

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ
Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B 5345

Jana Karpíšková

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

ZOONÓZY

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, PhD.

PLZEŇ 2018

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité
rameny jsem uvedla v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 29. 3. 2018

.....

vlastnoruční podpis

Poděkování:

Mé poděkování patří vedoucímu práce RNDr. Karlu Fajfrlíkovi, PhD., za cenné rady, věcné připomínky, odborný dohled, vstřícnost, konzultace, ochotu a věnovaný čas.

Anotace

Příjmení a jméno: Jana Karpíšková

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Zoonózy

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, PhD.

Počet stran: číslované 50

nečíslované 17

Počet příloh: 1

Počet titulů použité literatury: 23

Klíčová slova: zoonózy, infekční onemocnění, laboratorní diagnostika

Souhrn:

Bakalářská práce se zabývá charakteristikou vybraných zoonóz a možnostmi jejich diagnostiky v daných biologických materiálech. Dále se zabývá virovými, bakteriálními a parazitárními zoonózami, které se pravidelně vyskytují na území České republiky, ale i mimo ni, kdy se s nákazami můžeme setkat během pobytů v cizině. V teoretické části jsem se zaměřila na infekční a epidemický proces zoonóz, následně jsem se věnovala popisu nejznámějších zoonóz. V praktické části jsem se seznámila s diagnostikou vybraných nálezů. Následně jsem vyhodnotila data za sledované období na celém území České republiky. Z dalších získaných dat jsem porovnávala počet žádostí o vyšetření s pozitivními vzorky v MÚ FN Plzeň za minulý rok. Získané pozitivní výsledky v kraji jsem porovnávala s celostátním výskytem nákazy.

Annotation

Surname and name: Jana Karpíšková

Department: Department of Rescue Services, Diagnostic Fields and Public Fields

Title of thesis: Zoonoses

Consultant: RNDr. Karel Fajfrlík, PhD.

Number of pages: numbered 50
 unnumbered 17

Number of appendices: 1

Number of literature items used: 23

Key words: zoonoses, infectious illness, laboratory diagnostics

Summary:

Bachelor thesis deals with characteristics of zoonoses–diseases that can be transmitted from animals to humans. According to initiators they can generally be divided into viral, bacteria and parasites. Infectious agents, possible sources of diseases, transmission ways, clinic and laboratory diagnostics, chances and methods of anti-epidemiological measures and therapies are introduced in individual chapters. Significant attention is paid to diseases that are found more frequently on our territory or to diseases that are imported to Czech Republic. Practical part is dedicated to diagnostics of these diseases that are performed routinely in Czech Republic. Data of occurrence of selected diseases from the period 2008 – 2017 are published here. This work was elaborated in Microbiological department of teaching hospital in Pilsner. Furthermore current number of diagnosed diseases in this department is stated in the work.

Obsah

ÚVOD	11
TEORETICKÁ ČÁST	12
1 Zoonózy	12
1.1 Vstup nákazy do organismu	12
1.1.1 Kůže.....	12
1.1.2 Sliznice	13
1.1.3 Oční spojivka.....	13
1.2 Epidemiologie a výskyt	13
1.3 Průběh infekce a patogenita.....	14
1.4 Diagnostika klinická a laboratorní.....	15
1.4.1 Přímý průkaz	16
1.4.1.1 Mikroskopie.....	16
1.4.1.1 Kultivace.....	17
1.4.1.2 Průkaz nukleových kyselin.....	17
1.4.1.3 Průkaz antigenu	17
1.4.2 Nepřímý průkaz	18
1.4.2.1 Aglutinace.....	18
1.4.2.2 Precipitace	18
1.4.2.3 Imunoenzymatické techniky (ELISA reakce)	18
1.4.2.4 Western blot.....	19
1.4.2.5 Imunofluorescence.....	19
1.5 Prevence nákaz	19
2 Zoonózy virového původu.....	21
2.1 Klíšťová encefalitida	21
2.1.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita	21
2.1.2 Diagnostika, prevence a léčba	21
2.2 Vzteklna.....	22
2.2.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita	22
2.2.2 Diagnostika, prevence a léčba	22
2.3 Ebola.....	23
2.3.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita	23
2.3.2 Diagnostika, prevence a léčba	24

3	Zoonózy bakteriálního původu	25
3.1	Kampylobakteriíza.....	25
3.1.1	Epidemiologie, patogeneze a patogenita	25
3.1.2	Diagnostika, prevence a léčba	25
3.2	Tularémie.....	26
3.2.1	Epidemiologie, patogeneze a patogenita	26
3.2.2	Diagnostika, prevence a léčba	26
3.3	Lymeská boreliíza.....	27
3.3.1	Epidemiologie, patogeneze a patogenita	27
3.3.2	Diagnostika, prevence a léčba	28
3.4	Salmonelíza	28
3.4.1	Epidemiologie, patogeneze a patogenita	28
3.4.2	Diagnostika, prevence a léčba	29
3.5	Antrax	30
3.5.1	Epidemiologie, patogeneze a patogenita	30
3.5.2	Diagnostika, prevence a léčba	30
3.6	Mor	31
3.6.1	Epidemiologie, patogeneze a patogenita	31
3.6.2	Diagnostika, prevence a léčba	32
3.7	Leptospirízy	32
3.7.1	Epidemiologie, patogeneze a patogenita	32
3.7.2	Diagnostika, prevence a léčba	33
3.8	Listeriíza	34
3.8.1	Epidemiologie, patogeneze a patogenita	34
3.8.2	Stanovení, prevence a léčba.....	34
4	Zoonózy parazitárního původu	36
4.1	Toxoplasmíza.....	36
4.1.1	Epidemiologie, patogeneze a patogenita	36
4.1.2	Diagnostika, prevence a léčba	37
4.2	Toxokaríza	38
4.2.1	Epidemiologie, patogeneze a patogenita	38
4.2.2	Diagnostika, prevence a léčba	38
4.3	Echinokokíza	39

4.3.1	Epidemiologie, patogeneze a patogenita	39
4.3.2	Diagnostika, prevence a léčba	40
PRAKTICKÁ ČÁST	41	
5	Seznámení s praktickou částí.....	41
5.1	Cíl práce.....	41
5.2	Hypotézy.....	41
6	Metodika.....	42
6.1	Diagnostika tularémie.....	42
6.1.1	Rychlá aglutinace	42
6.1.2	Pomalá aglutinace.....	43
6.2	Diagnostika toxoplasmózy	43
6.2.1	Diagnostika pomocí komplement fixační reakce	44
6.2.2	Diagnostika pomocí ELISA	45
6.3	Diagnostika klíšťové encefalitidy.....	46
6.3.1	Diagnostika pomocí KFR.....	46
6.3.2	Diagnostika pomocí ELISA	47
6.4	Diagnostika lymeské boreliózy	48
6.4.1	Diagnostika pomocí ELISA	48
6.4.2	Diagnostika pomocí western blot	50
7	Zhodnocení výsledků.....	52
7.1	Výskyt zoonóz v ČR za období 2008 - 2017.....	52
7.2	Výskyt zoonóz v MÚ FN Plzeň za rok 2017.....	53
7.3	Srovnání MÚ FN Plzeň s ČR	55
8	Diskuze.....	59
Závěr	61	
Zdroje:	63	
Seznam použitých zkratk	65	
Seznam tabulek.....	66	
Seznam grafů	67	
Seznam příloh	68	
Přílohy	69	

ÚVOD

Zoonózy jsou onemocnění přenášená ze zvířat na člověka.

Celosvětově se vyskytuje kolem 200 známých zoonóz. Patří k nim Creutzfeld-Jakobova nemoc, arbovirózy, žlutá zimnice, mor, ebola, horečka dengue, japonská encefalitida, západonilská horečka, australská encefalitida, konžská hemoragická horečka, vzteklna, prasečí chřipka, ptačí chřipka, SARS, filariózy, melioidióza, mikrosporidióza, ornitóza, paragonimóza, vohřivka, horečka cucugamuši, pasteurelóza, paragonimóza, Q horečka, skvrnitý tyfus, ehrlichioza, brucelóza, červenka, fasciolóza, kryptokokóza, spavá nemoc. Rozhodně není seznam úplný, zoonóz existuje velké množství, ale tento seznam by byl mnohonásobně delší. Jedná se o zdravotně více či méně nebezpečné nemoci.

V České republice je četnost jejich výskytu nižší, ale zdravotníci musí být připraveni na případný import jakéhokoliv výše jmenovaného onemocnění. Běžně se u nás diagnostikuje campylobakteriíza, listeriíza, salmonelíza, boreliíza, klíšťová encefalitida, toxoplazmóza, leptospiríza, yersiniíza, teniíza, vzácněji pak psitakóza, trichinelóza, botulismus, kryptosporidiíza a zatím převážně jako import echinokokóza a cysticerkóza. V České republice se výskyt zoonóz monitoruje a většina z nich podléhá povinnému hlášení do systému EPIDAT. Celkový trend jejich výskytu je rok od roku nižší vzhledem k měnícímu se stylu života – méně častému kontaktu s rezervoáry. Mohou se vyskytovat i výjimky. Rozhodující vliv na jejich četnost má způsob přenosu.

Ve své práci jsem se zaměřila jen na nejzajímavější zoonózy a na ty, které se vyskytují v ČR nejčastěji. Obsáhnout a popsat všechny výše jmenované by bylo nad rámec této publikace.

TEORETICKÁ ČÁST

1 Zoonózy

Zoonózy jsou nemoci, které se přenášejí z nakaženého zvířete na člověka. Zdrojem nákazy je obratlovec, který vylučuje agens močí, slinami, krví, mlékem, defekací a hnísem. Mezilidský přenos je vzácný, ale i tak se může vyskytovat, příkladem je Ebola a mor. Počet objevených zoonóz neustále roste, v dnešní době je jich kolem 200. V České republice počet zaznamenaných případů zoonóz se ročně snižuje a některé nemoci se na našem území nevyskytují vůbec (Hubálek, 2014). Zoonózy lze rozdělit do dvou skupin podle zdroje infekce. Prvním zdrojem infekce jsou domácí zvířata a druhým zdrojem jsou volně žijící zvířata. V rozvojových zemích, ale kvůli špatné hygieně, se počet zoonóz každoročně zvyšuje. V minulosti se v oblasti dnešní České republiky vyskytlo několik epidemií, převážně moru ve středověku. V průběhu let se spektrum původců onemocnění mění. Některá agens jsou vymýcená, jiná se nově objevují nebo rozpoznávají (Podstatová, 2009).

1.1 Vstup nákazy do organismu

Pro propuknutí nákazy musí vniknout infekční agens do organismu. Přenos infekčního agens probíhá několika způsoby. U přenosu zoonóz členovci se jedná o mechanický přenos, protože svým sosákem mohou vniknout do organismu. Mechanický vstup může být i v případě, když dojde k pokousání od zvířete nakaženého vzteklinou (Göpfertová, 2006). Hlavním vstupem do organismu je porušený povrch kůže, sliznice respiračního a alimentárního traktu. Infekční agens může do organismu dále vniknout urogenitálním traktem a oční spojivkou (Hubálek, 2014).

1.1.1 Kůže

Kůže je hlavní bariérou, která chrání člověka před proniknutím mikroorganismů do těla. Přes zdravou kůži dokážou onemocnět přenášet pouze organismy, kteří poruší celistvost kůže. Jedná se především o hematofágní členovce, jako jsou komáři, klíšťata, blechy a roztoči. K přenosu zoonóz dochází také přes poškozenou kůži pokousáním nebo poškrábáním, kdy je narušena její celistvost (Votava, 2010).

1.1.2 Sliznice

Veškeré sliznice v těle brání průniku mikroorganismů do těla. Jejich stavba k tomu napomáhá. Hlen na povrchu brání mikroorganismům k přímému styku s epitelii. Rychlá obměna buněk slouží k odstraňování mikroorganismů z povrchu epitelii. Mikroorganismy pronikají do těla přes porušenou slizniční vrstvu (Votava, 2010).

Sliznicí respiračního traktu vniká agens spolu s vdechovaným prachem nebo aerosolem. Rozptýlené agens ve vzduchu se nachází i několik metrů od zdroje nákazy. Agens následně proniká z alveolů do krve (Hubálek, 2014). Dýchací cesty se brání proti proniknutí agens do plic několika mechanismy. Velké částice se zachytí v nose a pomocí kýchnutí se odstraní. Menší částice přilnou k hlenu v trachei a v bronších, pak jsou pohybem řasinek odnášeny a spolu s hlenem vykašlány nebo spolknuty. Nejmenší částice, které projdou do plicních sklípků, jsou pohlceny makrofágy (Votava, 2010).

Alimentárním traktem neboli perorálně vniká agens do organismu nakaženými živočišnými potravinami (vejce, maso a mléko) a kontaminovanou vodou (Hubálek, 2014). Sliny v dutině ústní odplavují mikroorganismy a nedochází k jejich hromadění. Ve slinách se nachází enzymy, které proniklé mikroorganismy hubí. Důležitou roli v obraně před infekcí hraje také normální mikroflóra dutiny ústní. Nízké pH žaludku působí antibakteriálně a je hlavním faktorem obrany proti mikroorganismům. Střevní sliznice brání před mikroorganismy rychle se odlupujícími epitelii a tvorbou hlenu. Infekční agens může do organismu proniknout porušeným povrchem orgánů (Votava, 2010).

1.1.3 Oční spojivka

Nákaza přes oční spojivku se vyskytuje jen zřídka a jen u některých zoonóz. Mezi ně patří brucelóza, tularemie a další (Hubálek, 2014). Spojivku chrání před infekcí pouze mrkání a slzy, které obsahují lysozym, laktoferin a sekreční protilátky IgA (Votava, 2010).

1.2 Epidemiologie a výskyt

Epidemiologie zkoumá výskyt infekčních nemocí v lidské populaci, příčinu vzniku a šíření nálezů. Následně hledá a uplatňuje nejlepší metody k jejich předcházení (Podstatová, 2009). Epidemiologie popisuje rozložení onemocnění v lidské populaci.

Zkoumá faktory, které ovlivňují cestu přenosu nákazy. Faktory ovlivňující přenos infekce mohou být biologické, kdy záleží na druhu agens. Faktory na straně člověka, které ovlivňují pravděpodobnost vzniku onemocnění, mohou být ovlivnitelné i neovlivnitelné. K ovlivnitelným faktorům patří psychika, stres, výživa a pohyb. Mezi neovlivnitelné faktory patří věk, pohlaví a jiná onemocnění. Na možnost výskytu onemocnění má vliv okolní prostředí, které závisí na teplotě, vlhkosti, slunečním svitu a podnebném pásu (Göpfertová, 1999).

Podle rozsáhlosti území, kde se onemocnění vyskytuje, a času, ve kterém se daná nemoc vyskytla, se rozlišuje několik způsobů:

Sporadický výskyt nemoci znamená, že nemoc se objeví jen výjimečně. Souvislost místa a času zde není (Podstavová, 2009).

Endemický výskyt nemoci znamená, že daná nemoc se dlouhodobě nebo trvale vyskytuje na určitém území, ale bez časové souvislosti. V České republice se endemicky vyskytuje klíšťová encefalitida. Ve světě se například endemicky vyskytuje mor v určitých částech Asie (Podstavová, 2009).

Epidemický výskyt nemoci znamená, když se nemoc vyskytuje hromadně. Má časovou i místní souvislost. Dochází během několika hodin a dní k rychlému nárůstu počtu nemocných. Epidemickým výskytem jsou charakteristické chřipky (Podstavová, 2009).

Pandemický výskyt znamená, že nemoc postihla více států nebo kontinentů. Jedná se o epidemický výskyt nemoci v různých státech a kontinentech. V současné době je největší obava z pandemického výskytu chřipky (Podstavová, 2009).

1.3 Průběh infekce a patogenita

Patogenitou je nazývána schopnost agens vyvolat ve vnímavém jedinci určité onemocnění. Vnímavý jedinec je takový jedinec, u kterého dojde při styku s infekčním agens k vyvolání nemoci. U rezistentního jedince nedochází k vyvolání nemoci při styku s infekčním agens. Infekční agens nemá afinitu k určitému živočišnému druhu. Rezistentní jedinec je buď primárně odolný proti konkrétnímu onemocnění, nebo rezistenci získá po očkování, či může mít vytvořené protilátky z předchozího onemocnění. Infekční agens, které napadá pouze jedince, u nichž došlo důsledkem jiného onemocnění nebo psychického stavu k oslabení imunity, se nazývají potenciálně patogenní nebo oportunně patogenní.

