

Virové infekce genitálu

Tachezy, R. *, Hamšíková, E. *, Roubalová, K. +, Suchánková, A. +

* Ústav hematologie a krevní transfuze, Oddělení experimentální virologie, NRL pro papillomaviry, U nemocnice 1, 128 44 Praha 2

+ Státní zdravotní ústav, NRL pro herpetické viry, Šrobárova 48, 100 42 Praha 10

Molluscum contagiosum (MC)

Úvod

MC je kožní onemocnění, které od roku 1980 nabývá na významu jako oportunní onemocnění vyskytující se u pacientů infikovaných virem získaného imunodeficitu (HIV). Taxonomicky se molluscum contagiosum virus (MCV) řadí do čeledi *Poxviridae*, podčeledi *Chordopoxvirinae* a je jediným zástupcem nově vzniklého rodu *Molluscipoxvirus*. Po eradikaci pravých neštovic (variola virus (VAR)) je MCV jediným zástupcem z čeledi *Poxviridae*, který vyvolává onemocnění u lidí (1).

Virologie

Velikost MCV je přibližně 100x200x300 nm a jeho genom je tvořen lineární dvouřetězcovou molekulou DNA o délce 196-200 kbp (MCV I subtyp 190 kbp). MCV si nese veškerou genetickou informaci, aby se mohl nezávisle replikovat v cytoplasmě hostitelské buňky. Genom viru nese informaci pro 150-200 genů (MCV I subtyp 163 genů) (2). Pomocí molekulárně-biologických metod byly identifikovány 4 subtypy MCV I, II, III a IV. Jednotlivé subtypy vykazují na nukleotidové úrovni značnou podobnost, ale jejich restriční mapy jsou velmi odlišné (1,3).

Epidemiologie

MCV je rozšířený po celém světě. Velmi častý je jeho výskyt na ostrově Fiji, Papua Nová Guinea a v Zaire (4,5). V těchto oblastech jsou nejčastěji infikované děti do 5ti let věku a prevalence může dosahovat až 25%. Průzkum záznamů praktických lékařů v Holandsku ukázal kumulativní incidenci 17% MC u dětí do 15 let věku (6). U dětí se předpokládá přenos přímým dotykem nebo stykem s kontaminovanými předměty. Léze se často vyskytují u atopických dětí v místech dermatitidy.

Druhou skupinou nejčastěji infikovanou MCV jsou mladí lidé, u nichž je MCV považováno za sexuálně přenosné onemocnění. Jak ukazují studie, výskyt genitálního MC se v posledních 10ti letech zvyšuje. Studie v USA ukázala desetinásobný vzestup genitálních MC v letech 1966-83 (7), v UK zaznamenali v letech 1971-85 vzestup čtyřnásobný (8). Celosvětová incidence genitálního MC se odhaduje na 2 –8 % (9). V roce 1995 bylo na Novém Zélandu 0,7% pacientů STD klinik diagnostikovaných s MC (10). Genitální molluscum contagiosum může být markerem závažnějšího sexuálně-přenosného onemocnění a také infekce HIV. Jedna studie ukázala, že až 30% pacientů s lézemi MC má další sexuálně-přenosné onemocnění (11). U pacientů s AIDS a symptomatickou HIV infekcí se MC vyskytuje u 5 – 20% jedinců (1).

Studie prevalence jednotlivých subtypů jsou poznamenány řadou metodických omezení. Přesto lze říci, že i když nejčastěji zastoupeným subtypem je celosvětově MCV I, poměr jeho zastoupení a zastoupení MCV II vykazuje určitou geografickou variabilitu (od 47:27 až po 6:0) (12). Subtyp MCV III se vyskytuje velmi vzácně a výskyt subtypu MCV IV byl zatím zjištěn pouze v Japonsku (3,8). Všechny známé subtypy vyvolávají onemocnění se stejným

klinickým projevem a nebylo zjištěno, že by se některý ze subtypů vyskytoval predilekčně v lézích s určitou morfologií nebo anatomickou lokalizací. Bylo však zjištěno, že u dětí lze nalézt především subtyp MCV I, zatímco MCV II se vyskytuje u dětí do 15 let věku jen velmi zřídka (13). MCV II je ale mnohem častěji zastoupený u dospělých, nebo je poměr obou subtypů v této věkové skupině srovnatelný. U osob s AIDS místa výskytu lezí (obličej, krk, hrud') naznačují, že by se mohlo jednat o reaktivaci infekce MCV získané v dětství. Molekulárně-biologické studie však ukázaly, že se jedná spíše o novou infekci, neboť se u těchto pacientů, stejně jako u dospělých, ve vyšší míře vyskytuje spíše subtyp MCV II s převážně genitální lokalizací lezí MC (14).

MCV může vyvolávat i latentní a subklinickou formu infekce. MCV specifické protilátky byly zjištěny u 23% lidí bez klinicky patrného MC onemocnění a seropozitivita byla pozitivně korelovaná s věkem (15).

Patogeneze a imunogeneze

MCV není možné množít v tkáňových kulturách a také neexistuje zvířecí model pro MCV infekci, a proto je o patogenesi tohoto viru známo velmi málo. Typická léze vyvolaná MCV je tvořená hypertrofickou a hyperplastickou epidermis, která vybíhá do dermis bez porušení basální membrány a vyčnívá nad povrch kůže, kde vytváří pouhým okem viditelnou lézi. K replikaci MCV dochází v cytoplasmě infikovaných keratinocytů. V infikované tkáni dochází ke zvýšenému dělení basálních buněk, ve kterých lze zjistit patologické změny jader a cytoplasmy. Směrem k povrchu se buňky zvětšují, až dosáhnou několikanásobku své původní velikosti a jejich tvar je spíše cylindrický. Jejich cytoplazma je vyplněna typickými útvary – moluskovými tělísky (Henderson-Patersonova tělíska), která zatlačují jádro a ostatní organely až k cytoplazmatické membráně. Tyto váčky, ohraničené membránou tvořenou kolagenem a lipidy, anatomicky i imunologicky separují replikující se a kompletující se virus, takže nedochází k úniku virově specifických proteinů a stimulaci imunitní odpovědi. Onemocnění může persistovat týdny, ale také roky, aniž by došlo k zánětlivé reakci. Persistence lezí u imunokompetentních pacientů je pravděpodobně umožněná souhrou několika faktorů. MCV po infekci buněk basální membrány exprimuje analog chemokínů, který tak s největší pravděpodobností brání v aktivaci a vstupu T lymfocytům a dalším imunitním buňkám, které se obvykle nacházejí v lokalizacích s probíhajícím zánětem (Langerhansovy buňky, NK buňky) do místa infekce MCV. Tento virus nese též gen pro analog těžkého řetězce MHC I, který ovšem postrádá oblast nezbytnou pro vazbu peptidů. Zdá se tedy, že kompetice tohoto virového analogu s buněčným MHC I je příčinou toho, že infikované buňky neexprimují na svém povrchu antigeny MHC I třídy, které jsou nezbytné pro aktivaci cytotoxických T lymfocytů. Přestože je známo velmi málo o imunitní odpovědi na infekci MCV, je patrné, že imunitní aparát kontroluje infekci MCV. U imunokompetentních pacientů dochází obvykle ke spontánnímu vyhojení. K odhojení dochází i při mechanickém rozrušení léze (škrábání), či po sekundární bakteriální infekci, kdy průnik viru do dermis zřejmě iniciuje i tvorbu MCV specifických protilátek. U imunodeficientních pacientů (např. po imunosupresivní terapii, u pacientů s AIDS a u transplantovaných pacientů) ke spontánnímu odhojení lezí nedochází a infekce je často mnohočetná, léze jsou rozsáhlé a velmi resistantní vůči normálním léčebným postupům. U jedinců, kteří neprodělali během života symptomatické MC onemocnění byly MCV specifické protilátky IgG zjištěny v 23% (15). U pacientů s klinicky patrnou formou onemocnění byly protilátky zjištěny metodou fixace komplementu ve 100% (16), metodou nepřímé imunofluorescence v 89% (17) a metodou ELISA v 77% (15).

Klinický obraz

Léze vyvolané MCV jsou tvrdé, hladké, perleťově lesklé, téměř tělové barvy o průměru 2 – 5 mm. Uzlíkovité léze jsou zakotvené v epidermis a z malé prolákliny uprostřed lze vytlačit

mléčně zbarvenou tekutinu. U dětí se léze vyskytují nejčastěji na obličeji, hrudi, rtech, zatímco u mladých sexuálně aktivních jedinců se objevují hlavně v genitální oblasti. Výskyt lezí byl popsán i na očních víčkách a spojivce. Vzácný je výskyt na dlaních a ploskách nohy. Léze mohou být solitární. U dětí v endemických oblastech a u imunosuprimovaných jedinců mohou být mnohočetné a rozsáhlé. Pacienti obvykle nemají žádné objektivní potíže. V některých případech se může vyskytnout pocit napětí a svědění, asi u 10% pacientů se vyskytuje v okolí MC léze ekzém označovaný jako „molusková dermatitida“(18). Inkubační doba se pohybuje v rozmezí 14 – 50 dní. Nepředpokládá se, že dochází k šíření infekce krevním řečištěm a výskyt velkého množství lezí na stejném místě se spíše vysvětluje vícenásobnou simultánní infekcí nebo mechanickým rozsevem. Po léčbě může dojít k rekurencím. Zdá se, že k reinfekcím dochází zřídka a reaktivace se nepředpokládá.

