



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

**Fakulta biomedicínského inženýrství
Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**

Chřipka – výskyt a laboratorní diagnostika

Influenza – Occurrence and Laboratory Diagnosis

Bakalářská práce

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví

Studijní obor: Zdravotní laborant

Vedoucí práce: Ing., Bc. Lucie Lidická

Kristýna Štípková

Kladno 2018

Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva

Akademický rok: 2017/2018

Z a d á n í b a k a l á ř s k é p r á c e

Student: **Kristýna Štípková**
Obor: Zdravotní laborant
Téma: **Chřipka - výskyt a laboratorní diagnostika**
Téma anglicky: Influenza - Occurrence and Laboratory Diagnosis

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Předmětem bakalářské práce bude sledování výskytu viru chřipky ve vybraných městech Středočeského kraje a následné statistické zpracování dat.

Teoretická část se bude zabývat charakteristikou virů obecně a následně popisu jednotlivých kmenů chřipky. Práce se zaměří na výskyt onemocnění v jednotlivých skupinách populace, na očkování a problematiku s tím spojenou.

Praktická část bude obsahovat možnosti laboratorní diagnostiky a výskyt chřipkového onemocnění s důrazem na Oblastní nemocnici Kladno. Statisticky budou zpracována data poskytnutá Klinickou laboratoří Oblastní nemocnice Kladno, týkající se množství zpracovaných vzorků a počtem pozitivních výsledků s rozdělením podle jednotlivých kmenů.

Seznam odborné literatury:

- [1] BERAN, Jiří a Jiří HAVLÍK, Chřipka: klinický obraz, prevence a léčba, ed. 2., Praha: Maxdorf, c2005 Jessenius, ISBN 8073450739
- [2] VOTAVA, Miloslav a kol., Lékařská mikrobiologie obecná, Neptun, 2005, 352 s., ISBN 80-86850-00-5
- [3] BERAN, Jiří a Jiří HAVLÍK, Chřipka: průvodce ošetřujícího lékaře, Praha: Maxdorf, 2005 Farmakoterapie pro praxi, ISBN 8073450801
- [4] KYNČL, Jan, Zásady diagnostiky a terapie chřipky, Praha: Maxdorf, 2000, ISBN 8085912406

Zadání platné do: 13.09.2019

Vedoucí: Ing. Lucie Lidická

.....
vedoucí katedry / pracoviště

.....
děkan

V Kladně dne 25.10.2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Chřipka – výskyt a laboratorní diagnostika vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně dne 18.05.2018

.....
Kristýna Štípková

Poděkování

Na tom místě bych ráda věnovala velké poděkování své vedoucí bakalářské práce Ing., Bc. Lucii Lidické za ochotu, pomoc, trpělivost a cenné rady při psaní této práce. Velké poděkování též patří MUDr. Martině Havlíčkové, CSc. a celému personálu v Národní referenční laboratoři pro chřipku a nechřipková respirační virová onemocnění. Dále bych chtěla poděkovat Klinické laboratoři, úsek mikrobiologie v Oblastní nemocnici Kladno, kde mi bylo umožněno pracovat na své praktické části bakalářské práce. V neposlední řadě bych ráda poděkovala mé rodině za trpělivost a podporu během celého mého studia.

Abstrakt

Bakalářská práce je zaměřena na sledování výskytu viru chřipky u pacientů v Oblastní nemocnici Kladno za období 1. 1. 2018 – 31. 3. 2018.

V teoretické části je popsána historie chřipky a vysvětleny jsou pojmy epidemie a pandemie. Dále se práce zabývá charakteristikou virů obecně a popisu jednotlivých kmenů chřipky. Vysvětlena je struktura a replikace chřipkové viru, antigenní shift a drift. Popsán je průběh a klinický obraz chřipkového onemocnění. Práce se zaměří i na přenos, zdroj, výskyt a surveillance chřipky. Jsou uvedeny možnosti léčby, očkování a laboratorní diagnostiky.

Popsána je metodika správného odběru, transportu, příjmu materiálu v mikrobiologické laboratoři a diagnostika chřipkového viru pomocí analyzátoru *GeneXpert Dx*.

První část praktické části je věnována sledování výskytu akutních respiračních onemocnění (ARI), do kterých je zařazena i chřipka, ve vybraných městech Středočeského kraje za období od 1. 1. 2018 až do 31. 1. 2018. Data jsou roztríděna podle jednotlivých týdnů. Ve druhé části jsou statisticky zpracovaná data z Klinické laboratoře, úsek mikrobiologie v Oblastní nemocnici Kladno. Podle výsledků za sledované období jsou data rozřazena podle množství zpracovaného materiálu, počtu pozitivních výsledků a dle jednotlivých kmenů.

Klíčová slova

Antigenní drift; antigenní shift; chřipka; laboratorní diagnostika; očkování surveillance; virus

Abstract

Bachelor Thesis focuses on monitoring the occurrence of patients infected by Influenza virus in Regional hospital in Kladno for the period 1. 1. 2018 – 31. 3. 2018.

In theoretical part, there is described the history of Influenza and are explained terms epidemic and pandemic. Furthermore the thesis deals with characteristic of viruses in general and description of single Influenza types. The structure and replication of Influenza virus, antigenic shift and drift are explained. The Influenza disease process and clinical picture are described. The thesis focuses on transfer, source, occurrence and surveillance of Influenza as well. The possibilities of cure, vaccination and laboratory diagnosis are mentioned.

The methodology of the right blood collection, its transport, intake of material in microbiological laboratory and diagnostic of Influenza virus through the use of analyzer GeneXpert Dx is described.

The first part of the practical thesis is targeted on monitoring the occurrence of Acute Respiratory Infection (ARI) where into the Influenza is enlisted, in selected cities of The Central Bohemian Region for the period 1. 1. 2018 - 31. 1. 2018. The data are sorted by single weeks. In the second part, there are statistically processed data from the Clinical laboratory, ward mikrobiology in the Regional hospital in Kladno. According to results from the monitored period the data are sorted by the number of processed material, number of positive results and by single types.

Key words

Antigenic drift; antigenic shift; Influenza; laboratory diagnostic; vaccination surveillance; virus

Obsah

| | | |
|-------|--------------------------------------|----|
| 1 | Úvod..... | 10 |
| 2 | Současný stav..... | 11 |
| 2.1 | Historie..... | 11 |
| 2.2 | Epidemie a pandemie..... | 12 |
| 2.2.1 | Španělská chřipka 1918 – 1920..... | 13 |
| 2.2.2 | Asijská chřipka 1957 – 1958..... | 13 |
| 2.2.3 | Hongkongská chřipka 1968 – 1969..... | 14 |
| 2.3 | Charakteristika virů obecně..... | 14 |
| 2.3.1 | Stavba viru..... | 15 |
| 2.3.2 | Replikace virů..... | 15 |
| 2.3.3 | Osud infikované buňky..... | 16 |
| 2.3.4 | Brána vstupu..... | 17 |
| 2.4 | Virus chřipky..... | 17 |
| 2.4.1 | Struktura..... | 18 |
| 2.4.2 | Replikace viru..... | 20 |
| 2.4.3 | Antigenní shift a drift..... | 21 |
| 2.5 | Přenos a zdroj..... | 22 |
| 2.6 | Průběh a klinický obraz chřipky..... | 23 |
| 2.6.1 | Komplikace chřipky..... | 23 |
| 2.7 | Výskyt onemocnění..... | 24 |
| 2.8 | Surveillance chřipky..... | 25 |
| 2.8.1 | Pandemický plán..... | 27 |
| 2.9 | Léčba..... | 27 |

| | | |
|--------|--|----|
| 2.9.1 | Symptomatická léčba | 28 |
| 2.9.2 | Kauzální léčba | 28 |
| 2.10 | Očkování..... | 30 |
| 2.10.1 | Vakcíny | 31 |
| 2.10.2 | Cílové skupiny | 32 |
| 2.11 | Laboratorní diagnostika..... | 33 |
| 2.12 | PCR..... | 35 |
| 3 | Cíl práce..... | 37 |
| 4 | Metodika..... | 38 |
| 4.1 | Odběr | 38 |
| 4.2 | Transport a příjem materiálu | 40 |
| 4.3 | Laboratorní diagnostika v Oblastní nemocnici Kladno | 41 |
| 4.4 | Hlášení výsledků | 43 |
| 4.5 | Statistické zpracování dat | 44 |
| 4.5.1 | System hlášení ARI..... | 44 |
| 4.5.2 | Statistická analýza dat z Oblastní nemocnice Kladno | 45 |
| 5 | Výsledky | 46 |
| 5.1 | Statistické vyhodnocení dat z vybraných měst Středočeského kraje | 46 |
| 5.2 | Výsledky z Oblastní nemocnice Kladno..... | 52 |
| 6 | Diskuze | 58 |
| 7 | Závěr | 63 |
| 8 | Seznam použitých zkratk..... | 64 |
| 9 | Seznam použité literatury | 66 |
| 10 | Seznam použitých obrázků..... | 70 |

| | | |
|----|--------------------------------|----|
| 11 | Seznamu použitých tabulek..... | 71 |
|----|--------------------------------|----|

1 ÚVOD

Chřipka je nakažlivé virové onemocnění, které se přenáší kapénkami vzduchem. Lidé chřipku často podceňují a mají jí za banální onemocnění i přesto, že lidstvo provází už od středověku. Způsobila tři obrovské světové pandemie, kdy na následky chřipky zemřely miliony lidí. Mnoho lidí vnímá chřipku jako běžné onemocnění, např. nachlazení. Důvodem může být to, že většina lidí neumí odlišit onemocnění způsobené chřipkovým virem od jiných virových onemocnění. Pro zdravého jedince nepředstavuje chřipka až takové riziko, ale pro oslabené a starší jedince ano. Každým rokem se objevují menší epidemie, kdy na časté komplikace umírá mnoho lidí. Objevují se hlavně od konce ledna do konce března. Hlavní skupinou nemocných jsou děti, dospělý starší šedesáti let a lidé s chronickým onemocněním. Hlavní prevencí proti chřipce je očkování. Typickou vlastností chřipkového viru je jeho schopnost měnit se. Z tohoto důvodu se očkování musí každý rok opakovat. U zdravých jedinců může očkování zabránit velkým ekonomickým ztrátám, které vznikají díky zdravotním neschopnostem. Pro rizikové osoby očkování sníží riziko vzniku komplikací. Komplikace, jako je například primární chřipková pneumonie, může způsobit smrt.

Tato bakalářská práce má být ucelený soubor informací o chřipce. Měla by upřesnit rozdíly mezi chřipkovým onemocněním a ostatními respiračními infekcemi. Dále by měla podat jasné informace o očkování, výskytu a monitoringu v České republice. Popsat metody laboratorní diagnostiky a možnosti léčby.

2 SOUČASNÝ STAV

2.1 Historie

Chřipkové onemocnění je choroba, se kterou se lidé setkávají již po tisíce let. První výskyt je datován už před naším letopočtem, kdy toto onemocnění popsal Hippokrates ve svých spisech. Samozřejmě nebyl znám zdroj nákazy, průběh nemoci ani způsob šíření, proto se vždy nemuselo jednat jen o chřipku. Pouze okolnosti, za kterých se tato nemoc vyskytovala – jen v určitých ročních obdobích, velmi rychlý začátek i konec nemoci, by mohly nasvědčovat tomu, že se jednalo o chřipkovou infekci. Z tohoto hlediska by se historické zmínky měly brát s rezervou [1].

Nejčastější pojmenování pro chřipku v cizích zemích je influenza. Tento název se vyskytoval již ve středověku, podle zmínky v dochované kronice florentinské rodiny. Zde chřipka nese označení „influentia“, neboli vliv planet na osud lidí či vliv chladu. Jiné zdroje také uvádějí, že influenza je od slova „influere“ – vtékat, vlévat se. Pojem la grippe, trásti se, se poprvé použil v roce 1732. Tento výraz se tomu českému podobá nejvíce. České slovo „chřipka“ je nejspíše odvozeno od slova „chřípětí“ – chraptění, sípání [1], [2].

Podle dochovaných informací dle historie dělíme chřipku do tří období. První je období starověku a středověku až po 16. století. Zde jsou zmínky jen stručné a není jisté, zda se vždy o chřipku jednalo. Další etapa je od 16. století do třicátých let 20. století, kdy se objevil první chřipkový vir. Z této doby jsou popisy jasnější a pravdivější. Jsou zaznamenány epidemie a pandemie. Poslední období trvá do dnešní doby [1].

2.2 Epidemie a pandemie

„Pandemie je hromadný výskyt infekčního onemocnění bez prostorového onemocnění“ [3, s. 67] . Pandemie není tedy podmíněná časem ani prostorem. Hovoříme o ní, pokud se onemocnění rozšíří na více států či světadílů. Aby vznikla pandemie, je nutný vznik nového viru. Lidský organismus se s ním ještě nesetkal a neumí se proti němu bránit. Díky tomu se virus rychle šíří napříč státy [3].

„Epidemie je neobvykle vysoký výskyt infekčního onemocnění (nákazy) osob na neomezeném území během definovaného časového úseku „ [3, s. 66] . Je to tedy stav, kdy se počet onemocnění v daném místě a čase výrazně zvýší. Přesah míry onemocnění se liší v každém státě, který jí určuje podle svých kritérií. Ukazatel může být počet nových onemocnění, úmrtnost, počet prodaných léků aj. [3].

V roce 1510 proběhla pravděpodobně první pandemie v Africe, která se dále rozšířila do celé Evropy. Další pandemie z roku 1580 v Asii byla popsána podrobněji. Šířila se do Evropy a Afriky. Nelze přesně napsat, zda opravdu v těchto letech proběhli pandemie. Jde o soubor dochovaných informací, které tomu nasvědčují. Virus chřipky nebyl znám a nemohl být tedy přesně identifikován. V Itálii si vyžádala až 8000 obětí. Poté jsou zmínky z Anglie a přenesla až do Ameriky. O této pandemii je záznam v kutnohorských pamětech, z čehož můžeme soudit, že se objevila i v Čechách. Z 18. století je známo hodně popsaných pandemií. Často se shodují v tom, že chřipka přicházela z Číny přes Rusko. Dalším příkladem je pandemie z roku 1729 v Rusku. Rozšířila se během několika měsíců do Evropy a Ameriky. Chřipkové pandemie provázeli také celé 19. století. Například v letech 1830 – 1833 byl výskyt chřipky hlášen z Číny, odtud se virus šířil na východ do Tichomoří a na Filipíny. Poté na jih do Indie a na západ do Evropy. V letech 1847 -1847 proběhla další těžká pandemie, která zasáhla celý svět. Začala v Rusku, kde onemocnělo chřipkou okolo 1 milionu lidí. Postupovala

do Evropy a Jižní i Severní Ameriky. Ve 20. století proběhly tři pandemie, které patří k těm nejmaligntnějším. Jedná se španělskou, asijskou a hongkongskou [1].

2.2.1 Španělská chřipka 1918 – 1920

Španělská chřipka, neboli „španělka“ zahýbala ve třicátých letech celým světem. Byla způsobena virem typu A H1N1. Místo zrodu se podle literatury liší. Někteří se shodují, že virus pocházel z Číny, odkud se hodně lidí stěhovalo za prací do USA. Jiní tvrdí, že nový kmen se vyvinul ve Spojených státech. Chřipka se šířila celou Amerikou, kde zastihla vojáky, kteří mířili do Evropy. V Itálii a Španělsku se virus objevil v dubnu 1918. Dále postihl Velkou Británii, Čechy, Indii, Tichomoří a Nový Zéland. Hospodářská a sociální situace na konci první světové války napomohla rozšíření pandemie. Uvádí se, že chřipkový virus se rozšířil během dvou měsíců přes celý svět. Nejčastěji postihoval věkovou skupinu lidí od dvaceti do čtyřiceti let. Nemoc měla velice rychlý spád. U nemocných začaly problémy s dýcháním, měli suchý, dráždivý kašel a vysoké horečky. Pacienti umírali většinou na sekundární zápal plic. Celkový počet zemřelých a nakažených není dodnes zcela jasný. Chybějí údaje o pandemii z některých částí světa. Nejčastěji se udává počet mrtvých na 20 – 70 milionů lidí [1], [3].