Vnímavost jedince záleží kromě živočišného druhu i na jeho aktuálním psychickém stavu. Stupeň patogenity je odlišný v závislosti na antigenní variabilitě, mutabilitě a rekombinaci (Hubálek, 2014).

Infekce zpravidla začíná vniknutím agens do těla hostitele buď porušenou kůží, nebo některými sliznicemi. Po vniknutí agens do organismu se agens pomnoží a dál šíří v těle hostitele. Doba mezi proniknutím a prvními příznaky se jmenuje inkubační doba. Inkubační doba může být jen několik hodin ale třeba i několik dní, záleží na typu mikroorganismu a makroorganismu. Rozlišují se dva typy onemocnění – manifestní neboli zjevné a inaparentní neboli skryté (Hubálek, 2014).

Při manifestním onemocnění se nemoc často projevuje svými typickými příznaky. Před nástupem typických příznaků se mohou objevovat nespecifické příznaky jako je únava, horečka, bolest hlavy a další, jedná se o prodromální stádium. Po prodromálním stádiu následuje stádium klinické manifestace, kdy se nemoc projevuje svými typickými příznaky. Laboratorní diagnostikou můžeme zjistit samotný výskyt patogenu nebo protilátky vytvořené imunitní systémem proti infekčnímu agens. Klinické stádium může probíhat různou rychlostí a intenzitou. Pravděpodobnost nákazy ostatních jedinců je pro jednotlivá onemocnění odlišná. Po klinickém manifestním stádiu následuje stádium rekonvalescence. Ve fázi rekonvalescence odeznívají příznaky nemoci a dochází k opětovnému uzdravování hostitele (Podstatová, 2009).

Inaparentní neboli bezpříznakovou infekci nedoprovázejí žádné typické příznaky a její diagnóza je složitá, protože na onemocnění se přijde náhodou. Lidé, kteří mají inaparentní infekci, jsou pro okolí potenciálně nebezpeční, protože dochází k vylučování mikroorganismů do vnějšího okolí a ostatní se tak mohou nakazit. Samotní nemocní ani nemusí vědět, že danou nemoc mají (Podstatová, 2009).

1.4 Diagnostika klinická a laboratorní

Pro správně identifikovanou nemoc je důležitá diagnostika. Může se jednat o diagnostiku podle typických klinických příznaků. Nejsou-li tyto příznaky jednoznačné, je nutné laboratorní potvrzení nebo vyloučení nákazy. Jedná se o průběh od podezření z onemocnění až po stanovení samotné diagnózy. Přesná diagnostika je nutná k následné léčbě, kdy klademe důraz na účinnost antibiotik, ostatních antiinfektiv a na zamezení šíření nemoci (Podstatová, 2009).

Při klinické diagnostice zjišťuje lékař příčinu pacientova onemocnění. Ptá se ho na místo pohybu, zaměstnání, turistické cesty, zahraniční dovolené, konzumovanou stravu, kontakt se zvířaty a poštípání hmyzem. Následně lékař provádí fyzikální vyšetření, při němž pohmatem, pohledem a poklepem zjišťuje velikost lymfatických uzlin, zbarvení kůže a bolestivost vnitřních orgánů. Podle vyšetření lékař stanovuje domnělou diagnózu, kterou si ověří laboratorním vyšetřením. K laboratornímu vyšetření lékař vypíše žádanku, jaké infekční agens chce stanovit (Černý, 1997).

Pro laboratorní diagnostiku je důležitý odběr materiálu, který má zásadní vliv na určení nemoci, protože bez správně odebraného vzorku nemůžeme vydat správný výsledek. Důležité je, aby v odebraném materiálu byl nalezen původce nákazy nebo alespoň jeho produkty, které určí druh mikroba. Ve vzorku se mohou vyskytovat specifické protilátky určující druh agens. K odběru materiálu je nutná znalost klinických projevů nemoci a její patogenita. Mezi nejčastěji odebíraným vzorkům patří výtěry sliznic z nosu a nosohltanu, hnis, moč, stolice, sputum, zvratky, mozkomíšní mok a krev (Podstatová, 2009).

Podle vlastností mikroorganismu se musí zvolit vhodná metoda pro jeho izolaci a následnou detekci. Při špatném odběru materiálu může dojít k jeho neprokázání a určení vzorku jako negativního. K průkazu mikroorganismu ve vzorku se používá přímý nebo nepřímý průkaz, záleží na materiálu, který byl odebrán (Podstatová, 2009).

1.4.1 Přímý průkaz

Při přímém průkazu se ve vzorku zjišťuje přítomnost infekčního agens nebo jeho složek. K těmto metodám patří mikroskopický průkaz, kultivace, průkaz antigenů, nukleových kyselin a případně chemické produkty mikroba (Votava, 2010).

1.1.1.1 Mikroskopie

K základním diagnostickým metodám patří mikroskopie. Pro pozorování mikroorganismů se může použít nativní preparát. Nativní preparáty se používají především v parazitologii, kde se sledují pohyby a morfologie parazita. Častěji se však používá obarvený preparát. Barevný preparát se barví podle základních vlastností daného mikroorganismu, který chceme detekovat. K nejpoužívanějšímu barvení bakterií patří barvení dle Grama, podle něhož se dělí bakterie na grampozitivní a gramnegativní.

K dalšímu hojně se využívajícímu barvení patří barvení dle Ziehla-Neelsena. Toto barvení se používá při barvení acidorezistentních mikrobů, především u rodu *Mycobacterium*. Prvoci se prokazují barvením dle Giemsky. Mikroskopická diagnostika má ale hlavně v bakteriologii velká omezení a musí být doplněna o další vyšetření. Většinou má jen orientační funkci (Votava, 2010).

1.4.1.1 Kultivace

V bakteriologii se jedná o základní diagnostickou metodu. Většinu bakterií lze pěstovat na kultivačních půdách. Půdy jsou různě obohaceny podle potřeb bakterie. Podle konzistence je rozdělujeme na tekuté a pevné. K základním tekutým půdám patří bujon a peptonová voda. Mezi základní pevné půdy patří živný agar. Specifické jsou obohacené půdy a nejčastěji se používá krevní agar, Endova půda, XLD, DC agar, vaječné půdy a půdy obohacené sacharidy. Podle složení, které umožňuje růst jen některých bakterií, se mohou dělit na selektivní a diagnostické. Na selektivní půdě roste jen určitý mikroorganismus a růst ostatních je zastaven. Diagnostická půda slouží k přesnému určení daného mikroba (Votava, 2010).

1.4.1.2 Průkaz nukleových kyselin

Moderní metodou je stanovení DNA mikroorganismu nebo její části pomocí PCR (polymerázové řetězové reakce). Při PCR dochází k mnohonásobnému zmnožení dané DNA. PCR se používá, pokud je mikroorganismus těžko detekovatelný nebo je složité vytvořit podmínky pro jeho růst, případně se detekovat jinou metodou nedá. Další metodou ke zjištění DNA je genová sonda. Sonda je část komplementární DNA, která se hybridizuje na určitý úsek DNA. Po navázání se sonda zviditelní a je detekovatelná v mikroskopu. Tyto metody jsou používány stále častěji. Jejich výhodou je rychlost stanovení a specifická, nevýhodou vyšší cena vyšetření (Votava, 2010).

1.4.1.3 Průkaz antigenu

V patientském séru nebo jiných tekutinách se může detekovat přítomnost antigenu mikroorganismu. Jedná se o reakci mezi protilátkou a antigenem. Pro stanovení je nutné mít známou protilátku. Protilátku lze získat imunizací pokusného zvířete příslušným antigenem nebo technologií buněčných hybridomů. Technologie buněčných hybridomů

je nákladnější, ale získá se monoklonální protilátka, která je vysoce specifická pro jediný antigen. Mezi typy reakcí k průkazu antigenů patří aglutinace na nosičích a reakce se značenými složkami (Votava, 2010).

1.4.2 Nepřímý průkaz

U nepřímého průkazu se stanovují protilátky, které si organismu vytvořil proti danému mikroorganismu a vyskytují se v těle i po jeho odumření. K nejpoužívanějším metodám využívajícím nepřímý průkaz patří aglutinace, ELISA, imunofluorescence, precipitace a Western blot (Votava, 2010).

1.4.2.1 Aglutinace

Při aglutinaci dochází ke shlukování protilátky a antigenu v komplex, který je pak detekovatelný. Pro detekci protilátek se používají specifické antigeny, které reagují s protilátkou. Pomocí aglutinace je detekována i nízká koncentrace protilátky. Výsledkem je komplex, který tvoří shluky. Shluky klesají ke dnu a dochází tím k vyčerpání tekutiny (Votava, 2010).

1.4.2.2 Precipitace

Precipitace je serologická reakce, kdy je antigen koloidní povahy. Vzájemnou vazbou mezi protilátkou a antigenem vznikají velké prostorové útvary, které se v roztoku neudrží a vypadnou z něho jako sraženina, čili precipitát. Pro vznik precipitátu je potřeba, aby obě složky reakce byly v optimálním poměru. Precipitát je tvořen hlavně molekulami protilátky, které jsou navzájem pospojovány molekulami antigenu. K vytvoření precipitátu může dojít jen při dostatečném množství protilátky. Proto se tato reakce používá k průkazu protilátek jen v malé míře (Votava, 2010).

1.4.2.3 Imunoenzymatické techniky (ELISA reakce)

K nejčastěji používaným metodám v laboratořích v současnosti patří imunoenzymatické testy, nejnámější je metoda ELISA. Tato metoda využívá barevně znázorněné protilátky, které jsou ve výsledku detekované, následně se intenzity zabarvení určuje koncentrace dané protilátky. ELISA má dvě varianty, nekompetitivní a kompetitivní. Při kompetitivní ELISA reakci soupeří barevný konjugát s protilátkou

v séru o navázání na antigen, který je navázán v jamce destičky. U nekompetitivní ELISA se váže protilátka na navázaný antigen v jamce. Po vymytí nenavázané protilátky se přidá do jamky značený konjugát. Konjugát se naváže jen na místa, kde je komplex antigen a protilátka. U obou variant vzniká barevné zabarvení, které se fotometricky detekuje a určuje se koncentrace protilátky v séru (Votava, 2010).

1.4.2.4 Western blot

Western blot se užívá v serologii infekčních nemocí k charakterizaci protilátkové odpovědi proti mnohočetným antigenům mikrobiálního původu. Jde o techniku, kdy se rozdělí hrubý mikrobiální antigenní preparát na řadu složek. Výsledkem reakce jsou barevné proužky na membráně, které vznikly reakcí mezi antigenem a protilátkou. Metoda se využívá k nepřímému stanovení lymeské boreliózy a k věření výsledků z metody ELISA (Votava, 2010).

1.4.2.5 Imunofluorescence

Imunofluorescence je serologická metoda, při které je jedna ze složek značena fluorescenčním barvivem. Výsledek se odečítá pomocí fluorescenčního mikroskopu. V laboratořích se k průkazu protilátek používá nepřímá a antikomplementová imunofluorescence (Votava, 2010).

1.5 Prevence nález

Hlavní prevencí u zoonóz přenášených alimentárně je správná úprava potravin. Jedná se především o výrobky živočišného původu, které v sobě mohou mít infekční agens. Důležitá je u těchto produktů správná tepelná úprava, která případné infekční agens zahubí a výrobek je následně zdravotně nezávadný. Právě kvůli špatně tepelně upraveným potravinám dochází v letních měsících ke zvýšení počtu salmonelóz a kampylobakteióz (Hubálek, 2014). Důležitou ochranou před nákazou je i osobní prevence. Jedinec by měl být opatrný před vstupem do přírody, měl by použít správný oděv a repelent. V poslední době je prevence zaměřena i na očkování. Očkování se provádí například proti klíšťové encefalitidě. Zvířata se imunizují proti vzteklině a tularémii (Podstatová, 2009). Úplná eradikace zoonóz není možná, protože by se musela proočkovat celá populace lidí a zvířat,

což je velice náročné a ve většině případů nereálné. Ke globální eradikaci došlo jen u pravých neštovic (Hubálek, 2014).

2 Zoonózy virového původu

2.1 Klíšťová encefalitida

2.1.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita

Původcem onemocnění je virus klíšťové encefalidity. Virus se přenáší přes přisáté klíště *Ixodes ricinus*, jednat se může o všechna vývojová stádia kromě samečků. Největší pravděpodobnost setkání s infikovaným klíštětem je v mírném podnebném pásu v listnatých a smíšených lesích, ale i na lukách (Růžek, 2015).

Člověk se nakazí virem ve slinách klíštěte po jeho přisátí na kůži. Virus se množí v mízních uzlinách, odkud se rozšíří do centrálního nervového systému. Při první viremické fázi probíhají nespecifické chřipkové příznaky, jako jsou vyšší teplota nebo bolest hlavy. Tyto příznaky následně odezní a nemocný nepocítuje žádné zdravotní potíže. Vlastní příznaky nemoci se objevují až ve druhé fázi, kdy už se dostávají obvyklé příznaky tohoto onemocnění, jako je meningitida nebo encefalomyelitida (Růžek, 2015). Virus napadá mozkové pleny a mozek, onemocnění se nazývá meningoencefalitida. Následky po prodělané nemoci mohou být různé. Nemusí se objevit žádné, ale mohou v některých případech zůstat trvalé následky, jako je obrna nebo jiné nervové poruchy. Ve výjimečných případech může dojít ke smrti (Votava, 2003).

2.1.2 Diagnostika, prevence a léčba

Vyšetření materiálu pobíhá přímým nebo nepřímým průkazem. Pro stanovení infekce přímým průkazem se v rané fázi odebírá krev a v pozdější fázi se odebírá likvor. Pro nepřímý průkaz infekce nabíráme krev (Votava, 2010).

Pro izolaci viru se používají malá myšata, kterým se do mozku vpraví krev pacienta. V myším mozku se vir zmnoží a z odebraného likvoru se stanoví, jestli je vzorek infikován. Místo myších mozků se používají tkáňové kultury a to především kuřecí fibroblasty. (Votava, 2010) Novější metodou je RT-PCR při které dochází ke zviditelnění DNA viru. DNA se zobrazuje pomocí specifických sond, které jsou značené fluorescenčním barvivem (Votava, 2010).

Nepřímý průkaz se používá nejčastěji. Při nepřímém průkazu se detekují specifické protilátky proti viru. Na stanovení výsledků se používá metoda ELISA, kterou se prokazují

imunoglobuliny IgM a IgG. IgM protilátky jsou detekovatelné už několik dní po infekci, kdežto protilátky IgG stoupají až několik týdnů po nákaze. Při nálezů IgM protilátek v likvoru se jedná o akutní neuroinfekci (Votava, 2003).

Přednější než léčba je předcházení vniku nemoci neboli prevence. Doporučená prevence u klíšťové encefalidity je očkování, které je dobrovolné. Největší efektivitu má očkování, které je zahájeno v zimních měsících. Před přisátím klíšťe by se měl člověk chránit repelenty a vhodným oblečením. Po přisátí klíšťe je důležité ho co nejdříve odstranit (Votava, 2010).

Specifické léčba klíšťové encefalidity není známá. Léčí se klidem na lůžku a podáváním symptomatických a podpůrných léků. Následná rekonvalescence trvá několik týdnů až měsíců (Beneš, 2009).

2.2 Vzteklna

2.2.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita

Původcem infekce je *Lyssavirus*. Vzteklna je přenášená divoce žijícími zvířaty po celém světě, v Evropě je to hlavně liška a netopýr. Přenos na člověka byl naposledy v České republice zaznamenán v sedmdesátých letech minulého století. Na našem území se kromě netopýřích kolonií podařilo vzteklinu eradikovat v roce 2004. Každoročně probíhal do roku 2004 monitoring o výskytu lišek a probíhalo jejich očkování (Göpfertová, 2002). Většina nakažených zvířat se na území ČR importuje z okolních zemí. Nejvíce úmrtí eviduje Asie a Afrika (Beneš, 2009).

