FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

Kateřina Vlková

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

ONEMOCNĚNÍ PŘENÁŠENÁ KLÍŠŤATY

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

PLZEŇ 2018

Čestné prohlášení:

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

V Plzni dne 27. 3. 2018

.....

vlastnoruční podpis

ANOTACE

Příjmení a jméno: Vlková Kateřina

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Onemocnění přenášená klíšťaty

Vedoucí práce: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

Počet stran: 63 (číslované 45, nečíslované 18)

Počet příloh: 1

Počet titulů použité literatury: 37

Klíčová slova: klíště, klíšťová encefalitida, lymeská borelióza, tularémie

Souhrn:

Bakalářská práce se zabývá onemocněními, která jsou přenášená klíštětem se zaměřením na onemocnění vyskytující se v České republice. Práce je rozdělena na teoretickou a praktickou část. Teoretická část popisuje klíště a následně onemocnění přenášená klíštětem, především klíšťovou encefalitidu a lymeskou boreliózu, ale jsou zde zmíněna i onemocnění, která se vyskytují méně často nebo která jsou lokalizována v jiných částech světa. Praktická část se zabývá počtem diagnostikovaných pacientů a počtem pozitivních nálezů klíšťové encefalitidy, lymeské boreliózy a tularémie ve Fakultní nemocnici Plzeň v roce 2017. Výsledkem jsou grafy, které porovnávají počet pozitivních nálezů v průběhu roku 2017.

ANNOTATION

Surname and name: Vlková Kateřina

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

Title of thesis: Tick-borne diseases

Consultant: RNDr. Karel Fajfrlík, Ph.D.

Number of pages: 63 (numbered 45, unnumbered 18)

Number of appendices: 1

Number of literature items used: 37

Keywords: tick, tick-borne encephalitis, lyme disease, tularemia

Summary:

This bachelor thesis deals with tick-borne diseases with the focus on the diseases that occur in the Czech Republic. The thesis consists of a theoretical part and a practical part. The theoretical part describes a tick and then the tick-borne diseases, especially tick-borne encephalitis and lyme disease. However, there are also mentioned diseases that are less frequent or diseases that occur in other parts of the world. The practical part deals with the number of diagnosed patients and the number of positive findings of tick-borne encephalitis, lyme disease and tularemia in University hospital Pilsen in the year 2017. The results are graphs that compare the number of hits during the year 2017.

Poděkování:

Ráda bych poděkovala RNDr. Karlu Fajfrlíkovi, Ph.D. za odborné vedení práce, poskytování rad a materiálních podkladů. Dále děkuji Mgr. Petře Souškové a MUDr. Jarmile Kudové za pomoc při zpracování praktické části bakalářské práce.

OBSAH

ÚVOD **12**

TEORETICKÁ ČÁST **13**

1 KLÍŠŤATA **13**

1.1 MORFOLOGIE 13

1.2 VÝVOJOVÝ CYKLUS 13

1.3 DRUHY 14

1.3.1 Čeleď Klíšťata (Ixodidae) *14*

1.3.1.1 Rod Ixodes 15

1.3.1.1.1 Ixodes ricinus 15

1.3.1.2 Rod Dermacentor 15

1.3.1.3 Rod Haemaphysalis 16

1.3.1.4 Rod Rhipicephalus 16

1.3.1.5 Rod Amblyomma 16

1.3.1.6 Rod Hyalomma 16

1.3.2 Čeleď Klíšťáci (Argasidae) *17*

1.3.2.1 Rod Argas 17

1.3.2.2 Rod Ornithodorus 17

2 ONEMOCNĚNÍ PŘENÁŠENÁ KLÍŠŤATY **18**

2.1 KLÍŠŤOVÁ ENCEFALITIDA 18

2.1.1 Historie *18*

2.1.2 Taxonomie a stavba viru *18*

2.1.3 Patogeneze *18*

2.1.3.1 Průnik viru a jeho šíření v organismu 19

2.1.4 Epidemiologie *19*

2.1.4.1 Výskyt klíšťové encefalitidy v České republice 19

2.1.4.2 Výskyt klíšťové encefalitidy ve světě 20

2.1.5 Klinické příznaky *20*

2.1.5.1 První fáze 20

2.1.5.2 Druhá fáze 20

2.1.6 Diagnostika *21*

2.1.6.1 Laboratorní diagnostika 21

2.1.7 Léčba *22*

2.1.8 Prevence *23*

2.1.8.1 Očkování 23

2.2 LYMESKÁ BORELIÓZA 23

2.2.1 Obecná charakteristika bakterie *24*

2.2.2 Patogeneze ... *24*
2.2.3 Epidemiologie ... *25*
2.2.4 Klinické příznaky ... *26*
2.2.4.1 Časně lokalizované stádium ... 26
2.2.4.2 Časně diseminované stádium ... 26
2.2.4.3 Pozdně diseminované stádium ... 27
2.2.5 Diagnostika ... *28*
2.2.5.1 Nepřímý průkaz ... 28
2.2.5.2 Přímý průkaz ... 28
2.2.6 Terapie ... *29*
2.2.7 Prevence ... *29*
2.3 DALŠÍ ONEMOCNĚNÍ PŘENÁŠENÁ KLÍŠŤATY ... 30
2.3.1 Virová onemocnění ... *30*
2.3.1.1 Onemocnění vyvolaná flaviviry ... 30
2.3.1.2 Hemoragická horečka Krim-Kongo ... 31
2.3.1.3 Coloradská klíšťová horečka ... 31
2.3.2 Bakteriální onemocnění ... *31*
2.3.2.1 Tularémie ... 31
2.3.2.1.1 Klinické příznaky ... 32
2.3.2.1.2 Laboratorní diagnostika ... 32
2.3.2.1.3 Léčba a prevence ... 33
2.3.2.2 Lidská granulomatózní ehrlichióza (HGE) ... 33
2.3.2.3 Bartonellóza ... 33
2.3.2.4 Návratné horečky vyvolané borreliemi ... 34
2.3.2.5 Rickettsiózy přenášené klíšťaty ... 34
2.3.2.5.1 Maltská horečka ... 34
2.3.2.5.2 Horečka Skalistých hor (Rocky mountain spotted fever) ... 34
2.3.2.5.3 Africká klíšťová horečka ... 35
2.3.2.6 Q-horečka ... 35
2.3.3 Parazitární onemocnění ... *35*
2.4 PREVENCE ONEMOCNĚNÍ PŘENÁŠENÝCH KLÍŠŤATY ... 36
PRAKTICKÁ ČÁST ... 37
3 CÍL PRÁCE ... 37
4 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY ... 37
5 METODIKA ... 38
5.1 VYŠETŘENÍ KLÍŠŤOVÉ ENCEFALITIDY METODOU ELISA ... 38
5.1.1 Princip vyšetření ... *38*
5.1.2 Použité reagencie a biologický materiál ... *38*

5.1.3 Postup vyšetření ... *38*
5.1.4 Vyhodnocení výsledků ... *39*
5.2 VYŠETŘENÍ LYMESKÉ BORELIÓZY ... 39
5.2.1 Vyšetření protilátek metodou ELISA ... *40*
5.2.1.1 Princip vyšetření ... 40
5.2.1.2 Použité reagencie a biologický materiál ... 40
5.2.1.3 Postup vyšetření ... 41
5.2.1.4 Vyhodnocení výsledků ... 41
5.2.2 Vyšetření protilátek metodou Westernblot ... *41*
5.2.2.1 Princip vyšetření ... 41
5.2.2.2 Použité reagencie a biologický materiál ... 42
5.2.2.3 Postup vyšetření ... 42
5.2.2.4 Vyhodnocení výsledků ... 43
5.3 VYŠETŘENÍ TULARÉMIE ... 43
5.3.1 Princip vyšetření ... *43*
5.3.2 Použité reagencie a biologický materiál ... *43*
5.3.3 Postup vyšetření ... *43*
5.3.3.1 Rychlá aglutinace ... 43
5.3.3.2 Pomalá aglutinace ... 43
5.3.4 Vyhodnocení výsledků ... *44*
5.3.4.1 Rychlá aglutinace ... 44
5.3.4.2 Pomalá aglutinace ... 44
6 VLASTNÍ VÝSLEDKY ... 45
6.1 KLÍŠŤOVÁ ENCEFALITIDA ... 45
6.2 LYMESKÁ BORELIÓZA ... 47
6.3 TULARÉMIE ... 50
6.4 SOUHRNNÉ VÝSLEDKY ... 52
7 DISKUZE ... 53
ZÁVĚR ... 56
SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK
SEZNAM GRAFŮ
SEZNAM PŘÍLOH
PŘÍLOHY

ÚVOD

V mé bakalářské práci se zabývám onemocněními, jejichž vektorem je klíště. Zabývám se jak onemocněními, která se vyskytují v České republice a jsou přenášená klíštětem *Ixodes ricinus*, tak onemocněními, se kterými se u nás tak často nesetkáme, protože se vyskytují v jiných částech světa a mohou být přenášena jinými druhy klíšťat, která se v ČR nevyskytují. Má bakalářská práce se nezabývá pouze onemocněními přenášenými klíštětem, ale také klíštětem samotným. Práce je rozdělena na teoretickou a praktickou část.

Teoretická část práce nejprve pojednává o klíštěti. Zmiňuji se o morfologii klíšťat, jejich vývojovém cyklu, ale také se zabývám druhy klíšťat, která mohou onemocnění přenášet. Blíže se zabývám klíštětem *Ixodes ricinus*, které se vyskytuje v České republice. Dále se práce věnuje onemocněním, která jsou přenášená klíštětem. Nejvíce se práce zaměřuje na onemocnění, která se u nás vyskytují nejčastěji, což jsou klíšťová encefalitida a lymeská borelióza. U těchto onemocnění uvádím původce, klinické příznaky, diagnostiku, možnou léčbu a prevenci. Dále se zmiňuji o méně často se vyskytujících onemocněních u nás jako je tularémie či ehrlichióza, ale i o onemocněních, se kterými se v ČR nesetkáme, ať se jedná o bakteriální, virová či parazitární onemocnění.

V praktické části jsem se rozhodla zabývat klíšťovou encefalitidou, lymeskou boreliózou a tularémií. Nejdříve se zmiňuji o metodice vyšetření těchto onemocnění na Ústavu mikrobiologie Fakultní nemocnice Plzeň. Následně jsou v praktické části zpracovány výsledky laboratorních vyšetření těchto onemocnění za rok 2017.

Cílem mé bakalářské práce je seznámit se s diagnostikou a výskytem onemocnění lymeskou boreliózou, klíšťovou encefalitidou a tularémií v určitém časovém období a analyzovat počty provedených vyšetření ve Fakultní nemocnici Plzeň.

Téma mé bakalářské práce jsem si zvolila na základě zájmu o obor mikrobiologie. Dále mě také zaujala problematika klíšťat a onemocnění, která přenáší, protože tato onemocnění patří k velmi často se vyskytujícím onemocněním i přesto, že se jim dá ve velkém množství případů předcházet (včasné a správné odstranění klíštěte, používání repelentu, u klíšťové encefalitidy očkování, …).

TEORETICKÁ ČÁST

1 Klíšťata

Klíšťata jsou velmi významní přenašeči mnoha onemocnění. V ČR jde nejčastěji o klíšťovou encefalitidu a lymeskou boreliózu, ale možný je i přenos tularémie a ehrlichiózy. (Roháčová, 2006) Na jiných územích mohou klíšťata přenášet i další virová, bakteriální, ale i parazitární onemocnění. Přisátí klíštěte nemusí vždy znamenat přenos infekce, ale může způsobit i kožní a alergické reakce. (Kimmig, Hassler, Braun, 2003)

1.1 Morfologie

Tělo klíšťat je kryto štítem na dorzální části, který pokrývá buď celý povrch těla u samečků, nebo pouze jeho přední část u samiček a nedospělých stádií. Hlavová část je umístěna terminálně a je dobře viditelná. (Rosický a kol., 1979) Na hlavové části se nachází hypostom, chelicery a pedipalpy. Hypostom je sací ústrojí, které má na ventrální straně zpětně zahnuté háčky, které slouží k průniku do kůže a uchycení se, a u samečků slouží také ke kopulaci. (Macháček, 2014) Chelicery slouží k prořínutí kůže a pedipalpy mají funkci smyslového orgánu a kryjí hypostom v době, kdy klíště nesaje. (Rosický, Daniel, 1989) Slinné žlázy se nacházejí mezi hypostomem a chelicerami. Jejich sekret obsahuje látky, které umožňují sání krve například antikoagulancia a anesteticky působící látky. (Roháčová, 2006) Končetiny mají 4 články. Dýchací otvory jsou umístěny za kyčlemi čtvrtého páru končetin. Na chodidlech jsou polštářkovité přísavky a na chodidlech prvního páru končetin je umístěn smyslový Hallerův orgán. (Rosický a kol., 1979) Hallerův orgán obsahuje senzory, které vnímají koncentraci oxidu uhličitého a teploty, což pomáhá klíštěti detekovat přítomnost hostitele. Larvy klíšťat jsou šestinohé, ostatní vývojová stádia jsou osminohá. (Macháček, 2014)

1.2 Vývojový cyklus

Vývojový cyklus klíšťat probíhá přes různá vývojová stádia, která se před přeměnou musí nasát a následně svléknout. Obecně se nejdříve z vajíčka vylíhne larva, která se poté přeměňuje v nymfu. Nakonec se nymfa mění v dospělce, který je již pohlavně zralý. (Kimmig, Hassler, Braun, 2003) Larvy nemají vyvinuté pohlavní orgány, u některých druhů chybějí i vzdušnice, jejich receptory jsou jednodušší a liší se velikostí a morfologicky. Nymfy jsou již podobní dospělcům (imagům), jen nemají

plně vyvinuty pohlavní orgány. Ve vývoji se střídá volné a parazitické období. Vývojové cykly jednotlivých druhů klíšťat jsou odlišné podle počtu nymfálních instarů a střídání hostitelů. Po nasání krve přechází klíště do dalšího vývojového stádia. Klíšťata mohou být jednohostitelská, dvouhostitelská a tříhostitelská. Jednohostitelská klíšťata prochází svým vývojem pouze na jednom hostiteli. Dospělá samice poté hostitele opouští, aby nakladla vajíčka. Dvojhostitelská klíšťata využívají ke svému vývojovému cyklu dva hostitele. Larva po nasátí zůstává na svém hostiteli a prodělá na něm vývoj v nymfu, která se nasaje a hostitele opouští. Tříhostitelský typ klíšťat využívá ke svému vývoji 3 různé hostitele, většinou různých druhů. Každé vývojové stádium opouští hostitele po svém nasátí. (Rosický, Daniel, 1989)

1.3 Druhy

Klíšťata patří do skupiny pavoukovců (*Arachinida*) třídy roztočů (*Acarida*). Rozdělujeme je na dvě skupiny klíšťáci a klíšťata. Klíšťáci připomínají shora kožovitý vak, kusadla se nacházejí na spodní straně těla. Jejich těla jsou měkčí, protože nemají chitinový štít. Nejvýznamnější zástupce této skupiny ve střední Evropě je klíšťák holubí (*Argas reflexus*). Klíšťata mají tvrdý chitinový štít, který u samečků překrývá celé tělo a u nenasátých samiček polovinu těla. Kusadla jsou uložena směrem dopředu. Nejvýznamnějším zástupcem v České republice je klíště obecné (*Ixodes ricinus*). (Kimmig, Hassler, Braun, 2003)

1.3.1 Čeleď Klíšťata (Ixodidae)

Dospělí jedinci mají na hřbetu tvrdý štít zvaný scutum, u samečků překrývá celé tělo, u samiček pouze jeho polovinu, díky čemuž může samička při sání zvětšit několikanásobně svůj objem. Hlavička neboli gnathosoma vyčnívá z těla a je vybavena ústním ústrojím hypostomem, na kterém jsou zahnuté zoubky, díky kterým se klíště lépe udrží na hostiteli během sání. (Volf, Horák a kol., 2007) Larvy klíšťat mají 3 páry nohou, dospělci poté 4 páry. Dýchací otvory jsou umístěny za kyčlemi. Na chodidlech mají klíšťata polštářkovité přísavky a Hallerův orgán. (Rosický a kol., 1979) Hallerův orgán slouží k vyhledávání hostitele pomocí tepla, CO_2 a dalších chemických sloučenin. Aby se klíšťata mohla proměnit do dalšího vývojového stádia, musí se jednou nasát krve. Sání krve u dospělé samice umožní větší snůšku vajíček. (Volf, Horák a kol., 2007)

