizmem a nutriční podpora zlepšuje jeho celkový stav. Pokud je to možné, vždy preferujeme enterální výživu [111-114]. Podle American Society of Parenteral and Enteral Nutrition a American College of Chest Physicians je doporučován energetický přísun 105-140 kJ/kg/den, 1,3-2,0 g/kg/den bílkoviny. 30-70% nebílkovinné energie by mělo být hrazeno glukózou při zachování glykémie 5,5 až 7,0 mmol/l a 15-30% nebílkovinné energie by mělo být hrazeno lipidovými substancemi s orientací na větvené aminokyseliny [113, 115].

Profylaxe stresových gastroduodenálních vředů je běžně podávanou terapií. Jejich výskyt stoupá u nemocných se zavedenou umělou plicní ventilací a koagulopatií [116-118]. Enterální výživa redukuje riziko jejich vzniku [119]. Upřednostňují se H₂ blokátory a inhibitory protonové pumpy před antacidy [120, 121].

Purulentní meningitidy

Purulentní meningitidy jsou zánětlivá onemocnění nervového systému bakteriální etiologie s relativně vysokou smrtností a častými neurologickými následky po prodělaném onemocnění.

Diagnóza purulentní meningitidy je velmi často spojena s diagnózou sepse a proto pak hovoříme o sepsi s purulentní meningitidou. Prognóza je i přes moderní diagnostické i terapeutické postupy nadále vážná. Stále zřetelněji se ukazuje nutnost včasné diagnostiky a neodkladné cílené terapie.

Problematika neuroinfekcí je velmi široká a složitá. Nejen proto, že je napaden centrální nervový systém (CNS) a s ním asociované funkce jednotlivých orgánových systémů, ale také proto, že tato onemocnění může způsobovat celá řada patogenů, a to i podmíněně patogenních mikroorganismů.

Zánětlivé postižení CNS je většinou difusní a často je klinicky vyjádřeno pouze v určité lokalizaci nervového systému. Charakteristickými neurologickými příznaky těchto chorob jsou iritační a zánikové syndromy. Projevy iritační jsou dány lokálními podmínkami v místě zánětu (především zvýšený intrakraniální tlak s projevy zvracení, bolestmi hlavy, křečemi, či poruchou vědomí). Iritace motorických vláken dává obraz opozice šíje včetně známých manévru podle Lasseguea, Kerniga či Brudzinského. Iritace v oblasti senzitivní se projeví světloplachostí, hyperakuzí a hypestezií. Vazomotorické a vagové dráždění může vyvolat bradykardii či jiné srdeční arytmie, poruchy dechového rytmu, kožní vazomotorické reakce, zvracení. Zánikové syndromy jsou vyjádřeny především parézami až plegiemi jednotlivých nervů či nervových svazků z příčiny poruchy vedení vzruchu motorických neuronů, nebo poruchou přenosu na neurosvalové ploténce. Horečka je jedním z příznaků SIRS. Jednotlivé klinické příznaky jsou však obecně nekonstantní a závisí nejen na etiologii infekčního agens, ale na věku nemocného, komorbiditách, ale i na individuální odpovědi organismu. Etiologie neuroinfekcí může být obecně determinujícím faktorem tíže onemocnění a jeho následků. Klasické členění zánětlivých procesů nervové soustavy včetně klinických laboratorních vyšetření mnohdy selhává pro atypické nálezy a jsme nuceni využívat stále dokonalejších diagnostických metod.

Smrtnost na tato onemocnění je v posledních 15 letech stále vysoká a pohybuje se v relacích od 5 % u meningitid způsobených *Haemophilus influenzae* až do 20% u etiologie *Streptococcus pneumoniae*. Mortalita meningitid u novorozenců vyvolaných streptokoky B se blíží až 27 % [3, 4, 10, 122].

Spektrum jednotlivých infekčních agens se mění v závislosti na věku, na imunokompetenci jedince a na stavech způsobených poruchou integrity tkání. Dlouhodobé statistiky dokládají, že u dětí novorozeneckého a mladšího kojeneckého věku (0 – 3 měsíce) jsou hlavními vyvolavateli *Escherichia coli* s antigenem K1, dále pak streptokoky skupiny B, především *Streptococcus agalactiae*, následován *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* a *Klebsiella oxytoca*. V posledních letech přibývá meningitid listeriových. Infekce salmonelové, seratiové a hemofilové jsou méně časté, stejně tak jako meningokokové či stafylokokové. Purulentní meningitidy v tomto věku jsou zálučné. Jsou popisovány atypické klinické průběhy, včetně necharakteristického likvorového nálezu. Hlavními vyvolavateli purulentních meningitid dětského věku od tří měsíců do osmnácti let věku jsou *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* a méně již *Haemophilus influenzae* typu B, které mají zvýšenou incidenci do pěti let věku s maximem kolem druhého roku života. Nicméně s nově zavedeným plošným očkováním proti *H. influenzae* typu B jejich incidence významně klesá. Maximum meningokokových neuroinfekcí je od půl do jednoho roku života, další ohroženou skupinou jsou adolescenti. Po ústupu výskytu sérotypu skupiny A a po jistém poklesu incidence sérotypu skupiny C je izolace sérotypu skupiny B nejčastějším nálezem. Záchyt ostatních sérotypů je spíše raritní. Mezi nejčastější původce bakteriálních neuroinfekcí dospělého věku patří především *Streptococcus pneumoniae*. U pacientů staršího věku se daří izolovat i gramnegativní mikroby, nutno myslet i na etiologii listeriovou. Obávané meningitidy způsobené *Staphylococcus aureus* jsou často vázány na infekční endokarditidu, paraspinalní a spinální infekce, nacházíme je i u nemocných se shuntovou operací mozku či jako důsledek traumatu lbi. Specifické meningitidy (*Mycobacterium tuberculosis*) jsou spíše raritou, ale většinou s fatálním zakončením.

Bakteriální meningitidy vznikají buď v důsledku předchozí bakteriémie či sepse, nebo přestupem infekce při hnisavých procesech v blízkosti likvorových cest (středouší, paranazální dutiny, osteomyelitidy) a následná sepse je pak projevem sekundárním. Dalším mechanismem vzniku tohoto onemocnění je průnik infekce při úrazech lbi (časné posttraumatické meningitidy) nebo při epidurální analgezii či anestezii. Pozdní posttraumatické meningitidy se mohou projevit měsíce či roky po úraze, který vedl k fisuře baze lební - nejčastěji v oblasti přední jámy lební, především pak v oblasti čichové kosti - a jsou indikací k odloženému operačnímu řešení po sanaci likvoru [2-4, 10].

Klinický obraz

Začátek onemocnění může být perakutní a během několika hodin dojde k úmrtí pod obrazem septického šoku. Typické pro tento průběh je invazivní meningokokové onemocnění. Obvykle však rozvoj typických příznaků trvá hodiny, nebo desítky hodin, v případech přestupu infekce z okolí CNS i několik dnů.

Jsou přítomny bolesti hlavy, teplota, zvracení, známky meningeálního dráždění, kvalitativní a kvantitativní poruchy vědomí, křeče lokalizované nebo generalizované, psychomotorický neklid, koma. Mohou být i ložiskové neurologické příznaky ve formě centrálních paréz a postižení mozkových nervů, či další neurologická symptomatologie probraná výše. Z celkových příznaků mohou být přítomny projevy sepse či septického šoku, konzumpční koagulopatie, a to nejen u meningokokových infekcí. Modifikovaný nebo atypický průběh je u novorozenců a kojenců, kdy známky meningeálního dráždění nemusí být vyjádřeny, je hypertermie nebo hypotermie, děti líně pijí, jsou spavé nebo neklidné, sténají a křičí bez zjevné příčiny. U shuntových meningitid může být průběh klasický, ale často je i atypický, podobný novorozeneckým meningitidám.

U starších osob musíme myslet na sekundární meningitidy vznikající v důsledku chronických zánětů v blízkosti likvorových cest (cholesteatom, chronické otitidy, sinusitidy, spondylodiscitidy). Nástup meningitidy bývá pozvolný, teploty stoupají pozvolna, příznaky meningeálního dráždění nemusí být dlouho nijak dramaticky vyjádřeny. U řady jedinců vede k podezření na meningitidu až porucha vědomí.

Bakteriální meningitidy jsou charakteristické výskytem četných komplikací, které se jednak shodují s komplikacemi u sepse, ale i komplikacemi typickými pro toto onemocnění. Může se jednat o mozkový absces, subdurální empyém, sterilní efuzi, zánět a trombózu nitrolebních cév a splavů.

Kritické komplikace tohoto onemocnění jsou dány jednak život limitujícími komplikacemi sepse (jak již bylo popsáno výše), ale u purulentních meningitid se jedná především o mozkovou smrt, za kterou je zodpovědný především devastující, farmakologicky rezistentní edém mozku. Tento vzniká v důsledku přímého působení živé bakterie či jejích rozpadových produktů (které mohou být zvláště masivně přítomny po podání antibiotika v baktericidním režimu). Edém mozku vzniká jako přímý důsledek mohutného rozvoje kaskády prozánětlivých a protizánětlivých imunitních pochodů, které se manifestují významnou expresí nejrůznějších cytokinů a volných radikálů. Vzniklý vazogenní a cytotoxický edém mozku, který je v tomto případě zároveň s nadměrným množstvím likvoru, jeho sníženou resorpcí a zvýšenou viskozitou, důvodem k oblenění mozkové perfúze

s následnou hypoxií mozku. Důsledkem je extrémní nitrolební hypertenze, která vyústí v zástavu mozkové cirkulace a ve smrt mozku [4, 14, 122-125].

Trvalé následky po prodělaném onemocnění jsou relativně časté, a to především u dětí: hydrocefalus, psychomotorická retardace, trvalé postižení sluchu, epilepsie, trvalá léze mozkových nervů aj.

Diagnostika

Kromě zevrubného klinického vyšetření a stanovení základních biochemických a hematologických parametrů má zásadní význam vyšetření mozkomíšního moku. Před lumbální punkcí je nutno vyloučit syndrom nitrolební hypertenze k eliminaci rizika vzniku konu z útlaku mozkového kmene po výkonu. V současné době je požadováno vyšetření očního pozadí s vědomím, že známky městnání na očím pozadí je příznakem pozdním a nekonstantním. CT (či MR) vyšetření mozku je metodou suverénní. Pokud není možnost provést odběr mozkomíšního moku do 30 minut a je klinické podezření na diagnózu purulentní meningitidy, je třeba zahájit empirickou terapii.

V mozkomíšním moku nacházíme stovky, častěji tisíce až desetitisíce leukocytů v mm^3 , z toho více jak 80 % neutrofilů. Tlak v likvorových cestách je zvýšen. Významný je pokles glukózy a vzestup bílkoviny a laktátu. Při hodnocení glykorrhachie je nutno vždy vycházet z glykémie (obvykle je přítomna stresová hyperglykémie) a přihlídnout k tomu, že hladina glukózy v likvoru reaguje na změny glykémie asi s dvouhodinovým zpožděním.

Pro etiologickou diagnózu má zásadní význam vyšetření mikroskopického preparátu z mozkomíšního moku obarveného podle Grama, které je pozitivní v 60-90%, kulturační vyšetření objasní až 75 % neléčených purulentních meningitid. Stále významnější jsou metody pro rychlou diagnostiku vyvolávajícího agens, které umožní cílenou terapii. Kromě již uvedeného mikroskopického vyšetření preparátu z likvoru se používá latexaglutinační průkaz antigenů nejčastějších původců a polymerázová řetězová reakce k průkazu specifických sekvencí DNA bakterií. U první metody jsou výsledky dostupné asi za 2 hodiny, u PCR většinou do 12 hodin. Sérodiagnostika nemá u běžných purulentních meningitid žádný význam [2-6, 8, 10, 29, 126-128].

Terapie

Terapii purulentních meningitid lze rozdělit na nespecifickou, která je prakticky shodná s léčbou sepse (viz výše), a to i z toho důvodu, že purulentní meningitida je často se sepsí spojena, a na specifickou, která zahrnuje léčbu antibiotickou.

Zvláštní kapitolou nespecifické terapie je podávání kortikoidů v akutní fázi onemocnění. Jejich podávání, v souladu s postupy pro terapii sepse, je v současné době spíše doporučováno pro jejich benefit stran tlumivého efektu rozvoje masivní zánětlivé imunitní reakce, který vede k devastujícímu mozkovému edému [2-5, 8-11, 35-36, 84-90]. Nebyl však prokázán efekt lepšího průniku ceftriaxonu přes hematoencefalickou bariéru po podání dexametazonu [129].

Antibiotická terapie je pak vedena jako empirická či cílená. Empirická léčba je modifikována podle věku pacienta, zjištěného (nebo předpokládaného) fokusu infekce) a komorbidit (Tab. 1).

Tato léčba je praktikována vždy na počátku onemocnění, do doby verifikace infekčního agens. V některých případech je nutná určitá modifikace v podávané empirické antimikrobiální léčbě podle odhadu možného bakteriálního původce. Odhad etiologického agens přísluší do rukou zkušeného klinika a mikrobiologa a závisí na celé řadě faktorů jako je klinický stav nemocného, věk, komorbidity, základní laboratorní parametry nebo primárně inzultovaný orgán či systém. Odhalení případného fokusu infekce nás přiblíží k mikrobiologické etiologii. Cílená antibiotická terapie je pak vedena podle prokázaného původce (Tab. 2), [2-5, 11, 13-16].

Etiologičtí původci bakteriálních meningitid se v průběhu let mění, stejně tak jako jejich citlivost na antibiotika. Proto je nezbytné mít cílenou terapii podpořenou vyšetřením antibiotické citlivosti. Jako minimální požadavek je nutná alespoň pozitivita citlivosti agens na podávané antibiotikum určená diskovou metodou, stanovení minimálních inhibičních koncentrací (MIC) kvantitativní metodou je ideálem. Důležité je vyšetření baktericidie, které nám dokladuje dobrý efekt antibiotické léčby v cílových strukturách (především v likvoru).

Antibiotikem volby je cefalosporin III. generace, nejčastěji ceftriaxon. Stran antimikrobiální terapie existují však i názory preference podávání nebakteriolytických antibiotik z důvodu omezení masivní tvorby rozpadových produktů bakterií a tím snížení exprese a vzniku volných radikálů a cytokinů, které jsou z velké míry zodpovědné za rozvoj mozkového edému a rozvoje těžkého SIRS [14-15, 130, 131].

Předpoklady úspěšné antibiotické terapie purulentních meningitid

Pro úspěšnou kauzální terapii purulentních meningitid antibiotiky musí být splněny tyto základní požadavky:

1. vyvolávající mikrob musí být citlivý k podanému antibiotiku, vhodnější než použití metody diskové citlivosti je v těchto případech lepší stanovení minimální inhibiční koncentrace,
2. použité antibiotikum musí mít dobrý průnik k cílovým strukturám, v případě purulentní meningitidy k zaníceným mozkomíšním plenám,
3. vzhledem k nízké opsonizační aktivitě likvoru, nízkým hladinám imunoglobulinů a nízké komplementové aktivitě v místě zánětu je vhodné, aby bylo antibiotikum podáno v baktericidním režimu [12],
4. antibiotikum musí být podáno v optimálním dávkovacím schématu při znalosti farmakodynamiky a farmakokinetiky.

Aby antibiotikum mohlo plnit svoji funkci, musí proniknout přes hematoencefalickou bariéru. Hematoencefalická bariéra je soubor anatomických struktur skládající se z bariéry hematolikvorové a likvoroencefalické. Tyto fyziologické struktury zajišťují transport látek oběma směry, a to buď mechanismy pasivní difuze a pasáží iontovými kanály (např. kyslík, oxid uhličitý, voda a převážná většina antibiotik), nebo aktivním transportem (glukóza, aminokyseliny, puriny, G - penicilin či ceftriaxon) [18-23]. Prostupnost této bariéry se však mění, jednak v souvislosti s věkem (vyšší prostupnost u novorozenců, nejvyšší při intrauterinním vývoji plodu), tak při patologických procesech jako je např. zánět, karcinomatóza mening, či po ozáření kalvy [15].

Koncentrace antibiotika v mozkomíšním moku je pak výslednicí mezi jeho penetrací přes hematoencefalickou bariéru a jeho eliminací v závislosti na čase.

Tato koncentrace je závislá jednak na hladině antibiotika v séru a jednak na mechanismu transportu – jde-li jen o pasivní proces (difuzi podle koncentračního spádu) či aktivní transport.

Hydrofilní antibiotika (např. peniciliny, cefalosporiny, aminoglykosidy...) pronikají velmi omezeně přes lipidové membrány, a jejich transport je z větší části závislý na aktivních mechanismech. Významně se pak zvyšuje při porušené hematoencefalické bariéře (např. zánětem) z důvodu poruchy lipidových membrán a významného zvýraznění pasivního transportu. Lipofilní antibiotika (fluorochinolony, chloramfenikol...) pronikají do likvoru na principu pasivní difuze a porušená hematoencefalická bariéra jejich kinetiku tolik neovlivňuje [16-23]. Pasivní transport farmaka je vázán jen na jejich volnou frakci (nenavázanou na albumin), proto u antibiotik se silnou vazbou na sérové bílkoviny je význam pasivního

transportu dále snížen (např. ceftriaxon s vazbou na albumin 83 – 96 %), proto je nutno tyto léky podávat ve vysokých dávkách s cílem dosažení vysokého „poolu“ volné frakce.

Přestup antibiotik do mozkomíšního moku vyžaduje určitý čas, proto jsou farmaka s krátkým sérovým poločasem znevýhodněna (např. penicilin G – draselná sůl) oproti antibiotikům s dlouhým poločasem v séru (např. ceftriaxon) [31, 32].

Na druhou stranu probíhá fyziologická eliminace antibiotik z mozkomíšního moku. Děje se tak opět prostou difuzí (lipofilní látky), hydrofilní látky jsou strhovány vodou. Betalaktamy jsou eliminovány i cestou aktivního transportu charakteru efluxní pumpy. Předpokládá se však porucha tohoto eliminačního systému při zánětlivě změněných meningách, což opět podporuje následně vyšší koncentraci antibiotika v likvoru.

Je zřejmé, že farmakodynamika a farmakokinetika antibiotik užívaných v terapii purulentních meningitid je značně složitá, závisí na mnoha proměnných, a že finální koncentrace v mozkomíšním moku se mohou v průběhu antimikrobiální léčby zásadně měnit. Nečetné studie naznačují, že výsledné koncentrace antibiotik v likvoru nejsou nikterak vysoké [7, 9-11, 13, 132, 133], (Tab 3, Grafy 2-4).

Objektivizace dosažení účinných koncentrací antibiotika v mozkomíšním moku je značně problematickou záležitostí. První v řadě problémů je získání likvoru k dalšímu laboratornímu vyšetření, který nemůžeme získávat (a měřit) kontinuálně, případně semikontinuálně. Odběr mozkomíšního moku bývá spojen s komplikacemi, jako například příměs krve ve vzorku, vznik neurologických syndromů při rychlém snížení intrakraniálního tlaku, nebo i varianta, že se nám technicky nedaří mozkomíšní mok získat.

Pro experimentální stanovení koncentrace antibiotika jsou k dispozici tyto laboratorní metody:

1. vysokotlaká kapalinová chromatografie (HPLC – high pressure liquid chromatography) [21, 30, 134-136],
2. mikrodialýza s použitím speciálních mikrodialyzačních pipet [137-142] a
3. metody biologické, které spočívají v porovnání baktericidního efektu vyšetřovaného vzorku oproti známé koncentraci antibiotika na standardních laboratorních bakteriálních kmenech a jejich následné kvantifikaci pomocí kalibrační křivky [33].

Všechny tyto metody mají svoje výhody ale také řadu nevýhod.

HPLC je metoda přesná a rychlá, ale pro každé jednotlivé antibiotikum je nutné zavést samostatnou modifikaci a tento proces je časově, finančně i odborně značně náročný. Proto jsou tato stanovení vázána jen na některá pracoviště, kde je mimo jiné předpoklad i relativně

vysokého obratu vzorků, který zaručí efektivitu při vložených finančních prostředcích. Metoda mikrodialýzy je založena na přestupu solubilních látek z intersticiálního prostoru tkání přes semipermeabilní membránu a měření rozdílu jejich elektrických potenciálů. Je vázána na zavedení mikrodialyzační pipety do vyšetřovaného prostoru, což má svoji výhodu v možnosti semikontinuálního či kontinuálního měření. Bohužel k vyšetření hladin antibiotik v mozkomíšním moku se příliš nehodí pro svoje rizika se zavedením a především s ponecháním mikrokanyly v likvorových cestách.

