

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

Urbanová Hana

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

KLÍŠŤOVÁ ENCEFALITIDA

Bakalářská práce

Vedoucí práce: MUDr. Miroslava Švecová

Plzeň 2019

Prohlášení:

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

V Plzni dne 29.3.2019

.....

vlastnoruční podpis

Poděkování

Chtěla bych poděkovat vedoucí mé bakalářské práce MUDr. Miroslavě Švecové za odborné vedení mé práce, velmi ochotný přístup a cenné rady. Dále bych ráda poděkovala své rodině za podporu při celém studiu a trpělivost ve zkouškovém období.

Anotace

Příjmení a jméno: Hana Urbanová

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Klíšťová encefalitida

Vedoucí práce: MUDr. Miroslava Švecová

Počet stran – číslované: 55

Počet stran – nečíslované: 16

Počet příloh: 1

Počet titulů použité literatury: 23

Klíčová slova: klíště, klíšťová encefalitida, ELISA

Souhrn:

Tato bakalářská práce je zaměřena na problematiku klíšťové encefalidity. Jedná se o virové onemocnění přenášené klíšťaty rodu *Ixodes ricinus*. Práce je rozdělena do dvou částí – teoretické a praktické. Teoretická část se zabývá historií a charakteristikou onemocnění, přenašečem, klinickým průběhem a diagnostikou. Konec teoretické části je zaměřen na léčbu a prevenci tohoto onemocnění. Praktická část je zaměřena na vyšetření klíšťové encefalidity metodou ELISA. Dále praktická část statisticky zpracovává výsledky pacientů vyšetřených v laboratoři virologie Ústavu mikrobiologie ve Fakultní nemocnici Plzeň za rok 2017 a 2018. Výsledky jsou graficky znázorněny.

Annotation

Surname and name: Hana Urbanová

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

Title of thesis: Tick-borne encephalitis

Consultant: MUDr. Miroslava Švecová

Number of pages – numbered: 55

Number of pages – unnumbered: 16

Number of appendices: 1

Number of used literature items: 23

Key words: tick, tick-borne encephalitis, ELISA

Summary:

This Bachelor's thesis is focused on Tick-borne encephalitis. It is a viral disease transmitted by ticks of the genus *Ixodes ricinus*. This work is divided in two parts – theoretical and practical. The theoretical part deals with history and characteristics of disease, transducer, clinical course and diagnostics. The end of the theoretical part is focused on therapy and prevention of this disease. The practical part is focused on examination of Tick-borne encephalitis by method ELISA. The practical part statistically analyzes the results of patients examined in the virology laboratory of the Institute of Microbiology at the Pilsen University Hospital for years 2017 and 2018. Results are represented by graphs.

OBSAH

TEORETICKÁ ČÁST	10
1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA.....	11
2 HISTORIE.....	11
2.1 První informace o klíšťové encefalitidě.....	11
2.2 První výskyt viru KE v ČR.....	11
3 EPIDEMIOLOGIE	12
3.1 Biologie klíšťat.....	12
3.1.1 Výskyt klíšťat	12
3.1.2 Druhy klíšťat.....	13
3.2 Zdroj infekce	13
4 VIRUS KLÍŠŤOVÉ ENCEFALITIDY.....	14
4.1 Typy viru klíšťové encefalitidy	14
4.2 Virová částice.....	15
4.3 Přenos klíšťové encefalitidy a vznik onemocnění	15
4.3.1 Infekce a šíření viru v buňce hostitele.....	15
4.4 Faktory ovlivňující riziko KE.....	16
4.4.1 Klimatické vlivy	16
4.4.2 Vliv mezinárodního cestování	17
4.4.3 Vliv politických a dalších změn.....	17
5 KLINICKÝ OBRAZ	17
5.1 Průběh KE.....	17
5.2 Průběh KE v závislosti na věku pacientů.....	18
6 DIAGNOSTIKA	19
6.1 Klinická diagnostika	19
6.2 Laboratorní diagnostika	19
6.3 Laboratorní metody	20
6.4 Interpretace výsledků.....	20
7 TERAPIE.....	21
7.1 Kvalita života po KE	22
8 PREVENCE.....	23
8.1 Odstranění přisátého klíštěte	23
8.2 Očkování.....	23
8.3 Očkovací vakcíny	24

8.4	Očkování starších osob	25
8.5	Očkování dětí	25
PRAKTICKÁ ČÁST.....		26
9	CÍLE PRÁCE	27
10	HYPOTÉZY	28
11	METODY VÝZKUMU	29
11.1	Vyšetření klíšťové encefalitidy metodou ELISA	29
11.1.1	Princip metody.....	29
11.1.2	Reagencie a biologický materiál.....	29
11.1.3	Uskladnění a stabilita	31
11.1.4	Příprava a stabilita reagensů.....	32
11.1.5	Příprava a stabilita patientských vzorků	32
11.1.6	Pracovní postup	33
11.1.7	Zhodnocení výsledků	34
12	VLASTNÍ VÝZKUM	36
12.1	Výzkum klíšťové encefalitidy za rok 2017	37
12.2	Výzkum klíšťové encefalitidy za rok 2018	43
12.3	Srovnání sezón 2017 a 2018.....	49
13	DISKUZE	53
14	ZÁVĚR	56
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY		
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK		
SEZNAM TABULEK		
SEZNAM GRAFŮ		
SEZNAM OBRÁZKŮ		
SEZNAM PŘÍLOH		
PŘÍLOHY		

ÚVOD

Klíšťová encefalitida je sezónní virové infekční onemocnění, které se přenáší prostřednictvím infikovaného klíštěte rodu *Ixodes ricinus* ze zvířat na člověka a může způsobit zánět mozku či mozkových blan. Původcem onemocnění je arbovirus z rodu *Flavivirus*, který se nejčastěji přenáší klíšťaty a komáry na savce, kteří slouží jako rezervoár tohoto onemocnění. Rozlišujeme 3 podtypy klíšťové encefalidity s přírodní ohniskovostí v Severní Americe, Asii a Evropě. Klíšťová encefalitida se může v závislosti na věku infikovaného rozvinout do různě závažných forem s žádnými, ale také až smrtelnými následky.

Vzhledem k netypickým příznakům klíšťové encefalidity v první fázi je velice komplikované odhalit onemocnění ihned v jeho počátcích. Velmi užitečný k rozpoznání choroby může být rozhovor s pacientem. Avšak ani druhá fáze nemá natolik typické příznaky vedoucí k jasné diagnóze. Proto je nedílnou součástí určení diagnózy laboratorní vyšetření.

Téma bakalářské práce jsem si zvolila na základě nedávných spekulací široké veřejnosti ohledně očkování malých dětí, nejen proti klíšťové encefalidě, a z důvodu dopadu tohoto onemocnění na zdraví člověka.

Bakalářská práce je rozdělena na teoretickou a praktickou část. V teoretické části se věnuji historii objevu klíšťové encefalidity ve světě a České republice, morfologii a výskytu klíšťat a podrobné charakteristice onemocnění, včetně jeho diagnostiky a prevence. V praktické části se zabývám laboratorní diagnostikou onemocnění a statistickým zpracováním provedených vyšetření.

Cílem práce je seznámit se s výskytem a diagnostikou klíšťové encefalidity a porovnat provedená vyšetření v roce 2017 a 2018 ve virologické laboratoři Ústavu mikrobiologie Fakultní nemocnice Plzeň.

TEORETICKÁ ČÁST

1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA

Klíšťová encefalitida je akutní virové zánětlivé onemocnění centrálního nervového systému (CNS), které může způsobit zánět mozkových blan, mozku a míchy. Toto sezónní onemocnění, které je přenášeno ze zvířat na člověka prostřednictvím klíštěte rodu *Ixodes ricinus*, se nejvíce vyskytuje od dubna do října s vyvrcholením v létě (Havlík, 1998).

2 HISTORIE

2.1 První informace o klíšťové encefalitidě

Onemocnění virem klíšťové encefalidity se poprvé objevilo roku 1931 a bylo popsáno rakouským lékařem H. Schneiderem. Ten zaznamenal pravidelný sezónní výskyt nemoci s podobnými klinickými příznaky a pojmenoval ji „*Epidemische akute Meningitis serosa*“ (Schneider, 1931). Jako původce nemoci byl tento virus objeven v roce 1937 ruskými vědci, kteří jej našli v lidských vzorcích, myších a klíšťatech rodu *Ixodes persulcatus*. V návaznosti na objev byla vypravěna expedice virologů, entomologů, patologa a epidemioložky na Dálný východ s cílem zkoumat toto onemocnění, které začali nazývat ruská jaro-letní encefalitida. Spolu s nimi se na výzkumu podílela i expedice Vojenského ústavu experimentální medicíny SSSR. Po rozšíření epidemie mezi vojáky Rudé armády během druhé světové války byl poprvé izolován virus klíšťové encefalidity (KE) společně se zjištěním jeho přenosu prostřednictvím klíštěte obecného (Růžek, 2015).

2.2 První výskyt viru KE v ČR

Onemocnění klíšťovou meningoencefalitidou bylo v České republice poprvé detekováno v roce 1948, ale pro nedostupnost virologického vyšetření nebylo laboratorně potvrzeno. Doktoru Františku Galliovi se podařilo jako prvnímu z celé střední Evropy izolovat virus klíšťové encefalidity z krve a mozkomíšního moku pacientů. Na jeho výzkum navázali i další lékaři, kteří zjistili na základě výroků pacientů potvrzujících nedávné přisátí klíštěte, že nákazu přenášejí klíšťata rodu *Ixodes ricinus*. Tuto hypotézu potvrdila izolace viru z různých vývojových stádií klíštěte *Ixodes ricinus*, kterou provedli doktoři J. Rampas a F. Gallia, který se během výzkumu sám nakazil a prodělal těžkou neuroinfekcí. Během rekonvalescence z KE se nakazil jinou laboratorní infekcí, které nakonec podlehl. Po tomto výzkumu byl virus pojmenován „virus československé klíšťové encefalidity“ (Růžek, 2015).

3 EPIDEMIOLOGIE

Původcem klíšťové encefalitidy je arbovirus z rodu *Flavivirus* z čeledi *Flaviviridae*, která je pojmenována podle svého zástupce viru žluté zimnice. Flaviviry jsou přenášeny klíšťaty, komáry a množí se jedině v členovcích. Inkubační doba klíšťové encefalitidy je sedm až čtrnáct dní (Votava, 2003; Němec, 2015).

3.1 Biologie klíšťat

Klíšťata spolu s roztoči patří do kmene parazitických členovců (*Arthropoda*), konkrétně do třídy pavoukoců (*Arachnida*) do řádu roztočů (*Acari*).

V dospělosti a ve stádiu nymfy mají osm končetin, jejich larvy mají končetin šest. Samičky klíšťat dorůstají velikosti kolem 5 mm, samečci jsou menší. Po nasátí krve hostitele mohou dosáhnout velikosti přes 1 cm. Zada klíšťat jsou pokryta silným chitinovým štítem, který je chrání před poraněním měkkého těla. Mají dobře rozpoznatelnou hlavu s párem kusadel. Využívají se přes několik vývojových stádií svlékáním blan. Larvy klíšťat se líhnou z vajíček, po přijetí první potravy v podobě krve hostitele se mění na nymfu a dalším sáním dochází k jejich přeměně v dospělá klíšťata.

Klíšťata parazitují hlavně na hlodavcích, domácích zvířatech a lidech. Klíšťe kusadly prořízne pokožku a pomocí hypostomu, což je bodací ústrojí vybavené zpětnými háčky, se uchytlí k pokožce. Hypostom je chitinový sosáček, kterým klíšťata sají hostitelovu krev a zároveň vpouští do hostitele sliny, které zabraňují krvácení a uvolňují tkáň. Kolem místa přisátí dojde ke zčervenání pokožky a vzniku svědivého pupínku. Příjem potravy je u klíšťat velmi významný z důvodu přeměny jejich stádií. Larvy a nymfy sají dva až tři dny, zatímco dospělá klíšťata sají i dva týdny. Rozlišujeme klíšťata jednohostitelská, která mají celý život jednoho hostitele, klíšťata dvouhostitelská a trojhostitelská. Klíšťata žijí podle rychlosti svého vývinu od jednoho a půl roku do čtyř a půl let, díky své schopnosti hladovět (Kimmig, 2003).

3.1.1 Výskyt klíšťat

Klíšťata se vyskytují především v listnatých lesích a travnatých porostech a se stoupající nadmořskou výškou jich ubývá, poněvadž potřebují k přežití vysokou vlhkost a teplotu vzduchu. V přírodě můžeme rozlišit jednotlivá stadia podle výšky jejich výskytu ve vegetaci. Larvy se spolu s jejich oblíbenými hostiteli (hlodavci) vyskytují především na zemi, maximálně do 15 centimetrů od země, nymfy nalezneme ve výšce

deseti až patnácti cm a dospělé ve výšce kolem 1 m. Domněnka, že klíšťata šplhají na stromy a odtud útočí na své hostitele, je tedy mylná už jen z důvodu, že klíšťata svého hostitele cítí na dálku podle otřesů, tepla a vydechaného oxidu uhličitého (Votata, 2003, Bednář, 1996).

Největší výskyt infikovaných klíšťat v České republice je v povodí Vltavy, Malše, v Jižních Čechách, v okolí přehrad Orlická a Slapy, Sázavy, Berounky, na Moravě pak jižně od Brna a v okolí přehrad ve Slezsku (Beran a kol, 2008).

3.1.2 Druhy klíšťat

V přírodě se vyskytuje několik druhů klíšťat. Nejčteněji se vyskytují zástupci 2 skupin, známých jako klíšťata a klíšťáci.

3.1.2.1 Klíšťáci

Klíšťáci mají měkká těla s kusadly na břišní straně těla, proto jsou viditelná jen při přetočení na záda. Zástupci klíšťat s měkkým tělem jsou rody *Argas* a *Ornithodoros*. Oba druhy přežívají v krovech či slaměných chatrčích, a proto jsou těžce vyhubitelné. Zástupce rodu *Ornithodoros* přenáší viry borelií, které způsobují návratnou horečku. Významným zástupcem je klíšťák holubí, který se vyskytuje ve střední Evropě (Stejskal, 1995; Kimmig, 2003).

3.1.2.2 Klíšťata

Na rozdíl od klíšťáků mají klíšťata těla opatřena chitinovým silným štítem, který samečkům pokrývá celé tělo, samičkám jen jeho polovinu. Mezi klíšťata s tvrdým tělem patří rod *Ixodes*, která sají jen na určitých hostitelích. Příkladem může být *Ixodes hexagonus*, který parazituje pouze na jezcích. Tento rod přenáší nebezpečné choroby jako je klíšťová encefalitida nebo borelióza. Dalším rodem je rod *Dermacentor*, který napadá především ovce a srny. Zástupcem je *Dermacentor marginatus*, který přenáší virus balkánské chřipky. Dále sem patří rod *Rhipicephalus*, který je schopen přežít i ve velmi suchých oblastech, rod *Amblyomma* a rod *Hyalomma*, které parazitují především kopytníky (Kimmig, 2003; Bednář, 1996).

3.2 Zdroj infekce

Rezervoárem viru KE jsou především drobní zemní savci z řádu hlodavců (myšice, norník, veverka), dále i lovná lesní zvěř (srna, jelen, divoké prase) a hospodářská zvířata (kozy, ovce, skot), která se pasou v blízkosti křovin. Infikované klíště přenese virus KE

na rezervoárová zvířata sáním jejich krve. Při následném sání jejich krve dalším klíštětem dojde k dalšímu přenosu (Hamplová, 2015).

4 VIRUS KLÍŠŤOVÉ ENCEFALITIDY

Původcem klíšťové encefalitidy je arbovirus z rodu *Flavivirus* z čeledi *Flaviviridae*, která je pojmenována latinsky po svém zástupci viru žluté zimnice (z lat. *flavus*, žlutý). Jsou to malé viry dosahující průměru 50 – 60 nm. Jejich rezervoárem jsou obratlovci, mezi kterými se infekce přenáší prostřednictvím vektoru z řádu hmyzu. Flaviviry rozdělujeme do 4 skupin na viry komplexu klíšťových encefalitid, virus Japonské encefalitidy, viry dengue a virus žluté zimnice (Havlík, 1998).