Diagnostika

Diagnóza může být obvykle stanovena na základě klinického obrazu léze. Atypické léze nebo charakteristické léze na netypických místech mohou být potvrzeny histologicky nebo cytologicky přítomností charakteristických Henderson-Patersonových tělísek v buňkách. Přítomnost charakteristických virových partikulí lze prokázat pomocí elektronové mikroskopie. Specifické protilátky byly nověji detekovány metodou ELISA s purifikovaným kapsidovým proteinem MCV I, který vykazuje zkříženou reakci i s MCV II (15). MCV specifický antigen lze prokázat též metodou nepřímé imunofluorescence (17). Nověji také metody molekulární biologie umožňují zjistit MCV v materiálu odebraném z MC lezí. Jednou z metod je restriční analýza virové DNA, která vůbec poprvé ukázala různorodost izolátů MCV, a dále velmi citlivá technika - polymerázová řetězová reakce (PCR). Obě tyto metody navíc umožňují i rozlišení mezi jednotlivými subtypy MCV (19).

Projev MC lezí bývá často netypický, a proto zahrnuje diferenciální diagnostiku řadu onemocnění. MC je třeba odlišit od varicely, veruky, herpes simplex, pyodermy, kožních papillomů a karcinomů. Jsou popisovány atypické příklady, kdy u HIV infikovaných pacientů došlo k záměně s karcinomem basálních buněk, keratoacantomem, kožní formou kryptokokosy, či histoplasmosy (1).

Léčba

Léze mohou přetrvávat 2 týdny až 2 roky. U imunokompetentních jedinců dochází často ke spontánnímu odhojení lezí. U dětí léze často mizí s věkem. Specifická léčba MC neexistuje. Odstanění nádorků se provádí jednak z kosmetických důvodů a aby se předešlo autoinokulaci a dalšímu šíření infekce. Provádí se chirurgické odstranění nádorků kyretáží a to i v kombinaci s podáním chemické látky (např. podofylin, kyselina trichlóroctová nebo 1% jodová tinktura). Úspěšně se provádí léčba kryoterapií tekutým dusíkem. Problémem jsou diseminované léze u pacientů s AIDS, které jsou především lokalizované na hlavě a krku a v anogenitální oblasti. V těchto případech byla vyzkoušena systémová léčba imunomodulačními a antivirovými preparáty. Určitý úspěch byl zaznamenán při použití kombinované anti- retroviróvé terapie (HAART) (20), při použití analogu imiquimodu (21) a při aplikaci fosforylovaných acyklických analogů nukleosidů (HPMPC (cidofir)) (22).

Čtenáře této kapitoly odkazují na souhrné články (23,24,1,25). U konkrétních údajů a velmi recentních poznatků jsou citace uvedeny na daném místě textu.

Lidské papillomaviry (HPV)

Úvod

Papillomaviry (PV) infikují epiteliální buňky kůže a sliznic a vyvolávají buď benigní, nebo maligní léze. Taxonomicky patří do čeledi *Papovaviridae* (26). Dosud bylo identifikováno více než 100 typů lidských papillomavirů (HPV), z nichž více než 30 infikuje genitální trakt. Výsledky epidemiologických, molekulárně-biologických a imunologických studií za posledních dvacet let ukazují, že velmi rizikové typy HPV (HR HPV) jsou, s největší pravděpodobností, etiologickým faktorem vzniku některých lidských zhoubných nádorů, z nichž nejdůležitější je karcinom děložního čípku (KDC) (27).

Virologie

Papillomaviry jsou malé viry. Jejich viriony jsou 55 nm velké a jejich genom je tvořen kruhovou kovalentně uzavřenou dvouřetězcovou molekulou DNA o délce přibližně 8 000 pb (28). Tato DNA nese informaci pro osm časných a dva pozdní geny (29). K replikaci viru dochází v jádře infikované buňky a cyklus replikace je spojen s procesem diferenciací epiteliálních buněk (30). K expresi časných genů (E1-E8) dochází ve stratum basale a spinosum, zatímco geny pro kapsidové proteiny (L1 a L2) se exprimují v horních keratinizujících vrstvách epitelu (31). Většina typů HPV se vyznačuje tkáňovou specifitou. Na základě tkáňové specifity se HPV dělí na kožní a slizniční a podle onkogeního potenciálu na málo (low risk, LR) a velmi (high risk, HR) rizikové typy HPV (32). Papillomaviry neinfikují pouze lidi, ale i celou řadu zvířat, a byly prakticky izolovány ze všech druhů obratlovců, jsou však druhově specifické (33). Od roku 1980, kdy byl izolován první PV, se počet těchto virů značně rozrostl. Dnes je známo 107 typů HPV a vzhledem k tomu, že je není možné snadno pěstovat v tkáňových kulturách je systém jejich klasifikace založený na porovnání podobnosti nukleotidové sekvence genomů jednotlivých izolátů (34,32).

Epidemiologie

Papillomaviry jsou přenášeny především při sexuálním styku. U mladých dívek bez dřívější sexuální zkušenosti nebyly HPV nalezeny vůbec (35,36,37,38). U sexuálně aktivních žen je infekce HPV detekována v 3,5 - 33% (39) případů a je srovnatelná s prevalencí HPV u zdravých mužů, kde se pohybuje mezi 9 až 24% (40,41,42,43). Studie prevalence HPV u partnerů ukazují na současnou přítomnost HPV DNA u 53 až 68% párů (44,42,45,46). U onemocnění dětskou formou rekurentní laryngeální papillomatózy (RRP=recurrent laryngeal papillomatosis) byl prokázán perinatální přenos HPV, ke kterému pravděpodobně dochází při porodu (47). PV mohou být též přenášeny kontaktem kůže (48) a pravděpodobně i transplacentárně (49,50,51). Se zavedením velmi citlivých metod detekce papillomavirů byla HPV DNA prokázána v 93 - 100 % biopsií invazivních karcinomů děložního čípku a až ve 100 % jeho prekancerózních lézí. V karcinomech vulvy, vaginy, penisu a v análních karcinomech byla HPV DNA zjištěna ve více než 50%. Nejčastěji se vyskytujícím typem HPV je HPV 16, který je detekován asi v polovině vzorků karcinomu děložního čípku a je i nejčastěji se vyskytujícím typem HPV v dalších anogenitálních karcinomech, ale i u zdravých jedinců. Dalšími typy, které se nejčastěji vyskytují v karcinomech jsou HPV 18, 31, 33, 45 a 51 (52,53). Condylomata accuminata a RRP, jsou onemocnění vyvolaná LR HPV typy 6, 11, 42. V prekancerózních lézích cervixu, vulvy, vaginy, penisu a anusu je obvykle přítomné celé spektrum HPV typů, avšak se závažností onemocnění se různorodost zastoupených HPV typů snižuje. V lézích vyšších stupňů a v karcinomech lze zpravidla nalézt pouze HR HPV. Bylo prokázáno, že přítomnost HR HPV je faktorem nutným k zajištění persistence a progresu onemocnění (54). U starších žen je infekce HPV daleko méně častá než u mladých žen. U nich se obvykle jedná o přechodnou formu infekce, zatímco u starších žen je infekce HPV často persistentní (55). U mužů, tak jako u žen, je infekce HPV často bezpříznaková a navíc léze mohou být lokalizované v místech, která při běžném vyšetření nejsou vidět. Zdá se, že logickým místem zdroje infekce HPV u mužů jsou intraepiteliální léze na penisu a v uretře,

ale HPV byly u mužů nalezeny i v močovém měchýři (56,57,58), v prostatě (59), v nadvarleti a ve spermatu (60,61,62). Výsledky těchto studií však nejsou jednoznačné. Z imunologických studií vyplývá, že většina lidí s klinickými projevy HPV infekce tvoří protilátky, které specificky reagují s antigeny odvozenými od virových proteinů (63,64). Protilátky proti konformačním epitopům lokalizovaným na povrchu tzv. pseudovirionů (VLP= virus-like particles), tvořených především majoritním strukturálním proteinem L1, se zdají být znakem infekce i onemocnění, zatímco protilátky proti antigenům odvozeným z časných proteinů jsou spíše znakem onemocnění (65). Při spontánní regresí nebo po úspěšné léčbě hladiny HPV specifických protilátek klesají a mohou zcela vymizet (66,67). Se stoupajícím věkem roste u zdravých lidí prevalence protilátek proti VLP, zatímco u nemocných je tomu naopak (68,69). Pacientky mají častěji protilátky proti HPV specifickým antigenům, než zdravé ženy a mezi přítomností protilátek a tíží onemocnění existuje vztah (70). Přítomnost protilátek v časných fázích nemoci zvyšuje pravděpodobnost vzniku maligního onemocnění (71). Mezi další rizikové faktory pro vznik KDCČ patří zahájení sexuální aktivity v raném věku, větší počet sexuálních partnerů, imunodeficience, a pravděpodobně i kouření (72).