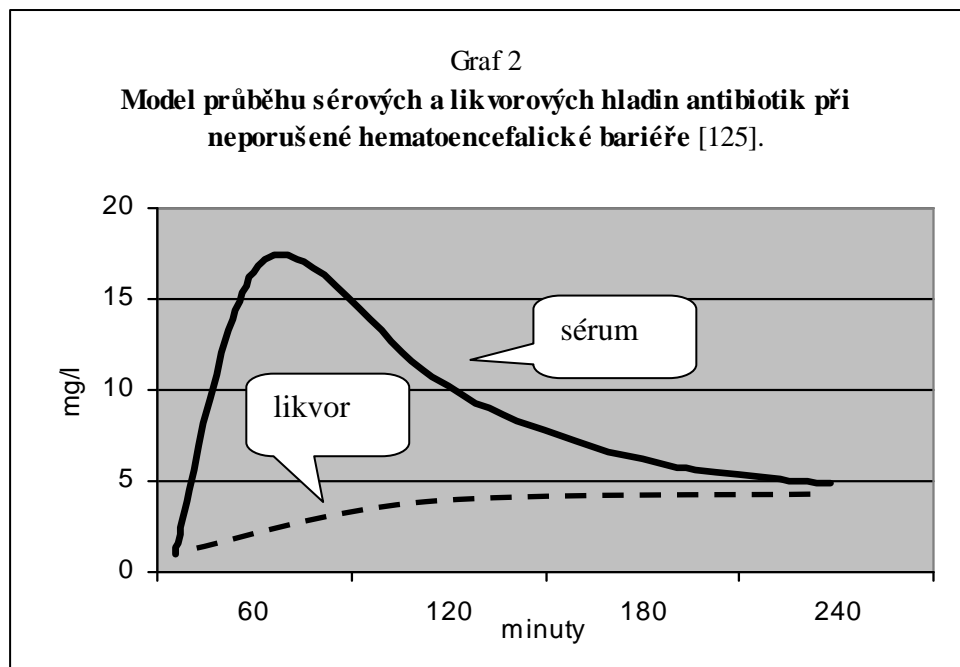
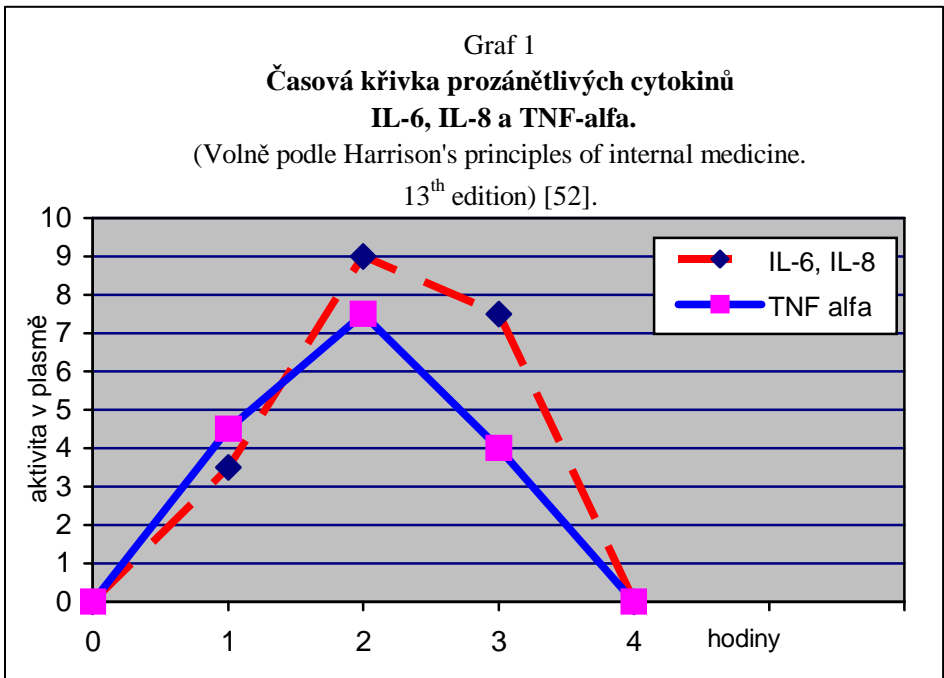
Metoda biologická spočívá v kvantitativním stanovení baktericidí vyšetřovaných vzorků s využitím laboratorních bakteriálních kmenů s použitím koncentrační kalibrační křivky pro dané jednotlivé antibiotikum. Tato metoda je relativně pracná, zatížená většími problémy se standardizací, je nutné aby byl nemocný léčen pouze jedním vyšetřovaným antibiotikem. Na druhou stranu je možno ji aplikovat bez speciálního laboratorního vybavení a jedná se o metodu značně variabilní s různými možnými obměnami.

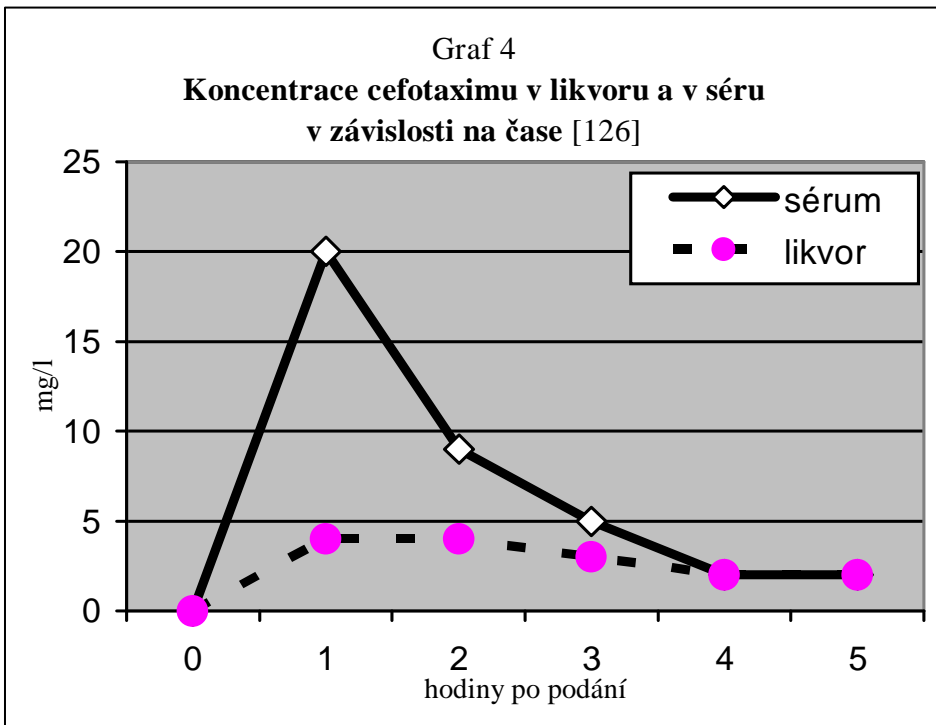
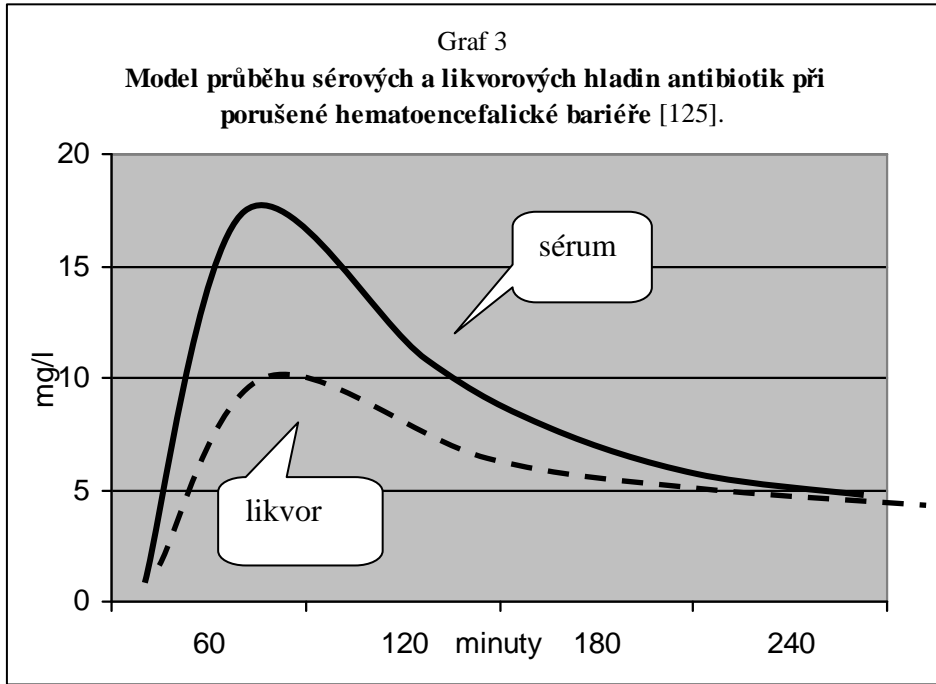
Metody založené na porovnávání koncentrace imunoglobulinů a albuminu v likvoru podle Reibera jsou pro tyto účely nevhodné, protože penetrace bílkovinných makromolekul přes hematoencefalickou bariéru se řídí jinými pravidly než přestup malých molekul antibiotika [15, 29].

Tabulka 1	
Empirická léčba purulentních meningitid	
Věková nebo riziková skupina	Antibiotika
0 - 4 týdny	ampicilin+cefotaxim (gentamicin)
4 - 12 týdnů	ampicilin+cefotaxim (gentamicin)
≥ 3 měsíce	ceftriaxon
imunosuprimovaní	ceftriaxon, event. + vankomycin
posttraumatická, Shuntová meningitida	ceftriaxon + vankomycin

Tabulka 2		
Cílená terapie purulentních meningitid podle původce		
Původce	Antibiotikum	ATB druhé volby
<i>Haemophilus influenzae</i> *β-laktamáza negativní *β-laktamáza pozitivní	ampicilin ceftriaxon	ceftriaxon, chloramfenikol chloramfenikol
<i>Neisseria meningitidis</i>	penicilin	ampicilin, ceftriaxon chloramphenicol
<i>Streptococcus pneumoniae</i> penicilin resistantní	penicilin vankomycin + ceftriaxon	ampicilin, ceftriaxon, chloramfenikol
Enterobacteriaceae	ceftriaxon	meropenem
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ceftriaxon	meropenem
<i>Listeria monocytogenes</i>	ampicilin nebo penicilin	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	penicilin nebo ampicilin	ceftriaxon, vankomycin
<i>Staphylococcus aureus</i>	vankomycin	meropenem
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	vankomycin	meropenem
<i>Naegleria fowleri</i>	amfotericin B + rifampicin + doxycyklin	

Tabulka 3					
Průnik antibiotik do likvoru při zanícených meningách v % (podle různých autorů)					
Autor	Hejzlar 1999 [7]	Suchopár 1992 [13]	Kolektiv 1999 [9]	Modai 1990 [11]	Amsden 2000 [10]
penicilin G	≤ 5	do 5	5 až 10	do 5	0 až 10
cefotaxim	15 až 30	5 až 15	15 až 30	do 15	27
ceftriaxon	4 až 15	do 20	5 až 15	do 10	16 až 32





IV. Cíle práce

Na základě současných poznatků byly vytyčeny jednotlivé cíle práce.

Vypracovat laboratorní diagnostiku ke stanovení hladin vybraných β -laktamových antibiotik (ceftriaxon, cefotaxim a krystalický penicilin G – draselná sůl) v séru a v mozkomíšním moku.

Zmapovat farmakokinetiku těchto léčiv v séru a v likvoru v průběhu purulentní meningitidy či purulentní meningitidy a sepse v korelaci s laboratorními markery zánětu.

Pokusit se určit laboratorní marker zánětu, který by nejlépe koreloval se zvýšeným průnikem antibiotika do likvoru.

Na podkladě zjištěných výsledků zvažovat optimalizaci terapeutických schémat u vybraných β -laktamových antibiotik.

V. Materiál a metodika

Zkoumaná antibiotika

Benzylpenicilin (Benzylpenicillinum calcicum), krystalický penicilin G - draselná sůl

Draselná sůl benzylpenicilinu je základní baktericidní antibiotikum středně širokého spektra s krátkodobým účinkem, je nestabilní vůči působení β -laktamáz. Jeden milion jednotek (MIU) obsahuje 65,7 mg (1,68 mmol) draslíku. Je velmi dobře rozpustný ve vodě. Antibakteriální spektrum zahrnuje *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*, streptokoky skupiny C a G, viridující streptokoky, *S. pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* a *Neisseria gonorrhoeae* neprodukující β -laktamázu, *N. meningitidis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Bacillus anthracis*, *Pasteurella multocida*, anaerobní koky, *Clostridium* spp, *Fusobacterium* spp., *Actinomyces* spp., orofaryngeální kmeny bakteroidů, *Spirillum minus*, *Streptobacillus moniliformis*, *Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi*. Účinnost na enterokoky je střední. Rezistentní jsou producenti β -laktamáz, gramnegativní střevní a nefermentující tyčky, *Bacteroides fragilis* a některá klostridia.

Velmi dobře a rychle se vstřebává. Maximální koncentrace v krvi se dosáhne po 10 - 15 minutách, potom rychle klesá a za 4 hodiny se sníží pod účinnou koncentraci. Dobře proniká do většiny tkání, poměrně málo do hnisavých ložisek, ischemických oblastí a nekrotických tkání. Hromadí se především v extracelulární tekutině, průnik do likvoru je za normálních poměrů nízký, ale při meningitidách se však jeho koncentrace významně zvyšuje a zrychluje se průnik přes hematoencefalickou bariéru. Po i.v. aplikaci se do 24 hodin vyloučí asi 80 % penicilinu v nezměněné formě převážně ledvinami; biologický poločas je asi 30 minut, při anurii se prodlužuje na 7 - 10 hodin. Penicilin přechází do mateřského mléka.

Je lékem první volby u pneumonií a dalších infekcí vyvolaných pneumokoky, infekcí vyvolaných pyogenními streptokoky a meningokoky, při léčbě antraxu, difterie, lues, listeriózy, aktinomykózy. Je účinný při infekcích vyvolaných klostridii a korynebakteriemi a při léčbě všech jiných infekcí způsobených původci citlivými na penicilin. Megadávky benzylpenicilinu jsou indikovány při léčbě bakteriální endokarditidy a bakteriální meningitidy, pokud testy prokáží dobrou citlivost původce.

Toto antibiotikum je kontraindikováno u pacientů s přecitlivělostí na peniciliny a relativní kontraindikací je přecitlivělost na cefalosporiny. Mimořádně opatrně se musí podávat megadávky dětem do 6 týdnů a osobám nad 60 let se zhoršenými tubulárními funkcemi ledvin. Megadávky se nesmějí podávat při systémových neurologických onemocněních, při hyperkalémii a stavech, které ji vyvolávají.

Nejzávažnějším a nejčastějším nežádoucím účinkem jsou alergické reakce. Vyskytuje se nauzea, zvracení, průjem, hemoragie, hemolytická anémie, eozinofilie, trombocytopenie, ojediněle cholestatická žloutenka a rozvoj lupus erythematosus. Podávání megadávek vyvolává vyšší výskyt nežádoucích účinků. Mohou se dostavit poruchy funkce ledvin, jater, krevetvorby a CNS. Nejčastěji se po aplikaci megadávek benzylpenicilinu dostavuje hořkost v ústech, bolesti hlavy, zvracení a příznaky podráždění CNS: lokalizované křeče svalů tváře anebo končetin, epileptiformní záchvaty až generalizované tonicko-klonické křeče případně až kóma. Benzylpenicilin snižuje účinnost perorálních antikoagulancií.

Hladinu penicilinu v krvi zvyšuje současná aplikace salicylátů, aminofenazonu a vitamínu C. Benzylpenicilin zvyšuje hyperkalemickou účinnost jiných látek. V období těhotenství není podávání přípravku v běžných dávkách kontraindikováno, ale díky tomu, že přechází do mateřského mléka může být příčinou senzibilizace i alergické reakce u novorozence.

Podává se každou 4. - 6. hodinu. Dávkování závisí na druhu a lokalizaci infekčního procesu, na citlivosti etiologického agens a věku pacienta. Při léčbě bakteriální endokarditidy a při bakteriálních meningitidách se používají megadávky, tj. 60 - 80 mil. IU denně. Jednotlivá dávka nemá překročit 10 mil. IU a má se aplikovat v intravenózní infuzi nejméně jednu hodinu. Při dávkách nad 5 mil. IU je potřebná kontrola funkce ledvin nejpозději od 2. dne terapie. Při denní dávce nad 20 mil. IU je třeba počítat s výskytem neurotoxických reakcí, které se objevují při překročení hladiny penicilinu 12 IU/ml likvoru. Dětem je možné podávat i megadávky 0,5 - 1,0 mil. IU/kg t.hm. denně, ale je třeba pamatovat na zvýšený přívod draslíku. K aplikaci megadávek se rozpustí v 50 - 250 ml vody na injekci.

Cefotaxim (Cefotaximum natrium)

Je širokospektré antibiotikum z III. generace cefalosporinů. Stejně jako všechna β -laktamová antibiotika, blokuje syntézu buněčné stěny citlivých bakterií. Je stabilní vůči penicilináze stafylokoků a řadě β -laktamáz produkovaných gramnegativními tyčkami. Dobře citlivé jsou gramnegativní bakterie: *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Serratia marcescens*, *Acinetobacter* spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *Haemophilus* spp., *Borrelia burgdorferi*, *Streptococcus pneumoniae*, streptokoky ze skupiny A, B, C, G a další. Je účinný na stafylokoky (včetně kmenů produkujících penicilinázu) a některé anaerobní bakterie s výjimkou *Bacteroides fragilis* a *Clostridium difficile*. Rezistentní jsou kmeny

gramnegativních tyčků s konstitutivní produkcí chromozomální cefalosporinázy, enterokoky, *Listeria monocytogenes* a stafylokoky rezistentní k oxacilinu (meticilinu).

Asi za 30 minut po nitrosvalové aplikaci 1 g dosahuje maximálních sérových koncentrací přibližně 20 mg/l, biologická dostupnost je až 95%. Distribuční objem je 0,25 - 0,3 l/kg nezávisle na funkci ledvin. Na plazmatické bílkoviny se váže asi 24 – 40 %. Biologický poločas eliminace u osob s normální funkcí ledvin je přibližně 1,1 hodiny bez ohledu na způsob podání a velikost dávky, při anurii a u nedonošených dětí v prvním týdnu života je 3,3 hodiny, ve stáří se mírně prodlužuje, nedostatečností jater není ovlivněn. Zhruba 52 % dávky vyloučí ledviny během 24 hodin v nezměněné formě, asi 18 % ve formě desacetylcefotaximu, který si ponechává antibakteriální aktivitu a působí spolu s cefotaximem synergicky. Cefotaxim dobře proniká do tělních tekutin, tkání, kostí, měkkých tkání a intersticiální tekutiny. Koncentrace v mozkomíšním moku (5 – 15 % plazmatických koncentrací) se při meningitidě zvyšují.

Je určen pro léčbu závažných infekcí vyvolaných citlivými mikroorganismy: infekce dýchacích cest, ORL, urogenitální a gynekologické, kostí, kloubů, kůže a měkkých tkání, intraabdominální infekce, bakteriémie, septikémie, endokarditida, Lymeská borrelióza. Podání je kontraindikováno u pacientů s přecitlivělostí na cefotaxim nebo na cefalosporinová antibiotika. Opatrnost je nutná u pacientů s přecitlivělostí na jiná β -laktamová antibiotika pro riziko zkřížené alergické reakce. Může vyvolat nauzeu, zvracení, bolesti břicha; vzácně zvýšení hodnot jaterních transamináz, zhoršení funkce ledvin, neutropenii, agranulocytózu, trombocytopenii, hemolytickou anémii, reakce přecitlivělosti. Je zde riziko pseudomembranózní kolitidy. Současné podávání aminoglykosidových antibiotik zvyšuje riziko nefrotoxicity.

