

Mikrobiologická a klinická analýza invazívnych pneumokokových infekcií v Slovenskej republike, 1996–1999

J. TRUPL¹, H. HUPKOVÁ², O. BÁLINT³, I. STANKOVIČ³

¹Národný onkologický ústav v Bratislave, ²Nemocnica sv. Cyrila a Metoda Bratislava, ³Klinika infektológie a geografickej medicíny Dérerovej FN Bratislava

Pracovná skupina pre pneumokoky:

A. Purgelová, M. Gablas (NsP FD Roosvelta B.Bystrica), O. Zigová (NsP Banská Štiavnica), M. Leško M. Grofčíková (NsP Bardejov), J. Loja (Nemocnica Bojnice), A. Vaculíková (FN akad.Dérera Bratislava), A. Roidová (NOÚ Bratislava), E. Šipošová, M. Hájková (NÚTaRCH Bratislava), K. Halčíková, I. Hartmanová, Z. Rusnáková, A. Šebestová (NsP Sv.Cyrila a Metoda Bratislava), D. Bruckmayerová, Z. Maďaričová (ŽNsP Bratislava), V. Kapaníková (NsP Dolný Kubín), G. Kopáčíková (NsP Galanta), M. Molokáčová, M. Pisarcíková (FNsP Košice), Z. Szóvenyiová (FN L.Pasteura,Košice), I. Miková, M. Vargová, A. Fandáková (SZÚ Košice), J. Lukáčová (NsP Krompachy), A. Schulz (NsP Levice), J. Sopko (NsP Levoča), V. Kultán, R. Mojžiš, M. Pochybová, A. Smiešna (NsP L. Mikuláš), H. Knotková (NsP Martin), A. Flaková (NsP Michalovce), J. Navrátilová (NsP Myjava), A. Lišková, M. Brozman (NsP Nitra), A. Mikovičová (NsP N.Zámky), V. Melicháčová (NsP Piešťany), I. Petříková (NsP Poprad), E. Sinajová, V. Dubayová (NsP Prešov), H. Štefiková (NsP Prievidza), J. Rajecký (NsP Ružomberok), J. Matheiselová (NsP Sp. Nová Ves), A. Sobotová, Z. Šiftarová (NsP Topoľčany), K. Smolková (NsP Trebišov), L. Glosová, K.Orlovská (NsP Trenčín), E. Drdúlová (NsP Trnava), M. Hajduková (NsP Vranov n. Topľou), M. Ťavodová (NsP Zvolen), M. Blahová (NsP Žiar n.Hronom), A. Benčatová (NsP Žilina)

SÚHRN

Trupl J., Hupková H., Bálint O., Stankovič I.: Mikrobiologická a klinická analýza invazívnych pneumokokových infekcií v Slovenskej republike, 1996–1999.

Cieľ práce: Zhodnotiť stav rezistencie kmeňov *Streptococcus pneumoniae*, ktoré boli izolované pri invazívnych pneumokokových ochoreniach, analyzovať distribúciu sérotypov a rizikové faktory invazívnych pneumokokových ochorení.

Metodika: Vyšetrenie minimálnych inhibičných koncentrácií štandardnou agarovou dilačnou metódou, serotypizácia izolovaných kmeňov sérami Statens Serum Institut, Kodaň, Dánsko, analýza klinických protokolov štúdie.

Výsledky: Zo 153 kmeňov *S. pneumoniae* bolo 36 % intermediárnych a rezistentných na penicilín a 30,7 % na ceftriaxon. Vyššia frekvencia kmeňov necitlivých na penicilín bola zaznamenaná u kmeňov izolovaných z hemokultúr a punktátov pacientov s pneumokokovou pneumóniou (42,9 %) oproti kmeňom izolovaným u pacientov s pneumokokovou meningitídou (30,7 %) alebo septikémiou (21,4 %). Rezistencia na penicilín bola vyššia u detí do 5 rokov veku (52,8 %) oproti iným vekovým skupinám. Významnými rizikovými faktormi pneumokokovej infekcie boli primárne vírusové ochorenia, imunosupresia a predchádzajúca antibiotická terapia. Vysokorezistentné kmene pneumokokov boli reprezentované relatívne malým počtom sérotypov 19A, 23F, 14, 9V.

Záver: Výsledky štúdie poukazujú na potrebu prehodnotiť súčasné prístupy k iniciálnej terapii predpokladanej invazívnej pneumokokovej infekcie v Slovenskej republike a potrebu prijatia strategických opatrení v antibiotickej politike, ktorých dôsledné dodržiavanie by viedlo k zníženiu selektívneho tlaku antibiotík a k zníženiu frekvencie výskytu rezistentných kmeňov pneumokokov najmä v detskej populácii. Súčasťou tohto prístupu musí byť mikrobiologická surveillance rezistencie pneumokokov na regionálnej úrovni vykonávaná štandardnými metódami a rozšírenie serotypizačných štúdií pre rozhodovanie o vakcinačnej stratégii u detí do 5 rokov veku. Využitie 23-valenčnej polysacharidovej vakcíny v rizikových skupinách dospelšej populácie je i na základe tejto štúdie indikované.

SUMMARY

Trupl J., Hupková H., Bálint O., Stankovič I.: Microbiological and clinical analysis of invasive pneumococcal infections in the Slovak Republic, 1996–1999.

Aim of the study: To evaluate a resistance of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated during invasive pneumococcal infections, to analyse a serotype distributions and invasive pneumococcal infections risk factors.

Methods: Minimal inhibition concentrations examination using standard agar dilution method, serotyping of isolated strains using sera from Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark, analysis of study clinical records.

Results: 36 % from 153 *Streptococcus pneumoniae* strains were intermediately resistant or resistant to peniciline and 30,7 % to ceftriaxone. Higher frequency of strains resistant to peniciline was noted in strains, isolated from haemocultures and punctates of pneumococcal pneumonia patients (42,9 %), in comparison with strains, isolated from pneumococcal meningitis (30,7 %) or septicemia patients (21,4 %). Peniciline resistance was higher at children till 5 years of age (52,8 %) in comparison with other age groups. Primary virus infection, immunosuppression and preceding antibiotic therapy belong to significant risk factors of pneumococcal infection. High resistant pneumococcal strains were represented by relatively low number of serotypes 19A, 23F, 14, 9V.

Conclusion: Results of the study show a need to revalue current approach to assumed invasive pneumococcal infection initial therapy in Slovak Republic and a need to admit strategy steps in antibiotic policy. Consistent follow up of these steps may lead to reduction of selective antibiotic pressure and to reduction of resistant pneumococcal strains occurrence, especially at children. This approach consist in microbiological surveillance of pneumococcus resistance on regional level using standard methods and in serotyping studies spreading to consider the vaccination strategy at children till 5 years of age. 23- valence polysaccharide vaccine use, based on results of this study, is indicated in risk groups of adult population.

