

**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

Autoreferát 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 UK a Fakultní nemocnice v Hradci Králové.

Autor: MUDr. Petr Prášil
Klinika infekčních nemocí Lékařské fakulty UK
a Fakultní nemocnice v Hradci Králové

Školitel: Doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.
Ústav klinické mikrobiologie Lékařské fakulty UK
a Fakultní nemocnice v Hradci Králové

Školitel konzultant: RNDr. Irena Hanovcová, CSc.
Ústav klinické mikrobiologie Lékařské fakulty UK
a Fakultní nemocnice v Hradci Králové
Katedra epidemiologie, Fakulta vojenského zdravotnictví
v Hradci Králové University obrany v Brně

Oponenti: Doc. MUDr. Vilma Marešová, CSc., I. infekční klinika 2. Lékařské
fakulty UK v Praze, katedra infekčních nemocí IPVZ v Praze

Doc. MUDr. Pavel Boštík, Ph.D., Centrum pokročilých studií, Fakulta
vojenského zdravotnictví v Hradci Králové University obrany v Brně

*Prostor pro doplnění místa konání a termínu obhajoby (4-6 cm
k následujícímu textu) – doplní student po stanovení místa a termínu konání – před
tiskem finálního počtu výtisků pro rozeslání.*

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské
fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, 500 38
Hradec Králové (tel. 495 816 131).

Doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.
Předseda komise pro obhajoby disertačních prací
v doktorském studijním programu lékařská mikrobiologie

Obsah

1. Souhrn	4
2. Summary	5
3. Úvod do problematiky	6
4. Cíle disertační práce	6
5. Materiál a metodika	7
6. Výsledky	10
7. Diskuse	20
8. Závěry	24
9. Literatura	26
10. Přehled publikační činnosti	29

1. Souhrn

Cíl: Vyhodnotit průnik ceftriaxonu, penicilinu a cefotaximu do likvoru přes zánětlivě změněnou hematoencefalickou bariéru. Najít korelaci průniku do likvoru v závislosti na laboratorních markerech zánětu.

Materiál a metody: Hladiny β -laktamových antibiotik byly vyšetřeny u 24 pacientů. U všech nemocných byl hodnocen průnik antibiotik do likvoru (kvocient likvor/sérum $K_{l/s}$, likvor $n = 24$, sérum $n = 24$) 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 ($n = 28$) sérové hladiny antibiotik před a po podání. Celkem bylo vyšetřeno 76 vzorků biologického materiálu.

Výsledek: Průměrné hladiny ceftriaxonu v séru před podáním ($31,2 \text{ mg/l} \pm \text{SD } 12,29$) a po podání ($300,0 \text{ mg/l} \pm \text{SD } 125,9$) i penicilinu 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 - (ceftriaxon $p = 0,000156$, penicilin $p = 0,0216$). Hodnoty testovaných parametrů zánětu byly celkově vyšší u pacientů s $K_{l/s} \geq 0,1$ v porovnání s pacienty s $K_{l/s} < 0,1$: počty segmentů v likvoru ($p=0,0112$), CRP ($p=0,00192$), fibrinogen ($p=0,0178$) u ceftriaxonu. U penicilinu korelovaly hodnoty CRP a počty segmentů v likvoru s vyšší $K_{l/s}$. Žádný z markerů zánětu (nebo jejich kombinace) spolehlivě nepredikoval rozsah průniku antibiotik do likvoru. Cefotaxim nebyl pro malé počty dat hodnocen.

Závěr: Zvýšený průnik antibiotik do likvoru byl přímo úměrný výši systémové zánětlivé odpovědi (kromě fibrinogenu u penicilinu). Žádný z testovaných markerů zánětu spolehlivě nekoreloval s predikcí velikosti průniku antibiotik do likvoru. Průnik ceftriaxonu a penicilinu do likvoru zůstává (při schématu podání 1 x za 24 hodin u ceftriaxonu a 1 x za 4 hodiny u penicilinu), efektivní léčbou, která zajišťuje účinné baktericidní koncentrace.

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

2. Summary

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

Aim: The penetration of β -lactam antibiotics (ceftriaxone, crystallic penicillin G – potassium salt and cefotaxime) into the cerebrospinal fluid (CSF) was established and the correlation between the penetration and laboratory markers of inflammation was evaluated.

Materials and methods: Levels of β -lactam antibiotics in serum and CSF were determined in 24 patients (76 samples). 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.

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 ($p = 0.000156$). 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 neutrophils ($p = 0.0112$), in comparison with patients with ratio lower than 0.1. However, no inflammatory markers nor 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 ($p = 0,216$). CRP values and CSF neutrophil numbers 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: 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.

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

3. Úvod do problematiky

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, 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 [1]. I v současné době účinných antibiotik, včetně antibiotik s dobrým průnikem přes hematoencefalickou bariéru 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 má podklady především v mikrobiologické diagnostice. Vysoké dávky těchto léků jsou předpokladem zajištění jejich dostatečné koncentrace v cílových biologických strukturách i přes zvýšené riziko jejich vedlejších nežádoucích účinků. [5-13]. Otázky a rizika spojené s takto vedenou léčbou jsou v odborné veřejnosti diskutovány [14, 15]. Transport β -laktamových antibiotik je uskutečňován poměrně složitými fyzikálně-biologickými mechanismy [16-23]. V zánětlivě změněném organismu dochází k řadě dysregulací a změn v jejich transportu, které zásadně ovlivňují farmakokinetiku a farmakodynamiku těchto léčiv. Finální koncentrace antibiotika v cílových strukturách je modifikována mírou zánětlivé odpovědi organismu s teoretickou možností úpravy dávky léčiva. Důležitou roli hraje zánětlivě změněná hematocentrická bariéra při onemocnění purulentní meningitidou [24-28]. Výška zánětlivé odpovědi je monitorovatelná řadou rutinních laboratorních vyšetřovacích metod: sedimentace (FW), měřením počtů leukocytů a neutrofilů, hodnot C-reaktivního proteinu (CRP), prokalcitoninu, fibrinogenu (FBG), je možno stanovit zánětlivé cytokiny časně fáze (tumor necrosis factor α a β , interleukin-1, interleukin-2) nebo cytokiny 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 jeho dobrá citlivost k vyvolávajícímu agens, ale i dostatečná koncentrace antibiotika v místě zánětu. Rutinní stanovení hladin β -laktamových antibiotik je komplikované a není běžně prováděno [10, 15, 18]. Tyto hladiny lze mimo jiné experimentálně vyšetřit biologickou metodou pomocí citlivých laboratorních bakteriálních kmenů [33]. V konečném důsledku se zde nabízí možnost úpravy rutinně podávaných dávek β -laktamových antibiotik, nebo změny v jejich časových schématech na základě výsledku hladin antibiotika při vyhodnocení míry zánětlivé odpovědi organismu.

4. Cíle disertační práce

Vypracovat laboratorní diagnostiku ke stanovení hladin vybraných betalaktamových 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 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.

5. Materiál a metodika

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 s invazivní bakteriální infekcí. Vstupním kritériem pro výběr bylo provedení 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., nebo ceftriaxon - 4 g i.v. á 24 hod., nebo cefotaxim - 2 g i.v. á 8 hod.). U žádného z pacientů nebylo podáno jiné antibiotikum. Pacienti podstoupili odběry 1-2 ml likvoru a 5 ml krve, na stanovení hladin sledovaných antibiotik. Oba tyto vzorky byly odebrány současně bez vazby na dobu podání antibiotika. Vybraným nemocným bylo dále odebráno 5 ml krve ke stanovení hladin antibiotik v séru 30 minut před a 30 minut po jejich podání u cefalosporinů a 10 minut před a 10 minut po podání v případě penicilinu. Projekt byl schválen etickou komisí FN HK.