1.3.1.1 Rod Ixodes

Klíšťata rodu *Ixodes* jsou rozšířená po celém světě. Někteří zástupci tohoto rodu sají pouze na specifickém hostiteli (například *Ixodes hexagonus* saje pouze na ježcích). Další zástupci, jako jsou *Ixodes ricinus* či *Ixodes dammini*, sají na rozličných hostitelích, jako jsou ještěrky, ptactvo či savci. *Ixodes holocyclus* je jedovaté klíště, které způsobuje obrnu dýchacího systému a tím je schopno usmrtit některá hospodářská zvířata. Klíšťata rodu *Ixodes* jsou přenašeči mnoha virových (klíšťová encefalitida, ruská jaroletní encefalitida, …), bakteriálních (borelióza, ehrlichióza, rickettsiózy) i parazitárních nemocí (babesióza). (Kimmig, Hassler, Braun, 2003)

1.3.1.1.1 Ixodes ricinus

Ixodes ricinus neboli klíště obecné je klíště, které se vyskytuje na našem území. Má typický tříhostitelský cyklus. Larvy sají na drobnějších živočiších, jako jsou drobní hlodavci, ještěrky a ptáci. Nymfy sají již i na větších obratlovcích. Dospělé samičky sají na velkých savcích, jako je lesní zvěř, psi, kopytníci. Člověk může být hostitelem kteréhokoliv vývojového stádia. (Volf, Horák a kol., 2007) Larvy jsou přibližně 0,8 mm velké, nymfy 1,1 mm, dospělí samci 2,2-2,6 x 1,2-1,4 mm, hladové samice 3,5-4,5 x 2,8-3,2 mm. Nasáté samice mohou být až 11 x 7 mm velké. Tato klíšťata nemají vyvinuté oči. Klíště obecné se vyskytuje po celé západní, střední a jižní Evropě. V ČR jej můžeme najít především v listnatých a smíšených lesích. Jejich aktivní doba v našich podmínkách je 210-240 dní. Samice kladou až 5 000 vajíček. Zimují všechna vývojová stádia v nenasátém i nasátém stavu. Celý vývojový cyklus trvá obvykle 3 roky, ale může být dlouhý 2-6 let. Tato klíšťata přenáší lymeskou boreliózu, klíšťovou encefalitidu, tularémii, ehrlichiózu a Q-horečku. (Rosický a kol., 1979)

1.3.1.2 Rod Dermacentor

Klíšťata rodu *Dermacentor* jsou klíšťata, která se také vyskytují v Evropě. Jejich vývojová stádia sají na drobných savcích, dospělci poté na větších savcích. (Kimmig, Hassler, Braun, 2003) Jedním ze zástupců je *Dermacentor maginatus* neboli piják stepní, který se vyskytuje ve stepních, lesostepních a polostepních oblastech. Na našem území se nevyskytuje. Velikostně je podobné klíštěti obecnému. U tohoto druhu jsou vyvinuty oči. Piják stepní je přenašečem klíšťové encefalitidy, krymské

horečky, Q-horečky, maltské horečky a tularémie. Dalším zástupcem je *Dermacentor reticulatus* neboli piják lužní, který se vyskytuje ve vlhčích oblastech, kolem vodních toků, na křovinatých pastvinách a v lužních lesech. Nalezneme jej ve Velké Británii, střední a jižní Evropě. U nás jej můžeme potkat na jižní Moravě. Piják lužní je přenašečem klíšťové encefalitidy, omské hemorhagické horečky, maltské horečky a tularémie. (Rosický a kol., 1979)

1.3.1.3 Rod Haemaphysalis

Jedním ze zástupců rodu *Haemaphysalis* je klíšť lužní neboli *Haemaphysalis concinna*, který se vyskytuje i na území ČR na jižní Moravě. Jedná se o klíště, které se vyskytuje ve vlhčích oblastech. Velikostně je trochu menší než klíště obecné. Larvy a nymfy sají hlavně na ptácích, hlodavcích a hmyzožravcích. Dospělí jedinci sají na velkých savcích. Na člověku mohou sát dospělci a nymfy. Klíšť lužní je přenašečem klíšťové encefalitidy a rickettsiózy. Dalším zástupcem je klíšť lesostepní neboli *Haemaphysalis inermis*, který přenáší virus klíšťové encefalitidy. V České republice se nevyskytuje. Klíšť stepní neboli *Haemaphysalis punctata* přenáší virus klíšťové encefalitidy, rickettsiózy, Q-horečku a babeziózu. Na našem území se nevyskytuje. (Rosický a kol., 1979)

1.3.1.4 Rod Rhipicephalus

Klíšťata tohoto rodu potřebují menší vlhkost vzduchu než ostatní druhy, a proto se vyskytují v suchých oblastech. Jsou schopna přežívat a množit se i v lidských obydlích. Tato klíšťata se vyskytují ve Středomoří a v Africe. Klíšťata rodu *Rhipicephalus* jsou přenašeči rickettsiových infekcí. (Kimmig, Hassler, Braun, 2003)

1.3.1.5 Rod Amblyomma

Klíšťata rodu *Amblyomma* se vyskytují po celém světě. Nejvýznamnějšími zástupci jsou *Amblyomma americanum* neboli Lone Star Tick, které se vyskytuje v Americe, a *Amblyomma hebraeum*, které se vyskytuje v jižní Africe. Ve střední Evropě se tento rod téměř nevyskytuje. Klíšťata rodu *Amblyomma* mohou být přenašeči rickettsiových infekcí a ehrlichiózy. (Kimmig, Hassler, Braun, 2003)

1.3.1.6 Rod Hyalomma

Tato klíšťata jsou paraziti především kopytníků a vyskytují v Asii, Africe a v jižní Evropě. Jedná se o přenašeče virové hemorhagické horečky Krim-Kongo. (Kimmig, Hassler, Braun, 2003)

1.3.2 Čeleď Klíšťáci (Argasidae)

Tělo klíšťáků je vejčitě oválné, ploché, kožovité bez štítků. Ústní ústrojí je umístěno na spodní straně těla. Larvy sají na hostiteli dlouhodobě, ostatní vývojová stádia sají krátkodobě a opakovaně, proto se zdržují v hnízdech svých hostitelů. Při nedostatku potravy jsou některé druhy schopny hladovět i několik let. (Volf, Horák a kol., 2007)

1.3.2.1 Rod Argas

Nejběžnějším klíšťákem u nás je *Argas reflexus* neboli klíšťák holubí. Jedná se o klíšťáka, který parazituje především na holubech, ale může sát i na lidech, u kterých při jejich sání vzniká podlitina a u některých se může vyvinout silná alergická reakce, bolesti hlavy a horečka. (Volf, Horák a kol., 2007) Dalším zástupcem je *Argas vulgaris* neboli klíšťák obecný, který je také cizopasníkem ptáků, ale je schopný sát i na člověku. Vyskytuje se především v Asii, ale i ve východní a střední Evropě. *Argas persicus* neboli klíšťák zhoubný je také parazitem ptáků. Je rozšířen prakticky po celém světě. Vyskytuje se v teplejších pouštních a stepních oblastech. Tento klíšťák produkuje toxický produkt ve svých slinných žlázách, který vstřikuje při sání do rány a tím může způsobit úhyn ptáků jako svých hostitelů. Při sání na člověku způsobuje silné kožní reakce. (Rosický a kol., 1979)

1.3.2.2 Rod Ornithodorus

Klíšťáci rodu *Ornithodorus* se vyskytují především v Africe, poté také v Asii a Americe. Jedná se o přenašeče návratných horeček vyvolaných borreliemi. Jedním ze zástupců je *Ornithodorus moubata*, který je přenašečem africké návratné horečky vyvolané *Borrelii duttoni*. Tento klíšťák je schopný dlouhodobě hladovět. Jeho vývoj v příznivých podmínkách trvá 4-6 měsíců. (Volf, Horák a kol., 2007)

2 Onemocnění přenášená klíšťaty

2.1 Klíšťová encefalitida

Klíšťová encefalitida je jedno z nejzávažnějších onemocnění člověka. Původcem onemocnění je virus klíšťové encefalitidy. Virus může cirkulovat v prostředí díky vnímavému hostitelskému zvířeti a klíštěti coby přenašeči viru. Člověk je pouze nepřirozeným článkem ve vývojovém cyklu viru. (Růžek a kol., 2015) Klíšťová encefalitida je zánětlivé onemocnění centrální nervové soustavy. U většiny pacientů probíhá ve dvou fázích. (Chmelík, 2008)

2.1.1 Historie

Onemocnění klíšťovou encefalitidou bylo objeveno roku 1931 rakouským lékařem H. Schneiderem, který pozoroval pravidelný sezónní výskyt nemoci. Původce onemocnění byl objeven až roku 1937 ruskými vědci, kteří jej detekovali v lidských vzorcích, myších a klíšťatech. Na našem území byly případy klíšťové encefalitidy poprvé zjištěny roku 1948. Téhož roku dr. František Gallia izoloval virus z krve a mozkomíšního moku pacientů, kteří onemocněli klíšťovou encefalitidou. To, že virus klíšťové encefalitidy je přenášen klíštětem, bylo potvrzeno dr. Josefem Rampasem a dr. Františkem Galliou po izolaci viru ze všech vývojových stádií klíštěte. (Růžek a kol., 2015)

2.1.2 Taxonomie a stavba viru

Virus klíšťové encefalitidy patří do rodu *Flavivirus* a čeledi *Flaviviridae*. Do rodu *Flavivirus* patří viry, které jsou přenášeny komáry (např. virus žluté zimnice, virus dengue, …) a klíšťaty. Dále se sem řadí viry, které nemají vektor. Virus klíšťové encefalitidy se taxonomicky člení na 3 subtypy, které odpovídají 3 genotypům – evropský typ, dálnovýchodní typ a sibiřský typ. Částice viru má velikost 50-60 nm. (Růžek a kol., 2015) Virus klíšťové encefalitidy má kulatý nebo oválný tvar. Skládá se z jednovláknové RNA, která je obalena kapsidou složenou z C proteinu. Celý virus je obalen ještě lipidovou membránou s proteiny M a E. (Chmelík, 2008)

2.1.3 Patogeneze

Většina objevů, které se týkaly patogeneze klíšťové encefalitidy, byly objeveny díky experimentům na buněčných kulturách, laboratorních myších, primátech a vzorcích pocházejících z člověka. (Růžek a kol., 2015)

2.1.3.1 Průnik viru a jeho šíření v organismu

Člověk se může nakazit virem klíšťové encefalitidy především přisátím klíštěte, ale jsou známy i případy, kdy se člověk nakazil syrovým mlékem nakažené krávy nebo ovce. Virus se následně pomnoží v regionálních uzlinách a vzniká virémie. (Schindler, 2010) Virus klíšťové encefalitidy se v uzlinách pomnožuje převážně v makrofázích. Virus, který není schopen se množit v makrofázích, není schopen vyvolat virémii a následně dosáhnout centrální nervové soustavy, která je cílovým orgánem. Proto je schopnost viru infikovat makrofág pro rozvoj infekce zcela zásadní. (Ahantarig a kol., 2009) Po masivním rozmnožení viru v lymfatických uzlinách následuje jeho uvolňování do krevního řečiště a nastává tzv. primární virémie. Během primární virémie se v krvi nachází poměrně malé množství virů, ale ty jsou roznášeny do různých tkání a orgánů, v nichž se virus pomnožuje a je znovu uvolňován do krve, kde nastává sekundární virémie. Během sekundární virémie virus překonává hematoencefalickou bariéru a dostává se do centrální nervové soustavy. (Růžek a kol., 2015)

2.1.4 Epidemiologie

Člověk se virem nejčastěji nakazí přisátím infikovaného klíštěte *Ixodes ricinus* v ohnisku nákazy. Tato ohniska jsou nejčastěji na okrajích listnatých a smíšených lesů. (Votava a kol., 2010) K nakažení dochází nejčastěji při sportovních aktivitách, sběru hub, rekreačních aktivitách a lovu ryb a lesní zvěře. Klíšťová encefalitida se vyskytuje u všech věkových skupin, avšak u lidí vyššího věku je onemocnění závažnější. (Růžek a kol., 2015) Virus klíšťové encefalitidy koluje v přírodě v místech přírodní ohniskovostí mezi zvířaty, člověk se nakazí, pokud se v tomto ohnisku vyskytne, není primárním hostitelem. (Kříž, Beneš, 2014)

2.1.4.1 Výskyt klíšťové encefalitidy v České republice

Do roku 1990 měla nemocnost klíšťovou encefalitidou setrvalý trend, následně od začátku devadesátých let se v důsledku klimatických změn nemocnost zvyšuje. Nejvíce nemocných bylo zaznamenáno v roce 2006, jednalo se o 1 029 případů. Výskyt onemocnění je závislý na teplotě a sněhové pokrývce v zimě – mírná zima a dlouhotrvající sněhová pokrývka jsou příznivé pro přežívání klíšťat. Nejvyšší výskyt onemocnění klíšťovou encefalitidou je meziročně v červenci. Onemocnění se nejvíce vyskytuje na jihu Čech. Postupně se infekce šíří i do oblastí, kde se dříve

nevyskytovala, jedná se především o místa ve vyšší nadmořské výšce, jako je severozápadní část Čech a severní Morava. (Kříž, Beneš, 2014)

2.1.4.2 Výskyt klíšťové encefalitidy ve světě

Celosvětová incidence viru klíšťové encefalitidy je 10-15 tisíc onemocnění ročně. Většina se vyskytuje v Evropě a Rusku. Virus se postupně rozšiřuje do severnějších zemí a na území s vyšší nadmořskou výškou. Výskyt ale výrazně kolísá – např. v Pobaltí dochází k výraznému poklesu a na druhé straně ve střední Evropě dochází ke vzestupu. Od roku 2012 musí být onemocnění klíšťovou encefalitidou povinně hlášeno ve všech zemích Evropské unie. (Růžek a kol., 2015)

2.1.5 Klinické příznaky

Klíšťovou encefalitidou se mohou nakazit lidé od kojeneckého do vysokého věku. Průběh nemoci se ale s narůstajícím věkem stává závažnější. U velké části lidí, kteří prodělali zánět centrální nervové soustavy, přetrvávají trvalé následky. Inkubační doba po přisátí klíštěte je průměrně 8 dní. (Růžek a kol., 2015) Onemocnění probíhá většinou ve dvou fázích, ale není to zásadou. Dvoufázový průběh lze vysledovat u 4/5 pacientů. (Chmelík, 2008)

2.1.5.1 První fáze

První fáze onemocnění je velmi zřídka rozpoznána, protože její průběh je velmi podobný chřipce. Proto je velmi velké procento pacientů léčeno s chřipkovými příznaky a není provedeno laboratorní vyšetření. Až po nástupu druhé fáze se zpětně zjišťuje, že se jednalo o první fázi klíšťové encefalitidy. (Chmelík, 2008) Nejčastějšími klinickými příznaky jsou teplota, bolesti svalů, únava, bolesti hlavy, … Pokud by byla pacientovi laboratorně vyšetřena krev, byla by zjištěna leukopenie, trombocytopenie a zvýšení transmitáz i u pacientů, kteří dříve neměli v anamnéze jaterní onemocnění. (Růžek a kol., 2015)

2.1.5.2 Druhá fáze

Druhá fáze onemocnění se objevuje po krátkém bezpříznakovém období. Mezi nejčastější problémy pacienta patří horečky, bolest hlavy, zvracení, světloplachost a závratě. Další průběh onemocnění se odlišuje podle forem nemoci. (Chmelík, 2008) Mezi tyto formy patří meningitida, encefalitida, encefalomyelitida

a encefalomyeloradikulitida. Jednotlivé formy onemocnění jsou odlišně závažné a s odlišnou četností. (Růžek a kol., 2015)

Meningitická forma je provázena krátkým horečnatým obdobím se zvracením, bolestmi hlavy a schváceností. (Chmelík, 2008) Mezi další příznaky patří světloplachost a závratě. Příznaky se projevují většinou 5-8 dní, následně mizí nevolnost a teplota klesá. Po prodělání meningitické formy je prognóza poměrně příznivá a trvalé následky nebývají. (Růžek a kol., 2015)

Encefalická forma je provázena poruchami vědomí, mozečkovými příznaky a poruchami spánku. (Chmelík, 2008) Při této formě onemocnění může být poškozen mozkový kmen a může dojít k obrně okohybných nervů, lícního nervu a statoakustického nervu. Při tomto postižení může být ohrožena i dýchací funkce a srdeční akce. Dále může být postižen i extrapyramidový systém a projevuje se zvýšený tonus svalů, třes a hypokineze. U této formy onemocnění je horší prognóza a je zde zvýšené procento trvalých následků. (Růžek a kol., 2015)

Při encefalomyelitidě dochází především k postižení předních rohů míšních, což je spojeno s rozvojem trvalé chabé obrny. (Chmelík, 2008) Příznaky postižení míchy se projevují během několika hodin až dní. Tato forma onemocnění vede většinou k částečné nebo trvalé invaliditě. (Růžek a kol., 2015)