Klin mikrobiol inf lek 2000;6(8):251–256

Adresa: doc. RNDr. Jan Trupl, CSc, NOÚ, Klenová 1, 833 10 Bratislava, tel./fax +421 7 54772180, e mail: nci@bts.sk

Úvod

Streptococcus pneumoniae (*S. pneumoniae*, pneumokok) je najčastejšou bakteriálnou príčinou meningitíd a pneumónií, dominantným pôvodcom bakteriémií, otitis media a sinusitíd u detí a dospelých. V posledných 20tich rokoch sa dovtedy bezproblémový bakteriálny druh – z hľadiska účinnosti antibiotík, včítane antibiotika voľby terapie pneumokokovej infekcie penicilínu – závažne rýchlo narastajúcou rezistenciou globálneho charakteru na betalaktamové, makrolidové a ďalšie antibiotiká mení v druh veľmi problémový. Tak časté pneumokokové infekcie v súčasnosti predstavujú mimoriadne závažný svetový problém súčasnej medicíny, sú výzvou pre schopnosti ľudstva priniesť nové, účinné antibiotiká, vakcíny pre prevenciu a nové koncepcie pre spomalenie nárastu rezistencie a terapiu rezistentnej pneumokokovej infekcie [1].

V Slovenskej republike Moravčík a spol. [2] v rokoch 1981 až 1982 izolovali multirezistentné pneumokoky z rôzneho klinického materiálu a upozornili na závažnosť možného nárastu rezistencie u tohoto bakteriálneho druhu na penicilín a ďalšie antibiotiká. V januári 1985 izoloval Rakovský so spolupracovníkmi v Topoľčanoch [3,4] multirezistentný kmeň *S. pneumoniae* z hemokultúry jednorôčného dieťaťa s pneumóniou a v nasledujúcich 5 rokoch zhromaždili 116 rezistentných pneumokokov z krvi, likvoru, stredoušnej tekutiny a výterov horných dýchacích orgánov detí z oblasti Topoľčian, ktoré boli analyzované v spolupráci s Centers for Disease Control and Prevention (CDC, Atlanta, USA).

Takmer všetky ich kmene na základe tejto analýzy patrili k sérotypu 14, všetky boli rezistentné na penicilín, väčšina tiež na erytromycín, tetracyklín a chloramfenikol, niektoré kmene i na ceftriaxón. Urbášková v spolupráci s The Rockefeller University analyzovali rôznymi molekulárnymi technikami 72 penicilín rezistentných kmeňov pneumokokov, ktoré boli izolované v rokoch 1990–1992 v Českej a Slovenskej republike [5]. Väčšina vysoko rezistentných izolátov (40/72) reprezentovala 2 klóny pneumokokov – sérotyp 14 a 19A. V súčasnosti bola vytvorená medzinárodným výborom zbierka 16 kľúčových multirezistentných klónov *S. pneumoniae*, ktoré sú v depozite American Type Culture Collection (ATCC). Tri multirezistentné klóny *S. pneumoniae* v tejto zbierke majú svoj pôvod v Slovenskej republike – 14, 19A, 6A (CDC, USA).

Pracovná skupina pre pneumokoky v SR analyzovala 4 018 kmeňov pneumokokov z 24 pracovísk klinickej mikrobiológie, ktoré boli izolované od septembra do konca roka 1993. Výsledky ukázali na významné regionálne rozdiely v citlivosti pneumokokov na antibiotiká. 76 % penicilín rezistentných kmeňov bolo v tejto štúdii rezistentných i na ďalšie antibiotiká [6]. Kotulová a Trupl [8] v medzinárodnej štúdii nosičstva pneumokokov u detí preukázali v súbore slovenských detí nosičstvo u 24 % so značným zastúpením penicilín rezistentných kmeňov (36 %). Hupková a Trupl [7] poukázali na problematiku účinnosti betalaktamových antibiotík na kmene pneumokokov citlivých, intermediárnych a rezistentných na penicilín. Slovenská republika sa v roku 1996 zapája do najrozsiahlejšej medzinárodnej štúdie prevalencie rezistencie hlav-

ných bakteriálnych patogénov infekcií dýchacích orgánov, ktorá bola zahájená v r. 1992 pod názvom Alexander Project (koordinátor za SR – H. Hupková). Publikované údaje z tejto štúdie ukazujú na významné rozdiely v rezistencii v rôznych krajinách s tým, že Slovenská republika na rozdiel napr. od Českej republiky patrí k oblastiam s výraznou rezistenciou *S. pneumoniae* [9]. Výsledky Alexander Project potvrdzujú skúsenosti a signály predchádzajúcich štúdií [13] a nepublikovaných analýz niektorých mikrobiologických pracovísk SR o významnom zastúpení rezistentných pneumokokov a musia byť znepokojujúcim impulzom riešenia problému mimoriadnej závažnosti. Existujú presvedčivé dôkazy, že vysoká frekvencia rezistencie je vždy spojená s vysokou spotrebou antibiotík, s používaním antibiotík zbytočne širokého spektra účinku u konkrétnej infekcie, s opakovaným podávaním antibiotík v dávkach nižších než je doporučené a najmä s podávaním antibiotík zbytočne a chybné [10].

Vznik, vývoj a prevalenciu rezistencie, jej trendy a dopad na iniciálnu takmer vždy empirickú terapiu rozhodujúcich bakteriálnych infekcií v komunite a nemocnici je potrebné pravidelne monitorovať. Metódy, ktoré sú pre tento účel používané, musia byť vysoko štandardizované a kontrolované. Z týchto dôvodov pracovná skupina pre pneumokoky v SR pristúpila v rokoch 1996–1999, čiastočne podporovaná grantom MZ SR, k mikrobiologickej a klinickej analýze invazívnych pneumokokových infekcií s cieľom

- zhodnotiť stav rezistencie *S. pneumoniae* izolovaných pri invazívnych pneumokokových ochoreniach
- analyzovať distribúciu sérotypov u invazívnych ochorení
- získať údaje pre prípravu doporučení iniciálnej terapie týchto ochorení a údaje pre možné projekty prevencie invazívnych ochorení rizikových skupín populácie súčasnými alebo pripravovanými vakcínami
- zistiť rizikové faktory invazívnej pneumokokovej infekcie a analyzovať súčasnú diagnostickú a terapeutickú prax.

Materiál a metódy

Kmene *Streptococcus pneumoniae*

Izolované kmene *S. pneumoniae* pochádzali z tých pracovísk klinickej mikrobiológie Slovenskej republiky, ktoré reagovali na výzvu pracovnej skupiny poskytnúť každý kmeň pneumokoka, ktorý bol izolovaný z fyziologicky sterilných odberových miest pre túto otvorenú, prospektívnu štúdiu. Krv, likvor, pleurálna, peritoneálna a synoviálna tekutina boli najčastejším zdrojom pneumokokov v štúdii. Individuálne boli posudzované a zaradované do štúdie kmene izolované najmä z pitevného materiálu.