Virus vztekliny vniká do organismu při poranění infikovaným zvířetem, nejčastěji pokousáním. Pro infekci je typická dlouhá inkubační doba (Votava, 2010). Při vniknutí do organismu se agens v místě vstupu rozmnoží a následně putuje na neuromuskulární ploténky, poté putuje na periferní nervy a z nich do centrální nervové soustavy (Schindler, 2010). Při včasné zachycení nemoci se infekce dá vyléčit, při rozvinuté formě již obtížněji a může být i smrtelná (Votava, 2010).

2.2.2 Diagnostika, prevence a léčba

Pokud dojde k pokousání od psa, je vhodné zvíře odchytit a pomocí veterináře zjistit, zda je zvíře očkováno proti vzteklině (Beneš, 2009). Virus vztekliny se stanovuje

pouze přímou metodou. V České republice se stanovuje vzteklna pouze v jediné laboratoři a to ve Státním veterinárním ústavu v Praze. U člověka se izoluje vir ze slin nebo biopsie kůže (Votava, 2010).

Prevencí je vymýcení nákazy u zvířat aktivní imunizací a jejich monitoringem. Vyhýbat se styku s divokými zvířaty, která nejsou plachá a samovolně přistupují k člověku (Beneš, 2009). Při pokousání od neznámého zvířete je nutné ránu dobře ošetřit desinfekčními prostředky a nechat se naočkovat (Schindler, 2010).

Očkování se provádí až po pokousání nemocným zvířetem (postexpoziční profylaxe), protože inkubační doba je dlouhá a vakcína vir v těle nakaženého pozabíjí. Smrt nastává až při rozvinutém onemocnění, kdy jej už nelze léčit (Schindler, 2010).

2.3 Ebola

2.3.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita

Původcem onemocnění je virus *Ebola*. Virus Ebola se vyskytuje v 4 subtypech podle místa výskytu, a to Zair, Reston, Cote d'Ivoire a Sudan. Nejzávažnější onemocnění způsobuje subtyp Zaire. Ebola se vyskytuje hlavně v zemích Afriky, kde se vyskytují velmi často epidemie. Přenašeči onemocnění jsou nejspíše netopyři. Nebezpečný je i kontakt s opicemi v místě výskytu nemoci (Beneš, 2009). Vysoká infekčnost viru představuje nebezpečí v rodinách, protože se ostatní členové snadno nakazí od nemocného a následně infekci dále rozšiřují (Navrátil, 2017).

Inkubační doba se pohybuje mezi 5 a 10 dny, kdy se dostavuje horečka, zvracení, průjem a bolesti svalů. Následně se přidávají hemoragie, petechie a tvorba podlitin. Koncem prvního týdne dochází k samovolnému krvácení z nosu, dásní a vagíny (Beneš, 2009). Přibližně po 14 dnech horečka ustupuje a stav se zlepšuje, ale virus napadá vnitřní orgány a způsobuje vnitřní krvácení. Dochází k nekrózám v játrech a ledvinách a následnému šoku. Vysoká úmrtnost je u subtypu Sudan a Zaire, kdy u prvního z nich je úmrtnost 50 % a u druhého přes 80 %. Uzdravování po nemoci trvá velmi dlouhou dobu, která přesahuje několik týdnů (Navrátil, 2017).

2.3.2 Diagnostika, prevence a léčba

Pro určení nemoci je důležitý údaj o pobytu v Africe nebo Filipínách, kontakt s dovezenými opicemi nebo práce s infikovaným laboratorním materiálem v předchozích třech týdnech. Při podezření na onemocnění, které se začne projevovat do tří týdnů od vystavení infekci, je vysoká pravděpodobnost, že se jedná právě o Ebolu. Diagnostikovat se může přímými i nepřímými metodami. Virus z krve lze stanovit pouze při horečnatém stádiu. Metodou vhodnou pro stanovení je i metoda PCR. Nepřímým způsobem se diagnostikují protilátky IgM, které se objevují kolem desátého dne nemoci (Beneš, 2009).

Pro prevenci nákazy je důležité vyvarovat se styku s opicemi pocházejících z místa výskytu nemoci. V nemocnicích je důležité dodržovat důslednou ochranu před dalším šířením nákazy, což zahrnuje izolace nemocných a bezkontaktní přístup personálu k nemocným (Navrátil, 2017).

Antivirotika proti Ebole nejsou zatím známá. Některé léky zhoršují příznaky onemocnění a nevedly ke zlepšení stavu. Slibnou prognózu mělo testování dárcovství plné krve od dárců, kteří prodělali onemocnění a tvoří se jim protilátky (Beneš, 2009). Při poslední epidemii v roce 2015 byla testována vakcína, která dosahovala dobrých výsledků. Všechny dosud známé vakcíny, které by mohly pomoci při léčbě nemocí, jsou ve fázi testování (Navrátil, 2017).

3 Zoonózy bakteriálního původu

3.1 Kampylobakteriόza

3.1.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita

Původcem průjmovité nákazy je *Campylobacter jejuni*. Zdrojem infekčního agens je hlavně drůbeží maso, kdy až 2/3 kuřat v obchodech jsou nakaženy. K nákaze může dojít i při styku nakaženého masa s jinou potravinou, například ovoce nebo zelenina dotýkající se syrového masa. K nákaze dochází při špatné tepelné úpravě masa (Votava, 2010).

C. jejuni proniká stěnou tenkého i tlustého střeva, kde vyvolává zánět, na který organismus reaguje průjmem. Kvůli velké citlivosti *C. jejuni* na nízké pH je k nákaze potřebná vysoká infekční dávka. Infekční dávka znamená množství jednotlivých buněk infekčního agens, aby se nemoc v organismu rozvinula (Votava, 2010).

C. jejuni je nejhlavnější příčinou bakteriálních průjmových onemocnění v České republice. Onemocnění se projevuje hlavně průjmem, bolestmi břicha, ale může se projevit i horečkami. Po několika dnech onemocnění může samo odeznít (Göpfertová, 2002).

3.1.2 Diagnostika, prevence a léčba

Materiálem pro laboratorní diagnostiku je výtěr z rektu nebo stolice. Vzorek pro kultivaci musí být uchováván v transportní půdě, protože *C. jejuni* je citlivý na okolní prostředí a mohlo by dojít k znehodnocení vzorku. Kultivace je velice náročná kvůli speciální kultivační půdě a dostatečné vlhkosti. Půda musí obsahovat směs antibiotik, protože musí dojít k usmrcení ostatních střevních bakterií, které by *C. jejuni* přerostly. Nejrozšířeněji používanou půdou pro kultivaci *C. jejuni* je CCDA (charcoal-cefoperazone-deoxycholate agar), která se skládá z aktivního uhlí, cefoperazonu a deoxycholátu sodného. Růst kolonie probíhá při 42 °C, kdy po 48 hodinách vznikají ploché šedé kolonie (Votava, 2010).

Hlavní prevencí proti nákaze je důkladná hygiena rukou po manipulaci se syrovým drůbežím masem a správná tepelná úprava drůbežího masa, hlavně při grilování. Důležité je, aby bylo syrové maso odděleno při uchovávání mimo ovoce a zeleninu (Beneš, 2009).

U dospělých jedinců se onemocnění nechá volně proběhnout a podává se zvýšené množství tekutiny, aby nedošlo k dehydrataci. Antibiotická léčba je zcela výjimečná a používá se u krvácejících průjmů a imunodeficientních pacientů (Votava, 2010).

3.2 Tularémie

3.2.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita

Původcem onemocnění je bakterie *Francisella tularensis*. Hlavním zdrojem infekce jsou zajíci a jiní hlodavci. Nakazit se lze i po štípnutí nakaženého savého hmyz, který se nakazil z infikovaného zvířete (Votava, 2010).

Infekce vstupuje do organismu přes porušený povrch kůže nebo povrchem vnitřních orgánů, které přišly do styku s nákazou. Podle vstupu nákazy je rozeznáváno několik forem (Votava, 2003).

a) Ulceroglandulární forma. Tato forma vzniká přes oděrku v kůži. Projevuje se horečkami, nevolnostmi a třesavkou. V místě vstupu se objevuje malý vřídek a dochází ke zduření uzlin (Votava, 2010).

b) Gastrointestinální a orofaryngeální forma. Tyto formy infekce vznikají při vniknutí nákazy gastrointestinálním traktem, například pitím kontaminované vody (Votava, 2010).

c) Tyfoidní forma vzniká při průniku bakterií gastrointestinálním traktem do organismu, projevuje se krvácením do gastrointestinálního traktu, tvorbou vředů a celkovou sepsí (Votava, 2010).

d) Aginózní forma vzniká při průchodu bakterií tonsilami (Votava, 2010).

e) Okuloglandulární forma. Nákaza se do oka dostane pomocí rukou nebo při omývání obličeje infikovanou vodou. Projevuje se hnisáním zánětem spojivky (Votava, 2010).

f) Plicní forma. Nákaza vzniká při vdechnutí nakaženého aerosolu ze sena. Projevuje se silným kašlem, ale i pneumonií. (Votava, 2010)

3.2.2 Diagnostika, prevence a léčba

Pro přímé stanovení se používá materiál přímo z nakažených uzlin. Kultivace se provádí na čokoládovém agaru nebo na speciální půdě. Bakterie *F. tularensis* potřebuje

pro tvorbu kolonie delší čas, než ostatní bakterie. Obvyklá doba kultivace jsou 3 dny (Votava, 2003). Pro přímé stanovení je nevhodné mikroskopické zkoumání a hemokultury, protože bývají falešně negativní (Votava, 2010).

Pro nepřímou diagnostiku se používá sérum. Nepřímý průkaz je daleko častější a využívají se metody ELISA a aglutinace. Pro diagnostiku se odebírají 2 vzorky krve v rozmezí 3 týdnů, protože v tomto období začíná titer protilátek stoupat (Votava, 2010). Hlavním lékem podávaným při tularémii je streptomycin, další možností jsou i jiné léky jako je gentamicin (Votava, 2010).

Důležitá je i prevence, kdy se klade důraz na správnou hygienu. Nutná je bedlivá manipulace s ulovenými zvířaty a následné očištění věcí, které přišly do styku se zvířetem. Pít by se měla jen voda, která pochází ze zdravotně nezávadných vodních zdrojů (Votava, 2010).

3.3 Lymeská borelióza

3.3.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita

Původce onemocnění je celá řada druhů bakterií rodu *Borrelia*. Ve Spojených státech nejčastěji *Borrelia burgdorferi*, v ČR hlavně *B. garini* a *B. afzeli*. Hlavním zdrojem onemocnění jsou hlodavci, od kterých se larva, nymfa nebo dospělec klíštěte infikuje (Sedlák, 2006). Její výskyt je celosvětový a kvůli globálnímu oteplování se rozšiřuje i do chladnějších oblastí, kde se předtím nevyskytovala. Přenašečem onemocnění je v naší republice klíště obecné (*Ixodes ricinus*). Výskyt lymeské boreliózy je sezónní, nejčastěji se onemocnění objevuje v letních a teplých podzimních měsících, kdy jsou klíšťata nejvíce aktivní. Na setkání s klíšťaty závisí místo pohybu dané osoby, nejpravděpodobnější setkání s klíštětem je v lesích a na lukách, než ve městech. V České republice její nejvyšší výskyt je v Libereckém, Středočeském kraji a na Vysočině (Bartůněk, 2013).

Inkubační doba onemocnění je mezi 3 a 30 dny. U většiny nakažených se objeví červené zbarvení kůže v okolí místa přisátí klíštěte. Onemocnění má několik stádií. První stádium přichází 5 dní až 2 týdny od nakažení. Projevují se i nespecifické problémy jako zvýšená teplota a bolest svalů. Při druhém stádiu pronikají bakterie do cévního řečiště, kde napadají hlavně nervy, klouby a oči. Ve druhém stádiu se začínají tvořit protilátky, které

se stanovují v laboratoři. Onemocnění se nejčastěji rozpozná právě ve druhém stádiu a začne se léčit. Jen malá část pacientů přechází do třetího stádia. Třetí stádium je chronické stádium. Postihuje minimum pacientů a má několik podob. První z nich je neuroborrelióza, kdy dochází k postižení periferních nervů, zánětům mozku, mozkových plen, míchy a míšních kořenů. Další je oční borrelióza, která se projevuje záněty rohovky a optických nervů. Nejméně se vyskytující formou je borreliová artritida, která postihuje velké klouby jako je kyčel a koleno (Sedlák, 2006).

3.3.2 Diagnostika, prevence a léčba

Bakterie lze diagnostikovat přímou a nepřímou metodou. Jako materiál se používá hlavně sérum, mozkomíšní mok a kloubní výpotek (Bartůněk, 2013).

Z metod přímého průkazu používáme v laboratořích kultivaci na obohacených půdách, histologický průkaz, elektronoptický průkaz, DNA-hybridizaci a polymerázovou řetězovou reakci (Sedlák, 2006).

Při použití nepřímých laboratorních metod se zjišťuje přítomnost specifických antiboreliových protilátek. Ke zjišťování protilátek se používá imunoenzymatická technika neboli ELISA nebo nepřímá imunofluorescence a Western blot (Sedlák, 2006).

Nejdůležitější ochranou před nákazou je prevence. Proti nákaze se bráníme tím, že se snažíme zabránit kontaktu s klíštětem. Do lesa bychom měli nosit vhodné oblečení a po návratu se důkladně prohlédnout. Vhodné je použití repelentů. Po přísátí je nutné ránu dobře vyčistit (Sedlák, 2006).

Při případné nákaze je důležitá včasná diagnóza. Onemocnění se léčí antibiotiky. V České republice ani nikde po světě neexistuje možnost očkování (Sedlák, 2006).

3.4 Salmonelóza

3.4.1 Epidemiologie, patogenez a patogenita

V České republice nejčastěji vyvolává onemocnění *Salmonella enteritidis*. Salmonelózy spolu s kamylobakterovými infekcemi patří mezi nejčastější původce infekčních průjmů v České republice, ale i ve světě. Výskyt salmonelóz je celoroční, ale nejvyšší výskyt je v letních měsících. Do organismu se dostávají orální cestou z infikovaných potravin. V rozvojových zemích se lze salmonelózou infikovat z pitné

vody, kvůli volně pobíhajícím zvířatům kolem zdroje vody (Julák, 2006). Nejběžněji infikované potraviny jsou vejce a výrobky z nich, jako je tatarská omáčka, majonéza. Dalším infekčním zdrojem je kuřecí maso, mléko a mléčné výrobky. Infekční bakterie lze zahubit tepelnou úpravou nad 60 °C. Přesný počet nakažených není znám, protože někteří lidé onemocnění vyléčí v domácí péči (Macela, 2006).

Salmonelóza je infekční onemocnění, které způsobuje průjemy, ale po odeznění infekce nepřetrvávají trvalé následky (Sládková, 2011). Onemocnění se začíná projevovat mezi 6 až 48 hodinami od sněžení infikované potraviny. Nutná je vysoká infekční dávka, která se pohybuje mezi 10^6 až 10^8 bakterií v gramu potraviny (Votava, 2014). Infekce salmonelózou se projevuje vodnatými průjmy, křečemi v břiše, zvracením a vysokými teplotami. Během několika dní ustupuje zvracení a teplota klesá. Infekce netrvá déle než týden (Macela, 2006).

3.4.2 Diagnostika, prevence a léčba

Diagnostika podle klinických příznaků je velmi obtížná, protože má podobný průběh jako ostatní průjmové infekce. Podezření na infekci je na základě charakteristického počátku nemoci, kdy dochází ke zvracení, zvýšené teplotě a zelenému zbarvení stolice. Další podezření na salmonelózu je při epidemickém výskytu, například z restaurace. Pro stanovení salmonel se dělá výtěr rektu (Beneš, 2009). Salmonely se dají kultivovat na základních půdách, ale pro potřeby odlišení od ostatních bakterií se proto kultivují na selektivních diagnostických půdách (Bednář, 1996). Dají se kultivovat na Endově půdě, na půdě XLD, MAL a dalších (Votava, 2003).

Prevenčí před salmonelovou nákazou je dostatečná osobní hygiena a správná tepelná úprava potravin a jejich skladování (Černý, 1997).

Nemoc se u dospělých lidí nechává volně odeznít, podává se jim dostatečný přísun tekutin, minerální látky a dietní strava. Mohou se podávat léky s protiprůjmovým účinkem jako je například živočišné uhlí. Léčí se pouze staří lidé (Černý, 1997).

