

BULLETIN

Informace pro lékaře a zdravotníky



Milí čtenáři,
prosluněné jarní dny, které mají tu zázračnou moc opjjet člověka dávkou optimismu a hřejivé pohody jsou předzvěstí blížícího

se léta. Také už cítíte ten závan čerstvé energie? Také se už těšíte na dlouhé teplé letní večery, které vybízejí k posezení s rodinou a přáteli nebo na společně strávenou dovolenou? Přeji vám, abyste ten svůj oddechový čas strávili podle svých představ. S úctou

RNDr. Soňa Fekete Ph.D.
bioanalytik, AXIS – CZ s.r.o.

Témata obsahu

Gestační diabetes mellitus

Novinky v mikrobiologických vyšetřeních

Spalničky mezi námi

PŘÍLOHA – Západonilská horečka v České republice

Elektronickou verzi naleznete na
www.axis-cz.cz
www.medila.cz

Gestační diabetes mellitus - změnilo se něco v roce 2019?

Problematicke gestačního diabetu (GDM) je věnována část pravidelně v lednu vycházejícího doporučení Americké diabetologické asociace (ADA) (leden 2019, Diabetes Care Volume 42, Supplement 1). Doporučení nepřináší zásadní změny v porovnání s předchozím doporučením z roku 2018, spíše upřesňuje a jednoznačně definuje pojmy. Doporučení České společnosti klinické biochemie, které bylo publikováno v roce 2016 v časopise Klinická biochemie a metabolismus a také Doporučený postup screeningu, gynekologické, perinatologické, diabetologické a neonatologické péče 2017 (http://www.diab.cz/dokumenty/DP_GDM_2017.pdf) je v podstatě v souladu s novým doporučením ADA.

Poznámky k Doporučení ADA 2019

Diagnostika DM

GDM byl v minulosti definován jako jakýkoli stupeň intolerance glukózy poprvé zjištěný v průběhu gravidity, bez ohledu na to, jaká byla situace před graviditou a po ní. Tato definice nebyla příliš přesná a nezohledňovala dostatečně rostoucí počet nediodagnostikovaných diabetiček 2. typu v populaci. Je tedy

opodstatněné testovat ženy s rizikem DM 2. typu již při první prenatalní vizitě při použití standardních diagnostických kritérií (tabulka 1) k odhalení diabetiček, které otěhotněly.

Podstatná a nová poznámka v materiálech ADA z ledna 2019 bere ohled na analytickou a biologickou variabilitu stanovení glukózy a HbA_{1c}: pokud není přítomna jednoznačná hyperglykémie, je pro stanovení diagnózy rozhodující zjištění dvou abnormálních výsledků

z jednoho vzorku (glukóza a HbA_{1c}) nebo ve dvou různých vzorcích (dva různé odběry ve dvou různých dnech).

Ženy s diagnostikovaným diabetem dle standardních kritérií jsou hodnoceny jako DM 2. typu, nebo vzácně DM 1. typu, nebo monogenní diabetes. To znamená, že měly preexistující, pregestační diabetes.

Této problematice se krátce věnuje i doporučení České gynekologické

Tabulka 1 - Standardní kritéria diagnózy diabetu

Kritérium	Cut-off hodnota pro diabetes mellitus	Poznámka
Koncentrace glukózy v plazmě žilní krve nalačno	7,0 mmol/l a více	Pojmem nalačno se míní hladovění po dobu minimálně 8 hodin
Koncentrace glukózy v plazmě žilní krve za 2 hodiny od zátěže v rámci během oGTT	11,1 mmol/l a více	Provedení oGTT podle WHO, 75 g glukózy
Klinické známky hyperglykémie nebo hyperglykemické krize a náhodná koncentrace glukózy v plazmě žilní krve	11,1 mmol/l a více	
HbA _{1c} (glykovaný hemoglobin)	48 mmol/mol a více	ADA specifikuje návaznost metody, podobně v Evropě je nutné respektovat metrologickou návaznost metody IFCC

a porodnické společnosti, České diabetologické společnosti a České neonatologické společnosti ČLS JEP (dále doporučení ČDS). DM (zjevný diabetes mellitus) splňuje u těhotné ženy kritéria pro diagnostiku diabetu používaná pro běžnou populaci (koncentrace glukózy v plazmě žilní krve nalačno nad 7 mmol/l, nebo ve 120. minutě oGTT nad 11,1 mmol/l).

Diagnostika GDM

Gestační diabetes mellitus je ten, který je diagnostikován poprvé ve druhém, nebo třetím trimestru, který není ani preexistující DM 1. typu nebo DM 2. typu. Diagnostická kritéria, která se používají v druhém trimestru, nelze jednoduše použít v prvním trimestru, protože kritéria pro glukózu nalačno (fasting plasma glucose) nebo oGTT se zátěží 75 g glukózy pocházejí z dat IADPSG (The International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups) a jsou odvozena z dat získaných ve druhém trimestru. Ženy s diagnostikovaným gestačním diabetem by měly být intervenovány a celoživotně sledovány.

Studie HAPO (multinárodní studie, sledováno 23 tisíc žen) prokázala kontinuální zvyšování rizika se stoupající koncentrací glukózy, bez existence jednoznačného cut-off ve 24. až 28. týdnu gravidity. Pro většinu komplikací neexistuje prahová hodnota rizika. Tyto výsledky vedly k úvahám o dvou možných strategiích:

- Jednokroková strategie: standardní oGTT se 75 g glukózy.
- Dvoukroková strategie: počáteční screening s 50 g glukózy (bez nutnosti být nalačno) s následujícím druhým krokem vyžadujícím lačnění a se zátěží 100 g glukózy u žen s pozitivním screeninem.

Obě strategie, používající různá diagnostická kritéria, budou identifikovat různé stupně maternálního a fetálního rizika; mají také mezi experty zastánce i odpůrce.

Jednokroková strategie:

Jednokroková strategie vychází z doporučení IADPSG, založených na cut-off hodnotách ze studie HAPO. Cut-off hodnoty odpovídají 1,75 násobku rizika celkové studované populace těhotných žen. V poměrně nové studii Loweho a kolektivu z roku 2018 se ukázalo, že pokud by byly ženy diagnostikovány podle těchto kritérií, pak měly po 11letém sledování po ukončení gravidity 3,4x vyšší riziko rozvoje prediabetu a DM 2. typu a měly také obézní děti. Diagnostikované ženy by tedy mohly profitovat z preventivních a terapeutických opatření, pokud by u nich byl GDM podle cut-off hodnot jednokrokové strategie diagnostikován.

Jednokroková strategie je plně akceptována i v České republice, dle obou zmíněných doporučení.