2.2.2 Asijská chřipka 1957 – 1958

Další celosvětová pandemie přišla téměř čtyřicet let po té předešlé. Byla způsobena virem typu A H2N2. Zajímavé je to, že tento virus byl shodný s tím, který v letech 1889 – 1892 způsobil také chřipkovou pandemii. Tato shoda znamená, že pandemie vyvolaná typem viru A, vznikne vždy po shiftové změně. Původce této pandemie byl virus, který získal geny od ptačí i lidské chřipky. Byl vytvořen v hostiteli, kterým byl nejspíše vepř, protože má v sobě receptory pro oba typy viru. Tato kombinace byla velmi nebezpečná. První zprávy o chřipce pocházejí z Junanu

v Číně, odtud se šířila přes Hongkong, Tchaj-wan, Singapur až do Japonska. V létě roku 1957 přišel virus do Evropy a rozšířil se nejprve po celé jižní a následně i severní polokouli. Počet zemřelých se odhaduje na 1 milion, kdy jenom v USA bylo 70 – 80 tisíc obětí. Nejvyšší zastoupení nemocných pacientů měli mladí a staří lidé. Nejčastější příčina smrti byli těžké sekundární pneumonie [1], [3].

2.2.3 Hongkongská chřipka 1968 – 1969

Po jedenácti letech od poslední pandemie, byla virem typu A H3N2 vyvolána Hongkongská chřipka. Virus získal dva geny od ptáků zbytek od lidských chřipkových virů kolujících v populaci. Chřipka vypukla v červenci roku 1968 v Číně, v srpnu byla již na Tchaj-wanu, ve Vietnamu a Singapuru. V září dorazila do Indie a Austrálie. Rozšířila se do USA díky vojákům bojujícím ve Vietnamu a od začátku roku 1969 byla pandemie v celé Evropě a Africe. Průběh nemoci nebyl tak fatální jako u předešlých pandemiích a úmrtnost mezi starými lidmi byla nízká. Ve spojených státech zemřelo 33 tisíc lidí [1], [3].

2.3 Charakteristika virů obecně

Viry se považují za nejmenší mikroorganismy a liší se od ostatních agens svými biologickými vlastnostmi a strukturou. K množení potřebují buněčný aparát hostitelské buňky a nejsou citlivé na antibiotika. Způsobují závažná, ale i běžná onemocnění [4], [5].

Podle druhu hostitelské buňky, rozdělujeme viry na rostlinné, živočišné a bakteriální. Viry se klasifikují podle typu genetické výbavy na RNA nebo DNA. Dalším kritériem je velikost, přítomnost obalu, tvar, symetrie, místo replikace a počet kapsomer [5], [6].

2.3.1 Stavba viru

Kompletní virová částice se nazývá virion. Vnitřní část se skládá z nukleoidu, kde je svinutá nukleová kyselina. RNA nebo DNA může být ve formě jednovláknové, dvouvláknové, lineární či cirkulární. Vnější část je kapsida a celek se nazývá nukleokapsida. Bývá uspořádána do určité symetrie, podle uskupení kapsomer. Úprava může být helikoidální, kubická nebo komplexní. V některých případech je nukleokapsida obklopena ještě membránou či obalem, kterou získala z hostitelské buňky. Dělení na obalené a neobalené viry je velmi důležité pro způsob šíření viru. Neobalené viry jsou mnohem odolnější vůči přežití ve vnějším prostředí. Naopak obalené jsou citlivější na vnější prostředí, jakým je například kyselé prostředí v žaludku, žluč nebo vyschnutí [4], [5].

2.3.2 Replikace virů

Virus potřebuje pro svoji replikaci hostitelskou buňku. Prvním krokem je přilnutí viru na buňku, která má na svém povrchu specifické receptory. Tato buňka se nazývá vnímavá. Poté virion vstoupí do hostitele, kde dojde k odstranění obalu, nebo kapsidy a zůstane pouze DNA nebo RNA viru. Podmaní si metabolismus buňky, ta dále vytváří nukleové kyseliny a bílkoviny pro virus. Musí dojít k vytvoření nové nukleové kyseliny viru. Pokud se jedná o DNA, nejprve se nasyntetizuje m-RNA, která je tvořena RNA polymerázou od hostitelské buňky. Přepisuje se přímo DNA viru a vše probíhá v jádře hostitelské buňky. U syntézy RNA musí vir použít vlastní polymerázu, protože buňka nevyužívá RNA jako templát. Bílkoviny, které vytvořila buňka pro vir, se hromadí v jádře nebo cytoplasmě. Zde se shromažďují v nové kapsomery. Nová nukleová kyselina vstoupí do kapsomery a spolu tvoří novou nukleokapsidu. Obalené viry musí pro získání obalu pozměňovat buněčné membrány, aby se nakonec mohly jimi sami obalit a opustit buňku. Doba trvání replikace a počet nově vzniklých virionů se liší podle druhu [4], [5], [6].

2.3.3 Osud infikované buňky

Osud infikované buňky záleží na druhu viru, který jí napadl. Některé typy virů způsobují smrt buňky, aby mohlo dojít k uvolnění všech nových virových partikulí najednou. Lýzu buňky způsobují hlavně viry chřipky a polioviry. Takový typ nese označení lytická infekce. V dalších případech dochází k postupnému uvolňování viru z buňky. Tento způsob se nazývá pučení. Probíhá tak, že virové glykoproteiny se začlení do cytoplasmatické membrány buňky. Virion dále putuje těmi místy, kde jsou glykoproteiny, do té doby než vyjde z buňky ven. Buňka přežívá. Takové uvolňování z buněk je nejvíce známé u obalených virů. Viry získávají svůj obal z cytoplasmatické membrány. Pokud je nakažená osoba přenašečem, nazývá se tento typ infekce perzistentní. Dalším druhem nákazy je latentní infekce. U tohoto druhu zůstává virus němý. Jeho genetická informace zůstává v hostitelské buňce, nebo může být začleněna do genomu buňky. K replikaci dojde až po signálu, který umožní start zmnožení. Příkladem tohoto typu infekce jsou herpesviry. Známky poruch vzhledu a funkce se projevují ve tkáňové kultuře. Tyto změny se označují jako cytopatogenní efekt (CPE). V laboratoři, se díky cytopatogennímu efektu může poznat, o jaký druh viru se jedná. Pro většinu virů je permissivní jen určitá buněčná linie. Na ní vykazují pro daný virus specifický obraz CPE. U některých virů není cytopatogenní efekt jednoznačný a pozorování na CPE na rostoucí kultuře, nemusí znamenat replikaci viru [4], [5], [6].

Kromě latentní, perzistentní a lytické infekce dochází i k tomu, že některé viry hostitelskou buňku mění. Transformují jí do nádorové formy. U takových buněk se mění jejich vlastnosti. Mají znaky nádorových buněk. Například nekontrolovatelně rostou, tvoří mnohvrstevné shluky, mají schopnost způsobit tumory u pokusných zvířat nebo vytvářet nové antigeny. Procentuální zastoupení vzniku zhoubných nádorů je nízké. Literatura uvádí 10^{-5} [4], [5], [6].

2.3.4 Brána vstupu

Viry se do organismu dostanou několika způsoby. Nejčastější je přenos skrze inhalované kapky aerosolu a přenos z jiného nakaženého hostitele. Nejvíce náchylné jsou sliznice dýchacího a zažívacího traktu. Těmito branami vstupují nejvíce viry respirační a exantematické. Konkrétně může jít o virus chřipky, koronaviry, viry pravých i planých neštovic atd. Při poranění kůže, se viry mohou dostat do těla skrze ránu. Nejčastěji jsou to arboviry. Například při kousnutí klíštětem se do těla může dostat virus klíšťové encefalitidy. Další branou je dutina ústní, kudy se nejčastěji dostává do organismu virus herpes simplex. U těhotných matek je velké riziko přenosu na plod. Přes placentu proniká virus zarděnek a cytomegalovirus. Nebezpečí nákazy hrozí i v laboratoři při zpracování vzorků [5].

Virus se po proniknutí do těla začne množit v infikované buňce. Infekce může být lokalizována podle typu viru. Například rinoviry se pomnoží v horních cestách dýchacích. Tomuto prvnímu namnožení se říká primární pomnožení. Viriony, které opustily hostitelskou buňku, napadají sousední buňky a postupně jsou unášeny tělními tekutinami lymfatického systému a posléze krevním oběhem k cílovým orgánům. Přítomnost virů v krvi se označuje jako virémie. Mezi důležité cílové orgány patří velké žlázy, svaly, kůže a centrální nervový systém. U cílových orgánů je poškození největší. Dochází k poškození funkce, anatomické deformaci atd. Všechny tyto aspekty napomáhají při určování viru. Viry se vylučují z organismu sliznicemi, močí a krví [5], [6].

2.4 Virus chřipky

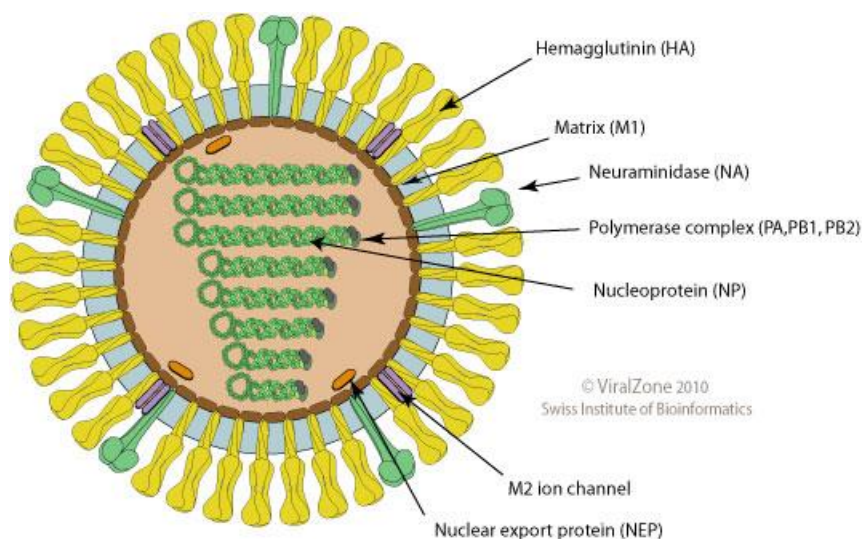
Viry chřipky jsou RNA-obalené a řadí se do čeledi *Orthomyxoviridae*. Rozeznáváme celkem tři typy A, B, C. Některá literatura rozděluje tyto typy do dvou skupin. Do první skupiny patří typ A a B. Přesněji se tedy jmenují rody *Influenzavirus A* nebo *Influenzavirus B*. Chřipkový vir C má jiné vlastnosti

a považuje se za zvláštní rod. Jiná literatura viry nerozděluje a řadí je do stejného rodu *Influenzavirus*. Všechny tři rody byly objeveny ve 20. století. Virus chřipky A objevili W. Smith, P. Laidlaw a C. H. Anders v roce 1933. O sedm let poté objevil virus typu B pan doktor T. Jr. Francis a v roce 1950 virus C. R. M. Taylor. V nedávné době byl u telat objeven nový typ viru chřipky - D. Jedná se o veterinární infekci, u lidí se nevyskytuje. Virus A způsobuje pandemie, které se objevují zhruba každých 30-40 let. Způsobuje zoonotickou infekci. Naopak virus chřipky B způsobuje epidemie. Jedná se primárně o lidskou infekci, i když v dnešní době byl ten virus popsán u tuleňů. U typu C se jedná hlavně o lokální infekci u lidí, kteří žijí blízko sebe. Například domovy pro seniory, budovy pro vojenský personál atd [1], [5], [6] [7].

2.4.1 Struktura

Chřipkový vir je pleimorfní, má nejčastěji sférický tvar o průměru 80 až 120 nm a je obalen lipoproteinovou membránou (Obr 1). Virus chřipky A, B má osm segmentů RNP (ribonukleoprotein a nukleokapsidový protein NP), u viru typu C je sedm segmentů RNP. Obsahuje vlákno RNA, které je stočené v helikoidální kapsidě. Dělení virů na typy A, B, C vychází z reakce nukleoproteinu se specifickými protilátkami při komplement fixační reakci. RNA vlákno musí být RNA-polymerázou přepsáno na m-RNA, z důvodu, že má negativní polaritu. Přímo na RNA jsou připojeny proteiny PB2, PB1 a PA, které tvoří spolu komplex reverzní transkriptázy, mají za úkol mj. transkripci RNA. Další bílkoviny viru jsou membránové proteiny M1 a M2. Jsou uloženy pod lipoproteinovou membránou. Protein M1 tvoří stavební část viru a díky němu má virus svůj tvar. Díky membránovému proteinu M2, který je pouze u viru typu A, je virus schopen v hostitelské buňce uvolnit genetickou informaci. Ve výběžcích je hemagglutinin (HA1, HA2) a neuraminidáza (NA). U chřipkového viru typu C není neuraminidáza, ale enzym acetyleráza. Celkem je známo 11 subtypů

neuraminidáz a 18 hemagglutininů, nejnovější subtypy (H17N10 a H18N11) přibyly od netopýrů [1], [3], [6], [8].



Obr 1 Schéma viru chřipky [9] .

HA – hemagglutinin, M1 – membránový protein, NA – neuraminidáza, PA, PB1, PB2 – polymerázový komplex, NP – nukleokapsidový protein, M2 – membránový protein, NEP - nukleový protein

2.4.1.1 Hemagglutinin

Jeho celková délka je asi 10 nm, přepisuje se ze segmentu HA jako monomer, který je štěpen proteázou na 2 podjednotky HA1 a HA2. Je to nejdůležitější antigen viru. Hlavní funkcí hemagglutininu je přichycení na receptor vnímavé buňky. Také má způsobnost shlukovat červené krvinky, díky tomu získal svůj název. Nejdříve je syntetizován jako HA, dále je rozložen na dimer HA1 a HA2, ukládán je jako trimer. Tvarem připomíná trojhranolek. Ve virionu se váže na membránový protein M1 přes lipoproteinovou membránu. Každý polypeptidový řetězec má svojí funkci. H1 je důležitý pro vazbu k receptorům hostitelské buňky, H2 funguje při splynutí membrán při vstupu virového genomu do cytoplasmy hostitelské buňky. Aby byla hostitelská buňka vnímavá, musí na svém povrchu mít receptor s kyselinou N-acetylmuramou (sialovou) [1], [6].

2.4.1.2 Neuraminidáza

Neuraminidáza je enzym hřibovitého tvaru, umístěný na povrchu viru mezi výběžky hemaglutininu. Skládá se ze čtyř polokulovitých jednotek spojenými disulfidickými můstky a tetrameru, který je přichycen do obalu k M1 proteinu. Hlavní funkcí neuraminidázy je štěpení sacharidové části glykoproteinů v hlenové vrstvě na povrchu buněk. Díky tomu se virus dostane do napadené buňky a dále štěpí kyselinu N-acetylmuranovou. V hostitelské buňce vzniknou nové virové částice. Při uvolnění z buňky ven získávají svůj obal, který obsahuje kyselinu sialovou. Díky neuraminidáze nedochází k tomu, že viry, které opustí buňku, se začnou shlukovat [1], [3], [6].

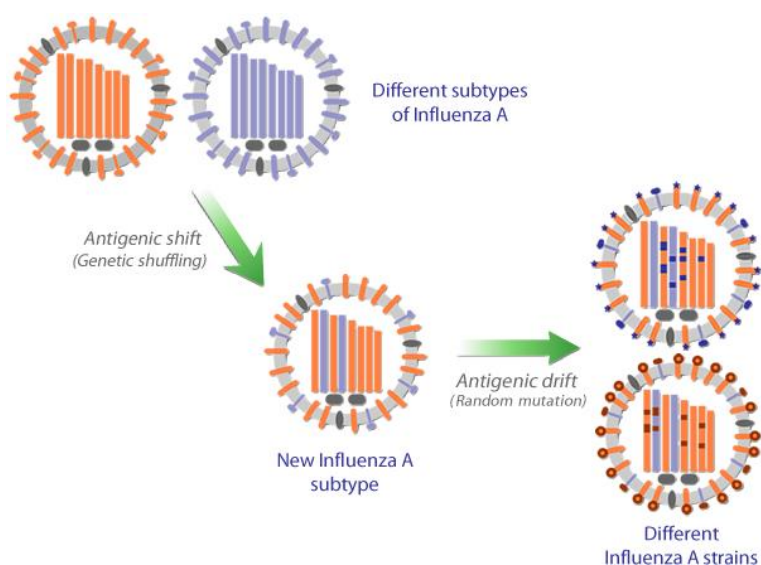
2.4.2 Replikace viru

Viry chřipky napadají buňky respiračního traktu. Buňka musí být vnímavá, aby se na ní virus přichytil. Vnímavá buňka musí být metabolicky vybavena a na svém povrchu mít receptory umožňující vazbu virionu. Bez toho není virus schopen realizovat svůj replikační cyklus. Pokud má buňka schopnost tvořit všechny části viru, říkáme jí permissivní. U člověka mají tuto schopnost pouze buňky dýchacího traktu. Právě proto virus chřipky napadá jen buňky respiračního traktu. Pokud buňka splňuje tyto podmínky, dochází k prvnímu kroku procesu replikace. Virus se naváže na derivát kyseliny sialové, která je na povrchu vnímavé buňky a v hlenu. Následně dojde k proniknutí viru do buňky. Tento proces se nazývá endocytóza. Virus se dostane do endozomu a obal viru splyne s jeho membránou. Nukleokapsida se obnaží a putuje do jádra buňky, kde je rozložena buněčnými proteázami. RNA-polymerázy zařizují přepis genomu a segmenty jsou přepisovány do jednotlivých polypeptidů. Postupně vzniká hemaglutinin, který se poté rozloží na HA1 a HA2. K nově vytvořenému genomu se připojují nové proteiny nukleokapsidy. Z hostitelské buňky se nový virion dostává procesem pučení. Tím získává svůj lipoproteinový obal [1], [3], [6].