3.5 Antrax

3.5.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita

Původcem onemocnění je bakterie *Bacillus anthracis*. Onemocnění se též nazývá sněť slezinná. Tento druh má schopnost vytvářet velmi odolné spory, které mají schopnost přežívat v půdě i mnoho desítek let. Onemocnění je přenášeno dobyt看em, hlavně ovce. Po zavedení očkovaní dobytka došlo v České republice k vymizení výskytu. Dnes se vyskytuje hlavně ve Středomoří a v oblastech s pastevectvím, převážně v zemích Afriky a méně rozvinutých zemích (Votava, 2003). Člověku hrozí nákaza při kontaktu s nemocným a uhynulým zvířetem, ale i produktem z nakaženého zvířete. Přenos infekčního agens je velice snadný. Nákaza od infekčního člověka je velice nepravděpodobná (Votava, 2010). Bakterie anthraxu byla použita jako biologická zbraň kvůli rychlému usmrcení člověka (Votava, 2003).

Podle vstupu infekčního agens do organismu dělíme antrax na několik forem. U každé z formy onemocnění dochází k vylučování toxinu, který je zodpovědný za septický stav (Votava, 2010).

a) Kožní forma. Kožní forma onemocnění vzniká, pokud je vstupní branou infekce poraněná kůže. V místě vstupu se vytváří vřed s tmavým hemorrhagickým středem a silně oteklým okolím. Neléčená forma může přecházet v sepsi a z 20 % může končit smrtí (Votava, 2010).

b) Gastrointestinální forma. Při požití kontaminované potravy spory bakterie pronikají do sliznic gastrointestinálního traktu. Ve sliznicích vyvolávají lokální nekrózy, což přechází v sepsi a vysokou úmrtnost (Votava, 2010).

c) Plicní forma. U plicní formy se spory dostávají do plic, kde jsou fagocytovány a zaneseny do mediastinu. V mediastinu vyvolávají nekrotizující hemorrhagickou mediastinitidu. Dochází k rychlému rozvoji sepse a u zavčas neléčené infekce je 100 % úmrtnost (Votava, 2010).

3.5.2 Diagnostika, prevence a léčba

Vzorky k vyšetření se odebírají podle místa nákazy, při plicní formě se odebírá sputum, u kožní formy se provádí výtěr z pustula maligna (vřed). Při střevní formě se odebírá stolice. Krev se odebírá u každé formy nemoci. *B. anthracis* patří k aerobním

bakteriím. Pro kultivaci nepotřebuje žádné speciální půdy a může se kultivovat v rozmezí teplot 12 - 45°C. Nejčastěji kultivace probíhá na krevním agaru při teplotě 37 °C. Na půdě tvoří kolonie, které jsou ploché, zbarvením jsou šedobílé a na okraji kolonie se tvoří dlouhá vlákna (Votava, 2010). Vyšetřování materiálu, který je potenciálně infekční, musí být velmi opatrné a smí ho provádět jen specializované laboratoře v České republice (Votava, 2010).

Prevencí proti nákaze je očkování jatečných zvířat a zabránění styku infikovaných zvířat a člověka. Při požití infikovaného masa je nutné okamžitě zahájit léčbu. (Beneš, 2009).

Léčení antraxu spočívá v podávání antibiotik a to hlavně penicilinu. Při neléčení dochází k celkové sepsi organismu a k následnému úmrtí (Votava, 2010).

3.6 Mor

3.6.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita

Původcem nákazy je *Yersinia pestis*. Mor se v dřívějších dobách šířil ve velkých pandemiích, kdy jen ve 14. století zahubil třetinu tehdejší populace v Evropě. Poslední výskyt moru na našem území je evidován z roku 1796. Dnes nejsou hlášeny v Evropě žádné případy onemocnění, popřípadě je onemocnění importováno z jistých států. Ojedinelé případy jsou hlášeny z Asie, Afriky a částí Ameriky, které jsou endemického původu (Podstatová, 2009). Zdrojem nákazy jsou hlodavci, hlavně svišť, sysel a malí hlodavci. Kolem měst šíří mor potkani a krysy. Mor se šíří prostřednictvím vektoru, kterým je blecha. Člověk se infikuje štípnutím od nakažené blechy. Nákaza se může šířit také kapénkovou infekcí a stykem s nemocným nebo zemřelým člověkem (Beneš, 2009).

Podle způsobu vniknutí infekce do organismu můžeme mor rozdělit na 3 formy:

a) Bubonická neboli dýmějová forma. Bubonická forma moru propuká po štípnutí infikované blechy. Inkubační doba se pohybuje mezi 2 a 6 dny. Projevuje se vysokými horečkami, zvětšenými lymfatickými uzlinami, kterým se dříve říkalo dýměje, cizím slovem bubony (Beneš, 2009).

b) Plicní forma. Plicní forma vzniká jako komplikace septické formy moru. Plicní forma moru se rozvíjí inhalací infikovaných kapének od jiného nemocného člověka s touto formou moru. Projevuje se pneumonií, na rentgenu je vidět rozpad tkáně (Votava, 2010).

Inkubační doba bývá pouhý 1 den. Tato forma moru probíhá rychle a u neléčených pacientů končí vždy smrtí (Beneš, 2009).

c) Septická forma. Septická forma moru propuká v případě vniknutí agens do krve. Projevuje se únavou, tachykardií, hypotenzí a selháváním vnitřních orgánů. Septická forma může vnikat i bez klinických příznaků bubonické formy. Dochází k sepsi celého organismu a následné smrti (Beneš, 2009).

3.6.2 Diagnostika, prevence a léčba

Pro laboratorní diagnostiku onemocnění využíváme sputum, likvor, obsah bubonů a sérum. Diagnostikovat mor lze přímým i nepřímým způsobem (Beneš, 2009).

Pro přímý průkaz se například používají McConkeyho půdy, krevní agary, speciální půdy. Nevýhodou přímého stanovení je dlouhá generační doba tohoto bakteriálního druhu a z toho plynoucí delší čas ke kultivaci (Votava, 2010).

Při nepřímém průkazu se diagnostikují protilátky proti *Yersini*. K detekci protilátek se využívá metoda ELISA. V modernějších metodách se stanovuje DNA bakterie pomocí PCR (Beneš, 2009).

Jedním z preventivních opatření proti nákaze je nejezdit do oblastí s výskytem moru. K ochraně před nakaženými blechami by se měly používat repelentní přípravky. Při cestě do rizikových oblastí je možné se vakcinovat (Beneš, 2009).

Mor se léčí pomocí antibiotik. V rozvojových zemích není dostupná účinná látka, a proto na mor umírá ročně několik tisíc lidí (Beneš, 2009).

3.7 Leptospirózy

3.7.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita

Původcem onemocnění je bakterie *Leptospira*. Zdrojem infekce jsou drobní živočichové, od kterých se infekce přenáší na domácí zvířata. V České republice je výskyt leptospiróz ojedinělý, v řádu několika desítek případů, ale některé případy končí smrtelně. Nejhojněji se nemoc vyskytuje od léta do podzimu a při přemnožení drobných hlodavců (Sedlák, 2006). Člověk je náhodný hostitel, který se nakazí od infikovaných zvířat (Navrátil, 2017). Zdrojem infekce pro člověka je infikovaná moč, přímý kontakt se zvířetem a infikovaná voda. Bývají případy, kdy se infikovali pracovníci

na jatkách a čističi kanálů (Černý, 1997). Pro klinickou praxi jsou nejdůležitější *Leptospira icterohaemorrhagiae* a *L. grippotyphosa*, které způsobují vážná onemocnění (Sedlák, 2006).

Leptospiry vnikají do krve přes porušenou kůži nebo porušenými sliznicemi orgánů. V organismu poškozují vnitřní orgány. Leptospiry se projevují různými klinickými projevy od asymptomatických nálezů až po velmi vážná onemocnění. Obvyklý je dvoufázový průběh, první neboli akutní fáze trvá kolem 6 dnů, projevuje se vysokými teplotami. Po této fázi přichází na 5 dní snížení teplot, ale následně přichází druhá fáze onemocnění. Ve druhé fázi onemocnění dochází k vnitřnímu poškození orgánů. V těžkých případech dochází ke smrti, která nastává u 5 – 10 % nemocných. V České republice se objevují 2 nemoci, u kterých jsou původce leptospiry (Beneš, 2009). Jsou to žňová horečka způsobená sérotypem *L.grippotyphosa* a Weilova choroba způsobena *L. icterohaemorrhagiae* (Sedlák, 2006). Weilova choroba může být velmi vážné onemocnění. Projevuje se žloutenkou, selháváním ledvin a jater. Život ohrožující jsou krvácivé projevy do sliznic a orgánů, zvláště krvácení do centrální nervové soustavy je smrtelné. Žňová horečka svými symptomy připomíná chřipku, kdy se dostávají teploty, bolesti hlavy a břicha. Nemoc do týdne ustupuje a k další fázi nemoci většinou nedochází. V některých případech přechází nemoc do druhé fáze, ve které se objevují silné bolesti hlavy, meningitida a bolest svalů. Žňová horečka ani ve druhém stádiu nekončí smrtí (Beneš, 2009).

3.7.2 Diagnostika, prevence a léčba

Pro diagnostiku leptospirózy se používá přímý i nepřímý průkaz agens. K odebíranému biologickému materiálu patří sérum a mozkomíšní mok. Přímý průkaz není moc využíván. PCR metoda přesto slouží k včasnému odhalení nemoci. Pro diagnostiku leptospiróz se v běžné praxi používá nepřímý průkaz protilátek. Nejrozšířenější reakcí je mikroaglutinace, mohou se stanovit i protilátky třídy IgM pomocí metody ELISA. Protilátky jsou detekovatelné až po 3. týdnu nemoci, proto nemůžeme odhalit nemoc v raném stádiu (Beneš, 2009).

Pro prevenci je důležité vyvarovat se přímému styku s infikovanými zvířaty, popřípadě s infikovanou vodou (Beneš, 2009).

Pro úspěšnou léčbu je nutné nemoc včasné diagnostikovat a zahájit antibiotickou léčbu. Léky, které se používají pro léčbu, jsou například amoxicilin u lehkého onemocnění, benzylpenicilin při těžkém onemocnění. Pacienti, kteří mají Weilovu chorobu, jsou hospitalizováni v nemocnici. Jejich stav i přes veškerou dostupnou léčbu může skončit smrtí (Beneš, 2009).

3.8 Listeriόza

3.8.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita

Původcem onemocnění je bakterie *Listeria monocytogenes*. Hlavním zdrojem jsou různí savci jako skot a prase, ale i ptáci a korýši. Člověk se může nakazit také z potravin, které jsou z nepasterizovaného mléka nebo z infikovaného masa, popřípadě ze zeleniny, která se dostala do kontaktu s bakterií (Navrátil, 2017). Zdrojem infekce je i nosič, u kterého se infekce neobjevila, ale má v sobě bakterii. V České republice se ročně objeví kolem 20 případů nemoci (Podstatová, 2009).

Bakterie se do organismu dostává přes zažívací trakt. Inkubační doba je velmi různá a pohybuje se kolem 3 až 70 dnů. U zdravého jedince se většinou nemoc neprojeví, ale náchylní jsou starší a imunosuprimovaní lidé, ale i těhotné ženy. Bakterie nejčastěji napadá mozkové blány a způsobuje v nich infekci. U lidí se špatnou imunitou způsobuje bakterie celkovou sepsi organismu a multiorgánové selhání. Onemocnění se projevuje vysokými horečkami, třesy, špatnou koordinací svalů a bolestmi hlavy. U zdravých jedinců způsobuje bakterie jen slabé klinické příznaky podobné chřipce, proto se z nich stávají nosiči a jsou nebezpeční pro své okolí. Nebezpečná je infekce hlavně pro těhotné ženy. Klinické případy jsou u žen podobné chřipce, ale bakterie se dostává přes placentu plodu a poškozuje jej. Bakterie může u těhotné ženy způsobit potrat nebo předčasný porod. Novorozenec je postižen poškozením centrálního nervového systému a oběhovými potížemi, má zvětšená játra a slezinu. Úmrtnost novorozenců se pohybuje kolem 50 % (Sedlák, 2006).

3.8.2 Stanovení, prevence a léčba

Pro stanovení bakterie se v dnešní době používá především přímý průkaz. Používat se může Gramovo barvení, nejpoužívanější metodou je však kultivace. Bakterie není

obtížně kultivovatelná, protože roste i při nízkých teplotách. Kultivace se provádí hlavně na krevním agaru. Pro vyšetření potravin se používají chromogenní půdy (Votava, 2010).

Na prevenci by měly dbát především těhotné ženy, kterým se doporučuje vyhýbat se syrovému masu, mléku a zrajícím sýrům. Základními pravidly prevence je správně tepelně upravené maso, omývání zeleniny z lednice i zahrady (Votava, 2010).

Pro léčbu se používá lék ampicilin, který se podává nemocným, ale i novorozencům. U novorozenců má zabránit dalšímu množení listerií a zahubit je v organismu (Votava, 2010).

4 Zoonózy parazitárního původu

4.1 Toxoplasmóza

4.1.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita

Onemocnění způsobuje prvok zvaný *Toxoplasma gondii*. Celosvětově je populace z 1/3 infikována. Hostitelem parazita jsou kočkovité šelmy. Kočkovité šelmy jsou konečným hostitelem, mezihostitelem je jakýkoliv teplokrevný obratlovec. Ve střevech kočkovitých šelem probíhá pohlavní množení prvoka. Jeho oocysty se společně s výkaly dostávají ven, kde se s nimi může setkat jiný živočich nebo člověk (Beneš, 2009). Člověk se může infikovat z kontaminované potravy a nedostatečně tepelně upraveným masem, ve kterém se nachází infikované cysty. Nakazit se může při chování kočky jako domácího mazlíčka, kdy dochází k vylučování oocyst na kožích kočky. Při hlazení kočky dochází k ulpívání oocyst na ruce a při špatné hygieně rukou se můžou zanést do dutiny ústní (Sedlák, 2006).

Pozřené oocysty se ve střevech mezihostitele přeměňují na sporozoity, které prostupují střevní sliznicí do organismu (Sedlák, 2006). V napadených buňkách se forma prvoka zvaná tachyzoid rychle množí. Napadené buňky se lyticky rozpadají a nemoc se šíří po celém těle. U zdravých jedinců probíhá nemoc asymptomaticky, popřípadě s lehkým náznakem infekčního onemocnění. U některých osob se onemocnění projevuje jako infekční mononukleóza s vysokými teplotami, bolestmi svalů a zduřelými lymfatickými uzlinami. Největší nebezpečí představuje onemocnění pro těhotné ženy, kdy se prvok dostává přes placentu do plodu. Vysoké riziko postižení plodu představuje infekce v 1. a 2. trimestru, kdy dochází k vývoji dítěte. V této době dochází k těžkému poškození plodu jako je slepota, hydrocefalus, mikrocefalus, anemie, psychomotorické a mentální retardace. V nejhorších případech hrozí potrat. Ve 3. trimestru hrozí největší pravděpodobnost nákazy, ale onemocnění se projevuje pouze subklinickými příznaky (Navrátil, 2017). U imunosuprimovaných pacientů, především s AIDS, vede pokles počtu CD4+ lymfocytů pod $100/\text{mm}^3$ k reaktivaci latentní infekce. Tato infekce se nejčastěji projevuje vznikem toxoplasmové encefalitidy. Při ní dochází v mozku postižených k tvorbě ložisek, které jsou v průměru od několika milimetrů až po 5 centimetrů. Ložiska jsou tvořena centrální nekrotickou zónou a periferní hyperemickou zónou, dále obsahují

plazmatické buňky, makrofágy a lymfocyty. V periferní zóně kolem abscesu vzniká edém a hemoragie. Ložiska vznikají v kterékoliv části CNS, nejčastěji se vytváří v bazálních gangliích. Projevují se horečkou, nevolnostmi, bolestmi hlavy, poruchami chování, křečemi a poruchami řeči (Beneš, 2009).