Encefalomyeloradikulitida je nejzávažnější formou onemocnění klíšťové encefalitidy, kdy jsou poškozeny kořeny. Průběh je zpočátku nejasný. Prognóza není vůbec příznivá. (Růžek a kol., 2015)

2.1.6 Diagnostika

Klinická diagnostika v případě klíšťové encefalitidy je velmi nejasná vzhledem k chřipkovým příznakům. Pomoci může zjištění, že se pacient vyskytoval v ohnisku nákazy či měl v poslední době přisáté klíště. Virus klíšťové encefalitidy přenáší i larvy a nymfy klíštěte, které jsou snadno přehlédnutelné, a pacient může přisátí klíštěte negovat. Proto je vždy nutné provést laboratorní diagnostiku. (Růžek a kol., 2015)

2.1.6.1 Laboratorní diagnostika

Při hematologickém vyšetření bývá zvýšená sedimentace erytrocytů v první fázi onemocnění a v druhé fázi onemocnění se projevuje leukocytóza. (Chmelík, 2008) Při základním biochemickém vyšetření bývá mírně zvýšené CRP a zvýšené jaterní

testy. Hematologické a základní biochemické vyšetření moc vodítek neposkytuje, ukazuje pouze na virové onemocnění nejasného původu. (Růžek a kol., 2015) Dále je možné provést vyšetření likvoru, kde je možné vyšetřit energetiku moku, vyšetření bariérové funkce, zánětlivé markery a cytologii. (Chmelík, 2008) V mozkomíšním moku se objevuje poměrně vysoký počet elementů. U klíšťové encefalitidy se v mozkomíšním moku objevuje větší množství laktátu, které je vyjádřeno koeficientem energetické bilance, což je poměr koncentrace glukózy a laktátu. Tento koeficient je při klíšťové encefalitidě mírně snížený. Bílkovina v likvoru je zvýšená. (Růžek a kol., 2015)

Virologické vyšetření nejlépe dokáže identifikovat virus klíšťové encefalitidy. V první fázi je možné virus izolovat z krve nebo je možné jej detekovat pomocí RT-PCR (reverse-transcriptase-polymerase chain reaction). Také je možné samotný virus detekovat v likvoru pomocí elektronové mikroskopie nebo izolovat a detekovat pomocí RT-PCR z mozkové tkáně. Ale vzhledem k nespecifickým příznakům první fáze se pacient většinou vyšetří až ve druhé fázi onemocnění, ve které již virus není možné izolovat. Ve druhé fázi onemocnění se spíše užívá nepřímý sérologický průkaz viru. (Holzmann, 2003) U sérologického vyšetření je možné využít komplementfixační reakce a hemaglutinačně inhibiční test. Od těchto vyšetření se ale v posledních letech ustupuje a využívá se spíše metod typu ELISA. (Votava a kol., 2010) Metodou ELISA se stanovují protilátky IgG a IgM v séru, které jsou v krvi detekovatelné již od počátku onemocnění, takže je možné klíšťovou encefalitidu včasně diagnostikovat. Pokud nejsou protilátky v séru přítomny a je podezření na klíšťovou encefalitidu, doporučuje se vyšetření po týdnu opakovat. (Růžek a kol., 2015)

2.1.7 Léčba

Pro virus klíšťové encefalitidy není specifické virostatikum. Léčba klíšťové encefalitidy je spíše symptomatická nebo podpůrná, ale i to hraje velkou roli v překlenutí akutní fáze klíšťové encefalitidy a návratu pacienta do domácího prostředí z nemocnice. (Růžek a kol., 2015) Antibiotika se využívají k ochraně před sekundárními bakteriálními infekcemi. Zásadní význam pro léčbu má klid na lůžku, vhodné je také podávat vitamíny skupiny B. (Černý, 1997) Při druhé fázi onemocnění je nutné podávat analgetika a antipyretika. Také je nutné pacienta

dostatečně hydratovat a správně vyživovat. Při meningitickém průběhu příznaky po čase ustoupí. U ostatních forem je nutno provádět aktivnější symptomatickou léčbu. U polymorbidních pacientů je nutno dostatečně kompenzovat ostatní obtíže. Pro pacienty s mozečkovými obtížemi je velmi nutná i rehabilitační péče. Při poruše dýchání je nutná dlouhodobá plicní ventilace. Po proběhlé klíšťové encefalitidě je nutné stav řešit komplexně dle stavu pacienta – dlouhodobá rehabilitace, analgetika, sedativa, antidepresiva, … (Chmelík, 2008)

2.1.8 Prevence

Prevence proti klíšťové encefalitidě je spojená s prevencí proti přisátí klíštěte. Při návštěvě oblastí promořených klíšťaty je vhodné užívat účinné repelenty. Také bychom se měli po návratu domů pečlivě prohlédnout a případně přisáté klíště co nejdříve odstranit. Další možnosti ochrany proti klíšťové encefalitidě je očkování. (Chmelík, 2008)

2.1.8.1 Očkování

Očkování je jedinou skutečně účinnou metodou k ochraně proti klíšťové encefalitidě. (Chmelík, 2008) Očkování je vhodné pro všechny osoby starší jednoho roku. Využívá se k prevenci proti klíšťové encefalitidě, nemá léčebný účinek po expozici virem. Nejvhodnější je očkovat v chladných měsících, kdy je nízká pravděpodobnost přisátí klíštěte. Základní očkovací schéma představuje 3 dávky vakcíny. Následně se po třech letech podává posilovací vakcína. Další posilovací vakcíny se podávají po 5 letech. Vakcína je aplikována intramuskulárně, nesmí se aplikovat intravenózně či intradermálně. V případě nutnosti je možné použít i zrychlené schéma, kdy se první dvě injekce podají během 14 dní. Vakcíny proti klíšťové encefalitidě jsou inaktivované, což znamená, že obsahují chemicky usmrcené viry klíšťové encefalitidy. V České republice jsou dostupné dvě vakcíny FSME-Immun a Encepur, které se vyrábějí v dětské a dospělé verzi. (Petráš, 2011) Očkování je velmi efektivní, efektivita očkování dosahuje spolehlivosti až 99,3 %. (Chmelík, 2008)

2.2 Lymeská borelióza

Lymeská borelióza je nemoc s velmi rozmanitými klinickými příznaky, jejímž původcem je spirochetální bakterie rodu *Borrelia*. (Roháčová, 2012) Patří mezi nejčastější zoonózy v České republice. Každý rok je v ČR hlášeno 3 500-4 000 případů. (Prokeš, 2015)

2.2.1 Obecná charakteristika bakterie

Do rodu *Borrelia* patří spirálovité, obtížné se kultivující bakterie, které jsou barvitelné anilinovými barvivy a jsou často přenášeny členovci. (Kramář, 2007) Do rodu *Borrelia* se řadí 32 druhů. Nejdůležitějšími patogeny tohoto rodu jsou bakterie *Borrelia burgdorferi sensu lato*, které jsou původci lymeské boreliózy, dále sem patří *Borrelia recurrentis*, která je původcem návratné horečky, a další. Borrelie tvoří spirály s 5-10 závity. V jejich stěně je typická přítomnost cholesterolu (u bakterií se vyskytuje pouze výjimečně) Vnější membrána obsahuje antigeny např. flagelin a lipoproteiny OspA až OspF, jejichž složení je velmi variabilní a v organismu se cyklicky mění. Borrelie neprodukují žádný známý extracelulární toxin. (Julák, 2006)

Lymeská borelióza je onemocnění způsobené bakteriemi *Borrelia burgdorferi sensu lato*, které patří mezi gramnegativní mikroaerofilní bakterie. Komplex bakterií *Borrelia burgdorferi sensu lato* obsahuje několik druhů. Nejvýznamnější jsou *B. garinii, B. afzelii* a *B. burgdorferi sensu stricto*. V Evropě se nejčastěji vyskytuje *B. garinii* a *B. afzelii*. *B. burgdorferi sensu stricto* se nejčastěji vyskytuje na území Spojených států. (Roháčová, 2012) Jednotlivé druhy *B. burgdorferi sensu lato* se vyznačují různou afinitou ke tkáním. *B. burgdorferi sensu stricto* má afinitu především ke kloubnímu a nervovému systému. *B. afzelii* ke kůži a *B. garinii* má souvislost s neurologickými projevy. (Prokeš, 2015) *Borrelie burgdorferi sensu lato* jsou spirochetální bakterie s tenkým, spirálovitě vinutým tvarem o velikosti 0,2 μm x 4-30 μm. Pohyb je zprostředkován 7-12 bičíky, které jsou umístěny do bazálních disků v cytoplazmatické membráně. Buněčná stěna se skládá ze tří vrstev, vnitřní peptidoglykanové, střední lipopolysacharidové a vnější lipoproteinové. (Bartůněk a kol., 2013)

2.2.2 Patogeneze

Biologický cyklus spirochet probíhá mezi ptačími a savčími hostiteli a klíšťaty rodu *Ixodes*. Člověk je slepým článkem v cyklu, protože interhumánní přenos se nevyskytuje. (Bartůněk a kol., 2013) Spirochety žijí ve střevech klíštěte. Když se klíště přisaje, migrují do slinných žláz a následně do hostitele. Tento proces trvá většinou několik hodin. Z tohoto důvodu je riziko nákazy větší při delším přisátí klíštěte. (Prokeš, 2015) Borrelie jsou přenášené všemi vývojovými stádii klíštěte. Přenos jiným druhem hmyzu je prozatím odmítán. Kromě přenosu klíštětem je možný i přenos

transplacentární. Po vniknutí bakterie do organismu přes kůži se v ní množí. V kůži mohou zůstat a vést ke vzniku migrujícího erytému nebo se mohou i dostávat do mízních uzlin. (Roháčová, 2012) Borrelie se následně šíří lymfatickými cestami a krví. Cílovými orgány pro uchycení bakterie jsou centrální a periferní nervový systém, klouby, myokard, kosterní svaly a některé struktury oka a kůže. Vyskytují se především extracelulárně, ale mohou se vyskytovat i intracelulárně, například v neurogliích, fibroblastech, … Borrelie jsou schopny se bránit imunitě změnou povrchových antigenů nebo aktivním unikem před fagocytózou. (Prokeš, 2015)

2.2.3 Epidemiologie

Lymeská borelióza patří mezi zoonózy s přírodní ohniskovostí. Vyskytuje se u více než 200 druhů savců, plazů a ptáků. Člověk je pouze slepým článkem v cyklu. (Prokeš, 2015) Přenašečem lymeské boreliózy v Evropě jsou klíšťata *Ixodes ricinus.* Česká republika patří k zemím s velkou promořeností klíšťat borrelií a tím pádem i s poměrně vysokým výskytem lymeské boreliózy. (Votava a kol., 2010) Na území České republiky je nakaženo 2-22 % klíšťat, záleží na lokalitě. Pozitivní protilátky jsou nacházeny asi u 10-12 % zdravé populace. K sérokonverzi po přisátí klíštěte dochází asi u 5 % osob, ke klinickým projevům dojde pouze u malého procenta z nich. (Roháčová, 2012) Přenos může být také transplacentární nebo je možný i přenos potřísněním kůže tělními tekutinami klíštěte v oblasti mikrotraumat. (Prokeš, 2015)

V České republice je lymeská borelióza nejčastějším onemocněním přenášeným klíšťaty. Od roku 1986 toto onemocnění podléhá povinnému hlášení. Do roku 1995 počet hlášených případů onemocnění stoupal. V roce 1995 dosáhl svého vrcholu, kdy bylo hlášeno 6 302 případů onemocnění lymeskou boreliózou. Následně počet nově hlášených případů klesal až do roku 2000. Od té doby do roku 2010 má počet hlášených případů setrvalý trend, kdy se počet případů pohybuje mezi 3 500 a 4 500. V roce 2011 bylo hlášeno 4 834 případů. Počet hlášených případů není v různých krajích České republiky stejný. Nejvíce hlášených případů lymeské boreliózy je z kraje Vysočina, Libereckého a Středočeského kraje. Případy onemocnění lymeskou boreliózou jsou hlášeny v průběhu celého roku vzhledem k inkubační době onemocnění. Avšak nejvyšší výskyt je zaznamenáván v letních měsících. Boreliózou

mohou onemocnět všechny věkové skupiny, ale u osob starších 30 let nemocnost stoupá. (Bartůněk a kol., 2013)

2.2.4 Klinické příznaky

U 80-95 % pacientů probíhá infekce abortivně. U zbývajících 5-20 % pacientů se objevují klinické projevy. (Krbková, 2007) Onemocnění lymeskou boreliózou může být rozděleno do 3 stádií. První je časně lokalizované stádium, druhé časně diseminované stádium a třetí pozdně diseminované stádium. První dvě stádia jsou akutní, jsou vyvolaná bakterií samotnou. Ve třetím stádiu se projevují i imunopatologické změny. Inkubační doba se liší podle jednotlivých stádií, pohybuje se mezi několika dny až několika lety. (Roháčová, 2012)

2.2.4.1 Časně lokalizované stádium

Časně lokalizované stádium je prvním stádiem lymeské boreliózy, kdy borrelie vstupují do kůže a v ní se pomnožují. Toto stádium se u některých pacientů projevuje jako *erythema migrans*. (Votava a kol., 2010) Inkubační doba u tohoto stádia se pohybuje mezi 3-180 dny. Erytém se postupně zvětšuje a v některých případech se objevuje centrální vyblednutí, které může mít průměr až několik centimetrů, ale k diagnostice stačí průměr 5 centimetrů. Erytém je bez otoku a nebolestivý, pouze se může objevit pálení nebo citlivost na dotyk. Erytém má tří klinické typy. První je *erythema migrans maculare,* jedná se o homogenní erytém, kde centrálně část nevybledne. Druhý je *erythema migrans annulare,* kde je na okrajích červený lem a ve středu centrální vyblednutí. Třetí je *erythema migrans concentricum*, kde se tvoří koncentrické kružnice, ve kterých se střídá červená a bledá barva. (Prokeš, 2015) U tohoto stádia se objevují i nespecifické příznaky jako je bolest hlavy, zvýšená teplota, nechutenství, únava, bolest svalů a kloubů a lymfadenitida. U některých pacientů se *erythema migrans* nemusí vyvinout a objevují se pouze nespecifické příznaky. (Votava a kol., 2010)

2.2.4.2 Časně diseminované stádium

V časně diseminovaném stádiu jsou borrelie krví diseminovány během několika dnů až týdnů do celého organismu. K typickým kožním projevům tohoto stádia patří borreliový lymfocytom, ale také se mohou objevovat neurologické, revmatologické a kardiální projevy. Borrelie se během jednoho až dvou měsíců přesouvají do mozkové tkáně, jater či myokardu. (Votava a kol., 2010) Na kůži se v tomto stádiu

může objevovat i *erythema multiple*, což je přítomnost dvou a více *erythema migrans*. Nejspíše se jedná o projev diseminace borrelií z primárního ložiska. Borreliový lymfocytom vzniká 1-70 dnů po přisátí klíštěte. Jedná se o lividní uzlík o velikosti několika milimetrů až 5 centimetrů a je lokalizován na ušních boltcích, nose, dvorci prsní bradavky nebo na scrotu. V tomto stádiu se mohou také objevit poškození muskuloskeletárního aparátu, kde se objevují artralgie, bolesti kloubů i svalů bez známek zánětu a artritidy se zánětlivými změnami a tvorbou výpotku. Postižení se týká především velkých kloubů. Postižení pohybového aparátu se objevuje do 6 měsíců od počátku nemoci. U 10-40 % pacientů s neléčenou *erythema migrans* se objevuje postižení nervového systému. Toto postižení se projevuje aseptickou meningitidou, encefalitidou, myelitidou, radikuloneuritidou nebo parézou hlavových nervů (především *n. facialis*). Typicky se objevuje Garinův-Bujouxův-Bannwarthův syndrom, což je syndrom s meningeálními projevy, bolestmi, poruchami kožního čití a periferními parézami mozkových nebo končetinových nervů. Postižení srdce je charakterizováno lymeskou karditidou s poruchami srdečního rytmu. Toto onemocnění se objevuje u 2-5 % pacientů postižených lymeskou boreliózou. Vzácně může být postiženo i oko či játra. (Prokeš, 2015) V tomto stádiu, většinou 3.-4. týden po vstupu borrelií do kůže, se začínají tvořit protilátky. Zpočátku se tvoří protilátky IgM a později okolo 4. - 6. týdne infekce se objevují protilátky IgG. (Votava a kol., 2010)