2.4.3 Antigenní shift a drift

Typická vlastnost chřipkového viru je jeho schopnost měnit se, čímž se odlišuje od ostatních virů, kteří takovou schopnost nemají. Díky této vlastnosti vznikají pandemie a epidemie. Hlavním důvodem je změna genetického segmentu kódující hemaglutinin nebo neuraminidázu. V populaci nejsou proti novým povrchovým antigenům protilátky a virus se může volně šířit. Na základě testování chřipkového viru A se ukázalo, že existují dvě varianty změn. První je antigenní shift a druhý je antigenní drift [1], [6].

Antigenní shift vzniká na základě změny genetické informace, která kóduje povrchové glykoproteiny (Obr 2). Objevují se nové antigeny hemaglutininu a neuraminidázy. Většinou mají typické rysy pro jiný hostitelský druh. Například pro ptáky, prasata, koně, ale u člověka se objevují poprvé. Tyto znaky jsou typické pro druh A, u kterého se pouze shift vyskytuje. Je známo 18 hemaglutininů a 11 neuraminidáz, které mají podobné znaky jako ty lidské [1], [6].



Obr 2 Vznik antigenního shiftu [10].

Antigenic shift – antigenní shift, Different subtypes of Influenza A – rozdílné podtypy chřipky A, New Influenza A subtype – nový podtyp chřipky A, Antigenic drift – antigenní drift, Different Influenza A strains – různé kmeny chřipky A

Antigenní drift, neboli posun, je vytvořen změnami v oblasti genomu HA a NA na segmentu RNA 4. nebo 5. Drift se velmi často vyskytuje u viru typu A, ale i B. Vzniká v důsledku nedokonalé virové replikace v souvislosti přirozených selekcí vznikajících mutant viru chřipky. K substituci genové informace nedochází. Posun bývá často bezvýznamný, ale může dojít i k velké změně. Chřipkový vir typu B způsobuje epidemie zhruba jednou za pět let. Celosvětové pandemie nevznikají, protože u toho druhu nedochází k velkým změnám genetického kódu obou povrchových antigenů [1], [6].

Podle pozorování byla vyvinuta teorie vzniku antigenního shiftu. Ptačí virus chřipky není ve většině případů schopen napadat lidské buňky respiračního traktu. Dnes jsou však známy i případy, kdy ptačí virus napadl nejdříve lidské buňky a poté byl přenesen dál. A naopak lidský chřipkový virus nemůže napadat ptačí buňky. Zjistilo se ale, že v respiračním traktu vepřů mohou existovat oba dva typy viru vedle sebe, jak lidský, tak ptačí. V průběhu replikace dochází k přeskupení genetické informace kódující buď hemagglutinin nebo neuraminidázu. Tím se tedy může dostat do genomu chřipkového viru člověka genetická informace, která kóduje hemagglutinin u ptačího viru. Vzniká nový virus, který je lidský, ale na svém povrchu má nové povrchové antigeny [1].

2.5 Přenos a zdroj

U chřipkového onemocnění je hlavním zdrojem nákazy nemocný člověk. V některých případech to mohou být i živočichové. Od prvního do čtvrtého dne nemoci je pacient nejvíce nakažlivý. Infekce se přenáší drobnými kapénkami vzduchem, nebo mohou být kontaminovány předměty v blízkosti nemocného. V prachu virus přežívá až 14 dní. Rezervoárem viru chřipky jsou většinou ptáci. Může to být jak ptactvo domácí, tak i volně žijící. U ptáků je virus latentní v zažívacím traktu. Svým trusem mohou kontaminovat krmivo drůbeže, slanou

nebo sladkou vodu, a tím se nákaza může šířit dále. Infekční dávka není vysoká. Pokud se jedná o nový pandemický druh, stačí velmi nízká dávka [1], [3], [11].

2.6 Průběh a klinický obraz chřipky

Literatura uvádí, že chřipka způsobuje 10-20 % respiračních nákaz. Virus chřipky A napadá jak lidské buňky, tak některé druhy zvířat. Druh B způsobuje onemocnění jenom u lidí a typ C napadá lidi i vepře. Nejvíce závažná onemocnění vyvolá typ A, který způsobuje celosvětové epidemie. Druh viru B přivodí spíše lokální epidemie a nákaza má mírný průběh. Často bývá současně s chřipkou A. Nejvíce bývají postiženy děti a mladiství. Nákaza, která je způsobena chřipkou C má klinické projevy jako nemoc „z nachlazení“. Průběh chřipky záleží na věku nemocného a na jeho tělesném stavu. Nejvíce bývá postižena starší populace, oslabení lidé a pacienti s onemocněním srdce a plic. Přecházení chřipky způsobuje velké komplikace ve všech věkových kategoriích. Chřipkový virus napadá hlavně buňky na sliznicích respiračního traktu a prochází také placentou. Období od nákazy virem a prvním projevem chřipky je velmi rychlý. Uvádí se, že známky nákazy se projeví za 18-24 hodin. Vše začne rychlým nástupem horečky 38-40°C, která je doprovázená zimnicí a třesavkou. Další prvotní příznaky jsou bolesti hlavy, kloubů, očí, zad a svalů, nevolnost, průjem nebo zácpa. Člověk je celkově velmi unavený a někteří pacienti uvádí světloplachost a ztuhlost šíje. Druhotnými příznaky jsou problémy spojené s horními a dolními cestami dýchacími. Obtíže jsou hlavně pocit ucpaného nosu, suchý dráždivý kašel, bolest v krku a pálení očí. Suchý kašel se postupně mění na produktivní hlenovitý kašel. Prvotní příznaky, jako vysoká horečka, bolest hlavy, nevolnost, odezdí do tří dnů. Postižení horních a dolních cest dýchacích a celková únava přetrvává i několik týdnů [1], [3], [11].

2.6.1 Komplikace chřipky

Komplikace chřipky se nejvíce objevují u dětí předškolního, ale i školního věku, u starších a imunitně oslabených osob. Týká se to osob s cystickou fibrózou,

chronickou obstrukční nemocí plic, onemocněním srdce, cirhózou jater, diabetem mellitus atd. Plicní komplikace se dělí na primární a sekundární. Primární jsou způsobené přímo chřipkovým virem. Nejčastěji to bývají primární chřipkové pneumonie a dochází k nim v druhé a třetí vlně pandemie. Po prvotních příznacích dochází ke zhoršení kašle, objevuje se dušnost a cyanóza spojená s akutní dechovou tísní. Prognóza u pacientů je velmi špatná a na tyto komplikace umírá až polovina nemocných v době pandemie. Sekundární potíže bývají nejvíce vyvolané bakteriální superinfekcí. Nejčastější sekundární komplikace jsou bronchopneumonie. U zdravých jedinců jsou dolní dýchací cesty sterilní a jsou chráněny řasinkovým epitelem. V průběhu onemocnění chřipkový virus ničí tento epitel a dolní dýchací cesty bývají napadány bakteriemi. Hlavně jsou to bakterie *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* a *Haemophilus influenzae*. Komplikace se objeví zhruba po 4-14 dnech po odeznění příznaků chřipky. Dochází znovu k horečkám, produktivnímu kašli a pacient vykašlává hnisavé sputum. Nerespirační komplikace se nevyskytují v epidemiích často, hojně se však vyskytují v pandemiích. Někdy se vzácně u nemocných objevují komplikace centrálního nervového systému. Jedná se o meningitidy, encefalomyelitidy a polyneuritidy. Po chřipce způsobené typem A nebo B můžeme pozorovat u větších dětí a dospělých myozitidy. Vzácně se může vyskytovat toxický šok, který v 40 % způsobuje smrtelné příhody. Lidé mají potíže s kardiovaskulárním systémem. S typem B je spojován Reyův syndrom, který u dětí způsobuje závažné komplikace. U dětí jsou často popisovány komplikace gastrointestinálního traktu [1], [3], [4], [11], [12].

2.7 Výskyt onemocnění

Chřipkový virus koluje v populaci neustále. Nejvíce se projevuje v epidemickém období. V České republice toto období trvá většinou od konce ledna do konce března. Dlouhé je zhruba 5 až 8 týdnů. Někdy je nástup i konec epidemie velmi rychlý. Hodně nemocných může přibývat již během prosince. V období Vánoc

počet pacientů klesá a další vlna přichází po Novém roce. Chřipková sezóna se netýká jen České republiky, ale i zbytku světa. V období od října do dubna je zvýšená aktivita chřipky na severní polokouli, a naopak od dubna do října je to na jižní polokouli [1], [11].

Pandemie se nevyskytují každý rok, protože jsou spojena s antigenním shiftem. S antigenním driftem souvisí epidemie, které jsou častější. Způsobují velké ekonomické, zdravotnické a sociální problémy. Proto je potřeba důkladně sledovat aktuální počet nemocných. Monitorují se akutní respirační onemocnění (ARI), které se následně statisticky zpracovávají. Bohužel mnoho nemocných neumí rozeznat chřipku od ostatních onemocnění horních cest dýchacích. Byl tedy zaveden další termín ILI (Influenza Like Illness), aby došlo ještě k většímu, přesnějšímu rozdělení. Do ILI se řadí pacienti s horečkou 38°C, kašlem a bolestí v krku. Pokud tedy pacient nemá takové příznaky, je zařazen do ARI [1].

2.8 Surveillance chřipky

Sledování výskytu chřipky musí být ve světě i v České republice monitorováno. Proto je surveillance neboli bdělost, dohled nad chřipkou, nejdůležitější metoda kontroly šíření této nemoci. V České republice se sledují počty absolutních a relativních nemocí akutních respiračních infekcí a komplikace s infekcemi spojené. Každý týden se shromažďují data od pediatrů a praktických lékařů. Zhruba je zapojeno 3500 praktických lékařů. Těmito daty se u nás zabývá Státní zdravotní ústav. Tento systém hlášení se jmenuje sentinelový. Existuje v mnoha zemích. Například v USA, Francii, Anglii, Walesu anebo v Německu. Hlásí se i počet pracovních neschopností, počet prodaných léků na léčbu chřipky, počet hospitalizovaných pacientů, počet mrtvých apod. Sledují se také výsledky virologických vyšetření a data ze sérologických přehledů. Hlavním cílem surveillance je shromažďovat veškerá data o chřipce a dále je poskytovat veřejnosti. Nahromaděná data napomáhají k vyhodnocení, prevenci a kontrole

nemocnosti a úmrtnosti. Aby byla surveillance účinná je nutné dodržovat několik kroků. V první řadě je důležité zachytit počátek epidemie chřipky a po celou dobu sbírat izoláty viru, aby se zjistily jednotlivé typy. Tyto údaje poslouží WHO, která rozhodne, jaké složení bude mít vakcína proti chřipce na další sezónu. Údaje se shromažďují a vždy na přelomu února nebo března se rozhoduje o složení vakcíny na příští rok. Tvorba nové vakcíny musí být velmi rychlá. Je nutné, aby se příprava, výroba, klinické hodnocení a registrace stihla do září téhož roku. Obvykle inaktivovaná, štěpená nebo subjednotková trivaletní vakcína obsahuje 3x 15 µg antigenů tří aktuálních kmenů chřipky. Jedná se o dva kmene chřipky A a jeden B. Dalším úkolem je sledovat chřipku a chřipce podobné onemocnění v populaci a vyhodnocovat rozsah a úmrtnost. Určit jaké procento zastupuje virus chřipky a co způsobují respirační patogeny při těchto onemocnění. V mezi epidemických obdobích jsou viry chřipky diagnostikovány málo, převažují spíše rinoviry. Základem monitoringu antigenního driftu a shiftu chřipkových kmenů kolujících v populaci je virologická laboratorní diagnostika [1].

V roce 1948 byla Světovou zdravotnickou organizací založena mezinárodní surveillance chřipky. Zároveň se WHO postavila do čela všech laboratoří, které monitorují výskyt a šíření chřipkových kmenů či subtypů v populaci. Rozdělujeme mezinárodní referenční centra a národní chřipková centra WHO, každé má jinou funkci. Mezinárodní centra jsou celkem čtyři, v Atlantě, Londýně, Melbourne a v Tokiu. Kromě těchto čtyř center, je ještě jedno v Memphisu ve státě Tennessee, které zkoumá vztah mezi lidskými a zvířecími kmene a sleduje výskyt zvířecích druhů chřipkového viru. Hlavními úkoly jsou uchovávat různé kmene virů, školit pracovníky národních laboratoří, doporučovat reagentie, postupy aj. Naopak národní chřipková centra WHO mají jiné úkoly. V první řadě sledují aktivitu chřipky a jí podobných onemocnění. Provádějí izolace viru na tkáňových či vaječných kulturách s následnou identifikací. Vyšetřují titry protilátek v séru nebo vykonávají rychlou diagnostiku. Všechny výsledky zasílají do mezinárodních referenčních center WHO, kde jsou dále zpracovávány. Kromě mezinárodních

a referenčních center WHO, byla v roce 1984 zřízena informační síť s názvem EuroGROG. Zabývá se změnami v datech o epidemiologii chřipky mezi národními centry regionu a ostatními institucemi v Evropě. Celkem spojuje 27 národních chřipkových center. Mezi další sítě patří, od roku 1995, EISS pod vedením Nizozemského institutu pro primární péči v Utrechtu. Česká republika se stala členem mezi roky 1997-1998. Na serveru Světové zdravotnické organizace pod zkratkou FluNet je možné dohledat mapy, grafy, týdenní hlášení o výskytu chřipkových kmenů, včetně ČR a další zajímavé informace [1].

2.8.1 Pandemický plán

Celosvětové pandemie chřipky se neobjevují každý rok, ale s časovým odstupem. Od poslední velké pandemie uběhlo mnoho let, proto je velká pravděpodobnost vzniku pandemie v nejbližší době. Světová zdravotnická organizace vypracovala podrobný pandemický plán. Popsané jsou v něm přesné postupy, které se v době pandemie musejí dodržovat. Například se v něm uvádí, jaké musejí být zásoby antivirových léků. WHO si bere ponaučení z minulých velkých pandemií. Zapojit se musí celá společnost, ne jen zdravotnický sektor. Velmi důležitá je vzájemná spolupráce mezi jednotlivými státy v době pandemie. Světová zdravotnická organizace klade také velký důraz na to, aby každý stát měl vytvořený národní pandemický plán. Česká republika má vytvořený pandemický plán z roku 2011. Řídí se doporučením WHO a Evropské unie pro národní pandemické plánování. Vznikl ve spolupráci Ministerstva zdravotnictví České republiky s dalšími ministerstvy [1], [13].

2.9 Léčba

Léčba chřipkového onemocnění se rozděluje na dvě základní. Pokud se jedná o nekomplikovanou chřipku, je léčba symptomatická. To znamená, že se léčí příznaky chřipky a pacientovi je doporučen klid na lůžku. V případě komplikací, nebo u vysoce rizikových pacientů, se berou léky přímo proti působení viru, léčba

je tedy příčinná. Léky, které se používají při léčbě virových onemocnění, se označují antivirotika [3], [11].