Zpracování a vyšetření biologického materiálu. U každého odběru byl zaznamenán čas od podání poslední dávky antibiotika a počet již podaných dávek. Likvor byl vyšetřen cytologicky, biochemicky, mikroskopicky, aglutinačně a kultivačně. Při kultivační pozitivitě likvoru byla stanovena jeho baktericidie. Hodnota segmentů v likvoru 15000 v mm^3 byla stanovena jako maximální a použita i pro množství tuto hodnotu přesahující (laboratoř hodnocenou jako „záplava“). Byla odebrána hemokultura k detekci bakterií a mikroskopických hub. Izolované bakteriální kmeny byly archivovány.

Biochemické a hematologické vyšetření. Byly sledovány a hodnoceny markery zánětu: CRP, fibrinogen a počty segmentů v likvoru. Náhodným výběrem pacientů byl stanoven IL-6 jako další marker zánětu [10, 24-25, 34]. Počty vyšetření IL-6 byly redukovány z důvodu kapacity laboratoře a vzhledem k výraznému navýšení nákladů. Stanovení IL-6 je chápáno jen jako průřezové vyšetření.

Stanovení baktericidie likvoru. U pacientů s pozitivní kultivací z likvoru byla stanovena baktericidie likvoru pomocí modifikované agarové difúzní metody.

PCR metoda. Při negativitě mikroskopie, aglutinace a kultivace byl likvor vyšetřen metodou PCR ke stanovení DNA invazivních bakteriálních kmenů v Ústavu klinické biochemie a diagnostiky LF a FN HK. Byla použita in-house

real-time PCR. Falešná pozitivita byla minimalizována vyšetřením v dubletu. Falešně negativní výsledky byly eliminovány vnitřní kontrolou inhibice reakce.

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 kmen *Escherichia coli* CCM (Czech Collection of Microorganisms) 3954, pro krystalický penicilin kmen *Staphylococcus aureus* CCM 3953.

Příprava kultivačních pūd. Kmen ze zásobního šikmého agaru byl naočkován do zkumavky s 3 ml Trypton Soya Broth (Oxoid) a kultivován 18 hod při teplotě 37°C. Do vysterilizovaného Mueller-Hintonova agaru (MHA) (Oxoid) ochlazeného na 48°C bylo přidáno takové množství suspenze příslušného kmene, aby výsledná koncentrace činila $1 - 5 \times 10^6$ 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 jednotlivé jamky byl 20 μ l.

Příprava koncentrací ATB. Antibiotika byla naředěna sterilní destilovanou vodou na koncentraci 200 mg/ml u cefalosporinů, 50 mg/ml u penicilinu, rozplněna po 0,5 ml, uchovávána při -20°C (max. 2 měsíce). Před provedením testu se z těchto zásobních koncentrací připravily koncentrace 10 \times vyšší než požadovaná koncentrace pro kalibrační křivku. Na konečnou koncentraci byla ATB naředěna lidským sérem pro kalibrační křivku určenou pro odečet koncentrací ATB 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 ATB v likvoru. U séra bylo ověřeno, že neinhibuje testovací kmen. Cefalosporiny byly naředěny na koncentrace - 0,5; 1,0; 2,0; 10,0; 20,0; 50,0; 100,0 a 200,0 mg/ml, penicilin - 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0; 100,0 mg/ml.

Ředění odebraných sér a likvorů. Séra a likvory byly ihned po doručení do laboratoře rozplněny po 250 μ l a uchovávány do doby provedení testu při -80°C. Vzhledem k dosažení co nejpřesnějšího výsledku stanovení, bylo potřeba dosáhnout toho, aby koncentrace ATB 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 ATB bylo naředěno 1:10 a 1:100. Séra byla ředěna lidským sérem, likvor roztokem popsáním výše pro naředění standardních koncentrací ATB pro kalibrační křivku.

Provedení testu a kalibrace. Vždy na 3 plotny do 2 protilehlých jamek bylo napipetováno 20 μ l jedné koncentrace ATB ze standardní řady a do dalších 2 jamek stejné množství ATB se střední koncentrací. Střední koncentrace byla použita v kombinaci s každou jednotlivou koncentrací standardní řady. Pro nejnižší

koncentrace byly použity plotny s 6 jamkami, ostatní koncentrace byly nakapány na plotny se 4 jamkami. Inhibiční zóny vytvořené po inkubaci kolem jamek s koncentracemi ATB se nesměly dotýkat či prolínat. Kalibrace byla prováděna při každém testu stanovení hladin ATB na půdách stejné šarže jako vlastní test, připravených ihned před provedením testu. Použití starších půd není vhodné (stáří půdy ovlivňuje velikost inhibiční zóny i ostrost jejích okrajů).

Vlastní test. Stejným způsobem byly pipetovány 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 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 ATB i testovaných vzorků bylo provedeno vždy jednou osobou pro vyloučení subjektivní chyby.

Hodnocení. Pro sestavení kalibrační křivky a výpočet koncentrace ATB 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 použít 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 ATB a směrodatná odchylka. Všechny výše uvedené hodnoty byly zaznamenávány elektronicky a do odběrového listu.

Statistika byla prováděna na oddělení výpočetní techniky LF HK.

U hodnocení **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 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 ($K_{s/s}$), jehož číselná hodnota udává násobky vzrůstu hladin. Výsledky byly porovnávány s klinickým průběhem onemocnění. Dále byl hodnocen vztah mezi hladinou likvoru a séra a hodnotami laboratorních markerů zánětu. Byl kalkulován likvor-sérum kvocient ($K_{l/s}$) 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 $K_{1/s}$ 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. Cefotaxim nebyl pro malé počty výsledků statisticky zpracován.

6. Výsledky

Na hladiny antibiotik bylo celkem bylo vyšetřeno 24 pacientů zařazených do studie (Tab. 1).

Ceftriaxon

Vyhodnocení hladin ceftriaxonu před a po podání antibiotika v séru (kvocient $K_{s/s}$) ukázalo statisticky významný rozdíl ($p = 0,000156$) (Tab. 2). 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 desetinasobné vzrůsty sérových hladin ceftriaxonu po podání antibiotika (průměr $10,4 \pm 4,39$). Hodnoty kvocientu likvor/sérum ($K_{1/s}$) se pohybovaly od 0,033 do 0,409. Pacienti byli rozděleni na základě hodnoty indexu $K_{1/s}$ do dvou skupin (Tab 3). Skupina I. měla hodnoty $K_{1/s}$ menší než (případně rovny) 0,1, skupina II. vyšší než 0,1. U obou skupin byly porovnávány laboratorní markery zánětu. Srovnání testovaných markerů zánětu (CRP, fibrinogen a počty segmentů v likvoru) potvrdilo významný rozdíl mezi dvěma skupinami u fibrinogenu ($p = 0,0178$), CRP ($p = 0,00192$) a počty segmentů v likvoru ($p = 0,0112$). Kompletní hodnoty jsou zaznamenány v přehledové tabulce 4, spolu s průřezovými hodnotami IL-6.

Z grafů 1 - 4 je zřejmá přímá korelace hodnot markerů zánětu k hodnotám $K_{1/s}$. Nejtěsnější vztah k proložené křivce měly hodnoty fibrinogenu. V případě CRP a počty segmentů v likvoru nebyl vztah k $K_{1/s}$, vzhledem k většímu rozptylu, 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 5) byly relativně nízké, vykazovaly však jen velmi pozvolný pokles během 24 hodin. Při porovnání hladin ceftriaxonu v séru a v likvoru se ukázalo, že vedle

očekávaného rozdílu v obou kompartmentech, během 24 hodin dochází v séru k výraznějšímu poklesu v porovnání s likvorem (Graf 6).

Matematickými metodami byl hledán marker zánětu (nebo kombinace markerů) jako prediktor vyššího průniku antibiotika do likvoru. Výsledkem byla regresní rovnice: $(4.177 \times 10^{-2} - 1.974 \times 10^{-4} \times \text{CRP} + 2.067 \times 10^{-2} \text{FBG} + 1.264 \times 10^{-5} \times \text{segmenty})$ s koeficientem determinace $R^2 = 0,625$ na hladině významnosti vhodnosti modelu $p = 0,0012$. Postup byl optimalizován na počet segmentů, kde $R^2 = 0,594$ (hladina významnosti $p = 0,0002$), který vychází jako nejméně významný člen rovnice. Při použití logistické regrese (závisle proměnná kvalitativní veličina – tedy logické zařazení jednotlivých markerů do dvou skupin dle $K_{1/s}$) nebyl prediktivní marker nalezen. Pro všechny markery zánětu však platí korelace s $K_{1/s}$ jako popis situace - čím vyšší marker zánětu tím vyšší průnik antibiotika do likvoru.