Dle doporučení ČDS probíhá screening GDM ve dvou fázích:

- I. fáze do 14. týdne gravidity,
- II. fáze ve 24. až 28. týdnu gravidity

Screening je indikován u všech těhotných, u kterých nebyla diagnostikována porucha metabolismu glukózy již pregestačně. Organizuje ho gynekolog, vyšetření koncentrace glukózy v plazmě žilní krve se provádí v akreditované laboratoři.

V tomto bodě se česká doporučení liší od doporučení ADA. V první fázi se pracuje s hodnotou cut-off 5,1 mmol/l již ve 14. týdnu gravidity – tento krok v doporučení ADA není.

Diagnostický postup a hodnocení v I. fázi (14. týden gravidity)

- Koncentrace glukózy nalačno < 5,1 mmol/l, v normě, žena podstoupí druhou fázi ve 24. až 28. týdnu.
- Glykémie nalačno \geq 5,1 mmol/l, vyšetření je nutné opakovat co nejdříve, v následujících dnech; pokud je koncentrace glukózy 5,1 – 6,9 mmol/l, je stanovena diagnóza GDM a žena je odeslána na diabetologii, pokud je koncentrace glukózy 7 mmol/l a více, je diagnostikován DM a žena je odeslána na diabetologii.
- Glykémie nalačno \geq 5,1 mmol/l a opakovaná glykémie < 5,1 mmol/l, doporučeno je provedení oGTT se zátěží 75 g glukózy.

Diagnostický postup a hodnocení ve II. (24. – 28. týden gravidity)

Indikace: všechny těhotné ženy s negativním výsledkem v I. fázi screeningu (i ženy, které I. fázi screeningu z nějakého důvodu nepodstoupily).

Metoda: tříbodový oGTT se 75 g glukózy, a to vždy za standardních podmínek: vyšetřuje se koncentrace glukózy v plazmě žilní krve, odebraná do zkumavky s antiglykolytickým činidlem (fluorid sodný + EDTA + citrát sodný) za dodržení podmínek preanalytické fáze (první odběr po 12 hodinovém lačnění, tři dny před odběrem standardní stravovací režim, standardní fyzická aktivita). Důvodem k odložení testu je akutní onemocnění.

Diagnostický postup: stanovení koncentrace glukózy nalačno:

- < 5,1 mmol/l, žena podstupuje okamžitě oGTT, zátěž 75 g glukózy, odběr v 60. a 120. minutě testu.
- \geq 5,1 mmol/l, vyšetření je nutné opakovat co nejdříve, v následujících dnech.
- \geq 5,1 mmol/l a opakovaná < 5,1 mmol/l, žena podstupuje oGTT, zátěž 75 g glukózy, odběr v 60. a 120. minutě testu.
- \geq 5,1 mmol/l a opakovaná \geq 5,1 mmol/l, GDM, žena nepodstupuje oGTT.

Hodnocení:

Pokud jsou všechny výsledky v normě

(nalačno < 5,1 mmol/l, v 60. minutě testu < 10,0 mmol/l a ve 120. minutě < 8,5 mmol/l) screening je negativní.

Pokud je překročena alespoň jedna hodnota (nalačno \geq 5,1 mmol/l, nebo v 60. minutě testu \geq 10,0 mmol/l nebo ve 120. minutě \geq 8,5 mmol/l) je diagnostikován GDM a žena je odeslána na diabetologii.

Shrnutí jedнокrokové strategie

Jednokroková strategie může zatížit zdravotnický systém a identifikovat větší počet žen s GDM, ale takto diagnostikované ženy a jejich děti z následné péče mohou profitovat. V České republice je akceptována jedнокroková strategie screeningu rozdělená na dvě fáze.

Dvoukroková strategie:

V roce 2013 byla v USA doporučena dvoukroková strategie, která má ale řadu variant. Shodným základem je screeningová zátěž s 50 g glukózy bez nutnosti lačnění před vyšetřením a v případě positivity druhá zátěž se 100 g glukózy (nalačno). Shoda se také týká nevhodnosti použití HbA_{1c} jako screeningového testu pro GDM. Tím ale jednotnost končí a varianty jsou dány

- různými hodnotami cut-off pro pozitivitu screeningové zátěže (7,2 nebo 7,5 nebo 7,8 mmol/l),
- různými hodnotícími kritérii pro zátěž 100 glukózy a časy nalačno, za hodinu, za dvě a za tři hodiny,
- různým pohledem na definici positivity po zátěži 100 g – diagnóza GDM se stanoví na základě positivity buď v jednom nebo nejméně ve dvou z hodnotících kritérií.

Různé cut-off hodnoty screeningového testu jsou spojeny s různou senzitivitou a specificitou testu. Hodnota 7,2 mmol/l má senzitivitu 88-99 % a specificitu 66-77 %. Cut-off 7,8 mmol/l má senzitivitu 70-88 % a specificitu 69-89 % (ADA). Je ponechána benevolence při výběru cut-off hodnot, protože čím nižší cut-off je zvolen, tím vyšší je skupina žen s nutností provést zátěžový test se 100 g glukózy.

Zátěž se 100 g glukózy připouští v jednotlivých odběrech také různá hodnocení. Cut-off hodnoty jsou 5,3 mmol/l nalačno, 10 mmol/l za hodinu, 8,6 mmol/l za dvě hodiny a 7,8 mmol/l za tři hodiny (dle Carpenter a Coustan), nebo cut-off hodnoty ve stejných časech odběru 5,8 – 10,6 – 9,2 – 8,0 mmol/l (National Diabetes Data Group, NDDG). Rozdíly vyplývají pouze z matematických přepočtů z původních dat definovaných pro plnou krev a neenzymatické metody stanovení glukózy z let 1979 a 1982. ADA se přiklání k použití nižších diagnostických cut-off (Carpenter – Coustan, 1982).

Žádné z doporučení se ke dvoukrokové strategii v ČR zatím nepřiklání. Ani samotná ADA není v tomto ohledu jed-

notná a v novém doporučení problematiku spíše diskutuje, než konkrétně doporučuje. V současné době nejsou pro jednoznačná stanoviska dostatečná data.

Celkové shrnutí:

V roce 2019 nedochází v diagnostice GDM k zásadním změnám. V ČR platí diagnostické postupy a cut-off hod-

noty z let 2016 a 2017. Zůstává v platnosti jednoruková strategie screeningu rozdělená na dvě fáze. Současná data nejsou konzistentní, probíhající studie pravděpodobně přispějí k navržení budoucí optimální strategie. HbA_{1c} lze použít při diagnostice DM (první screeningové vyšetření u žen, které měly preexistující, pregestační, zjevný diabetes s hodnotou koncentrace glukó-

zy nalačno ≥ 7 mmol/l. Hodnota HbA_{1c} ≥ 48 mmol/mol svědčí pro DM. HbA_{1c} ale nelze použít pro diagnostiku GDM ani pro reklasifikaci ve 4. až 6. týdnu po porodu.