Dávkování je podle závažnosti infekce, citlivosti vyvolávajícího agens a celkového stavu pacienta.

Dospělí a děti nad 12 let (s t.h.m. nad 50 kg): obvykle 2 - 6 g denně rozděleně ve 2 - 3 dílčích dávkách po 8 - 12 hodinách, i.v. nebo i.m.; u těžkých infekcí 6 - 8 g denně ve 3 - 4 dílčích dávkách, i.v., po 8 - 6 hodinách. Maximální denní dávka by neměla překročit 12 g.

Kojenci a děti (od 1 měsíce do 12 let): doporučená denní dávka je 50 - 200 mg/kg ve 2-4 dílčích dávkách po 6-12 hodinách.

Novorozenci ve věku do 1 týdne: 50 mg/kg po 12 hodinách, ve věku 1 - 4 týdny 50 mg/kg po 8 hodinách.

U pacientů s těžkou renální insuficiencí (clearance kreatininu pod 20 ml/min.) je nutno dávky redukovat na polovinu.

Intravenózní infuze: 2 g cefotaximu se rozpustí ve 40 nebo 100 ml vody na injekce, 0,9% roztoku chloridu sodného nebo 5% glukózy. 2 g ve 40 ml se aplikují krátkodobou infuzí po dobu 20 min.; 2 g ve 100 ml se aplikují po dobu 50-60 min.

Ceftriaxon (Ceftriaxonum dinatricum trihemihydricum)

Je širokospektré antibiotikum z III. generace cefalosporinů. Blokuje syntézu buněčné stěny citlivých bakterií. Je stabilní vůči penicilináze stafylokoků a má vysoký stupeň stability vůči řadě β -laktamáz produkovaných gramnegativními bakteriemi.

Antibakteriální spektrum zahrnuje: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*, streptokoky ze skupiny C a G, viridující streptokoky, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, střevní bakterie (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Providentia* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia marcescens*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. a další), *Borrelia burgdorferi*, některé anaeroby citlivé k penicilinu. Rezistentní jsou kmeny gramnegativních tyček produkujících konstitutivně chromozomální cefalosporinázy nebo širokospektré β -laktamázy, *Burkholderia cepacia*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., enterokoky, stafylokoky rezistentní k oxacilinu a pneumokoky vysoce rezistentní k penicilinu. Přípravek je nevhodný k léčbě infekcí způsobených *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. nebo *Bacteroides fragilis*.

Ceftriaxon je úplně vstřebán po nitrosvalovém podání; za 2 - 3 hodiny po aplikaci 500 mg, 1 g a 2 g jsou maximální sérové koncentrace 48, 78 a 154 mg/l. Močí je v nezměněné formě vyloučeno 33 – 67 % podané dávky, zbývající množství je vyloučeno jako neaktivní látka žlučí do stolice. Distribuční objem je 5,8 - 13,5 l, na plazmatické bílkoviny se reverzibilně váže asi 85 - 95%. Biologický poločas eliminace v závislosti na množství podané dávky je 5,8 - 8,7 hodin. Farmakokinetika ceftriaxonu je jen mírně ovlivněna u starých osob a osob se sníženou funkcí ledvin. Ceftriaxon dobře proniká do tělních tekutin a tkání, proniká zanícenými meningy a po dávce 50 - 75 mg/kg vytváří v mozkomíšním moku koncentrace 5,6 - 6,4 mg/l. Nelze jej odstranit hemodialýzou. Používá se na infekce vyvolané bakteriemi citlivými na ceftriaxon: septikémie, endokarditida, bakteriální meningitida, infekce močového, respiračního traktu, kostní tkáně, kloubů, měkkých tkání, kůže a ranné infekce, infekce pohlavních orgánů včetně kapavky, infekce v otorinolaryngologii a stomatologii, Lymeskou borreliózu, invazivní formy onemocnění způsobená β -hemolytickými streptokoky a toxický šokový syndrom vyvolaný streptokoky. Je kontraindikován u nemocných s přecitlivělostí na cefalosporinová antibiotika a u pacientů trpících porfyrií. Pacientům přecitlivělým na penicilin je třeba podávat ceftriaxon s opatrností z důvodu potenciální

zkřížené alergické reakce. Může vyvolat gastrointestinální obtíže, kožní projevy, hematologické změny (eozinofilie, hematomy či projevy zvýšené krvácivosti, hemolytické anémie, leukopenie, granulocytopenie, trombocytopenie), bolesti hlavy, závratě, zvýšení hodnot jaterních enzymů, vzestup kreatininu, mykózy genitálního traktu, anafylaktické reakce včetně anafylaktického šoku. Může narušit syntézu vitamínu K inhibicí střevní flóry; současné podávání s antikoagulancii, heparinem a trombolitiky zvyšuje riziko krvácení. Současné podávání aminoglykosidových antibiotik, cis-platiny nebo diuretik Henleyho kličky zvyšuje riziko nefrotoxicity. Přípravek je možno podávat v období těhotenství a kojení jen po zvážení poměru přínosu pro matku a rizika pro plod a novorozence.

Dávkování:

Dospělí a děti starší 12 let: obvykle 1 - 2 g v 1 denní dávce; maximálně 4 g/den.

Děti do 12 let: obvykle 50 - 75 mg/kg/den v 1 denní dávce, maximálně 2 g denně.

U novorozenců by doporučená dávka neměla přesáhnout 50 mg/kg.

V případě těžkých infekcí nebo bakteriální meningitidy se kojencům a dětem do 12 let podává 100 mg/kg t.hm. U pacientů se sníženou činností ledvin, ale normální činností jater není třeba redukovat dávky, pouze v případě preterminálního selhání ledvin (clearance kreatininu pod 10 ml/min) by denní dávka neměla být vyšší než 2 g. U pacientů s poškozenou činností jater, ale normální činností ledvin není třeba snižovat dávky. V případě současného těžkého postižení ledvin i jater nesmí denní dávka překročit 2 g. Nitrožilní infuze: 1 g až 4 g ceftriaxonu se rozpustí ve vhodném infuzním roztoku (na 2 g minimálně 40 ml). Infuzní roztok se aplikuje nejméně po dobu 30 minut.

Způsob řešení:

Pacienti a odběr materiálu

Na Klinice infekčních nemocí (KIN) Lékařské fakulty (LF) a Fakultní nemocnice v Hradci Králové (FN HK) byli v letech 2003-2008 randomizováni pacienti v těžkých, život ohrožujících infekčních stavech. Jednalo se o nemocné s invazivní bakteriální infekcí - s diagnózou purulentní meningitidy a purulentní meningitidy se sepsí.

Dalším vstupním kritériem pro jejich výběr bylo provedení standardní lumbální punkce s vyšetřením mozkomíšního moku a již probíhající nebo indikovaná léčba sledovanými β -laktamovými antibiotiky (penicilin G - draselná sůl - 10 MIU i.v. á 4 hod., v infuzi, doba podání 45 minut, nebo ceftriaxon - 4 g i.v. á 24 hod., v infuzi, doba podání 30 minut, nebo cefotaxim - 2 g. i.v. á 8 hod., v infuzi, doba podání 30 minut). Vylučující kritéria

byla: podaná jiná než výše uvedená antibiotická terapie, kontraindikace provedení lumbální punkce nebo nemožnost odběru 1-2 ml likvoru navíc k vyšetření hladin antibiotik.

Pacienti podstoupili odběry 1 - 2 ml mozkomíšního moku a 5 ml krve, které byly použity na stanovení hladin sledovaných antibiotik v séru a v likvoru. Oba tyto vzorky byly odebrány současně bez vazby na dobu podání antibiotika. Vybraným nemocným bylo dále odebráno 5 ml krve ke stanovení hladin antibiotik 30 minut před a 30 minut po jejich podání u cefalosporinů a 10 minut před a 10 minut po podání v případě krystalického penicilinu.

Zpracování a vyšetření biologického materiálu.

U každého odběru byl zaznamenán čas od podání poslední dávky antibiotika a počet již podaných dávek. Mozkomíšní mok byl vyšetřen cytologicky, biochemicky, mikroskopicky a kultivačně. Kromě toho jsme likvory vyšetřovali pomocí standardních latexaglutinačních testů firmy Bio-Rad Laboratories. Při kultivační pozitivitě likvoru byla stanovena jeho baktericidie. Hodnota segmentů v likvoru 15000 v mm³ byla stanovena jako maximální a byla použita i pro množství tuto hodnotu přesahující (laboratoří hodnocenou jako „záplava“). U každého pacienta byla odebrána hemokultura k detekci bakterií a mikroskopických hub. Všechny vyizolované bakteriální kmeny byly archivovány.

Biochemické a hematologické vyšetření.

Cíleně byly sledovány a hodnoceny markery zánětu: CRP, fibrinogen a počty segmentů v likvoru. Náhodným výběrem z pacientů byl stanoven IL-6 jako další marker zánětu [51-56], který byl vyšetřován na Ústavu klinické imunologie a alergologie metodou ELISA s použitím komerční soupravy Quantikine human IL-6 (RDS, USA). Počty vyšetření IL-6 byly redukovány z důvodu kapacity laboratoře a vzhledem k výraznému navýšení nákladů. Proto stanovení IL-6 je chápáno jen jako výběrové a průřezové vyšetření.

Stanovení baktericidie likvoru.

U pacientů s pozitivní kultivací z likvoru byla v rámci rutinního mikrobiologického vyšetření stanovena baktericidie likvoru pomocí modifikované agarové difúzní metody. Připravená standardizovaná suspenze bakteriálního izolátu byla naočkována příslušnou kultivační půdou v Petriho misce. Na plotnu byly rozmístěny „komínky“, do kterých byl napipetován geometrickou řadou nařaděný roztok likvoru ve fyziologickém roztoku. Misky byly inkubovány ve tmě při 36°C ± 1 a výsledek – velikost inhibiční zóny (v mm) - odečítán po 18 až 24 h. Baktericidie likvoru odpovídá ředění (titru) likvoru, jehož zóna inhibice je rovna nebo vyšší než je hraniční koncentrace (break-point) pro jednotlivá antibiotika.

PCR metoda.

Při negativě mikroskopie, aglutinace a kultivace byl likvor následně vyšetřen metodou in-house, real-time PCR ke stanovení DNA invazivních bakteriálních druhů v Ústavu klinické biochemie a diagnostiky LF a FN HK. Zde byla provedena izolace nukleové kyseliny z mozkomíšního moku, amplifikace s následnou vizualizací (elektroforéza v agarózovém gelu po obarvení ethidium bromidem). Falešná pozitivita byla minimalizována vyšetřením v dubletu. Falešně negativní výsledky byly eliminovány vnitřní kontrolou inhibice reakce. Průkazy DNA *Neisseria meningitidis* byly prováděny s primery v oblasti *crg A* (conserved regulatory gen). Pro průkazy sérotypů byla použita multiplex nested PCR s primery pro sérotyp A: *orf* gen, sérotyp B: *sia D* gen a pro sérotyp C: *sia D* gen. *Haemophilus influenzae* a *Streptococcus pneumoniae* byl prokazován metodou multiplex nested PCR s primery z oblasti *16 S rRNA* genu. *Escherichia coli* – nested PCR, primery z oblasti *beta-glucuronidase* genu. Nested PCR byla použita pro detekci DNA *Listeria monocytogenes*.

Biologická metoda vyšetření hladin ceftriaxonu, cefotaximu a krystalického penicilinu G – draselná sůl.

Stanovení hladin β -laktamových antibiotik bylo prováděno na Ústavu klinické mikrobiologie LF a FN HK biologickou metodou. Byla zvolena mikrobiologická difuzní jamková metoda modifikovaná dle Urbáškové *a kol.* [33]. Jako testovací mikroorganismus byl použit pro cefalosporinová antibiotika - ceftriaxon nebo cefotaxim kmen *Escherichia coli* CCM (Czech Collection of Microorganisms) 3954, pro krystalický penicilin G – draselná sůl kmen *Staphylococcus aureus* CCM 3953.

Příprava kultivačních pŮd. Kmen ze zásobního šikmého agarů byl naočkován do zkumavky s 3 ml Trypton Soya Broth (Oxoid) a kultivován 18 hod při teplotě 37°C. Do vysterilizovaného Mueller-Hintonova agarů (MHA) (Oxoid) ochlazeného na 48°C bylo přidáno takové množství suspenze příslušného kmene, aby výsledná koncentrace činila 1 – 5 × 10⁶ CFU/ml. Do plastové Petriho misky o průměru 90 mm bylo napipetováno 8 ml připravené půdy s příslušným kmenem. Po utužení půdy ve vodorovné poloze (kontrolováno libelou), byly nalité půdy umístěny na 2 hod. do lednice. Poté byly korkovrtem podle šablony sterilně vyříznuty 4 ev. 6 jamek o průměru 6 mm. Objem takto vytvořené jednotlivé jamky byl 20 μ l.

Příprava standardních koncentrací ATB. Antibiotika byla naředěna sterilní destilovanou vodou (Aqua pro inj.) na koncentraci 200 mg/ml u cefalosporinů, 50 mg/ml u penicilinu, rozplněna po 0,5 ml a uchovávána při – 20°C po dobu maximálně 2 měsíců. Těsně před

provedením testu se z těchto zásobních koncentrací připravily pracovní koncentrace přidáním sterilní destilované vody tak, aby výsledná koncentrace byla $10 \times$ vyšší než požadovaná koncentrace pro kalibrační křivku. Na konečnou koncentraci byla antibiotika naředěna lidským sérem pro kalibrační křivku určenou pro odečet koncentrací antibiotik v séru nebo v roztoku sestávajícího z 150 mmol/l NaCl a 4,5 mmol/l CaCl₂, pH 6,8 pro kalibrační křivku pro odečet koncentrací antibiotik v likvoru. U použitého séra bylo předem ověřeno, že neinhibuje testovací kmen.

Cefalosporinová antibiotika byla naředěna na následující koncentrace - 0,5; 1,0; 2,0; 10,0; 20,0; 50,0; 100,0 a 200,0 µg/ml, krystalický penicilin – 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0; 100,0 µg/ml.

Ředění odebraných sér a likvorů. Séra a likvory byly ihned po doručení do laboratoře rozplněny po 250 µl a uchovávány až do doby provedení testu při -80°C. Vzhledem k dosažení co nejpřesnějšího výsledku stanovení, bylo potřeba dosáhnout toho, aby koncentrace antibiotik v testovaném vzorku odpovídala přibližně hodnotám ve středu kalibrační řady. Proto byl testován současně vždy koncentrovaný a ředěný vzorek. Sérum odebrané před aplikací antibiotika nebo likvor byly ředěny 1:5 a 1:10, sérum odebrané po aplikaci antibiotika bylo naředěno 1 : 10 a 1 : 100. Séra byla ředěna lidským sérem, likvor roztokem popsaným výše pro naředění standardních koncentrací antibiotik pro kalibrační křivku.

Provedení testu a kalibrace. Vždy na 3 plotny do 2 protilehlých jamek bylo napipetováno 20 µl jedné koncentrace antibiotika ze standardní řady a do dalších 2 jamek stejné množství antibiotika se střední koncentrací. Tato střední koncentrace byla použita v kombinaci s každou jednotlivou koncentrací standardní řady. Pro nejnižší standardní koncentrace byly použity plotny s 6 jamkami, ostatní koncentrace byly nakapány na plotny se 4 jamkami. Inhibiční zóny vytvořené po inkubaci kolem jamek s jednotlivými koncentracemi antibiotik se nesměly dotýkat nebo dokonce prolínat. Kalibrace byla prováděna při každém testu stanovení hladin antibiotik na půdách stejné šarže jako vlastní test, připravených bezprostředně před provedením testu. Použití starších půd není vhodné, neboť stáří půdy i při uchovávání v plastovém obalu v lednici, má vliv na velikost inhibiční zóny i ostrost jejích okrajů.

Vlastní test. Stejným způsobem byly napipetovány koncentrované nebo příslušným způsobem naředěné vzorky séra nebo likvoru, tedy na každém tripletu ploten byly 2 protilehlé jamky s testovaným vzorkem a 2 jamky se střední koncentrací standardu. Všechny naplněné plotny byly kultivovány v termostatu ve vodorovné poloze maximálně 4 ks položené nad

sebou po dobu 18 hod. při teplotě 37°C. Po ukončení kultivace byly přesně změřeny průměry inhibičních zón ve 2 na sebe kolmých směrech na dokumátoru při zvětšení 6.5 ×. Od každé koncentrace standardní řady i testovaných vzorků jsme takto získali 6 hodnot. Odečítání inhibičních zón u standardních koncentrací antibiotik i testovaných vzorků bylo provedeno vždy jednou osobou pro vyloučení subjektivní chyby.

Hodnocení. Pro sestavení kalibrační křivky a výpočet koncentrace antibiotika v testovaném vzorku byl použit program MIKROBIO sestavený k tomuto účelu. Ze zadaných hodnot průměrů inhibičních zón pro jednotlivé standardní koncentrace je možné sestavit kalibrační křivku, dle charakteru rozložení hodnot lze zvolit výpočet regrese logistickou funkcí nebo polynomem 1. až 5. stupně. Pro naše účely bylo nejvhodnější použití polynomu 2. stupně. Program umožňuje i vyřazení hodnot, které jsou extrémně vzdáleny od vypočítaného průměru. Ze zadaných hodnot průměrů inhibičních zón testovaných vzorků byl spočítán aritmetický průměr koncentrace antibiotika a směrodatná odchylka.

Všechny výše uvedené hodnoty byly zaznamenávány elektronicky a do vytvořeného odběrového listu. Projekt byl schválen etickou komisí Fakultní nemocnice Hradec Králové dne 10. 6. 2004 pod číslem jednacím 200406 S01.

Materiálové a přístrojové zajištění

Příslušná laboratoř Ústavu klinické mikrobiologie LF a FN HK se dlouhodobě zabývá problematikou antibiotické politiky. Rutinně stanovuje kvantitativní i kvalitativní citlivosti bakteriálních kmenů na antibiotika. Disponuje materiálovými, technickými i lidskými zdroji ke zvládnutí této problematiky. Je akreditovaným pracovištěm.

Laboratoř Ústavu klinické imunologie LF a FN HK je akreditována i ke stanovování interleukinů z humánních materiálů.

Klinika infekčních nemocí LF a FN HK patří k akreditovaným pracovištěm a dlouhodobě se zabývá léčbou pacientů v těžkých infekčních stavech včetně nemocných s diagnózou purulentní meningitidy, purulentní meningitidy a sepse. Tito pacienti jsou diagnostikováni a léčeni na jednotce intenzivní péče.

Statistika

Byla prováděna na oddělení výpočetní techniky LF HK.

U hodnocení hladin **ceftriaxonu** byl použit program NCSS 2007, metody deskriptivní statistiky: párový a dvouvýběrový *t*-test, neparametrický Komolgorov-Smirnov test, bodový graf, Spearmanovy korelační koeficienty, vícenásobná lineární a logistická regrese.

V případě stanovení hladiny ceftriaxonu v séru před a po podání antibiotika byla testována hypotéza shody vůči alternativě neshody jeho koncentrace před a po podání pomocí párového *t*-testu. Byl vypočten kvocient sérum po podání/před podáním antibiotika ($K_{s/s}$) (koncentrace antibiotika v séru po podání/koncentrace antibiotika v séru před podáním antibiotika), jehož číselná hodnota udává násobky vzrůstu hladin. Výsledky byly porovnávány s klinickým průběhem onemocnění.

Byl hodnocen možný vztah mezi hladinou antibiotika v likvoru a séru a hodnotami laboratorních markerů zánětu. Byl kalkulován likvor-sérum kvocient ($K_{l/s}$), (koncentrace antibiotika v likvoru/koncentrace antibiotika v séru) k charakterizaci míry průniku antibiotika přes hematoencefalickou bariéru. Čím vyšší numerická hodnota kvocientu tím je vyšší propustnost hematoencefalické bariéry.

Dále byl testován rozdíl v hodnotách markerů zánětu (CRP, fibrinogen, počty segmentů v likvoru) mezi dvěma skupinami pacientů rozdělenými podle $K_{l/s}$. Byla testována hypotéza shody vůči alternativě neshody s použitím dvouvýběrového *t*-testu a neparametrického Kolmogorov-Smirnov testu. Stejným způsobem byl testován i vliv doby odběru od podání antibiotika na přítomnost a velikost testovaných laboratorních parametrů zánětu.