4.1.2 Diagnostika, prevence a léčba

K diagnostice toxoplasmózy se používá nepřímý průkaz protilátek v séru. Přímý průkaz není často používán. Biologickým materiálem pro stanovení je sérum, pupečnicková krev a tekutina z oční komory. Nejpoužívanější metodou je ELISA, popřípadě imunofluorescence (Votava, 2010). Diagnostika je nejdůležitější při akutní infekci v těhotenství, aby se začalo se včasnou léčbou. Nejčastěji se stanovují hladiny specifických imunoglobulinů třídy IgG, IgA, IgM, a IgE. Stanovení v těhotenství komplikuje to, že vysoké hladiny protilátek zůstávají v těle i několik měsíců po infekci, což znemožňuje určení akutní infekce v těhotenství. V tomto případě se stanovuje pevnost vazby mezi protilátkou a antigenem neboli avidita. Avidita ukazuje, jak je dlouho pacient vystaven nákaze. Při nálezů nízké avidity se jedná o akutní infekci, ale při nálezů vysoké avidity je jasné, že je pacient delší dobu vystaven nákaze. Zjištění specifických protilátek vypovídá o tom, že vyšetřovaný nákazu prodělal (Beneš, 2009).

Prevenčí nákazy je jíst správně tepelně upravené maso, mytí zeleniny a ovoce, umytí rukou po přípravě pokrmu ze syrového masa. Pokud se těhotná žena dostává do kontaktu s kočkou, měla by dodržovat základní hygienická pravidla. V České republice se neprovádí testování těhotných na přítomnost protilátek. Bezpříznaková nemoc nebo infekce s lehkými klinickými příznaky se u imunokompetentních jedinců neléčí a onemocnění se nechává samovolně odeznít (Beneš, 2009).

Většina lidí přejde onemocnění jen se slabými symptomy připomínající chřipku, a proto nejsou léčeni. Pouze u těhotných je toxoplasmóza léčena. Mohou se používat léky pyrimethamin a sulfadiazin, popřípadě se v prvním trimestru se podává spiramycin (Votava, 2010). U imunosuprimovaných pacientů se podává antitoxoplasmová profylaxe (Beneš, 2009).

4.2 Toxokaróza

4.2.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita

Toxokarózu způsobuje škrkavka psí (*Toxocara canis*) a škrkavka kočičí (*T. cati*). Toxokaróza je nejrozšířenější parazitární onemocnění psů a koček. Hostitelé škrkavky psí jsou psi a lišky, hostitelé škrkavky kočičí jsou kočkovité šelmy. Škrkavku kočičí mají především malá koťata, která se infikovala od matky. Škrkavky se vyskytují v tenkých střevech zvířat, kde se živí střevním obsahem. Člověk se infikuje perorálně, kdy pozře potravu infikovanou vajíčky nebo vypije infikovanou vodu. Nemoc se nejčastěji vyskytuje u dětí, protože se vajíčka mohou vyskytovat i v pískovištích, kde si děti hrají a mohou si zanést infikovaný písek do pusy. Specifické protilátky se vyskytují až u pětiny lidí v populaci (Sedlák, 2006).

Z pozřených vajíček se v tenkém střevě člověka vylíhnou larvičky. Parazit není schopen v tenkém střevě dokončit svůj cyklus, a proto prostupuje střevní stěnou do ostatních orgánů v těle, kde migrují. Toto stadium onemocnění se nazývá larva migrans visceralis. Na migrující larvičky odpovídá imunitní systém a dochází k celkovým příznakům, jako je horečka (Sedlák, 2006). Migrující larvy se mohou dostat do jater, centrálního nervového systému, plic, srdce, oka a jiných orgánů. Klinické projevy onemocnění jsou podle toho, který orgán je postižen a na množství larev v těle. Při napadení plic dochází ke kašli a horečce, u jater dochází k jejich zvětšení, u oka dochází k jeho poškození a ztrátě zraku. Nejzávažnější je napadení centrálního nervového systému a oka, přičemž stačí jen malé množství larev a dochází k těžkým následkům (Beneš, 2009).

4.2.2 Diagnostika, prevence a léčba

Prvotně se stanovuje krevní obraz s diferenciálním rozpočtem leukocytů. Při zjištění eosinofilie se provádí nepřímý serologický test na přítomnost protilátek. Při oční formě se mohou stanovovat protilátky z oční komory (Beneš, 2009).

Pro zabránění přenosu nákazy na lidi se klade důraz hlavně na prevenci. K prevenci patří chránit dětská pískoviště a hřiště od výkalů psů a koček. Popřípadě hlídat děti, aby na pískovištích dodržovaly správnou hygienu rukou. Důležité je pravidelně odčervovat psy a kočky, aby nedocházelo k dalšímu přenosu (Beneš, 2009).

Bezpríznakové nebo lehké onemocnění není nijak léčeno. Pouze u těžkých forem onemocnění, které postihují oko, srdce, plíce a centrální nervový systém, se podávají antihelmintika (Beneš, 2009).

4.3 Echinokokóza

4.3.1 Epidemiologie, patogeneze a patogenita

Echinokokózy jsou parazitární onemocnění způsobené tasemnicemi rodu *Echinococcus*. Echinokokózy se dělí na echinokokózu cystickou a echinokokózu multilokulární (Beneš, 2009).

Echinokokózu cystickou způsobuje tasemnice *Echinococcus granulosus* neboli měchožil zhoubný. Definitivními hostiteli jsou psovité šelmy, které se vylučují vajíčka trusem. Mezihostiteli této tasemnice jsou různé druhy kopytníků a i člověk. Člověk se nakazí pozřením vajíček, která se mohla přichytit psovi na srsti nebo čenichu. Možný je i nepřímý přenos, kdy se vajíčka dostanou do organismu společně s kontaminovanou vodou, potravinami a předměty. Nákaza se vyskytuje celosvětově, ale nejrozšířenější je v oblastech, kde hlídají pasoucí se dobytek psi. V ČR se nákaza vyskytuje u imigrantů ze Středomoří, východní Evropy a Afriky (Beneš, 2009).

Echinokokózu multilokulární způsobuje tasemnice *E. multilocularis* neboli měchožil bublinatý. Mezihostitelé jsou drobní savci, hlavně hlodavci. Definitivním hostitelem jsou lišky, které svými výkaly vylučují vajíčka. Vajíčka kontaminují půdu, vodu nebo lesní plody. Člověk se nakazí pozřením vajíček. Onemocnění se vyskytuje endemicky na severní polokouli. Jedná se o velice vzácnou nákazu, kterou se celosvětově nakazí 10 až 20 lidí. V ČR je hlášen pouze jeden výskyt (Beneš, 2009). Pro vzácnost tohoto onemocnění se mu dále věnovat nebudu.

Ve střevě se z pozřených vajíček stávají larvy, které pronikají do krevního oběhu a dostávají se k cílovým orgánům. Mezi cílový orgán patří především játra, ale mohou jím být plíce, mozek, slezina a kosti. Larva se v cílovém orgánu přemění na boubel, který se zvětšuje a plní se žlutou tekutinou. Boubel každoročně narůstá o několik centimetrů a za několik let může dosahovat velikosti přesahující 20 centimetrů. Cysta může prasknout a rozšířit vajíčka do dalších orgánů. Cysty mohou přežít v orgánu několik let. Klinické příznaky se objevují teprve až, když je cysta velká několik centimetrů a dochází

k utlačování okolních orgánů. Utlačování orgánů se projevuje bolestmi kolem daného orgánu. Cysta v játrech a plicích nevyvolává žádné projevy. Při prasknutí cysty dochází k vylití parazitárního antigenu, na který reaguje imunitní systém a projevuje se alergickými symptomy. U některých cyst dochází ke kalcifikaci, která v těle přetrvává napořád, ale je v ní pouze mrtvý parazit (Beneš, 2009).

4.3.2 Diagnostika, prevence a léčba

K diagnostice cyst dochází náhodou při rentgenovém nebo sonografickém vyšetření. V diferenciálním rozpočtu bývá zjištěna eosinofilie. Pro potvrzení diagnózy se stanovují specifické protilátky v séru pomocí metody ELISA. Při zjištění cysty v játrech je důležité odlišit ji od nádoru a v plicích od tuberkulózy (Beneš, 2009).

Základem prevence jsou správné hygienické návyky při zacházení se psy. Vlastníci psa by ho měli pravidelně dehelmintizovat (Beneš, 2009).

Před léčbou je vhodné provést celkové sonografické vyšetření hrudníku a dutiny břišní, aby se našly všechny cysty v těle. Nejúčinnější léčbou je chirurgický zákrok, při kterém se vyjme celá cysta z těla. Před a po operaci se podává chemoterapeutikum albendazol. Albendazol brání vzniku sesterských cyst a zabíjí zárodky tasemnice. U tenkostěnných cyst a u kontraindikovaných chirurgických zákroků se používá pouze chemoterapie. Punkce cysty se provádí jen v zemích s jejich častým výskytem. Punkce se provádí, pokud se ložisko cysty vyskytuje hluboko v játrech a chirurgický zákrok by byl velmi náročný. Punkce se provádí pod dohledem zkušeného chirurga a ultrazvukovou kontrolou. Vyléčený pacient musí být nadále sledován i léčen. U cystické echinokokózy 2 – 3 měsíce, u alveolární echinokokózy někdy po celý život. Po chirurgické léčbě nebo chemoterapii mohou cysty po několika letech recidivovat (Beneš, 2009).

PRAKTICKÁ ČÁST

5 Seznámení s praktickou částí

V praktické části se věnuji diagnostice zoonóz, které jsou na Mikrobiologickém ústavu Fakultní nemocnice v Plzni rutinně diagnostikovány. Jsou to tato onemocnění: tularémie, toxoplazmóza, klíšťová encefalitida a lymeská borelióza. Podrobně jsem se seznámila s jejich diagnostikou a v určitém časovém období se na ni i podílela.

Pro přehlednost o celkovém počtu těchto onemocnění na území České republiky a trendu jejich výskytu v jednotlivých letech, uvádím i data získaná ze systému EPIDAT ze Státního zdravotního ústavu v Praze.

5.1 Cíl práce

Seznámit se s diagnostikou zoonóz v Mikrobiologickém ústavu Fakultní nemocnice v Plzni a zpracovat data vyšetřených osob za vybrané časové období. Vybrala jsem si sledování nákaz diagnostikovaných touto laboratoří 2017 a celostátní výskyt nákaz od roku 2008 až do roku 2017.

5.2 Hypotézy

H1: Domnívám se, že některé metody jsou pro diagnostiku zoonóz vhodnější než jiné, které jsou zmiňovány v literatuře.

H2: Předpokládám, že výskyt zoonóz v České republice se bude snižovat, protože dochází ke snižování styku s rezervoárem nákaz.

H3: Domnívám se, že Plzeňský kraj má velké procentuální zastoupení v celorepublikových datech ve výskytu některých zoonóz.

6 Metodika

Do své práce jsem zařadila nemoci, které se rutinně stanovují Mikrobiologickém ústavu Fakultní nemocnice v Plzni. Seznámila jsem se s metodami, kterými se stanovují jednotlivé nemoci na ústavu mikrobiologie.

6.1 Diagnostika tularémie

Princip

Pro nepřímou diagnostiku se využívá pomalá a rychlá aglutinační zkouška.

6.1.1 Rychlá aglutinace

Materiál

Pro diagnostiku pomocí rychlé aglutinace se používá plná krev pacienta. Při pomalé aglutinaci se využívá sérum.

Postup

1. Ze stříkačky typu „Luer“ se nakape na skleněnou desku kapka krve o přibližném objemu 0,04 ml.
2. Vedle kapky krve se nakape pomocí jehly typu „Luer“ nakape 5 kapek antigenu, přibližně 0,2 ml.
3. Na skleněné desce se pomocí skleněné tyčinky promíchají obě kapky dohromady a roztáhnou se na větší plochu.
4. Pro kontrolu se na skleněnou desku nakape stejným způsobem 1 kapka kontrolního pozitivního séra, které se naředí podle pracovního postupu na pracovní titr 8. Ředění se provádí přiloženým ředícím roztokem.
5. K ředěnému séru se přidává stejně velká kapka antigenu a smíchají se dohromady pomocí skleněné tyčinky.
6. Následně se deska ohřívá nad kahanem nebo žárovkou v aglutinoskopu.

Hodnocení

Rychlá aglutinace se hodnotí v rozpětí 1-3 minut při teplotě 20-25 °C. Při pozitivním výsledku dojde k tvorbě vloček a vyčeření tekutiny. Při negativním výsledku nedojde k tvorbě vloček a tekutina zůstává neprojasněná.

6.1.2 Pomalá aglutinace

Materiál

Pro diagnostiku pomocí pomalé aglutinace se používá patientské sérum.

Postup

1. Vyšetřované sérum se naředí pomocí ředícího roztoku vzestupnou řadou. Nejdříve se sérum naředí 1 díl séra a 9 dílů roztoku, poté 1 díl séra a 19 dílů roztoku, 1 díl séra a 39 dílů roztoku, poté se v řadě postupuje.
2. K připraveným naředěným sérum se přikápně 0,5 ml antigenu, který se předem naředil v poměru 1 díl kontrolního séra a 4 díly ředícího roztoku.
3. Inkubace v termostatu při teplotě 37 °C po dobu 20 hodin.
4. Následně se inkubuje při pokojové teplotě po dobu 1 hodiny.

Hodnocení

Při pozitivním výsledku dochází k aglutinaci a vyčeření tekutiny v titru 1:80 a vyšším. Při pozitivním výsledku v titru 1:40 se zkouška opakuje, protože výsledek není jistý. Důkazem vyšetřovaných protilátek je vznik aglutinace. Aglutinace se hodnotí podle křížů, může jich být 0 až +++. Při +++ dochází k tvorbě velkého aglutinátu a úplnému vyčeření tekutiny. Na ++ je tekutina slabě zakalená a aglutinace je 50 %. Na + je tekutina silně zakalená, v tekutině se nachází slabý aglutinát a částečná aglutinace. Při negativním výsledku nedochází k žádné aglutinaci a tekutina je silně zakalená.

6.2 Diagnostika toxoplasmózy

Materiál

Pro diagnostiku protilátek proti *T. gondii* pomocí metody KFR a ELISA se využívá patientské sérum. Výsledky testu negativně ovlivňují vzorky, které jsou bakteriálně kontaminované, hemolytické a chylózní. Vzorky se musí uchovávat mezi +2 a +8 °C

po dobu maximálně 1 týdne. Pro delší skladování je nutné vzorek zmrazit na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ředěné vzorky připravené k vyšetření se musí vyšetřit v nejkratším možném času.

6.2.1 Diagnostika pomocí komplement fixační reakce

Princip

Reakce je založena na vazbě komplementu, který je v reakční směsi, na specifické komplexy antigenu s protilátkou. Testem se prokážou všechny třídy imunoglobulinů, proto nejde samostatně prokázat jednotlivé třídy.

Postup

Stanovení se provádí ve dvou dnech.

1.den

1. Pacientská séra se inaktivují ve vodní lázni při teplotě $56\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 30 minut.
2. Destička se vhodně popíše, podle rozmístění vzorků, kontrol a hodnoty titrů do 1:4096.
3. Do jamek, které jsou popsány kontrolou antigenu, komplementu a hemolytického systému se napipetuje určené množství antigenu, komplementu a barbitalového pufru.
4. Do všech jamek kromě kontroly antigenu, komplementu a hemolytického systému se napipetuje $25\text{ }\mu\text{l}$ barbitalového pufru, který byl předem naředěn.
5. Do jamek popsaných v titru 1:2 se napipetuje $25\text{ }\mu\text{l}$ kontrolního séra.
6. Do označených jamek v titru 1:2 se napipetuje $25\text{ }\mu\text{l}$ patientského séra a získá se tím požadované ředění.
7. Z každé jamky s nižším titrem se přenese $25\text{ }\mu\text{l}$ do další jamky a získá se tím vyšší titr. Z titru 1:2 vznikne 1:4, následně z 1:4 vznikne 1:8.
8. Do všech jamek kromě těch, ve kterých je titr 1:2, se přidá $25\text{ }\mu\text{l}$ antigenu, který je předem naředěný.
9. Do jamek s titrem 1:2 se napipetuje $25\text{ }\mu\text{l}$ barbitalového pufru.
10. Do všech jamek kromě kontroly antigenu, komplementu a hemolytického systému se napipetuje $50\text{ }\mu\text{l}$ chladného ($+2\text{ až }+8\text{ }^{\circ}\text{C}$) komplementu předem ředěného.
11. Obsah jamek se důkladně promíchá po dobu 10 minut na třepačce.
12. Inkubuje se 18 hodin při teplotě $+2\text{ až }+8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve vlhké komůrce.