2.2.4.3 Pozdně diseminované stádium

Pacienti s pozdně diseminovaným stádiem mají kožní projevy a také se mohou projevit lymeská artritida, karditida, chronická progresivní encefalitida a chronická polyneuritida. Kožní projevy jsou manifestovány *acrodermatitis chronica atrophicans* (ACA), která se může projevit na končetinách, na trupu nebo v obličeji. ACA se objevuje několik měsíců, někdy až let, od prvních kožních projevů. (Votava a kol., 2010) ACA se projevuje ve dvou fázích – zánětlivé a atrofické. Zánětlivá fáze se objevuje do dvou let od kontaktu s klíštětem a jedná se o akutní zánět kůže. Kůže je namodralá s patrným edémem. Typická je lokalizace nad kostními strukturami končetin. Další fáze je atrofická, ve kterou zánětlivá fáze přechází. Postižená kůže v atrofické fázi je podobná cigaretovému papíru a prosvítá žilní kresba. (Prokeš, 2015)

2.2.5 Diagnostika

Lymeská borelióza má mnoho klinických příznaků, které se vyskytují na různých orgánech. V období nemoci se také vyskytují remise následované akutními symptomy, nemoc má tzv. cyklický průběh, který je dán antigenní variabilitou borrelií a imunomodulací hostitele, proto je nutné využití komplexní řady laboratorních vyšetřovacích metod. (Bartůněk a kol., 2013) Diagnostika se opírá především o sérologické metody, např. metody ELISA, imunofluorescence, … Borrelie jsou částečně antigenně příbuzné s treponemami, leptospirami a nepatogenními borreliemi v ústní flóře a velká část populace má protilátky ve třídě IgG. Proto je nutné používat soupravy zaměřené přímo na borrelie. (Kramář, 2007) Přímý průkaz se využívá v případech, kdy selžou sérologické metody. U některých pacientů se protilátková odpověď na borrelii nevyvine a přímý průkaz je jedinou možnou laboratorní diagnostikou i přesto, že je obtížnější a dražší. (Votava a kol., 2010)

2.2.5.1 Nepřímý průkaz

Mezi rutinní laboratorní metody pro diagnostiku borrelií patří imunoenzymatická technika ELISA a nepřímá imunofluorescence IFA. Obě metody zjišťují specifické antiboreliové protilátky ve třídách IgM a IgG v krevním séru, likvoru nebo synoviální tekutině. (Bartůněk a kol., 2013) Antiboreliové protilátky se tvoří poměrně pozdně. U vyšetření ELISA jsou protilátky IgM detekovatelné po 2-4 týdnech onemocnění a IgG ještě později. (Roháčová, 2012) Vyšetření protilátek probíhá dvoustupňově. Nejprve se provádí ELISA testy obou tříd imunoglobulinů. Následně se při pozitivním nebo hraničním výsledku využívá imunoblotingových metod (Westernblot) s rozlišením tříd imunoglobulinů. Pokud je imunoblot hraniční, pokračuje se ve sledování klinických projevů a opakuje se sérologické vyšetření. (Krbková, 2007)

2.2.5.2 Přímý průkaz

Mezi přímé metody k diagnostice borrelií patří metody mikroskopické, kultivační, histologické, elektrooptické a PCR metody. Světelnou mikroskopií v zástinu je možno využít k diagnostice pohyblivých bakterií v klíštěti a tím lze hodnotit infikovanost klíšťat v různých vývojových stádiích a různých lokalitách. Dále je možné provádět novou mikroskopickou metodu dle Larssona a Bergstroma, která je založená na dvojité centrifugaci krve nebo nasátého klíštěte. Následuje barvení Giemsou nebo akridinovou oranží. (Bartůněk a kol., 2013) Kultivace borrelií je velice obtížná

a možná pouze na speciálních obohacených půdách jako je například médium BSK (Barburovo-Stoennerovo-Kellyho médium). (Julák, 2006) Odběr krve pro kultivační vyšetření by měl probíhat přísně sterilně do zkumavek s citrátem sodným nebo s EDTA. Borrelie jsou schopny přežít v citrátové krvi v lednici až 9 dní. Kultivace se provádí k potvrzení diagnózy, retrospektivnímu ověření proběhlé infekce nebo k průkazu perzistence infekce v kůži a orgánech. Histologický průkaz se provádí v roztěrech po barvení Giemsou a toluidinovou modří nebo stříbřením s dusičnanem stříbrným po natrávení amylázou. Elektronoptický průkaz se zakládá na zhodnocení morfologie borrelie a na imunocytochemické reakci antigenu s monoklonální protilátkou. Využívají se ultrařezy nebo buněčný sediment získaný centrifugací. PCR metodou se přímo detekuje nukleová kyselina. Nejprve dochází k cyklickému zmnožení DNA sekvencí a následně k detekci pomocí gelové elektroforézy, hybridizací nebo sekvenací. (Bartůněk a kol., 2013) Přímé metody se využívají spíše k výzkumným účelům. V běžné praxi se spíše využívá nepřímých metod. (Krbková, 2007)

2.2.6 Terapie

Lymeská borelióza se léčí antibiotiky. Volba antibiotik je závislá na věku, klinických projevech, délce trvání klinických projevů a udané alergii na antibiotika. Efekt antibiotické léčby je hodnocen zmírněním nebo vymizením klinických projevů. Koncentrace protilátek v krvi neodpovídá úspěšnosti léčby. (Krbková, 2007) K léčbě se využívají antibiotika doxycyklin (kromě neurologické a kardiální formy), amoxycilin (u těhotných žen a dětí do 8 let), penicilin, cefuroximaxetil a azithromycin. U neurologické a kardiální formy jsou využívána antibiotika ceftriaxon, cefotaxim nebo penicilin G podávaná parenterálně. Délka podávání antibiotik se liší dle jednotlivých stádií. (Roháčová, 2012)

2.2.7 Prevence

Prevence lymeské boreliózy se zakládá na ochraně proti klíšťatům. Důležité je zabránit přisátí klíštěte používáním repelentů, nošení dlouhých přiléhavých oděvů a prohlížení kůže po návratu z přírody. Při nalezení přisátého klíštěte je důležité ho co nejdříve odstranit a místo přisátí dezinfikovat. (Prokeš, 2015) V USA byly v roce 1998 publikovány první zkušenosti s vakcinací. V prvním a druhém roce byla velmi vysoká úspěšnost, a proto došlo k předpokladu, že vakcinace povede k redukci

onemocnění. Avšak v USA byla produkce a distribuce vakcíny zastavena. V Evropě není k dispozici žádná očkovací látka, proto je ochrana před klíštětem jedinou možnou prevencí. (Bartůněk a kol., 2013)

2.3 Další onemocnění přenášená klíšťaty

Klíšťová encefalitida a lymeská borelióza tedy patří mezi nejčastější onemocnění, která přenáší klíště. Avšak klíště může přenášet i jiná onemocnění, na našem území například ehrlichiózu a tularémii. (Roháčová, 2006) Na jiných územích může klíště přenášet i jiná onemocnění, která se mohou na území ČR objevit jako importovaná. (Pícha, 2006)

2.3.1 Virová onemocnění

2.3.1.1 Onemocnění vyvolaná flaviviry

Většina virových onemocnění přenášených klíšťaty je vyvolána viry čeledi *Flaviviridae*. Jedno z těchto onemocnění je Ruská jaroletní horečka (RSSE). Jedná se o onemocnění, které je velmi podobné klíšťové encefalitidě, ale má těžší průběh. Přenašeči jsou klíšťata rodu *Ixodes*. Inkubační doba je 10-14 dní a poté se u nemocných objevují bolesti hlavy, závratě a zvracení. Očkování proti klíšťové encefalitidě chrání i proti RSSE. Dalším onemocněním je Powassan-Encephalitis, které je velmi podobná RSSE, jen se vyskytuje v Kanadě. Skotská encefalitida je rovněž onemocnění vyvolané flaviviry. Toto onemocnění je také přenášeno klíšťaty rodu *Ixodes*, která původce onemocnění přijmou pří sání a hned při dalším sání jej předají dál. Dříve se myslelo, že se jedná o onemocnění pouze u ovcí, ale v poslední době se zjistilo, že postihuje i jiná domácí zvířata, člověka a ptáky. U člověka jsou příznaky podobné jako u klíšťové encefalitidy. Omská hemoragická horečka (OHF) je také onemocnění podobné klíšťové encefalitidě, jen tento virus se množí v endotelových buňkách cév a tím způsobuje potíže s krvácením. Inkubační doba u člověka je 2-4 dny, po ní vypuknou vysoké horečky, bolesti hlavy a úbytek bílých krvinek. V této horečnaté fázi se objevují problémy s krvácením. Většina nemocných se vyléčí bez následků. Horečka Kjasanurského lesa (KFD) postihuje opice, člověka a drobné savce. Jedná se též o flavivirus příbuzný s klíšťovou encefalitidou. Hlavním přenašečem je klíště *Haemaphysalis spinigera*, ale virus může být přenášen i jinými druhy. Inkubační doba je 2-7 dní a po ní se objevují horečky, bolest hlavy a končetin. Horečka trvá až 12 dní a komplikují jí bolesti svalů, zvracení a průjmy. Na toto

onemocnění neexistuje specifická léčba. Letalita je 10%. (Kimmig, Hassler, Braun, 2003)

2.3.1.2 Hemoragická horečka Krim-Kongo

Hemoragická horečka Krim-Kongo je rozšířená především v Asii a Africe, ale vyskytuje se i na Balkáně a na Středním východě. Původcem onemocnění je RNA virus ze skupiny *Nairovirů* z čeledi *Bunyavirů*. Přenašečem je klíště rodu *Hyalomma*, ale následně je možný přenos ze zvířete na člověka a z člověka na člověka. Inkubační doba je 3-12 dní a poté se projevují chřipkovité příznaky. Dále se objevují petechie, hemoragie a poškození CNS. Neléčené onemocnění trvá 1-2 týdny. Léčba je prováděna pomocí ribavirinu. Letalita je poměrně vysoká 15-50 % v závislosti na původu viru. (Kimmig, Hassler, Braun, 2003)

2.3.1.3 Coloradská klíšťová horečka

Coloradská klíšťová horečka je způsobena virem *Koltivirus* patřící mezi *Reoviry*. Přenašečem je klíště rodu *Dermacentor*. Inkubační doba je 2-5 dní a po ní se objevují horečka a bolesti hlavy a končetin. Tato horečnatá fáze trvá pár dní a poté v některých případech nastává období klidu, které je následováno druhou těžší fází. Komplikace tohoto onemocnění jsou zánět mozkových blan, varlat a srdeční svaloviny a krvácení do trávicího traktu. Na toto onemocnění není specifická léčba ani očkování. Letalita u této infekce je velmi vzácná. (Kimmig, Hassler, Braun, 2003)

2.3.2 Bakteriální onemocnění

2.3.2.1 Tularémie

Tularémie je zoonotické onemocnění způsobené bakterií *Francisella tularensis*. Jedná se o gramnegativní fakultativně intracelulární aerobní bakterii, která je schopna tvořit spory. Rezervoárem tohoto onemocnění jsou zajíci, hlodavci a jiní drobní savci. (Pavliš, Pohanka, 2011) Tularémií je možné se nakazit přímým kontaktem s nakaženým živým či uhynulým zvířetem, kontaminovanou vodou nebo je možný přenos pomocí ektoparazitů, nejčastěji pomocí klíštěte. Výskyt v ČR je celoroční, ale největší výskyt je v pozdním létě a na podzim. Hlavními ohnisky v ČR jsou nížinaté oblasti jižní Moravy a Polabí. (Lukášová a kol., 2010) *Francisella tularensis* má 4 subtypy – *tularensis* (USA, Kanada, Evropa, Asie), *holarctica* (nejvýznamnější subtyp Evropy a Asie), *novidica* a *mediaasiatica*. Subtypy *novidica* a *mediaasiatica* jsou pro člověka nepatogenní. (Pavliš, Pohanka, 2011)

2.3.2.1.1 Klinické příznaky

Inkubační doba onemocnění je 1-10 dní, ale vyskytly se i případy, kdy byla inkubační doba 30 dní. Nejčastějším vstupem bakterie do organismu je kožní oděrka či přisátí ektoparazita, dále je možný vstup oční spojivkou, sliznicí dýchacího a trávicího traktu. Podle toho je možné dělit toto onemocnění na různé formy. Typickými příznaky onemocnění je celková únava a slabost, zvýšená teplota, bolest hlavy, svalů a kloubů. Další příznaky jsou různé dle formy onemocnění. (Lukášová a kol., 2010)

- Ulceroglandulární forma: Jedná se o typ, při kterém bakterie vstupují do organismu přes kůži. Typickým pro tuto formu je ulcerativní léze a zvětšení spádových uzlin. Tato forma se vyskytuje při vzniku onemocnění po přisátí klíštěte.
- Okoglandulární forma: Při této formě proniká bakterie do organismu přes spojivku. Hlavním příznakem je hnisavý zánět spojivky.
- Tyfoidní forma: Pro tuto formu je typické krvácení a vředové změny v trávicím traktu. Bakterie se do organismu dostává pomocí kontaminované vody či potravy.
- Plicní forma: Jedná se o nejzávažnější formu, při které se bakterie dostává do plic pomocí aerosolu nebo pomocí krve z distálních částí těla. Jedná se o systémové onemocnění, které se projevuje zánětem hrtanu, průdušnice, průdušek, plic, pohrudnice a zduřením uzlin. To může vést k zápalu plic s dechovým selháním a může dojít i ke smrti. (Pavliš, Pohanka, 2011)

2.3.2.1.2 Laboratorní diagnostika

Bakterii *Francisella tularensis* lze prokazovat přímým i nepřímým průkazem. Z přímých metod se nejvíce využívá metoda PCR, kde se amplifikuje část genomu, která kóduje membránové proteiny fopA nebo tul4. Dále je možné použít kultivační metody. Kultivace těchto bakterií je obtížná a je proto nutná speciální půda (McCyova půda, Gasparova půda, CHAB, GCBA, …). Naočkované půdy se inkubují aerobně při 37 °C 2-7 dní. Dále je možné prokázat růst bakterie na přístroji BACTEC. Možný je i mikroskopický průkaz, kde se využívá barvení podle Gramma, Hudlesona nebo Giemsy. Bakterie rodu *Francisella* jsou velmi polymorfní – objevují se jako kokobacily nebo vláknitá forma. Nepřímé metody se k diagnostice využívají častěji. Využívá se aglutinačních metod nebo metod ELISA. V aglutinaci se k naředěnému

séru přidá inaktivovaná suspenze kmene *tularensis*. Při pozitivním výsledku se po 20 hodinové inkubaci při 37 °C a následné hodinové inkubaci při pokojové teplotě objeví dobře viditelný aglutinát. Při ELISA metodách se k pacientskému séru přidá povrchový lipopolysacharid *F. tularensis*. Pomocí této metody se stanovují protilátky ve třídách IgM a IgG. (Lukášová a kol., 2010)

2.3.2.1.3 Léčba a prevence

K léčbě tularémie se dříve využíval streptomycin, který se již nevyužívá kvůli svým závažným nežádoucím účinkům. Dnes se využívá gentamycin po dobu 7-14 dní, ke kterému je doporučeno současně podávat doxycyklin. Dále je možná léčba ciprofloxacinem, levofloxacinem, grepafloxacinem nebo trovafloxacinem. (Pavliš, Pohanka, 2011) Proti tomuto onemocnění je vynalezená vakcína, ve které se využívá vakcinační kmen *F. tularensis* LVS. Tento kmen byl připraven pro vojenské účely v USA v roce 1960 a využívá se dodnes i v genomických a protetických studiích. Vakcinace není plošná, ale očkuje se pouze rizikové obyvatelstvo, např. armáda a vybraní laboratorní pracovníci. (Lukášová a kol., 2010)

2.3.2.2 Lidská granulomatózní ehrlichióza (HGE)

HGE je onemocnění vyvolané bakterií *Anaplasma phagocytophilum*, která napadá bílé krvinky. Toto onemocnění může být i smrtelné, hlavně u imunodeficientních pacientů a pacientů po splenektomii. (Votýpka, 2007) Zdrojem této infekce jsou zvířata a na člověka je přenášena klíštětem. Inkubační doba je 12 dní. *Anaplasma* napadá buňky monocytární řady, v jejichž fagozómech tvoří útvar zvaný morula, ve kterém se množí. (Beneš a kol., 2009) Klinicky se onemocnění projevuje změnami na kůži, zvětšením uzlin a někdy i jater a sleziny, bolestmi hlavy, svalů, horečkou, nauzeou a zvracením. Jedná se o akutní onemocnění, které v případě neléčení může přejít do chronicity. Onemocnění se vyskytují 4x častěji u mužů než u žen. (Votýpka, 2007) Diagnostika se provádí v nátěru periferní krve barveném podle Giemsy, kde je možné vidět moruly. Specificky se *Anaplasma* prokazuje sérologicky nebo průkazem genomu. Léčba se provádí pomocí antibiotik doxycyclin, chloramphenicol nebo rifampicin po dobu 1-2 týdnů. (Beneš a kol., 2009)