Patogeneze a imunogeneze

Předpokládá se, že virus primárně infikuje buňky bazální vrstvy epitelu skrze mikroskopická poranění nebo přímým kontaktem, k jakému dochází na transformační zóně děložního čípku (zvláště citlivé k infekci jsou nezralé metaplastické buňky). Charakteristickými změnami epiteliálních buněk, které vyvolává infekce HPV je přítomnost koilocytů (buněk s velkým jádrem obklopeným průhlednou cytoplazmou nazývanou „halo“) a ztráta jader (73). Nepřítomnost koilocytů však není důkazem nepřítomnosti viru.

Kondylomatózní léze (nověji léze nízkého stupně (LG SIL)) vyvolané HPV vznikají relativně pomalu a často spontánně mizí. K spontánnímu odhojení dochází i po chirurgickém odstranění léze či po traumatu. V benigních lézích se papillomaviry vyskytují v extrachromozomální cirkulární formě (epizóm). HR HPV jsou však schopny iniciovat neoplastickou transformaci buněk. V takovýchto případech dochází obvykle k začlenění virového genomu do DNA hostitelské buňky (integrace) a tím i k poškození některých virových genů (přerušení genu E1, E2). To má za následek zvýšenou produkci dvou virových onkoproteinů (E6 a E7), které v dalším kroku svou vazbou s buněčnými proteiny (p53 a pRb) zabraňují jejich správné funkci, tj. negativní regulaci buněčného cyklu. Výsledkem je nekontrolovaná proliferace buněk a hromadění mutací v genomu buňky.

HPV mohou v tkáni persistovat velmi dlouho, a to i ve formě latentní infekce, tj. takové, kterou není možné detekovat ani pomocí kolposkopie. Persistence je usnadněna redukcí počtu Langerhansových buněk (jejichž hlavním úkolem je prezentovat antigeny v kontextu s MHC I a MHC II jiným buňkám imunitního systému) a absencí intraepiteliálních lymfocytů (74). Imunitní dohled nad infekcí HPV je s největší pravděpodobností zprostředkován buněčnými složkami imunitního systému. Pacienti po transplantacích a imunosupresivní léčbě a jedinci s AIDS jsou daleko častěji infikováni HPV a také se u nich daleko častěji vyskytují onemocnění vyvolaná těmito viry a dochází u nich k rychlejší progresi onemocnění do pokročilých forem. K spontánnímu odhojení u nich téměř nedochází (75). Oproti tomu deficit v humorální složce imunitní odpovědi, jako je hypogamaglobulinemie, není provázen zvýšeným výskytem bradavic.

Klinický obraz

Pouhým okem patrná jsou exofytická kondylomata, které se vyskytují na penisu, v uretře, vulvě, vagině, na děložním čípku, v anální a perianální oblasti. Druhým projevem HPV infekce v genitálním traktu jsou ploché léze, které je obvykle obtížné detekovat bez použití

kolposkopu a zviditelnění lézí. Kolposkopické vyšetření se provádí po aplikaci 3% kyseliny octové, kdy dochází k bílému zbarvení místa léze. Ploché léze predominují na děložním čípku, ale vyskytují se i ve vagině, vulvě a na penisu. Tyto léze mohou persistovat roky, avšak u některých může dojít k maligní transformaci. Tento proces je však obvykle velmi pomalý. Průměrný věk žen s HG SIL (léze vysokého stupně) je o 5-10 let vyšší, než průměrný věk žen s LG SIL a o 10 let nižší, než věk žen s KDC (55).

Diagnostika

Klinická forma infekce HPV je tedy definována jako léze viditelná pouhým okem. Subklinická forma infekce může být zjištěna pomocí kolposkopie (viz. výše), cytologie a histologie. Latentní forma infekce lidskými papillomaviry nevyvolává žádné morfologické změny dlaždicového epitelu a k její detekci je nutné použít metody molekulárně-biologické.

Cytologie užívá tzv. Papanicolaouvu klasifikaci (PAP I-V) stěrů z děložního čípku. Histologie klasifikuje biopsie jako cervikální intraepiteliální neoplasie (CIN) stupně I až III a invazivní karcinom (INCA). Novější klasifikační systém z roku 1988 hodnotí nález jako léze nízkého stupně (low squamous intraepithelial lesions (LSIL)), léze vysokého stupně (high squamous intraepithelial lesions (HSIL)), invazivní karcinom a atypické buňky (atypical squamous cells of unknown significance (ASCUS)/atypical glandular cells of unknown significance (AGUS)) (76). Morfologické metody, zvláště pak cytologie, jsou důležitými skrínigovými metodami. Řada prací však poukazuje na některé nedostatky cytologie. Především je to nízká reprodukovatelnost, falešná negativita (15 - 50 %) a falešná pozitivita (10 %) (77,78). Ve Skandinávských zemích, kde byl v roce 1956 zahájen skrínig populace pomocí PAP stěrů, se však podařilo snížit incidenci karcinomu děložního čípku v průměru až o 40 %. Úspěšnost těchto skrínigových programů však závisí na jejich dobré organizaci a na zachycení co nejširší populace (79,80).

Z molekulárně-biologických metod, které umožňují zjistit i latentní formu infekce, zde zmíním dvě, jejichž citlivost a reprodukovatelnost je dostatečná, aby se mohlo uvažovat o jejich použití pro rutinní diagnostiku. Jedná se o polymerázovou řetězovou reakci (PCR), kdy je HPV DNA před vlastní detekcí nejprve zmnožena a tím je dosaženo značné citlivosti metody (1-10 kopií virové DNA/buňku). Druhou metodou je test založený na přímé hybridizaci (HC=hybrid capture), který je dnes komerčně dostupný (distribuoovaný firmou Abbott). Pomocí PCR metody byla HPV DNA zjištěna až ve 100 % biopsií INCA a CIN III. Tato metoda je rychlá a poměrně jednoduchá. Je však třeba striktně dodržovat některé zásady, aby se předešlo možné kontaminaci. Metodou PCR je možno vyšetřovat rozličný materiál, stěry štetěčkem (tzv. brush), buňky vypláchnuté solným roztokem (tzv. laváže), biopsie, tkáň zalitou v parafinových blocích, PAP stěry. Metoda přímé detekce hybridizací je poněkud méně citlivá, než metoda PCR. Nový vylepšený HC systém na mikrotitračních destičkách (HCM) přinesl oproti systému původnímu, prováděnému ve zkumavkách (HCT), zlepšení citlivosti (HCT pro HSIL 74 - 94%; HCM pro HSIL 95 %). Předběžné studie ukazují, že kombinací metody HC s PAP stěry je možné dosáhnout pro detekci HSIL citlivosti 91 - 100 % (81).

Využití detekce HR HPV v gynekologii je v současnosti velmi diskutovaným problémem nejen u nás, ale na celém světě. Proti sobě stojí zájem pacientky a ekonomické zájmy. Současné poznatky ukazují, že zavedení detekce HR HPV jako sekundárního diagnostického testu u žen s cytologickým nálezem ASCUS/AGUS a u žen mladších 35 let též s nálezem LSIL by umožnilo až 100% záchyt žen s HSIL lézemi. Zavedení testace na HR HPV, společně s cytologií, se též zvažuje pro primární skrínig žen starších 35 let. Průkaz nepřítomnosti HR HPV by v takovémto případě umožnil prodloužit intervaly sledování pacientek na 5-8 let bez zvýšení rizika úniku žen s nálezem HSIL. V dlouhodobém výhledu

by takto koncipovaný skriningový program měl přinést především snížení incidence a mortality na KDC a zároveň by měl být tento program ekonomicky návratný.

Léčba

Metody používané pro léčbu lézí vyvolaných HPV v genitálním traktu lze rozdělit na tři skupiny: 1/ chirurgické metody, 2/ chemické látky, 3/ imunomodulační preparáty a antivirové preparáty. Většina lézí vyvolaných HPV se odstraňuje chirurgicky. Mezi nejčastěji používané techniky patří excizní techniky (excize kličkou (LEEP= loop electrosurgical excision procedure; LLETZ= large loop excision of transformation zone), konizace laserem a skalpelem). Méně často se v některých případech používají destrukční techniky (kryoterapie, CO₂ laser).

Při léčbě klinicky patrných lézí (exofytické léze) se uplatňují především metody využívající chemické látky jako podofylin (etanolový extrakt z rostliny *Podophyllum peltatum*, v současné době se jeho aplikace nedoporučuje, neboť některé terapeuticky inaktivní isoméry vykazují mutagenní účinky), podofylotoxin (biologicky aktivní složka podofylinu), a kyselina trichlórctová.

Z imunomodulačních látek a antivirových preparátů lze zmínit interferony (používané obvykle po chirurgickém odstranění léze) a 5-fluorouracil (používaný u případů diseminované kondylomatosy uretry a vaginy a anální oblasti, nedoporučuje se pro léčbu lézí na externích genitáliích). Dá se však říci, že tyto látky nenašly širší použití, neboť nikdy neobhájily jednoznačně své přednosti. Nověji imiquimod (imunomodulátor, který indukuje produkci interferonu alfa a dalších cytokinů a tím stimuluje buněčnou složku imunitní odpovědi) ukázal velmi dobrý efekt v klinických zkouškách u pacientů s genitálními bradavicemi (odhojení až v 70% případů s minimálními vedlejšími účinky) (82). Dalším slibným preparátem se zdá být cidofir (HPMPC=acyclic nukleoside phosphonate), jehož mechanismus účinku je založený na inhibici replikace viru. Tato látka byla úspěšně vyzkoušena u HIV infikovaných pacientů s HPV 16 pozitivními kondylomaty a u pacientů s CIN III lézemi (22).