Pomocí Spearmanovy neparametrické korelace, vícenásobné lineární regrese a logistické regrese byl hledán marker zánětu, který by nejlépe odpovídal míře průniku antibiotika přes hematoencefalickou bariéru, kde závisle proměnná byl index $K_{l/s}$ a nezávisle proměnná markery zánětu.

U krystalického penicilinu G – draselná sůl byl použit program NCSS 2007, metody deskriptivní statistiky: párový t -test, bodový graf, Spearmanovy korelační koeficienty, vícenásobná lineární regrese.

V případě stanovení hladiny penicilinu v séru před a po podání se opět testovala hypotéza shody vůči alternativě neshody jeho koncentrace před a po podání pomocí párového t -testu.

Byl testován možný vztah mezi hladinou likvoru a hodnotami laboratorních markerů zánětu. Znovu byla použita Spearmanova neparametrická korelace, vícenásobná lineární regrese, kroková regrese a opět byl hledán marker zánětu, který by nejlépe odpovídal míře průniku antibiotika přes hematoencefalickou bariéru, kde závisle proměnná byl index $K_{1/s}$ a nezávisle proměnná markery zánětu.

Výsledky stanovení hladin cefotaximu nebyly pro malé počty měření statisticky zpracovány.

VI. Výsledky

Na hladiny antibiotik bylo celkem bylo vyšetřeno 24 pacientů zařazených do studie.

U všech pacientů byl souběžně vyšetřen likvor (24 vzorků, 31,6 %) a sérum (24 vzorků). Vedle toho byla odebrána u čtrnácti nemocných (28 vzorků) krev na stanovení sérových hladin antibiotika před a po podání.

Celkem 52 vzorků (68,4 %) bylo zpracováno na hladiny ceftriaxonu, 20 vzorků (26,3 %) na hladiny krystalického penicilinu a 4 vzorky (5,3 %) na hladiny cefotaximu.

Pro přehlednost jsou počty vzorků znázorněny v tabulce 4.

Ceftriaxon

Vyhodnocení hladin ceftriaxonu před a po podání antibiotika v séru (kvocient $K_{s/s}$) ukázalo statisticky významný rozdíl ($p = 0,000156$) (Tab. 5, Graf 5). Hladiny ceftriaxonu po podání dosahovaly vysokých hodnot (průměr $300,0 \pm 125,94$ mg/l) a relativně výrazně poklesly během sledovaného intervalu 24 hod (průměr $31,2 \pm 12,29$ mg/l). Kvocient $K_{s/s}$ dokladuje průměrně desetinásobné vzrůsty sérových hladin ceftriaxonu po podání antibiotika (průměr $10,4 \pm 4,39$).

Hodnoty kvocientu likvor/sérum ($K_{l/s}$) se pohybovaly od 0,033 do 0,409.

Pacienti byli rozděleni na základě hodnoty indexu $K_{l/s}$ do dvou skupin (Tab 6). Skupina I. měla hodnoty $K_{l/s}$ menší než 0,1, skupina II. vyšší než (nebo rovny) 0,1. U obou skupin byly porovnávány laboratorní markery zánětu. Srovnání testovaných markerů zánětu (CRP, fibrinogen a počty segmentů v likvoru) potvrdilo statisticky významný rozdíl mezi oběma skupinami u fibrinogenu ($p = 0,0178$), CRP ($p = 0,00192$) a počtů segmentů v likvoru ($p = 0,0112$). Kompletní hodnoty jsou zaznamenány v přehledové tabulce 7, spolu s průřezovými hodnotami IL-6.

Z grafů 6 – 9 je zřejmá přímá korelace hodnot markerů zánětu k hodnotám $K_{l/s}$.

Nejtěsnější vztah k proložené křivce měly hodnoty fibrinogenu. V případě CRP a počtu segmentů v likvoru nebyl vztah k $K_{l/s}$ vzhledem k většímu rozptylu hodnot tak jednoznačný. K vyhodnocení IL-6, který byl sledován a hodnocen u omezeného počtu pacientů, by bylo potřeba více dat.

Hladiny ceftriaxonu v likvoru (Graf 10) byly relativně nízké, vykazovaly však jen velmi pozvolný pokles během 24 hodinového dávkovacího intervalu.

Při porovnání hladin ceftriaxonu v séru a v likvoru se ukázalo, že vedle očekávaného rozdílu v obou kompartmentech dochází v séru během 24 hodin k výraznějšímu poklesu v porovnání s likvorem (Graf 11).

Matematickými metodami byl hledán marker zánětu (nebo kombinace markerů) jako prediktor vyššího průniku antibiotika do likvoru. Výsledkem byla regresní rovnice:

$(4.177 \times 10^{-2} - 1.974 \times 10^{-4} \times \text{CRP} + 2.067 \times 10^{-2} \times \text{fibrinogen} + 1.264 \times 10^{-5} \times \text{segmenty})$
s koeficientem determinace $R^2 = 0,625$ na hladině významnosti vhodnosti celého modelu $p = 0,0012$. Postup byl optimalizován na počet segmentů, kde $R^2 = 0,594$ (hladina významnosti $p = 0,0002$), který vychází jako nejvýznamnější člen rovnice.

Při použití logistické regrese (závisle proměnná kvalitativní veličina – tedy logické zařazení jednotlivých markerů do dvou skupin podle $K_{l/s}$) nebyl statisticky prediktivní marker nalezen. Pro všechny markery zánětu však platí korelace s $K_{l/s}$ jako popis situace – čím vyšší marker zánětu tím vyšší průnik antibiotika do likvoru.

Krystalický penicilin G – draselná sůl

Hladiny krystalického penicilinu v séru před a po podáním (kvocient $K_{s/s}$) prokázaly statisticky významný rozdíl ($p = 0,0216$), (Tab. 8, Graf 12). Hodnoty hladin penicilinu po podání dosahovaly vysokých hodnot, ale se značnou variabilitou (průměr $110,3 \pm 63,9$) a významně poklesly během 4 hodin (průměr $14,3 \pm 15,8$), kdy variabilita byla ještě výraznější. Kvocient $K_{s/s}$ dokladuje průměrně čtrnáctinásobné vzestupy hladin penicilinu v séru po podání (průměr $14,4 \pm 10,2$).

Hodnoty kvocientu likvor/sérum $K_{l/s}$ se pohybovaly od 0,006 do 0,653 (Tab. 9). V grafech 13 – 14 je vizualizovaná přímá korelace hodnot $K_{l/s}$ k CRP a počtů segmentů v likvoru. V grafu 15, závislosti $K_{l/s}$ k fibrinogenu, však tato korelace není zřejmá. Určení jednoznačné závislosti je však problematické pravděpodobně pro menší počet dat.

Hladiny krystalického penicilinu v likvoru v závislosti na čase podání od poslední dávky (Graf 16) vykazovaly vzestup během 4 hodinového dávkovacího intervalu.

Při porovnání hladin antibiotika v séru a v likvoru byl zřejmý v jejich maximálních hodnotách značný rozdíl, který se však vyrovnával na konci 4 hodinového dávkovacího intervalu (Graf 17). Tento pokles vykazovaly sérové hladiny penicilinu, hladiny v likvoru nevykazovaly jasný trend poklesu.

Opět byl matematickými metodami hledán marker zánětu (nebo jejich kombinace) jako prediktor průniku antibiotika do likvoru. Nalezená korelační rovnice

$(- 4,03 \times 10^{-2} + 2,82 \times 10^{-3} \times \text{CRP} + 1,02 \times 10^{-3} \times \text{fibrinogen} + 2,32 \times 10^{-5} \times \text{segmenty})$
s koeficientem determinace $R^2 = 1,0$ na hladině významnosti celého modelu $p = 0,0013$ byla optimalizována na hodnoty CRP a počtů segmentů, které vycházely jako významné členy rovnice. Krokovou regresí (v prvním kroku CRP, $R^2 = 0,939$ na hladině významnosti $p =$

0,0042) a logistickou regresí nebyl statisticky prediktivní marker nalezen. Pro CRP a počty segmentů platí závislost čím vyšší hodnoty tím vyšší $K_{l/s}$ (vyšší průnik penicilinu do likvoru) jako popis situace. Tento stav však může být ovlivněn počtem vzorků.

Cefotaxim

Čtyři vzorky byly zpracovány na hladiny cefotaximu v likvoru a v séru (Tab 10). Vzhledem k tomu, že cefotaxim není standardně podáván jako antibiotikum první volby u terapie purulentní meningitidy, jde jen o velmi malý počet vzorků.

Graf 18, porovnání hladin antibiotika v séru a v likvoru v časové ose naznačuje trendy poklesu sérových i likvorových hladin včetně jejich rozdílu v obou kompartmentech. Vzorky byly odebrány nejspíše již v sestupné části křivky. Vztahy kvocientu likvor/sérum k laboratorním parametrům zánětu nebyly, vzhledem k velmi malému počtu vzorků, dále zpracovávány a jsou schématicky naznačeny v grafu 19.

VII. Diskuse

Úvodem je nutno si uvědomit jak obtížné bylo získávání jednotlivých vzorků, především pak vzorků mozkomíšního moku. Na našem pracovišti je každoročně léčeno 15-20 nemocných s diagnózou purulentní meningitidy či purulentní meningitidy a sepse. Avšak z tohoto počtu bylo možno zařadit do souboru jen 10-15%, protože většina nemocných nespĺňovala vstupní kritéria. Příčiny byly především dvě.

Za prvé to byla nutnost získání „antibioticky čistého“ vzorku, který by nebyl zatížen zbytkovou hladinou jiného antibiotika, který by pak mohl zkreslit výsledky zpracovávané biologickou metodou na bakteriálních kmenech. Zde je nutno si uvědomit, že pacienti nejsou z valné většiny přijímáni do zdravotnického zařízení s jasnou diagnózou neuroinfekce a jsou v iniciální fázi onemocnění léčeni jiným, než námi požadovaným antibiotikem a tímto jsou předem vyloučeni z výběru. Jen minimum pacientů se dostává na naše pracoviště primárně, a zde je zvažována a případně diagnostikována purulentní meningitida či sepe. V některých případech, a to především u léčby krystalickým penicilinem, bylo pro relativně úzké spektrum penicilinu indikováno podání dvojkombinace antibiotik. Jednalo se především o případy „otogenních“ či „rhinogenních“ purulentních meningitid, kdy byl indikován (a realizován) chirurgický výkon – nejčastěji antromastoidektomie pro jednostrannou mastoiditidu, nebo výkon na vedlejších nosních dutinách. I když byl etiologicky prokázán *Streptococcus pneumoniae* s dobrou citlivostí k penicilinu, byla antibiotická terapie, vzhledem k pooperačnímu stavu (arteficiální plicní ventilace, septický šok, přechodná iatrogenní komunikace nitrolební či vnitřního ucha se zevním prostředím...), rozšířena o antibiotika se spektrem působícím i na gramnegativní mikrobiální spektrum.

Za druhé, pokud se nám podaří vhodného pacienta získat, potom vyvstává vlastní problematika získání biologického materiálu – tedy především mozkomíšního moku. Ke stanovení hladin β -laktamových antibiotik v likvoru biologickou metodou bylo potřeba 1 - 2 ml mozkomíšního moku. Diagnostický standard vyšetření likvoru zahrnuje vyšetření biochemické, cytologické, mikrobiologické a většinou i nutnost odběru vzorku k vyšetření molekulárně – biologickými metodami. V mnohých případech se však odběr 1 - 2 ml likvoru navíc již jevil jako rizikový, což bylo v rozporu se správně vedenou lékařskou praxí. Diagnóza purulentní meningitidy a purulentní meningitidy a sepse je spojena s mozkovým edémem, či minimálně s možností jeho vzniku a odběr většího objemu likvoru nese zvýšené riziko neurologických komplikací, především pak v akutních fázích onemocnění.

U všech pacientů byla snaha o objasnění etiologie onemocnění, ale navzdory využívání řady diagnostických metod bylo etiologicky objasněno jen 71 % případů.

Ceftriaxon je obecně přijímanou antibiotickou terapií první volby u pacientů s diagnózou purulentní meningitidy a purulentní meningitidy a sepse. V případě pozitivního kultivačního nálezu, podpořeného kvantitativní citlivostí u vybraných bakteriálních kmenů, je lékem volby krystalický penicilin G draselná sůl (případně i jiná antibiotika). Cefotaxim není uváděn jako antibiotikum první volby u dospělých, ale není chybou jeho podání [1-11, 13-15, 18, 21-22, 31, 35-36, 52, 67-68, 86, 88, 92, 126, 131, 134, 136, 143].

Řada autorů se však zamýšlí nad efektivitou této standardně podávané léčby, především ceftriaxonu. Jsou kladeny otazníky na výši dávky betalaktamových antibiotik ve vztahu k jejím průnikům přes zánětlivě změněnou hematoencefalickou bariéru, je uvažováno o úpravě časových schémat podání. Dále se váhá i nad vhodností užívání baktericidních antibiotik ve vztahu k sekundárnímu extrémnímu vystupňování prozánětlivé imunologické odpovědi při rychlé debacilizaci likvoru a iatrogeně navozeným vznikem rozpadových produktů, které vedou k devastujícímu mozkovému edému, nebo k rychle progredujícímu septickému šoku se závažnou kardiopulmonální nestabilitou [8, 11-12, 14-23, 27, 31-32, 85, 94, 125, 130, 134].

Dříve diskutovaná problematika podávání kortikoidů poněkud ustoupila do pozadí. V současné době je v závislosti na věku pacienta a etiologii infekce podávání kortikoidů v akutní fázi onemocnění doporučováno, protože tlumí rozvoj masivní zánětlivé imunitní reakce, redukuje nadledvinkovou nedostatečnost (která je většinou relativní při nepoměru produkce kortikotropních hormonů a jejich zvýšené utilizaci při vystupňovaném metabolismu při sepsi) a zvyšuje senzitivitu adrenergních receptorů na exogenní katecholaminy [2-5, 8-11, 35-35, 84-90, 129].

Hladiny ceftriaxonu

Naměřené hladiny ceftriaxonu po intravenózním podání dosahovaly v séru stabilně vysokých hodnot v souladu s odbornou literaturou a s doporučeními pro výpočet dávky tohoto antibiotika.

Hladiny léku u dávkovacího režimu 1×4 g ceftriaxonu za 24 hodin byly před dalším podáním antibiotika relativně nízké ($p = 0,0002$) a dosahovaly přibližně 15 % sérových koncentrací měřených 30 minut po aplikaci ceftriaxonu (Tab. 5, Graf 5). S ohledem na baktericidní charakteristiku cefalosporinů, která by měla dosahovat až 90% času nad minimální inhibiční koncentraci může tento režim vzbuzovat pochybnosti o jeho efektivitě [13-23]. V našem případě nebyly nejnižší hodnoty ceftriaxonu v séru pod hladinou 15,0 mg/l,

tedy převyšovaly MIC ceftriaxonu pro nejčastější původce hnisavých meningitid - *Neisseria meningitidis* (0,12 mg/l), *Streptococcus pneumoniae* (0,5 mg/l), *Haemophilus influenzae* (0,12 mg/l), Enterobacteriaceae (1,0 mg/l) [143]. Je nutno si však uvědomit, že pracujeme s vícekompartmentovým systémem (sérum/likvor), kdy mozkomíšní mok je pak cílovým kompartmentem.

Při výše uvedeném léčebném schématu, hladiny ceftriaxonu v mozkomíšním moku pozvolně klesaly v průběhu 24 hodin, což odpovídá jeho eliminační křivce [10, 13-23, 30, 133, 135, 140]. Hladiny v likvoru se ve sledovaných časech pohybovaly nad 0,8 mg/l, tj. rovněž nad hodnotami MIC pro typické běžné původce purulentních meningitid. Měření baktericidie u vybraných vzorků (n = 9, 52,9 %) ukázalo, že měly dostačující cidní efekt i při ředění likvoru 1 : 128 a vyšším, v průběhu celých 24 hodin, jak naznačují dostupná data (Tab. 7, Graf 10).

Při porovnání křivek aktuálních hladin v séru a v likvoru (Graf 11) jsme zaznamenali značný rozdíl v jejich koncentracích (Tab. 7). Jeho procentuálně vyjádřené hodnoty průniku do likvoru (průměrně $13,4\% \pm 11,5$) byly ve shodě s většinou literárních pramenů [7, 9, 11, 13], i když některé práce udávají průnik i vyšší (16 – 32 %), [10]. Tyto značné rozdíly však nemusí znamenat špatný průnik ceftriaxonu do mozkomíšního moku. Mohou být důsledkem nízké koncentrace bílkoviny v likvoru (při 83-96 % vazbě ceftriaxonu na bílkoviny). Biologická metoda stanovení hladin ceftriaxonu není schopna exaktní diferenciací volné frakce antibiotika od celkových koncentrací. Pro variantu měření celkových koncentrací však svědčí fakt vyšších hladin ceftriaxonu v likvoru u nemocných s vysokou proteinorhachií (Tab 7).

Problematikou průniku léku přes zánětlivě změněnou hematoencefalickou bariéru ve vztahu k laboratorním a prozánětlivým markerům infekce se zabývala řada prací [2-4, 10, 12, 14-22, 24-29, 32, 55, 122, 124, 129-130]. Naše výsledky podporují fakt, že čím větší SIRS, tím snadněji dochází k průniku ceftriaxonu přes hematoencefalickou bariéru (vyšší $K_{1/s}$).

Složitější bylo hodnocení a interpretace laboratorních markerů zánětu ve snaze rozpoznat, do jaké míry souvisí s výše uvedeným stavem. Trendy hodnot CRP, fibrinogenu, počtů segmentů v mozkomíšním moku a IL-6 byly přímo úměrné průniku ceftriaxonu i velikosti $K_{1/s}$. Nejmenší rozptyl od trendové křivky vykazoval fibrinogen, i když samotný rozdíl mezi minimy a maximy naměřených hodnot byl relativně malý, což poněkud snižuje jeho diskriminační hodnotu. Hodnoty CRP a počtu segmentů v likvoru vykazovaly relativně velký rozptyl, stejně jako hodnoty IL-6, ty však vycházely z malého počtu měření.

Lze konstatovat, že zvýšený průnik antibiotika do mozkomíšního moku koreloval s vyššími hodnotami vyšetřovaných markerů zánětu (Grafy 6 - 9), ale získané výsledky neumožnily jednoznačně stanovit prediktivní laboratorní marker (či jejich kombinaci), který by definoval míru průniku ceftriaxonu přes zánětlivě změněnou hematoencefalickou bariéru.

Pokud vycházíme z klinických dat, při léčbě v režimu podání 4 g ceftriaxonu 1 × za 24 hodin intravenózně, došlo vždy k sanaci onemocnění. Z našich zkušeností je efekt terapie v jednodenním režimu vyhovující. Vzhledem k tomu, že doposud v odborné společnosti nebylo vydáno doporučení pro podávání ceftriaxonu v jiných časových režimech, byli naši nemocní léčeni v jednodenním dávkovacím schématu a tudíž nejsme schopni dokladovat srovnávací kohortu nemocných léčených v jiných dávkovacích režimech.

Hladiny krystalického penicilinu G draselná sůl

Naměřené hladiny krystalického penicilinu v séru po intravenózním podání dosahovaly vysokých hodnot v souladu s doporučeními pro výpočet dávky. Koncentrace krystalického penicilinu v séru u dávkovacího režimu 1 × 10 MIU za 4 hodiny 10 minut před podáním a 10 minut po podání se statisticky významně lišily ($p = 0,0216$) (Tab. 8, Graf 12).

Zjištěné minimální hladiny penicilinu v séru před podáním další dávky byly 2,6 mg/l a vyšší, tedy jednoznačně minimálně o řád vyšší než MIC krystalického penicilinu požadovaná pro běžné původce hnisavých meningitid - *Neisseria meningitidis* (0,06 mg/l), *Streptococcus pneumoniae* (0,06 mg/l), *Streptococcus* spp. (0,25 mg/l), Grampozitivní i Gramnegativní anaeroby (0,25 mg/l) [143]. Tyto hodnoty jednoznačně splňují požadavky kladené na toto β -laktamové antibiotikum (80-90 % času nad MIC).