Protokol štúdie doporučoval transport masívne očkovaného šikmého krvného agaru bez inkubácie. V centrálnom laboratóriu štúdie (Oddelenie klinickej mikrobiológie Národného onkologického ústavu v Bratislave) boli kmene pneumokokov overené štandardnou metódou identifikácie [11] a uchovávané v Brain Heart Infusion (Oxoid) s 15 % glycerolu alebo v dvojnásobnej koncentrácii Skim Milk (Difco) pri -70 °C.

Tabuľka 1
Základné charakteristiky 153 invazívnych kmeňov *Streptococcus pneumoniae* izolovaných v rokoch 1996–1999

Mesto/oblasť	n	%	Diagnóza	n	%	Pôvod	n	%	Vek v r.	n	%
Bratislava	17	11,1	meningitis	43	28,1	krv	65	42,4	≤ 5	36	23,6
Západ SR	38	24,8	septikémia	42	27,5	likvor	42	27,3	6–44	49	32,6
Stred SR	46	30,0	pneumónia	35	22,9	krv+likvor	9	5,9	45–64	41	26,8
Východ SR	52	33,9	ostatné	33	21,5	punktáty	16	10,5	≥ 65	27	17,6
						ostatné	12	7,8			

Vyšetrenie citlivosti

Minimálne inhibičné koncentrácie (MIC) penicilínu a ceftriaxonu boli vyšetrené agarovou dilučnou metódou na Mueller Hinton agare (Oxoid) s pridaním 5 % ovčej krvi, ktorá je doporučovaná a pokladaná za referenčnú metódu pre pneumokoky [12]. Každá séria vyšetrení bola overovaná kontrolnými kmeňmi *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 a *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Pre interpretáciu výsledkov vyšetrení boli akceptované hraničné koncentrácie doporučené NCCLS.

Typizácia kmeňov

Sérotypy *S. pneumoniae* všetkých kmeňov izolovaných pri invazívnych ochoreniach boli určené Quellung technikou pomocou typizačných sér pochádzajúcich zo Statens Serum Institut, Kodaň, Dánsko. V niektorých prípadoch boli výsledky typizácie porovnávané v Národnej referenčnej laboratórii pro streptokoky a enterokoky, CEM, SZÚ Praha (J. Motlová), ktorá bola „referenčným“ pracoviskom i pre túto štúdiu.

Klinické údaje

Klinický protokol štúdie poskytnutý každému pracovisku odkiaľ pochádzal zaslaný kmeň pneumokokov, bol prostriedkom k získaniu demografických, anamnestických údajov, epikriz, rizikových faktorov, výsledkov všetkých vyšetrení vrátane laboratórnych, údajov o komplexnej terapii vrátane antibiotickej u konkrétneho pacienta. Protokol poskytovali ošetrojúci lekári alebo i klinickí mikrobiológovia s úzkou väzbou na svoje klinické pracoviská.

Výsledky

Centrálna laboratórium štúdie (Oddelenie klinickej mikrobiológie Národného onkologického ústavu v Bratislave) získalo v rokoch 1996–1999 z 33 pracovísk klinickej mikrobiológie 153 kmeňov *Streptococcus pneumoniae*, ktoré reprezentovali invazívne pneumokokové ochorenia. Základné charakteristiky týchto kmeňov – geografický pôvod, druh ochorenia, pôvod izolácie a vek pacientov – sú prezentované v tabuľke 1. Systémové pneumokokové ochorenie v tomto súbore sa vyskytlo u 108 mužov (71 %) a 45 žien (29 %). V jednotlivých oblastiach Slovenska – západoslovenskej, stredoslovenskej a východoslovenskej (bývalé členenie na kraje) – boli izolované približne rovnaké počty kmeňov (38–52), v Bratislave 17 kmeňov. Tabuľka 2 zaznamenáva výsledky vyšetrenia citlivosti celého súboru invazívnych kmeňov (153) na penicilín a ceftriaxon, hodnoty MIC 50 a MIC 90 a percentuálne zastúpenie testovaných kmeňov v kategóriách citlivý, intermediárny a rezistentný s vysokým podielom kme-

ňov necitlivých na obidve testované antibiotiká – 34 % kmeňov intermediárnych a rezistentných na penicilín a 30,7 % na ceftriaxon. Rozdiely v citlivosti kmeňov *S. pneumoniae*, ktoré boli izolované u rôznych systémových ochorení sú uvedené v tabuľke 3. Výrazne vyššia rezistencia na penicilín bola zaznamenaná u kmeňov, ktoré boli izolované z hemokultúr alebo punktátov od pacientov s pneumóniou (42,9 %), oproti kmeňom u meningitíd (30,7 %) alebo septikémií (21,4 %). Percentuálny podiel citlivých, intermediárnych a rezistentných kmeňov na penicilín vo vekových skupinách ukazuje tabuľka 4 s výrazným podielom intermediárnych a rezistentných kmeňov u detí do 5 rokov (52,8 %) oproti iným vekovým skupinám. Výskyt plne rezistentného kmeňa *S. pneumoniae* na penicilín sme v priebehu štúdie nezaznamenali u pacientov nad 65 rokov.

153 invazívnych kmeňov *Streptococcus pneumoniae* bolo typizovaných a distribúciu sérotypov spolu so zastúpením jednotlivých sérotypov u citlivých, intermediárnych a rezistentných kmeňov na penicilín ukazuje tabuľka 5. S výnimkou 1 kmeňa, ktorého sérotyp nebol určený, všetky ostatné kmene rezistentné na penicilín patrili k sérotypom 19A, 23F, 14 a 9V s výraznou prevahou sérotypu 19A v priebehu štúdie. Nakoľko aplikácii typovo špecifickej vakcíny sa pripisuje mimoriadny význam v prevencii pneumokokových infekcií, v grafe 1 je poukázané na zastúpenie celého súboru kmeňov *S. pneumoniae* v súčasne dostupných alebo dokončovaných vakcínach. Na rozdiely v distribúcii sérotypov *S. pneumoniae* v dvoch rizikových skupinách a to u detí do 5 rokov a u pacientov nad 65 rokov upozorňuje tabuľka 6. V absolútnych číslach informuje tiež o zastúpení týchto sé-

Tabuľka 2
Minimálne inhibičné koncentrácie (MIC) penicilínu a ceftriaxonu u 153 invazívnych kmeňov pneumokokov