2.9.1 Symptomatická léčba

Hlavní skupina léku, které se při symptomatické léčbě užívají, jsou antipyretika a na bolest analgetika. Dětem se nepodávají léky s kyselinou acetylsalicylovou. Její podání společně s chřipkou může vést k rozvoji Reyeova syndromu. Při vysokých teplotách se podává paracetamol, v některých případech stačí studené zábaly na 10 minut. U kojenců je nutné odsávat nosní sekret, aby se infekce nedostala do středouší. Pro utlumení kašle jsou antitusika. Při léčbě je nutný klid na lůžku a podávání nápojů v dostatečném množství. Rekonvalescence by měla být minimálně 14 dní. Komplikace způsobené bakteriální infekcí nejsou příliš časté. U dětí se může rozvinout akutní zánět středního ucha a u dospělých záněty obličejových dutin. Tyto komplikace se musejí léčit antibiotiky [1], [11].

2.9.2 Kauzální léčba

Kauzální neboli příčinná léčba je přímo zaměřena na potlačení příčiny onemocnění. V případě chřipky je to virus. Ke starší generaci antivirotik patří amantadin a rimantadin. Ty se využívají od roku 1966. Dnes se jejich podávání omezuje pouze na profylaxi. Novější generaci léků představují zanamivir a oseltamivir [1], [3], [11].

2.9.2.1 Amantadin a rimantidin

Amantadin a rimantidin působí hlavně proti viru chřipky A. Funkce těchto antivirotik spočívá v inhibici funkce proteinového kanálu M2 u chřipkového viru A. Z toho vyplývá, že vir se nemůže v citlivé buňce odhalit a dochází k zástavě replikace. Amantadin je nejvíce účinný, pokud se podá do 72 hodin od prvních příznaků. Dávkování se u dospělých osob doporučuje 2 x 100 mg za den. Tento lék je odbouráván ledvinami. Nemetabolizovaný je vylučovaný močí, a to jak

glomerulární filtrací, tak i tubulární sekrecí. Tudíž je velmi důležité u pacientů s poruchou ledvin, sledovat hodnoty ledvinové clearance a snížit dávku léku. Doporučuje se u starších osob a nemocných snížit dávku na 100 mg/den. Naopak od amantadinu je rimantadin metabolizován výrazněji. A to z 65 % v játrech, 20 % ledvinami a 15 % močí. Není nutná snížená dávka u osob s lehce sníženou funkcí ledvin nebo chronickým onemocněním jater. U nemocných s těžkým poškozením jater, nebo pokud hladina ledvinové clearance je menší než 10 ml/min, je doporučeno snížit dávku na 100 mg jednou denně. U hemodialyzovaných pacientů není nutné zvyšovat dávku při užívání amantadinu nebo rimantadinu. Pokud pacient užívá současně s amantadinem nebo rimantadinem další léky, jako například antihistaminika, antidepresiva či léky na srdce, zvyšuje se tím riziko vzniku toxických změn CNS. Může dojít ke snížení ledvinové clearance. Často se při užívání těchto léků projevují vedlejší účinky. Objevují se hlavně u starších, ale i mladších osob během prvních dnů léčby. Projevy jsou bolesti hlavy, poruchy spánku, nechutenství, stavy deprese, schopnost soustředit se, křeče, nespavost a jiné. Obvykle stačí vynechat jednu dávku léku, nebo celkově snížit dávku a nežádoucí účinky zmizí. Jinak u zdravých pacientů nezpůsobují závažné poškození zdraví. U osob s renální insuficiencí dochází k třesu, poruchám srdečního rytmu, záškubům, klonickým křečím až ke kómatu. Amantadin by se neměl užívat v těhotenství, protože způsobuje poškození plodu [1], [11].

2.9.2.2 Zanamivir a oseltamivir

Díky nežádoucím účinkům, neúčinnosti proti viru chřipky B a vzniku rezistentních kmenů při léčbě amantadinem nebo rimantadinem, byly vytvořeny nové léky. Zanamivir a oseltamivir specificky inhibují neuraminidázu chřipkového viru. Hlavní funkce spočívá v tom, že brání nově vzniklým virům chřipky, aby opustili poškozenou hostitelskou buňku. Vir se nemůže tedy šířit na vnímavé epiteliální buňky. Působí jak proti viru typu A, tak B. Zanamivir je v České republice registrován od roku 2001. Aplikuje se inhalačně, systémem diskhalerem.

Doporučuje se inhalovat 2 x 10 mg za den po dobu pěti dnů. Dobré je zahájit léčbu co nejdříve. Pokud se lék podá do 12 hodin od počátku prvních příznaků, může to zkrátit dobu onemocnění až od dva dny. Zanamivir je pro tělo bezpečný, není toxický, nezatěžuje organismus a v nezměněné podobě je vylučován ledvinami. Z toho vyplývá, že není potřeba upravovat dávky u pacientů s poškozením jater či ledvin, jako tomu je u amantadinu nebo rimantidinu. U tohoto léku jsou minimální vedlejší účinky a nejsou známy interakce s jinými užívanými léky. Zanamivir by se neměl podávat dětem mladším 12 let. Dalším lékem je oseltamivir, který je v ČR registrován pod názvem Tamiflu. Oseltamivir je léčivo, který se střevními nebo jaterními esterázami přeměňuje na aktivní metabolit. Podává se perorálně a v největší míře je nezměněn vylučován močí. Doporučená denní dávka je 2 x 75 mg po dobu pěti dnů. U pacientů se sníženou hladinou clearance pod 30 ml/min se podává 75 mg jednou denně. Zahájení užívání by mělo být do 48 hodin od prvních příznaků chřipky. Tím se průběh chřipky může snížit až o tři dny. Pokud se oseltamivir začne brát po pěti dnech, průběh chřipkového onemocnění není ovlivněn. Vedlejší účinky se projevují hlavně u starších osob, nebo při užití na lačno. U osob se může vyskytovat průjem, zvracení a nauzea. Jinak bývá obecně oseltamivir dobře snášen. Terapeuticky je vhodný pro děti od 1 roku a profylakticky pro děti starších 13 let [1], [11].

2.10 Očkování

Očkování představuje nejdůležitější formu prevence proti chřipce. U zdravých a mladých osob zabrání nemoci a to v 70-90 %. U starších osob se riziko komplikace a hospitalizace sníží až o 80 %. První chřipkové vakcíny, které vznikly ve 40. letech 20. století, měly mnoho vedlejších účinků. Až v 70. letech se objevily vakcíny, které se podobaly těm dnešním [1], [11], [14].

2.10.1 Vakcíny

Očkovací látka by v ideálním případě měla vytvářet protilátkovou odpověď (B-buněčnou) a aktivovat T-buněčnou složku imunity. Zároveň by neměla být pro tělo nebezpečná, být tepelně stabilní a imunologicky účinná, splňovat požadavky reaktogenity. Rozdělujeme tři základní skupiny látek, ze kterých jsou tvořené vakcíny, podle toho, jaký antigen převládá. Jako první jsou T-I (na thymu nezávislé) exogenní antigeny, další jsou T-D (na thymu závislé) antigeny. Do druhé skupiny patří například proteiny virů nebo bakterií [1].

Vakcína proti chřipce je konstruována tak, že aktivuje pouze B buňky, tudíž je její funkce krátkodobá a nevyvolává komplexní imunitní odpověď. V současnosti jsou vakcíny dostupné trivalentní či tetravalentní a dělí se do tří skupin. U všech tří typů je povrchová koncentrace antigenů podobná, ale liší se v jiných bodech. První je inaktivovaná celovirionová vakcína, která obsahuje celý inaktivovaný virus. U nás se tato vakcína nepoužívá. Druhým typem je inaktivovaná štěpená, také se nazývá split vakcína. Ta neobsahuje celý virus, ale jeho rozštěpené povrchové části. Doporučuje se starším osobám, vedlejší účinky jsou minimální a imunogenita je dostatečná. Posledním druhem je inaktivovaná subjednotková vakcína obsahující jenom zevní antigeny hemagglutinin a neraminidázu oddělené od viru. Imunogenita i reaktogenita jsou u této vakcíny nízké, protože látka neobsahuje lipidické vrstvy. Očkovací látky se obvykle skládají ze tří kmenů chřipkových virů. Jedná se o dva subtypy A jeden subtyp B, které v předešlé sezoně způsobily nejvyšší nemocnost. Vakcína se každý rok mění, kvůli proměnlivosti chřipkového viru. Tudíž se očkování každý rok opakuje. Vědci se snaží vytvořit vakcínu, která by se nemusela každý rok aplikovat znova, ale byla by schopná se podřídit změnám viru. Doporučení plyne od Světové zdravotnické organizace, která sleduje dané chřipkové období a následně vytvoří výběr virů na základě sběru kmenů z jednotlivých zemí pro severní a jižní polokouli zvlášť [1], [11], [14].

2.10.2 Cílové skupiny

Chřipka každoročně zapříčiní velkou nemocnost v populaci a ekonomické ztráty. Proto je očkování proti chřipce velmi důležité. Sníží se tím počet nemocných při epidemiích. Očkování se provádí starším osobám nad 65 let a rizikovým skupinám populace (Tabulka 1), kteří mají vysoké riziko komplikací a úmrtí. Lze ho uhradit z prostředků veřejného zdravotního pojištění. U starších osob dochází v pokročilém věku ke změnám funkce imunitního systému. Dále se očkování provádí u osob, které žijí v různých sociálních zařízeních, jako jsou domovy důchodců nebo léčebny. Dobré je doporučit očkování osobám, které přicházejí do styku s rizikovými pacienty a mohli by chřipku přenést. Jedná se především o rodinné příbuzné a zdravotnický personál. Očkovat proti chřipce je doporučeno lidem, kteří často cestují do tropických zemí, ale i lidem pracující v důležitých oblastech služeb. Například učitelé, dopravci, policie a hasiči. V neposlední řadě se vakcinace doporučuje těhotným ženám, nebo ženám, které plánují těhotenství v chřipkovém období. V neposlední řadě je doporučené očkování lidem trpící obezitou. V České republice se očkování provádí každý rok a nejlépe od září do listopadu. Častěji se doporučení vakcinace soustřeďuje na rizikové a starší osoby, kteří jsou více ohrožené, ale chřipka může postihnout všechny věkové kategorie v době epidemií a pandemií. Bohužel i přesto se v dnešní době nechává očkovat jen velmi úzká skupina populace. Například ze zdravotníků v ČR, kteří mohou chřipku dostat od hospitalizovaných pacientů, je jich jenom 6 % očkovaných. Ve světě pouze 20 %. Celkově se proočkovanost v České republice pohybuje kolem 2-4 %. Výjimky očkování proti chřipce jsou u osob, kteří mají riziko vzniku alergické reakce, nebo kteří prodělávají jinou infekci [1], [3], [11], [14], [15], [16], [17].

Tabulka 1 Rizikové skupiny osob pro očkování [1]

| |
|---|
| Chronická onemocnění dýchacího systému – astma, chronická obstrukční nemoc plic |
| Diabetes mellitus (farmakologicky léčený) |
| Chronická onemocnění srdce a cév |
| Chronická onemocnění ledvin a jater |
| Osoby s nedostatečností imunitního systému (vrozenou nebo získanou) |
| Osoby s poruchou funkce průdušek a plic |
| Osoby po mozkové nebo srdeční příhodě |

Vakcína se aplikuje intramuskulárně. Po jednom týdnu má protilátky téměř 60 % očkovaných osob. A po dvou týdnech se vytvoří u všech. Mezi 4. až 6. týdnem je hladina protilátek nejvyšší, ale postupně klesá. Po půl roce se jejich počet zmenší na polovinu. U dětí, které nepřišly do styku s virem chřipky, je doporučeno dávku vakcíny opakovat po 28 dnech. U dospělých a starších dětí, stačí pouze jedna dávka vakcíny za rok. Nežádoucí účinky po očkování se objevují jen zřídka. Většinou se jedná o otok či zarudnutí v místě vpichu. Dále se může objevit únava, zvýšená teplota, bolest hlavy, nevolnost apod. Velmi závažné vedlejší účinky se skoro vůbec neprojevují [1], [3], [11], [14].

2.11 Laboratorní diagnostika

Laboratorní diagnostika slouží jako hlavní kontrola této nemoci a je důležitým nástrojem pro léčbu pacienta. Materiál, který se využívá k diagnostice je nejčastěji výtěr z nosu nebo nosohltanu, endotracheální a bronchoalveolární laváž, venózní krev. Odebírá se co nejdříve od začátku onemocnění, nejlépe do tří dnů [1], [11].

Existuje celá řada metod, které dokáží chřipkový virus identifikovat. Jako metoda první volby se dnes používá polymerázová řetězová reakce (PCR). Přesněji PCR v reálném čase nebo RT-PCR (reverzní transkripce). Doba trvání je rychlá a prokazuje se tím přítomnost virové RNA. Do několika mála hodin může mít lékař výsledek. Dále se virus dá izolovat. Izolace viru slouží jako přesná a detailní antigenní charakteristika. Pomnoží se na tkáňových kulturách a laboratoř s ním dále pracuje. Jako tkáňové kultury se nejčastěji využívají kuřecí embrya a buňky MDCK. MDCK je stabilní kultura, buňky jsou izolované z psích ledvin. Materiál se očkuje na tkáňovou kulturu, která je plněna narostlá na zkumavkách. Pro průkaz viru se používají krvinky. Nejčastěji se využívají morčecí krvinky. Nevýhodou izolace je delší doba trvání. Izolace viru se hlavně využívá pro strategii přípravy vakcín. Další z metod stanovení je detekce antigenu. Využívá se převážně v primární péči nebo u lůžka pacienta v nemocnicích. Metoda je velmi rychlá a slouží hlavně v případech, kdy lékař potřebuje co nejdříve znát příčinu onemocnění, aby se popřípadě zahájila protivirová léčba. Test je levný, ale má více limitů než výhod. Jako poslední skupinou metod jsou sérologické testy, které jsou založené na reakci mezi antigenem a protilátkou. Materiál se využívá plná venózní krev. Stanovuje se hladina protilátek, přesněji reakce imunitního systému pacienta na infekci. Aby byla metoda, co nejefektivnější je dobré sledovat titer protilátek v párových sérech. To znamená, že první vzorek krve by měl být odebraný v akutní fázi onemocnění a druhý v rekonvalescentní fázi, zhruba po 14 dnech. Metoda je, ale tím pádem zdlouhavá. Jednou z metod je komplement fixační reakce (KFR). Princem reakce je, že protilátka aktivuje antigen a vznikne komplex, na který se váže komplement, ten poté ztrácí svojí schopnost hemolyzovat krvinky. Další metoda je hemaglutinačně inhibiční test (HIT). Princip testu spočívá v tom, že specifická protilátka se naváže na specifický antigen, který se přidá. Vznikne vazba, kterou antigen ztrácí schopnost hemaglutinace přidaných krvinek. Pokud výsledek je pozitivní dojde ke kompletní aglutinaci. Využívá se i metoda ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*).

Při níž zjišťujeme antigen nebo protilátku, tím, že jedna ze dvou složek je navázána na nosič. Nosičem je dno mikrotitrační destičky nebo zkumavky. K navázané složce se přidá stanovovaná látka (antigen/protilátka), další látka (antigen/protilátka) s navázaným enzymem, na závěr se přidá substrát. Mezi jednotlivými kroky se promývá a inkubuje. Obvykle má každá laboratoř svoje postupy a komerčně připravené soupravy. Výsledek se hodnotí fotometricky na základě barevné změny mezi enzymem a substrátem [1], [5], [11], [18].

2.12 PCR

Polymerázová řetězová reakce je metoda, při níž se amplifikuje vybraná sekvence nukleové kyseliny. Podmínkou pro tuto metodu je znalost úseku DNA, který se má namnožit. Ten musí být na začátku a na konci označen primery. Nově vznikající specifický DNA produkt o přesně vymezené délce přibývá v průběhu PCR exponenciálně. Než reakce začne, musí se připravit reakční směs, která se skládá z templátu, primerů, DNA polymerázy a základního reakčního roztoku. Templátu stačí velmi malé množství, ale nesmí být kontaminovaný jinou DNA. Jako primery se využívají oligonukleotidy, které musejí být specifické pro amplifikovanou sekvenci a neměly by být vzájemně komplementární. Nejdůležitější primery jsou F a R. Kdy F je komplementární k 5'konci a R k 3'konci. DNA polymeráza musí být termostabilní, využívá se *Taq* polymeráza z bakterie *Thermus aquaticus*. Základní reakční roztok musí obsahovat všechny čtyři deoxynukleositrifosfáty, pufr, soli a Mg^{2+} ionty, které slouží jako kofaktor polymerázy. PCR reakce má tři základní kroky. Prvním krokem je denaturace dvouřetězcové DNA. Probíhá při teplotě 95-98°C. Dochází k rozpadu vodíkových můstků mezi vlákny DNA a tím dojde k rozdělení. Ze dvou spojených vláken DNA vzniknou dva oddělené řetězce. Následně nastává hybridizace jednořetězcové DNA se specifickým primerem. Hybridizace (*annealing*) probíhá při teplotě 50-65°C. Teplota musí být vhodná pro použité primery. Posledním, tedy třetím krokem je syntetická fáze, nazývá se též elongace, extenze, která probíhá při teplotě 70-80°C.