4.1 Typy viru klíšťové encefalitidy

Komplex virů klíšťové encefalitidy je rozdělen na 3 podtypy a vyskytuje se s přírodní ohniskovostí v Asii, Evropě a Severní Americe. Jednotlivé podtypy se liší závažností onemocnění, které u člověka způsobí. Podle teorie Kovaleva a Mukhacheva publikované v roce 2014 se původní východní typ KE rozšířil na Sibiř transportem dobytka po obchodních cestách, a tak se virus musel adaptovat na západní typ klíštěte spolu se vznikem nového, sibiřského subtypu. Kolonizací Sibíře Evropany v 17. století se sibiřský subtyp přenesl na klíště *Ixodes ricinus*, došlo k dalšímu přizpůsobení a evolučnímu vzniku evropského subtypu. Všechny tři podtypy mají z 96% shodný antigen E, a proto je evropská vakcína schopna zajistit ochranu před nákazou všemi podtypy.

Prvním podtypem je evropský virus, který způsobuje onemocnění s dvoufázovým průběhem. První neboli viremickou fází jsou příznaky chřipky, která je doprovázena bolestí hlavy, pocitem na zvracení, tělesnou slabostí a teplotou. Tato fáze nemusí nutně probíhat u všech pacientů. Během druhé fáze se u 20 – 30 % případů již rozvíjí meningitida, meningoencefalitida nebo encefalomyelidita. Tento podtyp se přenáší z klíštěte *Ixodes ricinus* především na hlodavce a domácí zvířata, jimž infikuje virem mléko. Vyskytuje se zejména v České republice, evropské části Ruska a dalších zemích střední Evropy, avšak patří sem i některé kmeny z Koreje, Sibíře a Dálného východu.

Dalším typem je východní virus, který se nazývá také jako ruská jaro-letní encefalitida. Místem výskytu je především Rusko, Ukrajina, Litva, ale také Čína a Japonsko. Virus se rozvíjí v meningoencefalitidu či polyencefalitidu, které často

doprovází paralýzy končetin. Někteří zástupci tohoto typu způsobují velmi závažný hemoragický syndrom, který doprovází silné krvácení do gastrointestinálního traktu, a pacienti umírají za 16 dnů od začátku onemocnění. Klinický průběh onemocnění se mění v závislosti na místě výskytu – čím více na východ, tím závažnější onemocnění je.

Posledním typem je sibiřský virus, který má mírnější průběh s vysokou horečkou a sklon navodit chronickou infekci, ale většinou nedochází k paralýzám končetin. Tento typ byl lokalizován v centrální Sibíři (Růžek, 2015; Bednář, 1996; Beran a kol., 2008).

4.2 Virová částice

Virová částice KE o průměru 50 – 60 nm má kulovitý či oválný tvar. Virion tvoří bílkovinné pouzdro neboli nukleokapsida, které chrání virovou genetickou informaci (genom), a fosfolipidová membrána, která ho obklopuje. V nukleokapsidě tvořené z proteinu C je uložena genetická informace v podobě lineární jednořetězcové molekuly RNA. Na povrchu fosfolipidové membrány se nachází membránový protein M a obalový glykoprotein E, který zajišťuje specifickou vazbu k buněčnému receptoru a průnik viru do hostitelské buňky. Právě proti glykoproteinu E jsou zaměřeny virus - neutralizační protilátky v lidském těle, které zodpovídají za imunitu (Růžek, 2015; Šulcová, 2017).

4.3 Přenos klíšťové encefalitidy a vznik onemocnění

Existují tři způsoby, kterými se může organismus virem klíšťové encefalitidy nakazit. Prvním způsobem je přisátí infikovaného klíšťete. Dalšími způsoby nákazy může být vypití infikovaného nepasterizovaného ovčího či kozího mléka nebo nákaza v laboratorním prostředí o infikovanou injekční jehlu (Kimmig, 2003).

4.3.1 Infekce a šíření viru v buňce hostitele

Po přisátí dochází vlivem látek ve slinách klíšťete k utlumení imunitní obrany organismu. Tyto látky tlumí srážení krve a brání vzniku zánětlivého procesu. Virus se dostává do podkoží a infikuje buňky imunitního systému a endotelové buňky cév. V této fázi se může objevit krátkodobá virémie v důsledku porušení krevních kapilár sáním klíšťete. Dochází zde k prvotnímu pomnožení viru v buňkách kůže i podkoží. Virová částice se naváže na buněčný receptor a endocytózou je absorbována membránovým váčkem do cytoplazmy buňky. Dochází ke změně konformace glykoproteinu E z dimerů na trimery s následným splynutím obalové membrány viru s membránou endozomu, přičemž se uvolní virová nukleokapsida do cytoplazmy buňky, kde následně dojde

k rozložení a uvolnění virové RNA. Langerhansovy buňky kůže přenášejí virus KE do lymfatických uzlin, ve kterých dochází k replikaci viru v makrofázích a k následnému rozšíření krví do dalších buněk a orgánů, především do jater, sleziny a kostní dřeně. Tato krátkodobá fáze se nazývá primární viremie, při které se virus dále pomnožuje a je rozšiřován do krevního oběhu. Pokud se virus není schopen replikovat v makrofázích, neumí vyvolat virémii a nerozšíří se do centrální nervové soustavy. Jestliže není nákaza zničena buňkami imunitní obrany, přechází v tzv. sekundární viremii, která je doprovázena příznaky chřipky a trvá několik dní. Aby virus mohl zasáhnout centrální nervovou soustavu, musí překonat hematoencefalickou bariéru, která je tvořena vrstvou endotelu mozkových kapilár s bazální membránou a vrstvou astrocytů a pericytů.

Je známo několik cest, kterými se virus klíšťové encefalitidy může dostat do CNS. Virus infikuje makrofágy, které poté migrují do CNS. Tato cesta je označována také jako mechanismus „trojského koně“. Jiným způsobem je rozšíření viru po nervových zakončeních periferních nervů nebo po čichovém nervu.

Virus klíšťové encefalitidy se v centrální nervové soustavě zaměřuje především na neurony. V nich dochází k přeměně membrán buněčných organel. Kromě neuronů virus napadá i astrocyty, což jsou podpůrné nervové buňky hvězdicovitého tvaru, které zajišťují výživu neuronů. Tyto buňky reagují na infekci tvorbou protizánětlivých cytokinů, které však mohou poškození mozku i více zhoršovat. Toto onemocnění postihuje všechny části mozku a páteř a projevují se obrnou okohybných nervů a poruchou sluchu. V těžkých případech dochází k nevratnému ochrnutí končetin, k obrně svalů jazyka, k poruše polykání a vědomí (Růžek, 2015; Dvořáková, 2012).

4.4 Faktory ovlivňující riziko KE

4.4.1 Klimatické vlivy

Z důvodu oteplování a ideální vlhkosti se období výskytu klíšťat prodlužuje společně s jejich rostoucím počtem včetně urychlení jejich vývoje.

Na rozdíl od osmdesátých let minulého století, kdy byla klíšťata detekována v nadmořské výšce do 700 m n. m, jsou klíšťata po roce 2000 nalézána v nadmořské výšce kolem 1000 m n. m. Z důvodu výrazně teplejšího podzimu a zimy v roce 2006 došlo ve střední Evropě včetně České republiky k rekordnímu výskytu i přenosu onemocnění již

v únoru. Avšak změny mohou souviset nejen se změnou klima, ale i se změnou populace rezervoárových zvířat (Kříž, 2015).

4.4.2 Vliv mezinárodního cestování

Informovanost o klíšťové encefalitidě turistů z neendemických oblastí je velice nízká a vakcíny jsou málo dostupné. Z tohoto důvodu je riziko nákazy neočkovaných turistů pobývajících v endemických oblastech velice vysoké. Vzhledem k dlouhé inkubační době se onemocnění začne projevovat až po návratu domů a jeho diagnostika může být velmi obtížná.

4.4.3 Vliv politických a dalších změn

Z důvodu dekolktivizace zemědělství v devadesátých letech 20. století došlo ke snížení plošného používání herbicidů a tím ke zlepšení životních podmínek pro klíšťata i rezervoárová zvířata. Společně se zlepšováním zdravotní péče dochází ke zvyšování průměrného věku obyvatelstva, díky kterému jsou nákazy vystavovány i starší osoby častěji než v minulosti. Oproti tomu by onemocnění měla příznivě ovlivňovat větší proočkovanost populace (Dvořáková, 2017).

5 KLINICKÝ OBRAZ

Infekce virem klíšťové encefalitidy má různý průběh v závislosti na věku a množství chronických onemocnění pacientů. Onemocnění může mít přechodné i trvalé následky, které v případě prodělání zánětu CNS vedou ke zhoršení kvality života (Roháčová, 2017).

5.1 Průběh KE

Kaiser stanovil průměrnou inkubační dobu KE na 8 dní. Avšak u některých pacientů se můžeme setkat s delší dobou z důvodu nevnímání první fáze, či jejího nesdělení lékaři. V tomto případě je zaznamenán až začátek druhé fáze. 1/3 nemocných nedokáže udat místo ani čas přisátí klíštěte.

Onemocnění probíhá ve dvou fázích, které byly potvrzeny až u 70 % pacientů. První fáze se projevuje většinou jako tzv. letní chřipka, jejímiž příznaky je teplota, únava a bolesti ve svalech. Z příznaků první fáze nemůžeme diagnostikovat klíšťovou encefalitidu. Můžeme se pouze domnívat, že se o ni jedná, ale žádné vyšetření ji v této fázi nepotvrdí. V případě odebrání krve na sérologické vyšetření KE je nález negativní.

K domněnce onemocnění nejvíce přispívá vyšetření krevního obrazu, ve kterém nalézáme leukopenii s počtem leukocytů méně než $2 \cdot 10^9/l$, trombopenii, bicytopenii a zvýšené ALT. Avšak tyto nálezy mohou představovat rozvoj hematologického onemocnění nebo pancytopenie.

Druhá fáze KE se projevuje náhlou silnou bolestí hlavy a horečkou. Tato fáze onemocnění může mít obdobu 3 forem nemoci. Meningitida je charakterizována velkou bolestí hlavy v okcipitální či frontookcipitální oblasti, závratí, nevolností a zvracením. Horečky dosahují až 40 °C. Příznaky této formy ustupují po 5-8 dnech kromě bolesti hlavy, která trvá zpravidla i několik týdnů. Avšak trvalé následky tato forma nemívá.

Další formou je encefalitida se závažnějším průběhem onemocnění, které doprovází kvantitativní porucha vědomí v různé závažnosti od ospalosti až ke kómatu. U starších pacientů pozorujeme kvalitativní poruchu vědomí způsobující dezorientaci v čase a prostoru, zmatenost, závratě, ataxii, třes, záněty v mozečku, krční a prodloužené míše a mozkové kůře, velmi vzácně halucinace. Tyto příznaky vedou často k obrně okohybných nervů, poruše řeči, polykání, regulace dýchání a srdeční akce, což ohrožuje život pacienta. V akutní fázi se vyskytuje zhoršení paměti a schopnosti koncentrace, které mohou přetrvávat dlouhodobě. Tato forma mívá větší procento trvalých následků.

Postižením míchy se projevuje další forma známá jako encefalomyelitida. Příznaky se rozvíjí velmi rychle a vedou zpravidla k závažným parézám s častějším postižením horních končetin než dolních. V akutní fázi dochází ke snížení nebo úplnému zmizení reflexů. Parézy často vedou k částečné či trvalé invaliditě pacientů.

Nejzávažnější formou KE je enfalomyeloradikulitida, která mívá velmi nejasný průběh onemocnění. Tato forma má nejhorší prognózu a jen výjimečně se podaří vyléčit mladého pacienta bez trvalých následků (Roháčová, 2017; Růžek, 2015).

5.2 Průběh KE v závislosti na věku pacientů

Průběh klíšťové encefalitidy je u dětí méně závažný. Příznaky jsou vysoká horečka a bolest hlavy, které do týdne ustoupí. Dlouhodobé následky jsou vzácné, avšak výzkum dětí po prodělání KE poukazuje na ovlivnění jejich psychického vývoje a školních výsledků. U pacientů starších padesáti let jsou příznaky mnohem závažnější a léčba mnohem náročnější z důvodu současného rozvoje dalších onemocnění. Dlouhodobé následky mají tito pacienti častěji a existuje více případů úmrtnosti na toto onemocnění než

u dětí. 3% úmrtnost je známá u starších pacientů, u mladších je úmrtnost 0,2 %. U starší generace je vyžadována náročnější rehabilitace.

V závislosti na očkování se v posledních letech zvyšuje věk pacientů postižených virem klíšťové encefalidity. Očkování totiž podstupují především děti a mladí dospělí (Růžek, 2015; Mařar, 2017).

6 DIAGNOSTIKA

6.1 Klinická diagnostika

Příznaky viru klíšťové encefalidity nejsou tak moc typické, aby se z nich mohla stanovit diagnóza. Důležitý je rozhovor s pacientem, zda měl v nedávné době přisáté klíště. Bohužel ani toto není směrodatné, protože spousta pacientů si přisátí klíštěte nemusí pamatovat. Navíc je tu další možná nákaza přes infikované nepasterizované ovčí či kozí mléko, jogurty a sýry. Z tohoto důvodu je vždy nutná laboratorní diagnostika.

6.2 Laboratorní diagnostika

V krevním obrazu najdeme pouze leukocytózu většinou s převahou lymfocytů a poznáme tedy jen, že se jedná o virové onemocnění. Bývají zvýšené jaterní testy a C-reaktivní protein. Proto je velmi významným stanovením vyšetření mozkomíšního moku, ve kterém se při infekci virem KE vyskytuje vysoký počet elementů a polymorfonukleáry. Během 24 hodin převládají v mozkomíšním moku lymfocyty. Z vyšetření mozkomíšního moku můžeme rozlišit serózní a hnisavou meningitidu. Při hnisavé meningitidě je koeficient energetické bilance (KEB), který vypočteme z koncentrace glukosy a laktátu, velmi snížený. U serózní meningitidy může být lehce snížený nebo v normě. Avšak ani toto vyšetření nám neodliší virus KE od jiných virových nákaz.

Nejvýznamnějším vyšetřením je virologická diagnostika. První fáze klíšťové encefalidity má příznaky chřipky s horečkou a lze izolovat virus z krve a prokázat virové RNA. Avšak diagnostika v první fázi se vzhledem k příznakům provádí jen výjimečně z důvodu nevyhledání lékaře nebo nepomyšlení na možnou nákazu virem KE. Ve druhé fázi klíšťové encefalidity se vyšetřují protilátky třídy IgM a IgG, protože je má přítomno 90 % pacientů s klíšťovou encefalitidou. Nejúspěšnějším vyšetřením je sérologické

vyšetření metodou ELISA. Jedná se o kvalitní diagnostiku, která zrychluje postup při stanovení onemocnění (Růžek, 2015; Votava, 2010).

6.3 Laboratorní metody

Laboratoře zabývající se vyšetřováním klíšťové encefalitidy využívají nejčastěji metody nepřímého průkazu viru, které zahrnují průkaz specifických protilátek metodou ELISA, komplement fixační metodu a virus neutralizační test.

Komplement fixační reakce (KFR) bohužel neodlišuje protilátky třídy IgG a IgM a pro časnou diagnózu nemá význam. Skutečným stavem imunity se zabývá virus neutralizační test, který je však náročný jak na zabezpečení pracovníků a prostředí proti možnému úniku viru, tak na odečítání a také z technického hlediska. Z těchto důvodů se test provádí jen v Národní referenční laboratoři pro arboviry a ve výzkumných centrech. Principem testu je naočkování živého kmene na tkáňové kultury a zhodnocení redukce počtu plaků. Jedná se o vysoce specifický test, protože jako jediný není ovlivněn zkříženou reakcí viru KE s jinými flaviviry.

ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) je označení pro vícestupňovou imunoenzymovou analýzu. Jedná se o sérologický test se snadnou interpretací výsledku a nízkou cenou. Test je založen na principu vazby specifické protilátky (IgG, IgM) na antigen za působení přidaného enzymu.