Antibiotikum	Rozmedzie MIC mg/l	MIC50 mg/l	MIC90 mg/l	Zastúpenie kmeňov v n / %		
				citlivé	intermediárne	rezistentné
penicilín	0,004–16	0,03	2	101 / 66	32 / 20,9	20 / 13,1
ceftriaxon	0,004–4	0,03	1	106 / 69,3	33 / 21,6	14 / 9,1

Vysvetlivky:
Hraničné koncentrácie pre penicilín: citlivý ≤ 0,064, intermediárny 0,125–1, rezistentný ≥ 2
pre ceftriaxon: citlivý ≤ 0,25, intermediárny 0,5, rezistentný ≥ 2

MIC50 / MIC90 - Koncentrácia inhibujúca 50 % resp. 90 % kmeňov

Tabuľka 3
Zastúpenie penicilín citlivých, intermediárnych a rezistentných kmeňov *Streptococcus pneumoniae* u meningitíd, septikémií a pneumonií

Diagnóza	n	Zastúpenie kmeňov v n / %		
		citlivé	intermediárne	rezistentné
meningitis	43	30 / 69,7	10 / 23,3	3 / 7,0
septikémia	42	33 / 78,6	7 / 16,7	2 / 4,7
pneumónia	35	20 / 57,1	7 / 20,0	8 / 22,9
ostatné	33	19 / 56,3	9 / 28,7	5 / 15,0

Tabuľka 4
Prehľad citlivosti invazívnych pneumokokov na penicilín podľa veku

Vek v rokoch (n)	citlivé n / %	Zastúpenie kmeňov	
		intermediárne n / %	rezistentné n / %
≤ 5 (36)	17 / 47,2	11 / 30,6	8 / 22,2
6–44 (9)	36 / 73,5	5 / 10,2	8 / 16,3
45–64 (41)	25 / 60,9	12 / 29,3	4 / 9,8
≥ 65 (27)	23 / 85,2	4 / 14,8	0

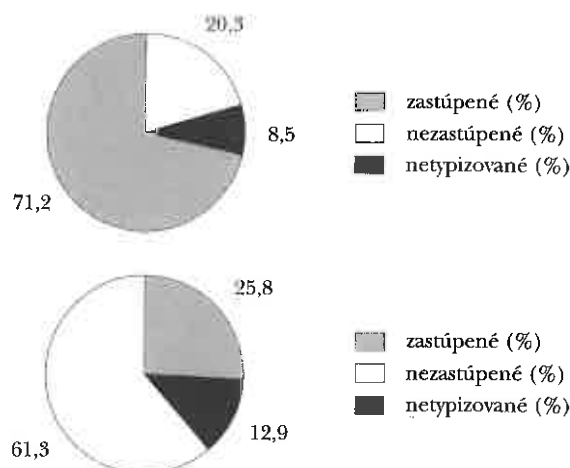
Tabulka 5
Distribúcia sérotypov 153 invazívnych
kmeňov *Streptococcus pneumoniae*

Sérotyp	Počet kmeňov	Sérotypy podľa citlivosti kmeňov na penicilín		
		citlivé	intermediárne	rezistentné
19A	18	3	3	12
23F	14	7	4	3
14	13	8	2	3
9V	6	2	3	1
6A	8	3	5	
9A	6	3	3	
19F	8	7	1	
9N	7	6	1	
15A	5	4	1	
8	7	7		
20	5	5		
1	4	4		
12F	4	4		
18C	4	4		
Iné sérotypy	31	25	5	1
Netypizovateľné	13	9	4	
Σ	153	101	32	20
%	100,0	66,0	20,9	13,1

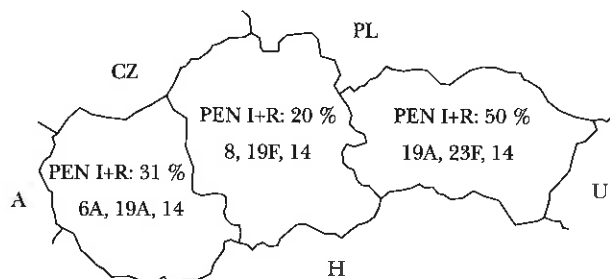
rotypov v konjugovaných vakcínach u detí do 5 rokov a v 23-valentnej polysacharidovej vakcíne u pacientov nad 65 rokov. Na isté rozdiely v distribúcii rezistentných kmeňov a sérotypov v jednotlivých oblastiach Slovenska upozorňuje graf 2 s výrazne vyšším zastúpením intermediárnych a rezistentných kmeňov na penicilín vo východoslovenskom regióne (50 %) oproti západoslovenskému (31 %) a stredoslovenskému regiónu (20 %). Týmto údajom zodpovedá i prevaha sérotypov 19A, 23F a 14 vo východoslovenskej oblasti.

V priebehu štúdie bolo pre ďalšiu analýzu poskytnutých 74 klinických protokolov pacientov s invazívnym pneumokokovým ochorením. Tabulka 7 sumarizuje demografické a klinické charakteristiky pacientov. Pearsonov test nezávislosti ako štatisticky významné rizikové faktory určil vek do 5 rokov ($p < 0.037$), primár-

Graf 1
Zastúpenie invazívnych sérotypov
Streptococcus pneumoniae
v typovošpecifických vakcínach



Graf 2
Zastúpenie penicilín necitlivých invazívnych
Streptococcus pneumoniae (PEN I+R) a najčastejších sérotypov
v oblastiach SR



ne vírusové ochorenie ($p < 0.017$) a predchádzajúcu antibiotickú terapiu ($p < 0.024$).

Diskusia

Výsledky štúdie predstavujú viacročné úsilie skupiny mikrobiológov a klinikov SR, čiastočne podporené v posledných troch rokoch

Tabulka 6
Prehľad invazívnych sérotypov *Streptococcus pneumoniae* v rizikových skupinách a typovošpecifických vakcínach

Vek	Počet	Sérotypy (n)														
		14	19A	6A	15A	9A	9N	19F	20	12F	15B	18	23F	NT		
≤ 5 r.	36															
	n	6	6	5	3	2	2	2	2	1	1	1	1	4		
Zastúpenie v konjugovaných vakcínach		+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-		
> 65 r.	27															
	n	3	3	3	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1
Zastúpenie v 23-valentnej polysacharidovej vakcíne		+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-