Je zřejmé, že sérové hodnoty klesají poměrně rychle, prakticky ve všech měřeních před dalším podáním intravenózní dávky vykazovaly relativně nízké hodnoty a prodloužení intervalu na více jak 4 hodiny nemusí zaručit terapeutickou efektivitu. Případné schéma s prodloužením doby intravenózní infuze jednotlivých dávek nebylo v této práci řešeno. Charakteristiky hladin těchto vzorků korelují s doporučeními o dávkování krystalického penicilinu, odpovídají eliminačním křivkám a nejsou v rozporu s pracemi, které se touto problematikou zabývaly [2-7, 10-11, 13, 19, 32, 52, 133].

Hladiny krystalického penicilinu v likvoru (Graf 16) v průběhu čtyřhodinového dávkovacího intervalu vykazují (na rozdíl od ceftriaxonu) poněkud jinou charakteristiku. Odběry byly většinou provedeny ve fázi vzestupné části křivky, vrchol hladin byl zachycen cca za 2,5 hodiny po intravenózním podání. Poslední měřená hodnota za 3 hodiny po podání

již vykazuje sestupný trend, nezdařilo se vyšetřit vzorek likvoru ke konci 4 hodinového intervalu (těsně před podáním další dávky). Hladiny penicilinu v likvoru se ve sledovaných časech pohybovaly nad 0,45 mg/l (a výrazně vyšší) (Tab. 9, Graf 16), to znamená rovněž výrazně vyšší hodnoty než je MIC pro běžné původce purulentních meningitid. Stanovení baktericidie mozkomíšního moku u kultivačně pozitivních vzorků (n = 4,0 80 %) prokázalo dostatečnou cidii, při ředění likvoru 1 : 128 a vyšším, tedy nejspíše po celou dobu do dalšího podání dávky antibiotika (4 hodiny).

Při porovnání křivek aktuálních hladin v séru a v likvoru (Tab. 9, Graf 17) byl zaznamenán značný rozdíl v jejich koncentracích, který se ale významně snižoval v okrajových částech křivek. Tyto parametry dokladují krátké eliminační charakteristiky daného antibiotika. Průměrné procentuálně vyjádřené hodnoty průniku do likvoru vyjadřují velkou variabilitu, která je ve vazbě na čas od podání penicilinu (průměrně $26,4 \pm 25,8$ %). Prodloužení dávkovacího intervalu na více než 4 hodiny znamená reálné riziko poklesu koncentrací antibiotika v likvoru a tím i ztrátu baktericidie a jeho eradikativního účinku.

Stejně jako u ceftriaxonu jsme se i v případě krystalického penicilinu zabývali mírou průniku penicilinu do mozkomíšního moku přes zánětlivě změněnou hematoencefalickou bariéru a vztahy k laboratorním markerům zánětu v kontextu s literárními údaji (viz výše). Naše výsledky v případě hodnot CRP a počtů segmentů v likvoru (Grafy 13, 14), korespondují s hypotézou nárůstu $K_{1/2}$ se zvyšujícími se hodnotami CRP a počtů segmentů v likvoru, a dokumentují tedy snadnější průnik krystalického penicilinu přes hematoencefalickou bariéru v době zánětu. Hodnoty fibrinogenu však tuto závislost neprokázaly (Graf 15). Je nutno však brát na zřetel menší počet dat.

Při zpracování výsledků matematickými metodami nebyl nalezen marker zánětu (nebo jejich kombinace), který by definoval míru průniku krystalického penicilinu přes zánětlivě změněnou hematoencefalickou bariéru.

Hladiny cefotaximu

Cefotaxim je v odborných kruzích chápán spíše jako lék volby u terapie purulentní meningitidy u dospělých pacientů. Na druhou stranu je jednoznačně indikován u pacientů do 12 týdnů života, neboť je eliminován především renálně, kdy ceftriaxon není vhodný podávat pro jeho hepatální metabolismus a riziko rozvoje jaterní léze u těchto nemocných. Do našeho souboru se však nepodařilo tyto pacienty zařadit. U dospělých nemocných je toto antibiotikum používáno i v terapii sepse s tím, že jeho podáním, mimo jiné, antibioticky zajišťujeme likvorové cesty. Toto jsou praktické důvody velmi malého počtu nasbíraných

vzorků, neboť nebylo možné randomizovat větší počty lidí tímto antibiotikem léčených. Výše uvedení pacienti se do výběru dostali díky svému těžšímu klinickému stavu, vysokým laboratorním markerům zánětu, klinickým podezřením na diagnózu purulentní meningitidy a již zavedenou léčbou tímto antibiotikem, ale na druhou stranu likvorový nález nesplňoval jednoznačná kritéria purulentní meningitidy. Z těchto výsledků pochopitelně nelze dělat ucelenější závěry.

Tabulka 4 Počty zpracovaných vzorků dle antibiotika a biologického materiálu					
Materiál	Označ.vzorku	Ceftriaxon	Penicilin	Cefotaxim	Celkem
Likvor	A/L	17	5	2	24
Sérum (ve stejný čas s likvorem)	A/S	17	5	2	24
Sérum 30 min. před ATB	B1	9	5	0	14
Sérum 30 min. po ATB	B2	9	5	0	14
Celkem		52	20	4	76

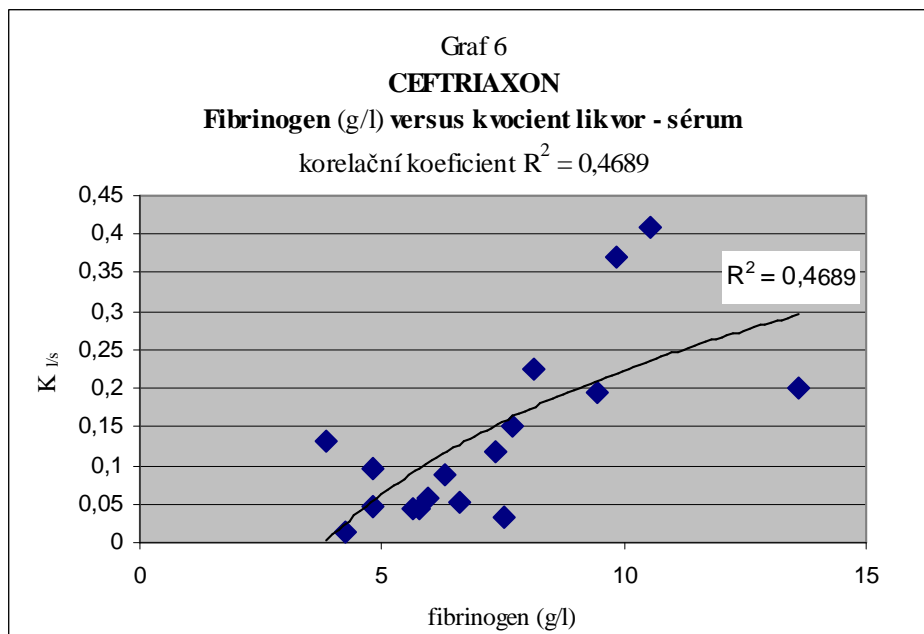
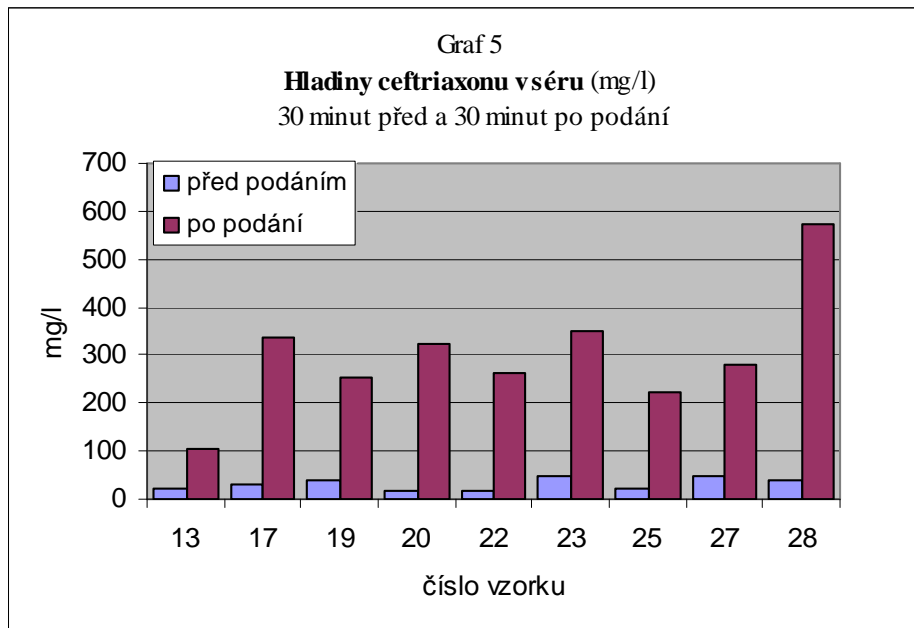
<p style="text-align: center;">Tabulka 5 Ceftriaxon - sérové hladiny 30 minut před a 30 minut po podání, jednotlivá dávka 4 g i.v. á 24 hod.</p>						
Poř.číslo/ č. vzorku	Sex/věk (roky)	Etiologie	Počet již podaných dávek	Hladina ATB před podání mg/l	Hladina ATB Po podání mg/l	Kvociant po/ před podáním K _{s/s}
1./13	M/56	<i>S. pneumoniae</i>	2	20,6	103	5,00
2./17	M/78	?	1	29,2	335,2	11,48
3./19	M/61	?	2	38,0	251,6	6,62
4./20	M/24	<i>N. meningitidis sk. B</i>	4	19,0	323,9	17,05
5./22	M/19	?	3	17,9	261,9	14,63
6./23	M/36	?	3	46,8	348	7,44
7./25	M/38	<i>S. pneumoniae</i>	2	20,5	224,9	10,98
8./27	Ž/51	<i>S. pneumoniae</i>	3	47,7	279,1	5,85
9./28	Ž/51	<i>S. pneumoniae</i>	9	40,7	572,2	14,6
Průměr				31,16	299,98	10,41
Medián				29,2	279,1	10,98
Směrodatná odchylka				12,29	125,94	4,39

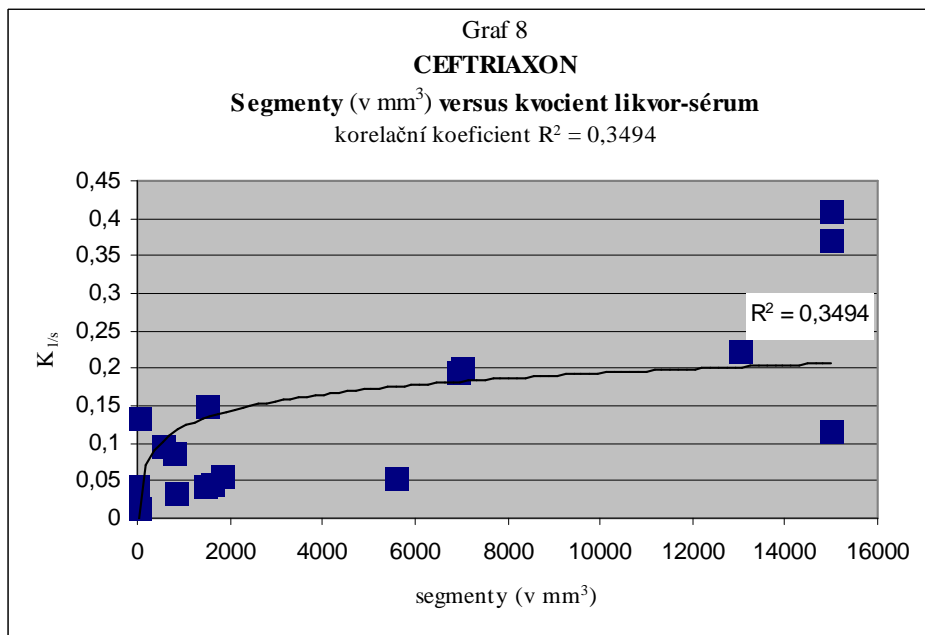
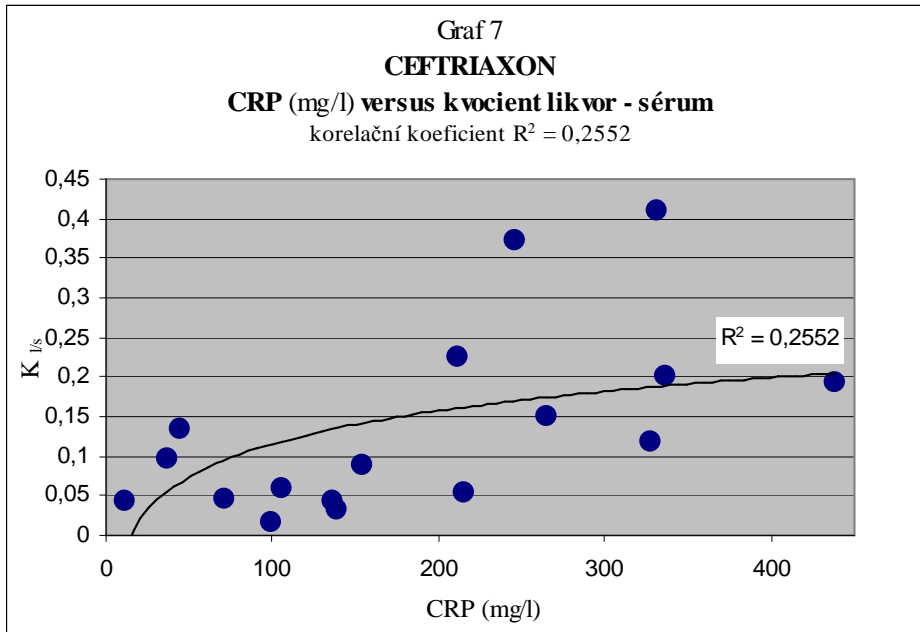
Tabulka 6					
Hladiny ceftriaxonu - jednotlivé skupiny podle likvoru – sérového kvocientu $K_{l/s}$					
Skupina I $K_{l/s}$ do 0,099 vzorek č.:	CRP mg/l	Segmenty v likvoru v mm3	Fibrinogen g/l	IL-6 pg/ml	Kvocient likvor/sérum $K_{l/s}$
9	216	5600	6,62		0,053
11	71	1620	4,82		0,046
17	99	49	4,24		0,015
19	137	1482	5,76		0,043
20	139	828	7,5		0,033
22	106	1826	5,93	65,4	0,058
23	37	536	4,82	8,6	0,097
27	154	776	6,28	25,8	0,089
28	11	11	5,63	35,8	0,043
Průměr	107,8	1414,2	5,73	33,9	0,053
Medián	106	828	5,76	30,8	0,046
Skupina II $K_{l/s}$ od 0,100 vzorek č.:	CRP mg/l	Segmenty v likvoru v mm3	Fibrinogen g/l	IL-6 pg/ml	Kvocient likvor/sérum $K_{l/s}$
1	44	48	3,87		0,133
7	327	15000	7,35		0,117
8	265	1520	7,7		0,151
13	212	13000	8,12		0,224
21	337	7000	13,6		0,201
25	439	6912	9,45	97,8	0,194
2	331	15000	10,56		0,409
14	246	15000	9,82		0,371
Průměr	275	9185	8,81		0,225
Medián	296	10000	8,76		0,196
$p_{MII} =$	0,0019	0,0112	0,0178		0,0003

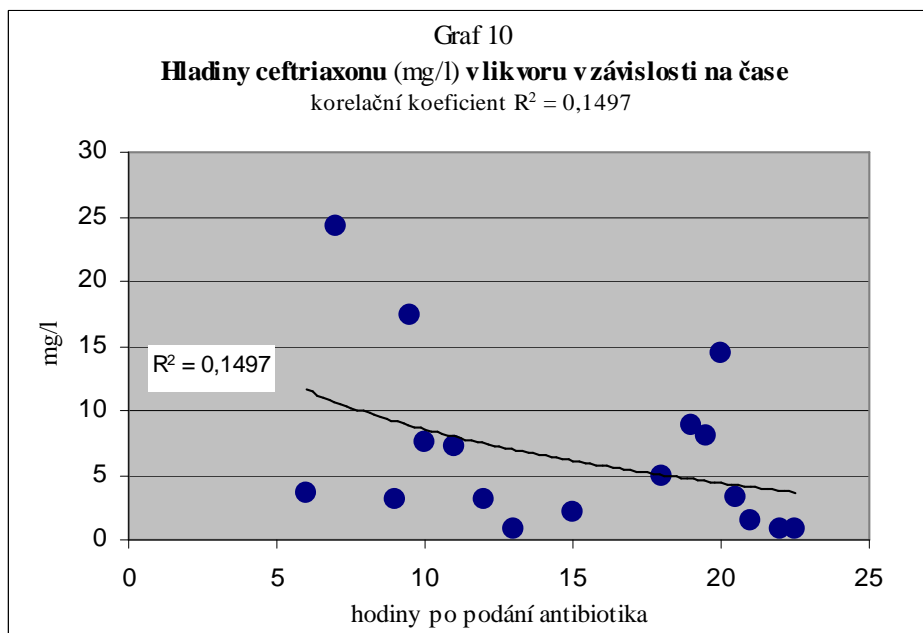
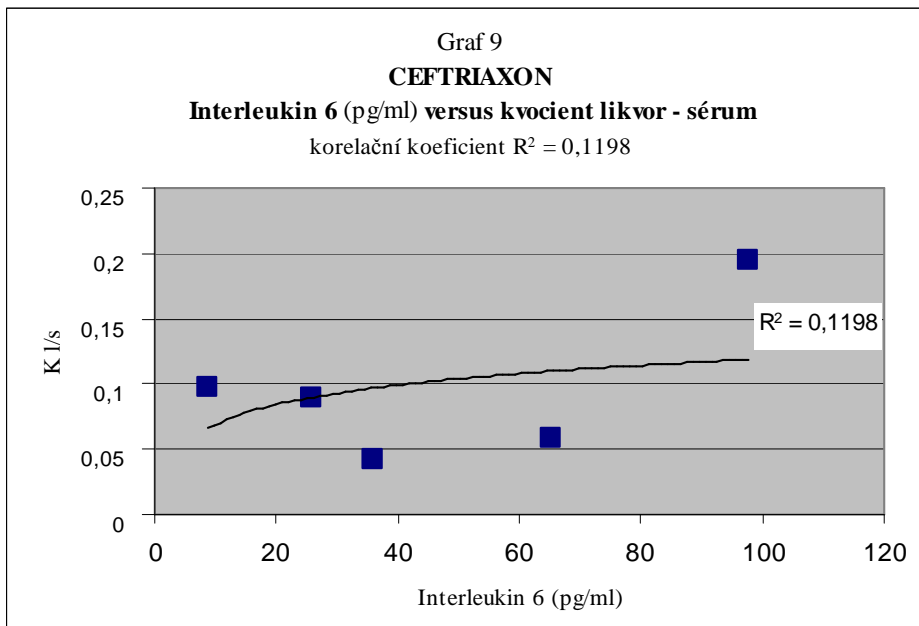
Tabulka 7
Ceftriaxon - jednotlivá dávka 4 g. i.v. á 24 hod