Na dně jamky mikrotitrační destičky nebo zkumavky je antigen fixován na nosič. Po navázání protilátky na reakční nádobu vznikne systém nazývaný imunosorbent, který je schopný specificky zachytit antigen pomocí protilátky nebo protilátku pomocí antigenu a izolovat ji od ostatních složek ve vzorku.

Při nejasných nálezech se využívá testování avidity protilátek třídy IgG, která odliší nízkoafinní protilátky vznikající na začátku reakce od vysokoafinních protilátek (Růžek, 2015; Votava, 2010).

6.4 Interpretace výsledků

Interpretace výsledků závisí na klinickém obrazu a fázi infekce s ohledem na výsledky dalších vyšetření, a proto nemůže být hodnocení automatické.

V případě negativních protilátek třídy IgG a IgM se jedná o neimunního pacienta. Onemocněním může být jiná virová neuroinfekce nebo časná fáze KE, kdy se protilátky

ještě nevytvořily. V horečnaté fázi onemocnění či v případě přísátí klíštěte před několika dny až týdny jsou protilátky neprokazatelné. Doporučuje se opakovaný odběr a vyšetření z důvodu tvorby protilátek až po rozvinutí klinických příznaků neuroinfekce.

Dalším možným výsledkem jsou protilátky třídy IgM pozitivní a IgG negativní. V tomto případě se protilátky IgG ještě nevytvořili, avšak záchyt pouze pozitivních protilátek IgM nemůžeme použít jako potvrzení KE. Je nutné zopakovat vyšetření s odstupem minimálně jednoho týdne.

Výsledkem poukazujícím na laboratorní chybu je nález pozitivních protilátek třídy IgM a total negativních Ig protilátek. Ig total obsahuje směs všech tříd protilátek proti KE včetně IgG a IgM, tudíž je nutné vyšetření opakovat.

Při nálezů pozitivních protilátek třídy IgM i IgG se jedná o akutní klíšťovou encefalitidu. I zde je výjimka v podobě pacientů, kteří byli v minulosti očkovaní proti viru KE nebo prodělali dříve infekci. Těmto pacientům se zaktivují paměťové B-lymfocyty a vytvoří se specifické protilátky třídy IgM, jejichž hladina je obvykle nízká souběžně s vysokou hodnotou avidity protilátek třídy IgG. K interpretaci tohoto výsledku je tedy nutné znát údaje o očkování či prodělané klíšťové encefalitidě.

Po prodělané KE či očkování dochází k nálezů pozitivních protilátek třídy IgG a negativních IgM a pacienta můžeme označit jako imunního (Burke, 2000; Růžek, 2015).

7 TERAPIE

Léčba viru klíšťové encefalitidy probíhá na specializovaných infektologických či neurologických pracovištích a je pouze symptomatická. Avšak tato léčba je zásadní pro překonání akutní fáze onemocnění a pro návrat kvalitního života ve fázi rekonvalescence. V začátcích onemocnění se pacientům podávají antivirotika acyklovir z důvodu podezření na herpetickou encefalitidu, dále pak analgetika a antipyretika pro léčbu bolesti hlavy a horečky. Pacientům musí být zajištěn klidový režim na lůžku a dostatečná hydratace. Pacient zvrací, má problémy s polykáním, tudíž snadno dochází k dehydrataci, která může mít za následek rozvoj edému mozku. V tomto případě se léčí kortikosteroidy s umělou plicní ventilací. Při kómatu je možnost zavést čidlo pro měření nitrolebního tlaku, který je možný snížit odebráním likvoru, jenž kromě diagnostického důvodu vede k úlevě pacienta. Při problémech s polykáním musí být zavedena

nasogastrická sonda, která zajistí výživu a hydrataci, současně se zákazem příjmu potravin a tekutin ústy. Při obrnách se podávají vitamíny B a začíná se s rehabilitacemi. Porucha rovnováhy a ataxie je významným příznakem KE, proto je důležité zajistit pacientům doprovod, neboť jim hrozí riziko pádu. V případě nákazy sibiřskou variantou KE se může objevit křečový stav epilepsie, k jejíž léčbě se používají antiepileptika. Vzácně se může vyskytnout škytavka, k jejímuž potlačení se používají starší konvenční neuroleptika.

Po propuštění z nemocnice, kde hospitalizace trvá přibližně 2 týdny, se může objevit postencefalický syndrom, který se projevuje třesem a bolestí hlavy, ale také výpadky paměti, zhoršenou koncentrací, úzkostí, poruchami spánku, zvýšenou citlivostí na světlo a hluk. Pacienti mohou mít i poruchy sociální a sexuální. Tyto příznaky jsou často reverzibilní, ale mohou být i trvalé. Postencefalický syndrom je ovlivněn závažností nemoci a věkem pacienta.

Pro pacienty je důležitý návrat k denním činnostem a sociálnímu životu. Důležité je postupné zatěžování a rovnováha mezi odpočinkem a aktivní činností. Významné je zajistit duševní podporu od členů rodiny. Pacient je pracovní neschopný podle závažnosti nemoci průměrně 4-6 týdnů (Růžek, 2015; Ševčíková, 2010).

7.1 Kvalita života po KE

Kvalita života po KE byla změřena Oxfordským testem v roce 2003. Většina dotázaných potvrdila snížení kvality života, především z hlediska fyzického a emočního. Dále si pacienti stěžovali na bolesti. Horší vnímání bolesti bylo zjištěno u žen, z důvodu nedodržování přísného klidového režimu v důsledku pečování o rodinu a domácnost (Růžek, 2015).

8 PREVENCE

Nejdůležitější prevencí proti klíšťatům současně s očkováním je používání repelentů, které odpuzují či usmrcují hmyz a klíšťata, nošení světlého oblečení s dlouhými nohavicemi a rukávy do oblastí s možným výskytem klíšťat (lesy, vysoká tráva) z důvodu větší viditelnosti klíšťat na světlejších barvách oděvu. Důležitou součástí prevence je řádné prohlížení těla po návratu z rizikových oblastí. Doporučuje se pití pasterizovaného mléka, z důvodu možné nákazy z nepasterizovaného mléka koz a ovcí. V případě nalezení klíštěte je nutné ho správným způsobem odstranit (Růžek, 2015; Polcarová a kol., 2017).

8.1 Odstranění přisátého klíštěte

Po návratu z přírody je velmi důležité prohlédnout své oblečení a tělo kvůli klíšťatům. Klíšťata hledají pro zakousnutí místa s tenkou kůží, proto je důležité věnovat zvýšenou pozornost tříslům, podpaží, krku, podkolenním jamkám a místům na hlavě za ušními boltci. Je nutné vyjmout celé klíště včetně hlavičky a bodacího ústrojí.

Při manipulaci s klíštětem je vhodné se chránit gumovými rukavicemi, aby nedošlo k přenosu nákazy. Místo s přisátým klíštětem vydesinfikujeme Jodisolem. Pinzetou chytíme klíště, co nejbližší bodacímu ústrojí, aby nedošlo k jeho přetržení. Zažité vytáčení klíštěte po směru či v protisměru hodinových ručiček se nedoporučuje. Nejvhodnějším způsobem je pomalý tah, případně jemné viklání. Po odstranění klíštěte z kůže místo opět vydesinfikujeme (Růžek, 2015).

8.2 Očkování

Nejvýznamnější prevencí proti nákaze virem klíšťové encefalitidy je očkování, jehož účinnost přesahuje 99 %. Očkování je doporučeno provádět v zimní sezóně z důvodu vytvoření imunity ještě před obdobím hojného výskytu klíšťat. Očkování v České republice není povinné, míra proočkovanosti obyvatelstva je pouhých 30 %. Naproti tomu v Rakousku, které patří mezi země s vysokým výskytem infikovaných klíšťat klíšťovou encefalitidou, je více než 90% obyvatel naočkovaných. Nejvýznamnějšími vakcínami v ČR jsou FSME-IMMUN Inject a Encepur pro dospělé. Varianty pro děti jsou poloviční dávkou antigenu z vakcíny pro dospělé. Tyto vakcíny slouží k imunizaci organismu.

Vakcíny se podávají intramuskulárně ideálně do deltového svalu, v případě dětí do 18 měsíců do svalu stehenního. Doporučuje se podávat 3 dávky v rozmezí 300 dnů. Druhá dávka se podává za 1 – 3 měsíce a třetí dávka za 5 – 12 měsíců u vakcíny

FSME-IMMUN a za 9 – 12 měsíců u vakcíny Encepur po aplikaci druhé dávky. Další přeočkování probíhá po 3 letech od třetí dávky a následně po 5 letech až do věku 50 – 60 let, u kterých se přeočkovává opět v tříletých intervalech.

Vzácnými vedlejšími účinky po podání vakcíny může být horečka, bolest hlavy, zarudnutí a bolest v místě podání a zduření lymfatických uzlin. K vývoji specifických protilátek proti viru KE dochází 2 týdny po druhé dávce. Z výzkumu byla prokázána vyšší hladina specifických protilátek u mladších než u starších dětí (Prymula a kol, 2009). Očkování je účinné, ale musí být zajištěno dostatečné přeočkování. Nejvyšší proočkovanost má ve střední Evropě Rakousko, v České republice Jihomoravský, Jihočeský a Středočeský kraj.

Očkování je důležité zvážit u osob užívajících protinádorové léky nebo kortikosteroidy, u osob s anamnézou postižení mozku nebo při poruchách tvorby protilátek. V případě osob trpících alergiemi na formaldehyd, vaječnou či kuřecí bílkovinu není očkování možné (Růžek, 2015; Polcarová, 2017; Vaverková, 2014).

8.3 Očkovací vakcíny

Existuje několik druhů již zmíněných vakcín FSME-IMMUN Inject a Encepur. Liší se mezi sebou podle cílové skupiny osob, kterým je podávána. Vakcína FSME-IMMUN je v Evropské unii registrována od roku 2003. Je vyrobena z inaktivovaného viru KE pomnožením na kuřecích embryonálních buňkách v uzavřeném systému a jeho stabilizátorem je lidský albumin. Tato vakcína je podávána ve třech dávkách po 0,5 ml osobám starším šestnácti let. Pro osoby mladší šestnácti let existuje vakcína FSME-IMMUN Junior, která se také podává ve třech dávkách po 0,25 ml. Od vakcíny pro dospělé se odlišuje pouze polovičním objemem.

Vakcína Encepur byla v České republice poprvé registrována v roce 1993, tedy jen o 2 roky později než v Německu. Je připravována z inaktivovaného viru KE, konkrétně kmene K 23, pomnožením na buněčných kulturách kuřecích fibroblastů. Tato látka neobsahuje žádná konzervační činidla od roku 2001, kdy používaný stabilizátor polygelin způsoboval nárůst alergických reakcí. Také tato vakcína je rozdělena pro děti a dospělé. Pro osoby starší dvanácti let existuje vakcína Encepur Adults, pro děti pak Encepur Children, která je stejně jako verze pro dospělé podávána ve třech dávkách v polovičním objemu 0,25 ml (Růžek, 2015; Polcarová, 2017).

8.4 Očkování starších osob

V České republice patří osoby nad 50 let k nejméně proočkované skupině obyvatel, ačkoli riziko nákazy a závažnějšího průběhu onemocnění stoupá s věkem. Množství protilátek se snižuje s věkem, proto je očkovací interval u starších osob zkrácen na 3 roky. U vakcíny Encepur se po třech letech očkují osoby nad 50 let, u vakcíny FSME-IMMUN nad 60 let. Snižování protilátek je způsobeno snižující se kapacitou imunitního systému s věkem člověka (Vakcinologie, 2017).

8.5 Očkování dětí

U dětí je popisováno nižší riziko nákazy virem KE a mírnější průběh onemocnění, ale přesto patří k nejvíce proočkované skupině obyvatelstva v České republice (zhruba 44 % dětí). Dětské varianty vakcín lze aplikovat dětem již od jednoho roku, ale doporučuje se z důvodu vyššího výskytu horečnatých stavů počkat do 2 let věku dítěte (Očkování dětí, 2017; Polcarová, 2017).

PRAKTICKÁ ČÁST

9 CÍLE PRÁCE

Shromáždit a zpracovat informace o klíšťové encefalitidě.

Statisticky zpracovat laboratorní výsledky sér vyšetřených na protilátky proti viru klíšťové encefalidity ve virologické laboratoři Ústavu mikrobiologie FN Plzeň za rok 2017 a 2018.

Zhodnotit výsledky a potvrdit či vyvrátit navržené hypotézy.

10 HYPOTÉZY

Pozitivní výsledky vyšetření klíšťové encefalitidy budou nejčastěji diagnostikovány v letních měsících (červen, červenec, srpen).

S pozitivními výsledky diagnostiky klíšťové encefalitidy se v laboratoři budeme setkávat od dubna do října.

Více pacientů nakažených virem klíšťové encefalitidy bude v roce 2017.

Častěji budou nakaženi muži.

Nejvíce požadavků na vyšetření klíšťové encefalitidy bude z Kliniky infekčních nemocí a cestovní medicíny ve FN Plzeň.

Nejvíce ohroženou skupinou budou osoby ve věkovém rozmezí 40 – 59 let.

11 METODY VÝZKUMU

11.1 Vyšetření klíšťové encefalitidy metodou ELISA

Diagnostika klíšťové encefalitidy je založena na vyšetření protilátek třídy IgG a IgM v séru nebo mozkomíšním moku metodou ELISA. Tyto protilátky jsou detekovatelné na počátku druhé fáze onemocnění či 7 - 10 dní od prvních příznaků. Ve virologické laboratoři v Ústavu mikrobiologie Fakultní nemocnice Plzeň využívají diagnostické soupravy od firmy EUROIMMUN na vyšetření protilátek IgG a IgM (EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgG, 2011; EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgM, 2013).

11.1.1 Princip metody

Diagnostické soupravy umožňují semikvantitativní in-vitro test na lidské protilátky IgG nebo IgM proti viru klíšťové encefalitidy v séru nebo plazmě. Každá souprava obsahuje mikrotitrační proužky, z nichž každý má 8 odlomitelných reagenčních jamek potažených antigeny viru klíšťové encefalitidy. V jamkách dochází během první reakční fáze k inkubaci naředěných patientských vzorků. V případě pozitivních vzorků se v závislosti na použité soupravě naváží specifické protilátky IgG nebo IgM na antigeny. Z důvodu detekce navázané protilátky je nutné provést druhou inkubaci za použití enzymově značených protilátek proti lidským protilátkám IgG či IgM (podle použité soupravy), které katalyzují barevnou reakci (EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgG, 2011; EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgM, 2013).

11.1.2 Reagencie a biologický materiál

Použité diagnostické soupravy od firmy EUROIMMUN obsahují:

Mikrotitrační jamky potažené antigeny o velikosti 12 proužků s 8 oddělitelnými jamkami v rámečku. Z důvodu ochrany mikrotitrační desky před zvlhnutím je opatřena ochranným zalepovacím obalem.

Kalibrační séra IgG či IgM, která je třeba před použitím řádně promíchat:

- IgM kalibrační sérum tmavě červené barvy připraveno k použití v objemu 2 ml.
- IgG kalibrační séra:
 - Kalibrační sérum 1 tmavě červené barvy připraveno k použití v objemu 2 ml.

- Kalibrační sérum 2 červené barvy připraveno k použití v objemu 2 ml.
- Kalibrační sérum 3 světle červené barvy připraveno k použití v objemu 2 ml.

Pozitivní kontrolní sérum modré barvy obsahující lidské protilátky IgG či IgM (dle soupravy) v objemu 2 ml.

Negativní kontrolní sérum zelené barvy obsahující lidské protilátky IgG či IgM (dle soupravy) v objemu 2 ml.

Enzymový konjugát:

- IgG souprava: enzymový konjugát zelené barvy složený z peroxidázou značené králičí protilátky proti lidským IgG v objemu 12 ml.
- IGM souprava: enzymový konjugát červené barvy složený z peroxidázou značené kozí protilátky proti lidským IgM v objemu 12 ml.

Vzorkový pufr v případě IgG soupravy světle modré barvy v objemu 100ml. V případě IgM soupravy obsahuje IgG/RF-Absorbent (přípravek obsahující kozí protilátky proti lidským IgG) v objemu 100 ml.