MUDr. Janka Franeková, Ph.D.
vedoucí OKB, IKEM Praha

Novinky v mikrobiologických vyšetřeních

Vyšetření protilátek proti spalničkám ve třídě IgM, IgG

Vyšetřování protilátek proti spalničkám bylo v naší laboratoři zavedeno 1. 3. 2019 vzhledem k epidemiologické situaci a nárůstu onemocnění v ČR a ke zvýšené potřebě kontroly hladiny ochranných protilátek (IgG) u osob, které přišly do přímého kontaktu s onemocněním.

Stanovení protilátek proti spalničkám ve třídě IgM a IgG provádíme na analyzátoru LIAISON XL od firmy Diasorin metodou chemiluminiscence. V době epidemie provádíme stanovení pravidelně v pondělí, středu a pátek, statimová vyšetření provádíme denně. Stanovení se provádí v séru.

Meze pro hodnocení u námi prováděných metod jsou:

Pozitivita IgM protilátek $\geq 1,1$

Pozitivita IgG protilátek $\geq 16,5$ AU/ml

Dostatečná hladina ochranných IgG protilátek je $\geq 16,5$ AU/ml.

Laboratorní průkaz spalniček je založen na nepřímém průkazu infekce – vyšetření protilátek v séru (IgM, IgG) a přímém průkazu infekce – vyšetření virové RNA ze stěr z nazofaryngu metodou PCR (provádí smluvní laboratoř).

Pozitivita IgM protilátek v séru a průkaz virové RNA ve výtěru z nazofaryngu jsou potvrzením onemocnění spalničkami. Všechny vzorky séra s pozitivními IgM protilátkami a vzorky nazofaryngeálních výtěrů s pozitivním nálezem virové RNA jsou odeslány ke konfirmaci do Národní referenční laboratoře pro spalničky v SZÚ v Praze.

Nejvhodnější doba odběru pro sérologický průkaz infekce je mezi 4. až 28. dnem po výsevu exantému, do 72 hod po výsevu exantému může být až 30 % sér falešně negativních.

Nejvhodnější doba pro odběr vzorků pro průkaz virové RNA je co nejdříve po objevení se klinických příznaků, nejpozději do 5. dne od výsevu exantému.

Laboratorní nálezy u vakcinovaných osob těmito kritérii nemusi odpovídat, IgM protilátky mohou být negativní díky rychle stoupajícím hodnotám IgG protilátek a ze stejného důvodu nemusí

být prokazatelný ani několikanásobný vzestup IgG protilátek v párovém séru a ani přítomnost virové RNA, neboť virus je rychle neutralizován. Z uvedeného plyne, že případ onemocnění spalničkami u vakcinovaných osob může zůstat laboratorně nerozpoznán.

Na druhou stranu ani pozitivita IgM protilátek nemusí být projevem probíhajícího onemocnění, pozitivita IgM protilátek může přetrvávat po vakcinaci – až 6 týdnů, ale i při boosteru existujících IgG protilátek, pozitivita IgM protilátek může být také u jiné probíhající infekce (EBV, Parvovirus B19, HHV6).

Za imunní vůči spalničkám se považují osoby s laboratorně prokázanou pozitivitou IgG protilátek (bez ohledu na výši dosažených hodnot), osoby, které v minulosti spalničky proděly a osoby narozené před rokem 1969, kdy bylo v ČR zavedeno celoplošné očkování.

K vakcinaci osob proti spalničkám se používá živá oslabená trivalentní vakcína Priorix (spalničky, zarděnky, příušnice). Tuto vakcínu lze použít i tzv. profylaktické vakcinaci u osob, které přišly do kontaktu s onemocněním, kdy očkování do 72 hod po expozici může snížit riziko vzniku onemocnění o 90 %.

Změna technologie vyšetřování DNA – HPV, zrušení vyšetřování HPV-LR

Přítomnost určitých typů lidských papilomavirů (HPV) v ženském genitálním traktu je spojována s množstvím chorob, včetně kondylomat, bowenoidní papulosity, cervikální, vaginální a vulvární intraepiteliální neoplazie a karcinomu. Tyto viry jsou převážně přenášeny pohlavní cestou a typy HPV-HR jsou hlavním rizikovým faktorem pro vznik karcinomu cervixu. Karcinom děložního hrdla je celosvětově řazen mezi čtyři nejčastější typy nádorů diagnostikovaných u ženské populace.

Je identifikováno více než 100 typů HPV virů a podle karcinogenity lidských papilomavirů rozlišujeme high-risk HPV (HPV-HR) a low-risk HPV (HPV-LR).

Naše laboratoř doposud pro diagnostiku HPV infekcí používala neamplifikační hybridizační metodu **Hybrid Capture II** od firmy Digene, která rozlišovala pou-

ze rozdělení do skupin HPV-HR typů (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) a HPV-LR typů (6, 11, 42, 43, 44). Nyní dochází ke změně technologie na amplifikační metodu, která umožňuje detekci 24 high-risk typů HPV a typizaci HPV 16, 18 a 45 metodou real-time polymerázové řetězové reakce. HPV 16 a HPV 18 jsou příčinou až 70 % rakoviny děložního hrdla. Nová metoda bude prováděna na pětikanálovém přístroji **croBEE Real-Time PCR System** od firmy GeneProof. Analytická senzitivita testu dosahuje až 745 IU/ml pro HPV16 a 1561 IU/ml pro HPV18. Detekční souprava využívá technologii "hot start" minimalizující nespecifické reakce a zajišťující maximální citlivost. Kit je určen pro in vitro diagnostiku a umožňuje kvalitativní detekce.

Pro detekci HPV je možno použít cervikální stěr, vaginální stěr nebo stěr z penisu. Odběrové soupravy jsou na vyžádání dostupné v laboratoři. Vzorek může být uchovávan maximálně 48 hodin při teplotě +2 až +8 °C. Při delším skladování je potřeba všechny vzorky uchovávat zamražené při teplotě -20 ± 5 °C. Dostupnost výsledků do 7 pracovních dnů.