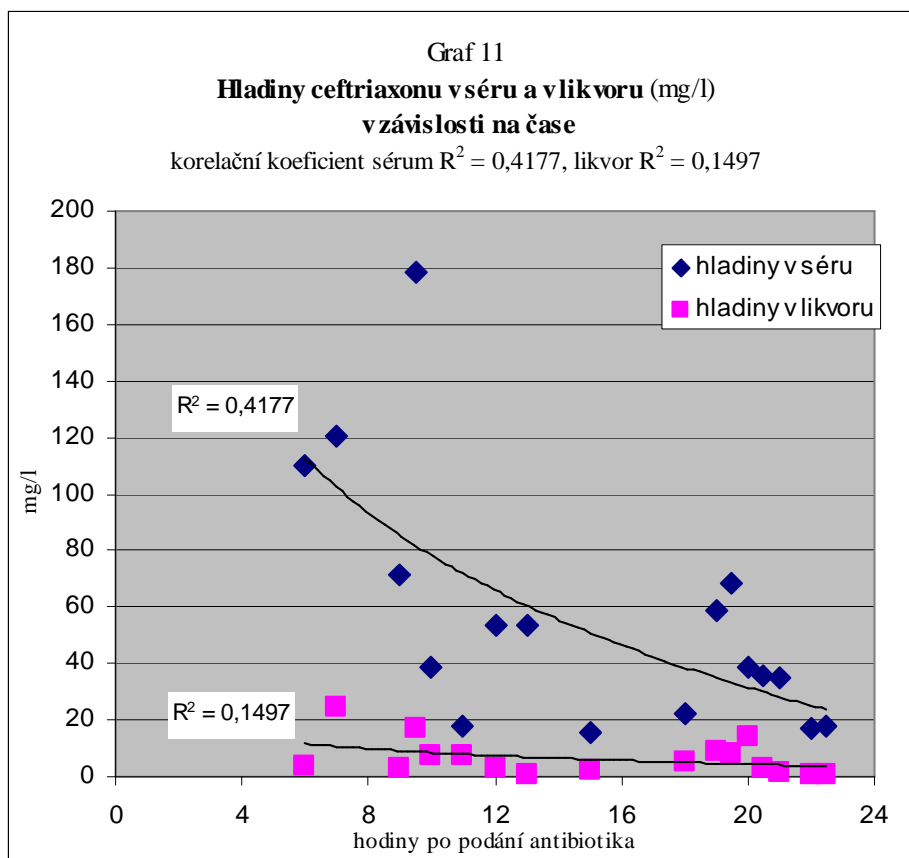
Poř. č./ číslo vzorku	Sex/ věk (roky)	Etiologie	Počet již podaných dávek	Odběr v hod. po ATB	Laboratorní parametry				Hladina ATB likvor mg/l	Hladina ATB sérum mg/l	Kvoc. likvor/ sérum K _{1/s}	IL-6 pg/ml
					Likvor		Krev					
1. / 1	M/41	?	1	15	seg 48 ly 560 ery 0	glu 7,01 CI 120 prot 0,58 L 2,5 LD 1,19	M - A - K - PCR - C n	Leu 12,3 FBG 3,87 CRP 44	2,1	15,8	0,133	
2. / 2	Ž/70	<i>S.pneu.</i>	2	11	seg zápl ly 0 ery oj	glu 2,95 CI 111 prot 4,0 L 13,0 LD 22,35	M - A + K + PCR n C 1 : 256.	Leu 10,3 FBG 10,56 CRP 331	7,2	17,6	0,409	
3. / 7	Ž/69	<i>S. pneu.</i>	1	19,5	seg zápl ly 0 ery oj	glu 3,00 CI 124 prot 2,2 L 9,10 LD 5,32	M + A + K + PCR n C 1 : 256.	Leu 17,5 FBG 7,35 CRP 327	8	68,2	0,117	
4. / 8	Ž/69	<i>S. pneu.</i>	3	19	seg 1520 ly 240 ery 0	glu 3,42 CI 118 prot 1,1 L 4,9 LD 6,05	M + A + K + PCR n C 1 : 128	Leu 15,9 FBG 7,7 CRP 265	8,9	59	0,151	
5. / 9	M/15	<i>N.m.sk B</i>	2	22	seg 5600 ly 15 ery 0	glu 5,22 CI 120 prot 0,5 L 2,20 LD 1,64	M + A + K + PCR n C 1 : 128	Leu 36,8 FBG 6,62 CRP 216	0,9	17	0,053	
6. / 11	Ž/35	<i>N.m. sk B</i>	2	22,5	seg 1620 ly 160 ery 0	glu 3,0 CI 118 prot 0,3 L 1,9 LD 1,28	M + A - K + PCR + C 1 : 128	Leu 8,3 FBG 4,82 CRP 71	0,8	17,5	0,046	
7. / 13	M/56	<i>S. pneu.</i>	2	18	seg 13000 ly 500 ery oj	glu 11,65 CI 119 prot 2,6 L 4,8 LD 28,6	M - A - K - PCR + C n	Leu 16,3 FBG 8,12 CRP 212	5	22,3	0,224	
8. / 14	Ž/59	<i>S. pneu.</i>	2	20	seg zápl ly 0 ery oj	glu 0,34 CI 116 prot 4,72 L 12,2 LD 89,88	M - A - K + PCR n C 1 : 256	Leu 8,5 FGB 9,82 CRP 246	14,4	38,8	0,371	
9. / 17	M/78	?	1	13	seg 49 ly 8 ery 0	glu 3,7 CI 124 prot 0,6 L 1,7 LD 0,69	M - A - K - PCR - C n	Leu 9,7 FBG 4,24 CRP 99	0,8	53,9	0,015	

10. / 19	M/61	?	1	9	seg 1482 ly 216 ery 0	glu 4,10 CI 122 prot 1,9 L 7,2 LD 2,31	M - A - K - PCR - C n	Leu 23,9 FBG 5,76 CRP 137	3,1	71,3	0,043	
11. / 20	M/24	<i>N.m. sk B</i>	3	6	seg 828 ly 432 ery 0	glu 4,09 CI 127 prot 1,0 L 2,20 LD 1,78	M - A + K + PCR n C 1 : 128	Leu 10,4 FBG 7,5 CRP 139	3,6	110,3	0,033	
12. / 21	M/63	<i>N.m. sk C</i>	2	7	seg 7000 ly 320 ery 0	glu 1,2 CI 121 prot 7,1 L 13,4 LD 4,73	M + A + K + PCR n C 1 : 256	Leu 18,1 FBG 13,6 CRP 337	24,2	120,7	0,201	
13. / 22	M/19	?	2	12	seg 1826 ly 402 ery oj	glu 3,7 CI 120 prot 0,65 L 2,30 LD 0,45	M - A - K - PCR n C n	Leu 12,21 FBG 5,93 CRP 106	3,1	53,4	0,058	65,4
14. / 23	M/48	?	3	9,5	seg 536 ly 304 ery 0	glu 6,16 CI 121 prot 2,6 L 3,6 LD 3,15	M - A - K - PCR n C n	Leu 15,3 FBG 4,82 CRP 37	17,4	178,7	0,097	8,6
15. / 25	M/38	<i>Str. pneu.</i>	2	10	seg 6912 ly 512 ery 0	glu 0,94 CI 116 prot 2,4 L 6,2 LD 15,69	M + A + K + PCR n C 1 : 128	Leu 18,68 FBG 9,45 CRP 439	7,5	38,6	0,194	97,8
16. / 27	Ž/51	<i>S. pneu.</i>	2	20,5	seg 776 ly 472 ery 0	glu 2,28 CI 118 prot 0,6 L 2,5 LD 1,59	M - A - K - PCR + C n	Leu 8,43 FBG 6,28 CRP 154	3,2	35,8	0,089	25,8
17. / 28	Ž/51	<i>S. pneu.</i>	8	21	seg 11 ly 163 ery 0	glu 2,42 CI 115 prot 0,5 L 1,9 LD 1,10	M - A - K - PCR + C n	Leu 8,46 FBG 5,63 CRP 11	1,5	35,2	0,043	35,8
Použité zkratky:												
	<i>N.m.</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>				M/Ž muž/žena	Leu	leukocyty x 10 ⁹ /l		M	mikroskopie	
	<i>S. pneu.</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>				? původce nezjištěn	FBG	fibrinogen (g/l)		A	aglutinace	
	seg	segmenty v mm ³				n neprovedeno	CRP	C-reaktivní protein (mg/l)		K	kultivace	
	ly	lymfocyty v mm ³				-/+ negat./pozitivní	L	laktát (mmol/l)		C	baktericidie	
	ery	erythrocyty v mm ³				Cl chloridy (mmol/l)	LD	laktátdehydrogenáza (mmol/l)		PCR	polymerase chain reaction	
	glu	glykorhachie (mmol/l)				prot protein (g/l)						







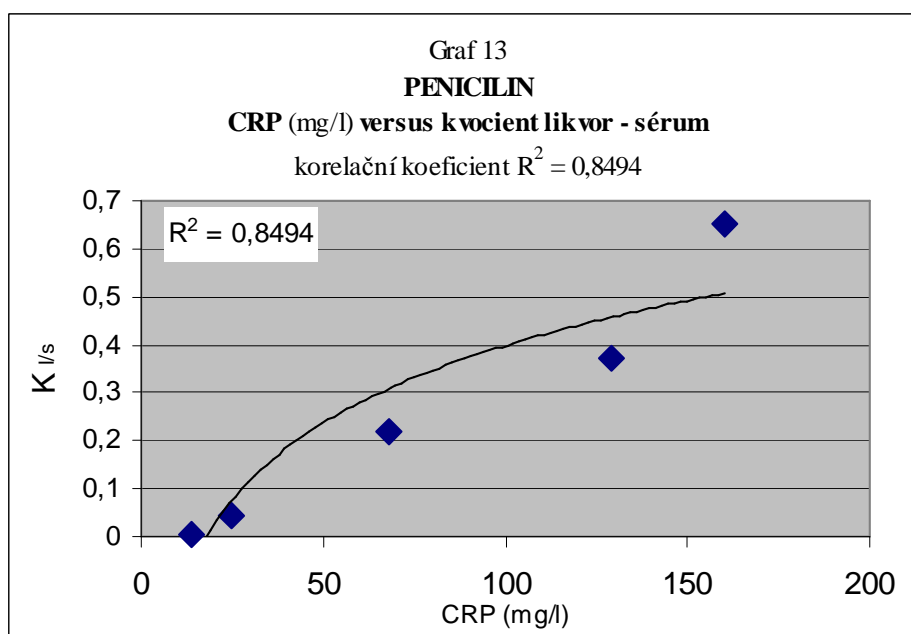
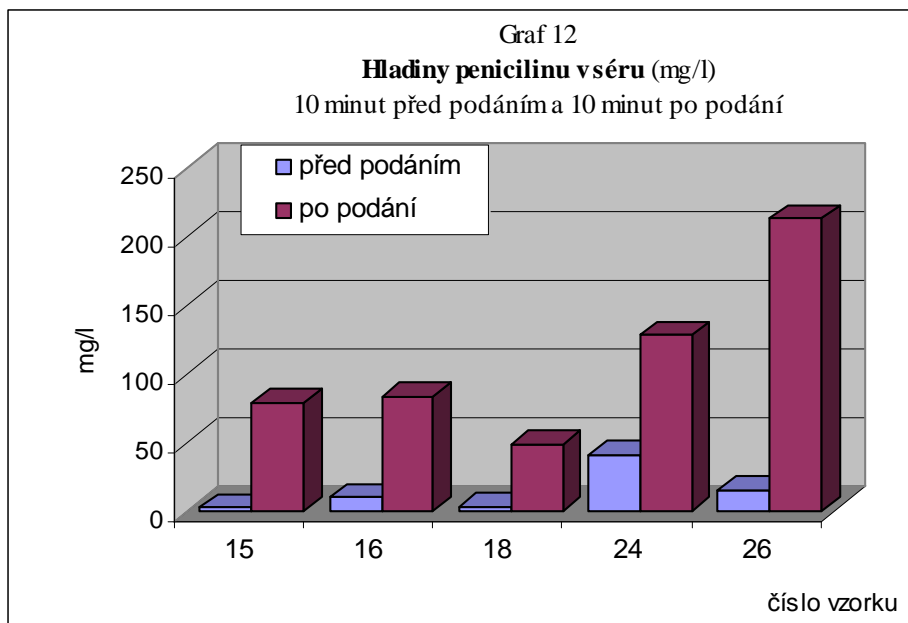


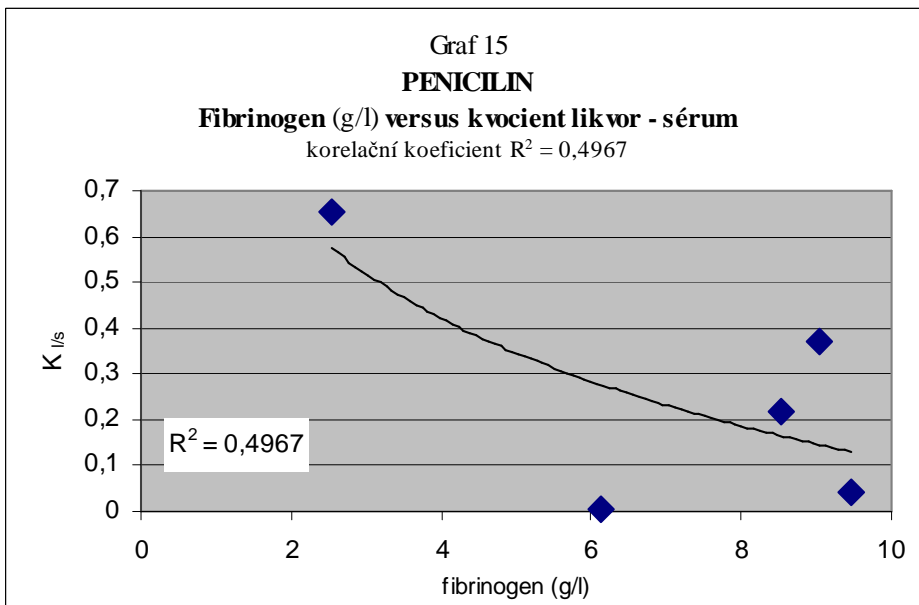
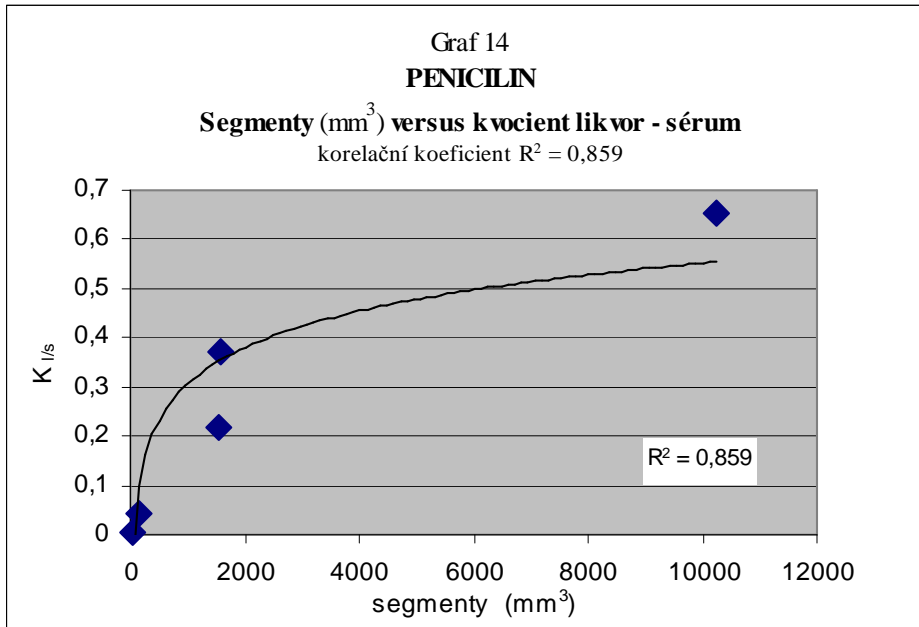
Tabulka 8
Krystalický penicilin G - draselná sůl - sérové hladiny
 10 minut před a 10 minut po podání, jednotlivá dávka 10 MIU i.v. á 4 hod

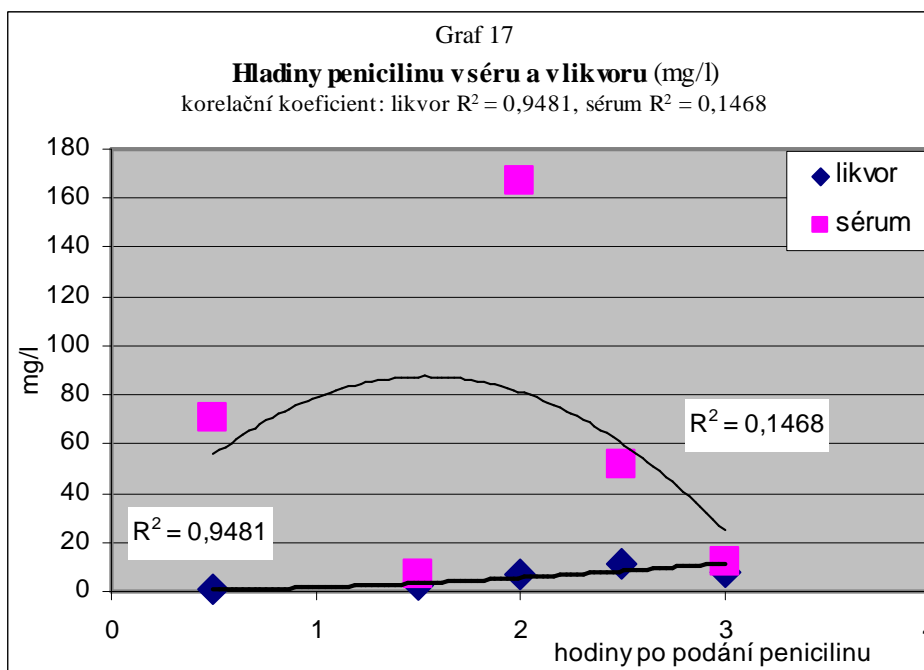
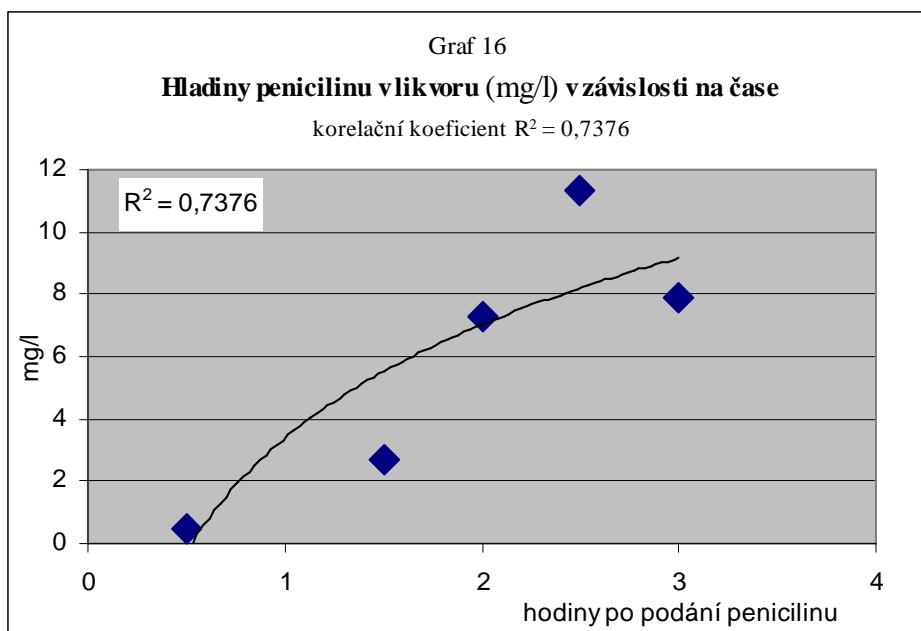
Poř. č./ č.vzorku	Sex/věk (roky)	Etiologie	Počet již podaných dávek	Hladina ATB před podáním mg/l	Hladina ATB po podání mg/l	Kvociant po/před podáním $K_{s/s}$
1./15	Ž/62	<i>S. pneumoniae</i>	22	2,6	78,9	30,3
2./16	M/47	<i>S. pneumoniae</i>	22	9,4	83,1	8,8
3./18	M/19	<i>N. meningitidis sk. C</i>	35	3	48,4	16,1
4./24	M/50	<i>S. pneumoniae</i>	7	41	128,3	3,1
5./26	M/47	<i>S. pneumoniae</i>	30	15,4	212,7	13,8
Průměr				14,28	110,28	14,4
Medián				9,4	83,1	13,8
Směrodatná odchylka				15,8	63,9	10,2

Tabulka 9
Krystalický penicilin G - draselná sůl - jednotlivá dávka 10 MIU i.v. á 4 hod.