Krystalický penicilin G – draselná sůl

Hladiny penicilinu v séru před a po podáním (kvoc. $K_{s/s}$) byly statisticky významné ($p = 0,0216$), (Tab. 5). Hodnoty hladin po podání dosahovaly vysokých hodnot, ale se značnou variabilitou (průměr $110,3 \pm 63,9$), 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 ($K_{1/s}$) se pohybovaly od 0,006 do 0,653 (Tab 6). V grafech 7 - 8 je vizualizovaná přímá korelace hodnot $K_{1/s}$ k CRP a počtům segmentů v likvoru. Z grafu 9, závislosti $K_{1/s}$ k fibrinogenu však tato korelace zřejmá není. Určení jednoznačné závislosti je však problematické pravděpodobně pro menší počet dat. Hladiny penicilinu v likvoru v závislosti na čase od poslední dávky (Graf 10) 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 11). 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 $(-4,03 \times 10^{-2} + 2,82 \times 10^{-3} \times \text{CRP} + 1,02 \times 10^{-3} \times \text{FBG} + 2,32 \times 10^{-5} \times \text{segmenty})$, koeficient determinace $R^2 = 1,0$ (hladina významnosti modelu $p = 0,0013$) byla optimalizována na hodnoty CRP a počty 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 $K_{1/s}$ (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 7). Vzhledem k tomu, že cefotaxim není standardně podáván jako antibiotikum první volby u terapie purulentní meningitidy, jde jen o velmi malý počet vzorků. Graf 12 porovnání hladin antibiotika v séru a v likvoru v časové ose naznačuje trendy poklesu sérových i likvorových hladin. Vzorky byly odebrány nejspíše již v sestupné části křivky. Vztahy koeficientu likvor/sérum k laboratorním parametrům zánětu nebyly dále zpracovávány (Graf 13).

Tabulka 1				
Materiál	Ceftriaxon	Penicilin	Cefotaxim	Celkem
Likvor	17	5	2	24
Sérum (ve stejný čas s likvorem)	17	5	2	24
Sérum 30 min. před ATB	9	5	0	14
Sérum 30 min. po ATB	9	5	0	14
Celkem	52	20	4	76

Tabulka 2						
Ceftriaxon - sérové hladiny						
30 minut před a 30 minut po podání, jednotlivá dávka 4 g i.v. á 24 hod.						
Poř. číslo/č. vzorku	Sex/věk	Etiologie	Počet již podaných dávek	Hladina ATB před podáním mg/l	Hladina ATB po podání mg/l	Kvoc. po/před podáním K _{s/s}
1./13	M/56	<i>Str. 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</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>Str. pneumoniae</i>	2	20,5	224,9	10,98
8./27	Ž/51	<i>Str. pneumoniae</i>	3	47,7	279,1	5,85
9./28	Ž/51	<i>Str. 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 3					
Hladiny ceftriaxonu - skupiny podle likvoru - sérového koeficientu K _{I/s}					
Skupina I K I/s < 0,1 vzorek č.:	CRP mg/l	Segmenty v likvoru v mm ³	FBG g/l	IL-6 pg/ml	Kvocient likvor/sérum K _{I/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 I/s ≥ 0,100 vzorek č.:	CRP mg/l	Segmenty v likvoru v mm ³	FBG g/l	IL-6 pg/ml	Kvocient likvor/sérum K _{I/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_{III} =	0,00192	0,0112	0,0178		0,000326

Tabuľka 4
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 ₁₅	IL-6 pg/ml	
					Likvor			Krev							
					seg ly ery	glu prot L	Ci LD	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n					Leu FBG CRP
1. / 1	M/41	?	1	15	seg 48 ly 560 ery 0	glu 7,01 prot 0,58 L 2,5 LD 1,19	Ci 120	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	Leu 12,3 FBG 3,87 CRP 44	2,1	15,8	0,133	
2. / 2	Ž/70	S.pneu.	2	11	seg zápl ly 0 ery oj	glu 2,95 prot 4,0 L 13,0 LD 22,35	Ci 111	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	Leu 10,3 FBG 10,56 CRP 331	7,2	17,6	0,409	
3. / 7	Ž/69	S.pneu.	1	19,5	seg zápl ly 0 ery oj	glu 3,00 prot 2,2 L 9,10 LD 5,32	Ci 124	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	Leu 17,5 FBG 7,35 CRP 327	8	68,2	0,117	
4. / 8	Ž/69	S.pneu.	3	19	seg 1520 ly 240 ery 0	glu 3,42 prot 1,1 L 4,9 LD 6,05	Ci 118	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	Leu 15,9 FBG 7,7 CRP 265	8,9	59	0,151	
5. / 9	M/15	N.m.sk B	2	22	seg 5600 ly 15 ery 0	glu 5,22 prot 0,5 L 2,20 LD 1,64	Ci 120	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	Leu 36,8 FBG 6,62 CRP 216	0,9	17	0,053	
6. / 11	Ž/35	N.m.sk B	2	22,5	seg 1620 ly 160 ery 0	glu 3,0 prot 0,3 L 1,9 LD 1,28	Ci 118	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	Leu 8,3 FBG 4,82 CRP 71	0,8	17,5	0,046	
7. / 13	M/56	S.pneu.	2	18	seg 13000 ly 500 ery oj	glu 11,65 prot 2,6 L 4,8 LD 28,6	Ci 119	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	Leu 16,3 FBG 8,12 CRP 212	5	22,3	0,224	
8. / 14	Ž/59	S.pneu.	2	20	seg zápl ly 0 ery oj	glu 0,34 prot 4,72 L 12,2 LD 89,88	Ci 116	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	Leu 8,5 FBG 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 prot 0,6 L 1,7 LD 0,69	Ci 124	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR 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 prot 1,9 L 7,2 LD 2,31	Ci 122	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	Leu 23,9 FBG 5,76 CRP 137	3,1	71,3	0,043	
11. / 20	M/24	N.m.sk B	3	6	seg 828 ly 432 ery 0	glu 4,09 prot 1,0 L 2,20 LD 1,78	Ci 127	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	Leu 10,4 FBG 7,5 CRP 139	3,6	110,3	0,033	
12. / 21	M/63	N.m.sk C	2	7	seg 7000 ly 320 ery 0	glu 1,2 prot 7,1 L 13,4 LD 4,73	Ci 121	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	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 prot 0,65 L 2,30 LD 0,45	Ci 120	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR 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 prot 2,6 L 3,6 LD 3,15	Ci 121	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	Leu 15,3 FBG 4,82 CRP 37	17,4	178,7	0,097	8,6
15. / 25	M/38	Str.pneu.	2	10	seg 6912 ly 512 ery 0	glu 0,94 prot 2,4 L 6,2 LD 15,69	Ci 116	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	Leu 18,68 FBG 9,45 CRP 439	7,5	38,6	0,194	97,8
16. / 27	Ž/51	S.pneu.	2	20,5	seg 776 ly 472 ery 0	glu 2,28 prot 0,6 L 2,5 LD 1,59	Ci 118	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	Leu 8,43 FBG 6,28 CRP 154	3,2	35,8	0,089	25,8
17. / 28	Ž/51	S.pneu.	8	21	seg 11 ly 163 ery 0	glu 2,42 prot 0,5 L 1,9 LD 1,10	Ci 115	M - PCR C	A - PCR n	K - PCR n	Leu 8,46 FBG 5,63 CRP 11	1,5	35,2	0,043	35,8