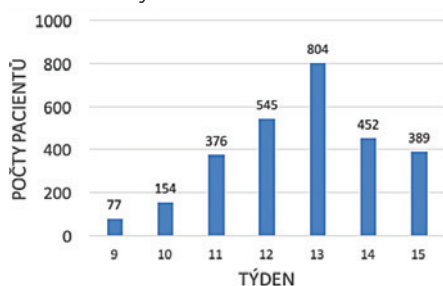
Přínosem provádění HPV screeningu je vyšší citlivost v detekci prekancerózních změn a vyšší ochrana před rozvojem CIN2 a CIN3 prekancerózních lézí a rakoviny děložního hrdla. Podstatnou informací při vyšetřování HPV je výsledek testu pro HPV-HR. Genotypizace HPV má význam zejména pro určení perzistence. Zjištění perzistence HPV-HR během 9 až 21 měsíců napomáhá k odlišení mezi přechodnými a klinicky relevantními HPV infekcemi. U žen s jedním nebo oběma negativními výsledky testování na HPV-HR, v časovém intervalu 9 až 21 měsíců, je riziko rozvoje klinicky významných změn na cervixu nižší. HPV-LR způsobují benigní změny děložního hrdla a genitální bradavice. V souvislosti se screeningem cervikálního karcinomu je testování přítomnosti HPV-LR bezvýznamné a finančně zatěžující. Z tohoto důvodu vyšetření PCR HPV-LR již nebude prováděno.

Mgr. Kateřina Žemličková
vedoucí Laboratorního a diagnostického centra Pardubice, MeDiLa spol. s r.o.

Spalničky mezi námi

Epidemiologická situace onemocnění spalniček zaměstnávala v uplynulých týdnech nejen klinická, ale i laboratorní pracoviště. Naše laboratoře se tak musely vypořádat se skokovým nárůstem požadavků na vyšetření protilátek třídy IgG a IgM z týdne na týden. Svým způsobem se tak naplnilo poselství článku „Spalničky stále aktuální“, autorů MUDr. Hany Zelené a Mgr. Jakuba Mrázka ze Zdravotního ústavu v Ostravě, který jsme zveřejnili v našem Bulletinu v květnu 2018.

Obr. 1.: Počty pacientů vyšetřených v laboratořích AXIS-CZ a MeDiLa na přítomnost protilátek proti spalničkám v 9. až 15. týdnu 2019



Vzhledem k aktuální epidemiologické situaci je Opatřením ministra zdravotnictví ze dne 22. 2. 2019 doporučeno testování zdravotníků. Vedení laboratoří ihned přistoupilo k vyšetřování protilátek proti spalničkám u vlastních zaměstnanců z důvodů zjištění rizika ohrožení onemocněním zdravotnického personálu odběrových center - zdravotních sestřiček a současně i řidičů svozové služby.

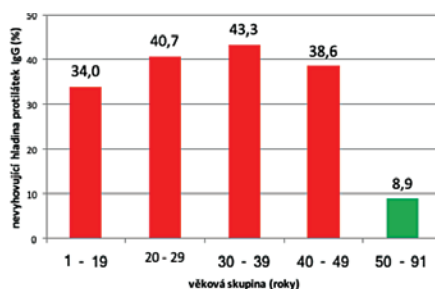
Paralelně s tím se začaly zvyšovat požadavky na stanovení protilátek pro-

ti spalničkám, a to jak od jednotlivců – samoplátců, tak na hromadná vyšetření zaměstnanců společností a institucí, u nichž by případná karanténní opatření vedla k výraznému omezení akceschopnosti pracovních týmů - hasičské záchranné sbory, pracovníci v sociálních službách, příslušníci policejních sborů, záchranáři, zaměstnanci škol a mateřských školek atd.

Celkové počty pacientů vyšetřených na přítomnost protilátek proti spalničkám v 9. až 15. týdnu 2019 jsou znázorněny v obr. 1. Celkem bylo v uvedeném období takto vyšetřeno 2797 pacientů.

Statistické vyhodnocení znázorněné v obr. 2. potvrzuje rozdíl ve výskytu protilátek třídy IgG mezi populací narozenou před r. 1969 (začátek vakcinace) a mladší populací. Za nevyhovující (nízké) hladiny protilátek jsou považovány výsledky stanovení menší než 16,5 AU/ml. Další charakteristiky uvedených vyšetření naleznete v předcházejícím článku „Novinky v mikrobiologických vyšetřeních“.

Obr. 2.: Podíl vyšetřených pacientů s nevyhovující hladinou protilátek třídy IgG



Závěrem:

Dosavadní výsledky vyšetřování na přítomnost postvakcinačních protilátek proti spalničkám u exponovaných skupin obyvatelstva potvrzují obecně udávaná data, že v populaci mladší než 50 let je přibližně 40 % jedinců s nevyhovující hladinou protilátek. V populaci starší než 50 let (před r. nar. 1969), která většinou onemocnění prodělala, má nevyhovující hladiny protilátek pouze 9 % jedinců.

Vyšetřování hladiny protilátek proti spalničkám u exponovaných skupin obyvatelstva považujeme za velmi účelné a zodpovědné vzhledem ke spolehlivému zajištění zdravotní péče a dalších důležitých funkcí státu.

Těší nás, že jsme díky moderní technice a pokročilé organizaci práce mohli včas a kvalitně splnit všechny požadavky na uvedená speciální vyšetření.

MUDr. Jana Doležalová
vedoucí lékař, MeDiLa spol. s r.o.

Aktuality

Laboratoř AXIS – CZ instalovala nové analyzátoře.

Ke stanovení glykovaného hemoglobinu nyní slouží TOSOH G7, který pracuje metodou HPLC. V porovnání s předchozí technikou poskytuje výsledky v kratším čase, s lepší správností a opakovatelností.

Nový močový analyzátor Dirui FUS 1000 poskytuje vyšší standardizaci prováděných vyšetření a kratší čas analýzy. Výsledky vyšetření sedimentu jsou na výsledkových listech již standardně

uváděny v počtech elementů na mikrolitr.

Pokračuje provoz společného Odběrového centra AXIS-CZ a MeDiLa na Ulrichově náměstí. Význam tohoto centra roste, zejména aktuálně v době epidemie spalniček. Připomínáme, že nejen zde, ale i v ostatních odběrových centrech lze požadovat odběry krve za účelem vyšetření protilátek proti původcům spalniček.

Tradiční odborný seminář pro sestry se uskuteční v Hradci Králové 6. listopadu

2019 a již nyní připravujeme zajímavý program.

Dne 2. ledna 2019 převzaly laboratoře MeDiLa provoz odběrového centra na Poliklinice „Bavlna“ ve Veverkově ul. 1631 v Hradci Králové – dříve v rámci společnosti MEDIKA Hradec Králové s.r.o. Odběry krve zde probíhají v pracovní dny od 6:30 do 11:45 hod.