Poř. č./ číslo vzorku	Sex/ věk (roky)	Etiologie	Počet již podaných dávek	Odběr v hod. po ATB	Laboratorní parametry				Hladina ATB likvor mg/l	Hladina ATB sérum mg/l	Kvoc. likvor/ sérum K _{1/s}	IL-6 pg/ml
					Likvor		Krev					
1. / 15	Ž/62	<i>S. pneu.</i>	21	3	seg 10240 ly 200 ery oj.	glu 0,90 Cl 110 prot 2,0 L 8,50 LD 17,21	M + A + K + PCR n C 1 : 256	Leu 9,1 FBG 2,54 CRP 160	7,9	12,1	0,653	
2. / 16	M/47	<i>S. pneu.</i>	23	1,5	seg 1570 ly 250 ery 0	glu 4,11 Cl 115 prot 0,6 L 3,70 LD 4,67	M + A - K + PCR n C 1 : 128	Leu 8,7 FBG 9,04 CRP 129	2,7	7,3	0,37	
3. / 18	M/19	<i>N.m.sk. C</i>	35	0,5	seg 27 ly 112 ery 5	glu 3,02 Cl 120 prot 0,4 L 1,4 LD 1,5	M - A - K + PCR + C 1 : 256	Leu 11,2 FGB 6,12 CRP 14	0,45	71	0,006	
4. / 24	M/50	<i>S. pneu.</i>	6	2,5	seg 2528 ly 144 ery 0	glu 0,65 Cl 120 prot 2,7 L 6,7 LD 7,51	M - A - K - PCR + C n	Leu 12,9 FBG 8,54 CRP 68	11,3	51,5	0,219	10,8
5. / 26	M/47	<i>S. pneu.</i>	30	2	seg 161 ly 69 ery 0	glu 1,32 Cl 113 prot 1,0 L 1,9 LD 2,1	M + A + K + PCR n C 1 : 128	Leu 5,8 FBG 9,45 CRP 25	7,3	167,1	0,044	88,5
Použité zkratky:		<i>N.m.</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	M/Ž	muž/žena	Leu	leukocyty x 10 ⁹ /l	M	mikroskopie			
		<i>S. pneu.</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	?	původce nezjištěn	FBG	fibrinogen (g/l)	A	aglutinace			
		seg	segmenty v mm ³	n	neprovedeno	CRP	C-reaktivní protein (mg/l)	K	kultivace			
		ly	lymfocyty v mm ³	-/+	negat./pozitivní	L	laktát (mmol/l)	C	baktericidie			
		ery	erythrocyty v mm ³	Cl	chloridy (mmol/l)	LD	laktátdehydrogenéza (mmol/l)	PCR	polymerase chain reaction			
		glu	glykorhachie (mmol/l)	prot	protein (g/l)							

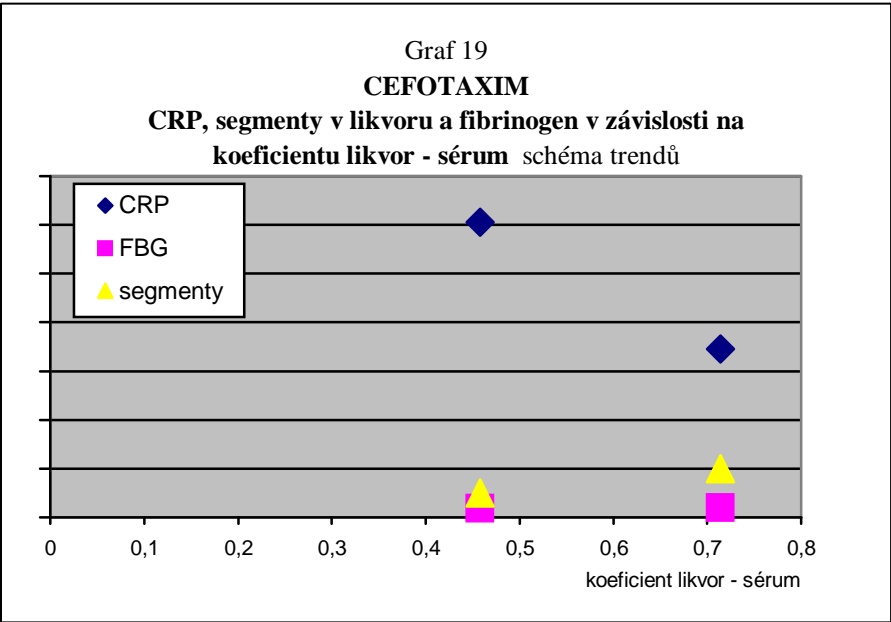
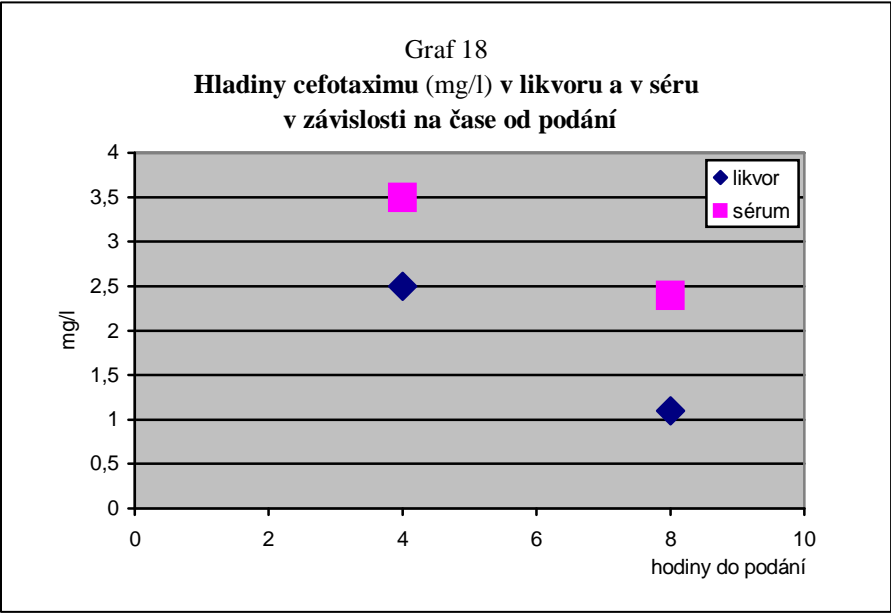






Tabulka 10
Cefotaxim - jednotlivá dávka 2 g. i.v. á 8 hod

Poř. č./ číslo vzorku	Sex/věk etiologie	Počet již podaných dávek	Odběr v hod. po ATB	Laboratorní parametry				Hladina ATB likvor mg/l	Hladina ATB sérum mg/l	Kvoc. likvor/ sérum K _{1/s}
				Likvor		Krev				
1. / 3	Ž/73 ?	2	8	seg 10 ly 980 ery oj	glu 3,77 Cl 115 prot 1,5 L 2,8 LD 1,4	M - A - K - PCR n C n	Leu 14,4 FBG 3,75 CRP 121	1,1	2,4	0,458
2. / 5	Ž/73 ?	21	4	seg 20 ly 224 ery oj.	glu 4,14 Cl 108 prot 1,5 L 2,3 LD 1,14	M - A - K - PCR - C n	Leu 10,2 FBG 3,88 CRP 69	2,5	3,5	0,714
Použité zkratky:						M/Ž	muž/žena			
?						Leu	leukocyty x 10 ⁹ /l			
seg						FBG	fibrinogen (g/l)			
ly						CRP	C-reaktivní protein (mg/l)			
ery						n	neprovedeno			
glu						M	mikroskopie			
Cl						A	aglutinace			
prot						K	kultivace			
L						C	baktericidie			
LD						-/+	negat./pozitivní			



VIII. Závěr

Studie se zabývala hladinami β -laktamových antibiotik používaných v terapii invazivních bakteriálních infekcí, především k léčbě purulentní meningitidy a purulentní meningitidy a sepse.

Konkrétně se jednalo o ceftriaxon, krystalický penicilin G – draselná sůl a cefotaxim. Stanovily se hladiny těchto léků v séru a v mozkomíšním moku. Sledoval se průnik těchto látek přes zánětlivě změněnou hematoencefalickou bariéru. Hledala se korelace jejich farmakokinetiky a farmakodynamiky při průniku do likvoru v závislosti na laboratorních markerech zánětu s možností optimalizace jejich dávkování v průběhu těžké bakteriální invazivní infekce. Dále se sledovala jejich farmakokinetika a farmakodynamika v likvoru a v séru v čase a hladiny těchto léků před podáním a po podání v séru.

Byla ověřena laboratorní metodika stanovení hladin ceftriaxonu, cefotaximu a krystalického penicilinu biologickou metodou, která i přes relativní pracnost a některé problémy se standardizací, se ukázala být dostatečně spolehlivá bez zvláštních materiálových a technických nákladů.

Ceftriaxon je v současné době uznávaným antibiotikem volby u pacientů s diagnózou purulentní meningitidy a purulentní meningitidy a sepse. U dospělých pacientů je doporučováno dávkovací schéma jedenkrát denně 4 gramy intravenózně v krátkodobé infuzi.

1. Hladiny ceftriaxonu v séru 30 minut před podáním a 30 minut po podání vykazovaly statisticky významný rozdíl.

I přes výrazný pokles hladin během 24 hodin byly hodnoty v séru vždy bezpečně nad hodnotou MIC pro nejčastější původce hnisavých meningitid.

Vysoké koncentrace v séru po podání podporují jeho průnik přes zánětlivě změněnou hematoencefalickou bariéru.

2. Koncentrace ceftriaxonu v likvoru jsou relativně nízké, ale vždy nad hodnotou MIC pro standardní původce bakteriálních meningitid. Byla ověřena baktericidie likvoru potřebná pro příznivou klinickou odezvu na léčbu při nízké toxicitě antibiotika.

3. Výsledky testů potvrdily zvýšený průnik ceftriaxonu do mozkomíšního moku v přímé závislosti na velikosti systémové zánětlivé odpovědi (statisticky jako popis situace). Statisticky byl prokázán významný rozdíl v laboratorních markerech zánětu (CRP, fibrinogen a počty segmentů v likvoru) mezi dvěma skupinami rozdělenými podle míry průniku ceftriaxonu do mozkomíšního moku.

Matematicky však nebyl nalezen marker zánětu (nebo jejich kombinace), který by

spolehlivě definoval aktuální průnik ceftriaxonu do likvoru a umožňoval tak případnou úpravu režimu jeho dávkování podle jeho konkrétních hodnot.

Krystalický penicilin G – draselná sůl je antibiotikum užšího spektra s použitím na laboratorně ověřené citlivé kmeny původců bakteriální meningitidy a bakteriální meningitidy a sepse. V našich podmínkách se jedná především o bakteriální kmeny *Streptococcus pneumoniae* a *Neisseria meningitidis* s ověřenou citlivostí k tomuto antibiotiku. U standardních dospělých pacientů je doporučováno dávkovací schéma 8-10 MIU každé 4 hodiny v krátkodobé infuzi.

1. Hladiny krystalického penicilinu v séru 10 minut před podáním a 10 minut po podání vykazovaly statisticky významný rozdíl.
Během 4 hodinového intervalu dochází k výraznému poklesu hladin antibiotika v séru, ke konci 4 hodinového dávkovacího intervalu byly rozdíly koncentrací mezi sérovými a likvorovými hladinami malé, ale jejich hodnoty v séru byly vždy bezpečně nad hodnotou MIC pro indikované bakteriální kmeny.
2. Koncentrace penicilinu v likvoru byly relativně nízké, ale i tyto hodnoty byly vždy nad hodnotou MIC pro indikované původce purulentních meningitid a uchovávaly si potřebnou baktericidii.
Při naměřených hladinách nebyly zaznamenány toxické účinky antibiotika.
3. Byl potvrzen zvýšený průnik penicilinu do mozkomíšního moku v přímé závislosti na vzrůstu CRP a počtu segmentů v likvoru (statisticky jako popis situace). Na druhou stranu se tato závislost nepodařila potvrdit u fibrinogenu.
Matematicky nebyl nalezen marker zánětu (nebo jeho kombinace), který by spolehlivě definoval aktuální průnik penicilinu do likvoru a umožňoval tak úpravu jeho režimu podávání podle jeho hodnot.

Cefotaxim je chápán jako antibiotikum další volby u nemocných s diagnózou purulentní meningitidy a purulentní meningitidy a sepse. V této skupině se nepodařilo randomizovat dostatečný počet pacientů, jejichž data bychom mohli dále zpracovat. Z jednotlivých dílčích hodnot proto nelze dělat závěry. Při studiu charakteristik tohoto antibiotika je nutno zvolit jinou cílovou skupinu nemocných.

Zjištěné eliminační křivky koncentrací ceftriaxonu v likvoru i v séru v závislosti na čase byly v souladu s jeho předpokládanou farmakokinetikou, včetně relativně omezeného

průniku do likvoru v nepřítomnosti zánětlivých změn. Uvedené výsledky podporují léčebná schémata (4 g ceftriaxonu intravenózně jedenkrát za 24 hodin a 10 MIU krystalického penicilinu G - draselná sůl intravenózně jedenkrát za 4 hodiny) u standardních dospělých pacientů s diagnózou purulentní meningitidy či purulentní meningitidy a sepse. Průnik těchto antibiotik je do mozkomíšního moku dostatečný, zajišťuje účinné baktericidní koncentrace a takto vedená léčba vykazuje profit pro pacienta. Případná změna ve smyslu úpravy časového intervalu nebo dávky by musela být podpořena daty ze studie, která by srovnávala pacienty léčené v různých schématech. Potenciální prodloužení dávkovacího intervalu u penicilinu na více jak 4 hodiny vidíme jako rizikové. Pro možnost poklesu jeho hladiny pod MIC by nemusela být zaručena jeho terapeutická efektivita. Nalezení laboratorního markeru zánětu, který by predikoval míru průniku zkoumaných antibiotik přes zánětlivě změněnou hematoencefalickou bariéru zůstává výzvou a otázkou, zda se nesoustředit na jiné parametry s přesnější vypovídací hodnotou. Je nutno mít na zřeteli též člověka jako unikátního jedince se svojí individuální schopností tvorby proteinů akutní fáze zánětu, která je navíc modifikována aktuálním stavem imunitního systému.

U všech pacientů zařazených do studie nedošlo v průběhu léčby k závažnějším komplikacím a vždy došlo k úzdavě nemocného.

IX. Literatura:

1. <http://www.szu.cem/epidat/epiabs-97-06.html>.
2. Miranda J, Tunel AR. Strategies and new developments in the management of bacterial meningitis. *Infect Dis Clin North Am*. 2009;23(4):925-943.
3. Dostál V, a kol. *Infektologie*. Praha: Karolinum, 2004.
4. Pícha D, Honegr K, Habanec T, Beneš J. Infekce nervového systému. In: Beneš J. (eds.): *Infekční lékařství*. Praha: Galén, 2009;509-532.
5. Havlík J, a kol. *Infekční nemoci: druhé rozšířené vydání*. Praha: Galén, 2002.
6. Scarborough M, Thwaites GE. The diagnosis and management of acute bacterial meningitis in resource - poor setting. *Lancet Neurol*. 2008;7(7):637-648.
7. Hejzlar M. In: Hejzlar M (eds.). *Antibiotika v praxi*, 2nd ed., Praha: Galén, 1995;245-249.
8. Kim KS. Acute bacterial meningitis in infants and children. *Lancet Infect Dis*. 2010;10 (1):32-42.
9. Kolektiv českých a slovenských autorů. *Zásady diagnostiky a racionální terapie bakteriálních meningitid*. Praha: Mediforum, 1999;21.
10. Mandell, Douglas and Bennets. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. (Vol. I) 7th Editidion, Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010.
11. Modai J, Decazes JM. *Present-Day Antibiotic Treatment of Bacterial Meningitis*. Basel Editiones Roche, 1990.
12. Qagliaello V, Scheld WM. Bacterial meningitis: Pathogenesis, Pathophysiology and Progress. *N Engl J Med*. 1992;327:864-872.
13. Suchopár J. Antimikrobiální léčba. In: Suchopár J., Šimek R., Valentová S., Buršík J. (eds). *Remedia Kompendium*, 3rd ed., Praha: Panax, 1999;245-249.
14. Hobstová J. Jsou cefalosporiny 3. generace lékem volby u hnisavých meningitid ? *Klin mikrob inf lék*. 2001;5(7):141-142.
15. Myslivec O, Beneš J. Průnik antibiotik do likvoru u pacientů s hnisavou meningitidou. *Klin mikrob inf lék*. 2001;5(7):125-130.
16. Lutsar I, Mc Cracken GH Jr, Fieldland IR. Antibiotic Pharmacodynamics in Cerebrospinal Fluid. *Clin Inf Dis*. 1998;27:117-129.
17. Ogava M, Suzuki H, Sawada I, et al. Kinetics of active efflux via chorioid plexus of betalactam antibiotics from the CSF into the circulation. *Am J Physiol*.1994;35:392-399.
18. Spector R. Ceftriaxone pharmacokinetics in the central nervous system. *J Pharmacol Exp Ther*. 1996;263:380-383.
19. Schmidt T, Trauber MG. Pharmacodynamics of antibiotics in the therapy of meningitis: infection model observation. *J Antimicrob Chemohter*. 1993;31:61-70.
20. Roberts JA, Roberts MS, Robertson TA et al. Piperacillin penetration into tissue of critically ill patients with sepsis-bolus versus continuous administration? *Crit Care Med*. 2009;37(3):926-933.
21. Martin E, Koup JR, Paravicinu U, Stoeckel K. Pharmacokinetics of ceftriaxone in neonates and infants with meningitis. *J Pediatr*. 1984;105:475-478.
22. Spector R. Ceftriaxone transport through blood brain barrier. *J Infect Dis*. 1987;156: 209-211.

23. Suzuki H, Sawada Y, Sugijama Y, et al. Transport of imipenem, a novel carbapenem antibiotics, in the rat central nervous system. *J Pharmacol Exp Ther.* 1989;250:979-984.
24. Damas P. Sepsis and serum cytokine concentrations. *Crit Care Med.* 1997;25:405-412.
25. Dilara I, Huseyn C, Idris S, Omer C. Serum C-reactive protein and interleukine 6 levels in neonatal sepsis. *Acta Medica.* 2002;45:111-113.
26. Bransdtzaeg P, Kielsulf P, Ganstad P, et al. Plasma Endotoxin as a Prediction of Multiple Organ Failure and Death in Systemic Meningococcal Disease. *J Infect Dis.* 1989;159: 195-204.
27. Holub J. Imunitní reakce u serózních zánětů CNS. *Klin mikrob inf lék.* 2000;6:172-177.
28. Waage A., Mollnes TE, Esperik TE. Association between tumor necrosis factor in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. *Lancet.* 1987;1:355- 357.
29. Hučková D, Predný J, Holečková K, Ondrkalová M. Stanovenie protilátok v likvore a ich využitie pre diagnostiku neuroinfekcií. *Klin mikrob inf lék.* 1999;5;192-197.
30. Ranjane PN, Sandhi SV, Kadukar SS, Bothara KG. HPTLC determination of cefuroxime axetil and ornidazole in combined tablet dosage form. *J Chromatogr Sci.* 2010;48(1):26-28.
31. Cherubin CE, Eng RHK, Norrby R, et al. Penetration of newer cephalosporins into cerebrospinal fluid. *Rev Infect Dis.* 1989;11:526-548.
32. Kearney BP, Aweeka FT. The penetration of anti-infectives into the central nervous system. *Central Nerv System Infect.* 1999;17:833-900.
33. Urbášková P, a kol. *Vyšetření pro antimikrobiální terapii.* Praha: Avicenum, 1985.
34. Parrillo JE, Parker MM, Natanson C. Septic shock in understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction and therapy. *Ann Intern Med* 1990;113:227-242.
35. Černý V, Kula R, Novák I, Cvachovec K. a kol. *Sepse v intenzivní péči.* Maxorf 2005.
36. Bone RC, Sibald WJ, Sprung CL. The ACCP-SCCM Consensus Conference on sepsis and organ failure. *Chest.* 1992;101:1481-1482.
37. Pittet D, Rangel-Frausto MS, Li Net et al. Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, severe sepsis and septic shock: incidence, morbidities and outcomes in surgical ICU patients. *Intensive Care Med.* 1995;21:244-249.
38. Weinstein MP, Relief LB, Mureny JR et al. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observation. *Rev Infect Dis.* 1983;5:35-53.
39. Dhillon RH, Clark J, Azadian BS. Reducing blood culture contamination. *J Hosp Infect.* 2009;73(1):97-99.
40. Gosbell IB, Duggan D, Brust M et al. Infection associated with central venous catheters: a prospective survey. *Med J Aust.* 1995;62:210-213.
41. Maki DG, Mermel LA. Infections due to infusion therapy. In: Bennett JV, Brachman PS(eds). *Hospital infections.* Lippincott-Raven, Philadelphia 1998;689-722.
42. Siegman – Igra Y, Anglim AM, Saphiro DE et al. Diagnosis of vascular catheter- related blood-stream infection: a meta-analysis. *J Clin Microbiol.* 1997;35:928-936.
43. Cook DJ, Walter SD, Cook RJ et al. Incidence of end risk factors for ventilator associated pneumonia in critically ill patients. *Ann Intern Med.* 1999;153:1711-1725.
44. Cook DJ, Kollef MH. Risk factors for ICU-acquired pneumonia. *JAMA.* 1998;279:1605-1606.