Promývací roztok, který je dodáván 10x koncentrovaný v objemu 100 ml.

Chromogen/substrátový roztok v objemu 12 ml, který je velmi citlivý na světlo.

Zastavovací roztok s naředěnou kyselinou sírovou v objemu 12 ml.

Návod na provedení testu, protokol s cílovými hodnotami a certifikát o řízení jakosti.

(EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgG, 2011; EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgM, 2013).

Ve Fakultní nemocnici Plzeň se metoda ELISA provádí na přístroji DSX Automated System.

Obrázek 1: Přístroj DSX Automated System používaný pro metodu ELISA ve FN Plzeň.



Zdroj: Vlastní

11.1.3 Uskladnění a stabilita

Diagnostickou soupravu je nutné skladovat při teplotě + 2 °C až + 8 °C. Souprava nesmí být zmrazena. Neotevřené komponenty diagnostické soupravy jsou stabilní do uvedeného data expirace. Po odstranění ochranného obalu z mikrotitrační desky je nutné ji použít do 4 měsíců, v případě otevřeného promývacího pufru, je expirace 4 týdny (EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgG, 2011; EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgM, 2013).

11.1.4 Příprava a stabilita reagensů

30 minut před použitím musí reagenzie dosáhnout pokojové teploty (od + 18 °C do + 25 °C). Mikrotitrační deska je ihned připravena k použití. Před použitím je nutné otevřít ochranný lepicí obal. Při otevření mikrotitrační desky dříve než dosáhne pokojové teploty, může dojít ke zvlhnutí jednotlivých proužků. Proto je důležité jamky, které se nevyužijí ihned zalepit ochranným obalem.

Promývací pufr se ředí deionizovanou nebo destilovanou vodou v poměru 1:9 (1 díl reagenzie plus 9 dílů destilované vody).

Kalibrační a kontrolní séra jsou v pracovním ředění, tudíž jsou připravena k okamžitému použití, stejně tak konjugát, vzorkový pufr a chromogen/substrátový roztok (EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgG, 2011; EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgM, 2013).

11.1.5 Příprava a stabilita patientských vzorků

Vhodnými vzorky k vyšetření lidských protilátek IgG či IgM proti viru klíšťové encefalitidy je lidské sérum nebo heparin, EDTA či citrátová plazma.

Z patientských vzorků je nutné před testováním na specifické protilátky třídy IgM odstranit protilátky třídy IgG chromatograficky, ultracentrifugací nebo pomocí imunoabsorpce. Tento krok je velmi důležitý z důvodu zamezení reakci revmatických faktorů se specificky vázanými IgG, která by vedla k falešně pozitivním výsledkům testu na IgM, a k zamezení vytlačení IgM protilátek z antigenu specifickými IgG, které by vedlo k falešně negativním výsledkům na IgM protilátky.

Dále je nutné patientské vzorky naředit v poměru 1:101 ve vzorkovém pufru a dobře promíchat.

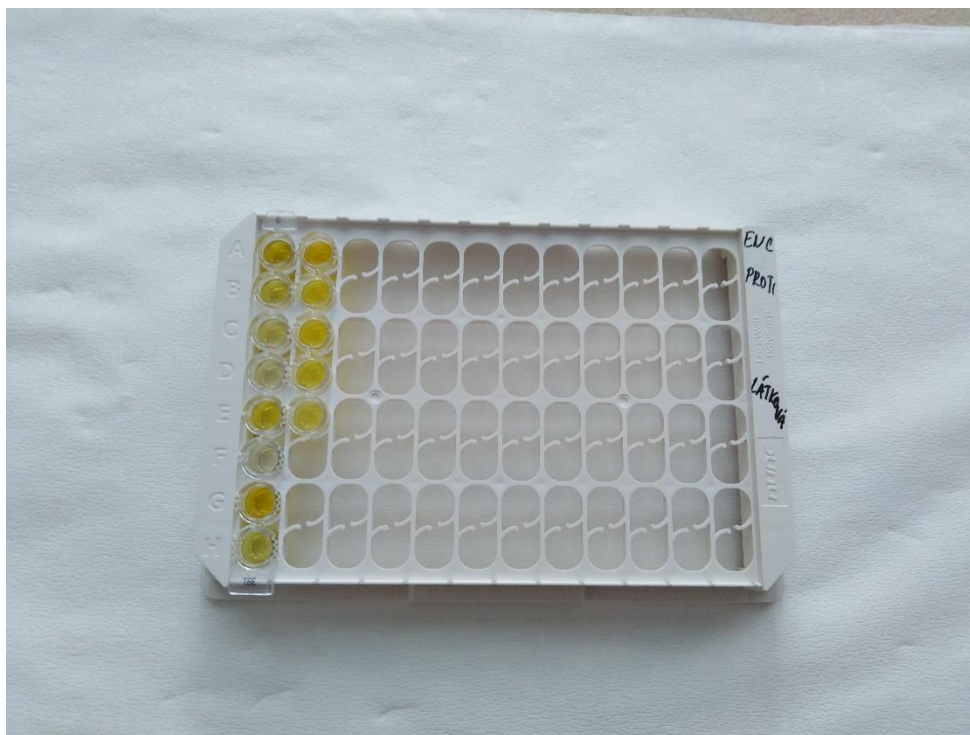
Patientské vzorky je možné skladovat 14 dní při teplotě od + 2 °C do + 8 °C, naředěné vzorky se musí inkubovat v rozmezí jednoho pracovního dne (EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgG, 2011; EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgM, 2013).

11.1.6 Pracovní postup

1. Inkubace vzorku: Při pokojové teplotě inkubujte 30 minut mikrotitrační desku s napipetovanými 100 μ l kalibračního séra, pozitivní a negativní kontroly nebo zředěných patientských vzorků.
2. Promývání: V případě manuálního promývání vyprázdněte jamky a promývejte 3krát 300 μ l naředěného promývacího pufru pro každé promývání. Při automatickém promývání mikrotitrační jamky promývejte 3krát 450 μ l naředěného promývacího pufru. Před vyprázdněním jamek nechte působit promývací pufr v každé jamce 30 až 60 sekund. Po dokončení mycího cyklu je třeba odstranit z jamek všechny zbytkový pufr jeho vyklepáním na savý papír.
3. Inkubace konjugátu: Do každé reagenční jamky přeneste 100 μ l enzymového konjugátu (peroxidázou značené anti-lidské protilátky třídy IgG nebo IgM, dle soupravy) a nechte inkubovat při pokojové teplotě 30 minut.
4. Promývání: Opakujte výše popsany mycí cyklus.
5. Inkubace substrátu: Při pokojové teplotě inkubujte 30 minut mikrotitrační desku s napipetovanými 100 μ l chromogen/substrátového roztoku v každé reagenční jamce. Současně chraňte desku před přímým slunečním světlem.
6. Zastavení reakce: Následně ve stejném pořadí a stejnou rychlostí jako u chromogen/substrátového roztoku napipetujte do reagenčních jamek 100 μ l zastavovacího roztoku.
7. Měření: V časovém rozmezí do 30 minut od přidání zastavovacího roztoku je nutné mikrotitrační desku lehce protřepat z důvodu zajištění homogenní distribuce roztoku a provést fotometrické měření. Měření se provádí při vlnové délce 450 nm a referenční vlnové délce mezi 620 nm a 650 nm.

Vyšetření lze provést použitím plně automatizovaného analytického zařízení (EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgG, 2011; EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgM, 2013).

Obrázek 2: Mikrotitrační destička s napipetovanými vzorky a reagensii.



Zdroj: Vlastní

11.1.7 Zhodnocení výsledků

Výsledky vyšetření se semikvantitativně vyhodnocují výpočtem poměru extinkční hodnoty kontrolního nebo pacientova séra a extinkční hodnoty kalibračního séra, které určuje hraniční limit referenčního rozmezí neinfikovaných osob (cut-off) doporučený firmou EUROIMMUN.

$$\frac{\text{extinkce kontrolního nebo pacientova vzorku}}{\text{extinkce kalibračního séra}} = \text{poměr}$$

Pro metodu ELISA jsou firmou EUROIMMUN doporučené referenční meze, dle kterých se hodnotí negativita, hraniční hodnota a pozitivita vyšetřovaných vzorků. Výsledek je negativní pokud vypočítaný poměr vyjde menší než hodnota 0,8. V případě vypočítaného poměru v rozmezí od 0,8 včetně do 1,1 je výsledek hraniční hodnotou a doporučuje se analýza pomocí dalších testů (např. stanovení avidity protilátek třídy IgG) či zopakovat test se vzorkem odebraným po 7 dnech od prvního náběru souběžně s prvním vzorkem. Jako pozitivní výsledek hodnotíme vypočítaný průměr nad hodnotu 1,1 včetně. Při hodnocení výsledků je nutné brát v úvahu i pacientovy symptomy.

Tabulka 1: Referenční meze metody ELISA pro vyšetření protilátek proti viru klíšťové encefalitidy.

Poměr	Hodnocení
< 0,8	Negativní
$\geq 0,8$ do < 1,1	Hraniční hodnota
$\geq 1,1$	Pozitivní

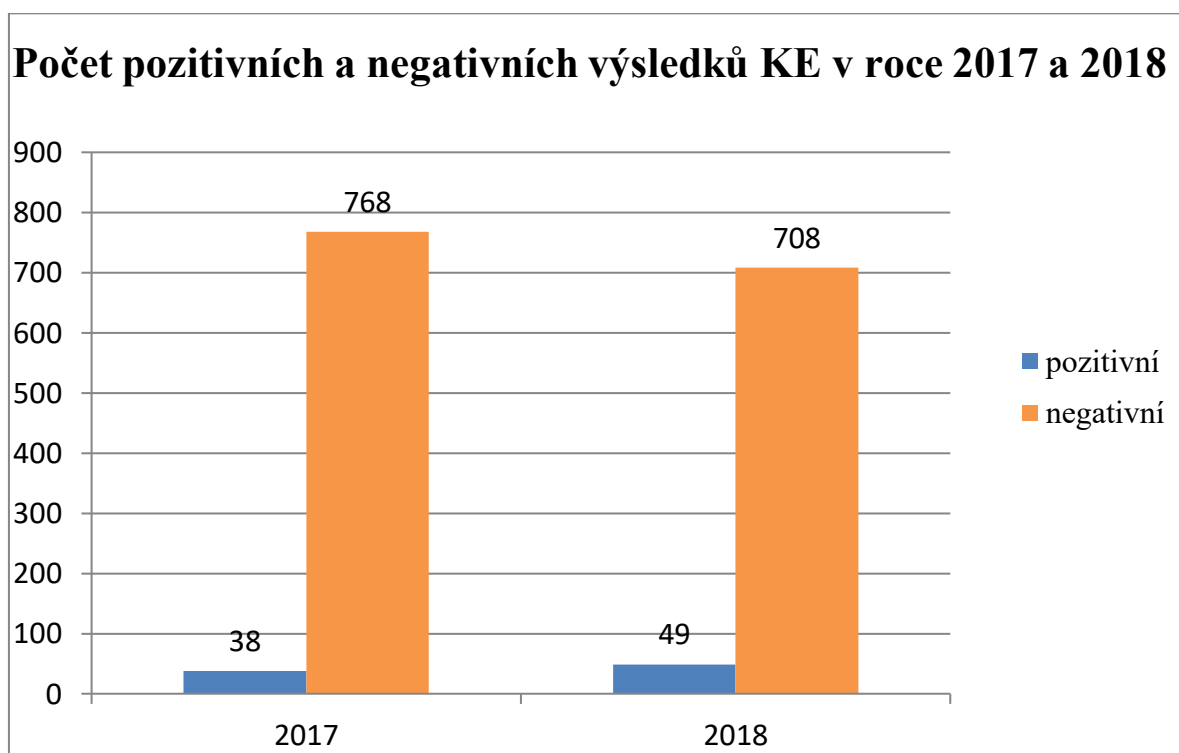
Zdroj: (EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgG, 2011; EUROIMMUN, návod diagnostického setu IgM, 2013).

12 VLASTNÍ VÝZKUM

Všechny vzorky sér pacientů byly vyšetřeny na protilátky proti KE na oddělení virologie Ústavu mikrobiologie Fakultní nemocnice Plzeň. Ve své práci hodnotím výsledky za rok 2017 a 2018. V roce 2017 bylo vyšetřeno na KE 806 sér, v roce 2018 757 sér.

Následující graf (1) porovnává počet pozitivních a negativních výsledků onemocnění klíšřové encefalidity za rok 2017 a 2018. Z celkového počtu 806 sér v roce 2017 bylo zachyceno 38 sér pozitivních, v roce 2018 z celkového počtu 757 sér bylo zjištěno pozitivních 49 sér.

Graf 1: Počet pozitivních a negativních výsledků onemocnění KE v roce 2017 a 2018.

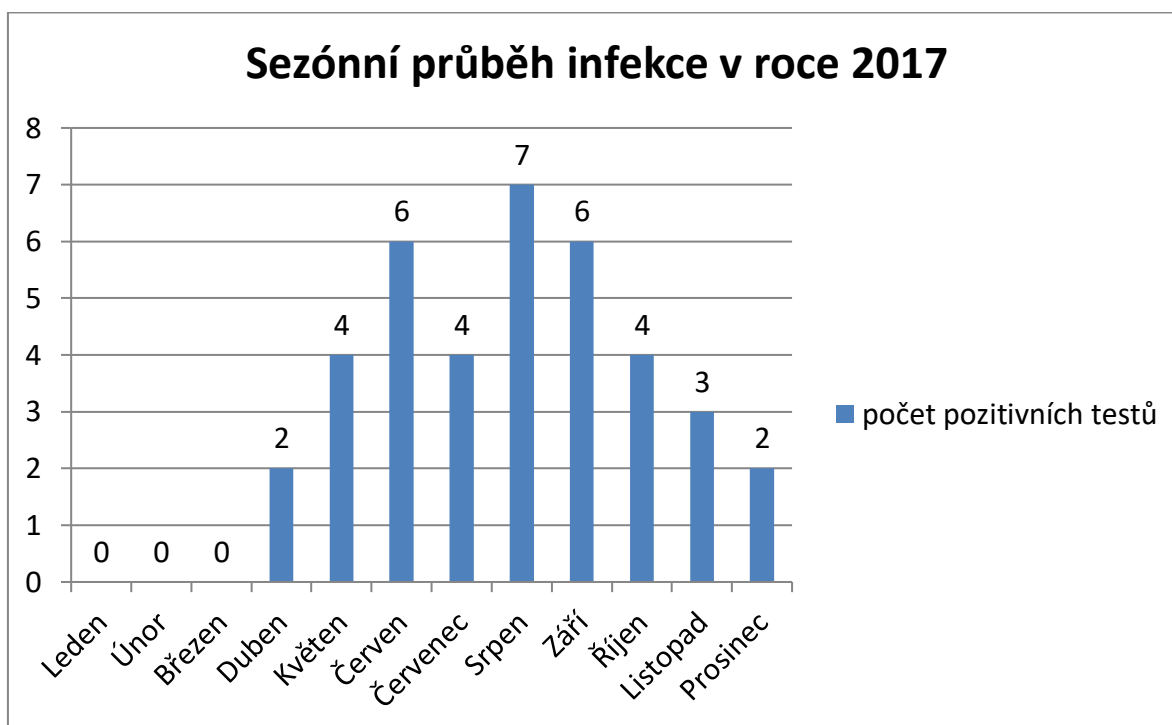


Zdroj: Výsledky FN Plzeň

12.1 Výzkum klíšťové encefalitidy za rok 2017

V následujícím grafu (2) je vyobrazen sezónní průběh infekce za rok 2017. Klíšťová encefalitida se nejvíce vyskytuje v letním období. V roce 2017 byla klíšťová encefalitida diagnostikována během 9 měsíců od dubna do prosince. Nejvíce pozitivních testů bylo vyšetřeno v srpnu 2017 v celkovém počtu 7, následuje září a červen s 6 pozitivními výsledky. Naopak nejnižší počet pozitivních testů byl zjištěn v dubnu a prosinci s počtem 2 pacientů za každý měsíc.

Graf 2: Klíšťová encefalitida- sezónní průběh infekce v roce 2017.