Ing. Mgr. Simona Karmazínová



Pardubice, Štrossova 1931, 530 03 Pardubice - areál „Veteriny“
www.medila.cz; tel. 800 737 304; e-mail: medila@medila.cz

Hradec Králové, II. poliklinika, Slezské předměstí, Bratří Štefanů 895
www.medila.cz; tel. 800 737 305; e-mail: medila@medila.cz

AXIS - CZ Hradec Králové, s.r.o.
Poliklinika III, Třída Edvarda Beneše 1549, Hradec Králové, PSČ 500 12
www.axis-cz.cz; e-mail: info@axis-cz.cz
tel. 800 611 611; +420 495 260 374; +420 606 636 023; +420 495 260 373

BULLETIN - PŘÍLOHA

Západonilská horečka v České republice

Úvod

Virus západonilské horečky (WNV) je významným neurotropním virem přenášeným komáry rodu *Culex*. Byl poprvé izolován v roce 1937 z krve člověka s horečnatým onemocněním na severu Ugandy. Patří do komplexu virů japonské encefalitidy rodu *Flavivirus* a je blízké příbuzný např. virům Usutu, viru japonské encefalitidy a viru St. Louis encefalitidy. Jedná se o obalený ss-RNA virus s nesegmentovaným genomem kódující polyprotein, který se následně štěpí na tři strukturální proteiny (C, M a E) a sedm nestrukturálních proteinů (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B a NS5) uplatňující se v různých fázích virové replikace. V současnosti je známo osm fylogenetických linií viru (Fall et al. 2017), z nichž pouze linie 1 a 2 prokazatelně způsobují lidská onemocnění. Linie 1a se vyskytuje v Evropě, na Blízkém Východě, v Africe a v roce 1999 byla introdukována do Severní Ameriky. Linie 1b se vyskytuje v Austrálii, označuje se názvem Kunjin. Linie 2 byla původně přítomna pouze v subsaharské Africe, od roku 2004 se šíří v Evropě a v současné době zde dominuje. V Evropě se nyní paralelně vyskytují genotypy 1a a 2.

Epidemiologie

Rezervoárem infekce jsou různé druhy ptáků, u nichž dochází k významné virémii, která je většinou asymptomatická a bývájí tak zdrojem pro další šíření nákazy prostřednictvím vektorů. Pro některé druhy ptáků, především dravce a krkavcovité, je však WNV vysoce virulentní a nákaza se u nich projevuje hromadnými úhyny v zasažených oblastech. Úhyny ptáků často předcházejí případům infekce u lidí nebo koní. Šířitelé infekce napříč kontinenty jsou viremiciťní ptáci cestující ze subsaharské Afriky, severní Afriky nebo středního Východu do Evropy. Předpokladem introdukování nákazy v nových lokalitách je schopnost viru přezimovat v nakažených komárech. Člověk a ostatní savci (např. koně) se mohou virem nakazit a onemocnět, ale virémie je u nich jen krátkodobá a nízká, a proto nejsou rezervoárem infekce pro její další šíření. Přenašeči (vektory) infekce jsou komáři rodu *Culex*, v Evropě jsou hlavními vektory *Culex pipiens* a *Culex modestus*, tedy komáři u nás zcela běžní. Rozlišují se dva biotypy *C. pipiens*, z nichž *C. pipiens pipiens* saje přednostně na ptácích a má klíčovou roli v enzootickém cyklu pře-

nosu WNV v populacích ptáků, zatímco *C. pipiens molestus* saje na savcích a v přenosu viru nehraje významnou roli. V přenosu nákazy na člověka a koně se pravděpodobně nejvíce uplatňují hybridy obou biotypů. K přenosu nákazy dochází v období aktivity komárů, tedy od jara do podzimu. Jejich aktivita závisí na průměrných denních teplotách. Nejvíce nálezů je v mírném podnebí pozorováno od července do září.

Výskyt v Evropě

Na základě sérologických studií byla potvrzena cirkulace WNV v Evropě již v 50. letech minulého století (Bardos V. et al. 1959). První hromadný výskyt onemocnění WNV u lidí byl zaznamenán v letech 1962-1963 na jihu Francie (Joubert L. et al. 1970), velká epidemie proběhla v roce 1996 v Rumunsku (Tsai TF et al. 1998). Od té doby jsou případy onemocnění u lidí i koní pravidelně hlášeny z různých států především na jihu Evropy (Sambri V. et al. 2013). V roce 2018 byl v Evropě zaznamenán nebývalý nárůst počtu humánních případů WNV infekce ve srovnání s předchozím obdobím. Případy se začaly objevovat o několik týdnů dříve než v dřívějších sezónách, případy se vyskytly nejen ve známých endemických oblastech, ale i v nových lokalitách a ve státech dosud infekcí nezasažených. K 6. prosinci 2018 bylo v Evropě evidováno 2082 onemocnění WNV u lidí, z toho v zemích EU bylo hlášeno 1503 případů, což představuje pěti násobný nárůst ve srovnání s rokem 2017. 180 osob v Evropě na tuto infekci zemřelo. Nejvíce případů hlásí Itálie (576), Srbsko (415), Řecko (311), Rumunsko (277) a Maďarsko (215). Případy se dále vyskytly v Chorvatsku, Francii, Rakousku, Bulharsku, Turecku, Kosovu, Slovinsku, na Kypru a v České republice (ECDC 2018). V České republice bylo k tomuto datu hlášeno pět autochtonních nálezů včetně jednoho úmrtí a dva případy importovaných nálezů z Řecka a Rakouska.

Situace v České republice

V České republice má výzkum západonilské horečky dlouhou tradici. První případy pravděpodobné infekce WNV u lidí byly zaznamenány již v roce 1997 v souvislosti s rozsáhlými povodněmi, původcem byla pravděpodobně linie WNV-1, jehož přítomnost byla opakovaně potvrzena v populacích komárů *Culex modestus* odchycených v okolí rybníků na jižní Moravě (Hubalek et al. 1999, Rudolf

et al. 2014). Opakovaně byly detekovány specifické protilátky proti WNV u ptáků (Straková et al. 2015) a koní (Sedlák et al. 2014). Od roku 2013 je opakovaně nalézána přítomnost linie WNV-2 u komárů *Culex modestus* a *Culex pipiens* v oblasti rybníků Lednicko-Valtického areálu (Rudolf et al. 2014, Rudolf et al. 2018). První humánní případy s lokálním přenosem byly v ČR potvrzeny až v roce 2018, kdy onemocnělo celkem pět osob neuroinvasivní formou WNV infekce. U jedné osoby onemocnění skončilo úmrtím. Ke všem těmto případům došlo na Jižní Moravě.

Klinické projevy infekce WNV

Nejčastějším způsobem nákazy člověka je bodnutí infikovaného komára. Možnou cestou přenosu je i krevní transfúze nebo transplantace orgánů, z toho důvodu jsou v zasažených oblastech aplikována opatření pro zabránění přenosu. Vzácně lze virus přenést i z matky na plod nebo prostřednictvím mateřského mléka při kojení.