45. Dragon JY, Chastre J, Hance AJ et al. Detection of nosocomial lung infection in ventilated patients. Use of protected specimen brush and quantitative culture techniques in 147 patients. *Am Rev Respir Dis.* 1988;138:110-116.
46. Crowe MJ, Cooke EM. Review of case definitions for nosocomial infection – towards a consensus. Presentation by the Nosocomial Infection Surveillance Unit (NISU) to the Hospital Infections Liaison Group; subcommittee of Federation of Infection Societies (FIS). *J Hosp Infect.* 1998;39:3-11.
47. Frayee RC, Nagome DM, Mucha PJr. *Acute acalculous cholecystitis.* Mayo Clin Proc 1989;64:163-167.
48. Lum Cheong RS, Cornwell E ed. Suppurative sinusitis in critically ill patients: a case report and review of the literature. *J Natl Med Assoc.* 1992;84:1057-1059.
49. Balihar K, Hollerová V, Záhlava J, Novák I, Rokyta R, Hora P, Sramek V. Yield of leukocyte scan in sepsis of unknown origin in critically ill patients. *Int CareMed.* 1999; 25:44.
50. Vincent JL, Anaissie E, Bruining H et al. Epidemiology, diagnosis and treatment of systemic Candida infection in surgical patients under intensive care. *Int Care Med.* 1998;24:206-216.
51. Holub M. Imunologické aspekty sepse. *Klin mikrob inf lék.* 1998;4(7):200-204.
52. *Harrison's principles of internal medicine.* 14th edition. New York: McGraw-Hill, 1998.
53. Šterzl J. Imunitní systém a jeho fyziologické funkce. 1. vyd. Praha: Česká imunologická společnost. 1993;123-176.
54. Stites PD, Terr AI. *Základní a klinická imunologie.* 1. vyd. Praha: Victoria publishing, 1994.
55. Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine levels and endotoxin levels correlate with the survival in the patients with sepsis syndrome. *Ann Intern Med.* 1993;119:771- 778.
56. Rosenbloom AJ, Pinsky MR, Bryant JL. Leukocyte Activation in the Peripheral Blood of Patients with Cirrhosis of the Liver and SIRS. *JAMA.* 1995;274:58-65.
57. Doherty PC. The Keys to Cell-Mediated immunity. *JAMA.* 1995;274:511-515.
58. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J. Bacteremia and severe sepsis in adults: a multicenter prospective survey in ICU and wards of 24 hospitals. French Bacteremia- Sepsis Study group. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;154:617-624.
59. Cometta A, Baumgartner JD, Lew D et al. Prospective randomised comparison of imipenem monotherapy with imipenem plus netilmicin for treatment of severe infections in nonneutropenic patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994;38:1309-1313.
60. Mouton Y, Deboscker Y, Bazin C et al. Prospective, randomised, controlled study of imipenem-cilastatin versus cefotaxime-amikacin in the treatment of lower respiratory tract infection and septicemia at intensive care units. *Presse Med.* 1990;19:607-612.
61. Mouton Y, Buescart C. Empirical monotherapy with meropenem in serious bacterial infections. Meropenem study group. *J Antimicrob Chemother.* 1995;36:Suppl A,145- 156.
62. Solberg CO, Sjursen H. Safety and efficacy of meropenem in patients with septicemia: a randomised comparison with ceftazidime, alone or combined with amikacin. *J Antimicrob Chemoter.* 1995;36:Suppl A,157-166.
63. Fischer-Hoch SP, Hutwagner L. Opportunistic candidiasis: an epidemic of the 1980s. *Clin Infect Dis.* 1995;21:559-580.

64. Wenzel RP. Nosocomial candidemia: risk factors and attributable mortality. *Clin Infect Dis.* 1995;20:1531-1534.
65. Edwards JE Jr., Bodey GP, Bowden RA et al. International Conference of the Development of a Consensus on the Management and Prevention of Severe Candidal Infections. *Clin Infect Dis.* 1997;25:43-59.
66. Rex JH, Bennett JE, Sugar AM et al. A randomized trial comparing fluconazole with amphotericin B for the treatment of candidemia in patient without neutropenia. Candidemia study group and the National Institute. *N Engl J Med.* 1994;331:1325-1330.
67. The problem of sepsis. An expert panel of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 1994;20:300-304.
68. Sprung CL, Finch RG, Thijs LG, Glauber MP. Internacional Sepsis Trial (INTERSEPT):role and impact of a clinical evaluation committee. *Crit Care Med.* 1996;24:1441-1447.
69. Vincent JL, Duraze P, Berre J et al. Serial lactate determinations during circulatory shock. *Crit Care Med.* 1983;11:449-451.
70. Gomersall CD, Joynt GM, Freebairn RC et al. Resuscitation of critically ill patients based on the results of gastric tonometry: a prospective randomized controlled trial. *Crit Care Med.* 2000;28:607-614.
71. Richter M, Robert S, Lebel M. Renal hemodynamics during norepinephrine and low dose dopamine infusion in man. *Crit Care Med.* 1996;24:1150-1156.
72. Martin C, Perrin G, Saux P et al. Effects of norepinephrine on right ventricular function in septic shock patients. *Intensive care Med.* 1994;20:444-447.
73. Mackenzie SJ, Kapadia F, Nimro GR et al. Adrenaline in treatment of septic shock:effect on hemodynamics and oxygen transport. *Intensive Care Med.* 1991;17:36-39.
74. Bernard GR, Wheeler AP, Russel JA et al. The effects of Ibuprofen on the physiology and survival of patients with sepsis. *N Engl J Med.* 1997;336:912-918.
75. Abraham E, Baughman R, Fletcher E et al. Liposomal prostaglandin E1 (TLC C-53) in acute respiratory distress syndrome: a controlled, randomized, double-blind, multicenter clinical trial. *Crit Care Med.* 1999;27:1478-1487.
76. Lauterbach R, Pawlik D, Kowalczyk D et al. Effect of the immunomodulating agent, pentoxifylline in the treatment of sepsis in prematurely delivered infants: a placebo-controlled, double-blind trial. *Cit Care Med.* 1999;27:807-814.
77. Ortolani O, Conti A, De Gaudio AR et al. The effect of glutathione and N-acetylcysteine on lipoperoxidative damage in patients with early septic shock. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161:1907-1911.
78. Angstwurm MVA, Schottdorf J, Scho-Pohl J et al. Selenium replacement in patients with severe systemic inflammatory response syndrome improves clinical outcome. *Crit Care Med.* 1999;27:1807-1813.
79. Preiser JC, Van Gossum A, Berre J, Vincent JL, Carpentier Y. Enteral Freding with solution enriched with antioxidant vitamins A, C and E enhances the resistance to oxidative stress. *Crit Care Med.* 2000;28:3828-3832.
80. Weiss H. Antithrombin in severe sepsis. „New“ indication of an „old“ drug. *Intensive Care Med.* 2000;26:663-672.

81. Jenson HG, Pollock BH. Meta-analyses of effectiveness of intravenous immune globulin for prevention and treatment of neonatal sepsis. *Pediatrics*. 1997;99:32.
82. Polk HC Jr, Chleadle WG, Linvingston DH et al. A randomized prospective clinical trial to determine the efficacy of interferon-gamma in severely injured patients. *Am J Surg*. 1992;63:191-196.
83. Wunderink RG, Leeper KV, Schran RMH et al. Clinical response to figrastim in pneumonia with severe sepsis. *Am J Respir Care Med*. 1996;153:163.
84. Sprung CL, Caralis PV, Marcial EH et al. The effect of high-dose corticosteroids in patients with septic shock: a prospective, controlled study. *N Engl J Med*. 1984; 311:137-1143.
85. Bone RC, Fischer CJ Jr, Clemmer TP et al. A controlled clinical trial of high-dose methylprednisolone in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*. 1987;317:653-658.
86. Lefering R, Neugebauer EAM. Steroid controversy in sepsis and septic shock: a meta-analysis. *Crit Care Med*. 1995;23:1294-1303.
87. Cronin L, Cook DJ, Carlet J et al. Corticosteroid treatment for sepsis: a critical appraisal and meta-analysis of the literature. *Crit Care Med*. 1995;23:1430-1439.
88. Bernard GL, Luce JM, Sprung CL et al. High-dose corticosteroids in patients with the adult respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 1987;317:1565-1570.
89. Hatherrill M, Tibby SM, Hilliard T et al. Adrenal insufficiency in septic shock. *Arch Dis Child*. 1999;80:51-55.
90. Davies AO, Lefkowitz RJ. Corticosteroids induced differential regulation of beta- adrenergic receptors in circulating human polymorphonuclear leukocytes and mononuclear leukocytes. *J Clin Endocrinol Metab*. 1980;51:599-605.
91. Nydegger UE. Sepsis and polyspecific intravenous immunoglobulins. *J Clin Apheresis*. 1997;12:93-99.
92. The HA-1A Sepsis study group. Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *N Engl J Med*. 1991;324:429-436.
93. Jin H, Yang R, Masters S et al. Protection against endotoxic shock by bactericidal permeability-increasing protein in rats. *J Clin Invest*. 1995;95:1947-1952.
94. Giroir BP, Quint PA, Barton P et al. Preliminary evaluation of recombinant amino-terminal fragment of human bactericidal/permeability-increasing protein in children with severe meningococcal sepsis. *Lancet*. 1997;350:1439-1443.
95. Opal SM, Fischer CJ, Pribble JP et al. Confirmatory interleukin-1 receptor antagonist trial in severe sepsis: a phase III randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. The Interleukin-1 Receptor Antagonist Sepsis Investigator Group. *Crit Care Med*. 1997;25:1115-1124.
96. Abraham E, Glauser MP, Bulet T et al. p55 tumor necrosis factor receptor fusion protein in the treatment of patients with severe sepsis and septic shock. *JAMA*. 1997;277:1531-1534.
97. Nyman KM, Uhl W, Forsstrom J et al. Serum phospholipase A₂ in patients with multiple organ failure. *J Surg Res*. 1996;60:7-14.
98. Nasraway SA. Sepsis research: we must change course. *Crit Care Med*. 1999;27:427-430.
99. Abraham E. New therapies in sepsis. *American Thoracic Society International Conference*, „New insights into Acute Lung Injury“, May 2000.

100. Bernard JR, Vincent JL, Laterre PF et al. Efficacy and Safety of Recombinant Human Activated ProteinC for Severe Sepsis. *N Engl J Med.* 2001;344:699-709.
101. Gardlund B and the Heparin Prophylaxis Study Group. Randomized, controlled trial of low-dose heparin for prevention of fatal pulmonary embolism in patients with infectious diseases. *Lancet.* 1996;347:1357-1361.
102. Samama MM, Cohen AT, Darmon JY et al. A comparison of enoxapatin with placebo for the prevention of venous thromboembolism in actuely ill medical patients. *N Engl J Med.* 1999;341:793-800.
103. Dahan R, Houlbert D, Paulin C et al. Prevention of deep vein thrombosis in elderly medical in-patients by a low molecular weight heparin: a randomized double-blind trial. *Haemostasis.* 1986;16:159-164.
104. Saint S, Matthay M. Risk reduction in the intensive care unit. *Am J Med.* 1998;105:515-523.
105. Anderson FA, Wheeler HB. Venous tromboembolism. Risk factors and prophylaxis. *Clin Chest Med.* 1995;16:235-251.
106. Randolph AG, Cook DJ, Gonzales CA et al. Benefit in heparin in central venous and pulmonary artery catheters. A meta-analysis of randomized controlled trials. *Chest.* 1998;113:165-171.
107. Baskin JL, Pui CH, Weiss U, Willimas JA, Metzger ML, Ribeiro RC, Howard SC. Management of occlusion and thrombosis associated with long – term indwelling central venous catheters. *Lancet.* 2009;374(9684):159-169.
108. Durbec O, Viviant X, Potie F. Lower extremity deep vein thrombosis: a prospective, randomized, controlled trial in comatose or sedated patients undergoing femoral vein cathetrisation. *Crit Care Med.* 1997;25:1982-1985.
109. Carvalho AC, Freeman NJ. How coagulation defects alter outcome in sepsis: survival may depend on reversing procoagulant conditions. *J Crit Illnes.* 1994;9:51-75.
110. Black PM, Crowell RM, Abbott WM. External pneumatic calf compression reduces deep thrombosis in patients with ruptured intracranial aneurysms. *Neurosurgery.* 1986;18:25-28.
111. Hadfield RJ, Sinclair DG, Houdsworth PE, Rwand TW. Effects of enteral and parenteral nutrition on gut mucosal permeability in the critically ill. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152:1545-1548.
112. Muller TF, Muller A, Bachem MG, Lange H. Immediate metabolit effects of different nutritional regiments in critically ill medical patients. *Intensive Care Med.* 1995;21:561-566.
113. *American College of Chest Physicians Consensus Statement.* Applied nutrition in ICU patients. *Chest.* 1997;111:769-778.
114. Heyland DK, Cook DJ, Guyatt GH. Enteral nutrition in the critically ill patients:a critical rewiw of the evidence. *Intensive Care Med.* 1993;19:453-442.
115. American Society of Parenteral and Enteral Nutrition Board of Directors. Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adult and paediatric patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1993;17:ISA-26SA.
116. Cook DJ, Fuller DH, Guyatt GH et al. Risk factors for gastrointestinal bleeding in critically ill patients. *N Eng. J Med.* 1994;330:377-381.
117. Schuster DP, Rowley H, Einstein S et al. Prospective evaluation of the risk of upper gastrointestinal bleeding after admission to a medical intensive care unit. *Am J Med.* 1984;76:623-629.

118. Lin PC, Chang CH, Hsu PI, Tseng PL, Hunag YB. The efficacy and safety of proton pump inhibitors vs histamine - 2 receptor antagonists for stress ulcer bleeding prophylaxis among critical care patients: a meta-analysis. *Crit Care Med.* 2010;38(4):1197-1205.
119. Pingleton SK, Hadzima SK. Enteral alimentation and gastrointestinal bleeding in mechanically ventilated patients. *Crit Care Med.* 1983;11:13-16.
120. Lacroix J, Infante-Rivard C, Jenicek M et al. Prophylaxis of upper gastrointestinal bleeding in ICU: a meta-analysis. *Crit Care Med.* 1989;17:862-886.
121. Cook DJ, Reeve BK, Guyatt GH et al. Stress ulcer prophylaxis in critically ill patients: resolving discordant meta-analysis. *JAMA.* 1996;275:308-314.
122. Tunel AR, Wispelwey B, Quagliarello VJ et al. Pathophysiology of Blood-brain Barrier Alterations during Experimental *Haemophilus influenzae* Meningitis. *J Infect Dis.* 1992;165:119-120.
123. Brandstzaeg P, Oostbo R, Kiesulf P. Compartmentalization of lipopolysaccharide- production Correlates with the Clinical Presentation in Meningococcal disease. *J Infect Dis.* 1992;166:650-652.
124. Mertsola J, Kennedy WA, Wagner D et al. Endotoxin Concentrations in Cerebrospinal Fluid Correlate with Clinical Severity and Neurological Outcome of *H. influenzae* type b Meningitis. *Am J Dis Child.* 1991;145:1099.
125. van Deuren M, Johann van der Ven Jongekrijg PNM, Demacker et al. Differential Expression of Proinflammatory Cytokines and Their Inhibitors during the Course of Meningococcal infections, *J Infect Dis.* 1994;169:157-61.
126. Swartz MN. Bacterial meningitis: a view of the past 90y. *N Engl J Med.* 2004;351:1826-1828.
127. Trafdar K, Rao S, Recco RA et al. Lack of sensitivity of the Latex Agglutination Test to detect Bacterial Antigen in the Cerebrospinal Fluid of Patients with Culture - negative Meningitis. *Clin Infect Dis.* 2001;33 406-407.
128. Deutch S, Pedersen LN, Podenphant L et al. Broad-range real time PCR and DNA sequencing for the diagnosis of bacterial meningitis. *Scand J Infect Dis.* 2006;38:27 -35.
129. Buke AC, Cavusoglu C, Karasulu E et al. Does dexamethasone effect ceftriaxone penetration into cerebrospinal fluid in adult bacterial meningitis. *Int J Antimicrob Agents.* 2003;21:452-456.
130. Stuert K, Schmidt H, Trostdorf F et al. Lower Lipoteichoic and Teichoic Acid CSF Concentrations During Treatment of Pneumococcal Meningitis with non - bacteriolytic Antibiotics than with Ceftriaxon. *Scand J Infect Dis.* 1999;31:367-370.
131. Nau R, Wellmer A, Soto A et al. Rifampicin Reduces Early mortality in Experimental *Streptococcus pneumoniae* Meningitis. *J Infect Dis.* 1999;179:557-60.
132. Iida S, Kinoshita H, Kawanishi T, Hayashi M. The pharmacokinetics of ceftriaxone based on population pharmacokinetics and the prediction of efficacy in Japanese adults. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 2009;34(2):107-115.
133. Anders DR, Craig WA. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibiotics in meningitis. *Inf Dis North Am.* 1999;13:595-618.
134. Pailler JY, Krein A, Pfister L et al. Solid phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of sulfonamides, tetracyclines, analgetics and hormones in surface water and wastewater in Luxemburg. *Sci Total Environ.* 2009;407(16):4736-4743.

135. De Gigo Glaría M, Mosccicati GG, Ramos RG. Determination of ceftriaxone in cerebrospinal fluid by ion-pair liquid chromatography. *J AOAC Int.* 2005;88(2):436-9.
136. Ashman MJ, Wildschut ED, Tibboel D et al. Microanalysis of beta-lactam antibiotics and vancomycin in plasma for pharmacokinetic studies in neonates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(1):75-80.
137. Pojar M, Mand'ák J. Intersticiální mikrodialýza v klinické a experimentální medicíně. *Čas Lék Čes.* 2006;145:766-770.
138. Nudelman Y, Tunkel AR. Bacterial meningitis: epidemiology, pathogenesis and management update. *Drugs.* 2009;69(18):2577-2596.
139. Hosoya K, Makihara A, Tsujikawa Y et al. Role of inner blood-retinal barrier organic anion transporter 3 in the vitreous/retina-to-blood efflux transport of p-aminohippuric acid, benzylpenicillin, and 6-mercaptopurine. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009;329(1):87-93.
140. Halley AJ, Lipman J, Deans R et al. Tissue accumulation of cephalotin in burns: a comparative study by microdialysis of subcutaneous interstitial fluid cephalotin concentration in burn patients and healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemoter.* 2009;53(1):210-5.
141. Pojar M, Mandak J, Malakova J et al. Tissue and plasma concentrations of antibiotic during cardiac surgery with cardiopulmonary bypase-microdialysis study. *Biomed Pap Med Fac Palacky Olomouc. Czech Repub.* 2008;152(1):139-45.
142. Brunner M, Derendorf H, Miller M. Microdialysis for in vivo pharmacokinetic/pharmacodynamic characterization of anti-infective drugs. *Curr Opin Pharmacol.* 2005;5(5):495-9.
143. http://www.eucast.org/clinical_breakpoints.html.

Poděkování: Autor vyjadřuje vřelé poděkování všem osobám, které se podíleli na vzniku této práce. Zejména pak svému odbornému konzultantovi paní RNDr. Ireně Hanovcové, CSc., která hlavní měrou přispěla k laboratorní diagnostice hladin β -laktamových antibiotik, dále pak svému školiteli, přednostovi Ústavu klinické mikrobiologie LF a FN HK panu doc. RNDr. Vladimíru Buchtovi, CSc. za metodické vedení a paní RNDr. Evě Čermákové z oddělení výpočetní techniky LF HK za statistické zpracování dat.