Příslibem do budoucnosti je i intenzivní výzkum zaměřený na vývoj preventivní i terapeutické HPV vakcíny. V současnosti probíhají již první klinické zkoušky terapeutických vakcín (27,83).

Herpetické viry.

Úvod.

Skupina herpetických virů (čeleď *Herpesviridae*) zahrnuje 8 lidských a řadu zvířecích virů. Lidské herpetické viry jsou kosmopolitně rozšířeny a vesměs promořují lidskou populaci do vysokého stupně. Patří sem virus herpes simplex, virus varicella zoster, cytomegalovirus, virus Epstein a Barrové, a lidské herpesviry 6, 7 a 8. Tyto viry mají charakteristickou morfologii a biologické vlastnosti. Virové částice mají velikost 120-150 nm a jsou složeny z kubické kapsidy, matrix a lipoproteinového obalu. Virový genom je tvořen dvouvláknovou lineární DNA, která obsahuje 80-200 genů. Základní biologickou vlastností herpetických virů je schopnost vyvolat latentní infekci buněk, při níž jsou potlačeny ty funkce viru, které vedou k jeho pomnožení a následné smrti hostitelské buňky, a naopak jsou aktivovány geny, které zajišťují dlouhodobou persistenci viru v infikované buňce. Proto mohou herpetické viry přetrvávat v organismu po odeznění primární infekce po celý život. Za určitých fyziologických podmínek může být stav latence viru přerušen a virus se začne opět množit, pak mluvíme o reaktivaci infekce. V regulaci latence a reaktivace hraje důležitou roli imunitní systém hostitelského organismu. Většina infekcí herpetickými viry probíhá asymptomaticky - projevuje se pouze přechodným vylučováním viru v tělních tekutinách a

imunitní odpovědi organismu. Infekce u imunodeficientních pacientů a část primárních infekcí u imunokompetentní populace může být spojena s různě závažnými klinickými příznaky.

Lidský cytomegalovirus (CMV)

Virologie

CMV je největší z herpetických virů (má velikost 150 nm a jeho genom má délku 230 kpb a obsahuje více než 200 genů) (84). V organismu je schopen infikovat širokou škálu buněk (epiteliální buňky sliznic, slinných žláz a ledvinných kanálek, mléčné žlázy, endotelie, leukocyty, kmenové buňky kostní dřeně, syntitiotrofoblastu placenty). Hlavním místem latentní infekce jsou endotelie a nediferencované makrofágy (85). Produktivní infekce probíhá hlavně v aktivovaných makrofázích a diferencovaných epiteliálních buňkách (86). Proto v průběhu aktivní infekce dochází k vylučování viru ve slinách a moči. Přechod CMV ze stádia latence k lytickému cyklu mohou indukovat zánětlivé cytokiny (hlavně TNF α) (87). Po vstupu do buňky virus produkuje proteiny, které výrazně mění buněčný metabolismus, stimulují syntézu řady buněčných proteinů, které jsou využívány k replikaci virové DNA a naopak potlačují tvorbu některých komponent cytoskeletonu a zastavují dělení buněk. V důsledku toho se infikované buňky mnohonásobně zvětšují (odtud cytomegalie, cytomegalovirus (88).

Patogeneze a imunogeneze

Produktivní infekce hostitelských buněk CMV vede k deregulaci buněčného cyklu a postupně k jejich smrti. V průběhu lytického cyklu se syntetizuje řada virových proteinů, z nichž mnohé stimulují buněčnou i protilátkovou imunitní odpověď (89). Imunodominantní antigeny pro buněčnou imunitu, která má hlavní význam pro potlačení aktivní infekce CMV v organismu, jsou v infikované buňce přítomny již na začátku lytického cyklu (např. hlavní nestrukturální proteiny - bezprostředně časný antigen pp72 (IE1), nebo matrixový fosfoprotein pp65) (89). Přesto není buněčná imunitní reakce schopna zabránit reaktivaci viru. CMV má totiž celou řadu mechanismů, které vedou k potlačení imunitní reakce organismu a napomáhají šíření infekce. V místě infekce dochází k potlačení prezentace antigenů (90) a k produkci řady cytokinů, které ovlivňují maturaci imunokompetentních buněk a aktivují další makrofágy. Proto má aktivní CMV infekce silný imunosupresivní účinek. Pro šíření infekce v organismu je důležitý virový protein, který je homologní s buněčným solubilním receptorem pro IL-8. Tento virový chemokín je uvolňován z buněk v pozdní fázi produktivní infekce a vyvolává atrakci dalších makrofágů a polymorfonukleárů do místa, kde mohou být infikovány. Prostřednictvím těchto buněk se infekce šíří do cílových orgánů, kde dochází k produktivní infekci epiteliálních buněk (91). Při transplacentárním přenosu se infikuje v první fázi syntitiotrofoblast placenty a z nich se infekce šíří prostřednictvím fetálních makrofágů do dalších orgánů (92).

Epidemiologie

V ČR se u dospělých v produktivním věku (20-35 let) seroprevalence CMV pohybuje mezi 50-80% v závislosti na regionu (vyšší prevalence je např. v Praze a severočeském kraji). Ve vyšších věkových kategoriích přesahuje 90%. V kojeneckém věku se infikuje asi 20% dětí. K největšímu nárůstu infekcí dochází ve věku 3-5 let (93). Infekce se nejčastěji přenáší slinami nebo močí, může se však přenést i mateřským mlékem, cervikálním sekretem nebo krví (89). CMV je vylučován v cervikálním sekretu u cca 25% (94), v mateřském mléce až u 97% seropozitivních žen (95). Jedná se o lokální aktivaci endogenního viru, která není

provázena systemickými příznaky infekce (viremie, antigenemie, přítomnost CMV DNA v plasmě). Doba vylučování i množství vylučovaného viru jsou různé. Do kolostra je virus vylučován nejčastěji 2.-3. týden po porodu (95). Přenos infekce transfuzí je poměrně vzácný, ale u dětí seronegativních matek může mít fatální následky (96). U normálních novorozenců a imunokompetentních dětí probíhá primoinfekce většinou asymptomaticky, u starších dětí může být spojena se syndromem infekční mononukleozy. Po odeznění infekce nebo při reaktivaci CMV může docházet k bezpříznakovému vylučování viru v moči, které často přetrvává i několik měsíců. Rizikovou skupinou pro onemocnění CMV jsou imunodeficientní jedinci, zejména příjemci transplantátů, pacienti s AIDS, onkologičtí pacienti a pacienti po těžkých chirurgických zákrocích a nedonošené děti (97,98,95). U nich může aktivní infekce probíhat jako těžké systemické onemocnění spojené s postižením různých orgánů. V gynekologii a porodnictví má CMV význam zejména jako původce závažných kongenitálních a perinatálních infekcí u novorozenců. Četnost kongenitálních infekcí CMV je lokálně variabilní a pohybuje se od 0,3 do 2% narozených dětí (99). K vertikálnímu přenosu CMV může dojít jak při primární, tak při reaktivované infekci. Riziko klinicky závažných infekcí plodu je však významné pouze při primoinfekci matky, zejména dojde-li k ní v průběhu 1. trimestru těhotenství. V těchto případech se riziko kongenitálního přenosu infekce pohybuje mezi 20-30%. V cca 50% případů je infekce plodu spojena s onemocněním nebo trvalým postižením (99,100,101). Při reaktivaci CMV je riziko symptomatické kongenitální infekce plodu menší než 0,1%, tj. srovnatelné s výskytem spontánních vrozených vad.