Zdroj: Výsledky FN Plzeň

Následující graf (3) poukazuje na počet mužů a žen s prokázanou klíšťovou encefalitidou za rok 2017. Bylo zjištěno 25 infikovaných mužů (66%) a 13 infikovaných žen (34%). Při srovnání počtu infikovaných mužů a žen byla zjištěna převaha mužského nad ženským pohlavím.

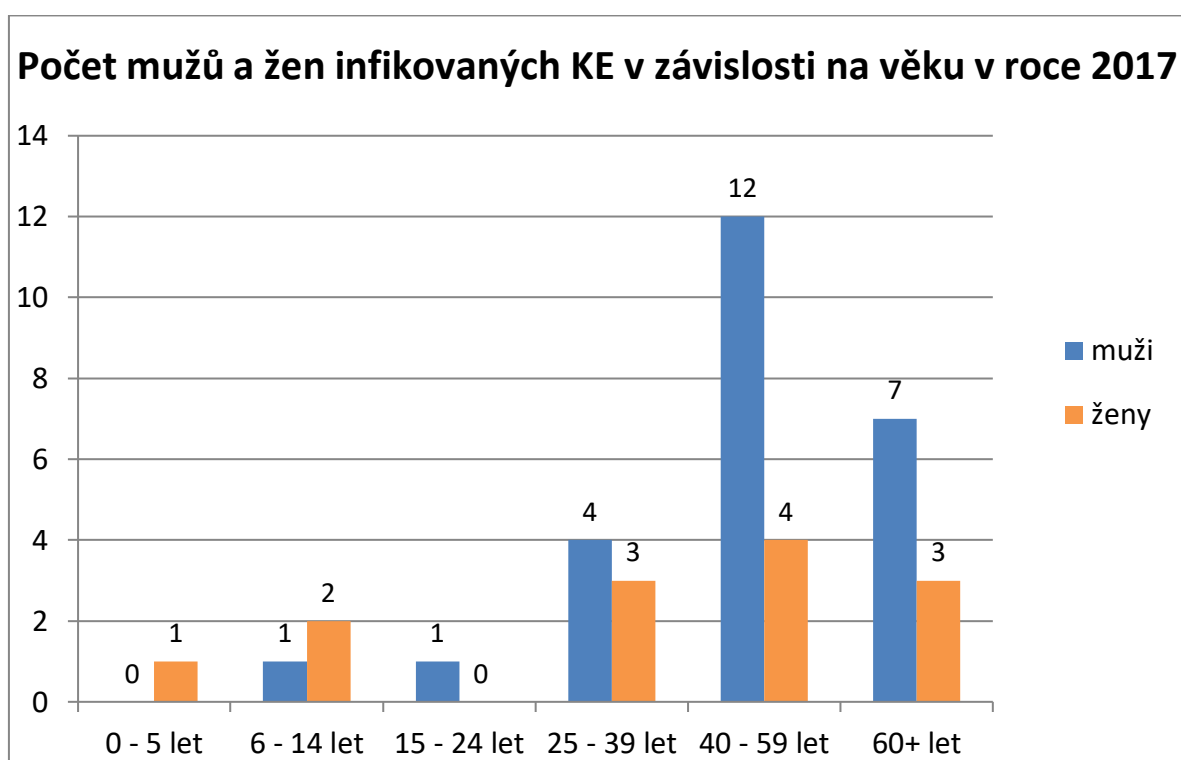
Graf 3: Poměr pozitivních mužů a žen infikovaných KE v roce 2017.



Zdroj: Výsledky FN Plzeň

Z grafu 4 je patrné, že v roce 2017 je nejvíce ohrožená věková skupina 40 – 59 let s celkovým počtem 16 nemocných, následována věkovou skupinou 60+ let s počtem 10 pacientů. Z grafu je zřejmé, že v obou rizikových věkových skupinách převažují muži. Nejvýraznější převaha mužů nad ženami je ve věkové skupině 40 – 59 let, kde je poměr mužů a žen 12:4. Ženy převažují ve věkové skupině 6 – 14 let s poměrem 2 infikovaných žen ku 1 infikovanému muži a ve věkové skupině 0 – 5 let se zachytem 1 ženy. Nejméně ohrožená je věková skupina 0 – 5 let, ve které byla zachycena jedna infikovaná žena, a 15 – 24 let, ve které byl infikovaný jeden muž.

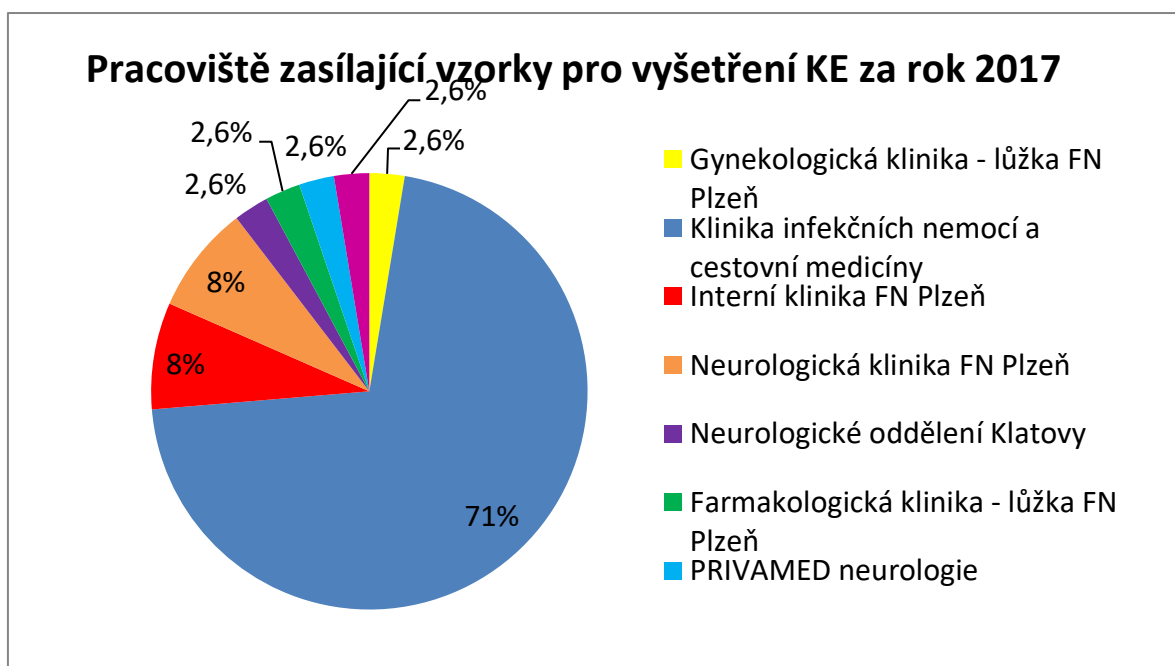
Graf 4: Počet mužů a žen infikovaných KE v závislosti na věku v roce 2017.



Zdroj: Výsledky FN Plzeň

Pacientské vzorky pro vyšetření protilátek proti viru klíšťové encefalitidy přichází do laboratoře z 6 různých pracovišť ve Fakultní nemocnici Plzeň, ale také z Klatovské nemocnice a PRIVAMEDU. Z následujícího grafu (5) je zřejmý největší podíl žádostí o vyšetření z Kliniky infekčních nemocí a cestovní medicíny zastoupené 27 žádostmi, naopak po 1 žádosti bylo podáno z Neurologického oddělení v Klatovské nemocnici, z Farmakologické a Dětské kliniky ve Fakultní nemocnici Plzeň a z PRIVAMEDU. Zajímavostí je žádost na vyšetření z Gynekologické kliniky z FN Plzeň, kdy se jednalo o rodičku.

Graf 5: Pracoviště zasílající vzorky pro vyšetření KE za rok 2017.

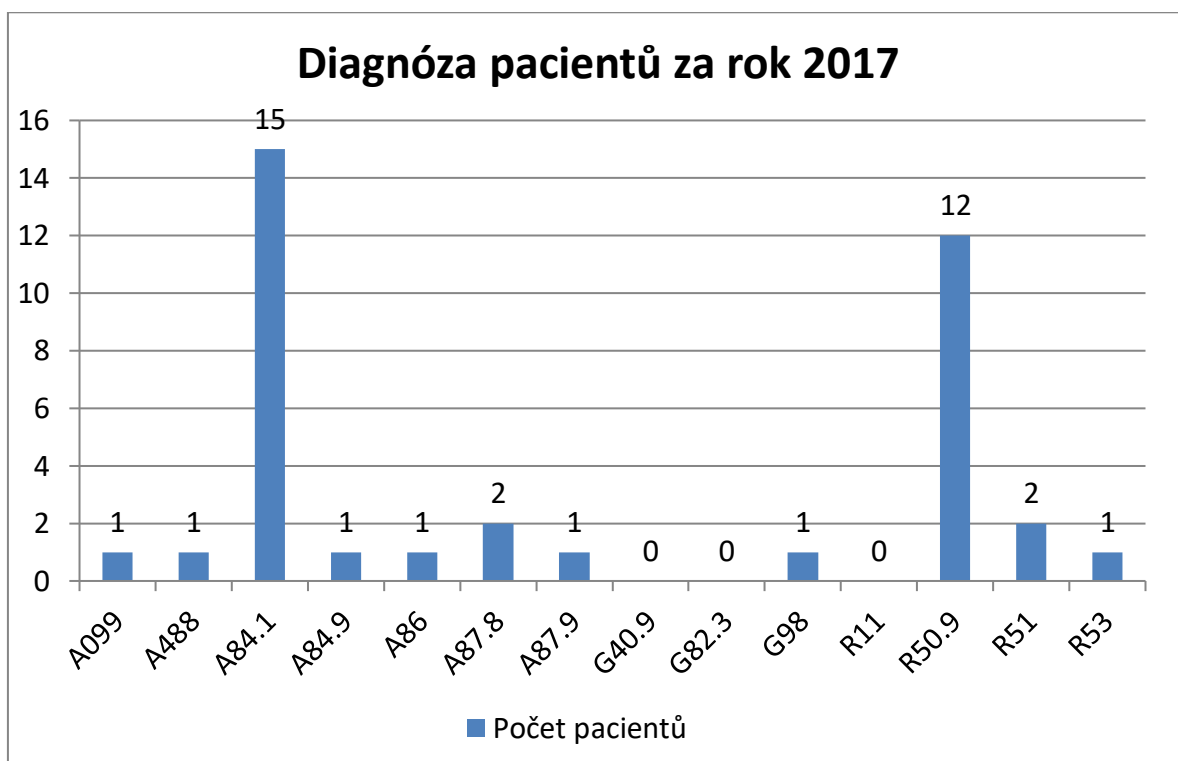


Zdroj: Výsledky FN Plzeň

Jednotliví pacienti infikovaní virem klíšťové encefalitidy měli různé diagnózy.

Podle následujícího grafu (6) bylo zjištěno, že nejvíce zastoupenými diagnózami byla středoevropská encefalitida přenášená klíšťaty, která byla určena u 15 pacientů, a horečka NS (nespecifikovaná, blíže neurčená), která byla zaznamenána u 12 pacientů. V roce 2017 naopak nebyla určenou diagnózou epilepsie NS, chabá tetraplegie, nauzea a zvracení. Ve 3 případech onemocnění byl klinickým příznakem průjem.

Graf 6: Diagnóza pacientů za rok 2017.



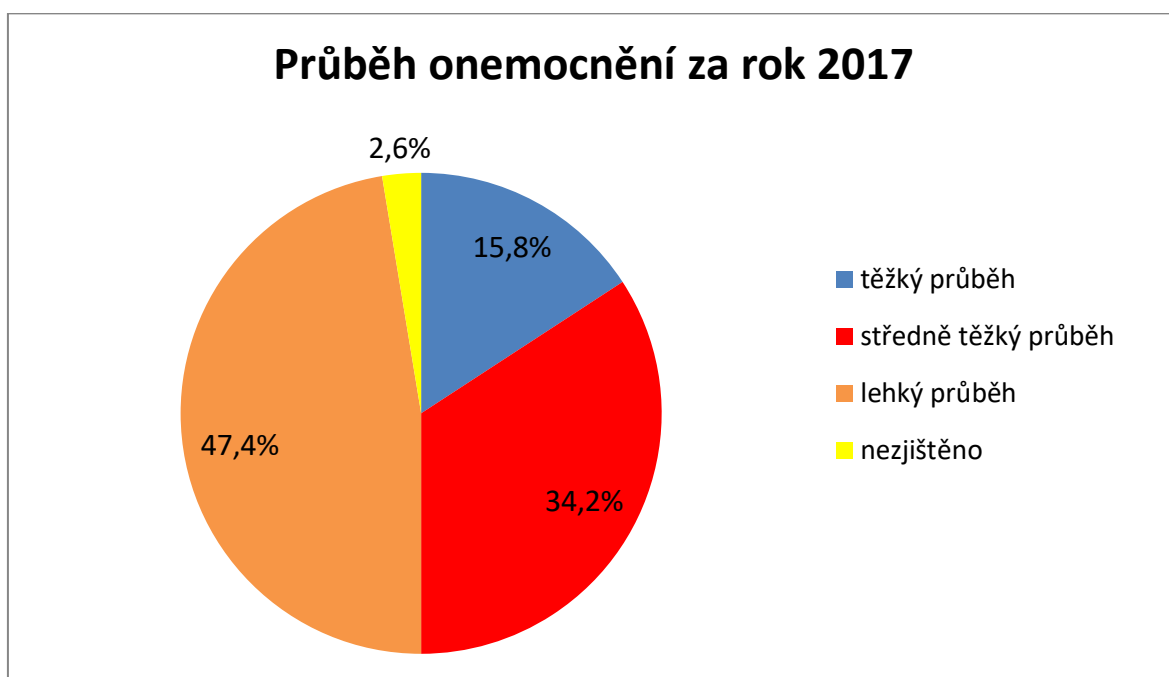
Zdroj: Výsledky FN Plzeň

A099: gastroenteritida a kolitida NS původu; **A488:** jiné určené bakteriální nemoci; **A84.1:** středoevropská encefalitida přenášená klíšťaty; **A84.9:** virová klíšťová encefalitida NS; **A86:** neurčená virová encefalitida; **A87.8:** jiné virové meningitidy; **A87.9:** virová meningitida NS; **A89.8:** neurčená virová infekce centrální nervové soustavy; **G40.9:** epilepsie NS; **G82.3:** chabá tetraplegie; **G98:** jiné poruchy nervové soustavy; **R11:** nauzea a zvracení; **R50.9:** horečka NS; **R51:** bolest hlavy NS; **R53:** nevolnost a únava.

Následující graf (7) zobrazuje závažnost průběhu onemocnění u pacientů infikovaných klíšťovou encefalitidou v roce 2017. 6 pacientů (15,8%) mělo těžký průběh a 4 z nich trpí trvalými následky v podobě paréz končetin a poruchy řeči. Jednalo se většinou o pacienty z ohrožených věkových skupin, avšak jeden pacient byl 4letý a jeden 16letý. Středně těžký průběh byl zjištěn u 13 pacientů (34,2%) a lehký u 18 pacientů (47,4%). Tyto průběhy byly doprovázené pozdními příznaky zjištěnými při kontrole v neuroinfekční ambulanci Infekční kliniky 4 – 6 týdnů po propuštění do rekonvalescence.

O průběhu onemocnění jednoho pacienta z Klatovské nemocnice nejsou vedeny žádné záznamy, stejně tak chybí informace o jeho očkování. Z celkového počtu 38 infikovaných osob nebylo očkováno 36 a jeden pacient měl porušené očkovací schéma.

Graf 7: Průběh onemocnění za rok 2017.