2. den

1. Hemolytický systém se smíchá s 3% suspenzí beraních krvinek se stejným objemem amboceptoru předem ředěného. Krvinky se senzibilizují ve vodní lázni při 37 °C po dobu 30 minut, musí se každých 10 minut promíchat.
2. Do všech jamek se přidá 25 µl hemolytického systému a promíchá se na třepačce.
3. Destička se inkubuje ve vlhčeném termostatu při teplotě 37 °C po dobu 30 minut.
4. Destička se promíchá na třepačce 10 minut.
5. Inkubuje se ve vlhčeném termostatu při teplotě 37 °C po dobu 30 minut.
6. Následně probíhá inkubace ve vlhké komůrce při teplotě mezi +2 a +8 °C po dobu 2 hodin.
7. Výsledek se odečítá až po úplné sedimentaci.

Hodnocení

V jamkách se hodnotí hemolýza nebo sedimentace beraních erytrocytů. Při pozitivní reakci erytrocyty nezlyzovaly, ale sedimentovaly na dno jamky. Hodnotí se, v jakém největším ředění je reakce pozitivní. Při negativní reakci erytrocyty zlyzovaly a jamky mají červenou barvu bez sedimentu. Pozitivní výsledek je brán od titru 1:8, hraniční je titr 1:4. Titry 1:8 - 1:32 jsou hodnoceny jako nízké, 1:64 a 1:128 jako střední a od titru 1:256 jako vysoké. Znakem akutního onemocnění jsou střední a vysoké titry.

6.2.2 Diagnostika pomocí ELISA

Princip

Pomocí metody ELISA lze detekovat ve vzorku imunoglobuliny třídy IgG, IgM i IgA. Značená protilátka je myší monoklonální protilátka proti povrchovému proteinu p 30 *T. gondii* konjugovanou křenovou peroxidázou.

Postup

1. Vhodné popsání destičky na ELISA.
2. Pacientské vzorky se naředí 1:101 ředícím roztokem.
3. Do jamek se napipetuje 100 µl kontrol nebo ředěných vzorků, do blanku se nedává nic.
4. Destička se inkubuje při teplotě 37 °C po dobu 1 hodiny.

5. Destička se 5x promyje a po posledním promytí je nutné ji osušit do buničiny silným klepnutím.
6. Do všech jamek kromě blanku se napipetuje 100 µl Traceru.
7. Destička se inkubuje při teplotě 37 °C po dobu 1 hodiny.
8. Destička se 5x promyje a po posledním promytí je nutné ji osušit do buničiny silným klepnutím.
9. Do všech jamek se napipetuje 100 µl substrátu TMB-Complete.
10. Destička se inkubuje při teplotě 37 °C po dobu 20 minut.
11. Do všech jamek je napipetuje 100 µl zastavovacího roztoku.
12. Destička se fotometricky měří při vlnové délce 450 nm.

Hodnocení

Na základě změřených absorbancí se vypočítá index positivity. Index positivity se počítá pomocí rovnice: $IP = \frac{\text{Absorbance séra, plazmy}}{\text{Průměrná absorbance CUT-OFF}}$. Podle výpočtu se následně vyhodnotí vzorek. Vyhodnocení imunoglobulinů třídy IgA a IgM je stejné. Negativní výsledek je při výsledku indexu positivity pod 0,9. Pozitivní výsledek je pokud index positivity vyšel nad 1,1. Hraniční výsledek je mezi hodnotami 0,9 a 1,1. Pacient s hraniční hodnotou se musí znovu nabrat za 2 týdny.

6.3 Diagnostika klíšťové encefalitidy

Materiál

Pro vyšetření metodou KFR a ELISA při podezření na onemocnění klíšťové encefalitidy se vyšetřuje patientské sérum, které se inaktivuje při teplotě 56 °C po dobu 30 minut. Sérum je ředěné 1:8 ředícím roztokem.

6.3.1 Diagnostika pomocí KFR

Princip

Principem reakce je vznik komplexu, který vznikne spojením specifické protilátky a antigenu. Vzniklý komplex se váže na komplement, který ztratí schopnost hemolyzovat krvinky.

Postup

1. den

1. Pacientská séra se inaktivují při teplotě 56 °C po dobu 30 minut.
2. Destička se vhodně popíše umístěním hodnot titrů, čísla vzorků a kontrolami.
3. Do všech jamek se napipetuje 25 µl veronalového pufru.
4. 25 µl pacientského séra se napipetuje do první jamky.
5. 50 µl obsahu první jamky se přenese do druhé jamky a promíchá se. Z druhé jamky se také odebere 50 µl obsahu jamky a přenese se do třetí jamky a promíchá se. Tento obsah se opakuje, dokud se nezíská požadovaný titr.
6. Od třetí jamky se pipetuje 25 µl komplementfixačního antigenu.
7. Do všech jamek kromě prvního sloupce se napipetuje 25 µl komplementu.
8. Destička se na třepačce po dobu 10 sekund protřepe a uloží se do druhého dne v igelitovém sáčku do lednice.

2. den

1. Destička se vyndá z lednice a nechá se inkubovat v termostatu při teplotě 37 °C po dobu 1 hodiny.
2. Do ohřátých jamek napipetujeme 50 µl hemolytického systému, který se skládá z 2 % beraních krvinek a hemolyzinu.
3. Destičky se vloží do termostatu na dobu 30 minut, každých 10 minut se destička musí promíchat.
4. Destička se vloží do lednice, kde se nechá inkubovat 1 hodinu.
5. Následně se odečítají výsledky.

Hodnocení

Hodnotí se, ve kterém nejmenším ředění došlo k sedimentaci krvinek.

6.3.2 Diagnostika pomocí ELISA

Princip

Pomocí metody ELISA lze stanovit semikvantitativní nebo kvantitativní hodnoty protilátky třídy IgG, mohou to být i IgA a IgM proti TBE viru v séru nebo plazmě. Při pozitivitě vzorků se specifické protilátky naváží na antigeny. Pro detekování vázané

protilátky se vyžívají enzymově značené protilátky proti lidské IgG, které se barevně zabarví.

Postup

Protilátky se v laboratoři stanovují pomocí automatického analyzátoru DSX. Jeho výhodou je, že vzorek nemůže být nijak kontaminován špatnou manipulací.

Hodnocení

Na základě změřených absorbancí se vypočítá index positivity. Index positivity se počítá pomocí rovnice: $IP = \frac{\text{Absorbance séra, plazmy}}{\text{Průměrná absorbance CUT-OFF}}$. Podle výpočtu se následně vyhodnotí vzorek. U pozitivního vzorku jsou hodnoty vyšší než 1,1. U negativního vzorku jsou pod 0,9. Hodnoty mezi 0,9 a 1,1 jsou hraniční a test se musí opakovat s novým vzorkem po 2 týdnech.

6.4 Diagnostika lymeské boreliózy

6.4.1 Diagnostika pomocí ELISA

Materiál

Pro diagnostiky lymeské boreliózy pomocí metody ELISA se používá sérum, citrátová plazma, mozkomíšni mok a synoviální tekutina. Před samotnou diagnostikou se vzorky musí naředit. Plazma a sérum se ředí v poměru 1:101 ředícím roztokem, mozkomíšni mok 1:2, synoviální tekutina 1:21 a 1:41.

Princip

Test ELISA je založen na detekci specifických protilátek třídy IgM nebo IgG ve vzorku patientského séra. Jedná se o sandwich metodu, kde je pevná fáze s navázanými specifickými antigeny. Značená protilátka (konjugát) je zvířecí imunoglobulinová frakce proti lidskému IgM nebo IgG konjugovaná křenovou peroxidázou.

Postup

Pracovní postup je pro protilátky třídy IgM i IgG shodný. Nejprve se musí všechny potřebné reagensie ohřát na laboratorní teplotu. Materiál od pacienta se musí naředit podle pokynů výrobce.

1. Vhodné popsání ELISA destičky.
2. Pipetování vzorků a kontrol do destičky
3. Do jamky A1 se nenapipetuje nic a nechá se prázdná pro blank.
4. Do 1 jamky se napipetuje 100 µl negativní kontroly.
5. Do 2 jamek se napipetuje 100 µl CUT-OFF.
6. Do 1 jamky se napipetuje 100 µl pozitivní kontrola.
7. Do 5 jamek se napipetuje 100 µl ředěný patientský vzorek.
8. Destička se zakryje víčkem a nechá se inkubovat 30 minut v termostatu při teplotě 37 °C.
9. Odsaje se obsah jamek a promyje se 5x pracovním promývacím roztokem. Jamky se plní po horní obsah. Po posledním promytí se destička oklepe do svého materiálu, nejlépe do buničiny.
10. Do každé jamky kromě A1 se přidá 100 µl konjugátu.
11. Destička se zakryje víčkem a inkubuje se v inkubátoru při 37 °C po dobu 30 minut.
12. Odsaje se obsah jamek a 5x se promyjí v pracovním promývacím roztoku. Jamky se plní pod horní okraj. Po posledním promytí se destička oklepe do svého materiálu, nejlépe do buničiny.
13. Do všech jamek se napipetuje 100 µl jednosložkového substrátu TMB-Complete.
14. Destička se zakryje víčkem a inkubuje v inkubátoru v temnu při 37 °C po dobu 15 minut.
15. Reakce se zastaví napipetováním 100 µl zastavovacím roztokem ve stejném pořadí a intervalech jako byl dávkován substrát.
16. Na fotometru se změří při vlnové délce 450 nm intenzita zabarvení roztoků. Jamky se měří proti blanku. Měření musí proběhnout do 30 minut po zastavení reakce.

Hodnocení

Hodnocení výsledků u metody ELISA je shodné pro protilátky třídy IgM i IgG. Na základě změřených absorbancí se vypočítá index pozitivivity. Index pozitivivity se počítá

pomocí rovnice: $IP = \frac{\text{Absorbance séra, plazmy, likvoru, synoviální tekutiny}}{\text{Průměrná absorbance CUT-OFF}}$. Podle výpočtu se následně vyhodnotí vzorek. U plazmy, séra a moku je vzorek negativní do výsledku 0,9, hodnota mezi 0,9 a 1,1 se bere jako hraniční a nový náběr se opakuje za 2 až 6 týdnů, výsledek nad 1,1 znamená pozitivitu vzorku a potvrzení onemocnění. U synoviální tekutiny je negativní vzorek pokud vyjde hodnota indexu positivity u obou ředění pod 1,0. Pokud vyjde výsledek vyšší než 1,0 u ředěného vzorku 1:21 a hodnota nižší než 1,0 u vzorku ředěného 1:41 jedná se o hraniční nález. Pozitivní vzorek je, když u obou ředění je hodnota vyšší jak 1,0.

6.4.2 Diagnostika pomocí western blot

Princip

Pomocí metody western blot se stanovují protilátky třídy IgM a IgG, pro obě protilátky je postup testu shodný. WB se používá k následnému ověření výsledků metody ELISA.

Materiál

Pro diagnostiku pomocí metody western blot se používá sérum nebo plazma, která je odebírána do zkumavky s médiem EDTA, citrátem nebo heparinem. Vzorky se před zpracováním musí naředit, ředí se 1:51 univerzálním pufrem.

Postup

1. Testovací strip se vyjme z balení a musí se popsat patientským číslem.
2. Strip se vloží do prázdného kanálku desky. Do kanálku se stripem nalije 1,5 ml naředěného univerzálního pufru, který se naředil 1:10 destilovanou nebo deionizovanou vodou.
3. Deska se nechá inkubovat 15 minut při pokojové teplotě a následně se z kanálku odsaje veškerá tekutina.
4. Do kanálku se přidá 1,5 ml patientského séra, který se naředil 1:51 univerzálním pufrem a inkubuje se 30 minut při pokojové teplotě.
5. Kanálek se promyje 3x po dobu 5 minut v 1,5 ml univerzálního pufru.

6. Do promytého kanálku se přidá 1,5 ml ředěného enzymového konjugátu, který se skládá z anti-lidské IgG konjugované alkalickou fosfatázou a nechá se inkubovat při pokojové teplotě 30 minut.
7. Po inkubaci se kanálek promyje 3x po dobu 5 minut v 1,5 ml v universálním pufru.
8. Do promytého kanálku se stripem se přidá 1,5 ml substrátového roztoku a inkubuje se 10 minut při pokojové teplotě.
9. Po inkubaci se kanálek promyje 3x po dobu 1 minuty deionizovanou nebo destilovanou vodou.
10. Po promytí se strip umístí na vyhodnocovací protokol, kde se nechá proschnout a hodnotí se výsledek.

Hodnocení

U westernblotu stanovující protilátky třídy IgM se stanovuje zabarvení jednotlivých proužků na stripu. Při pozitivním výsledku se na stripu intenzivně zabarví jednotlivé proužky obsahující specifické antigeny a kontrolní proužek. Na stripu se hodnotí zabarvení antigenů: rekombinačně vyrobeného a vysoce purifikovaného antigenu VlsE *Borrelia burgdorferi* (VlsE Bb), elektroforézou purifikovaného nativního flagellinu (p41) a nativního BmpA (p39) *Borrelia afzelii* (p41 Ba, p39 Ba), purifikovaných, vysoce specifických antigenů OspC (p25) *Borrelia afzelii*, *B. burgdorferi*, *B. garinii* (OspC Ba, OspC Bb a OspC Bg) Jednotlivé části stripu se zabarví podle toho, o jaký druh patogena se jedná. Na příklad pokud bude onemocnění způsobovat *Borrelia afzelii* na stripu se zabarví oblasti s p41 Ba, p39 Ba, OspC Ba a kontrola pro IgM.

U westernblotu stanovující protilátky třídy IgG se hodnotí zabarvení určitých míst na stripu jako u protilátek IgM, jen se hledají jiné antigeny. Jsou to antigeny: vysoce purifikované rekombinantní antigeny VlsE z *Borrelia afzeli*, *B. burgdorferii*, *B. garinii* (VlsE Ba, VlsE Bb, VlsE Bg), lipidy extrahované z membránové frakce *B. afzelii* a *B. burgdorferi* (Lipid Ba a Lipid Bb), purifikovaný rekombinantní protein z borélie (p83), OspC získaný z různých boréliových kmenů, rekombinantní vysoce specifické antigeny z *B. burgdorferi* purifikované afinitní chromatografií (p58, p21, p20, p19, p18). P83, Lipid Ba a Lipid Bb jsou typické antigeny pro pozdní fázi onemocnění. Pro správnost testu se musí intenzivně zabarvit proužek pro IgG kontrolu.

7 Zhodnocení výsledků

7.1 Výskyt zoonóz v ČR za období 2008-2017

V této kapitole jsou uvedena data o výskytu mnou sledovaných zoonóz za posledních 10 let. Počet provedených vyšetření není celorepublikově sledován a tak data nejsou známa. Tabulka uvádí jen počet diagnostikovaných onemocnění v letech 2008-2017. Data jsou pro přehlednost rozdělena do dvou tabulek po pěti letech. V první tabulce je zaznamenáno období let 2008-2012, ve druhé tabulce je období let 2013-2017.