Inkubační doba západonilské horečky se pohybuje mezi 2 až 15 dny. Okolo 80 % nálezů probíhá bezpříznakově. Nejlehčí formou symptomatického průběhu je tzv. západonilská horečka objevující se přibližně u 20 % nakažených. Kromě horečky ji provázejí chřipkovité příznaky jako je bolest hlavy, svalů, kloubů, únava, malátnost, nadměrné pocení, makulopapulózní exantém, zvětšení lymfatických uzlin, bývají i zažívací obtíže jako nevolnost, zvracení, nechutenství a průjem. Všechny tyto příznaky zpravidla odezní bez následků během 3-5 dní. Pouze u méně než 1 % nakažených virus napadá centrální nervový systém. V těchto případech probíhá závažná, neuroinvasivní forma onemocnění. Nejmírnější z nich je meningitida, těžší formou jsou meningoencefalitida či myelitida. Tato forma může probíhat i bez horečky nebo dalších symptomů typických pro ostatní formy infekce WNV. Plně rozvinuté neuroinvasivní onemocnění končí smrtelně přibližně v 10 % případů. Těžký průběh a úmrtí jsou častější u starších a imunokompromitovaných osob. (Sejvar JJ et al. 2003, Pervanidou D. et al. 2014)

Laboratorní diagnostika infekcí WNV

Laboratorní diagnostika západonilské horečky je svízelná vzhledem k tomu, že se jedná o virus z čeledi *Flaviviridae*, a v běžně používaných sérologických

testech (ELISA, NIF) se vyskytuje vysoké procento zkřížených reakcí s ostatními flaviviry, např. s virem klíšťové encefalitidy. Vzhledem k tomu, že i klinický průběh je obdobný, nelze vyloučit, že za některými případy sérologicky diagnostikované klíšťové encefalitidy se mohou skrývat případy nepoznané západonilské horečky. Nejspolehlivější diagnostikou je kombinace přímých i nepřímých metod.

Infekci WNV lze prokázat přímým průkazem metodou PCR vyšetřením z krve, mozkomíšního moku nebo moče. Moč se podobně jako i u jiných flavivirů ukazuje jako mimořádně vhodný materiál pro přímý průkaz viru, protože pozitivita virové RNA v moči je delší a virová nálož vyšší než v séru nebo likvoru. Průkaz viru metodou PCR je vhodné pro jednoznačný průkaz a bližší charakterizaci viru konfirmovat sekvenací virové RNA. Srážlivá krev (sérum) a mozkomíšní mok jsou vhodným materiálem k RT-PCR jen v prvním týdnu trvání klinických příznaků, protože virus (resp. virová RNA) se v těchto materiálech vyskytuje jen krátkou dobu. Později lze virovou RNA detekovat v moči nebo v plně EDTA krvi, ve kterých trvá PCR pozitivita dva týdny i déle. Virovou RNA lze prokázat i v bi-optických či sekčních vzorcích mozku nebo míchy.

Negativní výsledek PCR však nevylučuje infekci WNV. Z toho důvodu musíme spoléhat na výsledky sérologické diagnostiky. Pro detekci specifických protilátek využíváme nejčastěji srážlivou krev (sérum), případně plazmu nebo mozkomíšní mok. Vyhledávací metodou je ELISA nebo nepřímá imunofluorescence (NIF), kterými detekujeme protilátky tříd IgG a IgM, případně aviditu IgG. Pozitivní výsledky sérologie je nutno vždy konfirmovat virusneutralizačním testem (VNT) z důvodu častého výskytu zkřížených reakcí s jinými flaviviry, které jsou způsobeny vazbou protilátek na společné epitopy E proteinu flavivirů. Je nutno vyloučit infekci jiným flavivirem a přítomnost zkříženě reagujících protilátek po předchozích vakcinacích (klíšťová encefalitida, žlutá zimnice, japonská encefalitida). Po očkování jsou dlouhodobě přítomny IgG protilátky a IgM mohou přetrvávat až několik měsíců. Obě třídy protilátek mohou zkříženě reagovat v testech ELISA a NIF určených pro diagnostiku WNV infekcí. Dokonce i konfirmační test VNT může vykazovat částečnou zkříženou reaktivitu. Proto pro rozlišení těchto infekcí by měl být proveden paralelně VNT na různé flaviviry, v našich podmínkách alespoň na virus klíšťové encefalitidy a virus Usutu a vzájemným porovnáním títů ve VNT stanovit správnou diagnózu. V nejasných případech je požado-

ván odběr párového séra s odstupem alespoň jednoho týdne, kdy průkazem akutní infekce je sérokonverze nebo minimálně čtyřnásobný vzestup titru neutralizačních protilátek.

Léčba a prevence

Léčba infekcí WNV je pouze symptomatická, jelikož není k dispozici účinné kauzálně působící antivirotikum. Není k dispozici ani vakcína proti WNV. Prevence spočívá především v ochraně před bodnutím komárů, použití repelentů, ochranných sítí do oken a eliminace nádob se stojatou vodou v blízkosti lidských obydlí, ve kterých se vyvíjejí komáří larvy. Pracoviště transfúzní služby v zasažených oblastech by měla v sezóně aktivity komárů zavádět plošné vyšetřování dárců krve metodou přímého průkazu virové RNA. V ostatních oblastech by pak měly být osoby po návratu z regionů s lokálním přenosem vyloučeny z dárcovství po dobu 28 dní.

Závěr

S ohledem na vývoj epidemiologické situace v Evropě a v České republice je nutno západonilskou horečku zahrnout do diferenciální diagnostiky neuroinfekcí, a to i u osob s negativní cestovatelkou anamnézou. Lze předpokládat další šíření této infekce v následujících sezónách i do dalších regionů České republiky, kde se zatím humánní případy nevyskytly. Vzhledem k častým zkříženým reakcím v rámci flavivirů je nutno počítat s tím, že za pozitivní sérologii klíšťové encefalitidy, která je u nás podstatně častější, se může skrývat infekce virem západonilské horečky. Je nutno myslet i na možnost zkřížených reakcí s dalšími flaviviry, např. s virem Usutu. Správná etiologická diagnostika pacientů s neuroinfekcemi je důležitá především z důvodů epidemiologických. Výskyt WNV v ČR má významný dopad také na transfúzní službu z důvodu zavedení nutných opatření k zabránění šíření této infekce krví.