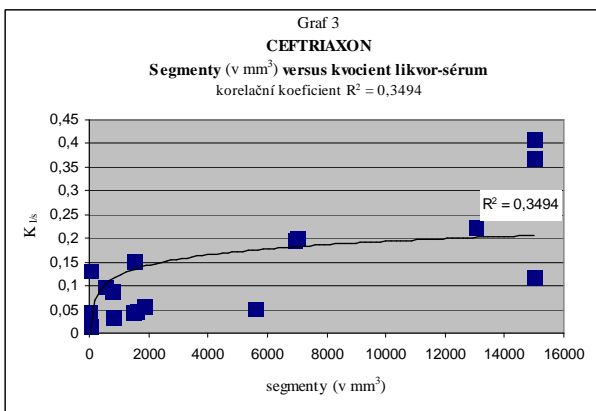
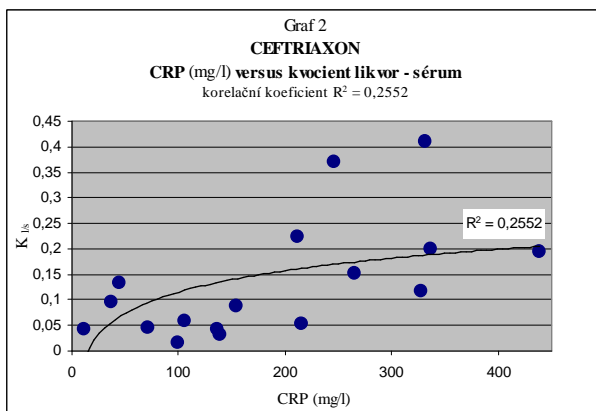
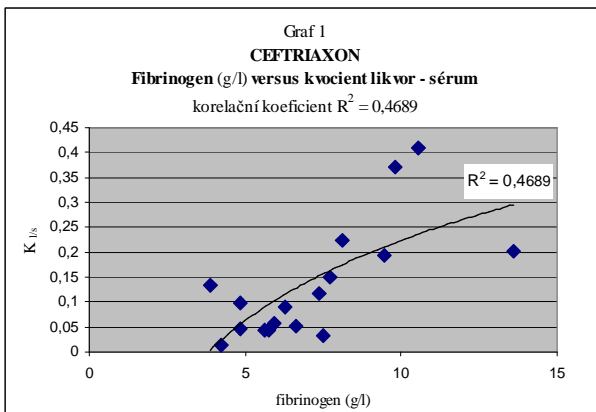
Použité zkratky:

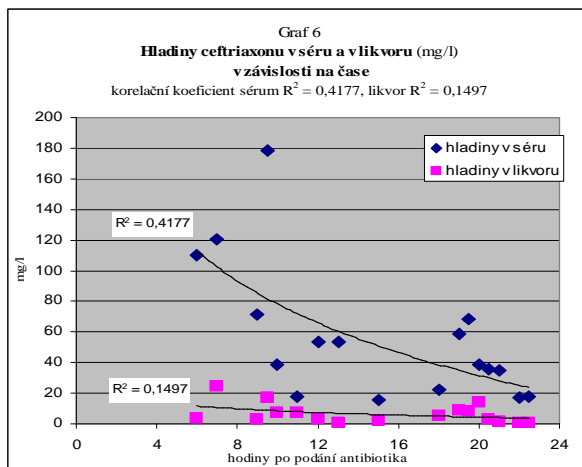
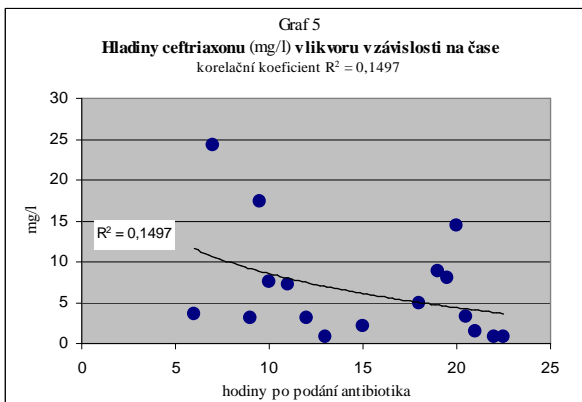
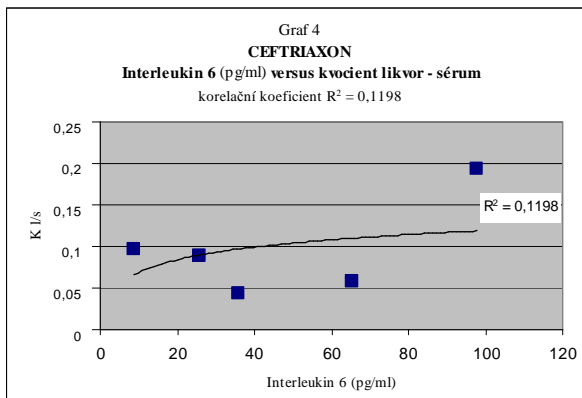
N.m. *Neisseria meningitidis*
S.pneu. *Streptococcus pneumoniae*
seg segmenty v mm³
ly lymfocyty v mm³
ery erytrocyty v mm³
glu glykorhacie (mmol/l)

MŽ muž/žena
? původce nejisté
n neprovedeno
-/+ negat./pozitivní
Cl chloridy (mmol prot protein (g/l)

Leu leukocyty x 10⁹/l
FBG fibrinogen (g/l)
CRP C-reaktivní protein (mg/l)
L laktát (mmol/l)
LD laktátdehydrogenáza (m

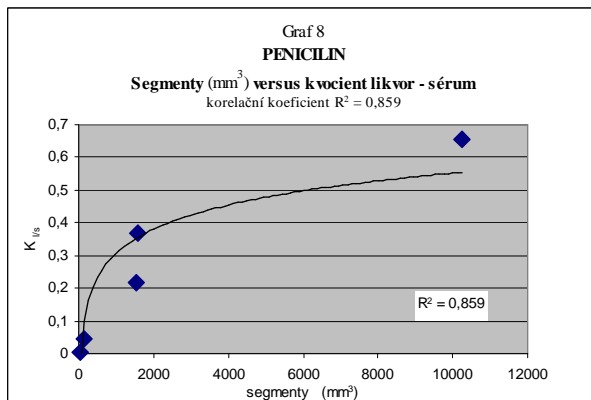
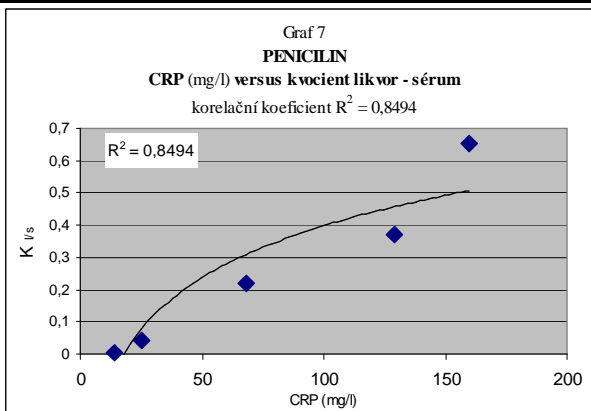
M mikroskopie
A aglutinace
K kultivace
C baktericidie
PCR polymerase chain reaction





Tabulka 5 **Krystalický penicilin G - draselná sůl - sérové hladiny**
10 minut před a 10 minut po podání, jednotlivá dávka 10 MIU i.v. á 4 hod

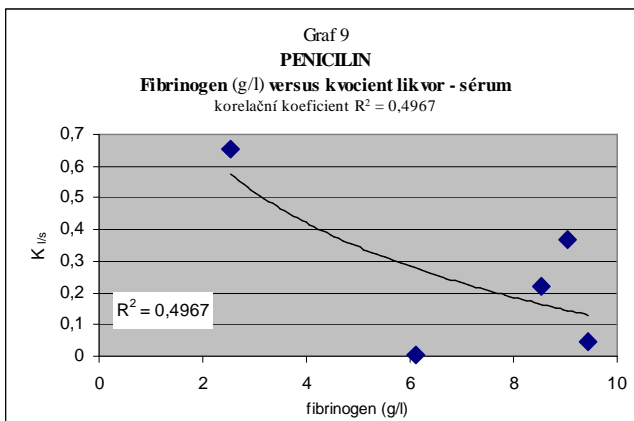
Poř. č./ číslo vzorku	Sex/ věk	Etiologie	Počet již podaných dávek	Hladina ATB před podáním mg/l	Hladina ATB po podání mg/l	Kvoc. po/před podáním K _{s/s}
1./15	Ž/62	<i>Str. pneumoniae</i>	22	2,6	78,9	30,3
2./16	M/47	<i>Str. pneumoniae</i>	22	9,4	83,1	8,8
3./18	M/19	<i>N. meningitidis</i>	35	3	48,4	16,1
4./24	M/50	<i>Str. pneumoniae</i>	7	41	128,3	3,1
5./26	M/47	<i>Str. 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