Diagnostika

Pro diagnostiku CMV infekcí u imunokompetentních jedinců je ve většině případů dostačující serologické vyšetření. Virově specifické IgG protilátky bývají přítomny již v akutní fázi infekce a po jejím odeznění přetrvávají po celý život. Diagnosticky významný je pouze průkaz serokonverze nebo signifikantního vzestupu těchto protilátek v párových vzorcích séra. Podobný diagnostický význam mají i komplement-fixační protilátky. Naproti tomu IgM a IgA protilátky se tvoří pouze přechodně v souvislosti s aktivní CMV infekcí (primární i reaktivovaná) (89). Virus-neutralizační protilátky, které jsou namířeny hlavně proti virovým povrchovým glykoproteinům, se tvoří při primární infekci opožděně, a dají se proto využít pro rozlišení primoinfekce od reaktive (102). Jiným metodickým přístupem pro diagnostiku primárních infekcí CMV je průkaz nízkoaviditních IgG protilátek (103). Pro průkaz protilátek proti CMV jsou v současné době jednoznačně preferovány imunoenzymatické metody. Pro stanovení IgG je vhodné použít ELISA testy s možností kvantitativního hodnocení. Testy na stanovení IgM protilátek by měly eliminovat možnou interferenci rheumatoidního faktoru. U imunodeficientních pacientů i novorozenců je serologická diagnostika nedostatečná a je nutno ji doplnit metodami přímého průkazu CMV (104). K tomu je nyní k dispozici několik metod. Zatím nejdostupnější je izolace CMV v tkáňové kultuře lidských fibroblastů (TK). Pro diagnostiku je vhodný tzv. zrychlený izolační pokus (Shell vial culture), při němž lze již 2.-3. den po infekci prokázat časný antigen CMV v jádrech infikovaných buněk pomocí imunohistochemického barvení monoklonální protilátkou. Touto metodou lze virus prokázat v periferní krvi, moči, výtěrech z nosohltanu, vaginálním sekretu, stolici nebo bronchoalveolární laváži. Klasická izolace, založená na průkazu cytopatického efektu CMV v TK, trvá často i několik týdnů a používá se tedy spíše pro potvrzení diagnózy nebo pro charakterizaci izolovaného virového kmene (např. při resistenci na léčbu antivirotiky). Pro rychlou diagnostiku aktivní infekce je vhodná detekce antigenu pp65 v jádrech periferních polymorfonukleárů a mononukleárů. Přítomnost tohoto antigenu v leukocytech (antigenemie) je časným znakem aktivace CMV a šíření infekce krví. U imunodeficientních pacientů většinou předchází před klinickými příznaky onemocnění o 1-3 týdny. Jedná se tedy o metodu dobře využitelnou pro včasné nasazení terapie. Nízké

hladiny antigenemie však mohou provázet i asymptomatickou aktivaci CMV. Vyšetření se provádí z nesrážlivé krve pacienta a vzorek vyžaduje rychlé zpracování v laboratoři. Třetí možností je průkaz virové DNA v klinickém materiálu: a) hybridizačními metodami (hybridizace virové DNA se značenou genetickou sondou, např. Hybrid capture system od firmy Abbott) nebo amplifikačními metodami (PCR). Jsou to metody velmi citlivé, schopné zachytit i velmi malé množství viru (např. 1000 virových genomů /ml plasmy, moče, BAL, mozkomíšního moku, amniotické tekutiny nebo na 10^5 leukocytů). S tím však souvisí i jejich nízká specifita a pozitivní prediktivní hodnota. Tyto techniky mohou zachytit i bezpříznakové nebo lokální aktivace CMV. Proto jsou v současné době preferovány metody, které jsou schopny kvantifikovat množství virové DNA. Průkaz antigenemie a cytomegalovirové DNA je zatím u nás dostupný pouze ve specializovaných laboratořích. V diagnostice kongenitálních infekcí by měl být prvním krokem průkaz primární infekce u matky v průběhu těhotenství (viz výše). Pokud příslušná serologická vyšetření nelze provést, nebo když se primární infekce u matky potvrdí, je možno provést virologické vyšetření amniotické tekutiny (doporučenou metodou je PCR) (105). Pozitivní výsledek testu indikuje, že došlo k přenosu infekce na plod. U novorozenců lze kongenitální infekci CMV prokázat nejlépe na základě přítomnosti viru v moči (izolace), nebo v leukocytech periferní krve (PCR). Oba testy však mohou být pozitivní i u asymptomatických infekcí (106,107). CMV-specifické IgM protilátky bývají přítomny u cca 80% kongenitálně infikovaných novorozenců (107).

Klinické projevy CMV-infekce

Klinické projevy aktivní infekce jsou značně variabilní v závislosti na stupni a typu imunodeficitu pacienta. U příjemců transplantátu je nejčastějším projevem infekce tzv. CMV syndrom (febrilní onemocnění spojené s únavou, neutropenií a trombocytopenií, která může postupně přejít až do selhání funkce kostní dřeně). Závažnější příznaky jsou spojeny s orgánovým postižením, nejčastěji s intersticiální pneumonií, gastroenteritidou, hepatosplenomegalií a hepatitidou (97). Typickým projevem CMV infekce u pacientů s AIDS je retinitis a různé formy encefalopatií (98). Symptomatická kongenitální infekce se může manifestovat jako perinatální sepse, žloutenka, hepatosplenomegalie, lymfocytóza či trombocytopenie, petechie, pneumonie nebo chorioretinitis. Důsledkem teratogenního účinku CMV mohou být různé vrozené vady, často se závažnými trvalými následky (108). Zhruba u 5% asymptomatických novorozenců se následky kongenitální infekce projeví až během prvních měsíců života. Nejčastěji se jedná o poškození sluchového nervu (99,108). Perinatální infekce a časné infekce u nedonošenců mohou mít podobné klinické projevy, jako infekce kongenitální, nebývají však spojeny s trvalými následky.

Léčba

Pro léčbu závažných onemocnění je vhodný gancyklovir (GCV, cymevene), foscavir, případně nový preparát cidofovir. Tyto léky však mají řadu nežádoucích vedlejších účinků: u GCV a cidofoviru je to myelotoxicita, foscarnet je hlavně nefrotoxický. Proto tyto léky nelze podávat dlouhodobě (např. preventivně) (109) a nejsou vhodné ani pro aplikaci v těhotenství (110). Preventivní podávání hyperimunního imunoglobulinu (Cytotec, Biotest) nemělo u imunodeficientních pacientů vliv na výskyt aktivních infekcí CMV. Příznivý efekt však mělo jeho podávání souběžně s GCV při léčbě akutní infekce (109). Pro úspěšnost léčby u imunodeficientních pacientů je nutno aplikovat GCV již při prvních příznacích aktivní infekce. Léčba rozvinutého onemocnění je často již těžko terapeuticky ovlivnitelná neboť se v této fázi již často rozvíjí imunopatogenní mechanismy, které již nejsou inhibitory replikace viru ovlivnitelné. Proto ani na léčbu symptomatických kongenitálních infekcí u novorozenců zatím nepanuje jednotný názor. Pro prevenci CMV infekce u nedonošenců se doporučuje

podávat mateřské mléko po šetrné tepelné inaktivaci (optimální je údajně zahřátí 5 minut na 72°C) (95). Možnosti prevence CMV infekce pomocí vakcinace jsou zatím ve stadiu výzkumu.

Herpes simplex virus.

Biologie

Herpes simplex virus (HSV) se vyskytuje ve dvou typech - 1 a 2 (HSV 1 a 2). Genomy obou typů jsou z 83% shodné (111). HSV 1 navozuje latentní infekci převážně v sensorických trigeminálních gangliích, kdežto HSV 2 latentně infikuje lumbosakrálních sensorická ganglia. Při primární infekci epiteliálních buněk sliznice dojde v místě infekce k navázání viru na nervová zakončení, uvolnění virové kapsidy z virového obalu, a jejímu transportu společně s tegumentovým alfa TIF proteinem a virovou DNA axony do jader neuronů (112). Dochází k infekci asi 1% neuronů v gangliu. V jádrech latentně infikovaných buněk je obsaženo několik kopií virové DNA většinou ve formě epizomů. K ustavení latence není nutná virová replikace, dojde pouze k transkripci genů asociovaných s latencí (LAT) (113). Reaktivaci latentní infekce může vyvolat poškození neuronu, expozice kůže UV, chemoterapie, horečka, stres, hormonální změny. V důsledku změny transkripčních poměrů v jádrech dochází pravděpodobně k omezené replikaci virové DNA, která vycestuje po axonu do míst nervových zakončení, kde dochází ke kompletizaci virových partikulí. Uvolněné viriony infikují sousední fibroblasty a epiteliální buňky, ve kterých dochází k produktivní infekci a pomnožení viru. Zda při reaktivaci dojde k poškození neuronu, není dosud zcela jasné.

Epidemiologie

Herpetické viry jsou rozšířené ve všech populacích. HSV-1 virem je promořeno více než 90% české populace, HSV-2 virem je v České republice infikováno asi 15% žen v produktivním věku (114). V anglicky mluvících zemích došlo v posledních dvaceti letech k vzestupu počtu infikovaných. V USA byl v 80. letech zaznamenán vzestup z původních 16,4% na 22%, ve Velké Británii u pacientů STD klinik se počet HSV-2 infikovaných mezi roky 1972 až 1994 zvýšil šestinásobně (115).