Literatura

Fall G, Di Paola N, Faye M, Dia M, Freire CCM, Loucoubar C, et al. Biological and phylogenetic characteristics of West African lineages of West Nile virus. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017 Nov;11(11):e0006078

Bardos V, Adamcova J, Dedei S, Gjini N, Rosticky B, Simkova A. Neutralizing antibodies against some neurotropic viruses determined in human sera in Albania. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*. 1959;3:277-82.

Joubert L, Oudar J, Hannoun C, Beytout D, Corniou B, Guillon JC, et al. Epidemiology of the West Nile virus: study of a focus in Camargue. IV. Meningo-encephalomyelitis of the horse. *Ann Inst Pasteur (Paris)*. 1970 Feb;118(2):239-47.

Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, Nedelcu NI. West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet*. 1998 Sep 5;352(9130):767-71.

Sambri V, Capobianchi M, Charrel R, Fyodorova M, Gaibani P, Gould E, et al. West Nile virus in Europe: emergence, epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Aug;19(8):699-704.

European Center for Disease Prevention and Control. Weekly updates: 2018 West Nile fever transmission season. Stockholm: ECDC; 2018 [cited 20 September 2018]. Available from: <https://ecdc.europa.eu/en/west-nile-fever/surveillance-and-disease-data/disease-data-ecdc>

Hubalek Z, Halouzka J, Juřicová Z. 1999, West Nile fever in Czevchland. *Emerg Infect Dis*, 5:594-5

Rudolf I., Bakonyi T., Šebesta O., Peško J., Vencliková K., Mendel J., Betášová L., Blažejová H., Straková P., Nowotny N., Hubálek Z. 2014. West Nile virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: expansion of the European WNV endemic area to the North? *Euro Surveill*. 19 (31):pii=20867.

Straková P., Šikutová S., Jedličková P., Sitko J., Rudolf I., Hubálek Z. 2015. The Common Coot as sentinel species for the presence of West Nile and Usutu flaviviruses in Central Europe. *Res. Vet. Sci*. 102: 159-161.

Sedlák K, Zelená H, Krívda V, Šatrán P. Surveillance západonilské horečky u koní v České republice v letech 2011-2013. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 2014;63:307-311.

Rudolf I., Bakonyi T., Šebesta O., Peško J., Vencliková K., Mendel J., Betášová L., Blažejová H., Straková P., Nowotny N., Hubálek Z. 2014. West Nile virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: expansion of the European WNV endemic area to the North? *Euro Surveill*. 19 (31):pii=20867

Rudolf I, Blažejová H, Šebesta O et al. West Nile virus (lineage 2) in mosquitoes in southern Moravia - awaiting the first autochthonous human cases. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*. Spring 2018;67(1):44-6. PubMed PMID: 30157657.

Sejvar JJ, Haddad MB, Tierney BC, Campbell GL, Marfin AA, Van Gerpen JA, et al. Neurologic manifestations and outcome of West Nile virus infection. *JAMA*. 2003 Jul 23;290(4):511-5

Pervanidou D, Detsis M, Danis K, Mellou K, Papanikolaou E, Terzaki I, et al. West Nile virus outbreak in humans, Greece, 2012: third consecutive year of local transmission. *Euro Surveill*. 2014 Apr 3;19(13).

MUDr. Hana Zelená
Mgr. Jakub Mrázek
Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě



Milí čtenáři,
stejně jako většina se i já těším na příští měsíce, vyplněné příjemným počasím a také časem

stráveným na dovolené u vody, v lesích, horách, na venkově nebo u moře či v exotických krajinách. Přeji všem, abyste tento čas strávili co nejlépe a odpočali si tak, abyste se rádi vraceli do ambulancí. To vám přeji za sebe i za tři desítky našich svozových řidičů a řidiček, kteří i o prázdninách bezpečně a včas odvezou cenný biologický materiál k vyšetření do našich laboratoří.

Jana Stejskalová
vedoucí úseku dopravy
MeDiLa spol. s r.o.

Témata obsahu

Gestační diabetes mellitus

Novinky v mikrobiologických vyšetřeních

Spalnicek mezi námi

PŘÍLOHA – Západonilská horečka v České republice

Elektronickou verzi Bulletinu naleznete na www.medila.cz.

Gestační diabetes mellitus - změnilo se něco v roce 2019?

Problematicke gestačního diabetu (GDM) je věnována část pravidelně v lednu vycházejícího doporučení Americké diabetologické asociace (ADA) (leden 2019, Diabetes Care Volume 42, Supplement 1). Doporučení nepřináší zásadní změny v porovnání s předchozím doporučením z roku 2018, spíše upřesňuje a jednoznačně definuje pojmy. Doporučení České společnosti klinické biochemie, které bylo publikováno v roce 2016 v časopise Klinická biochemie a metabolismus a také Doporučený postup screeningu, gynekologické, perinatologické, diabetologické a neonatologické péče 2017* (http://www.diab.cz/dokumenty/DP_GDM_2017.pdf) je v podstatě v souladu s novým doporučením ADA.

Poznámky k Doporučení ADA 2019

Diagnostika DM

GDM byl v minulosti definován jako jakýkoli stupeň intolerance glukózy poprvé zjištěný v průběhu gravidity, bez ohledu na to, jaká byla situace před graviditou a po ní. Tato definice nebyla příliš přesná a nezohledňovala dostatečně rostoucí počet nediodagnostikovaných diabetiček 2. typu v populaci. Je tedy

opodstatněné testovat ženy s rizikem DM 2. typu již při první prenatalní vizitě při použití standardních diagnostických kritérií (tabulka 1) k odhalení diabetiček, které otěhotněly.

Podstatná a nová poznámka v materiálech ADA z ledna 2019 bere ohled na analytickou a biologickou variabilitu stanovení glukózy a HbA_{1c}: pokud není přítomna jednoznačná hyperglykémie, je pro stanovení diagnózy rozhodující zjištění dvou abnormálních výsledků

z jednoho vzorku (glukóza a HbA_{1c}) nebo ve dvou různých vzorcích (dva různé odběry ve dvou různých dnech).

Ženy s diagnostikovaným diabetem dle standardních kritérií jsou hodnoceny jako DM 2. typu, nebo vzácně DM 1. typu, nebo monogenní diabetes. To znamená, že měly preexistující, pregestační diabetes.