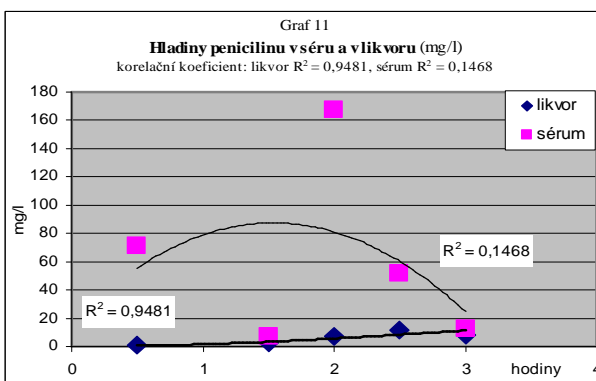
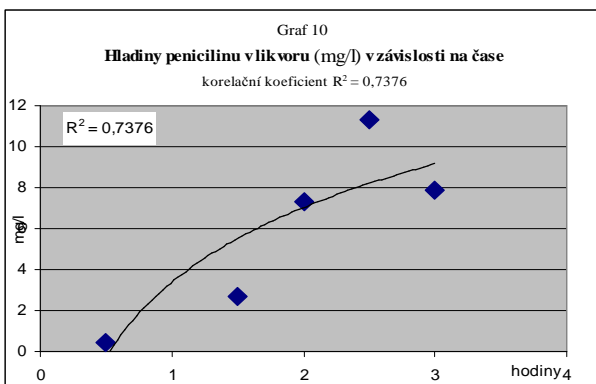


Tabulka 6

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

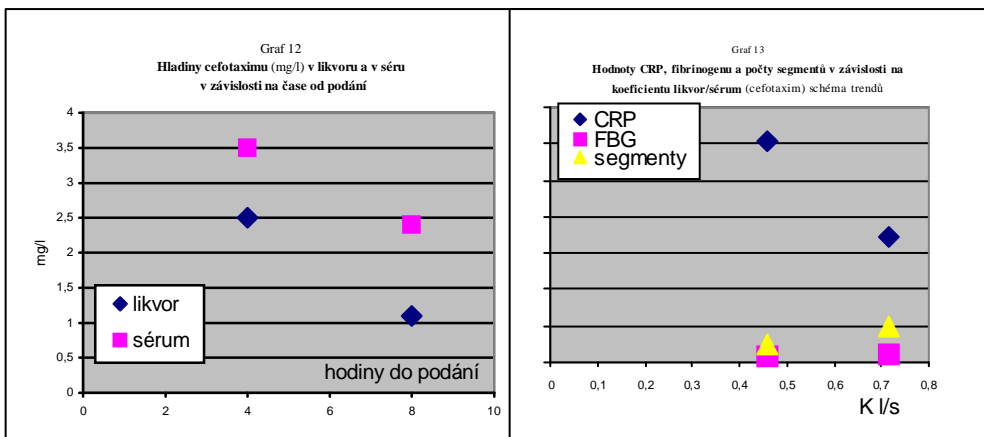
Poř. č./ číslo vzorku	Sex/ věk (roky)	Etiologie	Počet již podaných dávek	Odběr v hod. po ATB	Laboratorní parametry						Hladina ATB likvor mg/l	Hladina ATB sérum mg/l	Kvoc. likvor/ sérum Kl/s	IL-6 pg/ml
					Likvor			Krev						
					seg	glu	Cl	M+	A-	K+				
1. / 15	Ž/62	<i>S. pneu.</i>	21	3	seg 10240 ly 200 ery oj.	glu 0,90 prot 2,0 L 8,50 LD 17,21	Cl 110	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 prot 0,6 L 3,70 LD 4,67	Cl 115	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 prot 0,4 L 1,4 LD 1,5	Cl 120	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 prot 2,7 L 6,7 LD 7,51	Cl 120	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 prot 1,0 L 1,9 LD 2,1	Cl 113	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>	MŽ	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	3	n	n	neprovedeno	CRP	C-reaktivní protein (mg/l)	K	kultivace				
		ly	3	-/+	negat./pozitivní	L	laktát (mmol/l)	C	baktericidie					
		ery	3	Cl	chloridy (mmol/l)	LD	laktátdehydrogenéza (mmol/l)	PCR	polymerase chain reaction					
		glu	3	prot	protein (g/l)									





Tabulka 7
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 $K_{1/2}$
				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:				Cl	chloridy (mmol/l)	M/Ž	muž/žena			
?	původce nezjištěn	prot	protein (g/l)	Leu	leukocyty x 10 ⁹ /l					
seg	segmenty v mm ³	L	laktát (mmol/l)	FBG	fibrinogen (g/l)					
ly	lymfocyty v mm ³	LD	lakt.dehdrog. (mmol/l)	CRP	C-reaktivní protein (mg/l)					
ery	erythrocyty v mm ³	n	neprovedeno	M	mikroskopie					
glu	gykorhachie (mmol/l)	-/+	negat./pozit.	A	aglutinace					
		C	baktericidie	K	kultivace					



7. Diskuse

Na našem pracovišti je každoročně léčeno 15-20 nemocných s diagnózou purulentní meningitidy či purulentní meningitidy a sepse. Z tohoto počtu bylo možno zařadit do souboru jen 10-15%, protože většina nemocných nesplňovala vstupní kritéria. Příčiny byly především dvě. Za prvé to byla nutnost získání „antibioticky čistého“ vzorku, bez zbytkových hladin jiného antibiotika, které by mohlo zkreslit výsledky zpracovávané biologickou metodou. Pacienti nejsou většinou přijímáni do zdravotnického zařízení s jasnou diagnózou neuroinfekce a jsou v iniciální fázi onemocnění léčeni jiným antibiotikem a tímto jsou předem vyloučeni z výběru. Jen minimum nemocných se dostává na naše pracoviště primárně kdy je diagnostikována purulentní meningitida či sepe. V některých případech (především u léčby penicilinem), bylo pro relativně úzké spektrum penicilinu indikováno podání dvojkombinace antibiotik. Jednalo se především o případy „otogenních“ či „rhinogenních“ purulentních meningitid s chirurgickým zákrokem. I když byl etiologicky prokázán mikrob 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 na gramnegativní mikrobiální spektrum. Za druhé, pokud se nám podaří vhodného pacienta získat, potom vyvstává problematika získání biologického materiálu - především likvoru. K jeho zpracování biologickou metodou bylo třeba 1-2 ml. Vyšetření likvoru v diagnostickém standardu zahrnuje vyšetření biochemické, cytologické, mikrobiologické a většinou i nutnost jeho zpracování molekulárně – biologickými metodami. V mnohých případech se však odběr 1-2 ml likvoru již jevil jako rizikový, což bylo v rozporu se správně vedenou lékařskou praxí. Diagnóza purulentní meningitidy je spojena s mozkovým edémem, či s možností

jeho vzniku a odběr většího objemu likvoru nese zvýšené riziko neurologických komplikací, především v akutních fázích onemocnění.

Ceftriaxon je přijímanou antibiotickou terapií volby u pacientů s diagnózou purulentní meningitidy a purulentní meningitidy a sepse. V případě pozitivního kulturačního nálezu, podpořeného kvantitativní citlivostí u vybraných bakteriálních kmenů, je lékem volby krystalický penicilin (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, 34-46]. Řada autorů se však zamýšlí nad efektivitou této standardně podávané léčby, především ceftriaxonu. Je diskutována výše dávek β -laktamových 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, který vede k devastujícímu mozkovému edému, nebo k rychle progredujícímu septickému šoku s kardiopulmonální nestabilitou [8, 11-12, 14-23, 27, 31-32, 47-50].