2.3.2.3 Bartonellóza

Jedná se o méně časté onemocnění, které může být přenášené i klíšťaty a blechami z koček a psů. Původcem onemocnění je bakterie *Bartonella henselae*. Po přisátí

klíštěte vzniká v místě vpichu tmavý strup za 5-10 dní. Dále se objevuje zduření uzlin, horečka, bolest kloubů a svalů, závratě a bolesti hlavy, zad a očí. V periferní krvi je zvýšen počet leukocytů a snížený počet trombocytů a může se objevit anémie. Laboratorní diagnostika se provádí průkazem specifických protilátek IgM, pomocí PCR nebo izolací a kultivací bakterie. Léčba je antibiotická. Používají se antibiotika doxycyklin, erythromycin, azitromycin a další. (Hulínská, 2008)

2.3.2.4 Návratné horečky vyvolané borreliemi

Návratné horečky vyvolané borreliemi přenáší klíšťata rodu *Ornithodoros*. Původcem je více než 15 druhů borrelií. Toto onemocnění se vyskytuje v teplých oblastech všech kontinentů. V České republice se nevyskytuje. (Beneš a kol., 2009) Pro onemocnění jsou typické nárazové horečky, které trvají 3-5 dnů a cyklicky se opakují, další náraz horečky se vrací po přibližně 7 dnech. Dalšími příznaky jsou bolest svalů a končetin, nevolnost, závratě a snížený krevní tlak. Léčba je pomocí tetracyklinu nebo penicilinu, který lze v případě potřeby aplikovat i nitrožilně. (Kimmig, Hassler, Braun, 2003)

2.3.2.5 Rickettsiózy přenášené klíšťaty

Rickettsiózy jsou onemocnění vyvolaná gramnegativními bakteriemi rodu *Rickettsie* různých druhů. Jedná se o obligátní intracelulární parazity. Dělí se do 3 skupin – rickettsie vyvolávající tyfus (*Rickettsia prowazeki*), které jsou přenášené vší šatní, rickettsie vyvolávající skvrnitou horečku (*Rickettsia rickettsii, R. conori, R. africae*) a rickettsie vyvolávající nemoc cucugamaši (*Rickettsia tsutsugamushi*). (Kimmig, Hassler, Braun, 2003)

2.3.2.5.1 Maltská horečka

Původcem onemocnění je *Rickettsia conori*, která je na člověka přenášena klíšťaty rodu *Rhipicephalus*. V místě přisátí klíštěte vzniká nebolestivý vřídek, který se nazývá eschara. U nakažených se 4 dny po přisátí objevuje vyrážka, dále dochází k poškození jater, ledvin, myokardu a nervové soustavy. (Vaništa, 2006)

2.3.2.5.2 Horečka Skalistých hor (Rocky mountain spotted fever)

Původcem onemocnění je *Rickettsia ricketsii*. Jedná se o endemické onemocnění, které se vyskytuje na americkém kontinentu. Během prvního týdne onemocnění se objevuje vyrážka, která se nejprve objevuje na dolních končetinách a následně se přesouvá na trup. Dalšími klinickými příznaky jsou bolesti hlavy, horečka, bolesti svalů a nevolnost. Komplikacemi jsou encefalitida, plicní edém, srdeční arytmie,

koagulopatie a nekróza kůže. Léčba probíhá pomocí tetracyklinu a chloramphenicolu. Pokud toto onemocnění není léčeno, je smrtelné. (Gayle, Ringdahl, 2001)

2.3.2.5.3 Africká klíšťová horečka

Původcem africké klíšťové horečky je *Rickettsia africae* a přenašečem je klíště *Amblyomma hebraeum*. Onemocnění se vyskytuje v jižní Africe a je velmi podobné maltské horečce. (Kimmig, Hassler, Braun, 2003) Jedná se o chřipkovité onemocnění s horečkou, bolestmi hlavy a bolestmi svalů. Po přisátí klíštěte se objevují eschary, vyrážka se objevuje u méně než 50 % nemocných. Onemocnění je benigní. (Vaništa, 2006)

2.3.2.6 Q-horečka

Původcem onemocnění je bakterie *Coxiella burnetii* a je přenášena klíšťaty *Ixodes ricinus, Dermacentor reticulatus, Argas vulgaris* a dalšími. Člověk se může nakazit i kontaminovaným mlékem a respiračně při styku s nakaženým zvířetem (nejčastější). Infekce vzdušnou cestou má chřipkovité příznaky. Komplikace může působit meningoencefalitida, endokarditida, myokarditida a granulomatózní hepatitida. Léčba je pomocí doxycyklinu v kombinaci s rifampicinem. (Beneš a kol., 2009)

2.3.3 Parazitární onemocnění

Parazitárním onemocněním, které je přenášené klíšťaty, je babesióza. Jedná se o infekční onemocnění vyvolané prvoky rodu *Babesia*. Tito prvoci parazitují v erytrocytech. Jedná se především o patogen zvířat, ale v některých případech může parazitovat na člověku. (Pícha, 2006) Onemocnění se objevuje především u lidí po splenektomii a u imunosuprimovaných jedinců. V Evropě bylo zaznamenáno okolo 100 případů. Ročně je hlášeno několik desítek nemocných, především v USA. V ČR byl pouze 1 případ infekce v roce 2002, který byl importován. Přenašečem je klíště rodu *Ixodes*, ale vyskytl se i přenos krevní transfuzí. Inkubační doba je 1-4 týdny. Klinickými projevy jsou nespecifické chřipkovité příznaky s únavou, nauzeou, nechutenstvím, zvracením a bolestí hlavy a svalů. Diagnostika je založena na základě průkazu parazita v krevním nátěru. V zahraničí se vyšetřuje i pomocí sérologických testů. Léčba je pomocí kombinace chininu a klindamycinu nebo kombinace atovachonu a azithromycinu. (Beneš a kol., 2009)

2.4 Prevence onemocnění přenášených klíšťaty

Základní prevencí proti onemocněním přenášeným klíšťaty je prevence proti přisátí klíštěte a jeho správné a včasné odstranění. Ochranou proti přisátí klíštěte je nošení dlouhého přiléhavého oblečení do oblastí výskytu klíštěte. Pokud je to možné, měli bychom se vyhýbat průchodu vysokou trávou a jinou vegetací, kde by se klíšťata mohla vyskytovat. (Rosický a kol., 1979) Další ochranou je používání repelentů, které klíšťata odpuzují. Pokud se klíště přisaje, je nutné jej co nejdříve odstranit, aby se eliminoval počet infekčních agens, které se mohou dostat do krve, a tím se snížilo riziko případného onemocnění. Klíště je vhodné odstranit pomocí pinzety nebo kleštiček na klíšťata. Není vhodné používání olejů či mastí, které klíště zadusí. Klíště může vyprázdnit obsah střev do rány, a tím se zvýší pravděpodobnost přenosu infekce. Nejdříve místo s přisátým klíštětem vydesinfikujeme. Poté klíště krouživými pohyby jemně vytáhneme a místo znovu vydesinfikujeme. Pokud se nám nepodaří vyndat klíště celé a v kůži zůstanou kusadla, tak to tolik nevadí. Z kusadel není možný přenos infekce. Kusadla sama vyhnijí. (Kimmig, Hassler, Braun, 2003) U klíšťat je možné provádět i kolektivní prevenci, kdy jsou klíšťata hubena biologicky, mechanicky nebo chemicky. Mechanicky je klíšťata možné hubit vyčištěním porostu a následném spálení či přeoráním půdy. Biologickým bojem je asanace nevhodných porostů a následná rekultivace. Chemicky je možné klíšťata hubit pomocí insekticidů. Úplná likvidace klíšťat je velmi obtížná. (Rosický a kol., 1979)

PRAKTICKÁ ČÁST

3 Cíl práce

Seznámit se s diagnostikou a výskytem onemocnění lymeskou boreliózou, klíšťovou encefalitidou a tularémií v určitém časovém období a analyzovat počty provedených vyšetření ve Fakultní nemocnici Plzeň.

4 Výzkumné problémy

1) Pozitivní výsledky onemocnění přenášených klíšťaty jsou nejčastěji diagnostikovány v letních měsících a na začátku podzimu.
2) Lymeská borelióza je nejčastěji se vyskytující onemocnění přenášené klíštětem, které je zachyceno ve FN Plzeň.

5 Metodika

5.1 Vyšetření klíšťové encefalitidy metodou ELISA

K diagnostice klíšťové encefalitidy se nejčastěji využívá vyšetření protilátek IgG a IgM v séru nebo mozkomíšním moku metodou ELISA. Protilátky jsou detekovatelné 7-10 dní po infikování nebo na počátku druhé fáze onemocnění. ELISA test lze využít i ke sledování imunitní reakce po očkování proti klíšťové encefalitidě. (EUROIMMUN, návod diagnostického setu, 2017) Ve Fakultní nemocnici Plzeň se k diagnostice klíšťové encefalitidy využívají soupravy od EUROIMMUN. Jedná se o soupravu k vyšetření protilátek IgM a o soupravu k vyšetření protilátek IgG.

5.1.1 Princip vyšetření

ELISA testem se vyšetřují lidské protilátky IgM i IgG proti viru klíšťové encefalitidy v séru nebo v plazmě. Souprava obsahuje mikrotitrační proužky, každý s 8 odlomitelnými reagenčními jamkami, které jsou potaženy antigeny viru klíšťové encefalitidy. Během prvního reagenčního kroku dochází v jamkách k inkubaci naředěných pacientských vzorků. V případě pozitivních vzorků se protilátky IgM nebo IgG (dle soupravy) naváží na antigeny. K detekci vázané protilátky je nutné provést druhou inkubaci za použití enzymově značených protilátek proti lidským IgM nebo IgG protilátkám (dle soupravy), které katalyzují barevnou reakci. Test EUROIMMUN ELISA vykazuje 100% citlivost. (EUROIMMUN, návod diagnostického setu, 2017)

5.1.2 Použité reagencie a biologický materiál

K vyšetření se používá lidské sérum nebo plazma. Pacientské vzorky se před provedením vyšetření ředí v poměru 1:100 ve vzorkovém pufru a následně se nechají 10 minut inkubovat. Součástí soupravy jsou mikrotitrační jamky potažené antigeny, kalibrační sérum, pozitivní a negativní kontrolní sérum, vzorkový pufr, enzymový konjugát, promývací pufr, chromogen/substrátový roztok a zastavovací roztok. (EUROIMMUN, návod diagnostického setu, 2017)

5.1.3 Postup vyšetření

1. Inkubace vzorku: Přeneseme 100 µl kalibračního séra, pozitivní a negativní kontrolu nebo zředěných pacientských vzorků do jednotlivých mikrotitračních jamek dle pipetovacího protokolu. Inkubujeme 30 minut při pokojové teplotě.
2. Promývání: Promyjeme manuálně nebo automaticky. Při manuálním promývání vyprázdníme jamky a následně 3x promyjeme 300 µl naředěného promývacího

pufru pro každé promytí. Při automatickém promývání promýváme reagenční jamky 3 x 400 µl naředěného promývacího pufru. Každý mycí cyklus necháme promývací pufr v každé jamce působit 30-60 sekund, poté jamky vyprázdníme. Po dokončení promývání odstraníme z jamek veškerou tekutinu vyklepáním promývacího pufru poklepem desky dnem vzhůru na savý papír.

3. Inkubace konjugátu: Napipetujeme 100 µl enzymového konjugátu (peroxidázou značené anti-lidské IgG nebo IgM-dle soupravy) do každé mikrotitrační jamky. Inkubujeme 30 minut při pokojové teplotě.
4. Promývání: Promyjeme manuálně nebo automaticky. Při manuálním promývání vyprázdníme jamky a následně 3x promyjeme 300 µl naředěného promývacího pufru pro každé promytí. Při automatickém promývání promýváme reagenční jamky 3 x 400 µl naředěného promývacího pufru. Každý mycí cyklus necháme promývací pufr v každé jamce působit 30-60 sekund, poté jamky vyprázdníme. Po dokončení promývání odstraníme z jamek veškerou tekutinu vyklepáním promývacího pufru poklepem desky dnem vzhůru na savý papír.
5. Inkubace substrátu: Napipetujeme 100 µl chromogen/substrátového roztoku do každé mikrotitrační jamky. Inkubujeme 15 minut při pokojové teplotě a chráníme před přímým slunečním světlem.
6. Zastavení reakce: Napipetujeme 100 µl zastavovacího roztoku do každé mikrotitrační jamky ve stejném pořadí a stejnou rychlostí, jako jsme kapali chromogen/substrátový roztok.
7. Měření: Měříme při 450 nm do 30 minut po přidání zastavovacího roztoku.

Test je možné provést i na plně automatizovaném analytickém zařízení. (EUROIMMUN, návod diagnostického setu, 2017)

5.1.4 Vyhodnocení výsledků

Výsledky se dají semikvantitativně vyhodnotit výpočtem poměru extinkční hodnoty kontrolního nebo pacientského séra a extinkční hodnoty kalibračního séra. Pokud je poměr nižší než 0,8, je vzorek negativní. Hodnota mezi 0,8 a 1,1 je hraniční a hodnota vyšší než 1,1 je pozitivní. (EUROIMMUN, návod diagnostického setu, 2017)

5.2 Vyšetření lymeské boreliózy

Laboratorní diagnostika lymeské boreliózy se nejčastěji provádí stanovením protilátek IgM a IgG metodou ELISA a následně se výsledek konfirmuje

imunoblotovou metodou. Sérologická diagnostika je složitá vzhledem k diverzitě druhu *Borrelia burgdorferi sensu lato*, možné zkřížené reaktivitě s nepříbuznými antigeny jiných mikroorganismů a velkými rozdíly sérologické reaktivity různých jedinců. (TEST LINE, návod diagnostického setu, 2017)

5.2.1 Vyšetření protilátek metodou ELISA

Ve Fakultní nemocnici Plzeň se k vyšetření protilátek IgG a IgM proti antigenům borrelií metodou ELISA využívá soupravy od TestLine. Využívají se dvě soupravy, jedna pro vyšetření protilátek IgM (EIA Borrelia recombinant IgM) a druhá pro vyšetření protilátek IgG (EIA Borrelia recombinant IgG). (TEST LINE, návod diagnostického setu, 2017)

5.2.1.1 Princip vyšetření

K diagnostice lymeské boreliózy se využívá detekce protilátek IgM a IgG metodou ELISA. Využívá se mikrotitrační destička. V jamkách jsou navázány antigeny, na které se vážou specifické protilátky, které jsou obsaženy ve vzorku. Po inkubaci se přidá značená protilátka, kterou je zvířecí imunoglobulinová frakce proti lidskému IgM nebo IgG (dle soupravy) konjugovaná křenovou peroxidázou. Peroxidázová aktivita se stanovuje pomocí substrátu s TMB, který v případě pozitivity zmodrá. Reakce je ukončena zastavovacím roztokem, díky kterému dojde ke změně modrého zbarvení na žluté. Intenzita žlutého zabarvení se fotometricky měří při vlnové délce 450 nm. Intenzita zabarvení je úměrná koncentraci specifických protilátek IgM nebo IgG (dle soupravy) ve vzorku. (TEST LINE, návod diagnostického setu, 2017)

5.2.1.2 Použité reagencie a biologický materiál

Vyšetření může být provedeno ze séra, plazmy, likvoru nebo synoviální tekutiny. Sérum a plazmu před provedením testu ředíme v poměru 1:100 s ředícím roztokem vzorků, likvor v poměru 1:1 s ředícím roztokem vzorků a synoviální tekutinu ředíme v poměru 1:20 a 1:40 s ředícím roztokem vzorků. Souprava obsahuje potaženou destičku s navázanými antigeny, negativní a pozitivní kontrolu, cut-off, konjugát, ředicí roztok vzorků, TMB-Complete (substrátový roztok), promývací roztok a zastavovací roztok. (TEST LINE, návod diagnostického setu, 2017)

5.2.1.3 Postup vyšetření

1. Dle pipetovacího protokolu napipetujeme 100 µl negativní kontroly (1 jamka), Cut-off (2 jamky), pozitivní kontroly (1 jamka) a ředěných vzorků. Následně destičku přikryjeme víčkem a inkubujeme 30 minut při 37 °C.
2. Obsah jamek 5x promyjeme pracovním promývacím roztokem. Jamky plníme po horní okraj. Na závěr důkladně vyklepeme zbytky roztoku do savého materiálu.
3. Do všech jamek napipetujeme 100 µl konjugátu. Destičku přikryjeme víčkem a inkubujeme 30 minut při 37 °C.
4. Obsah jamek 5x promyjeme pracovním promývacím roztokem. Jamky plníme po horní okraj. Na závěr důkladně vyklepeme zbytky roztoku do savého materiálu.
5. Do všech jamek přidáme 100 µl jednosložkového substrátu TMB-Complete. Destičku přikryjeme víčkem a inkubujeme 15 minut při 37 °C v temnu.
6. Reakci zastavíme přidáním 100 µl zastavovacího roztoku ve stejném pořadí a intervalech jako byl dávkován substrát.
7. Měříme při 450 nm do 30 minut po přidání zastavovacího roztoku. (TEST LINE, návod diagnostického setu, 2017)