Oligonukleotidy, které dosedly na jednořetězcovou DNA slouží nyní jako primery pro DNA polymerázu. Od jejich 3' konce začíná syntéza nového řetězce. Tyto tři kroky se opakují zhruba 30 krát za sebou. Amplifikace DNA probíhá pomocí přístroje *Thermocycler*, kde základním prvkem je tepelný blok s otvory na reakční zkumavky a vyhřívané víko. Pokud je místo DNA nutno amplifikovat m-RNA, je PCR spojená s reverzní transkripcí (RT-PCR). Prvním krokem je izolace celkové RNA nebo m-RNA. Poté následuje převedení m-RNA na c-DNA pomocí enzymu reverzní transkriptázy a posléze pokračuje klasická PCR reakce. Hlavní využití RT - PCR je ve virologii k určení RNA-virů [5], [18].

3 CÍL PRÁCE

Cílem této bakalářské práce je statisticky zpracovat data z 12 měst Středočeského kraje a porovnat výskyt akutních respiračních onemocnění mezi jednotlivými městy od 1. ledna 2018 až do 31. března 2018.

Dalším cílem je statisticky zpracovat data o chřipce, poskytnutá Klinickou laboratoří Oblastní nemocnice Kladno za období od 1. ledna 2018 – 31. března 2018. Data budou rozdělena podle počtu zpracovaných vzorků, jejich pozitivita a typu chřipkového viru. Selektována budou data i podle pohlaví a věkových kategorií.

Posledním zvoleným cílem je seznámit se s možnostmi laboratorní diagnostiky chřipkového viru, zejména se zaměřením na možnosti stanovení v Klinické laboratoři, úsek mikrobiologie v Oblastní nemocnici Kladno.

4 METODIKA

Správná metodika pro stanovení chřipkového viru se skládá z několika kroků a procesů. Odběr a transport materiálu do laboratoře jsou fáze, které probíhají mimo laboratoř. Správné provedení těchto kroků je velmi důležité pro další zpracování vzorku. Příjem a laboratorní diagnostika probíhají v mikrobiologické laboratoři.

4.1 Odběr

Odběr se provádí v akutní fázi infekce, to znamená v prvních třech dnech od rozvoje klinických příznaků onemocnění. Tabulka 2 uvádí, jaký typ materiálu a jaká odběrová souprava se využívá [19].

Tabulka 2 Typ materiálu a odběrová souprava pro stanovení chřipky [20]

| Typ materiálu: | Odběrová souprava: |
|-------------------------|--|
| Nasopharyngeální laváž | Sterilní zkumavka |
| Bronchoalveolární laváž | Sterilní zkumavka |
| Nasopharyngeální výtěr | ESwab (zkumavka + odběrový tampon), dále se přikládá ještě jeden odběrový nylonový tampon (pro stěr z nosních dírek) |

Odběr musí být sterilní a provádí se v beztalkových rukavicích. Talek inhibuje PCR reakci. Zkumavky se musí správně označit štítkem, na kterém je uvedeno jméno a rodné číslo pacienta, popřípadě oddělení. Při odebírání více pacientů, nesmí dojít k záměně materiálu. Na Obr. 3 je vyfocena odběrová souprava *ESwab*, která obsahuje odběrový tampon a zkumavku s transportním médiem, do které se tampon vloží. Transportní médium je universálně vyrobené, aby sloužilo k uchování a transportu virů, chlamydií nebo mykoplasmat. K soupravě se

přikládá ještě jeden nylonový tampon (Obr. 4), který slouží ke stěru z nosních dírek [20], [21], [22].



Obr. 3 Odběrová souprava ESwab (vlastní zdroj)



Obr. 4 Nylonový tampon pro stěr z nosních dírek (vlastní zdroj)

Správný postup odběru

Odběr se doporučuje provést ráno na lačno, dříve než si pacient vyčistí zuby, protože některé pasty zkreslují laboratorní vyšetření. Zakázána je konzumace alkoholu a používání kloktadel [19].

Pacient před stěrem zakaše. Otevře se souprava se zkumavkou a jedním tamponem se provede stěr ze zadní strany nosohltanu. Aby se setřelo co nejvíce epiteliálních buněk, provádí se odběr krouživými pohyby. Tampon se nesmí dotknout mandlí. Stěr by měl být prováděn z místa, kde lze předpokládat přítomnost patogenů. Tampon se následně vloží do zkumavky s transportním médiem a špejle se ulomí o okraj zkumavky. Druhým tamponem se provede stěr z obou nosních dírek. Opět se vloží do zkumavky a ulomí. Do laboratoře se tedy zasílá jedna zkumavky se dvěma tampony [19].

Na zkumavku se nalepí štítek se jménem pacienta, rodným číslem, popřípadě oddělením a se žádankou se odešle do laboratoře [19].

4.2 Transport a příjem materiálu

Nasopharyngeální laváž a bronchoalveolární laváž je nutné dodat do laboratoře v den odběru. Nasopharyngeální výtěr, který je v transportním médiu ve zkumavce, se do laboratoře může dopravit do dvou dnů. Musí však být uložen při teplotě 2-8°C, nesmí se zamrazit. Při transportu vzorku do laboratoře vydrží materiál dvě hodiny při pokojové teplotě [20], [21].

Laboratoř přijme materiál, pouze pokud jsou dodrženy stanovené postupy. To znamená, že vzorek musí být řádně označen štítkem s přiloženou vyplněnou žádankou (Obr. 5). Ta by měla obsahovat jméno a příjmení pacienta, rodné číslo, zdravotní pojišťovnu, datum a čas odběru, diagnózu, oddělení odkud vzorek je, jméno ordinujícího doktora a požadované vyšetření. Informace na vzorku se musí shodovat s těmi na žádance. Vzorek nesmí přijít poškozený, nebo být odebraný do jiné zkumavky, než která je k tomu určena. Tedy do zkumavky, ve které chybí transportní médium. Kontroluje se také, zda jsou ve zkumavce dva odběrové tampony. Pokud je vše správné, pracovník se podepíše na žádanku a laboratoř přijme vzorek. Naskenuje žádanku do laboratorního informačního systému (LIS),

zároveň přepíše informace ze žádanky do LIS a na zkumavky nalepí štítek s čárkovým kódem [20], [21].

Žádanka na molekulárně biologické laboratorní vyšetření - PCR

Kód ZP: [] IČP: [] Odbornost: [] Datum odběru: 201[] Hodina: []

Číslo pojčárny: [] Pacient (příjmení, jméno, titul): []

Základní dg: [] Ostatní dg: [] Sex: [] Adresa, bydliště: []

Oddělení (zároveň): Lékař (názvisko, podpis): [] Telefon: []

Klinická laboratoř
 Oblastní nemocnice Kladno, a.s.
 Nemocnice s lůžkovými místy se zvláštním Kladno
 Vanžurova 1548, 272 06 Kladno
 www.onkkladno.cz
 tel: 312 698 693
 fax: 312 698 246
 www.klinickalaborator.cz

STD

Chlamydia trachomatis
 moč
 vyšetř. cervix
 vyšetř. vagina
 vyšetř. uretra
 vyšetř. oko

Chlamydia trachomatis + Neisseria gonorrhoeae
 moč
 vyšetř. cervix
 vyšetř. vagina
 vyšetř. uretra
 vyšetř. rectum
 vyšetř. křk
 vyšetř. oko

Trichomonas vaginalis
 moč
 vyšetř. cervix
 vyšetř. vagina
 vyšetř. uretra

Hepatitida C

HCV (detekce a kvantifikace)
 plasma (Odběr do 2 zvláštních s EDTA)

Respirační infekce

Flu + RSV (influenza A, B + RSV)
 nasofaryngeální sváb.
 nasofaryngeální sváb.
 bronchopulmonální sváb.

Flu (influenza A, B)
 nasofaryngeální sváb.
 nasofaryngeální sváb.
 bronchopulmonální sváb.

Pokyny pro odběr vzorku:
 Při odběru vzorku pro PCR je nutné použít bezalkoholové nakaival!
 Odběr tekutého materiálu do sterilní zkumavky.
 Při odběru tampónem musí být zamazáno kontaminací lampónu nebo aplikátoru pod zátlačovací bodem.
 Informace o PCR: 312 698 693.

Vyplní: laboratoř
 vzorek převzal a revidoval: [] datum a hodina převzetí: []

Obr. 5 Žádanka na molekulárně biologické vyšetření – PCR (vlastní zdroj)

4.3 Laboratorní diagnostika v Oblastní nemocnici Kladno

Pro stanovení chřipkového viru se využívá multiplexní RT-PCR (reverzní transkripce – polymerázová řetězová reakce) a PCR (polymerázová řetězová reakce) v reálném čase. Provádí se na analyzátoru *GeneXpert Dx* (Obr. 6) od společnosti *Cepheid*. Test nese název *Xpert Flu Assay* a je plně automatizovaný. Slouží hlavně pro kvalitativní detekci a diferenciaci RNA viru chřipky typu A, typu B a podtypu typu A 2009 H1N1 prostřednictvím in vitro diagnostiky. Charakteristiky pro chřipky typu A byly stanoveny v letech 2012-2013, tudíž nové podtypy A se mohou lišit [22].



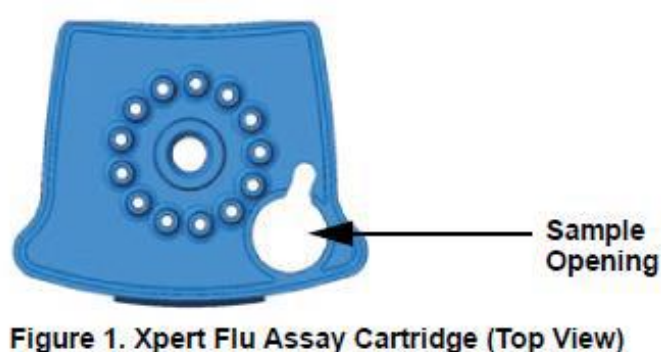
Obr. 6 Analyzátor GeneXpert od firmy Cepheid (vlastní zdroj)

Analyzátor automatizuje a integruje purifikaci vzorků, dále amplifikuje nukleové kyseliny a detekci cílové sekvence v jednoduchých nebo komplexních vzorcích. Systém se skládá z přístroje a osobního počítače, ve kterém je nainstalovaný softwar, díky němu se provádějí testy a vyhodnocují výsledky. K systému patří jednorázové kazety *GeneXpert* (Obr. 7). Uvnitř jsou čidla pro RT - PCR a PCR v reálním čase, ve kterých probíhají tyto reakce. Kazeta obsahuje také tzv. *Sample Processing Control* ,neboli kontrolu zpracování vzorků. Druhou kontrolou je tzv. *Probe Check Control* čili kontrola sondy [22].



Obr. 7 Jednorázová kazeta GeneXpert (vlastní zdroj)

Manipulace s kazetou musí být velmi šetrná. Nesmí se s ní třepat a je velmi důležité nedotýkat se výstupku v zadní části. Celá příprava probíhá v laminárním boxu a laborantka musí pracovat v rukavicích bez pudru. Do zkumavky s transportním médiem se přidá 2x 1 ml sterilní destilované vody. Do připravené kazety se dlouhou špičkou s filtrem napipetuje 300 μ l do otvoru „S“ (Obr. 8) v kazetě. Test se musí spustit maximálně do 30min. od přípravy vzorku. Do systému se načte identifikační číslo pacient (IČ). Důležité je zadat správné IČ, to je pak spojené se všemi výsledky. Jako další se načte IČ vzorku a čárový kód kazety [20], [21], [22].



Obr. 8 Kazeta k testu Xpert Flu Assay – otvor „S“ (Sample opening) [22]

4.4 Hlášení výsledků

Výsledky jsou automaticky vyhodnoceny systémem GeneXpert na základě naměřených fluorescenčních signálů a integrovaných algoritmů pro výpočet [22].

Laborantka nahlásí výsledky na příslušné oddělení, zapíše se výsledek do LIS (Tabulka 3) a vytvoří se kopie pro ústavního hygienika. Při zadávání se musí pečlivě kontrolovat rodné číslo a číslo vzorku pacienta [20], [21].

Tabulka 3 Možnosti hlášení výsledků [20]

| Zkratka | Výsledek |
|----------|--|
| pcrFLUA+ | RNA viru Influenza A: DETEKOVÁNA |
| pcrFLUA- | RNA viru Influenza A: nedetekována |
| pcrH1N1+ | RNA viru Influenza A-podtyp H1N1: DETEKOVÁNA |
| pcrH1N1- | RNA viru Influenza A-podtyp H1N1: nedetekována |
| pcrFLUB+ | RNA viru Influenza B: DETEKOVÁNA |
| pcrFLUB- | RNA viru Influenza B: nedetekována |

Pokud analyzátor vyhodnotí vzorek jako negativní, nevylučuje se tím infekce virem. Výsledky by měly být v souladu s klinickým obrazem pacienta, epidemiologickými daty apod. Test Xpert Flu Assay se využívá jen pro analýzu lidských vzorků [22].

4.5 Statistické zpracování dat

4.5.1 Systém hlášení ARI

Monitoring akutních respiračních infekcí (ARI) vznikl v roce 1968 a dnes je zahrnut do komplexního programu kontroly a prevence těchto onemocnění. Každý týden zasílají spolupracující lékaři hlášení o jednotlivých případech ARI. Tento systém se jmenuje santinelový. Počet obyvatel, kteří jsou v péči těchto praktických lékařů a pediatrů se neustále mění. Nemocnost ARI je hlášena jako absolutní počet onemocnění v jednotlivých okresech a následně je tento počet přepočítán na 100 000 obyvatel. Výsledkem je vyjádření celkové nemocnosti pomocí relativního čísla. Prostřednictvím okresních a hygienických stanic se výsledky zasílají do Státního zdravotního ústavu, kde se dále zpracovávají. Tyto výsledky

slouží pro potřeby hygienických stanic, Ministerstva zdravotnictví, pro veřejnost aj. [1], [23].

4.5.2 Statistická analýza dat z Oblastní nemocnice Kladno

Pomocí programu Microsoft Excel™ jsem vypočítala jednotlivé statistické ukazatele. Data byla nejprve rozdělena do tabulky podle počtu pozitivních a negativních vzorků. Z této tabulky byly vytvořeny tři grafy, které znázorňují zastoupení vzorků v jednotlivých měsících. Dále se statisticky rozdělila data podle výsledků Influenzy A nebo B. Výsledky jsou poté hodnoceny podle počtu odběrů s pozitivitou u žen, mužů a věkových kategoriích.

5 VÝSLEDKY

5.1 Statistické vyhodnocení dat z vybraných měst Středočeského kraje

Následující tabulky (Tabulka 4, Tabulka 5, Tabulka 6) ukazují celkovou nemocnost v relativních číslech v průběhu třinácti týdnů kalendářního roku ve dvanácti městech Středočeského kraje. Nemocnost se od prvního týdne prudce zvedala a nejvyšších čísel dosáhla v 6. týdnu. Poté začala klesat. Na Obr. 9 je zobrazena křivka, která ukazuje závislost nemocnosti na jednotlivých týdnech.