Dříve velmi živá problematika podávání kortikoidů poněkud ustoupila do pozadí. V současné době je v závislosti na věku pacienta a etiologii podávání kortikoidů v akutní fázi onemocnění doporučováno, protože tlumí rozvoj masivní zánětlivé imunitní reakce, redukuje nadledvinkovou nedostatečnost (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, 34-35, 39-40, 47, 51-56].

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 $1 \times$ za 24 hodin byly před podáním relativně nízké ($p = 0,000156$), dosahovaly přibližně 15 % sérových koncentrací měřených 30 minut po aplikaci (Tab. 1). S ohledem na baktericidní charakteristiku cefalosporinů, která by měla dosahovat až 90% času nad minimální inhibiční koncentraci (MIC) může tento režim vzbuzovat pochybnosti o jeho efektivitě [13-23]. V našem případě nebyly nejnižší hodnoty v séru pod hladinou 15,0 mg/l, tedy převyšovaly MIC ceftriaxonu nejčastějších původců hnisavých meningitid – *N. meningitidis* (0,12 mg/l), *Str. pneumoniae* (0,5 mg/l), *H. influenzae* (0,12 mg/l), Enterobacteriaceae (1,0 mg/l) [46].

Je nutno si uvědomit, že pracujeme s vícekompartimentovým systémem (sérum/likvor), kdy likvor je cílovým kompartmentem. Při výše uvedeném léčebném schématu, hladiny ceftriaxonu v likvoru pozvolně klesaly v průběhu 24 hodin, což odpovídá jeho eliminační křivce [10, 13-23, 30, 57-59]. Hladiny v likvoru se ve sledovaných časech pohybovaly nad 0,8 mg/l, tj. rovněž nad

hodnotami MIC typických původců 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 h., jak naznačují dostupná data (Tab. 2, Graf 5).

Při porovnání křivek aktuálních hladin v séru a v mozkomíšním moku (Graf 6) jsme zaznamenali značný rozdíl v jejich koncentracích. 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].

Problematikou průniku léku přes zánětlivě změněnou hematoencefalickou bariéru ve vztahu k markerům infekce se zabývala řada prací [2-4, 10, 12, 14-22, 24-29, 32, 50, 56, 60-62]. 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, počtu 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 1 - 4), 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 $1 \times$ za 24 hodin i.v., 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 a tato schémata porovnat.

Hladiny krystalického penicilinu G draselná sůl

Naměřené hladiny krystalického penicilinu v séru po i.v. podání dosahovaly vysokých hodnot v souladu s doporučeními pro výpočet dávky. Koncentrace penicilinu u dávkovacího režimu $1 \times$ za 4 hodiny, 10 minut před a 10 minut po podání, v dávce 10 MIU se statisticky významně lišily ($p = 0,0216$), (Tab. 4). Zjištěné nejnižší hladiny penicilinu před podáním v séru byly 2,6 mg/l a vyšší, tedy minimálně o řád vyšší než MIC krystalického penicilinu pro běžné původce hnisavých meningitid: *N. meningitidis* (0,06 mg/l), *Str. pneumoniae* (0,06 mg/l), *Streptococcus* spp. (0,25 mg/l), anaeroby (0,25 mg/l) [46]. Tyto hodnoty

jednoznačně splňují požadavky kladené na toto antibiotikum (80-90 % času nad MIC).

Je zřejmé, že sérové hodnoty klesají poměrně rychle, v měřeních před dalším podáním i.v. 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 vzorků korelují s doporučeními o dávkování krystalického penicilinu, odpovídají eliminačním křivkám a nejsou v rozporu s pracemi, které se problematikou zabývaly [2-7, 10-11, 13, 19, 32, 36, 57].

Graf 10, hladin penicilinu v likvoru v průběhu čtyřhodinového dávkovacího intervalu vykazuje (na rozdíl od ceftriaxonu) jinou charakteristiku. Odběry byly většinou provedeny ve fázi vzestupné části křivky, vrchol hladin byl zachycen cca za 2,5 hodin po podání. Poslední měřená hodnota za 3 hodiny po podání již vykazuje sestupný trend, nezdařilo se vyšetřit vzorek likvoru těsně před podáním další dávky antibiotika. Hladiny penicilinu v likvoru se ve sledovaných časech pohybovaly nad 0,45 mg/l (a výrazně vyšší) (Tab. 5), tj. rovněž výrazně nad hodnotami MIC běžných původců purulentních meningitid. Stanovení baktericidie mozkomíšního moku u kultivačně pozitivních vzorků (n = 4,0 80 %) prokázalo dostatečný efekt při ředění likvoru 1:128 a vyšším, tedy nejspíše po celou dobu do podání další dávky antibiotika (4 hodiny).

Při porovnání křivek aktuálních hladin v séru a v likvoru (Graf 11, Tab. 5) byl zaznamenán značný rozdíl v jejich koncentracích, který se ale významně snižoval v okrajových částech křivek. Tato situace dokladuje krátké eliminační charakteristiky tohoto 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 o 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 tomto případě zabývali mírou průniku penicilinu do mozkomíšního moku přes zánětlivě změněnou hematoencefalickou bariéru a vztahem k laboratorním markerům zánětu v kontextu s literárními údaji (viz výše). Naše výsledky, v případě hodnot CRP a počtů segmentů v likvoru (Grafy 7, 8) korespondují s hypotézou nárůstu $K_{1/s}$ s hodnotami CRP a počtů segmentů v likvoru, a dokumentují tedy snadnější průnik penicilinu přes zánětlivě změněnou hematoencefalickou bariéru. Hodnoty fibrinogenu však tuto závislost nepotvrdily (Graf 9). 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 indikován u

pacientů do 12 týdnů života, pro jeho renální eliminaci, kdy ceftriaxon není vhodný podávat pro jeho hepatální metabolismus. Náš soubor však tyto pacienty nezachytil. U dospělých nemocných je toto antibiotikum používáno i v terapii sepsy 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 nemocných léčených cefotaximem. Výše uvedení pacienti se do výběru dostali díky svému těžšímu klinickému stavu, vyjádřeným laboratorním markerům zánětu, již zavedenou léčbou tímto antibiotikem, ale na druhou stranu likvorový nález nesplňoval jednoznačná kritéria purulentní meningitidy. Z těchto výsledků pochopitelně nelze dělat ucelenější závěry.

8. Závěry

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 současnosti antibiotikem volby u pacientů s diagnózou purulentní meningitidy a purulentní meningitidy a sepsy. U dospělých pacientů je doporučováno dávkovací schéma jedenkrát denně, 4 gramy i.v.

1. Hladiny ceftriaxonu v séru 30 minut před podáním a 30 minut po podání vykazovaly statisticky významný rozdíl. I přes výrazný pokles během 24 hodin byly hodnoty v séru vždy bezpečně nad hodnotou MIC nejčastějších původců hnisavých meningitid. Vysoké koncentrace v séru po podání podporují jeho průnik přes zánětlivě změněnou hematencefalickou bariéru.
2. Koncentrace v likvoru jsou relativně nízké, ale vždy nad hodnotou MIC standardních původců bakteriálních meningitid, uchovávají si baktericidii likvoru potřebnou pro příznivou klinickou odezvu na léčbu.
3. Výsledky testů potvrdily zvýšený průnik ceftriaxonu do likvoru v přímé závislosti na velikosti SIRS (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 likvoru. Matematicky nebyl nalezen marker zánětu (nebo jejich kombinace), který by spolehlivě definoval aktuální průnik antibiotika do likvoru a umožňoval tak úpravu režimu 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 sepsy. V ČR jde zejména o kmeny *Str. pneumoniae* a *N. meningitidis* s ověřenou citlivostí k tomuto antibiotiku. U standardních dospělých pacientů je doporučováno dávkovací schéma 8-10 MIU každé 4 hodiny i.v.