HSV-1 je primárně šířen slinami a k infekci dochází v prvních letech života. K přenosu HSV-2 dochází téměř výhradně při sexuálním styku. Doba a četnost infekce je ovlivněna socioekonomickými podmínkami a individuálním životním stylem. Protilátky k HSV-2 se zjišťují daleko častěji u promiskuitních žen než u žen s jedním partnerem (114). Přenos viru se děje lépe z muže na ženu, ženy jsou proto častěji infikovány než muži (115). Primární genitální herpetická infekce je asi z 80% vyvolána typem 2, zbytek typem 1. Klinicky jsou obě infekce nerozlišitelné, ale infekce způsobená typem 1 má menší pravděpodobnost rekurencí (116). Primární infekce může být buď symptomatická (40%) nebo asymptomatická (60%) (115). Symptomatická infekce zpravidla probíhá hůře u žen, kde ulcerativní léze mohou být doprovázeny horečkou, myaglií, urinární retencí, neuropatií nebo dokonce meningitidou (117). U adolescentů a mladších dospělých s vysokým titrem protilátek proti HSV-1 má první symptomatická HSV-2 infekce lehčí průběh, rychlejší hojení a nižší incidenci systemických příznaků. U starších pacientů má první symptomatická HSV-2 infekce klinicky závažnější průběh z důvodu poklesu HSV-1 imunity, kterou získáme většinou v dětství. Rekurentní infekce jsou obvykle kratší, než primární epizody, s menší pravděpodobností dalších komplikací. Pokud dojde (velmi vzácně) u pacienta s HSV-1 infekcí genitálního traktu k superinfekci stejné oblasti virem HSV-2, zvýší se počet rekurencí a většinou jsou vyvolané typem 2. Jak primární, tak rekurentní infekce mohou být pouze asymptomatické. U mnoha lidí je první indikací vlastní HSV infekce přenos viru na partnera

nebo na novorozence. Jak při symptomatické, tak asymptomatické infekci dochází k vylučování viru do genitálního sekretu, ale při symptomatické infekci se vylučuje viru asi desetinásobně více (118). Počet epizod symptomatických i asymptomatických klesá s časem, který uplyne od primoinfekce. Nejvíce epizod je bezprostředně po primární infekci .

Rizikovými skupinami pro těžký průběh HSV infekce jsou imunodeficientní osoby a novorozenci. U imunodeficientních osob (např. u pacientů s AIDS) mají primární i rekurentní symptomatické genitální infekce závažnější průběh. Častý je masivní výsev lezí v místě infekce, prodloužené vylučování viru a disseminace do dalších orgánů (119). Primoinfekce v prvním, druhém a na začátku třetího trimestru nemá na těhotenství ani plod nepříznivý vliv. Pokud však dojde k primoinfekci těsně před očekávaným porodem, může dojít k přenosu infekce na novorozence (116), a to i v případě asymptomatického vylučování viru v době porodu. Sedmdesát procent všech neonatálních infekcí pochází právě od matek, které v době porodu vylučují asymptomaticky virus. Neonatální infekce z důvodu nezralosti imunitního systému novorozence mají většinou těžký až fatální průběh. Infekce se manifestuje buď jako infekce očí, kůže a úst novorozence, encefalitis nebo celkové disseminované onemocnění. Může být vyvolána oběma typy HSV, ale infekce typem 1 má lehčí průběh (120).

Imunita

V průběhu primární infekce dojde k aktivaci imunitního systému, který potlačuje množení infekčního viru, ale není schopen zabránit ustavení latentní infekce v nervových gangliích. (121). U HSV infekcí má mnohem větší význam buněčná imunita než protilátková. U pacientů s kongenitální T-buněčnou imunodeficiencí má HSV infekce těžký, někdy až fatální průběh. U pacientů s gamaglobulinovým defektem má infekce dobrou prognózu.

V průběhu primární infekce lze v akutním a rekonvalescentním séru detekovat serokonverzi IgM a IgG protilátek. U pacientů, kteří se v průběhu primární epizody léčí acyklovirem, je vzestup protilátek nízký. Při superinfekci HSV-1 pozitivního jedince HSV-2, lze v séru detekovat nejprve protilátky namířené proti typově společným determinantám (122). Stabilní titry IgG protilátek u pacientů s první symptomatickou epizodou ukazují na reaktivaci viru. U rekurentních infekcí je vzestup IgG protilátek v séru vzácný. IgM protilátky lze detekovat v séru většinou pouze u primoinfekcí.

Diagnostika

A) Serologie: Většina proteinů, které genom HSV kóduje, je u obou typů stejná (111). Většina protilátek, které vznikají po HSV infekci je namířena proti virovým glykoproteinům, které jsou u obou typů z větší části antigenně shodné. Typově specifické antigenní determinanty se nacházejí na glykoproteinu C (gC) a hlavně na glykoproteinu g (gG). Pro přípravu diagnostik na stanovení typově specifických protilátek jsou jako antigeny nejčastěji používány purifikované nativní nebo rekombinované gG-1 a 2, případně syntetické peptidy z nich odvozené. Ostatní serologické testy (nejčastěji ELISA), které používají celovirionové antigeny nebo komplexní antigeny z infikovaných buněk nejsou schopny rozlišit protilátky proti typu 1 a 2.

B) Přímý průkaz viru: Izolace viru na tkáňových kulturách (TK) se považuje za standardní diagnostický test, který umožňuje, mimo jiné, testovat citlivost viru vůči lékům, identifikaci virového izolátu restrikčními enzymy, typizace viru pomocí monoklonálních protilátek (120). Většina virových izolátů v průběhu 5ti dní vyvine na TK typický cytopatický efekt (CPE). Pro úspěšnost izolace je však zásadním krokem správný odběr materiálu a jeho uchování. HSV je značně termolabilní a při nesprávné manipulaci může dojít k jeho inaktivaci. Proto odebrané vzorky musí být ihned ponořeny do transportního média a na ledu dopraveny do laboratoře a zde nasazeny na TK. Nedojde-li ihned k transportu, je vzorky nutno uložit při -70°C. Polymerázová řetězová reakce (PCR), která je citlivější než izolace na TK, se

především využívá pro vyšetření mozkomíšního moku (MM) při podezření na herpetickou encefalitidu nebo meningitidu. K vylučování viru dochází i při asymptomatické infekci a po různě dlouhou dobu po zhojení lezí (118). Virus lze přenést na partnera nebo i dítě i v tomto období, kdy izolace viru na TK může být negativní. Pro úspěšnou izolaci viru na TK je totiž nutné, aby ve vzorku genitálního sekretu, který se inokuluje na TK, bylo alespoň 10 virových partikulí (118). Infekčnost viru může být eliminována i v důsledku přítomnosti specifických protilátek ve vzorku. Proto u žen, u kterých se předpokládá asymptomatické vylučování viru v období kolem porodu, je lépe pro průkaz vylučování viru použít metodu PCR (116).

Léčba

Lékem volby je acyklovir (ACV = analog nukleosidu guanosinu). Kmeny viru, rezistentní k acykloviru se objevují především u imunodeficientních osob dlouhodobě léčených ACV a asi u 3% imunokompetentních osob. Většinou se jedná o kmeny s mutací v genu pro thymidin-kinázu. Pacient ošetřený v průběhu primární infekce není uchráněn následných rekurencí, protože ACV nezabrání ustavení latentní infekce v gangliích (123). Další přípravky vhodné pro léčbu herpesu jsou valacyklovir a famcyklovir. Jedná se o deriváty ACV se zlepšenou farmakologickou účinností. Alternativním lékem u ACV-resistentních infekcí je foskarnet (analog pyrofosfátu), který podobně jako předchozí přípravky působí jako inhibitor virové DNA polymerázy. Narozdíl od ACV však značně toxický. V současné době je experimentálně připravovaná vakcína proti HSV, která by měla být použitelná hlavně pro terapeutické účely. Dosud je však ve stadiu klinických zkoušek.

Literatura:

1. Birthistle, K., et al.: Molluscum contagiosum virus. *J. Infect.* 34: 21, 1997.
2. Senkevich, T.G., et al.: The genome of molluscum contagiosum virus: analysis and comparison with other poxviruses. *Virology* 233: 19, 1997.
3. Nakamura, J., et al.: Analysis of molluscum contagiosum virus genomes isolated in Japan. *J. Med. Virol.* 46: 339, 1995.
4. Postlethwaite, R., et al.: Features of molluscum contagiosum in the north-east of Scotland and in Fijian village settlements. *J. Hyg. Lond.* 65: 281, 1967.
5. Sturt, R.J., et al.: Molluscum contagiosum in villages of the West Sepik District of New Guinea. *Med. J. Aust.* 2: 751, 1971.
6. Koning, S., et al.: Molluscum contagiosum in Dutch general practice. *Br. J. Gen. Pract.* 44: 417, 1994.
7. Becker, T.M., et al.: Trends in molluscum contagiosum in the United States, 1966-1983. *Sex Transm. Dis.* 13: 88, 1986.
8. Oriel, J.D.: The increase in molluscum contagiosum [editorial]. *Br. Med. J. Clin. Res. Ed.* 294: 74, 1987.
9. Billstein, S.A., et al.: The "nuisance" sexually transmitted diseases: molluscum contagiosum, scabies, and crab lice. *Med. Clin. North Am.* 74: 1487, 1990.
10. Lyttle, H., et al.: Sexually transmitted diseases and activities in New Zealand STD/sexual health clinics 1995. *Venereology* 10: 43, 1997.
11. Radcliffe, K.W., et al.: Molluscum contagiosum: a neglected sentinel infection [see comments]. *Int. J. STD AIDS* 2: 416, 1991.
12. Nakamura, J., et al.: Molecular epidemiological study of molluscum contagiosum virus in two urban areas of western Japan by the in-gel endonuclease digestion method. *Arch. Virol.* 125: 339, 1992.