Tabulka 4 Hlášení ARI v měsíci leden (vlastní zdroj)

| Leden | | | | | |
|----------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|
| ARI | Relativní nemocnost na 100 000 obyvatel | | | | |
| Krajská města | 1. týden | 2. týden | 3. týden | 4. týden | 5. týden |
| Benešov | 826 | 1084 | 1093 | 1334 | 1610 |
| Beroun | 749 | 860 | 984 | 1505 | 1208 |
| Kladno | 654 | 786 | 949 | 946 | 1642 |
| Kolín | 845 | 766 | 864 | 1268 | 1666 |
| Kutná Hora | 919 | 1050 | 1198 | 1426 | 1678 |
| Mělník | 990 | 1112 | 1303 | 1702 | 2162 |
| Mladá Boleslav | 782 | 955 | 1111 | 1156 | 1311 |
| Nymburk | 754 | 928 | 1245 | 1346 | 1479 |
| Praha-východ | 1108 | 1197 | 1455 | 1712 | 2175 |
| Praha-západ | 1061 | 1145 | 1410 | 1689 | 2074 |
| Příbram | 1479 | 1280 | 1613 | 2271 | 2596 |
| Rakovník | 1207 | 1074 | 1799 | 1931 | 2206 |
| Celkem | 11374 | 12237 | 15024 | 18286 | 21807 |

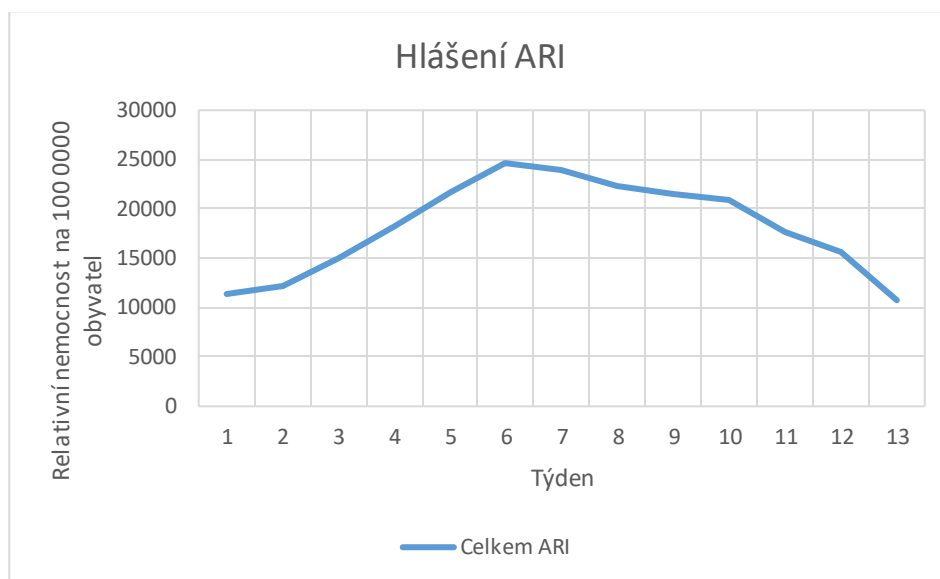
Tabulka 5 Hlášení ARI v měsíci únor (vlastní zdroj)

| Únor | | | | | |
|----------------|---|--------------|--------------|--------------|--------------|
| ARI | Relativní nemocnost na 100 000 obyvatel | | | | |
| Krajská města | 5. týden | 6. týden | 7. týden | 8. týden | 9. týden |
| Benešov | 1610 | 1963 | 2280 | 2576 | 1993 |
| Beroun | 1208 | 1501 | 1624 | 1595 | 1651 |
| Kladno | 1642 | 1926 | 2091 | 1832 | 1037 |
| Kolín | 1666 | 1818 | 1715 | 1646 | 1479 |
| Kutná Hora | 1678 | 1799 | 1685 | 1818 | 1586 |
| Mělník | 2162 | 2333 | 2291 | 1639 | 1804 |
| Mladá Boleslav | 1311 | 1774 | 2192 | 2724 | 2124 |
| Nymburk | 1479 | 1504 | 1456 | 1341 | 1669 |
| Praha-východ | 2175 | 2117 | 1831 | 1005 | 1858 |
| Praha-západ | 2074 | 2286 | 1879 | 1600 | 1656 |
| Příbram | 2596 | 3367 | 2909 | 2504 | 2656 |
| Rakovník | 2206 | 2256 | 1962 | 2094 | 1949 |
| Celkem | 21807 | 24644 | 23915 | 22374 | 21462 |

Tabulka 6 Hlášení ARI v měsíci březen (vlastní zdroj)

| Březen | | | | | |
|-----------------------|--|------------------|------------------|------------------|------------------|
| ARI | Relativní nemocnost na 100 000 obyvatel | | | | |
| Krajská města | 9. týden | 10. týden | 11. týden | 12. týden | 13. týden |
| Benešov | 1993 | 2128 | 1709 | 1322 | 899 |
| Beroun | 1651 | 1675 | 1052 | 897 | 814 |
| Kladno | 1037 | 1117 | 1113 | 935 | 817 |
| Kolín | 1479 | 1567 | 1353 | 1170 | 711 |
| Kutná Hora | 1586 | 1599 | 1336 | 1265 | 610 |
| Mělník | 1804 | 1710 | 1485 | 1359 | 977 |
| Mladá Boleslav | 2124 | 1782 | 1814 | 1453 | 1106 |
| Nymburk | 1669 | 1985 | 1844 | 1513 | 971 |
| Praha-východ | 1858 | 1760 | 1776 | 1306 | 1128 |
| Praha-západ | 1656 | 1703 | 1534 | 1173 | 720 |
| Příbram | 2656 | 2112 | 1095 | 1734 | 990 |
| Rakovník | 1949 | 1798 | 1491 | 1533 | 1006 |
| Celkem | 21462 | 20936 | 17602 | 15660 | 10749 |

Mezi šestým a desátým týdnem křivka lehce klesá. Velké výkyvy nemocnosti mezi těmito týdny nejsou, ale od 11. týdne začíná nemocných ubývat a nemocnost je podobná jako na začátku roku.



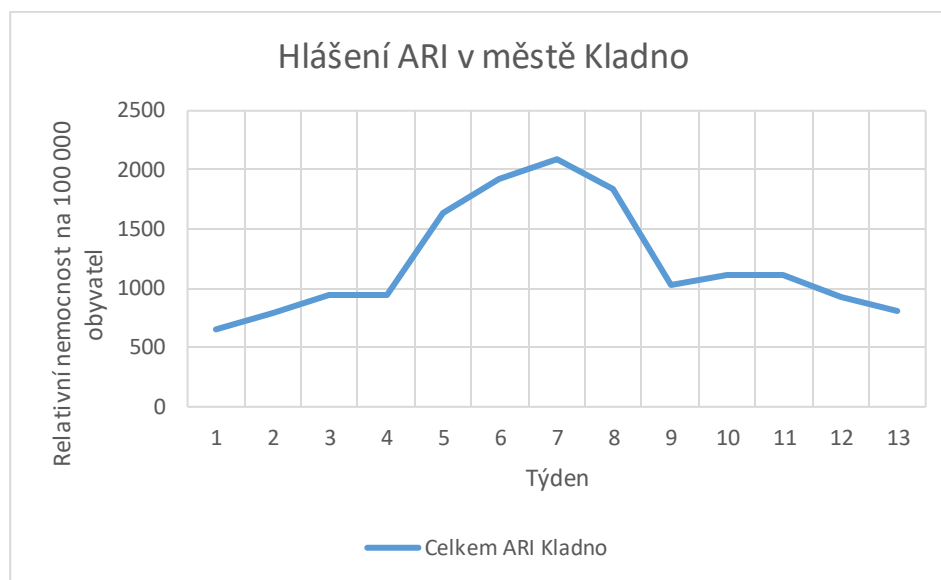
Obr. 9 Graf ukazuje počet hlášení ARI v jednotlivých týdnech (vlastní zdroj)

Tabulka 7 znázorňuje porovnání hlášení ARI mezi jednotlivými městy ve 13. týdnech. Nejvyšší nemocnost v tomto období byla ve městě Příbram. Ta byla z celkových dvanácti měst 8x na prvním místě s nejvíce hlášenými akutními respiračními infekci. Přesněji v 1., 2., 4., 5., 6., 7., 9., 12. týdnu. V 6. týdnu byla nejvyšší nemocnost 3367 na sto tisíc obyvatel. Naopak města s nejnižším počtem hlášení ARI jsou Kladno a Beroun. Kladno bylo v 1., 4., 9., a 10. týdnu město s nejnižším počtem. Beroun potom v týdnu 5., 6., 11., a 12.

Tabulka 7 Porovnání nemocnosti mezi jednotlivými městy ve 13. týdnech (vlastní zdroj)

| Týdny | Krajská města | Nejnižší počet |
|-----------|----------------|----------------|
| | | Nejvyšší počet |
| 1. týden | Kladno | 654 |
| | Příbram | 1479 |
| 2. týden | Kolín | 766 |
| | Příbram | 1280 |
| 3. týden | Nymburk | 864 |
| | Rakovník | 1799 |
| 4. týden | Kladno | 946 |
| | Příbram | 2271 |
| 5. týden | Beroun | 1208 |
| | Příbram | 2596 |
| 6. týden | Beroun | 1501 |
| | Příbram | 3367 |
| 7. týden | Nymburk | 1456 |
| | Příbram | 2909 |
| 8. týden | Praha-východ | 1005 |
| | Mladá Boleslav | 2724 |
| 9. týden | Kladno | 1637 |
| | Příbram | 2656 |
| 10. týden | Kladno | 1117 |
| | Benešov | 2128 |
| 11. týden | Beroun | 1052 |
| | Nymburk | 1844 |
| 12. týden | Beroun | 897 |
| | Příbram | 1734 |
| 13. týden | Kutná Hora | 610 |
| | Praha-východ | 1128 |

V Tabulka 4, Tabulka 5 a Tabulka 6 je červenou barvou zvýrazněné město Kladno. Z Obr. 10 vyplývá, že nemocnost na Kladně od 1. týdne kalendářního roku lehce stoupala a nejvyššího počtu dosáhla v 7. týdnu, kdy celkové relativní číslo nemocnosti dosáhlo 2091 na sto tisíc obyvatel. Dále mezi osmým a devátým týdnem prudce klesla a už se nezvyšovala.



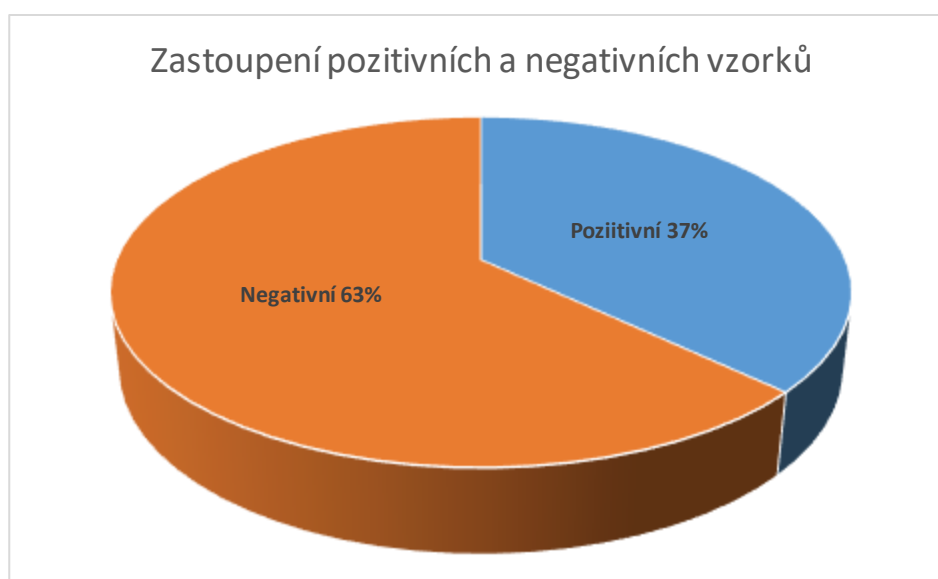
Obr. 10 Graf znázorňuje hlášení ARI v městě Kladno (vlastní zdroj)

5.2 Výsledky z Oblastní nemocnice Kladno

Za sledované období 1. 1. 2018 – 31. 3. 2018 bylo v Klinické laboratoři, úsek mikrobiologie v Oblastní nemocnici Kladno přijato celkem 348 vzorků (Tabulka 8). Z toho byla ve 127 vzorcích detekována chřipka, což představuje 37 % z celkového počtu. Obr. 11 znázorňuje procentuální zastoupení pozitivních a negativních vzorků. Převažovaly negativní vzorky, které měly zastoupení 63 %.

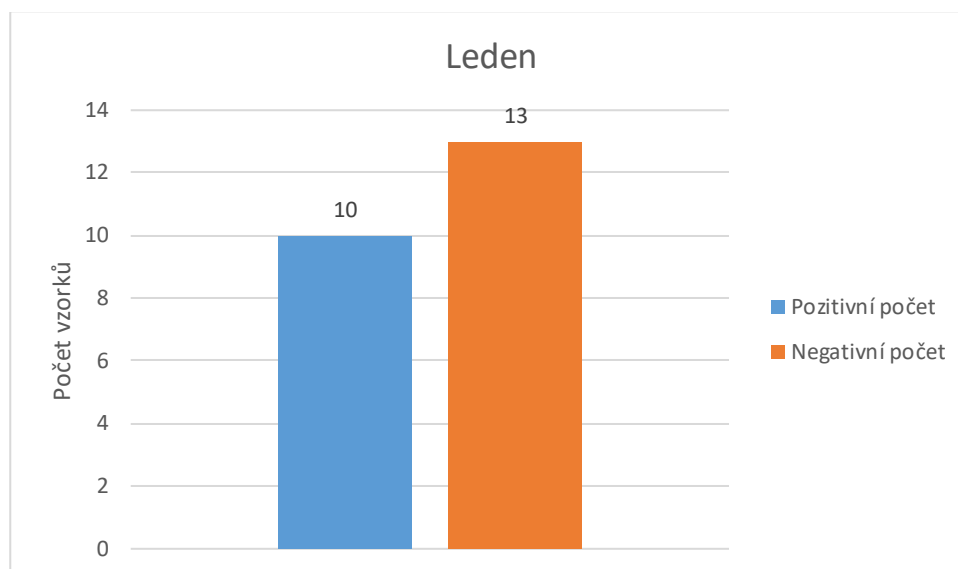
Tabulka 8 Počet vyšetřovaných vzorků a počet pozitivních, negativních výsledků (vlastní zdroj)

| Měsíc | Počet vzorků | | |
|---------------|-------------------|-------------------|------------|
| | Pozitivní (%) | Negativní (%) | Celkem |
| Leden | 10 (44 %) | 13 (56 %) | 23 |
| Únor | 59 (37 %) | 102 (63 %) | 161 |
| Březen | 58 (35 %) | 106 (65 %) | 164 |
| Celkem | 127 (37 %) | 221 (63 %) | 348 |



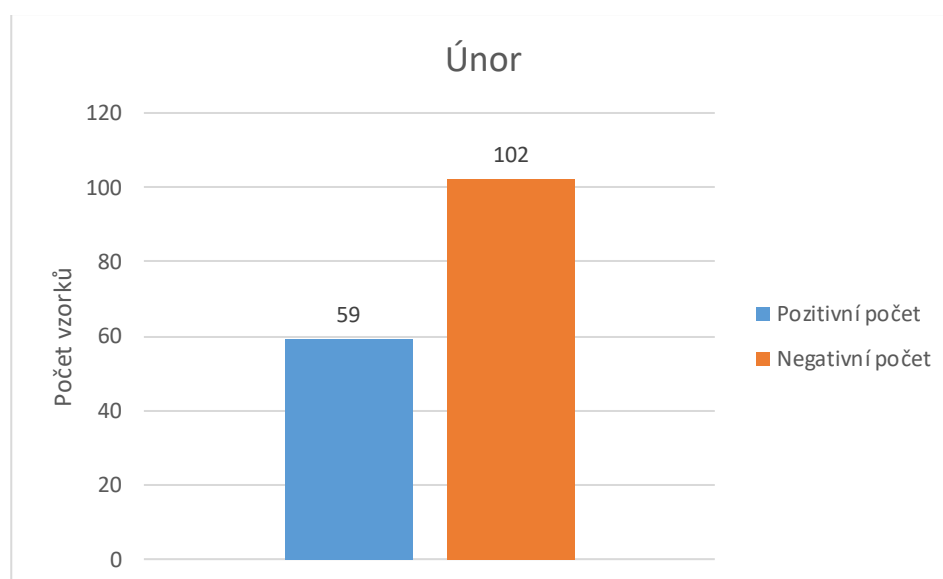
Obr. 11 Graf znázorňuje zastoupení pozitivních a negativních vzorků (vlastní zdroj)

Za období 1. 1. 2018 – 31. 1. 2018 bylo přijato celkem 23 vzorků na zpracování. Je to nejméně vzorků za sledované období, které byly do laboratoře zaslány. Z toho bylo 10 (44 %) vzorků pozitivních a 13 (56 %) negativních (Obr. 12).