1. Hladiny krystalického penicilinu v séru 10 minut před a 10 minut po podání vykazovaly statisticky významný rozdíl. Během 4 hodinového intervalu dochází

k výraznému poklesu jejich hladin, které ale 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 indikovaných původců purulentních meningitid a uchovávaly si potřebnou baktericidii. Při uvedených hladinách nebyly zaznamenány toxické účinky.

3. Byl potvrzen zvýšený průnik penicilinu do likvoru v přímé závislosti na vzrůstu CRP a počtů segmentů v likvoru (statisticky jako popis situace). Tato závislost se nepodařilo potvrdit u fibrinogenu. Matematicky nebyl nalezen marker zánětu (nebo jeho kombinace), který by spolehlivě definoval aktuální průnik penicilinu do likvoru a umožňoval úpravu jeho režimu podávání v podle jeho hodnot.

Cefotaxim je chápán jako antibiotikum 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 testovat. Z jednotlivých dílčích hodnot proto nelze dělat závěry. Při studiu charakteristik tohoto antibiotika, je nutno zvolit jinou cílovou skupinu nemocných.

Zjištěné koncentrace ceftriaxonu a penicilinu 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 i.v. jedenkrát za 24 hodin a 10 MIU krystalického penicilinu G - draselná sůl i.v. jedenkrát za 4 hodiny) u standardních dospělých pacientů s diagnózou purulentní meningitidy či purulentní meningitidy a sepse. Průnik těchto antibiotik je do likvoru 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. Prodloužení dávkovacího intervalu u penicilinu na více jak 4 hodiny vidíme jako rizikové. Pro možnost poklesu jejich hladin 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 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.

9. Literatura

1. <http://www.szu.com/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. *Antibiotika v praxi*, 2nd ed., Praha: Galén, 1995.
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.
10. Mandell, Douglas and Bennets. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. (Vol. I) 7th Edition, Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010.
11. Modai J, Decazes JM. *Present-Day Antibiotic Treatment of Bacterial Meningitis*. Basel Editions Roche, 1990.
12. Quagliarello V, Scheld WM. Bacterial meningitis: Pathogenesis, Pathophysiology and Progress. *N Engl J Med*. 1992;327:864-872.
13. Suchopár J. Antimikrobiální léčba, 3rd ed., In : Suchopár J., Šimek R., Valentová S., Buršík J. (eds). *Remedia Compendium*, 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*. 200;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. Ogawa M, Suzuki H, Sawada I, et col. Kinetics of active efflux via chorioid plexus of β -lactam 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 Chemother*. 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, et al. 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*. Praha, 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. Černý V, Kula R, Novák I, Cvachovec K. a kol. *Sepse v intenzivní péči*. Maxorf 2005;14-18, 28-44.
35. Bone RC, Sibald WJ, Sprung CL. The ACCP-SCCM Consensus Conference on sepsis and organ failure. *Chest* 1992;101:1481-1482.
36. *Harrison's principles of internal medicine*. 14th edition. New York: McGraw-Hill, 1998.
37. The problem of sepsis. An expert panel of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med*. 1994;20:300-304.
38. 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.
39. Lefering R, Neugebauer EAM. Steroid controversy in sepsis and septic shock: a meta-analysis. *Crit Care Med*. 1995;23:1294-1303.
40. Sprung CL, Goodman S, Weiss YG. Steroid therapy of septic shock. *Crit Care Clin*. 2009;25(4):825-34.
41. 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.
42. Swartz MN. Bacterial meningitis: a view of the past 90y. *N Engl J Med*. 2004;351: 1826-1828.
43. Nau R, Wellmer A, Soto A et al. Rifampicin Reduces Early mortality in Experimental *Streptococcus pneumoniae* Meningitis. *J Infect Dis*. 1999;179:557-60.
44. 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):4736-43.
45. Ashman MJ, Wildschut ED, Tibboel D et al. Microanalysis of β -lactam antibiotics and vancomycin in plasma for pharmacokinetic studies in neonates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(1):75-80.

46. http://www.eucast.org/clinical_breakpoints.html.
47. Nasraway SA. Sepsis research: we must change course. *Crit Care Med.* 1999;27:427-430.
48. 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.
49. 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.
50. Stuert K, Schmidt H, Trostorf 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.
51. Parrillo JE, Parker MM, Natanson C. Septic shock in understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction and therapy. *Ann Intern Med.* 1990;113:227-242.
52. Aneta A, Maviglia R, Proietti R, Antonelli M. Use of corticosteroids in critically ill sepsis patients: a review of mechanisms of adrenal insufficiency in sepsis and treatment. *Curr Drug Targets.* 2009; 10(9):887-94.
53. 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.
54. Hatherrill M, Tibby SM, Hilliard T et al. Adrenal insufficiency in septic shock. *Arch Dis Child.* 1999;80:51-55.
55. 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.
56. 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.
57. Anders DR, Craig WA. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibiotics in meningitis. *Inf Dis North Am.* 1999;13:595-618.
58. De Gigo Glaría M, Mosccicati GG, Ramos RG. Determination of ceftriaxone in cerebrospinal fluid by ion-pair liquid chromatography. *JAOAC Int.* 2005;88(2):436-9.
59. 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 Chemother.* 2009;53(1):210-5.
60. 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.
61. Tunel AR, Wispelwey B, Quagliarello VJ et al. Patofysiology of Blood-brain Barrier Alternations during Experimental *Haemophilus influenzae* Meningitis. *J Infect Dis.* 1992;165:119-120.
62. 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

Přehled publikací

Statě v monografii:

Prášil P. Infekce kardiovaskulárního systému, rickettsiózy, mykotické nemoci, toxoplasmóza. In: Dostál V, (eds.) a kol. *Infektologie*. Praha: Karolinum, 2004; 134-139, 206-210, 262-267, 272-275.

Původní články:

Čermáková Z, Plíšková L, Ryšková O, Prausová P, Prášil P. Hanovcová I. Originální metoda polymerázové řetězové reakce (PCR) v diagnostice leptospirózy. *Lék Zpr lék Fak Univ Karlovy Hr Králové*. 2004;49(5/6):207-213.[ISSN 0457-4206]

Cibíčková L, Horáček J, Prášil P. Slováček L, Kohout A, Čefovský V, Hobza V. Cerebral toxoplasmosis in an allogenic peripheral stem cell transplant recipient. *Transpl Infect Dis*. 2007;9(4):332-335. [ISSN 1398-2273] **IF** 2007 **2,185**

Voxová B, Čermáková Z, Prášil P. Plíšková L, Bolehovská R, Förstl M, Plíšek S. Úskalí laboratorní diagnostiky mozkové toxoplasmózy. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*. 2009;15(3):91-94. [ISSN1211-264X]

Slezák R, Buchta V, Forstl M, Prášil P. Šustová Z, Bukač J. Infekce ústní sliznice vyvolané herpes simplex virem. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*. 2009;15(4):131-137. [ISSN1211-264X]

Čermáková Z, Prášil P. Valenta Z., Förstl M, Plíšková L, Bolehovská R. Zamyšlení nad „postavením“ metody PCR v rutinní diagnostice toxoplasmózy při vyšetření periferní krve u imunokompetentních nemocných. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*. 2009;15(4):138-142. [ISSN1211-264X]

Prášil P., Čermáková Z, Plíšek S. Význam dynamiky sérologií a PCR diagnostiky k pravděpodobnosti vrozené toxoplasmózy u dětí séropozitivních matek. *Cesk Pediatr*. 2010; [ISSN 0069-2328] v tisku

Prášil P., Buchta V, Paterová P, Hanovcová I. Průnik ceftriaxonu do likvoru a jeho vztah k markerům zánětu v průběhu invazivní bakteriální infekce. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*. 2010;16(2):69-77 [ISSN 1211-264X] v tisku

Prášil P. Komplikovaná herpetická nekrotizující meningoencefalitida. *Česk Slov Neurol N*. 2010;3[ISSN 1802-4041] **IF**2008 **0,319** v tisku