Tabulka 1: Počet pozitivních výsledků v období 2008-2012 v ČR

Vybrané zoonózy	Rok				
	2008	2009	2010	2011	2012
Klíšťová encefalitidy	631	816	589	861	573
Lymeská borelióza	4350	3863	3597	4834	3304
Toxoplasmóza	248	221	259	180	188
Tularémie	113	65	53	58	44

Zdroj: informace získané z EPIDATu

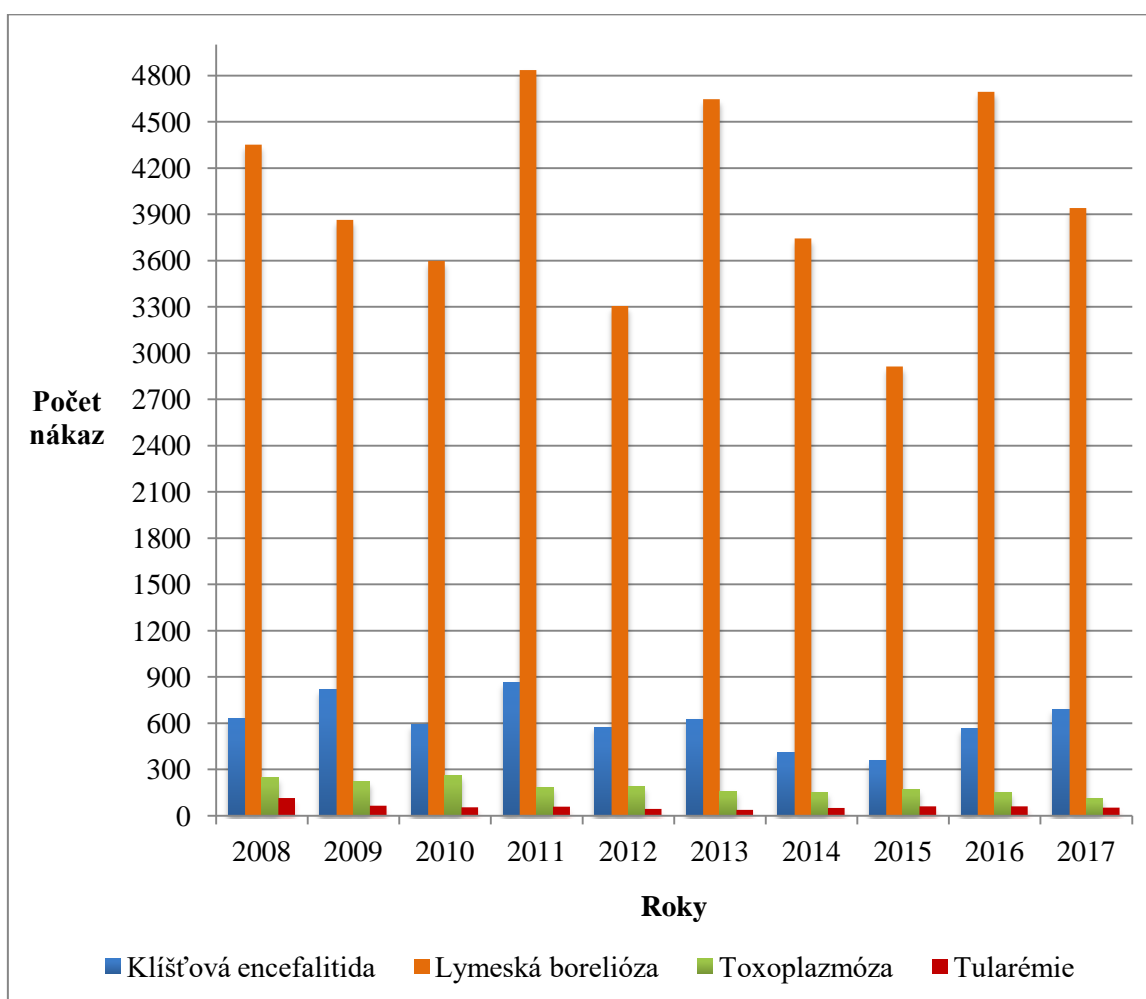
Tabulka 2: Počet pozitivních výsledků v období 2013-2017 v ČR

Vybrané zoonózy	Rok				
	2013	2014	2015	2016	2017
Klíšťová encefalitidy	625	410	355	565	687
Lymeská borelióza	4646	3743	2913	4694	3939
Toxoplasmóza	155	147	169	147	108
Tularémie	36	49	59	59	51

Zdroj: informace získané z EPIDATu

Z výše uvedeného vyplývá, že mírný pokles diagnostikovaných onemocnění je možné sledovat jen u tularémie a toxoplasmózy.

Graf 1: Počet případů zoonóz v období 2008-2017 v ČR



Zdroj: Informace získané z EPIDATu

Graf zobrazuje výskyt jednotlivých zoonóz na území ČR. Je patrné, že nejvíce pozitivních výsledků připadá na lymeskou boreliózu. Nejméně pozitivních výsledků se diagnostikovalo u tularémie a toxoplazmózy. V některých letech docházelo k navýšení výskytu nálezů, ale v dalších se počet případů snížil.

7.2 Výskyt zoonóz v MÚ FN Plzeň za rok 2017

Byl sledován výskyt klíšťové encefalitidy, lymeské boreliózy, toxoplazmózy a tularémie na pracovišti MÚ FN Plzeň. V tabulce je uveden vždy počet žádostí o diagnostiku dané nákazy a počet pozitivních výsledků.

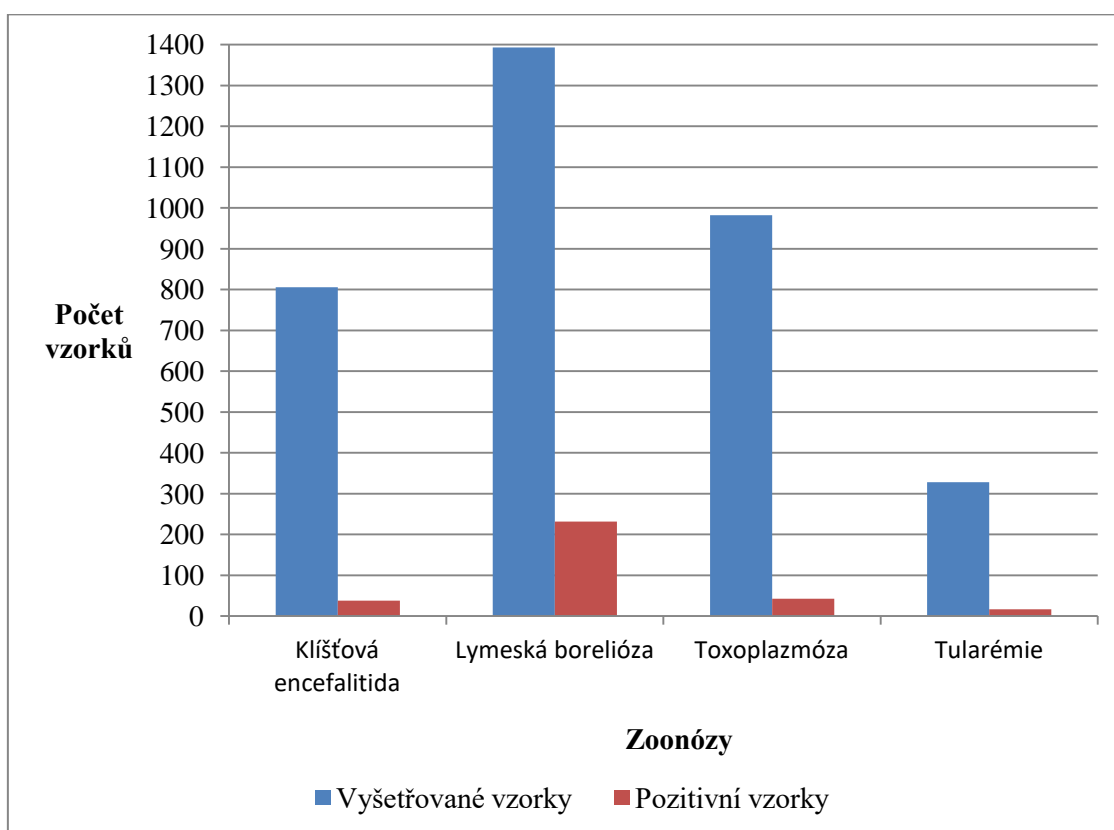
Tabulka 3: Počet vyšetřených a pozitivních vzorků na MÚ FN Plzeň v roce 2017

	Počet vyšetření	Pozitivní vzorky
Klíšťová encefalitida	806	38
Lymeská borelióza	1393	232
Toxoplazmóza	982	43
Tularémie	328	17

Zdroj: Data ÚM FN Plzeň

V tabulce číslo 3 jsou uvedeny počty žádostí o vyšetření jednotlivých onemocnění a počet pozitivních výsledků. V roce 2017 v MÚ FN Plzeň bylo požadováno 806 vyšetření na klíšťovou encefalitidu. Z tohoto počtu bylo 38 vzorků pozitivních. Žadostí o vyšetření lymeské boreliózy bylo minulý rok 1393, z toho bylo vyhodnoceno 232 vzorků jako pozitivních. Vzorků na vyšetření protilátek proti *Toxoplasma gondii* bylo zasláno 982, pozitivních bylo 43 vzorků. Tularémie se za rok 2017 vyšetřovala u 328 vzorků, pozitivních případů bylo 17.

Graf 2: Počet vyšetřovaných a pozitivních vzorků na MÚ FN Plzeň v roce 2017



Zdroj: Data ÚM FN Plzeň

Graf číslo 2 zobrazuje poměr mezi vyšetřovanými a pozitivními vzorky za rok 2017 v MÚ FN Plzeň. U všech nálezů platí to, že počet získaných pozitivních vzorků je z celkového množství vyšetřovaných vzorků jen malé procento. Pozitivních vzorků klíšťové encefalitidy je necelých 5 % z celkového množství. U lymeské boreliózy je pozitivních vzorků 16 %. Toxoplazmózy je diagnostikováno pouze 4 %. Pozitivních vzorků výsledků tularémie bylo diagnostikováno 5 %.

7.3 Srovnání MÚ FN Plzeň s ČR

V následující tabulce je uveden podíl onemocnění diagnostikovaných v MÚ FN Plzeň na celkovém počtu onemocnění nahlášených za dané období v ČR.

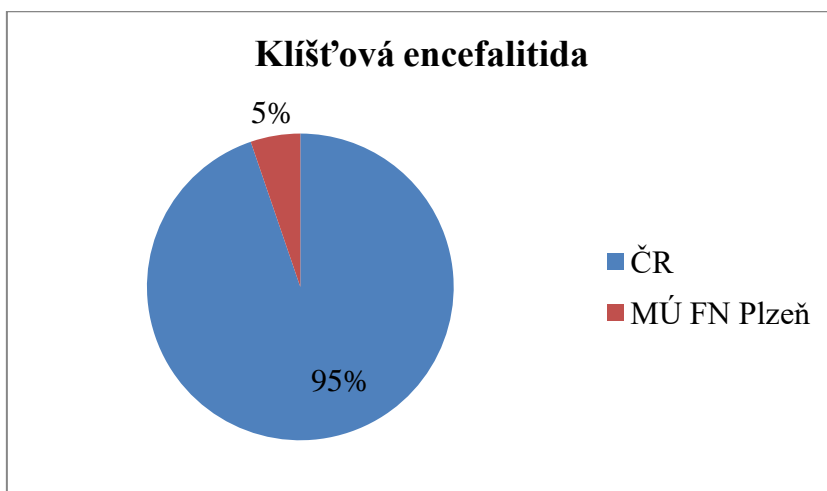
Tabulka 4: Pozitivní výsledky MÚ FN Plzeň a ČR v roce 2017

	MÚ FN Plzeň	ČR
Klíšťová encefalitida	38	687
Lymeská borelióza	232	3939
Toxoplazmóza	43	108
Tularémie	17	51

Zdroj: EPIDAT a ÚM FN Plzeň

Za rok 2017 bylo diagnostikováno na území ČR 687 případů klíšťové encefalitidy, z toho v MÚ FN Plzeň bylo pozitivních vzorků 38. Lymeské boreliózy bylo diagnostikováno 3939 pozitivních vzorků, MÚ FN Plzeň jich měl 232. Toxoplazmózy se v MÚ FN Plzeň diagnostikovalo 43 pozitivních vzorků ze 108. Tularémie se diagnostikovala v MÚ FN Plzeň v 17 případech z 51 případů.

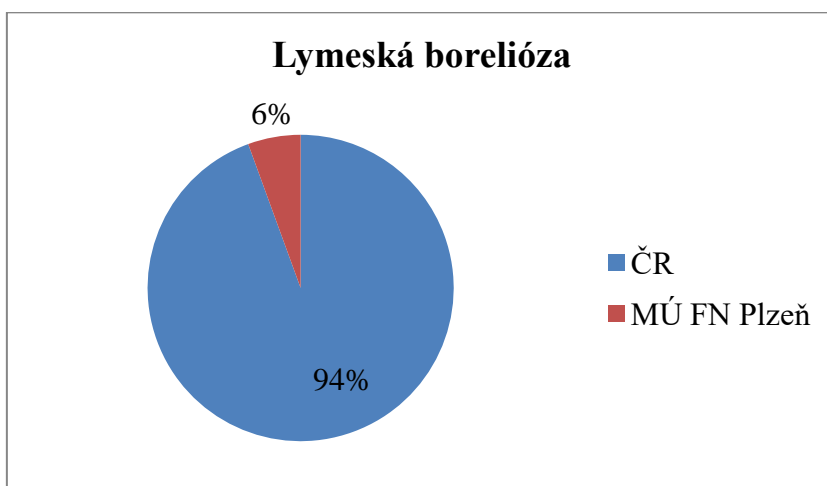
Graf 3: Výskyt klíšťové encefalitidy v roce 2017



Zdroj: EPIDAT a ÚM FN Plzeň

Z grafu je vidět, že výskyt klíšťové encefalitidy je v MÚ FN Plzeň za minulý rok úměrný k celkovému výskytu nemoci na našem území.

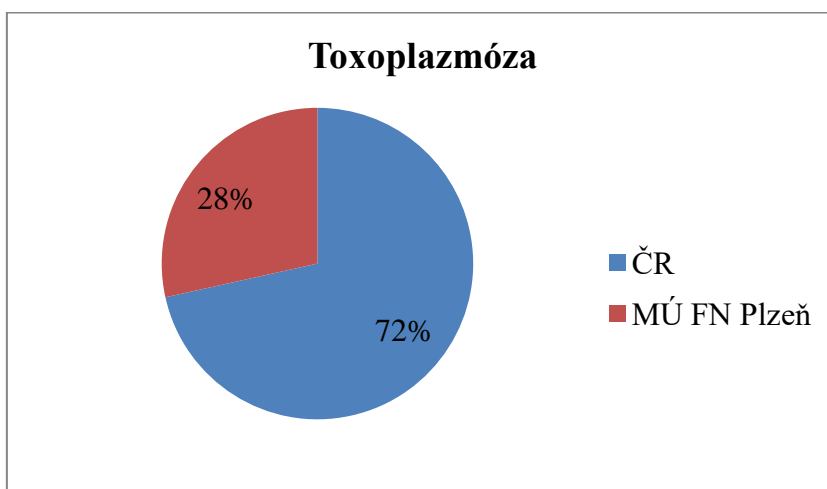
Graf 4: Výskyt lymeské boreliózy v roce 2017



Zdroj: EPIDAT a ÚM FN Plzeň

Graf zobrazuje výskyt lymeské boreliózy v MÚ FN Plzeň a na území ČR za rok 2017. V MÚ FN Plzeň bylo diagnostikováno 6 % z celkového počtu pozitivních vzorků.

Graf 5: Výskyt toxoplazmózy v roce 2017

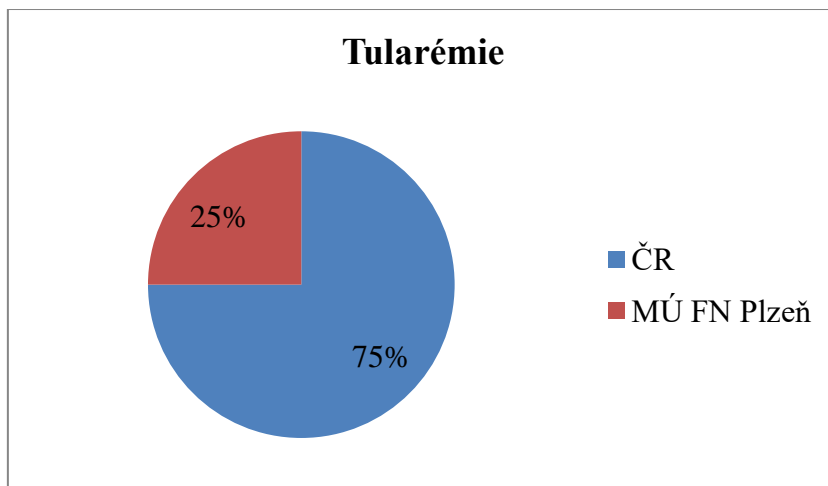


Zdroj: EPIDAT a ÚM FN Plzeň

Graf zobrazuje výskyt toxoplazmózy na našem území a v MÚ FN Plzeň. Jen v MÚ FN Plzeň bylo hlášeno v roce 2017 téměř 1/3 všech diagnostikovaných nálezů. Předpokládám, že pozitivní vzorky mohly hlásit i ostatní laboratoře v Plzeňském kraji, a proto celkové procento výskytu onemocnění mohlo být ještě vyšší. Jedná se o vysoké

procentuální zastoupení, a proto by se měli lidé žijící v tomto kraji mít na pozoru a dodržovat správné hygienické návyky.