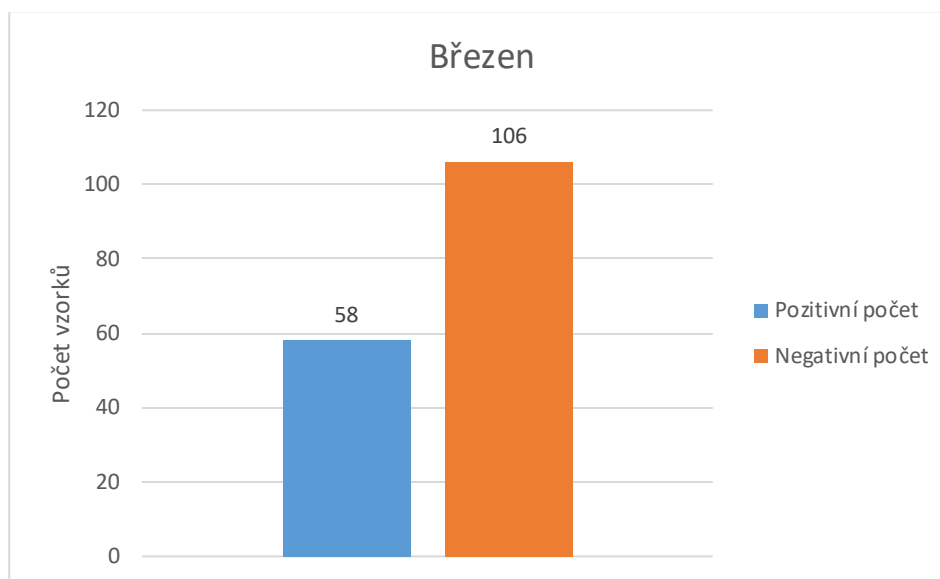
Obr. 12 Graf znázorňuje počet pozitivních a negativních vzorků v lednu (vlastní zdroj)

Za měsíc únor přijala laboratoř celkem 161 vzorků. Z nich bylo 59 (37 %) pozitivních a 102 (63 %) negativních (Obr. 13).



Obr. 13 Graf znázorňuje počet pozitivních a negativních vzorků v únoru (vlastní zdroj)

Za měsíc březen bylo v laboratoři zpracováno celkem 164 vzorků, což bylo nejvíce za celé sledované období. Z toho bylo 58 (35 %) pozitivních a zbylých 106 (65 %) negativních (Obr. 14).

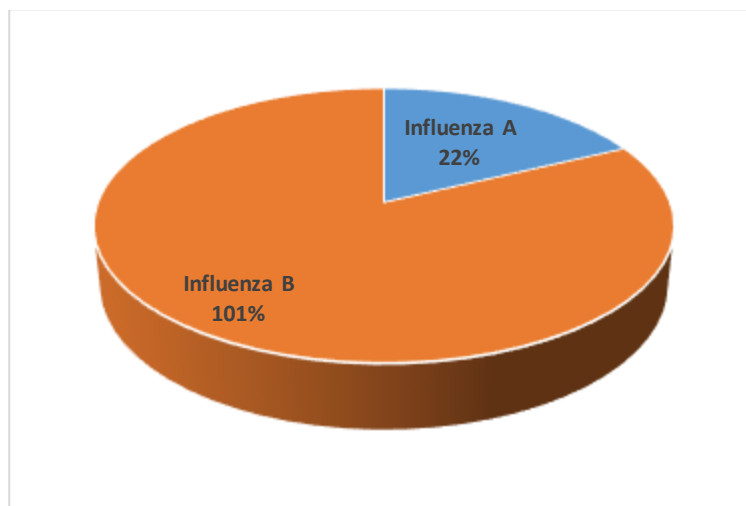


Obr. 14 Graf znázorňuje počet pozitivních a negativních vzorků v březnu (vlastní zdroj)

Z celkových 127 pozitivních vzorků, byla 28x (22 %) detekována Influenza A. Velkou převahu měl typ chřipky B, který dominoval v celém sledovaném období (Tabulka 9). Jednotlivá procentuální zastoupení znázorňuje Obr. 15. U některých pacientů byly nalezeny oba dva typy zároveň. Z toho důvodu neodpovídá počet celkových vzorků s počty pozitivními a negativními. Největší počet pozitivních vzorků s chřipkou B byl v 7. kalendářním týdnu.

Tabulka 9 Počet typů chřipky (A/B) zastoupených v jednotlivých týdnech (vlastní zdroj)

| Měsíc | Týden | Influenza | |
|---------------|-------|-----------|-----------|
| | | A | B |
| Leden | 1. | 2 | 2 |
| | 2. | 0 | 2 |
| | 3. | 0 | 0 |
| | 4. | 3 | 3 |
| Únor | 5. | 1 | 7 |
| | 6. | 2 | 10 |
| | 7. | 4 | 22 |
| | 8. | 1 | 12 |
| Březen | 9. | 1 | 10 |
| | 10. | 7 | 19 |
| | 11. | 2 | 8 |
| | 12. | 5 | 6 |
| Celkem | | 28 (22%) | 101 (79%) |

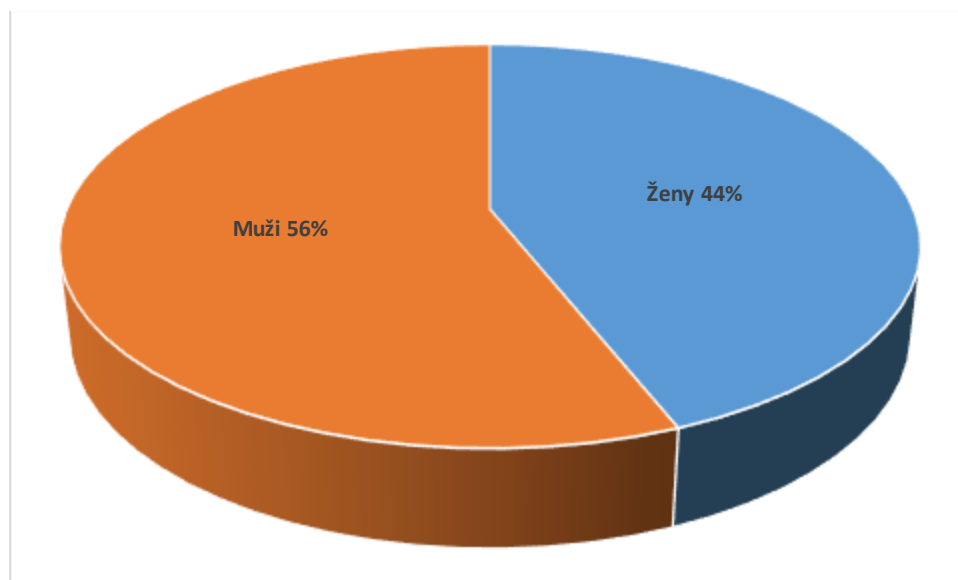


Obr. 15 Graf znázorňuje procentuální zastoupení Influenzy B a Influenzy A (vlastní zdroj)

Pozitivních vzorky byly častěji odebírány mužům než ženám (Tabulka 10). Z celkového počtu 127 vzorků, bylo 56 (44 %) odebráno ženám a 71 (56 %) bylo odebráno mužům (Obr. 16).

Tabulka 10 Počet vzorků odebraných mužům a ženám (vlastní zdroj)

| Měsíc | Počet pozitivních vzorků | | |
|---------------|--------------------------|-----------------|------------|
| | Ženy (%) | Muži (%) | Celkem |
| Leden | 6 (60%) | 4 (40%) | 10 |
| Únor | 25 (42%) | 34 (58%) | 59 |
| Březen | 25 (43%) | 33 (57%) | 58 |
| Celkem | 56 (44%) | 71 (56%) | 127 |

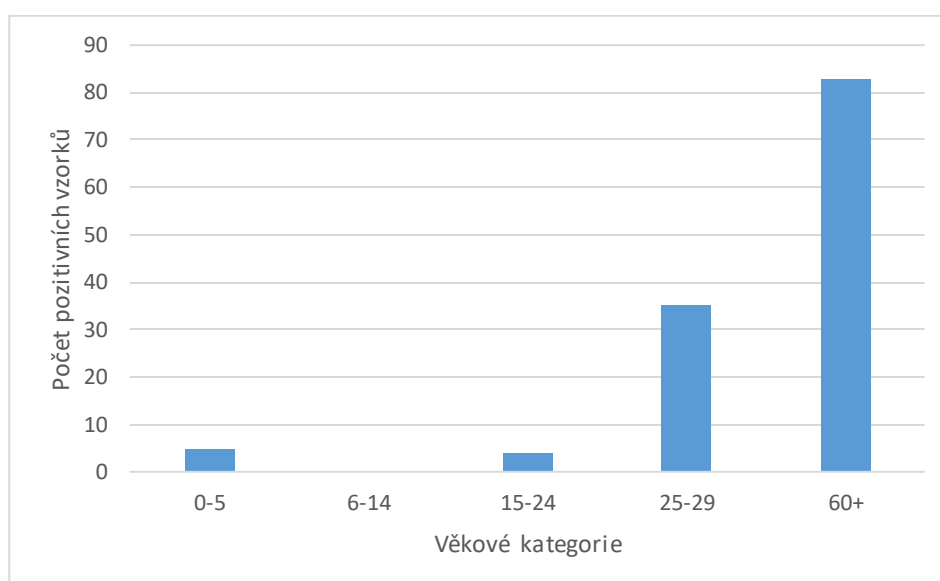


Obr. 16 Graf znázorňuje procentuální zastoupení odebraných pozitivních vzorků u mužů a žen (vlastní zdroj)

Podle Obr. 17, který znázorňuje rozřazení pozitivních výsledků s jednotlivými věkovými kategoriemi, se ukázalo, že nejvíce vzorků bylo odebráno ve věku 60 a více let, jak také uvádí Tabulka 11 a to celkem 83 pacientům.

Tabulka 11 Statistické vyhodnocení pozitivních výsledků podle věkové kategorie (vlastní zdroj)

| Měsíc | Věkové kategorie | | | | | Celkem |
|---------------|------------------|------|-------|-------|-----|--------|
| | 0-5 | 6-14 | 15-24 | 25-29 | 60+ | |
| Leden | 0 | 0 | 0 | 6 | 4 | 10 |
| Únor | 2 | 0 | 1 | 14 | 42 | 59 |
| Březen | 3 | 0 | 3 | 15 | 37 | 58 |
| Celkem | 5 | 0 | 4 | 35 | 83 | 127 |



Obr. 17 Graf zobrazuje věkové kategorie pacientů (vlastní zdroj)

6 DISKUZE

Při zpracování mé bakalářské práce jsem navštívila dvě různá pracoviště, kde se stanovuje chřipkový virus. Při návštěvách obou zařízení jsem se seznámila s chodem laboratoře, s příjmem a zpracováním vzorků k následné laboratorní diagnostice. Každá laboratoř má své vlastní postupy, které jsou přizpůsobené chodu laboratoře.

Laboratorní diagnostika chřipky se rozděluje na přímý a nepřímý průkaz viru. V Klinické laboratoři, úsek mikrobiologie v Kladenské nemocnici se chřipka stanovuje od listopadu 2017. K určení viru se využívá přímá diagnostika pomocí RT-PCR na analyzátoru *GeneXpert Dx*. Metoda je velmi rychlá a snadná. Nevýhodou je, že není dostupný kmen k další analýze. K analýze se využívají kazety, které se po použití musejí zlikvidovat. Jelikož se jedná o infekční materiál, laboratoř musí zajistit adekvátní likvidaci nebezpečného biologického materiálu. V Národní referenční laboratoři pro chřipku a nechřipková respirační onemocnění Státního zdravotního ústavu využívají další metody k určení viru. Oproti laboratoři v Oblastní nemocnici v Kladně zpracovává NRL denně mnohem více vzorků. Mimo jiné má hlavní úkol sledovat výskyt chřipkového onemocnění v populaci a mít přehled o jednotlivých subtypech kolujících mezi lidmi. I z tohoto důvodu je diagnostika chřipkového viru rozsáhlejší. Kromě metody PCR, se chřipkový vir izoluje na buňkách MDCK, nebo kuřecích embryích. Izolace slouží především pro strategii přípravy vakcín pro následující sezónu. Laboratoř uchovává sbírky lidských a zvířecích chřipkových kmenů. Dále se používají metody nepřímého průkazu viru, kam patří především komplement fixační reakce (KFR), hemaglutinačně inhibiční test (HIT) a ELISA. KFR spolu s HIT je považováno za nejcitlivější a nejspecifičtější metodou. Nevýhodou je, že by se správně hladina protilátek měla sledovat v párových sérech – většina pacientů přijde na první odběr v akutní fázi infekce, ale na druhý odběr v rekonvalescentní fázi už nepřijdou. Metodou ELISA se prokazují protilátky IgM, IgA nebo IgG.

Výhodou je, že vyšetření není složité a je možnost zpracovat akutní vzorky. Na druhou stranu protilátky nemusí být v akutní fázi přítomny a je problém s interpretací výsledků. Někdy se objevují i protilátky třídy IgM, které jsou po předešlé prodělané nemoci a výsledky mohou být zkreslené. Tudíž se i při použití metody ELISA doporučuje provést vyšetření v párových sérech. Nevýhodou oproti KFR je, že tato metoda je dražší. Používají se komerčně připravené sety.

Sledovat výskyt chřipkového onemocnění v České republice je velmi důležité. Každý rok je ve světě při chřipkových epidemiích 3 - 5 milionů těžce nemocných pacientů, z nich 250 - 500 000 na následky komplikací zemřou. Každá evropská země má své vlastní systémy hlášení o počtu chřipky, ale všechny jsou začleněny do evropské systému surveillance chřipky (EISS). V České republice má surveillance na starost Národní referenční laboratoř pro chřipku a nechřipková respirační onemocnění ve Státním zdravotním ústavu. Sledují akutní respirační onemocnění (ARI) a chřipce podobná onemocnění (ILI). Údaje podávají spolupracující mikrobiologické laboratoře, praktičtí lékaři a pediatři. Podávají týdenní hlášení o nemocnosti v jednotlivých krajích a o počtu jednotlivých kmenů kolujících v populaci. Hlavní výhodou surveillance je velké množství dat, které dále slouží pro potřeby ministerstva zdravotnictví, hygienických služeb a pro širokou veřejnost, jsou dohledatelná na internetových stránkách SZÚ. Dále jsou data sdílena s EISS a WHO. Spousta případů akutních respiračních onemocnění není hlášena. Lidé nechodí k lékařům a lečí se doma, nebo nepřijdou na druhý odběr vzorku, tím pádem nedojde k ucelené laboratorní diagnostice. Tudíž výsledky se musejí řídit příznaky a nejsou vždy zcela stoprocentní. Důležité je, aby veřejnost byla informovaná o výskytu ARI. Doporučovat by se měla prevence proti těmto infekcím, možné očkování a dodržování hygienických pravidel. Nejvyšších čísel dosahují ARI a ILI během zimní sezóny, přesněji od konce ledna do konce března [1], [24].

Ve sledovaném období, tedy od 1. – 13. týdne v roce 2018, byl sledován počet akutních respiračních onemocnění ve vybraných městech Středočeského kraje – Benešov, Beroun, Kladno, Kolín, Kutná Hora, Mělník, Mladá Boleslav, Nymburk, Praha-východ, Praha-západ, Příbram a Rakovník. Od začátku roku se čísla prudce zvyšovala a vrcholu dosáhla v 6. týdnu, kdy přesáhla epidemiologický práh. Do 11. týdne nejsou výkyvy nemoci příliš veliké. Z toho vyplývá, že většina nemocných mohla onemocnět na chřipku, která v tomto období koluje v populaci nejvíce. Po jedenáctém týdnu se počet akutních respiračních onemocnění snížil a čísla jsou podobná jako na začátku sledovaného období. Na Obr. 18 je graf znázorňující hlášení ARI v roce 2017. Při porovnání hlášení ARI v roce 2017 a 2018, je patrný velký rozdíl. Začátek sledovaného období v roce 2017 začíná mnohem vyššími počty nemoci a nejvyšších hodnot dosahuje již ve 4. týdnu. Ale z celkového hlediska jsou vyšší počty hlášení ARI v roce 2018 než v minulém roce. V roce 2016, podle Krajské hygienické stanice Středočeského kraje, celková nemocnost překročila epidemický práh v 5. týdnu. Ukončení epidemie bylo v 9. týdnu [25].