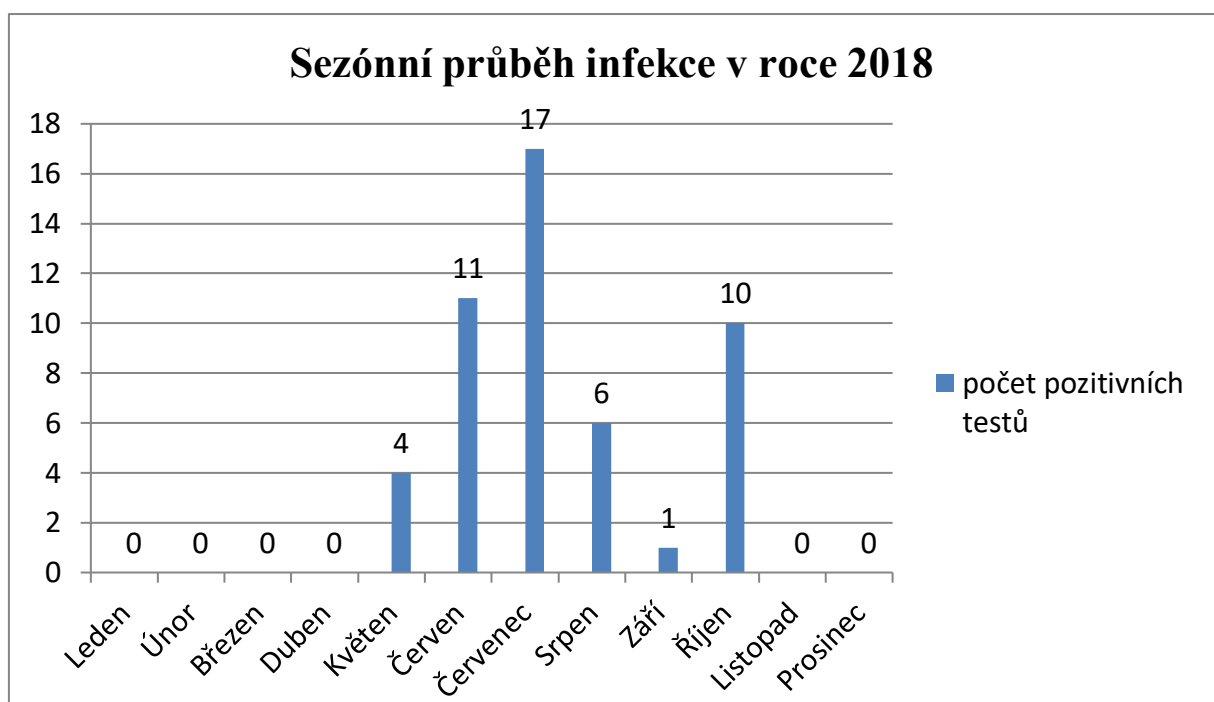


Zdroj: Výsledky FN Plzeň

12.2 Výzkum klíšťové encefalitidy za rok 2018

V následujícím grafu (8) je vyobrazen sezónní výskyt klíšťové encefalitidy v roce 2018. Toto onemocnění bylo diagnostikováno v rozmezí 6 měsíců od května do října. V srpnu 2018 byl vyšetřen pouze jeden pacient infikovaný klíšťovou encefalitidou. Naopak nejvíce infikovaných pacientů bylo vyšetřeno v červenci 2018 s celkovým počtem 18 osob. Zajímavý je vysoký počet pacientů vyšetřených v říjnu (10 infikovaných osob) vzhledem ke klesajícím počtům infikovaných v předešlých měsících (srpen, září).

Graf 8: Klíšťová encefalitida- sezónní průběh infekce v roce 2018.



Zdroj: Výsledky FN Plzeň

V roce 2018 byla zjištěna převaha infikovaných mužů nad ženami. Ve 31 případech (63%) pozitivních výsledků testů na klíšťovou encefalitidu se jednalo o muže a v 18 případech (37%) o ženy z celkového počtu 49 infikovaných. Rozdíl mezi pohlavími je tedy 13 pozitivních vzorků (26%). Toto srovnání je vyobrazeno v následujícím grafu (9).

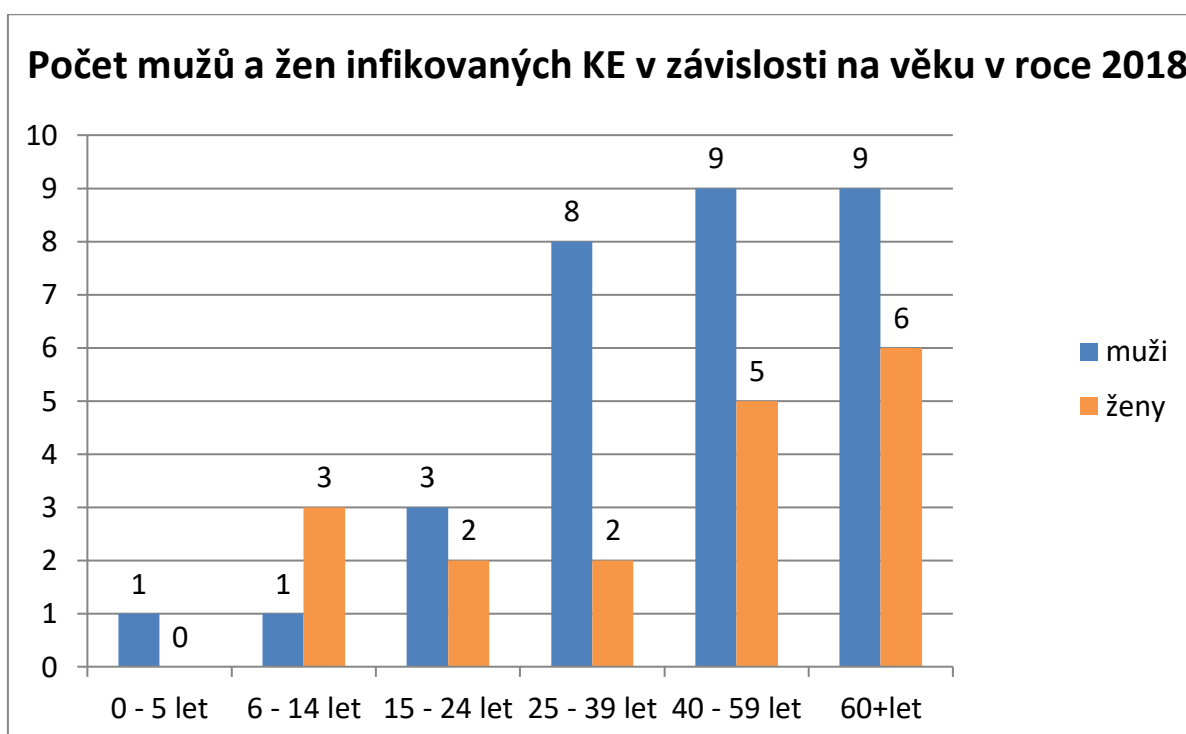
Graf 9: Poměr pozitivních mužů a žen infikovaných KE v roce 2018.



Zdroj: Výsledky FN Plzeň

Z následujícího grafu (10) vyplývá, že nejvíce je ohrožená věková skupina 60+ let s celkovým počtem 15 infikovaných (9 mužů, 6 žen) a věková skupina 40 – 59 let se 14 infikovanými (9 mužů, 5 žen). V obou zmíněných věkových skupinách převažují muži nad ženami. Výrazná převaha mužů je ve věkové skupině 25 – 39 let s počtem 8 mužů a 2 žen. Ženy převažují pouze ve věkové skupině 6 – 14 let, ve které je poměr žen a mužů 3:1. Nejméně ohroženou skupinou je věková skupina 0 – 5 let, ve které se v roce 2018 zachytil pouze 1 infikovaný muž.

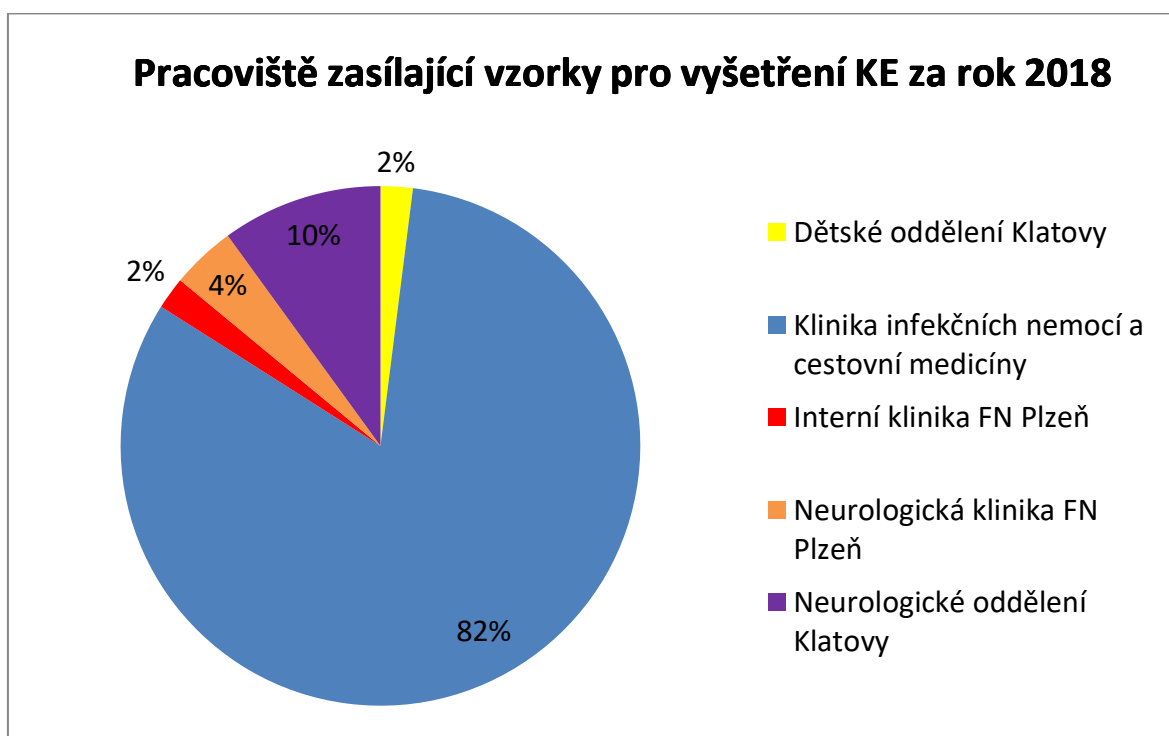
Graf 10: Počet mužů a žen infikovaných KE v závislosti na věku v roce 2018.



Zdroj: Výsledky FN Plzeň

V roce 2018 přijala virologická laboratoř Ústavu mikrobiologie vzorky pro vyšetření klíšťové encefalidity ze 3 oddělení Fakultní nemocnice v Plzni a 2 oddělení Klatovské nemocnice. Dohromady přišlo 43 žádostí o vyšetření z FN Plzeň, 6 žádostí z Klatov. Nejvíce zastoupené byly žádosti z Kliniky infekčních nemocí a cestovní medicíny s celkovým počtem 40 žádostí. 5 žádostí přišlo z Neurologického oddělení v Klatovech, 2 žádosti z Neurologické kliniky FN Plzeň a po 1 žádosti z Interní kliniky FN Plzeň a z Dětského oddělení v Klatovech. Procentuální zastoupení žádostí je uvedeno v následujícím grafu (11).

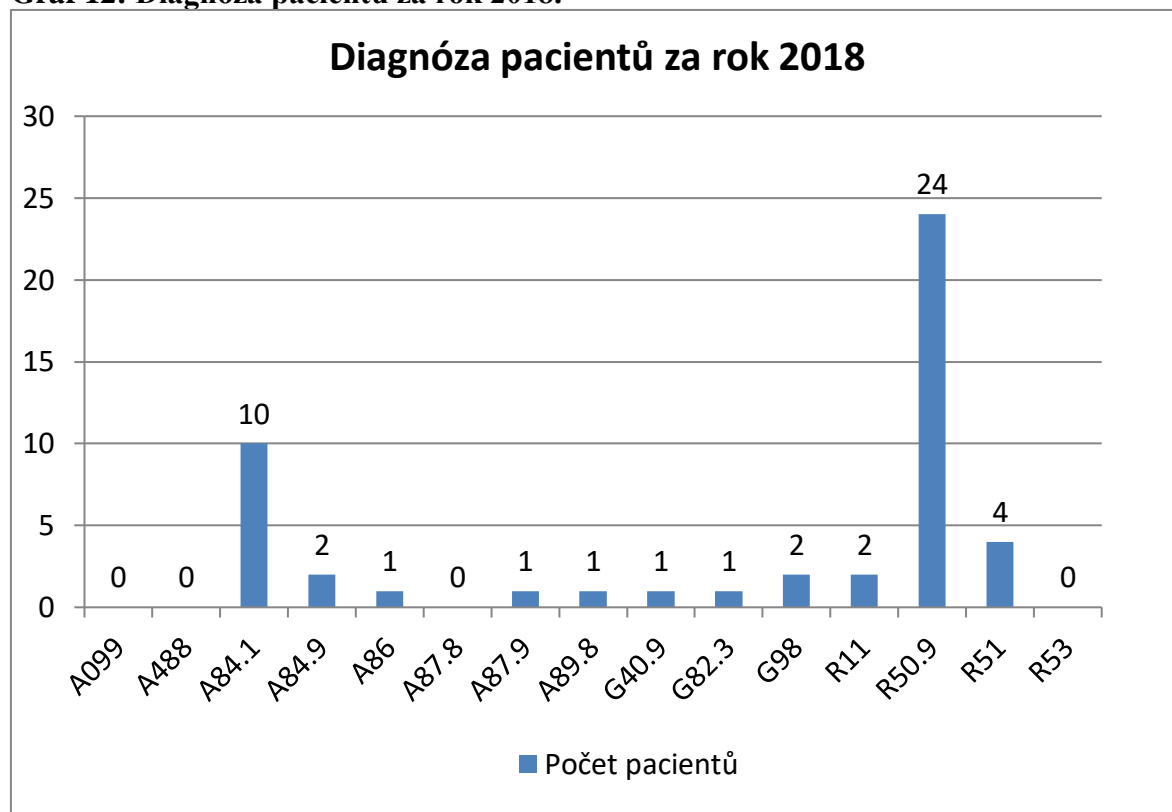
Graf 11: Pracoviště zasílající vzorky pro vyšetření KE za rok 2018.



Zdroj: Výsledky FN Plzeň

Nejvíce zastoupenou diagnózou za rok 2018 byla podle následujícího grafu (12) horečka NS s celkovým počtem 24 diagnóz. U 10 pacientů byla výchozí diagnózou středo-evropská encefalitida přenášená klíšťaty a u 4 pacientů bolest hlavy NS. Naopak nebyla zaznamenána gastroenteritida a kolitida NS původu, jiné bakteriální nemoci, jiné virové meningitidy a nevolnost a únava. Většina ostatních diagnóz byla zachycena u 1 či 2 pacientů.

Graf 12: Diagnóza pacientů za rok 2018.