13. Thompson, C.H., et al.: Molecular epidemiology of Australian isolates of molluscum contagiosum. *J. Med. Virol.* 32: 1, 1990.
14. Thompson, C.H., et al.: Clinical and molecular aspects of molluscum contagiosum infection in HIV-1 positive patients. *Int. J. STD AIDS* 3: 101, 1992.
15. Konya, J., et al.: Molluscum contagiosum virus: antibody responses in persons with clinical lesions and seroepidemiology in a representative Australian population. *J. Infect. Dis.* 179: 701, 1999.
16. Fonseca, M.E., et al.: Molluscum contagiosum: serology and electron microscopy findings in twenty one patients. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 29: 86, 1987.
17. Shirodaria, P.V., et al.: Observations on the antibody responses in molluscum contagiosum. *Br. J. Dermatol.* 96: 29, 1977.
18. Nageswaran, A., et al.: Sexually transmitted diseases in children: herpes simplex virus infection, cytomegalovirus infection, hepatitis B virus infection and molluscum contagiosum. *Genitourin. Med.* 69: 303, 1993.
19. Thompson, C.H.: Identification and typing of molluscum contagiosum virus in clinical specimens by polymerase chain reaction. *J. Med. Virol.* 53: 205, 1997.
20. Calista, D., et al.: Resolution of disseminated molluscum contagiosum with Highly Active Anti-Retroviral Therapy (HAART) in patients with AIDS. *Eur. J. Dermatol.* 9: 211, 1999.
21. Syed, T.A., et al.: Management of female genital warts with an analog of imiquimod 2% in cream: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J. Dermatol.* 25: 429, 1998.
22. De Clercq, E.: Acyclic nucleoside phosphonates in the chemotherapy of DNA virus and retrovirus infections. *Intervirology* 40: 295, 1997.
23. Gottlieb, S.L., et al.: Molluscum contagiosum. *Int. J. Dermatol.* 33: 453, 1994.
24. Bugert, J.J., et al.: Recent advances in molluscum contagiosum virus research. *Arch. Virol. Suppl* 13: 35, 1997.
25. Myskowski, P.L.: Molluscum contagiosum. New insights, new directions [editorial; comment]. *Arch. Dermatol.* 133: 1039, 1997.
26. Melnick, J.L.: Papova virus group. *Science* 135: 1128, 1962.
27. Vonka, V.: Lidské papillomaviry: jejich role při vzniku lidských nádorů a možnosti vývoje očkovacích látek. *Remedia-Klin. Mikrobiol.* 1: 206, 1997.
28. Orth, G., et al.: Characterization of a new type of human papillomavirus that causes skin warts. *J. Virol.* 24: 108, 1977.
29. Favre, M., et al.: Human papillomavirus DNA: physical map. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72: 4810, 1975.
30. Howley, P.M., Broker, T.R. (eds): In: *Papillomaviruses*. New York, Wiley-Liss, 1990.
31. Bedell, M.A., et al.: Amplification of human papillomavirus genomes in vitro is dependent on epithelial differentiation. *J. Virol.* 65: 2254, 1991.
32. Van Ranst, M., et al.: Phylogenetic classification of human papillomaviruses: correlation with clinical manifestations. *J. Gen. Virol.* 73: 2653, 1992.
33. Sundberg, J.P.: Papillomavirus infections in animals. In: Sytjanen, K.J., et al. (eds): *Papillomaviruses and human disease*. Berlin, Springer-Verlag 1987, s.40.
34. Danos, O., et al.: Molecular cloning, refined physical map and heterogeneity of methylation sites of papilloma virus type 1a DNA. *Eur. J. Biochem.* 109: 457, 1980.
35. Ley, C., et al.: Determinants of genital human papillomavirus infection in young women. *J. Natl. Cancer I.* 83: 997, 1991.
36. Fairley, C.K., et al.: The absence of genital human papillomavirus DNA in virginal women. *Int. J. STD AIDS* 3: 414, 1992.

37. Pao, C.C., et al.: Non-sexual papillomavirus transmission routes. *Lancet* 339: 1479, 1992.
38. Andersson, E.A., et al.: Human papillomavirus deoxyribonucleic acid in cervix only detected in girls after coitus. *Int. J. STD AIDS* 7: 333, 1996.
39. Schiffman, M.H.: Recent progress in defining the epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *J. Natl. Cancer Inst.* 84: 394, 1992.
40. Hippelainen, M., et al.: Prevalence and risk factors of genital human papillomavirus (HPV) infections in healthy males: a study on Finnish conscripts. *Sex. Trans. Dis.* 20: 321, 1993.
41. Kataoka, A., et al.: Human papillomavirus infection of the male diagnosed by Southern-blot hybridization and polymerase chain reaction: comparison between urethra samples and penile biopsy samples. *J. Med. Virol.* 33: 159, 1991.
42. Kyo, S., et al.: Detection of high-risk human papillomavirus in the cervix and semen of sex partners. *J. Infect. Dis.* 170: 682, 1994.
43. Forslund, O., et al.: Human papillomavirus DNA in urine samples compared with that in simultaneously collected urethra and cervix samples. *J. Clin. Microbiol.* 31: 1975, 1993.
44. Baken, L.A., et al.: Genital human papillomavirus infection among male and female sex partners: prevalence and type-specific concordance. *J. Infect. Dis.* 171: 429, 1995.
45. Castellsague, X., et al.: Prevalence of penile human papillomavirus DNA in husbands of women with and without cervical neoplasia: a study in Spain and Colombia. *J. Infect. Dis.* 176: 353, 1997.
46. Strand, A., et al.: HPV infection in male partners of women with squamous intraepithelial neoplasia and/or high-risk HPV. *Acta Derm. Venereol.* 75: 312, 1995.
47. Clark, L.J., et al.: Recurrent respiratory papillomatosis - current knowledge and treatment. *Papillomavirus Report* 7: 113, 1996.
48. Clarke, J., et al.: A study to estimate the prevalence of upper respiratory tract papillomatosis in patients with genital warts. *Int. J. STD AIDS* 2: 114, 1991.
49. Armbruster Moraes, E., et al.: Detection of human papillomavirus deoxyribonucleic acid sequences in amniotic fluid during different periods of pregnancy [letter]. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 169: 1074, 1993.
50. Sedlacek, T.V., et al.: Mechanism for human papillomavirus transmission at birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 161: 55, 1989.
51. Shah, K., et al.: Rarity of cesarean delivery in cases of juvenile-onset respiratory papillomatosis. *Obstet. Gynecol.* 68: 795, 1986.
52. Bosch, F.X., et al.: Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group [see comments]. *J. Nat. Cancer Inst.* 87: 796, 1995.
53. Melbye, M., et al.: The role of human papillomaviruses in anogenital cancers. *Semin. Cancer Biol.* 8: 307, 1998.
54. Ho, G.Y., et al.: Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J. Nat. Cancer Inst.* 87: 1365, 1995.
55. Schiffman, M.H.: Recent progress in defining the epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *J. Nat. Cancer Inst.* 84: 394, 1992.
56. Aynaud, O., et al.: Lack of evidence for a role of human papillomaviruses in transitional cell carcinoma of the bladder. *J. Urol.* 159: 86, 1998.
57. Gazzaniga, P., et al.: Prevalence of papillomavirus, Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and herpes simplex virus type 2 in urinary bladder cancer. *J. Med. Virol.* 55: 262, 1998.

58. Chan, K.W., et al.: Prevalence of six types of human papillomavirus in inverted papilloma and papillary transitional cell carcinoma of the bladder: an evaluation by polymerase chain reaction. *J. Clin. Pathol.* 50: 1018, 1997.
59. Cuzick, J.: Human papillomavirus infection of the prostate. *Cancer Surv.* 23: 91, 1995.
60. Ostrow, R.S., et al.: Detection of papillomavirus DNA in human semen. *Science* 231: 731, 1986.
61. Green, J., et al.: Detection of human papillomavirus DNA by PCR in semen from patients with and without penile warts. *Genitourin. Med.* 67: 207, 1991.
62. Katelaris, P.M., et al.: Human papillomavirus: the untreated male reservoir. *J. Urol.* 140: 300, 1988.
63. Dillner, J.: Antibody response to defined HPV epitopes in cervical neoplasia. In: Lacey, C., et al. (eds): *Papillomavirus Reviews: Current research on papillomaviruses.* Leeds, Leeds University Press 1996, s.121.
64. Dillner, J.: Antibody responses to defined HPV epitopes in cervical neoplasia. *Papillomavirus Report* 5: 35, 1994.
65. Vonka, V., et al.: Prospective study on cervical neoplasia IV. Presence of HPV antibodies. *Int. J. Cancer* 80: 365, 1999.
66. Di-Lonardo, A., et al.: HPV 16 E7 antibody levels in cervical cancer patients: before and after treatment. *J. Med. Virol.* 54: 192, 1998.
67. Baay, M.F., et al.: Relation between HPV-16 serology and clinico-pathological data in cervical carcinoma patients: prognostic value of anti-E6 and/or anti-E7 antibodies. *Cancer Immunol. Immunother.* 44: 211, 1997.
68. Hamšíková, E., et al.: Prevalence of antibodies to human papillomaviruses in the general population of the Czech Republic. *Int J Cancer* 77: 689, 1998.
69. Tachezy, R., et al.: Human papillomavirus genotype spectrum in Czech women: correlation of HPV DNA presence with antibodies against HPV-16, 18, and 33 virus-like particles. *J. Med. Virol.* 58: 378, 1999.
70. de-Sanjose, S., et al.: Serological response to HPV16 in CIN-III and cervical cancer patients. Case-control studies in Spain and Colombia. *Int. J. Cancer* 66: 70, 1996.
71. Viladiu, P., et al.: Human papillomavirus DNA and antibodies to human papillomaviruses 16 E2, L2, and E7 peptides as predictors of survival in patients with squamous cell cervical cancer. *J. Clin. Oncol.* 15: 610, 1997.
72. Brinton, L.A.: Epidemiology of cervical cancer - overview. In: Munoz, N., et al. (eds): *The epidemiology of cervical cancer and human papillomavirus.* Lyon, IARC 1992, s.3.
73. Koss, L.G., et al.: Unusual patterns of squamous epithelium of the uterine cervix and pathologic study of koilocytotoxic atypia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 63: 1245, 1956.
74. McArdle, J.P., et al.: Quantitative assessment of Langerhans' cells in human cervical intraepithelial neoplasia and wart virus infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 154: 509, 1986.
75. Stern, P.L.: Immunity to human papillomavirus – associated cervical neoplasia. *Advances in Cancer Research* 69, 175, 1996.
76. National Cancer Institute Workshop: The Bethesda System for reporting cervical/vaginal diagnoses. *JAMA* 262: 931, 1989.
77. Sherman, M.E., et al.: Toward objective quality assurance in cervical cytopathology. Correlation of cytopathologic diagnoses with detection of high- risk human papillomavirus types. *Am. J. Clin. Pathol.* 102: 182, 1994.
78. Koss, L.G.: The Papanicolaou test for cervical cancer detection. A triumph and a tragedy. *JAMA* 261: 737, 1989.