grantom Komisie pre lekárske vedy MZ, zamerané na mikrobiologické a klinické aspekty invazívnych pneumokokových ochorení. Štúdia je pokračovaním predchádzajúcich analýz tejto problematiky [6,7,8,13] v Slovenskej republike. Výsledky v časti vyšetrenia citlivosti ukazujú na nepriaznivý stav vysokej frekvencie rezistencie pneumokokov na penicilín v Slovenskej republike, ktorý v prípade invazívnych – systémových pneumokokových infekcií charakterizovaných izoláciou kmeňa z fyziologicky sterilných vzoriek (krv, likvor, punktát a pod.) potvrdzujú signály a výsledky predchádzajúcich štúdií. V súbore 153 invazívnych kmeňov pneumokokov bola zaznamenaná necitlivosť k penicilínu u 36 % kmeňov, z toho u 13,1 % vo vysokom stupni ($MIC \geq 2$ mg/l). Z výsledkov vyplýva, že rezistencia na penicilín je prakticky združená s rezistenciou na cefalosporíny III. generácie (36/30,7 %). Rezistencia pneumokokov na penicilín je výsledkom alterácie proteínov viažucich penicilín bakteriálnej bunky, ktoré sú tiež cieľovou štruktúrou väzby iných aminopenicilínových, cefalosporínových a karbapenemových antibiotík a z týchto dôvodov u penicilín necitlivých pneumokokov je zaznamenaná znížená účinnosť antibiotík uvedených skupín (Alex. Project). Rezistencia pneumokokov na makrolidové antibiotiká sa zvyšuje na celom svete a v mnohých krajinách je rezistencia pneumokokov na makrolidové antibiotiká vyššia ako na penicilín [9]. Spojitosť zvyšujúcej sa rezistencie ako na penicilín tak makrolidy prináša úvahy o možnom vplyve zvyšujúcej sa spotreby makrolidov na vývoj rezistencie na penicilín [15]. Vo všeobecnosti je však rezistencia pneumokokov na nebetalaktamové antibiotiká spojená s rezistenciou na penicilín. V súčasnosti za základ pre voľbu iniciálnej antibiotickej terapie pneumokokovej infekcie či už v komunite alebo u hospitalizovaného pacienta je pokladaná znalosť lokálnej alebo regionálnej prevalencie rezistencie pneumokokov na antibiotiká, ktorá je podkladom pre doporučenia iniciálnej terapie na lokálnej alebo regionálnej úrovni. Sme toho názoru, že táto činnosť ústrednej a krajských komisií pre racionálnu antiinfekčnú terapiu a pracovísk klinickej mikrobiológie by vo svetle prezentovaných výsledkov mala mať vysokú prioritu. Pre systémové pneumokokové infekcie, ktoré predstavuje pneumokoková meningitída, v situácii vysokej frekvencie rezistentných pneumokokov – a táto štúdia to presvedčivo dokumentuje – je nutné neodkladne rešpektovať pre iniciálnu terapiu aplikáciu kombinácie cefalosporínu III. generácie napr. cefotaximu s vankomycínom v doporučených dávkach pre dospelých: 300–400 mg cefotaximu/kg/deň, max. denná dávka 24 g/deň + vankomycín v dávke 30 mg/

kg/deň. Je potrebné rešpektovať, že dávka vankomycínu pre dospelých nemusí zabezpečiť dosiahnutie potrebných koncentrácií v likvore a z týchto dôvodov dávky vankomycínu pre deti dosahujú až 60 mg/kg/deň [19]. Po kompletnej bakteriologickej diagnóze a štandardnom vyšetrení citlivosti (MIC) sa iniciálny terapeutický režim upravuje. Avšak zásadnou úlohou tejto generácie praktických lekárov a klinikov, klinických mikrobiológov a užívateľov antibiotík v nezdorotníckych indikáciách v Slo-

venskej republike je uplatniť také strategické prvky v antibiotickej politike, ktoré povedú k zníženiu selekčného tlaku antibiotík, spomalia vývoj rezistencie na antibiotiká [16,17] a môžu v konečnom dôsledku nepriaznivý stav rezistencie hlavných bakteriálnych patogénov zlepšiť.

Štúdia nadväzuje na pionierske práce v oblasti distribúcie sérotypov pneumokokov na Slovensku [3,4,5] a analyzuje invazívne kmene pneumokokov v období 1996–1999. Distribúcia sérotypov *S. pneu-*

Tabuľka 7
Klinická a epidemiologická charakteristika 74 pacientov s pneumokokovou infekciou v závislosti na citlivosti izolovaných pneumokokov

Charakteristika	Počet (n / %) charakteristík a typu kmeňa		
	PCP n = 47 n / %	PRP n = 27 n / %	Spolu n = 74 n / %
Vek			
0-5	7 / 9	12 / 16	19 / 26
6-44	14 / 19	7 / 9	21 / 28
45-64	16 / 22	5 / 7	21 / 28
viac ako 65	10 / 14	3 / 4	13 / 18
Pohlavie			
muži	36 / 49	17 / 23	53 / 72
ženy	11 / 15	10 / 13	21 / 28
Hospitalizácia			
bežné oddelenie	31 / 42	18 / 24	49 / 66
ARO; JIS	16 / 22	9 / 12	25 / 34
Závažnosť infekcie			
ľahký a mierny priebeh	18 / 24	7 / 10	25 / 34
ťažký priebeh	29 / 39	20 / 27	49 / 66
Rizikové faktory			
primárne vírusové ochorenie	3 / 4	/ 9	10 / 13
chronická obštrukčná choroba pľúc	2 / 3	2 / 3	4 / 6
imunosupresia	6 / 8	7 / 9	13 / 17
cirhóza pečene	6 / 8	0 / 0	6 / 8
diabetes	5 / 7	4 / 6	9 / 13
iné	21 / 28	11 / 15	32 / 43
Ďalšie faktory			
hospitalizácia predchádzajúca 3 mes.	12 / 16	12 / 16	24 / 32
ATB liečba predchádzajúcich 12 mes.	16 / 22	18 / 24	34 / 46
liečba viac ako 2 ATB	7 / 10	9 / 12	16 / 22
Získanie infekcie			
nozokomiálna	7 / 10	6 / 8	13 / 18
získaná v komunite	40 / 54	21 / 28	61 / 82
Výsledok liečby			
vyliečenie	34 / 46	17 / 23	51 / 69
exitus	13 / 18	10 / 13	23 / 31
Počet ATB použitých na liečbu pneumokokovej infekcie u 1 pacienta			
	2,6 ATB	2,6 ATB	
Dĺžka hospitalizácie 1 pacienta			
	18,9 dní	27,9 dní	