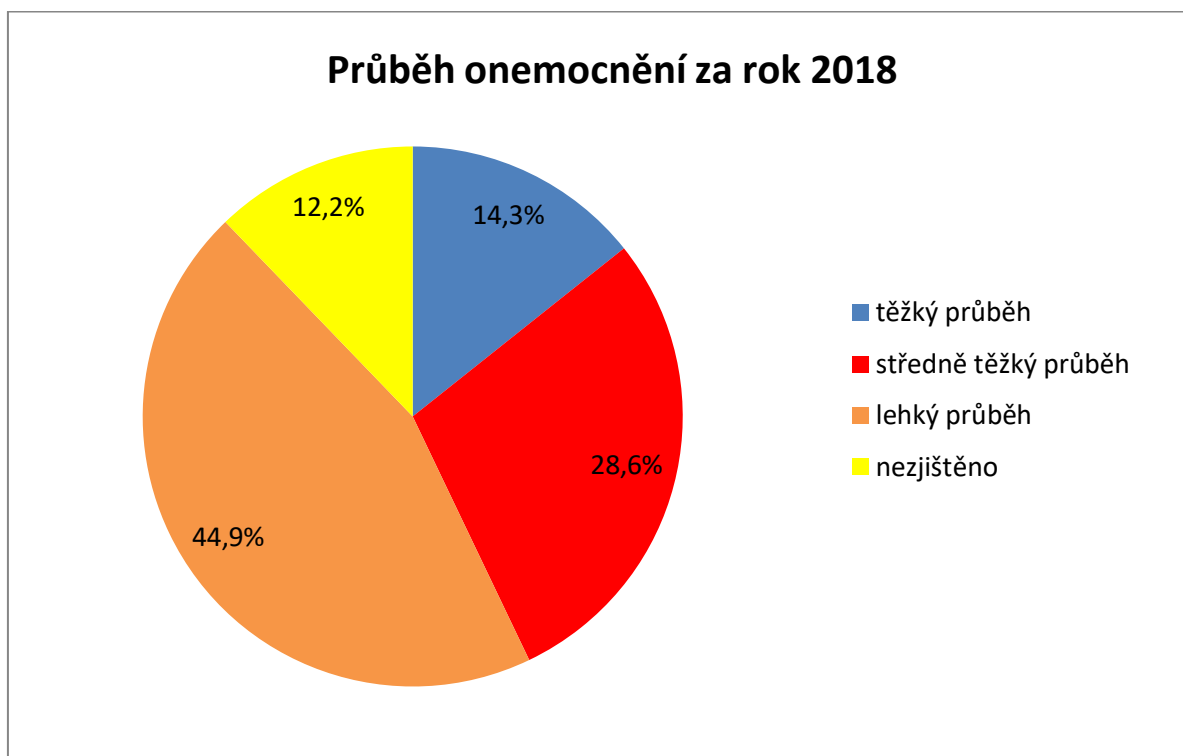
Zdroj: Výsledky FN Plzeň

A099: gastroenteritida a kolitida NS původu; **A488:** jiné určené bakteriální nemoci; **A84.1:** středo-evropská encefalitida přenášená klíšťaty; **A84.9:** virová klíšťová encefalitida NS; **A86:** neurčená virová encefalitida; **A87.8:** jiné virové meningitidy; **A87.9:** virová meningitida NS; **A89.8:** neurčená virová infekce centrální nervové soustavy; **G40.9:** epilepsie NS; **G82.3:** chabá tetraplegie; **G98:** jiné poruchy nervové soustavy; **R11:** nauzea a zvracení; **R50.9:** horečka NS; **R51:** bolest hlavy NS; **R53:** nevolnost a únava.

Následující graf (13) znázorňuje průběh onemocnění za rok 2018. 7 pacientů (14,3%) mělo těžký průběh. Jednalo se především o starší ročníky z ohrožených věkových skupin 40 – 59 let a 60+ let. Středně těžký průběh mělo 14 pacientů (28,6%), lehký průběh 22 pacientů (44,9%). U 6 pacientů průběh nebyl zjištěn.

U 4 pacientů z Klatovské nemocnice neznáme proočkovanosť a 1 pacient byl infikovaný klíšťovou encefalitidou již pár dní před první dávkou očkování. Ostatních 44 pacientů nebylo očkováno.

Graf 13: Průběh onemocnění za rok 2018.

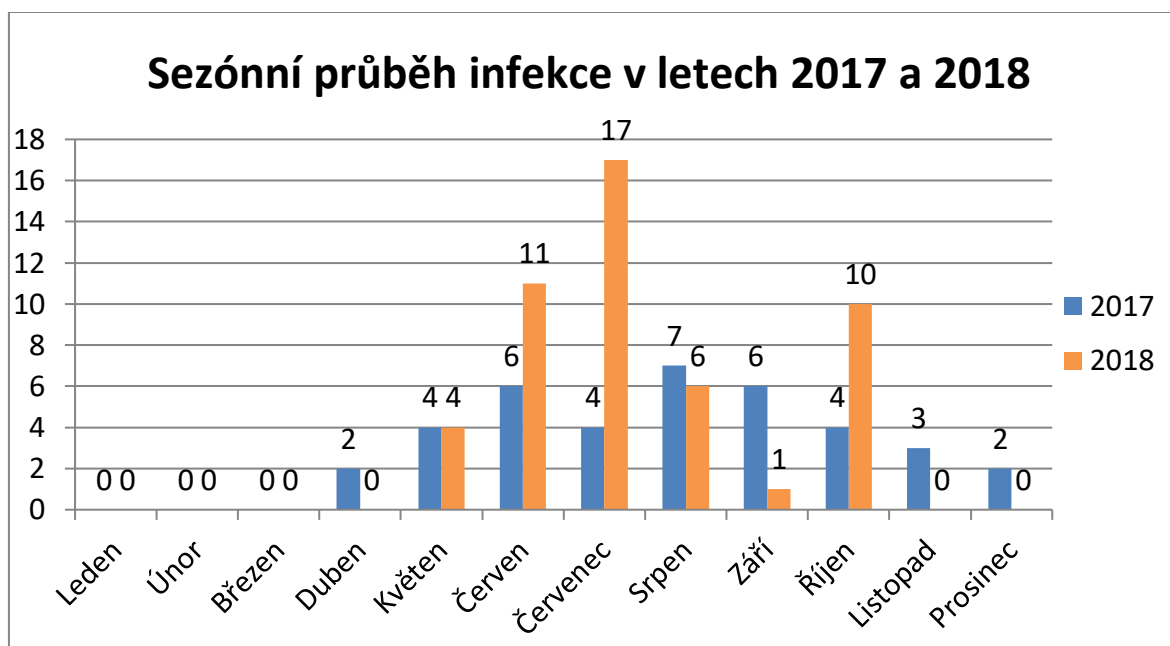


Zdroj: Výsledky FN Plzeň

12.3 Srovnání sezón 2017 a 2018

Následující graf (14) zobrazuje porovnání sezónního výskytu klíšťové encefalitidy v letech 2017 a 2018. Kromě nárůstu celkového počtu vyšetření v roce 2018 oproti roku předchozímu, je patrný výskyt onemocnění v tomto roce od května do října. Naproti tomu v roce 2017 byla klíšťová encefalitida vyšetřována již od dubna až do prosince. Nejvíce infikovaných osob bylo v červenci, který byl následován červnem a říjnem roku 2018. V roce předchozím nebyl nárůst v letních měsících tolik proměnlivý.

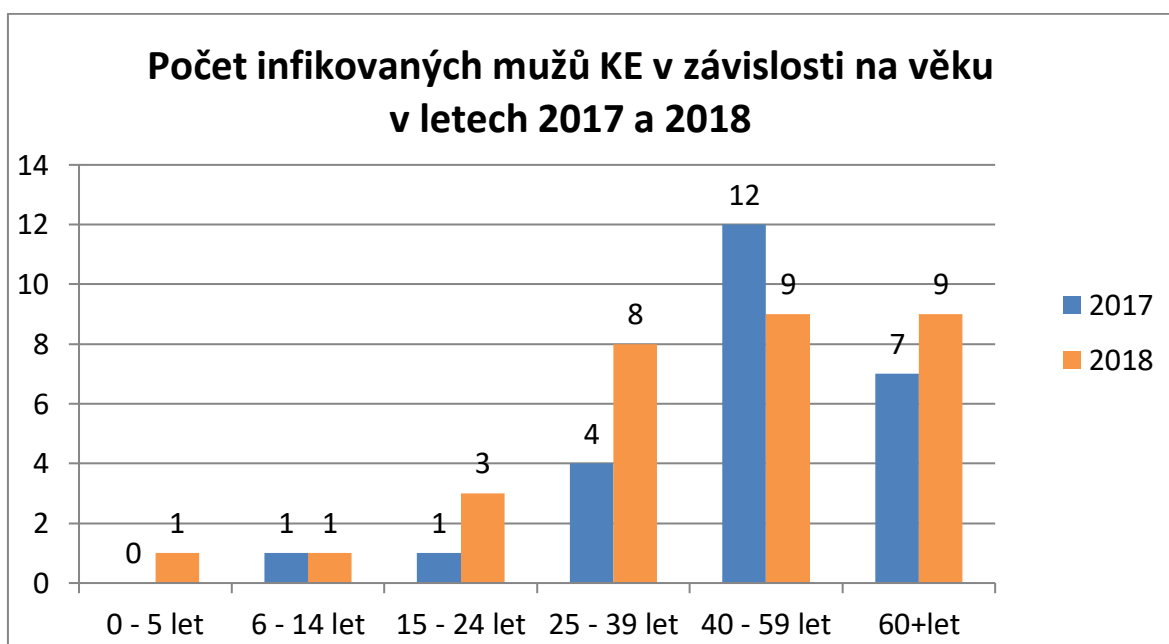
Graf 14: Sezónní průběh infekce v letech 2017 a 2018.



Zdroj: Výsledky FN Plzeň

V následujícím grafu (15) je srovnání počtu infikovaných mužů klíšťovou encefalitidou v závislosti na věku ve 2 vyšetřovaných sezónách. Nejvíce infikovaných mužů bylo z ohrožených věkových skupin 40 – 59 let a 60+ let, avšak je zde patrný nárůst infikovaných osob mladšího věku v roce 2018. Zatímco v roce předchozím byl vyšetřen jeden pacient z věkové skupiny 6 – 14 let a jeden ve věku 15 – 24 let, v roce 2018 bylo vyšetřeno těchto osob 5. Po jedné osobě ve věku 0 – 5 let a 6 – 14 let a 3 osoby ve věkové kategorii 15 – 24 let. Celkově bylo vyšetřeno 31 mužů v roce 2018 a 25 mužů v roce 2017.

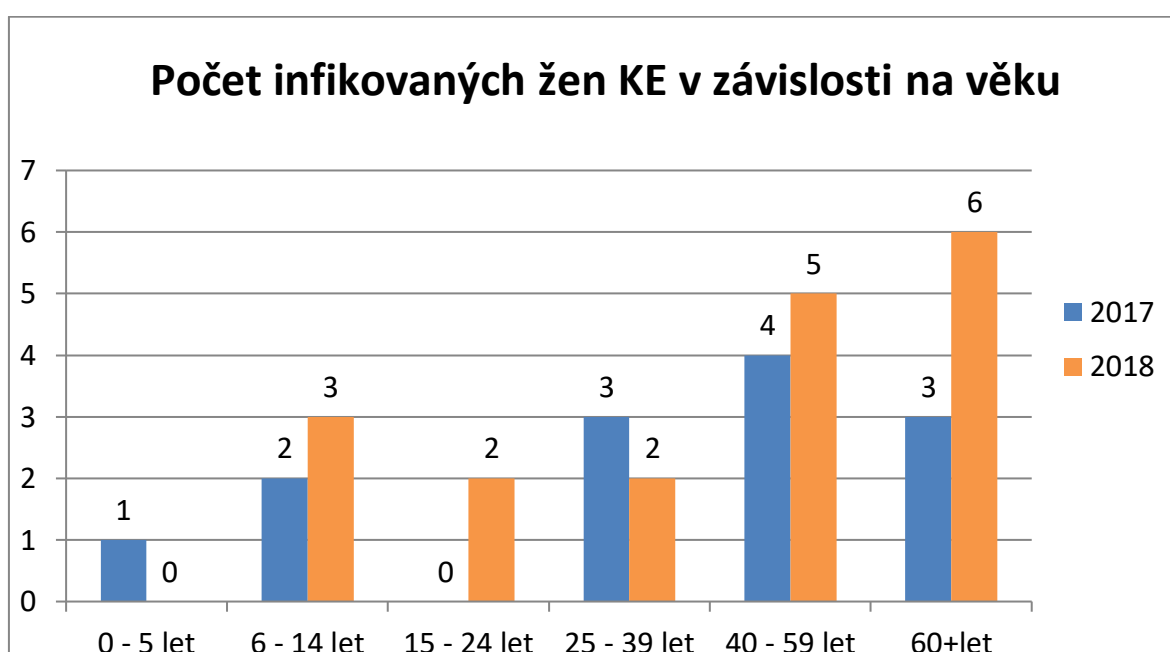
Graf 15: Počet infikovaných mužů KE v závislosti na věku v letech 2017 a 2018.



Zdroj: Výsledky FN Plzeň

V roce 2018 bylo infikováno 18 žen virem klíšťové encefalitidy. 11 žen (61%) patřilo do ohrožených věkových skupin nad 40 let, avšak dle následujícího grafu (16) je patrné, že vyšetřeno bylo i 5 žen velmi mladého věku. Oproti roku předchozímu s jednou pacientkou ve věku 0 – 5 let a dvěma pacientkami ve věkové kategorii 6 – 14 let se v tomto roce infikovaly 3 ženy ve věku 6 – 14 let a 2 ženy ve věku 15 – 24 let. Z celkového počtu 13 pacientek v roce 2017, 7 z nich (53%) patřilo do ohrožených věkových skupin nad 40 let .

Graf 16: Počet infikovaných žen KE v závislosti na věku v letech 2017 a 2018.

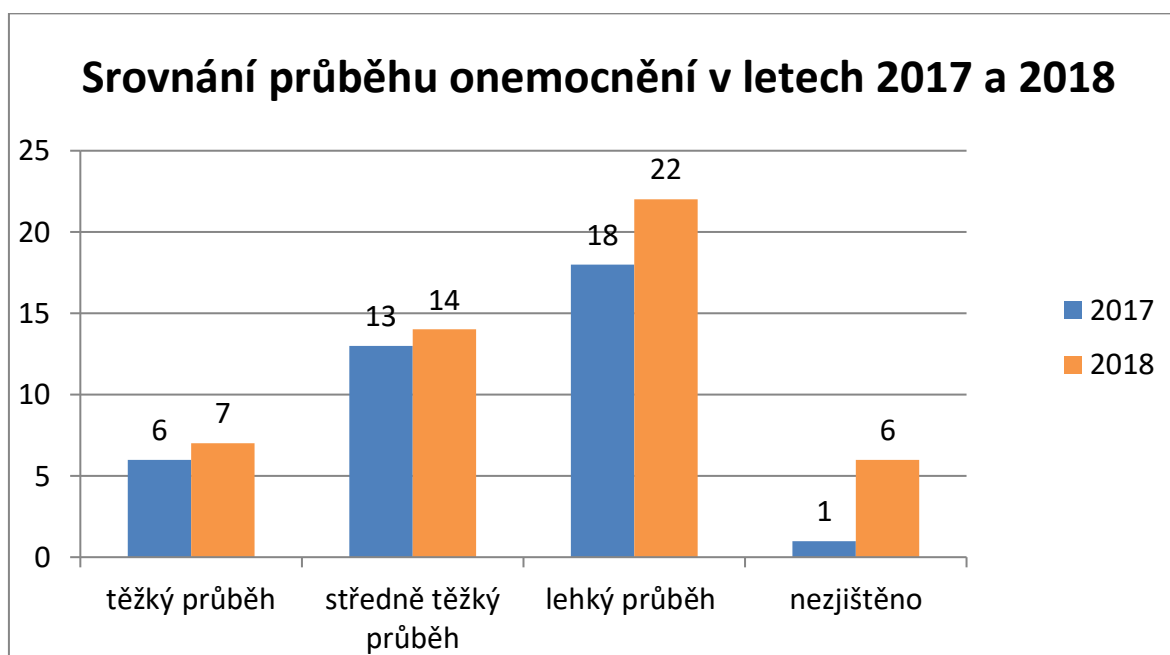


Zdroj: Výsledky FN Plzeň

Graf (17) zobrazuje srovnání závažnosti průběhu onemocnění v letech 2017 a 2018. Těžký průběh spojený s bolestí hlavy, nejistou chůzí a třesem prstů postihlo v roce 2018 o jednoho pacienta více než v roce předchozím. Avšak i přes větší počet pacientů (7) v tomto roce není známa žádná osoba trpící trvalými následky narozdíl od roku 2017, kdy jsou takové osoby známy 2. Středně těžký průběh byl pozorován u 13 osob v roce 2017 a 14 v roce následujícím. Lehký průběh prodělalo dohromady za obě sezóny 40 pacientů a u 7 pacientů nebyl možný dohledat průběh onemocnění.

Nejčastějšími následky u těžkého průběhu za obě sezóny byly parézy horních a dolních končetin doprovázené poruchou řeči, nejistou chůzí či závratěmi. U většiny pacientů s lehkým či středně těžkým průběhem se v průběhu rekonvalescence objevil třes prstů, bolest hlavy a poruchy spánku.

Graf 17: Srovnání průběhu onemocnění v letech 2017 a 2018.