5.2.1.4 Vyhodnocení výsledků

Výsledek hodnotíme pomocí indexu pozitivity, který se vypočítá poměrem absorbance vzorku tekutiny a průměrné absorbance Cut-off. Pokud je index pozitivity menší než 0,9, je výsledek negativní. Když je hodnota mezi 0,9 a 1,1, je výsledek hraniční. Pokud je hodnota větší než 1,1, je výsledek pozitivní. (TEST LINE, návod diagnostického setu, 2017)

5.2.2 Vyšetření protilátek metodou Westernblot

Ve Fakultní nemocnici Plzeň se k vyšetření protilátek IgG a IgM proti antigenům borrelií metodou Westernblot využívá soupravy od EUROIMMUN. Využívají se dvě soupravy, jedna k vyšetření protilátek IgM a druhá k vyšetření protilátek IgG. (EUROIMMUN, návod diagnostického setu, 2017)

5.2.2.1 Princip vyšetření

Imunoblotovou metodou se kvalitativně stanovují IgM a IgG protilátky (dle soupravy) proti antigenům borrelie v séru nebo plazmě. V prvním kroku reakce se inkubují naředěné pacientské vzorky s imunoblotovými stripy. Dojde-li k pozitivní reakci, specifické protilátky se navazují na odpovídající antigeny. Následná inkubace slouží

k detekci navázaných protilátek provedená s enzymově značenými anti-lidskými protilátkami, které katalyzují barevnou reakci. (EUROIMMUN, návod diagnostického setu, 2017)

5.2.2.2 Použité reagencie a biologický materiál

Vyšetření může být provedeno v séru, plazmě, likvoru a synoviální tekutině. Plazma a sérum se před provedením testu ředí v poměru 1:50 připraveným univerzálním pufrem. Součástí soupravy jsou testovací stripy potažené antigeny, pozitivní kontrola, enzymový konjugát, univerzální pufr a substrátový roztok. (EUROIMMUN, návod diagnostického setu, 2017)

5.2.2.3 Postup vyšetření

1. Blokování: Z balení vyjmeme požadované množství testovacích stripů a každý umístíme do prázdného kanálku desky. Číslo testovacího stripu musí být dobře viditelné. Naplníme kanálky inkubační desky podle počtu vzorků séra 1,5 ml naředěného univerzálního pufru. Inkubujeme 15 minut při pokojové teplotě na třepačce. Poté odsajeme z kanálků desky veškerou tekutinu.
2. Inkubace vzorku: Naplníme každý kanálek 1,5 ml naředěného vzorku séra a inkubujeme při pokojové teplotě po dobu 30 minut na třepačce.
3. Promývání: Odsajeme veškerou kapalinu z každého kanálku a promyjeme každý kanálek 3 x 5 minut 1,5 ml univerzálního pufru za stálého třepání.
4. Inkubace vzorku: Napipetujeme 1,5 ml naředěného enzymového konjugátu do každého kanálku a inkubujeme při pokojové teplotě po dobu 30 minut na třepačce.
5. Promývání: Odsajeme veškerou kapalinu z každého kanálku a promyjeme každý kanálek 3 x 5 minut 1,5 ml univerzálního pufru za stálého třepání.
6. Inkubace substrátu: Napipetujeme 1,5 ml substrátového roztoku do každého kanálku a inkubujeme 10 minut při pokojové teplotě na třepačce.
7. Zastavení reakce: Odsajeme veškerou kapalinu z každého kanálku a promyjeme každý kanálek 3 x 1 minutu deionizovanou nebo destilovanou vodou.
8. Vyhodnocení: Přemístíme testovací stripy na vyhodnocovací protokol, necháme uschnout a vyhodnotíme.

Test je možné provést i na plně automatizovaném analytickém zařízení. (EUROIMMUN, návod diagnostického setu, 2017)

5.2.2.4 Vyhodnocení výsledků

Výsledky se vyhodnocují pomocí softwaru EUROLineScan. Suché stripy na zeleném pracovním protokolu se skenují scannerem a vyhodnotí za pomocí softwaru. Testovací stripy je možné hodnotit i vizuálně. (EUROIMMUN, návod diagnostického setu, 2017)

5.3 Vyšetření tularémie

Tularemie se ve Fakultní nemocnici Plzeň vyšetřuje pomocí rychlé a pomalé aglutinační reakce. Využívá se souprava od společnosti Bioveta.

5.3.1 Princip vyšetření

Aglutinace je založena na rekci antigenu a protilátky. Když jsou ve vzorku přítomny protilátky proti přidanému antigenu, tvoří se aglutinát v podobě vloček nebo zákalu, které jsou viditelné okem. (BIOVETA, návod aglutinace)

5.3.2 Použité reagencie a biologický materiál

K vyšetření rychlé aglutinace se využívá plná krev nebo sérum, k vyšetření pomalou aglutinací pouze sérum. Součástí soupravy je antigen *Francisella tularensis,* pozitivní kontrola a fyziologický roztok s fenolem. (BIOVETA, návod diagnostického setu, 2017)

5.3.3 Postup vyšetření

5.3.3.1 Rychlá aglutinace

Na předem připravenou skleněnou desku pomocí stříkačky kápneme kapku vyšetřované krve. Vedle ní pomocí jiné stříkačky nakapeme 5 kapek antigenu. Pomocí skleněné tyčinky smícháme krev s antigenem a rozetřeme na větší plochu. Zhodnotíme. (BIOVETA, návod diagnostického setu, 2017)

5.3.3.2 Pomalá aglutinace

Vyšetřované sérum ředíme pomocí ředícího roztoku v řadě od 1 + 9, 1 + 19, 1 + 39, atd. po 0,5 ml v každé zkumavce. K naředěným sérům přidáme po 0,5 ml antigenu, ředěného v poměru 1 + 4 přiloženým ředícím roztokem. Zhodnotíme. (BIOVETA, návod diagnostického setu, 2017)

5.3.4 Vyhodnocení výsledků

5.3.4.1 Rychlá aglutinace

V pozitivním případě dochází při teplotě 20-25 °C během 1-3 minut k tvorbě vloček a projasnění. V negativním případě zůstává směs krve s antigenem nevyjasněná a nedochází k tvorbě vloček. (BIOVETA, návod diagnostického setu, 2017)

5.3.4.2 Pomalá aglutinace

Pomalou aglutinaci posuzujeme po 20 hodinové inkubaci při 37 °C a 1 hodiny při pokojové teplotě. V pozitivním případě dochází k vyjasnění tekutiny a zřetelné aglutinaci v titru 1:80 a vyšším. Titr séra 1:40 je považován za neurčitý, v takovém případě se provádí podle možnosti nová zkouška. (BIOVETA, návod diagnostického setu, 2017)

6 Vlastní výsledky

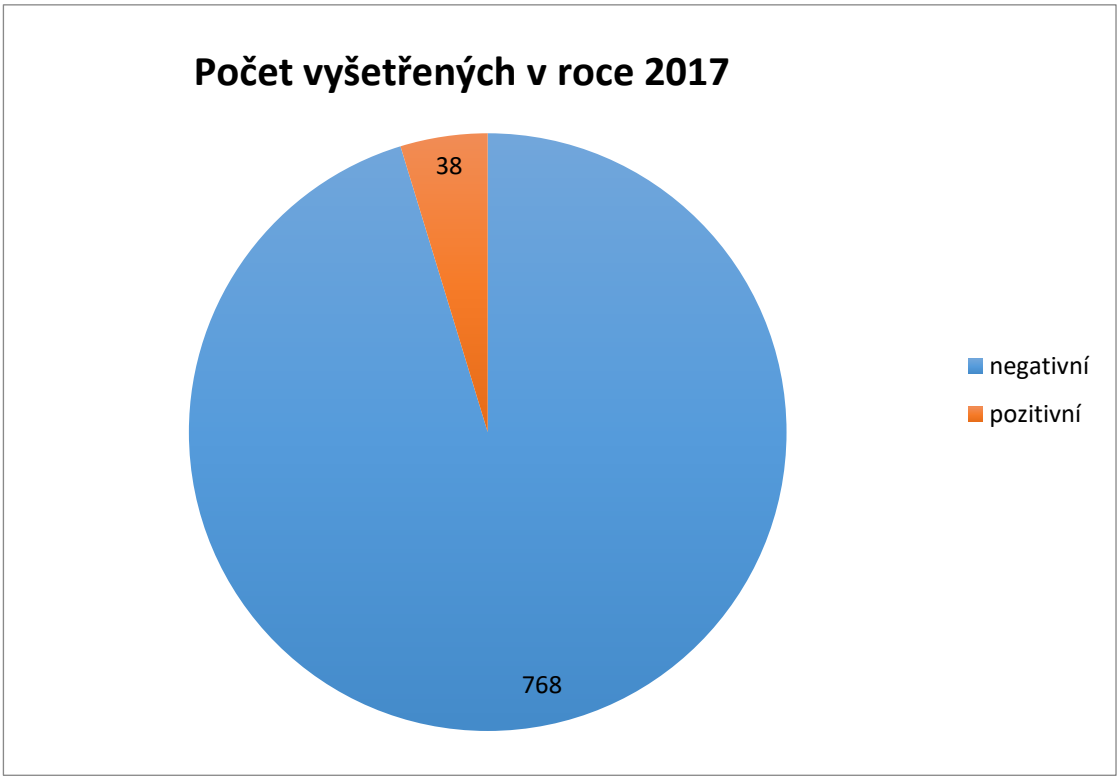
Materiál byl zpracován na Ústavu mikrobiologie Fakultní nemocnice Plzeň. Jedná se o vzorky sér z celého roku 2017.

6.1 Klíšťová encefalitida

Vzorky byly vyšetřeny na Oddělení virologie metodou ELISA v průběhu celého roku 2017. V roce 2017 bylo na klíšťovou encefalitidu vyšetřeno 806 sér.

Na následujícím grafu je možné vidět poměr pozitivních a negativních výsledků vyšetření klíšťové encefalitidy metodou ELISA. V roce 2017 bylo na Oddělení virologie zachyceno 38 pozitivních výsledků tohoto onemocnění a 768 negativních výsledků.

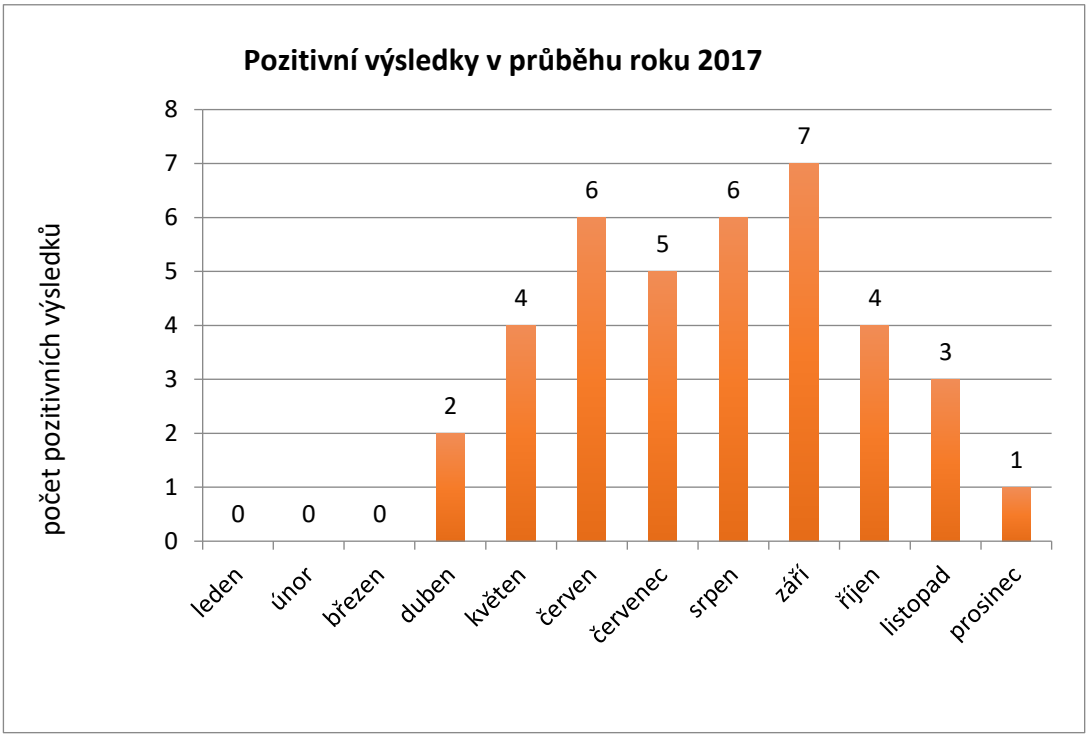
Graf 1: Počet negativních a pozitivních výsledků onemocnění klíšťovou encefalitidou v roce 2017



Zdroj: vlastní výzkum podle interního laboratorního systému MIKRO FN Plzeň

Na následujícím grafu je možné vidět počet pozitivních výsledků v průběhu roku 2017. Nejvíce pozitivních výsledků je v letních a podzimních měsících, kdy se lidé pohybují v přírodě častěji a klíště *Ixodes ricinus* je v tomto období nejvíce aktivní.

Graf 2: Počet pozitivních výsledků onemocnění klíšťovou encefalitidou v průběhu roku 2017



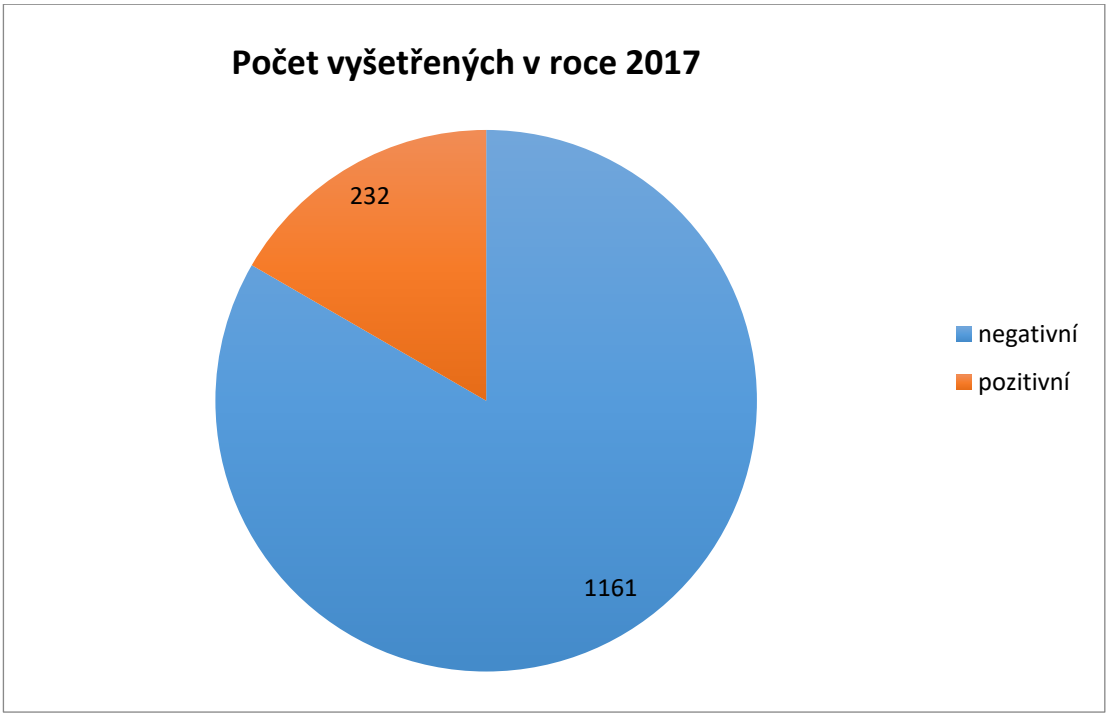
Zdroj: vlastní výzkum podle interního laboratorního systému MIKRO FN Plzeň

6.2 *Lymeská borelióza*

Vzorky byly vyšetřeny na Oddělení sérologie a parazitologie metodou ELISA a následně komfirmovány metodou Westernblot v průběhu celého roku 2017. V roce 2017 bylo na lymeskou boreliózu vyšetřeno 1393 sér.

Na následujícím grafu je možné vidět poměr negativních a pozitivních výsledků vyšetření na lymeskou boreliózu. V roce 2017 bylo na Oddělení sérologie a parazitologie zachyceno 232 pozitivních výsledků ve třídách IgM i IgG a 1 161 negativních výsledků.