Vysvetlivky: PCP - penicilín citlivé pneumokoky, PRP - penicilín rezistentné pneumokoky (I + R)

moniae má geografické, etnické, vekové a iné špecifiká napr. časové premeny distribúcie sérotypov. V súvislosti s globálne narastajúcou rezistenciou pneumokokov na antibiotiká je použitie typovo špecifických pneumokokových vakcín významným prostriedkom ich prevencie a je i v popredí úsilia Svetovej zdravotníckej organizácie [18]. Štúdie distribúcie sérotypov v jednotlivých krajinách sú základným predpokladom projektovania vakcinačných programov. V štúdiu zisťujeme značný počet sérotypov u invazívnych kmeňov pneumokokov, ktoré takmer vylučujú možnosť epidemického významu niektorého z nich. Pozoruhodné sa však spektrum sérotypov zužuje v závislosti na citlivosti analyzovaných kmeňov na penicilín (tabuľka 5). Vysokorezistentné kmene patria do relatívne málopočetnej skupiny sérotypov 19A, 23F, 14 a 9V. Protektívny význam protitíl proti pneumokokovým ochoreniam je všeobecne známy a ich veľmi nízke cirkulujúce koncentrácie u detí od narodenia do 2 rokov zodpovedajú vysokému riziku pneumokokovej infekčnej komplikácie v tejto vekovej skupine. 23-valenčná polysacharidová pneumokoková vakcína je dostupná od r. 1983, ale je neúčinná práve pri detskej, rizikovej populácii. Alarmujúci globálny nárast rezistencie *S. pneumoniae* si vyžiadala vývoj vakcín efektívnych i pri detskej populácii, u ktorej najmä skúsenosti s aplikáciou konjugovanej Hib vakcíny (*Haemophilus influenzae* typ b) boli presvedčivé a v prípade plošnej vakcinácie viedli k eradikácii invazívnych hemofilových infekcií (meningitída, epiglottitída). Z týchto dôvodov práve „konjugačná“ technológia otvára možnosť účinnej prevencie invazívnych pneumokokových infekcií v detskej populácii. Náročnosť prípravy konjugovaných vakcín zvyrazňuje existencia viac ako 90 sérotypov *S. pneumoniae* a limitovaný počet možných väzieb na bielkovinový nosič (valencia). V súčasnosti je dokončované overovanie a účinnosť 7, 9 a 11 valenčných konjugovaných vakcín a zastúpenie invazívnych sérotypov *S. pneumoniae* u detí s invazívnym pneumokokovým ochorením v týchto vakcínach. Na základe našich výsledkov sa súčasné konjugované vakcíny z hľadiska typového zloženia nejavia pre prevenciu invazívnych pneumokokových ochorení optimálne keďže obsahujú len 4 z 13 (30 %) sérotypov invazívnych pneumokokových ochorení v rokoch 1996–1999 v tejto štúdiu. Nepostihujú najmä serotyp 19A, ktorý zaznamenávame v značnej frekvencii pri invazívnych pneumokokových infekciách, ale i ako príčinu zápalov stredného ucha u detí do 5 rokov.

Porovnanie výskytu najčastejších sérotypov invazívnych pneumokokových ochorení v Slovenskej republike (153 kmeňov) a v Českej republike (321 kmeňov) vykazuje významné rozdiely [14]. Zatiaľ čo vo frekvencii viac ako 5 % celkovo typizovaných kmeňov sú v ČR reprezentované sérotypy nasledujúceho poradia: 3, 1, 14, 7F, 9V, v SR sú najčastejšie sérotypy: 19A, 23F, 14, 19F, 6A. Tieto výsledky ukazujú odlišnú epidemiológiu rezistencie a jej vývoj v týchto republikách, keďže s výnimkou sérotypu 14 sa rezistentné sérotypy v ČR vyskytujú v nízkej frekvencii.

Predbežná analýza kompletných klinických protokolov 74 pacientov ukazuje na niektoré významné súvislosti. Invazívne pneumokokové ochorenia boli v sledovanom období významne častejšie u osôb mužského pohlavia (71,6 %) ako u žien (28,4 %). Ochorenia vyvolané kmeňmi necitlivými na penicilín mali u 20 pacientov z 27 ťažký priebeh. Významnými rizikovými faktormi pneumokokovej infekcie, ktorú vyvolali rezistentné kmene, boli primárne vírusové ochorenia, imunosupresie a antibiotická terapia v predchádzajúcich 12 mesiacoch. Významným rizikovým faktorom rezistentnej pneumokokovej invazívnej infekcie môže byť i jej možný nozokomiálny pôvod, ako ukazujú skúsenosti z tejto štúdie. Hibšia analýza klinických protokolov bude predmetom samostatnej prezentácie.

Záver

Výsledky štúdie poukazujú na značný výskyt pneumokokov necitlivých na penicilín a cefalosporíny III. generácie, ktoré boli izolované v spojitosti s invazívnym ochorením. Možnou príčinou tejto skutočnosti je nielen klonálne šírenie kmeňov vysoko rezistentných (serotyp 14, 19A), ale najmä selekčný tlak niektorých skupín antibiotík často používaných v lekárskej praxi, chyby v ich indikácii, opakované podávanie subinhibičných dávok. Výsledky štúdie poukazujú na potrebu prehodnotiť súčasné prístupy k iniciálnej antibiotickej terapii invazívnych pneumokokových ochorení v Slovenskej republike a sú istým východiskom pre voľbu stratégie prevencie, ktorá by spolu so znížením selekčného tlaku antibiotík najmä na detskú populáciu mohla znížiť riziká spojené s rezistentnou pneumokokovou infekciou v budúcnosti.

Práca bola v rokoch 1997–1999 čiastočne podporená grantom Komisie pre lekárske vedy MZ Slovenskej republiky.