Smetana J, Boštík V, Salavec M, Chlábek R, Plíšek S, Prášil P, Matulková P, Schmidt SD, Boštík P. Molecular Epidemiology of Varicella-Zoster Virus in Eastern Bohemia, Czech republic. *New Biotechnol* 2010; [ISSN 1871-6784], title changed from *Biomol Eng.* [ISSN 1389-0344] **IF**₂₀₀₈ **2,496** submitted

Přehledové články:

Čermáková Z, Voxová B, Ryšková O, Valenta Z, Plíšek S, Prášil P. Laboratorní diagnostika parazitárních infekcí. *Folia Gastroenterol Hepatol.* 2007;3(Suppl. 1):40-43. [ISSN 1214 - 4088]

Čermáková Z., Voxová B., Ryšková O., Valenta Z., Plíšková L., Lesná J., Förstl M., Buchta V., Plíšek S., Prášil P., Bolehovská R.. *Giardia intestinalis* – zajímavý střevní prvok. *Folia Gastroenterol Hepatol.* 2008;6(1):24-30. [ISSN 1214 - 4088]

Čermáková Z., Ryšková O., Buchta V., Förstl M., Roučková V., Voxová B., Valenta Z., Lesná J., Plíšek S., Prášil P. *Entamoeba histolytica* - nebezpečný střevní prvok (I.část). *Folia Gastroenterol Hepatol.* 2008;6(2):65-69. [ISSN 1214 - 4088]

Čermáková Z., Valenta Z., Voxová B., Roučková V., Buchta V., Förstl M., Ryšková O., Lesná J., Plíšek S., Prášil P. *Entamoeba histolytica* – nebezpečný střevní prvok (II. část: klinické projevy a principy léčby). *Folia Gastroenterol Hepatol.* 2008;6(3):108-111. [ISSN 1214 - 4088]

Čermáková Z., Valenta Z., Voxová B., Buchta V., Förstl M., Roučková V., Plíšková L., Bolehovská R., Prášil P., Plíšek S. *Entamoeba histolytica* - nebezpečný střevní prvok (III.část: odběr biologického materiálu a laboratorní diagnostika patogenní améby). *Folia Gastroenterol Hepatol.* 2008;6(4):2-4. [ISSN 1214 - 4088]

Prášil P. Současné možnosti diagnostiky a terapie toxoplazmózy u HIV-negativních pacientů. *Klin Mikrobiol Infekc Lek.* 2009;15(3):83-90. [ISSN 1211-264X]

Smetana J, Čermáková Z, Boštíková V, Kučerová P, Prášil P, Pavliš O, Chlábek R. Leptospiroza v České republice a možnosti laboratorní diagnostiky. *Vakcinologie.* 2010; [ISSN 1802-3150] v tisku

Boštík P, Chlábek R, Salavec M, Prášil P, Smetana J, Boštíková V. Vývoj vakcíny proti HIV – dlouhá cesta s nejistým výsledkem. *Vakcinologie*. 2010; [ISSN 1802-3150] v tisku

Ostatní publikace:

Čermáková Z, Prášil P, Ryšková O. Kongenitální toxoplazmóza: Možnosti laboratorní diagnostiky. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2005;54(2):75-77. [ISSN 1803-6597]

Hobza V, Kanta M, Laštovička D, Krajina A, Michl A, Kordač P, Prášil P. „Skákající“ salmonelové pseudoaneurysma vnitřní karotidy. XXXIV. Česko – Slovenské neurovaskulární sympozium s mezinárodní účastí. Zlín 15.– 16. 6. 2006. *Česk Slov Neurol N*. 2006;Suppl. 69/102(2):18.[ISSN 1210-7859] **IF₂₀₀₆ 0,045**

Slováček L, Jebavý L, Slováčková B, Horáček J, Cerman J, Žák P, Prášil P. Cerebrální toxoplazmóza u nemocného s chronickou myeloidní leukémií po zoogenní nepříbuzenské transplantaci krvetvorných buněk. *Interní Med pro Praxi*. 2006;8(10):462-465 [ISSN 1212-7299]

Boštíková V, Salavec M, Chlábek R, Smetana J, Prášil P, Plíšek S, Šplího M, Boštík P. Atypicky se manifestující zosterová infekce vyvolaná neobvyklým divokým kmenem viru VZV. *Vakcinologie*.2010; [ISSN 1802-3150] v tisku

Prášil P, Kosina P. Nozokomiální nákazy. Hlavní téma: Infekce. *Zdrav Nov ČR* 2003;52(53)/Příl. *Lék Listy*, s. 14-15 [ISSN 0044-1996]

Dostál V, Boštík P, Prášil P, Boštíková D. Toxoplazmóza stále aktuální *Med Rev* 2001;8(4):13-16. [ISSN 1210-9673]

Čermáková Z, Prášil P, Ryšková O. Parazitologická laboratorní diagnostika: přínos pro klinickou praxi. *Lék Zpr lék Fak Univ Karlovy Hr Králové*. 2004;49(3/4):119-127.[ISSN 0457-4206]

Čermáková Z, Plíšková L, Prášil P, Ryšková O. Metoda polymerázové řetězové reakce (PCR) v diagnostice toxoplazmózy. *Acta Medica*. (Hradec Králové) 2004;47(2), Suppl.:71-73. [ISSN 0457-4206]

Odborné přednášky:

Prášil P. Malárie, heretické viry, toxoplasmóza. Seminář Společnosti všeobecného lékařství ČSL JEP – Infekce a cestovní medicína. Hradec Králové 2. 3. 2002

Prášil P., Boštíková D, Dostál V. Diagnostická a terapeutická úskalí u gravidních s diagnózou toxoplasmózy. IV. Perinatologické dny východočeského regionu. Černý Důl 10. 5. 2002. Sborník abstrakt.

Prášil P., Kračmarová R, Trlicová M, Dostál V, Pozlerová M. Nozokomiální infekce na JIP. Seminář Společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii ČLS JEP a SIL ČLS JEP, Praha, Lékařský dům, 5. 11. 2002. Sborník abstrakt.

Prášil P., Boštíková D. Naše zkušenosti s antibiotickou a chemoterapeutickou léčbou toxoplasmózy. VIII. česko – slovenský kongres o infekčních nemocech, 23. – 26. 9. 2003, Pec pod Sněžkou, Sborník abstrakt.

Prášil P., Čermáková Z.: Naše zkušenosti s problematikou kongenitální toxoplasmózy. X. konzultační den „problémy toxoplasmózy“. Praha, 8. 12. 2004.

Prášil P. Methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*. Regionální seminář kontinuálního vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví na téma: „Nozokomiální nákazy“. 5.4.2006 Jičín a 27.4.2006. Nový Bydžov.

Prášil P., Hanovcová I., Plíšek S. Hladiny betalaktamových antibiotik při léčbě purulentních meningitid – první zkušenosti. Seminář společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii ČSL JEP a SIL ČSL JEP. Praha, Lékařský dům 4. 4. 2006

Prášil P., Čermáková Z., Plíšková L. Klinické zkušenosti s diagnostikou toxoplasmózy u gravidních žen sérologickými a PCR metodami. Odborná konference: Rutinní analýza nukleových kyselin molekulárně biologickými technikami - Rank 2008. Pardubice 23. a 24. 1. 2008, Sborník abstrakt.

Prášil P., Plíšková L, Čermáková Z. Indikace a využití PCR diagnostiky u pacientů s toxoplasmózou. XIV. Konference „Problémy toxoplasmózy“ Státní zdravotní ústav Praha 2008.

Prášil P., Čermáková Z, Plíšková. Klinické zkušenosti s diagnostikou toxoplasmózy u gravidních žen sérologickými a PCR metodami (nové poznatky). Český kongres o infekčních chorobách. Pardubice 2009. 3.-5. 9. 2009. Sborník abstrakt.

Prášil P., Plíšková L, Čermáková Z. Klinické zkušenosti s diagnostikou toxoplasmózy v péči o matku a dítě sérologickými a PCR metodami. Pracovní den: Laboratorní vyšetření v péči o matku a dítě pod záštitou České společnosti klinické biochemie ČSL JEP, OS ČLK a OKBI FN Olomouc. Olomouc 5. 11. 2009. Sborník abstrakt.