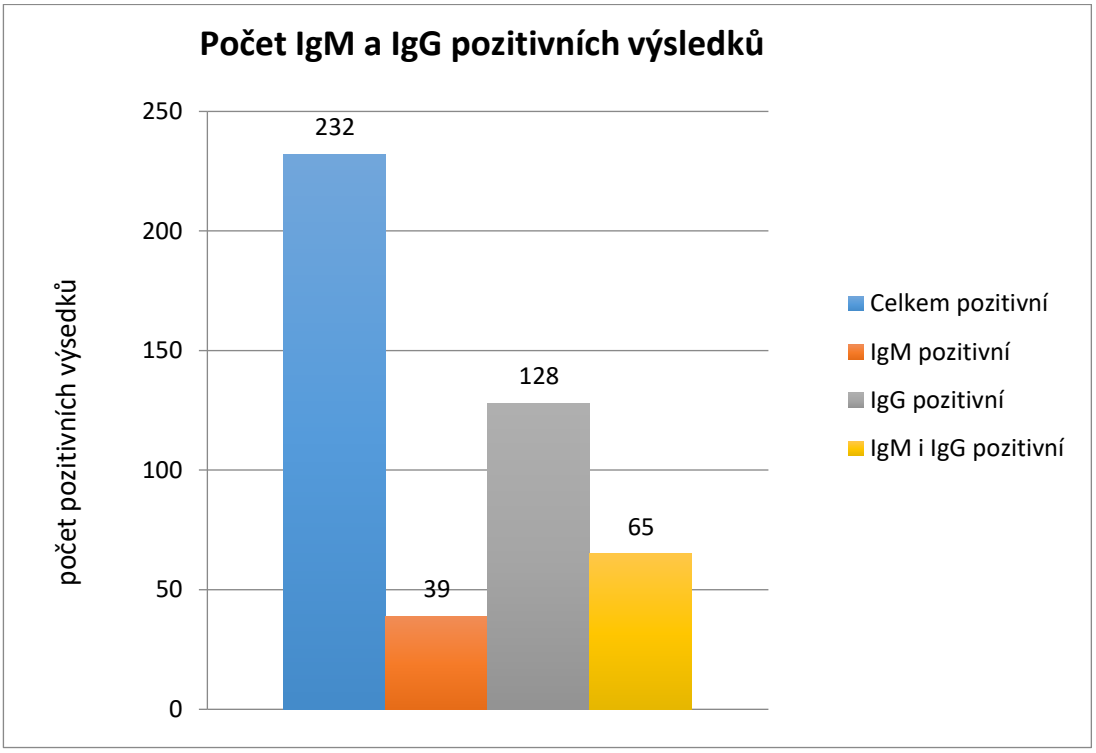
Graf 3: Počet negativních a pozitivních výsledků onemocnění lymeskou boreliózou v roce 2017



Zdroj: vlastní výzkum podle interního laboratorního systému MIKRO FN Plzeň

Na následujícím grafu je zobrazen počet IgM a IgG pozitivních výsledků v poměru ke všem pozitivním vyšetření. V roce 2017 bylo diagnostikováno 39 IgM pozitivních výsledků. IgM protilátky se v krvi objevují ve 2.-4. týdnu onemocnění. Dále bylo diagnostikováno 128 IgG pozitivních výsledků. IgG protilátky se v krvi objevují ve 4.-6. týdnu onemocnění. IgM i IgG pozitivních výsledků bylo v roce 2017 diagnostikováno 65.

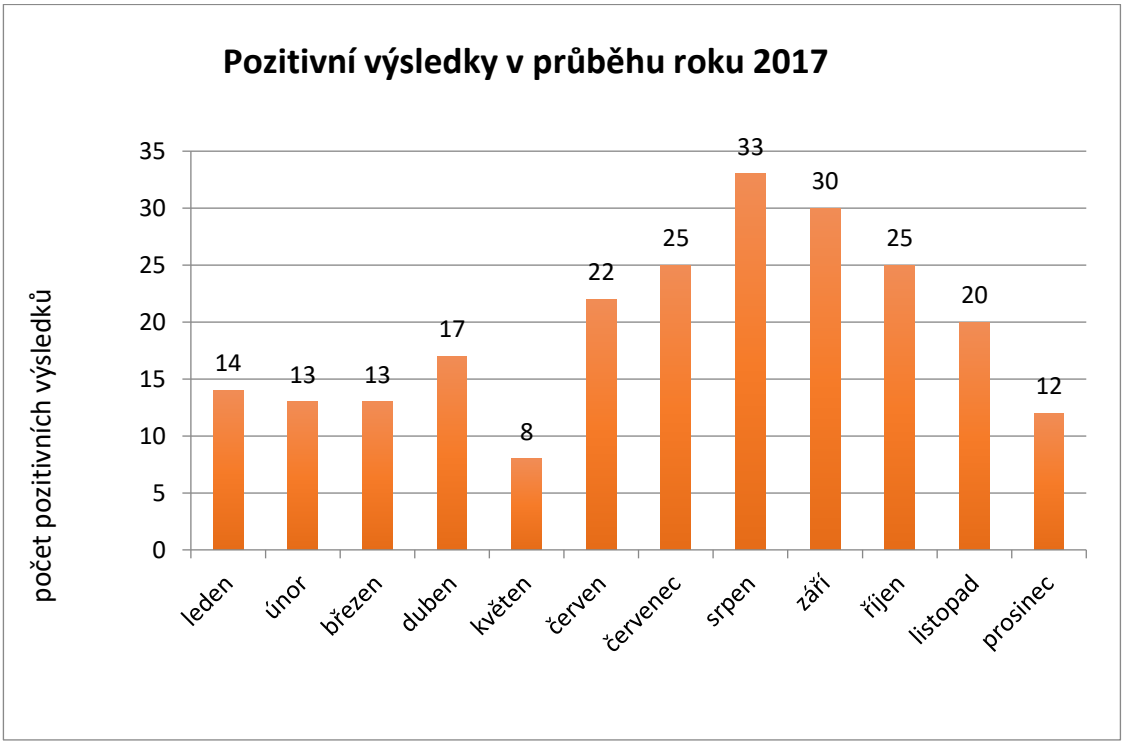
Graf 4: Zastoupení protilátek IgG a IgM v pozitivních výsledcích onemocnění lymeskou boreliózou



Zdroj: vlastní výzkum podle interního laboratorního systému MIKRO FN Plzeň

Následující graf zobrazuje počet pozitivních výsledků v průběhu roku 2017. Je zde vidět, že pozitivní výsledky jsou v průběhu celého roku, nejspíše vzhledem k delší inkubační době a delšímu trvání nástupu protilátek proti lymeské borelióze. Nejvíce pozitivních výsledků se ale vyskytuje v letních a podzimních měsících stejně jako u klíšťové encefalitidy, což je způsobeno vyšší aktivitou klíšťat v tomto období a častějším pobytem lidí v přírodě.

Graf 5: Počet pozitivních výsledků onemocnění lymeskou boreliózou v průběhu roku 2017



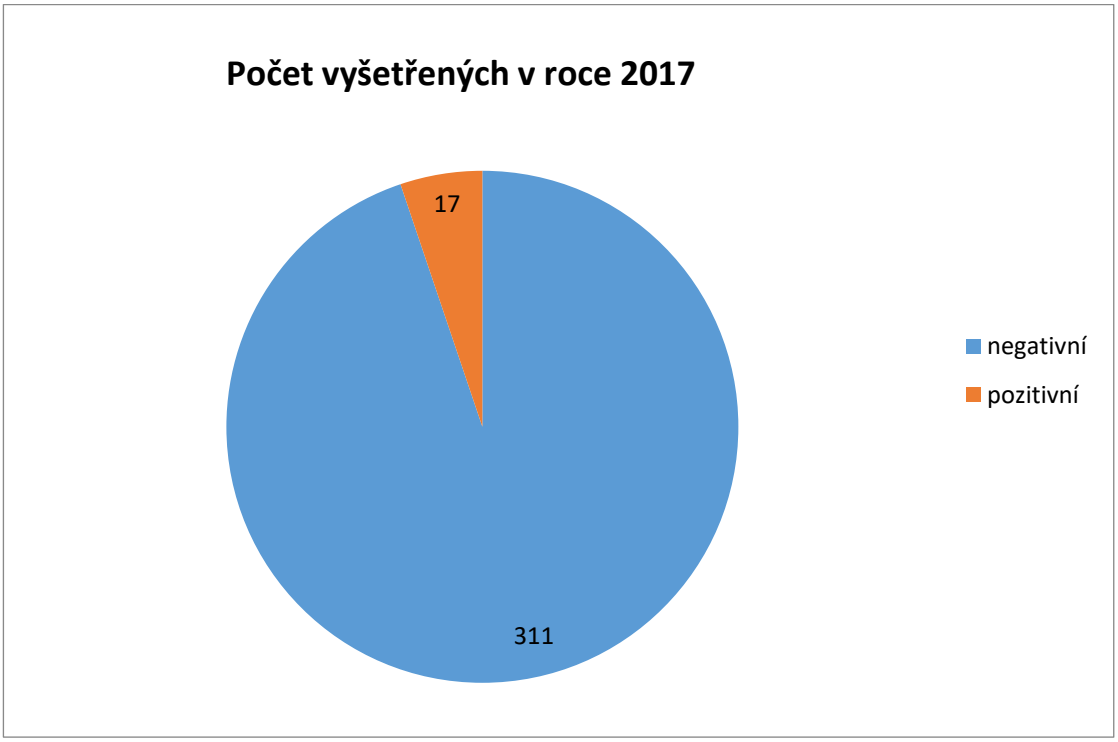
Zdroj: vlastní výzkum podle interního laboratorního systému MIKRO FN Plzeň

6.3 Tularémie

Vzorky byly vyšetřeny na Oddělení sérologie a parazitologie aglutinační metodou v průběhu roku 2017. Celkem bylo na tomto oddělení vyšetřeno 328 sér.

Následující graf zobrazuje počet pozitivních a negativních výsledků vyšetření tularémie v roce 2017. V roce 2017 bylo na Oddělení sérologie a parazitologie zachyceno 17 pozitivních výsledků onemocnění tularémií a 311 negativních výsledků.

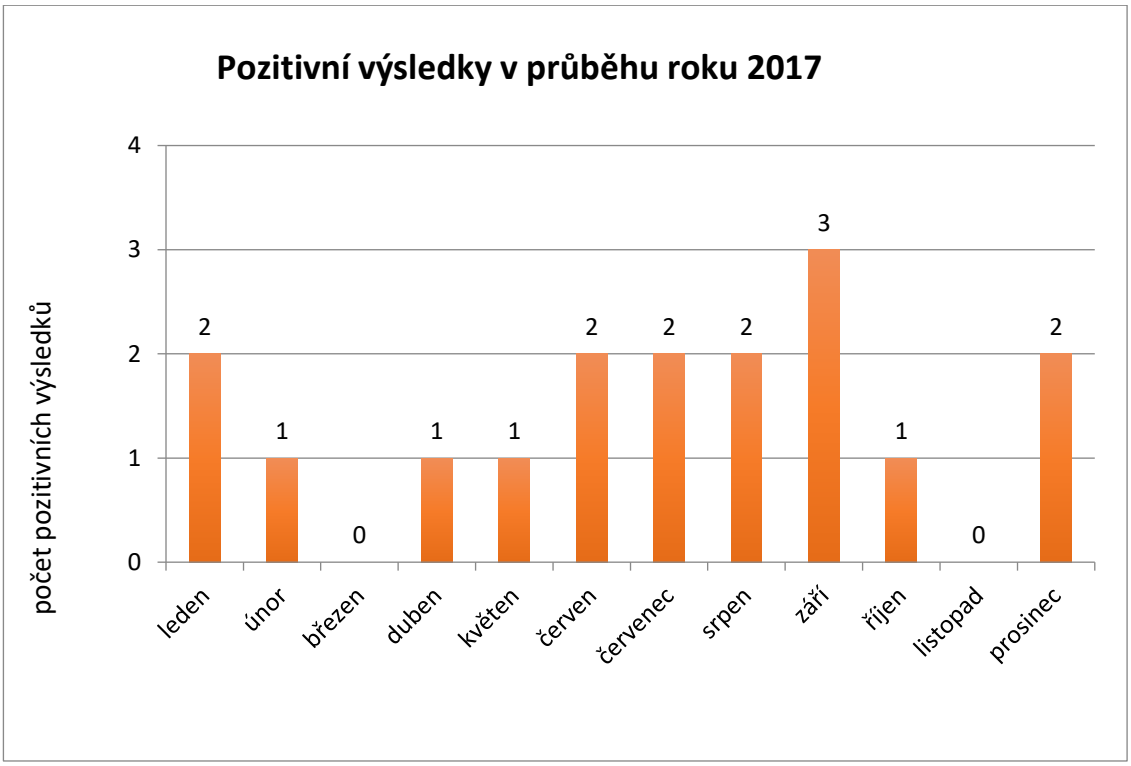
Graf 6: Počet negativních a pozitivních výsledků onemocnění tularémií v roce 2017



Zdroj: vlastní výzkum podle interního laboratorního systému MIKRO FN Plzeň

V následujícím grafu je zobrazen počet pozitivních výsledků onemocnění tularémií v průběhu roku 2017. U tohoto onemocnění není vidět tak výrazný nárůst pozitivních výsledků v letních a podzimních měsících jako u klíšťové encefalitidy a lymeské boreliózy. Je to způsobeno tím, že u tularémie není klíště jediným způsobem nákazy. Tularémií je možné se nakazit i kontaktem s nakaženým zvířetem (živým i uhynulým) a kontaminovanou vodou či potravou.

Graf 7: Počet pozitivních výsledků onemocnění tularémií v průběhu roku 2017

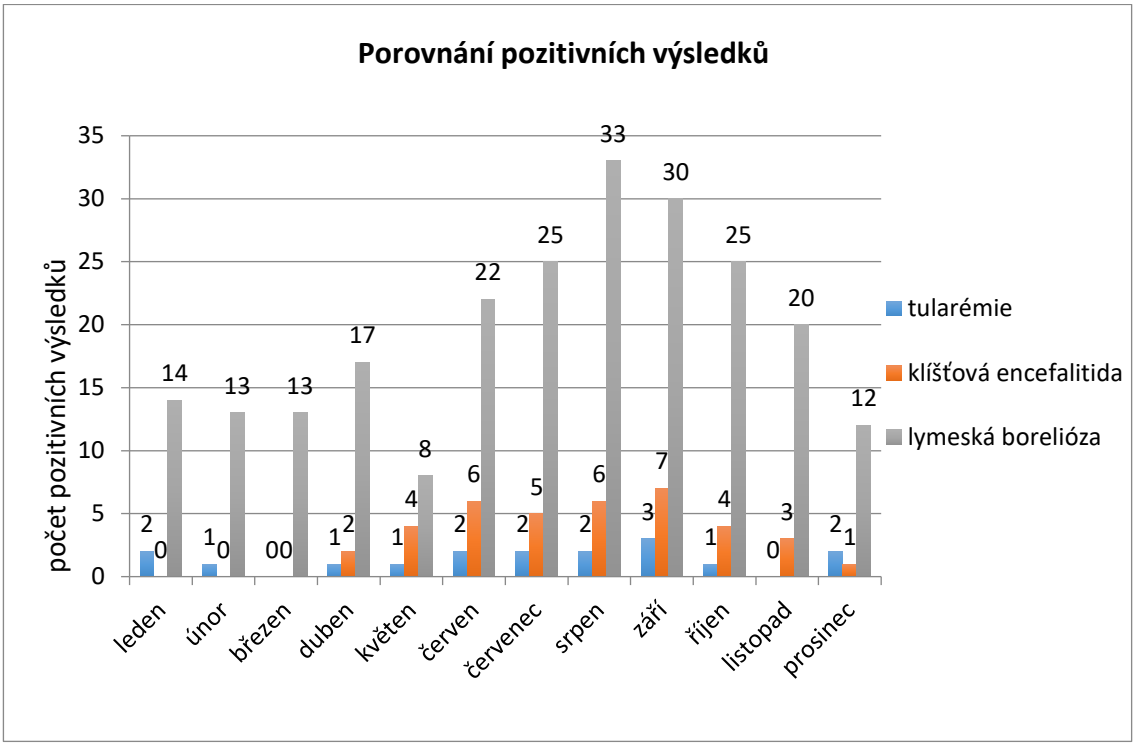


Zdroj: vlastní výzkum podle interního laboratorního systému MIKRO FN Plzeň

6.4 *Souhrnné výsledky*

Na následujícím grafu je znázorněn výskyt všech sledovaných onemocnění přenášených klíštětem v průběhu roku 2017. Z grafu je patrné, že nejčastěji se vyskytující onemocnění je lymeská borelióza. Dále je na tomto grafu patrný nárůst pozitivních výsledků v letních a podzimních měsících u klíšťové encefalitidy a lymeské boreliózy. Oproti tomu u tularémie tak výrazný nárůst není.