Literatúra

- Hupková H., Trupl J.: Pneumokoky rezistentné na penicilín – celosvetový problém. LEK OBZ 1996;3:67–70.
- Moravčík P., Čechová A., Galanda V., Marčeková D., et al.: Izolácia multirezistentných pneumokokov z klinického materiálu. Bratislava. lek. Listy 1983; 2: 176–183.
- Reichler MR., Rakovský J., Sobotová A., Sláčíková M., et al.: Multiple antimicrobial resistance of pneumococci in children with otitis media, bacteremia and meningitis in Slovakia. J Infect Dis 1995; 171: 1491–1496.
- Reichler MR., Rakovský J., Sláčíková M., Hlaváčová B., et al.: Spread of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* among hospitalized children in Slovakia. J Infect Dis 1996; 173: 374–379.
- SA Figueiredo A.M., Austrian R., Urbášková P., Teixeira L.A., et al.: Novel penicillin-resistant clones of *Streptococcus pneumoniae* in the Czech Republic and Slovakia. Microb Drug Resist 1995; 1: 71–78.
- Trupl J., Hupková H., Appelbaum P.C., Jacobs M.R.: The incidence of penicillin-resistant pneumococci in the Slovak Republic. Chemotherapy 1997; 43:316–322.
- Hupková H., Trupl J.: In vitro susceptibility of 90 penicillin-susceptible and -resistant pneumococci to penicillin G, amoxicillin, amoxicillin/clavulanate, cefaclor, cefuroxime, cefpodoxime, cefixime and imipenem. Folia Microbiol 1998; 1:68–70.
- Appelbaum P.C., Gladkova C., Hryniewicz W., Kojouharov B., Kotulova D., et al.: Carriage of antibiotic resistant *Streptococcus pneumoniae* by children in eastern and central Europe. A multicenter study with use of standard methods. Clin Infect Dis; 1996, 4: 712–717.
- Felmington D., Washington J. and The Alexander Project Group: Trends in the antimicrobial susceptibility of bacterial respiratory tract pathogens – findings of the Alexander Project 1992–1996. J Chemother 1999;1:5–21.
- Urbášková P. a pracovní skupina pro monitorování rezistence bakteriálních respiračních patogenů: Trendy rezistence izolátů *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* a *Streptococcus pyogenes* z dýchacích cest v České republice v průběhu tří let (1996–1998). Klin mikrobiol inf lek 1999;9-10:311–318.
- Jacobs M.R.: Treatment and diagnosis of infections caused by drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. Clin Infect Dis 1992; 15:119–127.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 2nd ed. Approved standard. Document M7-A2. Villanova. Pa:NCCLS.1990
- Hupková H., Trupl J., Bálint O., Stankovič L., et al.: Rezistencia pneumokokov na antibiotiká v Slovenskej republike v rokoch 1993–1998. Klin mikrobiol inf lek 1999; 2-3:55–59.
- Motlová J.: Distribúcie sérotypu *Streptococcus pneumoniae* v České republice, duben 1995–prosinec 1998. Podklady pro použití typově specifické vakcíny. Klin mikrobiol inf lek 1999;2-3:60–64.
- Baquero F.: Evolving resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae*: a link with long-acting macrolide consumption? J Chemoter 1999;11:35–43.
- Baquero F., Negri M.C.: Strategies to minimize the development of antibiotic resistance. J Chemoter 1997;Suppl.3:29–37.
- Levy S.B.: Confronting multidrug resistance: a role for each of us. JAMA 1993;269:1840–1842.
- World Health Organization: Program for the control of acute respiratory infection. Pneumococcal conjugate vaccines. Report of a meeting. Geneva, Switzerland 15–17 November, 1993;WHO 93.34.
- Pallares R., Capdevila O., Grau I.: Treatment options for resistant pneumococcal infections. Clin Microbiol Infect 1999;5: 4S3–4S11.