Obr. 18 Graf ukazuje počet hlášení ARI v jednotlivých týdnech v roce 2017 (vlastní zdroj)

Porovnání jednotlivých měst ukázalo, že nejhůře na tom ze statistického hlediska je město Příbram. Z celkových 13. týdnů mělo 8x nejvyšší počty

nemocnosti z vybraných měst. Nejvyšší počet byl v šestém týdnu, kdy relativní číslo dosáhlo 3367 na 100 000 obyvatel. Stejně tomu bylo i v roce 2017. Ze statistik vyplývá, že město Příbram bylo, za období 13. týdnů, celkem v deseti týdnech město s nejvyšším počtem nemocných. Nejlépe, v porovnání s ostatními městy, je na tom Kladno a Beroun. Kladno v 1., 4., 9., a 10. týdnu mělo nejméně hlášených ARI. Berou potom v týdnu 5., 6., 11., 12. Stejně tomu bylo i předešlou sezónu, v roce 2017. Kladno bylo město, ve kterém se 6x vyskytovala nejmenší nemocnost ve Středočeském kraji.

Při porovnání sledovaného období 2018 s předešlými lety 2017 a 2016, jasně vyplývá, že začátek epidemie se příliš nelišil. Vždy nejvyšší počty hlášených ARI byly okolo 5. kalendářního týdne.

Ve sledovaném období bylo v Oblastní nemocnici v Kladně odebráno celkem 348 vzorků na stanovení chřipkového viru. Z toho byla ve 127 (37 %) vzorcích detekována chřipka a zbylých 221 (63 %) vzorků bylo negativních. Pozitivita byla obdobná, jako uvádí ve své bakalářské práci Sluková, 2017, která uvedla celkem 99 pozitivních vzorků za období od ledna do března 2016 ve Fakultní nemocnici v Plzni. V lednu bylo v Kladně odebráno celkem 23 vzorků a z toho 10 (44 %) bylo pozitivních. Byl to taky nejmenší počet odebraných vzorků za celé sledované období. Ve FN Plzeň bylo v lednu 2016 pozitivních 11 vzorků. V únoru bylo v Oblastní nemocnici na Kladně odebráno celkem 161 vzorků. Z nich byla 59x (37 %) detekována chřipka. V únoru 2017 bylo v Ústavu mikrobiologie ve FN Plzeň pozitivních 47 vzorků. V březnu bylo na Kladně odebráno nejvíce materiálu za sledované období, přesně 164 vzorků. Z nich bylo 58 (35 %) pozitivních a 106 (65 %) negativních. Pozitivita vzorků se v jednotlivých měsících příliš nelišila a byla vždy kolem 40 %. Z pohledu rozdělení na jednotlivé typy byla nejvíce detekována chřipka B. Z celkových 127 pozitivních případů byla v 79 % chřipka B a 22 % chřipka A. U některých pacientů byly detekovány oba dva typy. Nejvíce pozitivních vzorků na chřipku B bylo v 7. KT. Častěji byly

vzorky odebírány mužům (56 %) než ženám (44 %). Stejně tomu bylo i ve FN Plzeň v roce 2016. Podle rozdělení dle věkových kategorií bylo nejvíce pozitivních vzorků odebráno pacientům starým 60 a více let. To se shoduje i s prací Sluková, 2017, která uvedla, že pozitivních pacientů bylo nejvíce ve věkové kategorii 60 a více let, celkem 40 pacientů z 99 pozitivních vzorků. Údaje se shodují i s obrázkem 15, kde graf znázorňuje hlášení ARI v Kladně. Za sledované období 13. týdnu, dosáhla křivka nejvyšších hodnot v 7. KT, kdy bylo v Oblastní nemocnici v Kladně detekováno nejvíce chřipek typu B, která převládala i v celém sledovaném období. Tato data korespondují se zprávou SZÚ o výskytu chřipkových kmenů v České republice, které byly k dispozici k 15. 2. 2018. Chřipkový kmen typu B převažoval v ambulantní a nemocniční sféře i v celé Evropě. Opačná situace byla v USA (data k 7.2. 2018), kde na rozdíl od Evropy byl dominantní typ A, typ B se objevoval pouze minoritně. V minulých letech, tedy v sezónách 2017, 2016, převažoval typ chřipky A [26], [27].

7 ZÁVĚR

Bakalářská práce s názvem Chřipka – výskyt a laboratorní diagnostika shrnuje základní poznatky o chřipkovém onemocnění. Popisuje výskyt, průběh, klinický obraz, léčbu a očkování. Uvádí možnosti laboratorní diagnostiky, zejména v Oblastní nemocnici v Kladně, oddělení mikrobiologie.

Prvním cílem této bakalářské práce bylo statisticky zhodnotit data z 12 měst Středočeského kraje a porovnat výskyt ARI mezi jednotlivými městy od 1. ledna 2018 do 31. března 2018. Hlášení akutních respiračních onemocnění se od začátku roku prudce zvyšovalo a nevyšších čísel dosáhlo v 6. týdnu. Kdy byl přesáhnout epidemiologický práh. Relativní čísla začala klesat po 11. týdnu. Při porovnání jednotlivých měst, na tom nejhůře bylo město Příbram. To bylo z celkových 13. týdnů 8x s nejvyšším počtem nemocnosti. Při porovnání sledovaného období s předešlými sezónami v roce 2017 a 2016, bylo zjištěno, že epidemie propukla pokaždé kolem 5. kalendářního týdne.

Druhým cílem bylo statisticky zpracovat data o chřipce v Oblastní nemocnici Kladno za období od 1. 1. 2018 – 31. 3. 2018. Z celkových 348 vzorků bylo 127 (37 %) pozitivních. Nejvíce vzorků bylo odebráno v březnu. Celkem 164 vzorků, z nichž v 58 (35 %) byla detekována chřipka. Podle rozdělení na jednotlivé typy převažoval typ chřipky B, ten byl detekován ve 101 vzorcích (79 %). Tento údaj se shoduje i se zprávou SZÚ. Ten uvedl, že chřipka B byla nejvíce rozšířena v celé České republice i v Evropě. Vzorky byly odebírány častěji mužům než ženám a nejvíce pozitivních vzorků bylo odebráno lidem starším 60 let. Data byla porovnána s chřipkovou sezónou 2016 ve Fakultní nemocnici v Plzni. Statistické vyhodnocení uvedla ve své práci Sluková, 2017. Jednotlivé chřipkové sezóny se od sebe příliš nelišily a data jsou podobná.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

| | |
|---------|--|
| ARI | Akutní respirační onemocnění |
| CNS | Centrální nervový systém |
| CPE | Cytopatogenní efekt |
| DNA | Deoxyribonukleová kyselina |
| EISS | European Influenza Surveillance Scheme |
| HA | Hemaglutinin |
| HIT | Hemaglutinačně inhibiční test |
| IČ | Identifikační číslo |
| ILI | Influenza Like Illness |
| KFR | Komplement fixační reakce |
| LIS | Laboratorní informační systém |
| m - RNA | Messenger RNA |
| M1 | Membránový protein 1 |
| M2 | Membránový protein 2 |
| MDCK | Buňky psích ledvin |

| | |
|--------------|-------------------------------------|
| NA | Neuraminidáza |
| NP | Nukleoprotein |
| PA, PB1, PB2 | Proteiny s funkcí RNA transkriptázy |
| PCR | Polymerázová řetězová reakce |
| RNA | Kyselina ribonukleová |
| RNP | Ribonukleoprotein |
| RT - PCR | PCR spojená s reverzní transkripcí |
| Taq | <i>Thermus aquaticus</i> |
| WHO | World Health Organization |

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BERAN, Jiří a Jiří HAVLÍK. *Chřipka: klinický obraz, prevence a léčba*. 2., rozš. vyd. Praha: Maxdorf, 2005. Jessenius. ISBN 8073450739.
- [2] Chřipka. *Mojemedicina.cz* [online]. Praha 8: ROCHE s.r.o., 2017 [cit. 2017-10-30]. Dostupné z: https://www.mojemedicina.cz/cs_cz/pruvodce-pacienta/diagnozy/chripka-1.html
- [3] *Chřipka a pandemie: ptačí hrozba?*. 1. vyd. Praha: Mladá fronta, 2006. ISBN 80-204-1358-8.
- [4] GOERING, Richard, Hazel DOCKRELL, Mark ZUCKERMAN a Peter CHIODINI, Jaroslav JULÁK, ed. *Mimsova lékařská mikrobiologie*. 5. vydání. Přeložil Jan BOBEK, přeložil Renáta ČERMÁKOVÁ, přeložil Karel HOLADA, přeložil Zora MĚLKOVÁ, přeložil Tibor MOŠKO, přeložil Jan NOVÁK, přeložil Ludmila PROKEŠOVÁ, přeložil Jiřina SUCHANOVÁ. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2016. ISBN 9788073879280.
- [5] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, 2010. ISBN 978-80-86850-04-8.
- [6] SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Grada, 2014. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-4771-2.
- [7] *Chřipka: Průvodce ošetřujícího lékaře*. 2. doplněné vydání. Praha: Maxdorf, 2007. ISBN 80-7345-080-1.

- [8] *Bat lung epithelial cells show greater host species-specific innate resistance than MDCK cells to human and avian influenza viruses.* [online]. b.r., , 1 [cit. 2018-04-12]. DOI: 10.1186/s12985-018-0979-6. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29636078>
- [9] Inflenzavirus A. In: *Viral Zone* [online]. 2010 [cit. 2018-04-13]. Dostupné z: <https://viralzone.expasy.org/6>
- [10] About Influenza. In: *WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Influenza at the Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory* [online]. b.r. [cit. 2018-04-13]. Dostupné z: <http://www.influenzacentre.org/aboutinfluenza.htm>
- [11] KYNČL, Jan. *Zásady diagnostiky a terapie chřipky*. 1. vyd. Praha: Maxdorf, 2000. ISBN 8085912406.
- [12] *Chřipka a možnosti její prevence II: Praha, Kongresové centrum Ústřední vojenské nemocnice, 24.4.2001: sborník přednášek*. Praha: Vesmír, 2001. ISBN 80-859-7737-0.
- [13] *Pandemický plán České republiky* [online]. b.r. [cit. 2018-03-17]. Dostupné z: http://www.mzcr.cz/obsah/pandemicky-plan-cr_1093_5.html
- [14] *Průvodce očkováním: Máme se bát chřipky?*. 1. vydání. Praha 6: Forsapi, s.r.o., b.r. ISBN 978-80-87250-14-3.
- [15] *Klinická farmacie II* [online]. 1. vydání, Praha 2014. Praha: Grada Publishing, a.s., 2014 [cit. 2018-03-29]. ISBN 978-80-247-4532-0. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=H39VAwAAQBAJ&pg=PA41&dq=ch%C5%99ipkov%C3%A9+pandemie&hl=cs&sa=X&ei=Lk1oVYvOCYT0Uo3YgogC#v=onepage&q=ch%C5%99ipkov%C3%A9%20pandemie&f=false>

- [16] *Chřipka-opomíjené preventabilní onemocnění* [online]. 2011 [cit. 2018-03-29]. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2011/09/02.pdf>
- [17] *Národní doporučení k postupu pro očkování proti sezónní chřipce* [online]. 2012 [cit. 2018-03-29]. Dostupné z: http://www.mzcr.cz/verejne/dokumenty/narodni-doporuceni-k-postupu-pro-ockovani-proti-sezonnichripce-_6880_2073_5.html
- [18] JÍLEK, Petr. *Úvod do mikrobiologických vyšetřovacích metod ve zdravotnictví*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2002. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 80-246-0459-0.
- [19] *Doporučený postup při provádění nazofaryngeálního výtěru. Státní Zdravotní ústav* [online]. Praha: MUDr. Martina Havlíčková, CSc., 2011 [cit. 2018-04-16]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/doporuceny-postup-pri-provadeni-nazofaryngealniho-vyteru-1>
- [20] *C-PI-M 149 PCR - návod*. Oblastní nemocnice Kladno, a.s., 2018.
- [21] *C-SOPT-036 GeneXpert*. Oblastní nemocnice Kladno, a.s., 2018.
- [22] *GeneXpert - Xpert Flu: GXFLU-CE-10*. Solna, Švédsko, 2010.
- [23] *Popis systému ARI. Státní Zdravotní Ústav* [online]. Praha: Mudr. Jan Kyčl, 2008 [cit. 2018-05-05]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/publikace/data/popis-systemu-ari>
- [24] NYAMBE, Anayawa. *Surveillance v Prevenci Akutních Respiračních Infekcí*. Praha, 2010. Bakalářská práce. Univerzita Karlova, Třetí lékařská fakulta. Vedoucí práce MuDr. Jan Kynčl, Ph. D.

- [25] *Výroční zpráva o epidemiologické situaci ve Středočeském kraji* [online]. Praha, 2016 [cit. 2018-05-13]. Dostupné z: http://www.khsstc.cz/dokumenty/vyrocnizprava-epidemiologicke-situaci-ve-stredoceskem-kraji-4598_4598_520_1.html
- [26] SLUKOVÁ, Marie. *Diagnostika respiračních virů*. Plzeň, 2017. Bakalářská práce. Západočeská univerzita v Plzni, Fakulta zdravotnických studií.
- [27] *Epidemie chřipky: zima 2017-2018* [online]. Praha, 2018 [cit. 2018-05-15]. Dostupné z: https://zdravi.euro.cz/clanek/epidemie-chripky-zima-2017-2018-data-k-12-2-2018-486345?seo_name=mlada-fronta-noviny-zdravi-euro-cz

10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

| | |
|--|----|
| Obr. 1 Schéma viru chřipky [9] . | 19 |
| Obr. 2 Vznik antigenního shiftu [10]. | 21 |
| Obr. 3 Odběrová souprava ESwab (vlastní zdroj) | 39 |
| Obr. 4 Nylonový tampon pro stěr z nosních dírek (vlastní zdroj) | 39 |
| Obr. 5 Žádanka na molekulárně biologické vyšetření – PCR (vlastní zdroj) | 41 |
| Obr. 6 Analyzátor GeneXpert od firmy Cepheid (vlastní zdroj) | 42 |
| Obr. 7 Jednorázová kazeta GeneXpert (vlastní zdroj) | 42 |
| Obr. 8 Kazeta k testu Xpert Flu Assay – otvor „S“ (Sample opening) [22] | 43 |
| Obr. 9 Graf ukazuje počet hlášení ARI v jednotlivých týdnech (vlastní zdroj) | 49 |
| Obr. 10 Graf znázorňuje hlášení ARI v městě Kladno (vlastní zdroj) | 51 |
| Obr. 11 Graf znázorňuje zastoupení pozitivních a negativních vzorků (vlastní zdroj) | 52 |
| Obr. 12 Graf znázorňuje počet pozitivních a negativních vzorků v lednu (vlastní zdroj) | 53 |
| Obr. 13 Graf znázorňuje počet pozitivních a negativních vzorků v únoru (vlastní zdroj) | 53 |
| Obr. 14 Graf znázorňuje počet pozitivních a negativních vzorků v březnu (vlastní zdroj) | 54 |
| Obr. 15 Graf znázorňuje procentuální zastoupení Influenzy B a Influenzy A (vlastní zdroj) | 55 |
| Obr. 16 Graf znázorňuje procentuální zastoupení odebraných pozitivních vzorků u mužů a žen (vlastní zdroj) | 56 |
| Obr. 17 Graf zobrazuje věkové kategorie pacientů (vlastní zdroj) | 57 |
| Obr. 18 Graf ukazuje počet hlášení ARI v jednotlivých týdnech v roce 2017 (vlastní zdroj) | 60 |

11 SEZNAMU POUŽITÝCH TABULEK

| | |
|--|----|
| Tabulka 1 Rizikové skupiny osob pro očkování [1]..... | 33 |
| Tabulka 2 Typ materiálu a odběrová souprava pro stanovení chřipky ([20] | 38 |
| Tabulka 3 Možnosti hlášení výsledků [20] | 44 |
| Tabulka 4 Hlášení ARI v měsíci leden (vlastní zdroj) | 46 |
| Tabulka 5 Hlášení ARI v měsíci únor (vlastní zdroj) | 47 |
| Tabulka 6 Hlášení ARI v měsíci březen (vlastní zdroj)..... | 48 |
| Tabulka 7 Porovnání nemocnosti mezi jednotlivými městy ve 13. týdnech (vlastní zdroj)..... | 50 |
| Tabulka 8 Počet vyšetřovaných vzorků a počet pozitivních, negativních výsledků (vlastní zdroj)..... | 52 |
| Tabulka 9 Počet typů chřipky (A/B) zastoupených v jednotlivých týdnech (vlastní zdroj)..... | 55 |
| Tabulka 10 Počet vzorků odebraných mužům a ženám (vlastní zdroj)..... | 56 |
| Tabulka 11 Statistické vyhodnocení pozitivních výsledků podle věkové kategorie (vlastní zdroj)..... | 57 |