Graf 8: Porovnání počtu onemocnění klíšťovou encefalitidou, lymeskou boreliózou a tularemií v průběhu roku 2017



Zdroj: vlastní výzkum podle interního laboratorního systému MIKRO FN Plzeň

7 Diskuze

V rámci své bakalářské práce jsem si stanovila za cíl seznámit se s diagnostikou a výskytem onemocnění lymeskou boreliózou, klíšťovou encefalitidou a tularémií v určitém časovém období a analyzovat počty provedených vyšetření ve Fakultní nemocnici Plzeň. Zpracování výsledků bylo prováděno na Oddělení sérologie a parazitologie a na Oddělení virologie Ústavu mikrobiologie Fakultní nemocnice Plzeň. Dále jsem si stanovila 2 výzkumné problémy, které jsem potvrdila nebo vyvrátila.

1) *Pozitivní výsledky onemocnění přenášených klíšťaty jsou nejčastěji diagnostikovány v letních měsících a na začátku podzimu.*

   V roce 2017 bylo na Oddělení virologie vyšetřeno 806 sér na onemocnění klíšťovou encefalitidou. Z toho bylo pouze 38 pozitivních výsledků. Takto nízké číslo může být způsobeno tím, že lidé častěji tomuto onemocnění předchází očkováním. V lednu, únoru a březnu roku 2017 nebyl zaznamenán ve FN Plzeň žádný pozitivní výsledek. Následně od dubna začaly pozitivní výsledky přibývat. Nejvíce pozitivních bylo v září a to 7. Následně od října začaly pozitivní výsledky klesat. Nejvíce pozitivních výsledků je tedy v letních měsících a na začátku podzimu, kdy je aktivita klíšťat nejvyšší a lidé tráví více času v oblastech, kde se klíšťata vyskytují.

   V roce 2017 bylo na Oddělení sérologie a parazitologie vyšetřeno 1 393 sér na onemocnění lymeskou boreliózou. Z toho bylo ve třídách IgM i IgG 232 pozitivních výsledků. U vyšetření lymeské boreliózy nemusí vždy všechny pozitivní výsledky značit onemocnění, vzhledem k možné zkřížené reaktivitě s některými jinými druhy bakterií. Proto je nutné vždy pozitivní sérologické testy porovnávat s klinickými příznaky onemocnění u každého pacienta. Pozitivní výsledky se vyskytovaly i v zimních měsících, kdy se jednalo především o pozitivní výsledky v protilátkách IgG. Tito pacienti se lymeskou boreliózou mohli nakazit již v létě nebo na podzim, vzhledem k dlouhé inkubační době a dlouhému nástupu IgG protilátek. V zimních měsících se vyskytovaly i pozitivní protilátky IgM. Tyto protilátky nastupují přibližně po 2-4 týdnech a někteří z pacientů se lymeskou boreliózou mohli nakazit i v zimě. Avšak od června je vidět výrazný nárůst pozitivních výsledků. Nejvíce pozitivních bylo v srpnu a to 33. Následně je vidět

pokles. I v letních a podzimních měsících byly častěji pozitivní IgG protilátky, což značí, že diagnostika v mnoha případech probíhá v pozdější fázi onemocnění. Nejvíce pozitivních výsledků je stejně jako u klíšťové encefalitidy v letních měsících a na začátku podzimu, kdy je aktivita klíšťat nejvyšší a lidé se častěji pohybují v oblastech, kde se klíšťata vyskytují.

V roce 2017 bylo na Oddělení sérologie a parazitologie vyšetřeno 328 sér na onemocnění tularémií. Z nichž bylo 17 pozitivních. Pozitivní výsledky se vyskytují v průběhu celého roku bez výrazného sezónního nárůstu, což je způsobeno tím, že tularémie není přenášená pouze klíštětem, ale je možné se nakazit i přímým kontaktem s nakaženým živým či uhynulým zvířetem nebo kontaminovanou vodou či potravou. Avšak nejvíce pozitivních bylo diagnostikováno v září, což může značit jistou spojitost s vyšší aktivitou klíšťat, ale také možný častější kontakt lidí s nakaženými divokými zvířaty v rámci častějšího pobytu v přírodě (houbaření, lov).

U klíšťové encefalitidy a lymeské boreliózy mohu tento výzkumný problém potvrdit. Tato onemocnění se vyskytují nejčastěji v letních měsících a na začátku podzimu, kdy je klíště *Ixodes ricinus* nejaktivnější. U tularémie tento výzkumný problém potvrdit nemohu, protože zde není významný nárůst diagnostikovaných onemocnění v těchto měsících, s ohledem na skutečnost, že klíště není jediným způsobem nákazy tohoto onemocnění. Počet případů výše jmenovaných onemocnění je v populaci pravděpodobně vyšší. I když je infekce klíštětem přenesena, nemusí se vždy objevit typické klinické příznaky. Nemocný nemusí vůbec lékaře navštívit, a tak se toto onemocnění nedostane do statistik.

2) *Lymeská borelióza je nejčastěji se vyskytující onemocnění přenášené klíštětem, které je zachyceno ve FN Plzeň.*

V roce 2017 bylo na Ústavu mikrobiologie FN Plzeň zachyceno 38 pozitivních výsledků klíšťové encefalitidy, 232 pozitivních výsledků lymeské boreliózy a 17 pozitivních výsledků tularémie. Nejčastějším onemocněním přenášeným klíštětem diagnostikovaným ve FN Plzeň je lymeská borelióza. Lymeská borelióza je rovněž z těchto onemocnění nejčastěji vyšetřována. Dle SZÚ je

lymeská borelióza nejčastěji se vyskytujícím onemocněním přenášeným klíštětem v České republice. Výskyt tohoto onemocnění se pohybuje kolem 4 000 případů ročně. Druhým nejčastějším onemocnění přenášeným klíštětem je klíšťová encefalitida. Výskyt klíšťové encefalitidy se pohybuje mezi 500-700 případy ročně. Tularémie je z těchto onemocnění nejméně se vyskytující. Výskyt tularémie v ČR je okolo 50 případů ročně.

Tento výzkumný problém mohu potvrdit. Lymeská borelióza je ve FN Plzeň opravdu nejčastěji diagnostikovaným onemocněním. To může být způsobeno tím, že klíšťata v Plzeňském kraji jsou promořena borreliemi. Na rozdíl od klíšťové encefalitidy může být lymeská borelióza častější i kvůli tomu, že proti klíšťové encefalitidě je možné se očkovat.

ZÁVĚR

Klíště je parazit, který přenáší mnoho onemocnění jako je v ČR lymeská borelióza, klíšťová encefalitida, tularémie a ehrlichióza. Jiné druhy klíšťat, která se v ČR nevyskytují, mohou přenášet i mnoho dalších onemocnění, ta se do ČR mohou dostat jako importovaná. Tato onemocnění se u nás již následně nešíří, ale je nutné znát způsob jejich léčby. Klíště nemusí pouze přenášet onemocnění, ale jeho přisátí může způsobit nepříjemné kožní a alergické reakce. Proti přisátí klíštěte je možné se chránit repelenty, dlouhým přiléhavým oblečením a kontrolou těla po návratu z přírody.

Onemocnění přenášená klíšťaty jsou velmi často se vyskytující onemocnění, jejichž průběh může být při pozdní diagnostice a nesprávné léčbě i fatální. Je důležité společnost informovat o možné prevenci před těmito onemocněními. Ať se jedná o ochranu před klíštětem samotným nebo možné očkování proti klíšťové encefalitidě. Ke snížení rizika přenosu onemocnění je důležité klíště včasně a správně odstranit. Pokud je klíště včas odstraněno, snižuje se počet infekčních agens, která se dostanou do organismu, a tím se sníží riziko přenosu infekce.

Diagnostika těchto onemocnění je založena na přímých i nepřímých metodách, avšak v rutinní diagnostice se využívá spíše metod nepřímých. Lymeská borelióza se ve FN Plzeň diagnostikuje na Oddělení sérologie a parazitologie Ústavu mikrobiologie, a to metodou ELISA a konfirmační metodou Westernblot. Klíšťová encefalitida se ve FN Plzeň diagnostikuje na Oddělení virologie Ústavu mikrobiologie, a to metodou ELISA. Tularémie je ve FN Plzeň diagnostikována na Oddělení sérologie a parazitologie Ústavu mikrobiologie aglutinační metodou, která se skládá z rychlé a pomalé aglutinace.

Díky své bakalářské práci jsem se dozvěděla nové informace o klíštěti a onemocněních, která přenáší. Také jsem zjistila, jak je důležité tato onemocnění včasně diagnostikovat a jakým způsobem se provádí diagnostika ve FN Plzeň.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

Aglutinace. *Souprava k diagnostice Tularemie*. Příbalová informace. BIOVETA

AHANTARIG, A., RŮŽEK, D., VANCOVÁ, M. a kol. Tick-borne encephalitis virus infection of cultured mouse macrophages, *Intervirology* 2009, 52(5): 283-290, ISSN: 1423-0100.

BARTŮNĚK, P. a kol. (2013). *Lymeská borelióza*. 4., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, ISBN 9788024743554.

BENEŠ, J. a kol. (2009) *Infekční lékařství*. Praha: Galén, ISBN 9788072626441.

ČERNÝ, Z. (1997). *Infekční nemoci*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, ISBN 8070132418.

ELISA. *Návod na provedení ELISA testu*. Protilátky proti TBE viru (IgG). EUROIMMUN.

ELISA. *Návod na provedení ELISA testu*. Protilátky proti TBE viru (IgM). EUROIMMUN.

GAYLE, A., RINGDAHL, E. Tick-borne Diseases, *American family physician* 2001, 64(3): 461-466, ISSN -1532-0650.

HOLZMANN, H. Diagnosis of tick-borne encephalitis. *Vaccine* 2003, 21: 36-40, ISSN: 0264-410X.

HULÍNSKÁ, D. Onemocnění přenášená klíšťaty v České republice. In: Státní zdravotní ústav, May 7, 2008 [cit. 2017-10-07]. Dostupné z: http://szu.cz/tema/prevence/onemocneni-prenasena-klistaty-v-ceske-republice

CHALUPA, P. a kol. (2001). *Infekční lékařství: učební text pro posluchače magisterského studia zdravotních věd*. Brno: Masarykova univerzita, ISBN 802102576x.

CHMELÍK, V. Klíšťová meningoencefalitida, *Medicína pro praxi* 2008, 5(3): 105-108, ISSN - 1803-5256.

JULÁK, J. (2006). *Úvod do lékařské bakteriologie*. Praha: Karolinum, ISBN 8024612704.

KIMMIG, P., BRAUN, R., HASSLER, D. (2003). *Klíšťata: Nepatrné kousnutí s neblahými následky*. Přeložila: Romana Barfussová, Praha: Pragma, ISBN 8072058819.

KRAMÁŘ, R. (2007). *Lékařská mikrobiologie*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta, ISBN 9788073940218.

KRBKOVÁ, L. Lymeská borrelióza, *Medicína pro praxi* 2007, 5: 200-203, ISSN - 1803-5256.

KŘÍŽ, B., BENEŠ, Č. (2014). *Situace ve výskytu klíšťové encefalitidy do roku 2013 v České republice* [online]. [cit. 2017-01-05] Dostupné z: http://www.szu.cz/tema/prevence/klistova-encefalitida

LUKÁŠOVÁ, E., ČERMÁK, P., SMĚLÁ, G., JEDLIČKOVÁ, A. Tularémie – přehled současných poznatků, *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství* 2010, 1: 22-27, ISSN - 1211-264X

MACHÁČEK, T. Ze života klíšťat, 1. díl. In: Přirodovědci, Aug 21, 2014 [cit. 2017-10-24]. Dostupné z: https://www.prirodovedci.cz/biolog/clanky/ze-zivota-klistat-1-dil

PAVLIŠ, O., POHANKA, M. Mikrobiologické a klinické aspekty tularemického onemocnění, *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství* 2011, 5: 164-167, ISSN - 1211-264X.

PETRÁŠ, M. (2011). *Průvodce očkováním*. Aktualiz. a dopl. vyd. Praha: Josef Raabe, ISBN 9788086307862.

PÍCHA, D. Infekce přenášené klíšťaty, *Postgraduální medicína*[online]. 2006, č. 3 [cit. 2017-10-07]. ISSN 1212-4184 Dostupné z: http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/infekce-prenasene-klistaty-173280

PROKEŠ, Z. Lymeská borrelióza, *Dermatologie pro praxi* 2015, 9(1): 36-39, ISSN - 1803-5337.

ROHÁČOVÁ, H. Lymeská borrelióza, *Interní medicína* 2012, 14(5): 203-205, *ISSN* - 1803-5256.

ROHÁČOVÁ, H. Onemocnění přenášená klíšťaty, *Interní medicína* 2006, 6: 280-283, *ISSN* - 1803-5256.

ROSICKÝ, B., a kol. (1979). Cesta k Vědění – Československá Akademie Věd Svazek 77. *Roztoči a klíšťata škodící zdraví člověka*. Academia, ISSN 0528-7103.

ROSICKÝ, B., DANIEL, M. (1989). *Lékařská entomologie a životní prostředí*. Praha: Academia.

RŮŽEK, D. a kol. (2015). *Klíšťová encefalitida*. Praha: Grada Publishing, ISBN 9788024753058.

SCHINDLER, J. (2010). *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada Publishing, ISBN 9788024731704.

TESTLINE. EIA Borrelia recombinant IgG. Výrobce: TestLine Clinical Diagnostics s. r. o.

TESTLINE. EIA Borrelia recombinant IgM. Výrobce: TestLine Clinical Diagnostics s. r. o.

VANIŠTA, J. Rickettsiózy cestovatelů, *Postgraduální medicína*[online]. 2006, č. 3 [cit. 2017-10-14]. ISSN 1212-4184 Dostupné z: http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/rickettsiozy-cestovatelu-173283

VOLF, P., HORÁK, P. a kol. (2007). *Paraziti a jejich biologie*. Praha: Triton, ISBN 9788073870089.

VOTAVA, M. a kol. (2010). *Lékařská mikrobiologie-vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, ISBN 9788086850048.

VOTÝPKA, J. Jak rozeznat onemocnění přenášená klíšťaty. In: *Zdravi.euro.cz,* Apr 23, 2007 [cit. 2017-10-07]. Dostupné z: http://zdravi.euro.cz/denni-zpravy/profesni-aktuality/jak-rozeznat-onemocneni-prenasena-klistaty-302352

Western blot. *Návod k testu pro Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT*. Protilátky proti Borrelia (IgG). EUROIMMUN.

Western blot. *Návod k testu pro Anti-Borrelia EUROLINE-RN-AT*. Protilátky proti Borrelia (IgM). EUROIMMUN.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ACA	acrodermatitis chronica atrophicans
BSK	Barburovo-Stoennerovo-Kellyho médium
ČR	Česká republika
CRP	C reaktivní protein
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FN	Fakultní nemocnice
HGE	Lidská granulomatózní ehrlichióza
IFA	nepřímá imunofluorescence
IgG	Imunoglobulin G
IgM	Imunoglobulin M
KFD	Horečka Kjasanurského lesa
OHF	Omská hemoragická horečka
PCR	polymerase chain reaction
RNA	ribonukleová kyselina
RSSE	Ruská jaroletní horečka
RT-PCR	Real time – Polymerase chain reaction
SZÚ	Státní zdravotní ústav
TMB	trimetylboritan
USA	Spojené státy americké

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Počet negativních a pozitivních výsledků onemocnění klíšťovou encefalitidou v roce 2017

Graf 2: Počet pozitivních výsledků onemocnění klíšťovou encefalitidou v průběhu roku 2017

Graf 3: Počet negativních a pozitivních výsledků onemocnění lymeskou boreliózou v roce 2017

Graf 4: Zastoupení protilátek IgG a IgM v pozitivních výsledcích onemocnění lymeskou boreliózou

Graf 5: Počet pozitivních výsledků onemocnění lymeskou boreliózou v průběhu roku 2017

Graf 6: Počet negativních a pozitivních výsledků onemocnění tularémií v roce 2017

Graf 7: Počet pozitivních výsledků onemocnění tularémií v průběhu roku 2017

Graf 8: Porovnání počtu onemocnění klíšťovou encefalitidou, lymeskou boreliózou a tularemií v průběhu roku 2017

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Povolení sběru informací ve Fakultní nemocnici Plzeň.

PŘÍLOHY

Příloha 1: Povolení sběru informací ve Fakultní nemocnici Plzeň.

Vážená paní
Kateřina Víková
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 ošetřovatelskou péči FN Plzeň **uděluji souhlas** se sběrem a 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 vypracování Vaší bakalářské práce s názvem „*Onemocnění přenášená klíšťaty*".

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

- Vrchní zdravotní laborantka 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 pacientu 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., předmostra 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. Svatoňa Chabrová,
manažerka pro vzdělávání a výuku NELZP
zástupkyně náměstkyně pro ošt. péči

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

6. 11. 2017