- 9 Autran B, Carcelain G, Li TS, et al. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science* 1997;277:112–116
- 10 Lederman MM, Connick E, Landay A, et al. Immunologic responses associated with 12 weeks of combination antiretroviral therapy consisting of zidovudine, lamivudine, and zalcitabine: results of AIDS Clinical Trial Group Protocol 315. *J Infect Dis* 1998;178:70–79
- 11 Pakker NG, Notermans DW, de Boer RJ, et al. Biphasic kinetics of peripheral blood T cells after triple combination therapy in HIV-1 infection: a composite of redistribution and proliferation. *Nat Med* 1998;4:208–214
- 12 Andersson J, Fehniger TE, Patterson BK, et al. Early reduction of immune activation in lymphoid tissue following highly active HIV therapy. *AIDS* 1998;12:F123–F129
- 13 Bucy RP, Hockett RD, Derdeyn CA, et al. Initial increase in blood CD4(+) lymphocytes after HIV antiretroviral therapy reflects redistribution from lymphoid tissues. *J Clin Invest* 1999;103:1391–1398
- 14 Pantaleo G. HIV replication and T cell turnover # PL 1.2 4th International Congress on Drug Therapy in HIV Infection, Glasgow, UK, 8–12 November 1998
- 15 Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, Leonard JM, Ho DD. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 1996;271:1582–1586
- 16 Hockett RD, Kilby JM, Derdeyn CA, et al. Constant mean viral copy number per infected cell in tissues regardless of high, low, or undetectable plasma HIV RNA. *J Exp Med* 1999;189:1545–1559
- 17 Bucy RP. Immune clearance of HIV-1 replication active cells: a model of two patterns of steady state HIV infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1999;15:223–227
- 18 Hellerstein M, Hanley MB, Cesar D, et al. Directly measured kinetics of circulating T lymphocytes in normal and HIV-1-infected humans. *Nat Med* 1999;5:83–89
- 19 Saag MS. Limitations of antiretroviral therapy in HIV. Satellite symposium „Role of Immunotherapy in the Treatment of HIV“ of 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, USA, September 26, 1999
- 20 Cooper DA. Immunological effects of antiretroviral therapy. *Antiviral Therapy* 1998;3(Suppl 4):19–23
- 21 Gotch FM, Imami N, Hardy GA, et al. The effects of antiviral therapy on the immune system #PL 2.3 4th International Congress on Drug Therapy in HIV Infection, Glasgow, UK, 8–12 November 1998
- 22 Autran B, Carcelain C, Renaud M et al. Immune reconstitution with highly active antiretroviral therapy #PL 2.2 4th International Congress on Drug Therapy in HIV Infection, Glasgow, UK, 8–12 November 1998
- 23 Enting RH, Hoetelmans RM, Lange JM, Burger DM, Beijnen JH, Portegies P. Antiretroviral drugs and the central nervous system. *AIDS* 1998;12:1941–1955
- 24 Kim RB, Fromm MF, Wandel C, et al. The drug transporter P-glycoprotein limits oral absorption and brain entry of HIV-1 protease inhibitors. *J Clin Invest* 1998;101:289–294
- 25 Moyle GJ. Viral resistance patterns selected by antiretroviral drugs and their potential to guide treatment choice. *Expert Opin Invest Drugs* 1997;6:943–964
- 26 Hirsch MS, Conway B, D'Aquila RT, et al. Antiretroviral drug resistance testing in HIV infection of adults: implications for clinical management. *JAMA* 1998;279:1984–1991
- 27 Thompson MA. Long-term complications of current antiretroviral therapies. *HIV/AIDS Current Trends* 1999;5:8–10
- 28 Cooper D. Long-term safety in long-term therapy. A satellite Symposium of the 4th International Congress on drug Therapy in HIV Infection „HIV management: sustaining success“, Glasgow, UK, November 8, 1998
- 29 Carr A, Samarasinghe K, Chisholm DJ, Cooper DA. Pathogenesis of HIV-1-protease inhibitor-associated peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia, and insulin resistance. *Lancet* 1998;351:1881–1883
- 30 Lo JC, Mulligan K, Tai VW, Algren H, Schambelan M. „Buffalo hump“ in men with HIV-1 infection. *Lancet* 1998;351:867–870
- 31 Hengel RL, Watts NB, Lennox JL. Benign symmetric lipomatosis associated with protease inhibitors. *Lancet* 1997;350:1596
- 32 Henry I, Bernard L, deTruchis P, Perronne C. Hypertrophy of the breasts in a patient treated with indinavir. *Clin Infect Dis* 1997;25:937–938
- 33 Miller KD, Jones E, Yanovski JA, Shankar R, Feuerstein I, Falloon J. Visceral abdominal fat accumulation associated with the use of indinavir. *Lancet* 1998;351:871–875
- 34 Dube M, Johnson D, Currier J, et al. Protease inhibitor-associated hyperglycemia. *Lancet* 1997;350:713–714
- 35 Eastone J, Decker C. New-onset diabetes mellitus associated with use of protease inhibitor. *Ann Intern Med* 1997;127:948
- 36 Visnegarwala F, Krause F, Musher D. Severe diabetes associated with protease inhibitor therapy. *Ann Intern Med* 1997;127:947
- 37 Boubaker K, Sudre P, Bally F, et al. Changes in renal function associated with indinavir. *AIDS* 1998;12:F249–F254
- 38 Antony SJ. Rapid development of indinavir-induced asymptomatic crystalluria in a human immunodeficiency virus-negative patient. *Clin Infect Dis* 1998;27:911–912
- 39 Office of Public Health and Science, Department of Health and Human Services. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-infected adults. *Federal Register* 1997;62:33417–8
- 40 Olivero OA, Anderson LM, Diwan BA, et al. Transplacental effects of 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine (AZT): tumorigenicity in mice and genotoxicity in mice and monkeys. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:1602–1608
- 41 Ayers KM, Torrey CE, Reynolds DJ. A transplacental carcinogenicity bioassay in CD-1 mice with zidovudine. *Fundam Appl Toxicol* 1997;38:195–198
- 42 Culnane M, Fowler MG, Lee S, et al. Evaluation for late effects of in utero (IU) ZDV exposure among uninfected infants born to HIV+ women enrolled in ACTG 076 & 219 (Abstract). *Clin Infect Dis* 1997;25
- 43 Hanson C, Cooper E, Antonelli T, et al. Lack of tumors in infants with perinatal HIV exposure and fetal/neonatal exposure to zidovudine (AZT). National Conference on Women and HIV, May 1997
- 44 Guay LA, Musoke P, Fleming T, et al. Intrapartum and neonatal single-dose nevirapine compared with zidovudine for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 in Kampala, Uganda: HIVNET 012 randomised trial. *Lancet* 1999;354:795–802
- 45 Johnson MA, Goodwin C, Yuen GJ, et al. The pharmacokinetics of 3TC administered to HIV-1 infected women (pre-partum, during labour and post-partum) and their offspring. Vol 1. XI International Conference on AIDS, Vancouver, British Columbia, Canada, July 7–12, 1996:249–50. Abstract Tu.C. 445
- 46 Moodley J, Moodley D, Pillay K, et al. Antiviral effect of lamivudine alone and in combination with zidovudine in HIV-infected pregnant women. In: Program and abstracts of the IV Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; January 22–26, 1997; Washington, DC. Abstract #607
- 47 Qian M, Bui T, Ho RJY, Unadkat JD. Metabolism of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) in human placental trophoblasts and Hofbauer cells. *Biochem Pharmacol* 1994;48:383–389
- 48 Dancis J, Lee JD, Mendoza S, Liebes L. Transfer and metabolism of dideoxyinosine by the perfused human placenta. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovir* 1993;6:2–6
- 49 Sandberg JA, Binienda Z, Lipe G, Slikker Jr W. Placental transfer and fetal disposition of dideoxycytidine (ddC) and dideoxyinosine (ddI) (Abstract). *Toxicologist* 1994;14:434
- 50 Frenkel LM. Therapeutic issues pertaining to HIV-1-infected pregnant woman in developed countries. Abstract #619 (session 56.1.L). 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, USA, September 26–29, 1999
- 51 Ickovics JR, Meisler A. Adherence and retention in AIDS clinical trials: a framework for research and application. *J Clin Epidemiol* 1997;50:385–391
- 52 Hecht FM, Colfax G, Swanson M, Chesney M. Adherence and effectiveness of protease inhibitors in clinical practice. 5th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Chicago, February 1998
- 53 Aitche FL, Friedland GH. The era of adherence to HIV therapy. *Ann Intern Med* 1998;4:32–35
- 54 Ickovics JR. Adherence to antiretroviral therapy among persons with HIV/AIDS: Breakthroughs and barriers. *Infectious Disease Special Edition* 1999;2:53–55
- 55 SC Kalichman, Ramachandran B, Catz S. Adherence to combination antiretroviral therapies in HIV patients of low health literacy. *J Genit Intern Med* 1999;14:267–273
- 56 Petersen A, Johnson M. Long term comparison of BID and TID dosing VIRACEPT (nelfinavir) in combination with Stavudine (d4T) and Lamivudine (3TC) in HIV patients. 12th World AIDS Conference, Geneva, Jun 28–Jul 3, 1998, abstract #12224
- 57 Clark R, Currier JS, Greiger P, et al. Efficacy and safety of BID and TID regimens of nelfinavir (NFV) + saquinavir (SQV) + stavudine (d4T) + lamivudine (3TC) in HIV-infected women: 48-week results of the women's first study. 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, USA, Sept 26–29, 1999, abstr. #1988
- 58 Havir DV, Riddler S, Squires K, et al. Co-administration of indinavir (IDV) and nelfinavir (NFV) in a twice daily regimen: preliminary safety, pharmacokinetic and antiviral activity results. 5th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Chicago, Feb 1–5, 1998, abstr. #388
- 59 McOwan A. Abacavir. *HIV/AIDS Current Trends* 1999;5:6–8
- 60 Trout H, Rouselle-Koch B, Crivat M, Dohin M, Dohin E, Leverage R. Zalcitabine twice daily: a myth or a reality? Toward a pharmacokinetic rationale. Sixth European Conference on Clinical Aspects and Treatment of HIV Infection, Hamburg, Oct 11–15, 1997; abstract #451
- 61 Moyle G, Gill J, Nelson M. Use of zalcitabine in twice daily dosing regimens. 38th ICAAC, San Diego Sept 24–27, 1998; abstract #1-208
- 62 Sedláček D, Bárta R. Contribution to increasing of adherence to antiretroviral treatment. 7th European Conference on Clinical Aspects and Treatment of HIV Infection, Lisbon, Portugal, Oct 23–27, 1999, abstr. #1102
- 63 Youle M. Didanosine once daily: an overview. *Antiviral Therapy* 1998;3(Suppl 4):35–37
- 64 Suchopár J. Protivirová léčiva. In: Suchopár J. (Ed.): *Remedia Compendium*. 3rd ed. Panax, Praha 1999, 320–328
- 65 Staňková M. HAART. Seminář „Nové trendy v diagnostice a léčbě HIV/AIDS“, Lékařský dům, Praha 6.4. 1999
- 66 Lori F, Lisiewicz J. Hydroxyurea: Mechanisms of HIV-1 inhibition. *Antiviral Therapy* 1998;3(Suppl 4):25–33
- 67 Lange JMA. Strategies for rescue therapy. *Antiviral Therapy* 1998;3(Suppl 4):75–77