Zdroj: Výsledky FN Plzeň

13 DISKUZE

Cílem mé bakalářské práce bylo seznámit se s onemocněním virem klíšťové encefalitidy včetně vyhodnocení laboratorních výsledků vzorků vyšetřených na protilátky proti tomuto viru (IgG/IgM) ve virologické laboratoři Ústavu mikrobiologie ve Fakultní nemocnici Plzeň za rok 2017 a 2018. Vzorky byly vyšetřeny metodou ELISA na přístroji DSX. Pro vlastní výzkum jsem si stanovila několik výzkumných problémů, které jsem se snažila potvrdit či vyvrátit.

Předpokládala jsem, že onemocnění virem klíšťové encefalitidy je nejčastěji diagnostikováno v letních měsících, konkrétně v červnu, červenci a srpnu. Tento předpoklad jsem potvrdila vzhledem k počtu vyšetření v těchto měsících. Za obě dvě sezóny bylo dohromady vyšetřeno 17 osob v červnu, 21 v červenci a 13 v srpnu. Oproti tomu v předcházejícím měsíci květnu bylo vyšetřeno dohromady pouze 8 vzorků, v září pak 7 vzorků. V dalších měsících má počet vyšetření ustupující charakter s výjimkou října 2018, kdy počet vyšetření překonal září téhož roku o 9 vzorků. Příčinou této odchylky může být velmi teplý podzim, poněvadž množství a aktivitu klíšťat kromě jiného nejvíce ovlivňuje počasí. S teplejším počasím a tedy i vyšším výskytem lidí v přírodě se počet infikovaných KE zvyšuje. Chladnější počasí nebo naopak velmi vysoké teploty a sucho množství a aktivitu klíšťat snižuje.

S ohledem na faktor zvýšeného výskytu klíšťat při teplém a vlhkém počasí jsem dále předpokládala, že se s pozitivními výsledky diagnostiky klíšťové encefalitidy v laboratoři setkáváme od dubna do října. Vzhledem k výsledkům jsem tuto domněnku nepotvrdila. Přestože první dvě vyšetření byla v roce 2017 prováděna v dubnu, poslední 2 vzorky byly diagnostikovány až v prosinci. Příčinou mohl být mírný nástup zimního období doprovázený teplejším počasím bez výrazných mrazů. Naproti tomu v roce 2018 byly poslední pozitivní vzorky tohoto onemocnění detekovány v říjnu s počtem 10 sér, ale první pozitivní výsledky se posunuly až na měsíc květen s celkovým počtem 4 vyšetřených vzorků.

Další hypotéza, že více pacientů bylo infikováno virem KE v roce 2017, se nepotvrdila. I přes fakt, že se v tomto roce vyšetřilo dohromady 806 vzorků, se detekovalo 38 pozitivních výsledků. V roce následujícím se počet vyšetření snížil na 757 vzorků, avšak pozitivních výsledků, v celkovém počtu 49 infikovaných osob, bylo o 11 více.

Vzhledem k předpokladu častějšího výskytu mužů v přírodě jsem se domnívala, že budou v počtu infikovaných osob převažovat. V roce 2017 se z množství 38 pozitivních výsledků jednalo o 25 zástupců mužského pohlaví a 13 zástupců ženského pohlaví. V roce následujícím zahrnovalo 49 pozitivních výsledků vyšetření 31 mužů a 18 žen. S ohledem na tyto výsledky se navržená hypotéza potvrdila s rozdílem počtu mezi muži a ženami pohybujícím se kolem jedné třetiny. Dalším důvodem vedoucím k této hypotéze byla zvýšená nedbalost mužů k prevenci v podobě repelentů a prohlížení svého těla.

K určení správné diagnózy v podobě onemocnění klíšťovou encefalitidou velmi přispívá rozhovor lékaře s pacientem, poněvadž příznaky tohoto onemocnění nejsou natolik typické, aby ho lékař byl schopen potvrdit podle nich. Pokud si pacient vzpomene na nedávné prisátí klíštěte, ošetřující lékař může toto onemocnění předpokládat a pošle pacienta na Klinikou infekčních nemocí a cestovní medicíny. Z tohoto důvodu jsem se domnívala, že nejvíce požadavků na vyšetření KE bude z této kliniky, což jsem potvrdila. V roce 2017 tato klinika podala 27 žádostí (71%) a následována byla Interní a Neurologickou klinikou FN Plzeň, které podaly po 3 žádostech (8%). V roce 2018 toto množství vzrostlo na 40 žádostí (82%) a na druhém místě bylo neurologické oddělení v Klatovské nemocnici s počtem 5 žádanek (10%).

Z důvodu závažnějšího průběhu onemocnění u starších osob nad 50 let dle odborné literatury jsem s ohledem k mému rozdělení osob podle věku do jednotlivých věkových skupin měla 2 možnosti k určení nejvíce ohrožené věkové kategorie. Pacienty jsem rozčlenila do skupiny 40 – 59 let a 60+ let. Domnívám se, že osoby nad 60 let se z důvodu častých bolestí při pohybu či jiných pohyb omezujících příčin nevyskytují v přírodě tak často jako lidé ve věku 40 – 59 let, které jsem proto určila nejvíce ohroženou věkovou skupinou. Tato hypotéza byla potvrzena počtem 30 infikovaných osob za obě sezóny zahrnujících 21 mužů a 9 žen. V alternativní věkové skupině 60+ let bylo infikovaných 25 osob v poměru 16 mužů ku 9 ženám. Jednotlivě se tato hypotéza potvrdila pouze v roce 2017, kdy bylo detekováno 16 osob v této věkové skupině a 10 osob ve věku nad 60 let. Avšak v roce 2018 bylo ve věkové skupině nad 60 let vyšetřeno pouze o jednoho pacienta více než v dané ohrožené skupině.

Ve své práci jsem shromáždila informace o klíšťové encefalitidě a statisticky zpracovala a porovнала výsledky vyšetřených vzorků za dané sezóny. V teoretické části jsem se věnovala historii objevu klíšťové encefalidity v České republice i ve světě, etiologii a epidemiologii, dále jsem popsala klinický obraz, diagnostiku a terapii. Samostatnou kapitolu jsem věnovala možnostem prevence proti tomuto onemocnění, včetně očkování. V praktické části jsem popsala laboratorní diagnostiku s popisem metody ELISA, která je pro potvrzení tohoto onemocnění stěžejní. Porovнала jsem promořenost mezi muži a ženami v daných sezónách s ohledem na věk pacientů, dále jsem zhodnotila závažnost průběhu onemocnění s typickými následky při rekonvalescenci. Ve své práci jsem v souladu s odbornou literaturou potvrdila 4 navržené hypotézy, 2 hypotézy nebyly potvrzeny. Práce splnila stanovené cíle.

14 ZÁVĚR

Klíšťová encefalitida je onemocnění způsobené virem rodu *Flavivirus*, které se přenáší prostřednictvím klíštěte obecného *Ixodes ricinus*. Onemocnění může mít průběh lehké chřipky, ale i závažnější formu s možností trvalých následků či smrti. Jeho projevy jsou rozmanité a zasahují nervovou soustavu, včetně mozku a míchy. Následky infekce způsobují parézy končetin, třes prstů, poruchu řeči a spánku. Její diagnostika je z důvodu nespecifických příznaků obtížná a bez laboratorního vyšetření nedetekovatelná. Avšak navzdory úspěšné diagnostice léčba není snadná, podávají se jen léky ke ztlumení jednotlivých příznaků. Potlačuje se vysoká teplota a tlumí bolest hlavy pomocí analgetik a antipyretik, podávají se antivirotika z důvodu podezření na herpetickou encefalitidu. Důležitou součástí terapie je klidový režim na lůžku a dostatečná hydratace infikovaného. Návrat osoby, jež prodělá tuto infekci, do kvalitního života ve fázi rekonvalescence musí být velmi pozvolný. Je všeobecně známo, že její průběh je z velké části závislý na věku infikované osoby z důvodu snižování obranyschopnosti a nárůstu chronických onemocnění s věkem, a proto je důležité se chránit před nákazou. Kromě používání repelentů a prohlížení svého těla od přisátých klíšťat je nejdůležitějším prvkem prevence očkování. Bohužel očkování není povinné a není plně hrazené zdravotní pojišťovnou. Vzhledem k ceně, lidé nechávají očkovat především své děti i přes fakt, že více ohroženi jsou oni sami. Nejvíce náchylní jsou lidé často se pohybující v přírodě.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- BEDNÁŘ, Marek, Andrej SOUČEK a Jiří VÁVRA. *Lékařská speciální mikrobiologie a parazitologie*. Praha: Triton, 1994. ISBN 9788090152144.
- BENEŠ, Jiří (2009). *Infekční lékařství*. Praha: Galén, ISBN 9788072626441.
- BERAN, Jiří a Jiří HAVLÍK. *Lexikon očkování*. Praha: Maxdorf, c2008. Jessenius. ISBN 978-80-7345-164-6.
- BURKE, A. Cunha (2000). *Tickborne Infectious Diseases*. New York: Marcel Dekker Incorporated, ISBN 9780203909614.
- DVOŘÁKOVÁ, Alena. Klíšťová encefalitida - stále na mapě České republiky. *Vakcinologie*. 2017, roč. 11, č. 1, s. 18-19. ISSN 1802-3150.
- DVOŘÁKOVÁ, Alena. Klíšťová encefalitida, kozy, krávy a mléčný automat. In: *Pečenkovy epidemiologické dny*. 2012, s. 78. ISBN 978-90-904667-1-5.
- HAMPLOVÁ, Lidmila. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena pro bakalářské studium a všechny typy zdravotnických škol*. V Praze: Stanislav Juhaňák - Triton, 2015. 263 s. ISBN 978-80-7387-934-1.
- HAVLÍK, Jiří. Proč je výskyt klíšťové meningoencefalitidy v České republice stále vysoký?. *Medicína pro praxi*. 2010, roč. 7, č. 6-7, s. 254–256. ISSN: 1214-8687. Dostupné také z: <http://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2010/06/02.pdf>.
- KIMMIG, Peter, Rüdiger BRAUN a Dieter HASSLER. *Klíšťata: Nepatrné kousnutí s neblahými následky*. Praha: Pragma, 2003. ISBN 8072058819.
- KŘÍŽ, Bohumír et al. Vliv klimatických změn na výskyt onemocnění klíšťovou encefalitou v letech 1982–2011 v České republice. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie*. 2015, roč. 64, č. 1, s. 24-32. ISSN 1210-7913. Dostupné také z: <http://www.prolekare.cz/epidemiologie-clanek/vliv-klimatickych-zmen-na-vyskyt-onemocneni-klisťovou-encefalitou-v-letech-1982-2011-v-ceske-republice-51797>.
- MAĐAR, Rastislav. Klíšťová encefalitida - aktuální vývoj. *Očkování a cestovní medicína*. 2017, roč. 8, č. 2, s. 19-21. ISSN 1804-493X

NĚMEC, Miroslav a Dagmar MATOULKOVÁ. *Základy obecné mikrobiologie*. Brno: Masarykova univerzita, 2015. 255 s. ISBN 978-80-210-7923-6.

Očkování dětí - novinky 2017. *ZN plus*. 2017, roč. 66, č. 10, s. 8-10. ISSN 2533-3968.

POLCAROVÁ, Petra et al. Klíšťová encefalitida - epidemiologie a současné možnosti očkování. *Vakcinologie*. 2017, roč. 11, č. 3, s. 118-125. ISSN 1802-3150.

ROHÁČOVÁ, Hana. Klinický průběh a prevence klíšťové encefalidity. *ZN plus*. 2017, roč. 66, č. 14, s. 19-20. ISSN 2533-3968.

ROHÁČOVÁ, Hana. Klíšťová encefalitida. *Causa subita*. 2009, roč. 12, č. 4, s. 122-124. ISSN 1212-0197. Dostupné z:

<http://www.causa-subita.cz/clanek.php?akce=view&clanekid=1047&r=12&c=4>

RŮŽEK, Daniel. *Klíšťová encefalitida*. Praha: Grada Publishing, 2015. 196 s. ISBN 978-80-247-5305-8.

STEJSKAL, Václav. *Klíšťata, komáři, blechy, vosy a jiní bodaví škůdci ohrožující zdraví*. Praha: Scriptum, 1995. ISBN 80-85528-37-1.

ŠEVČÍKOVÁ, Hana. Klíšťová encefalitida. *Očkování a cestovní medicína*. 2010, roč. 1, č. 1, s. 9-12. ISSN: 1804-493X.

ŠULCOVÁ, Margaréta. *Mikrobiologie, epidemiologie, hygiena: studijní materiál pro zdravotnické obory*. 2. přepracované vydání. Ústí nad Labem: Univerzita Jana Evangelisty Purkyně v Ústí nad Labem, Fakulta zdravotnických studií, 2017. 146 s. ISBN 978-80-7561-067-6.

VAVERKOVÁ, Renata. Klíšťová encefalitida pohledem epidemiologa. *Vakcinologie*. 2014, roč. 8, č. 1, s. 31-32. ISSN 1802-3150.

VOTAVA, Miroslav (2003). *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, ISBN 8090289665.

VOTAVA, Miroslav (2010). *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, ISBN 9788086850047.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ALT	Alaninaminotransferáza
CNS	Centrální nervový systém
ČR	Česká republika
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová
ELISA	Enzyme Linked Imunosorbent Assay
FN	Fakultní nemocnice
Ig	Imunoglobulin
IgG	Imunoglobulin G
IgM	Imunoglobulin M
KE	Klíšťová encefalitida
KEB	Koeficient energetické bilance
KFR	Komplement fixační reakce
NS	Nespecifická, blíže neurčená
RNA	Ribonukleová kyselina
SSSR	Svaz sovětských socialistických republik

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Referenční meze metody ELISA pro vyšetření protilátek proti viru klíšťové encefalitidy	35
---	----

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Počet pozitivních a negativních výsledků onemocnění KE v roce 2017 a 2018.....	36
Graf 2: Klíšťová encefalitida- sezónní průběh infekce v roce 2017.....	37
Graf 3: Poměr pozitivních mužů a žen infikovaných KE v roce 2017.....	38
Graf 4: Počet mužů a žen infikovaných KE v závislosti na věku v roce 2017.....	39
Graf 5: Pracoviště zasílající vzorky pro vyšetření KE za rok 2017.....	40
Graf 6: Diagnóza pacientů za rok 2017.....	41
Graf 7: Průběh onemocnění za rok 2017.....	42
Graf 8: Klíšťová encefalitida- sezónní průběh infekce v roce 2018.....	43
Graf 9: Poměr pozitivních mužů a žen infikovaných KE v roce 2018.....	44
Graf 10: Počet mužů a žen infikovaných KE v závislosti na věku v roce 2018.....	45
Graf 11: Pracoviště zasílající vzorky pro vyšetření KE za rok 2018.....	46
Graf 12: Diagnóza pacientů za rok 2018.....	47
Graf 13: Průběh onemocnění za rok 2018.....	48
Graf 14: Sezónní průběh infekce v letech 2017 a 2018.	49
Graf 15: Počet infikovaných mužů KE v závislosti na věku v letech 2017 a 2018.....	50
Graf 16: Počet infikovaných žen KE v závislosti na věku v letech 2017 a 2018.....	51
Graf 17: Srovnání průběhu onemocnění v letech 2017 a 2018.	52

SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obrázek 1: Přístroj DSX Automated System používaný pro metodu ELISA ve FN Plzeň. 31
Obrázek 2: Mikrotitrační destička s napipetovanými vzorky a reagensy.34

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Povolení sběru informací ve FN Plzeň.	9
---	---

PŘÍLOHY

Příloha 1: Povolení sběru informací ve FN Plzeň.



FAKULTNÍ NEMOCNICE PLZEŇ
Útvar náměstka pro ošetrovatelskou péči
Edvarda Beneše 13, 305 99 Plzeň - Bory
alej Svobody 80, 304 60 Plzeň - Lochotín
IČO 00669806 tel.: 377 401 111, 377 103 111

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

Povolení sběru informací ve FN Plzeň

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

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 pacientů a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. **Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb., o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.**
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, které budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené, odborné praxe a pod přímým vedením oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je MUDr. Miroslava Švecová, vedoucí lékařka MIKRO FN Plzeň.

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

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

Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

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

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

12. 2. 2019