Graf 6: Výskyt tularémie v roce 2017



Zdroj: EPIDAT a ÚM FN Plzeň

Graf porovnává výskyt tularémie v ČR a v MÚ FN Plzeň. Jen v MÚ FN Plzeň byla v roce 2017 diagnostikována 1/4 všech nálezů. Pozitivní výsledky mohly být hlášeny i z ostatních laboratoří Plzeňského kraje, a proto Plzeňský kraj patří mezi kraje s nejvyšším výskytem toho onemocnění.

8 Diskuze

V minulosti existovala poměrně velká rozmanitost v používaných laboratorních metodách. Každá laboratoř mohla používat pro diagnostiku zoonóz jiné metody. Jedním z cílů mojí práce bylo porovnat používané metody praktikované v laboratořích Mikrobiologického ústavu FN v Plzni s metodami, které jsou popisovány v dostupné tuzemské literatuře. V případech, kdy je to možné si laboratoře mohou vybrat metody podle svých možností. Může se například jednat o technické vybavení nebo lety osvědčené metody. Lze konstatovat, že na diagnostiku většiny mnou sledovaných onemocnění je doporučovaných metod několik. V současnosti ale vydávají odborné společnosti závazná doporučení v rámci tzv. Správné laboratorní práce, kde jsou jednotlivé metody vyjmenované a doporučené. Chce-li být laboratoř úspěšně akreditována, musí se těmito doporučeními řídit. V odborné literatuře je samozřejmě spektrum možných používaných metod vždy širší.

Například Votava uvádí, že klíšťová encefalitida se stanovuje nejčastěji pomocí metody ELISA, ve FN Plzeň využívají k diagnostice i metodu komplement fixační reakci (Votava, 2010).

Lymeskou boreliózu lze podle některých autorů diagnostikovat i přímou metodou, které ale v praxi není skoro využívána. Nejvyužívanější diagnostikou je nepřímý průkaz protilátek. Přímý průkaz je velice náročný na laboratorní vybavení a k rutinní diagnostice se nevyužívá (Votava, 2010).

Ve FN diagnostikují tularémii pomocí aglutinační zkoušky, ale Votava uvádí, že lze diagnostikovat i pomocí metody ELISA (Votava, 2010)

Toxoplazmóza podle Votavy se diagnostikuje pomocí metody ELISA, FN využívá k této metodě i KFR (Votava, 2010).

Každý laboratorní pracovník by v některých případech použil co nejširší škálu metod, zvláště u metod nepřímého průkazu, k stanovení co možná nejpřesnější interpretace ve vztahu ke klinickému stavu pacienta. To ale hlavně z ekonomických důvodů není vždy možné.

Předpokládala jsem, že výskyt zoonóz se bude snižovat, protože ve stále menší přicházíme do kontaktu stykem s rezervoárem nálezů. Na základě sledování dat se tento předpoklad nepotvrdil absolutně. Za posledních 10 let je výskyt klíšťové encefalitidy,

lymeské boreliózy a tularémie přibližně stejný. Určitá kolísavost není důkazem sestupného trendu výskytu. Snižující se počet onemocnění lze vysledovat jen u toxoplazmózy. Kdybychom měli možnost získat i starší data, ukázalo by se, že v širším časovém horizontu počet všech těchto onemocnění mírně klesá. Není ale vyloučeno, že se v dalších letech výskyt nákazy nezvýší, protože není zatím žádná možnost, jak eliminovat zdroje nákazy.

Z tabulek je také patrná určitá kolísavost výskytu. Některé roky je výskyt nákaz vyšší v jiných letech nižší, jedná se především o nákazy přenášené klíšťaty. Tato skutečnost je dána známou skutečností, že se tyto roztoči vyskytují v terénu a mění své biologické aktivity v závislosti na počasí během roku. Jejich aktivita se zvyšuje se stoupající teplotou. Vrcholy výskytu zaznamenáváme zpravidla v prvních letních a podzimních měsících. Tuto skutečnost kopíruje i následný výskyt onemocnění s pravidelným časovým odstupem. Stejně jako reakce na počasí v každém roce, tak se liší i jejich výskyt v jednotlivých letech. Čím menší aktivita klíšťata v chladných rocích, tím se logicky objeví i méně infikovaných a méně nemocných lidí. Závěrem je, že výskyt zoonóz se v průběhu 10 let výrazně nezměnil a v následujících letech se ani jejich výskyt měnit nebude.

Domnívala jsem se, že v Plzeňském kraji bude zvýšený počet nákaz především proto, že kraj je ve velké míře zalesněn a lidé využívají volný čas k pobytu v přírodě. Porovnávala jsem, jaký podíl tvoří počet infekcí laboratorně diagnostikovaných v laboratoři MÚ FN v Plzni k celkovému počtu onemocnění hlášených za celou ČR. Ke srovnání jsem vycházela z dat z celostátního registru infekcí EPIDAT a z výsledků ústavu. Porovnávala jsem data z roku 2017.

Nejvyšší výskyt je toxoplazmózy, což ale nesouvisí s pobytem v lesích, ale souvisí to s chováním koček jako domácích mazlíčků. Tento výsledek mě překvapil, protože jsem nepředpokládala, že výskyt toxoplazmózy bude v Plzeňském kraji tak ohromný. Naopak tularémie souvisí s pohybem lidí v lesích, kde může člověk častěji přicházet do kontaktu s přenašeči nebo rezervoáry zoonóz. V lesích se lidé setkají s infikovaným bodavým hmyzem. U této hypotézy jsem čekala jiný výsledek. Předpokládala jsem, že Plzeňský kraj bude mít vysoký výskyt klíšťové encefalitidy a lymeské boreliózy.

Celkově jsem s výsledky spokojená, protože se mi podařilo některé hypotézy prokázat nebo alespoň jejich část. Některé výsledky mě překvapily, u některých jsem výsledek tušila dopředu.

Závěr

Zoonózy jsou onemocnění přenášená ze zvířat na člověka. Tyto nemoci se vyskytují celosvětově a jejich počet se pohybuje kolem dvou set. Jedná se o zdravotně více či méně nebezpečné nemoci. V České republice je jejich výskyt nižší než v jiných zemích, je to dáno především tím, že dochází ke snížení kontaktu s rezervoáry. Ve vyspělých zemích jsou lepší hygienické podmínky, preventivní opatření a monitoring onemocnění. Z tohoto důvodu jsou tato onemocnění rozšířená zejména v rozvojových oblastech světa. Díky cestovnímu ruchu se ale můžeme setkat s veškerými zoonózami i na našem území, proto je důležité být připraven na možný import nemocí.

Na začátku jsem si stanovila tři hypotézy, kdy dvě byly prokázány a jedna vyvrácena. Domnívala jsem se správně, že autoři odborné literatury budou uvádět jiné metody diagnostiky, než se používají v MÚ FN Plzeň. Některé uváděné metody se v praxi skoro vůbec nepoužívají. Na příklad k diagnostice lymeské boreliózy v MÚ FN Plzeň nepoužívají přímé metody, ale průkaz protilátek. Shodné metody s MÚ FN Plzeň uvádějí autoři pouze u klíšťové encefalitidy, která se diagnostikuje metodami ELISA a KFR. Další rozdílná diagnostika je u tularémie, kdy se podle některých autorů používá k diagnostice metoda ELISA, avšak ve FN Plzeň používají aglutinační zkoušky. Toxoplazmóza se podle autorů odborné literatury diagnostikuje jen pomocí metody ELISA, ale v MÚ FN Plzeň se používá metoda ELISA i KFR. Lze shrnout, že výběr diagnostických metod pro konkrétní onemocnění záleží na každé laboratoři. Jejich výsledky vždy musí splňovat kritéria stanovená Národními referenčními laboratořemi a jejich interpretace musí být možná co nepřesnější, aby z výsledku mohl vycházet ošetřující lékař.

Počet diagnostikovaných zoonóz v ČR za sledované období 10 let neklesl. Tímto byla vyvrácena hypotéza č. 2. Docházím k závěru, kdy se nedá jednoznačně říct, že výskyt zoonóz s roky klesá.

V roce 2017 bylo na MÚ FN Plzeň diagnostikováno 43 pozitivních vzorků toxoplazmózy z celkového počtu 108 případů. Jedná se o 28 % všech diagnostikovaných případů. U tularémie byla na MÚ FN Plzeň diagnostikována čtvrtina veškerých případů z ČR. Čímž jsem potvrdila hypotézu č. 3.

Jaký bude trend výskytu zoonóz v budoucnosti, je velmi těžko odhadnutelné. Budeli se člověk stále více odklánět od přírody a izolovat se od zdrojů infekce, patrně

jejich incidence bude klesat. Na druhé straně se v naší společnosti profilují skupiny obyvatelstva, které naopak praktikují návrat nebo minimálně neustálé sbližování s přírodou. Na reálné hodnoty výskytu si tedy budeme muset počkat.

Zdroje:

1. BARTŮNĚK, Petr. *Lymeská borelióza*. 4., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2013. ISBN 978-80-247-4355-4.
2. BEDNÁŘ, Marek. [ET AL.]. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil, 1996. ISBN 80-2380-297-6.
3. BENEŠ, Jiří. *Infekční lékařství*. Praha: Galén, c2009. ISBN 978-80-7262-644-1.
4. ČERNÝ, Zdeněk. *Infekční nemoci*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1997. ISBN 80-7013-241-8.
5. GÖPFERTO VÁ, Dana a spol. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena: pro střední a vyšší odborné zdravotnické školy*. Triton, 2002. ISBN 80-7254-223-0.
6. GÖPFERTO VÁ, Dana, Petr PAZDIORA a Jana DÁŇOVÁ. *Epidemiologie: (obecná a speciální epidemiologie infekčních nemocí)*. Praha: Karolinum, 2006. ISBN 80-246-1232-1.
7. GÖPFERTO VÁ, Dana. *Epidemiologie: [průvodce epidemiologickou metodou]*. Praha: Triton, 1999. ISBN 80-7254-037-8.
8. HUBÁLEK, Zdeněk a Ivo RUDOLF. *Mikrobiální zoonózy a sapronózy*. 3., dopl. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2014. ISBN 978-80-210-7516-0.
9. JULÁK, Jaroslav. *Úvod do lékařské bakteriologie*. Praha: Karolinum, 2006. ISBN 80-246-1270-4.
10. MACELA, Aleš. *Infekční choroby a intracelulární parazitismus bakterií*. Praha: Grada, 2006. Malá monografie. ISBN 80-247-0664-4.
11. MURRAY, Patrick R., Ken S. ROSENTHAL a Michael A. PFALLER. *Medical microbiology*. 7th Edition. Philadelphia: Elsevier/Saunders, c2013. ISBN 978-0-323-08692-9.
12. NAVRÁTIL, Leoš. *Vnitřní lékařství pro nelékařské zdravotnické obory*. 2., zcela přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2017. ISBN 978-80-271-0210-5.
13. PODSTATOVÁ, Hana. *Základy epidemiologie a hygieny*. Praha: Galén, 2009. ISBN 978-80-7262-597-0.
14. POVÝŠIL, Ctibor a Ivo ŠTEINER. *Obecná patologie*. Praha: Galén, c2011. ISBN 978-80-7262-773-8.

15. RŮŽEK, Daniel. *Klíšťová encefalitida*. Praha: Grada Publishing, 2015. ISBN 978-80-247-5305-8.
16. SEDLÁK, Kamil a Markéta TOMŠÍČKOVÁ. *Nebezpečné infekce zvířat a člověka*. Praha: Scientia, 2006. *Biologie pro všední den*. ISBN 80-8696-007-2.
17. SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada, 2010. *Sestra (Grada)*. ISBN 978-80-2473-170-4.
18. SLÁDKOVÁ, Pavla a Jana HLAVÁČOVÁ. *Speciální mikrobiologie*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2011. ISBN 978-80-7375-558-4.
19. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Neptun, 2003. ISBN 978-80-9028-966-6.
20. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie – vyšetřovací metody*. Neptun, 2010. ISBN 978-80-8685-004-8.
21. VOTAVA, Miroslav. *Klinická mikrobiologie*. Brno: Masarykova univerzita, 2014. ISBN 978-80-210-7503-0.
22. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. přeprac. vyd. Brno: Neptun, 2005. ISBN 80-86850-00-5.

Seznam použitých zkratek

μl – mikrolitr

AIDS – Acquired Immune Deficiency Syndrome

ČR – Česká republika

DNA – Deoxyribonucleic Acid

EDTA –ethylendiamintetraoctová kyselina

ELISA – Enzyme-linked Immunosorbent Assay

EPIDAT – systém hlášení infekčních onemocnění v České republice při Státním zdravotním ústavu v Praze

IgA – Imunoglobulin A

IgE – Imunoglobulin E

IgG – Imunoglobulin G

IgM – Imunoglobulin M

IP – index positivity

KFR - komplement fixační reakce

ml - mililitr

MÚ FN v Plzni – Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice v Plzni

PCR – Polymerase Chain Reaction

RT-PCR – Reverse Transkription Polymerase Chain Reaction

WB – Western blot

Seznam tabulek

Tabulka 1: Počet pozitivních výsledků v období 2008-2012 v ČR	52
Tabulka 2: Počet pozitivních výsledků v období 2013-2017 v ČR	52
Tabulka 3: Počet vyšetřených a pozitivních vzorků na MÚ FN Plzeň v roce 2017	54
Tabulka 4: Pozitivní výsledky MÚ FN Plzeň a ČR v roce 2017	56

Seznam grafů

Graf 1: Počet případů zoonóz v období 2008-2017 v ČR	53
Graf 2: Počet vyšetřovaných a pozitivních vzorků na MÚ FN Plzeň v roce 2017	55
Graf 3: Výskyt klíšťové encefalitidy v roce 2017	56
Graf 4: Výskyt lymeské boreliózy v roce 2017	57
Graf 5: Výskyt toxoplazmózy v roce 2017.....	57
Graf 6: Výskyt tularémie v roce 2017	58

Seznam příloh

Příloha 1: Povolení sběru informací ve FN Plzeň	69
--	-----------

Přílohy

Příloha 1: Povolení sběru informací ve FN Plzeň



Vážená paní
Jana Karpíšková
Studentka oboru Zdravotní laborant
Fakulta zdravotnických studií - Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví
Západočeská univerzita v Plzni

Povolení sběru informací ve FN Plzeň

Na základě Vaší žádosti Vám jménem Útvaru náměstkyně pro ošetrovatelskou péči FN Plzeň **uděluji souhlas** se sběrem informací o laboratorních metodách, a se zpracováním anonymizovaných dat a výsledků laboratorních metod, používaných v Ústavu mikrobiologie (MIKRO) FN Plzeň. Tento souhlas je vydáván, při splnění níže uvedených podmínek, v souvislosti s vypracováním Vaší bakalářské práce s názvem „Zoonózy“.

Podmínky, za kterých Vám bude umožněna realizace Vašeho šetření ve FN Plzeň:

- Přednosta MIKRO souhlasí s Vaším postupem.
- Osobně povedete svoje šetření.
- Vaše šetření nenaruší chod pracoviště ve smyslu provozního zajištění dle platných směrnic FN Plzeň, **ochrany dat pacientů** a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. **Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb.**, o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, které budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené, odborné praxe a **pod přímým vedením** oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je **RNDr. Karel Fajfrlík Ph.D., přednosta MIKRO FN Plzeň.**

Po zpracování Vámi zjištěných údajů poskytnete zdravotnickému oddělení / klinice či organizačnímu celku FN Plzeň závěry Vašeho šetření, pokud o ně projeví oprávněný pracovník ZOK / OC zájem a budete se aktivně podílet na případné prezentaci výsledků Vašeho šetření na vzdělávacích akcích pořádaných FN Plzeň.

Toto povolení nezakládá povinnost zdravotnických pracovníků s Vámi spolupracovat, pokud by spolupráce s Vámi narušovala plnění pracovních povinností zaměstnanců. Spolupráce zaměstnanců FN Plzeň na Vašem šetření je dobrovolná.

Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

Mgr. Bc. Světluše Chabrová
manažerka pro vzdělávání a výuku NELZP
zástupkyně náměstkyně pro oš. péči

Útvar náměstkyně pro oš. péči FN Plzeň
tel. 377 103 204, 377 402 207
e-mail: chabrovas@fnplzen.cz

25. 10. 2017