79. Engeland, A., et al.: Prediction of cancer incidence in the Nordic countries up to the years 2000 and 2010. *Acta Pathol., Microbiol. et Immunol. Scandinavica* 101 (suppl.38): 1993.
80. Hakama, M., et al.: Effect of organized screening on the risk of cervical cancer in the Nordic Countries. In: Miller, A., et al. (eds): *Cancer Screening*. Cambridge, Cambridge University Press, 1991, s.153.
81. Tachezy, R.: Molekulární diagnostika amolekulární epidemiologie papillomavirů. *Remedia-Klin. Mikrobiol.* 1: 219, 1997.
82. Miller, R.L., et al.: Imiquimod applied topically: a novel immune response modifier and new class of drug. *Int. J. Immunopharmacol.* 21: 1, 1999.
83. McNeil, C.: HPV vaccine treatment trials proliferate, diversify [news]. *J Natl. Cancer Inst.* 89: 280, 1997.
84. Mach, M., et al.: Human Cytomegalovirus: Recent aspects from molecular biology. *J.Gen.Virol.* 70: 3117, 1989.
85. Taylor-Wiedeman, J., et al.: Monocytes are major site of persistence of human cytomegalovirus in peripheral blood mononuclear cells. *J.Gen.Virol.* 72: 2059, 1991.
86. Maciejewski, J.P., et al.: Infection of mononucleated phagocytes with human cytomegalovirus. *Virology* 195: 327, 1993.
87. Stein, J., et al.: Tumor necrosis factor stimulates activity of the human cytomegalovirus major immediately early enhancer/promoter in immature monocytic cells. *J.Gen.Virol.* 74: 2333, 1993.
88. Albrecht, T., et al.: Cell activation responses to cytomegalovirus infection: relationship to phasing of CMV replication and to the induction of cellular damage. *Subcell. Biochem.* 15: 157, 1989.
89. Landini, M.P. and Michelson, S.: Human cytomegalovirus proteins. *Progr.Med.Virol.* 35: 152, 1988.
90. Yamashita, Y., et al.: Down regulation of the surface expression of class I MFC antigens by human cytomegalovirus. *Virology* 193: 727, 1993.
91. Grundy, J.E., et al.: Cytomegalovirus-infected endothelial cells recruit neutrophils by secretion C-X-C chemokines and transmit virus by direct neutrophil-endothelial cell contact and during neutrophil transendothelial migration. *J.Infect Dis.* 177: 1465, 1998.
92. Bácsi A., et al.: Placental macrophage contact potentiate complete replicative cycle of human cytomegalovirus in syncytiotrophoblast cells. *Acta Microbiol. Immunol. Hungar.* 46: 371, 1999.
93. Roubalová, K. and Seeman, J.: Serologický přehled protilátek proti herpetickým virům CMV, EBV a VZV. *Zprávy CEM, příloha 1*: 29, 1998.
94. Shen, C.Y., et al.: Cervical cytomegalovirus infection in prostitutes and women attending a sexually transmitted disease clinic. *J.Med.Virol.* 43: 362, 1994.
95. Hamprecht, K., et al.: Cytomegalovirus reactivation during lactation: risk factors for transmission to preterm infants. *Acta Microbiol. Immunol. Hungar.* 46: 404, 1999.
96. Lee, P.I., et al.: Transfusion-acquired cytomegalovirus infection in children in a hyperendemic area. *J. Med. Virol.* 36: 49, 1992.
97. Muller, G.A., et al.: Human cytomegalovirus infection in transplantation. *Nephron* 64: 343, 1993.
98. Katlama, C.: Cytomegalovirus infection in Acquired immune deficiency syndrome. *J.Med.Virol. Suppl.* 1: 128, 1993.

99. Andersson ,J.: Cytomegalovirus infection in pregnancy. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.*71: 67, 1990.
100. Cointe, D., et al.: Prenatal diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *Acta Microbiol. Immunol. Hungar.* 46: 385,1999.
101. Landini, P.: Congenital CMV infection. Abstract, 3rd Annual meeting of the ESCV, Budapest, September 1999.
102. Rothe, M., et al.: Anti gB 116 (UL55)-IgG. A HCMV specific seromarker assists differentiation of primary and secondary infection. *Acta Microbiol. Immunol. Hungar.* 46: 445, 1999.
103. Grangeot-Keros, L., et al.: Value of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity index for the diagnosis of primary CMV infection in pregnant women. *J. Infect. Dis.* 175: 944, 1997.
104. Gerna, G., et al.: Diagnosis of human cytomegalovirus infection in the immunocompromised host. *Clin. Diagnost. Virol.* 5: 181, 1996.
105. Revello, M.G., et al.: Improved prenatal diagnosis of congenital human cytomegalovirus infection by modified nested polymerase chain reaction. *J. Med. Virol.* 56: 99, 1998.
106. Nelson, C.T., et al.: PCR detection of cytomegalovirus DNA in serum as diagnostic test for congenital cytomegalovirus infection. *J. Clin. Microbiol.* 33: 3317, 1995.
107. Best,J.M.: Laboratory diagnosis of intrauterine and perinatal virus infection. *Clin. Diagnost. Virol.* 5: 121, 1996.
108. Peckham, C.S.: Cytomegalovirus in neonate. *J. Antimicrob. Chemotherap.* 23: suppl.E, 17, 1989.
109. Griffiths, P.: Current management of cytomegalovirus disease. *J. Med. Virol. Suppl.*1: 106, 1993.
110. Revello, M.G., et al.: Prenatal treatment of congenital infection by fetal intravascular administration of gancyclovir. *Clin. Diagnost. Virol.* 1: 61, 1993.
111. Davidson, A.J.: Herpesvirus genes. *Rev. Med. Virol.* 3: 237, 1993.
112. Cushing ,H.: The surgical aspects of major neuralgia of the trigeminal nerve. *JAMA* 44: 1002, 1995.
113. Rock, D.L.: The molecular basis of latent infections by alphaherpesviruses. *Virology* 4: 157, 1993.
114. Suchánková, A., et al.: Determination of Herpes simplex virus type-specific antibodies by solid-phase RIA on Helix pomatia lectin purified antigens. *J. Infect. Dis.* 149: 964, 1984.
115. Cowan,F.M., et al.: Relationship between antibodies to herpes simplex virus (HSV) and symptoms of HSV infection. *J. Infect. Dis* 174: 470, 1996.
116. Smith, J.R.,et al.: The management of herpes simplex virus infection in pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 105: 255, 1998.
117. Lissauer, T.J., et al.: Neonatal herpes simplex pneumonia. *Arch. Dis. Child.* 59: 668, 1984.
118. Wald, A., et al.: Frequent genital herpes simplex virus 2 shedding in immunocompetent women. *J. Clin. Invest.* 99: 1092, 1997.
119. Ashley, R.L.: Laboratory techniques in the diagnosis of herpes simplex infection. *Genitourin. Med.* 69: 174, 1993.
120. Whitley, R., et al.: The National Institute of Allergy and Infectious Diseases Collaborative Antiviral study group. Predictor of morbidity and mortality in neonates with herpes simplex virus infections. *N. Engl. J. Med.* 324: 450, 1991.
121. Nash, A.A. and Cambouropoulos, P.: The immune response to herpes simplex virus. *Virology* 4: 181, 1993.

122. Wald, A.: New therapies and prevention strategies for genital herpes. *J. Infect. Dis.* 28, Suppl.1: S4, 1999.