Této problematice se krátce věnuje i doporučení České gynekologické

Tabulka 1 - Standardní kritéria diagnózy diabetu

Kritérium	Cut-off hodnota pro diabetes mellitus	Poznámka
Koncentrace glukózy v plazmě žilní krve nalačno	7,0 mmol/l a více	Pojmem nalačno se míní hladovění po dobu minimálně 8 hodin
Koncentrace glukózy v plazmě žilní krve za 2 hodiny od zátěže v rámci během oGTT	11,1 mmol/l a více	Provedení oGTT podle WHO, 75 g glukózy
Klinické známky hyperglykémie nebo hyperglykemické krize a náhodná koncentrace glukózy v plazmě žilní krve	11,1 mmol/l a více	
HbA _{1c} (glykovaný hemoglobin)	48 mmol/mol a více	ADA specifikuje návaznost metody, podobně v Evropě je nutné respektovat metrologickou návaznost metody IFCC

a porodnické společnosti, České diabetologické společnosti a České neonatologické společnosti ČLS JEP (dále doporučení ČDS). DM (zjevný diabetes mellitus) splňuje u těhotné ženy kritéria pro diagnostiku diabetu používaná pro běžnou populaci (koncentrace glukózy v plazmě žilní krve nalačno nad 7 mmol/l, nebo ve 120. minutě oGTT nad 11,1 mmol/l).

Diagnostika GDM

Gestační diabetes mellitus je ten, který je diagnostikován poprvé ve druhém, nebo třetím trimestru, který není ani preexistující DM 1. typu nebo DM 2. typu. Diagnostická kritéria, která se používají v druhém trimestru, nelze jednoduše použít v prvním trimestru, protože kritéria pro glukózu nalačno (fasting plasma glucose) nebo oGTT se zátěží 75 g glukózy pocházejí z dat IADPSG (The International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups) a jsou odvozena z dat získaných ve druhém trimestru. Ženy s diagnostikovaným gestačním diabetem by měly být intervenovány a celoživotně sledovány.

Studie HAPO (multinárodní studie, sledováno 23 tisíc žen) prokázala kontinuální zvyšování rizika se stoupající koncentrací glukózy, bez existence jednoznačného cut-off ve 24. až 28. týdnu gravidity. Pro většinu komplikací neexistuje prahová hodnota rizika. Tyto výsledky vedly k úvahám o dvou možných strategiích:

- Jednokroková strategie: standardní oGTT se 75 g glukózy.
- Dvoukroková strategie: počáteční screening s 50 g glukózy (bez nutnosti být nalačno) s následujícím druhým krokem vyžadujícím lačnění a se zátěží 100 g glukózy u žen s pozitivním screeninem.

Obě strategie, používající různá diagnostická kritéria, budou identifikovat různé stupně maternálního a fetálního rizika; mají také mezi experty zastánce i odpůrce.

Jednokroková strategie:

Jednokroková strategie vychází z doporučení IADPSG, založených na cut-off hodnotách ze studie HAPO. Cut-off hodnoty odpovídají 1,75 násobku rizika celkové studované populace těhotných žen. V poměrně nové studii Loweho a kolektivu z roku 2018 se ukázalo, že pokud by byly ženy diagnostikovány podle těchto kritérií, pak měly po 11letém sledování po ukončení gravidity 3,4x vyšší riziko rozvoje prediabetu a DM 2. typu a měly také obézní děti. Diagnostikované ženy by tedy mohly profitovat z preventivních a terapeutických opatření, pokud by u nich byl GDM podle cut-off hodnot jednokrokové strategie diagnostikován.

Jednokroková strategie je plně akceptována i v České republice, dle obou zmíněných doporučení.

Dle doporučení ČDS probíhá screening GDM ve dvou fázích:

- I. fáze do 14. týdne gravidity,
- II. fáze ve 24. až 28. týdnu gravidity

Screening je indikován u všech těhotných, u kterých nebyla diagnostikována porucha metabolismu glukózy již pregestačně. Organizuje ho gynekolog, vyšetření koncentrace glukózy v plazmě žilní krve se provádí v akreditované laboratoři.

V tomto bodě se česká doporučení liší od doporučení ADA. V první fázi se pracuje s hodnotou cut-off 5,1 mmol/l již ve 14. týdnu gravidity – tento krok v doporučení ADA není.

Diagnostický postup a hodnocení v I. fázi (14. týden gravidity)

- Koncentrace glukózy nalačno < 5,1 mmol/l, v normě, žena podstoupí druhou fázi ve 24. až 28. týdnu.
- Glykémie nalačno \geq 5,1 mmol/l, vyšetření je nutné opakovat co nejdříve, v následujících dnech; pokud je koncentrace glukózy 5,1 – 6,9 mmol/l, je stanovena diagnóza GDM a žena je odeslána na diabetologii, pokud je koncentrace glukózy 7 mmol/l a více, je diagnostikován DM a žena je odeslána na diabetologii.
- Glykémie nalačno \geq 5,1 mmol/l a opakovaná glykémie < 5,1 mmol/l, doporučeno je provedení oGTT se zátěží 75 g glukózy.

Diagnostický postup a hodnocení ve II. (24. – 28. týden gravidity)

Indikace: všechny těhotné ženy s negativním výsledkem v I. fázi screeningu (i ženy, které I. fázi screeningu z nějakého důvodu nepodstoupily).

Metoda: tříbodový oGTT se 75 g glukózy, a to vždy za standardních podmínek: vyšetřuje se koncentrace glukózy v plazmě žilní krve, odebraná do zkumavky s antiglykolytickým činidlem (fluorid sodný + EDTA + citrát sodný) za dodržení podmínek preanalytické fáze (první odběr po 12 hodinovém lačnění, tři dny před odběrem standardní stravovací režim, standardní fyzická aktivita). Důvodem k odložení testu je akutní onemocnění.

Diagnostický postup: stanovení koncentrace glukózy nalačno:

- < 5,1 mmol/l, žena podstupuje okamžitě oGTT, zátěž 75 g glukózy, odběr v 60. a 120. minutě testu.
- \geq 5,1 mmol/l, vyšetření je nutné opakovat co nejdříve, v následujících dnech.
- \geq 5,1 mmol/l a opakovaná < 5,1 mmol/l, žena podstupuje oGTT, zátěž 75 g glukózy, odběr v 60. a 120. minutě testu.
- \geq 5,1 mmol/l a opakovaná \geq 5,1 mmol/l, GDM, žena nepodstupuje oGTT.

Hodnocení:

Pokud jsou všechny výsledky v normě

(nalačno < 5,1 mmol/l, v 60. minutě testu < 10,0 mmol/l a ve 120. minutě < 8,5 mmol/l) screening je negativní.

Pokud je překročena alespoň jedna hodnota (nalačno \geq 5,1 mmol/l, nebo v 60. minutě testu \geq 10,0 mmol/l nebo ve 120. minutě \geq 8,5 mmol/l) je diagnostikován GDM a žena je odeslána na diabetologii.

Shrnutí jedнокrokové strategie

Jednokroková strategie může zatížit zdravotnický systém a identifikovat větší počet žen s GDM, ale takto diagnostikované ženy a jejich děti z následné péče mohou profitovat. V České republice je akceptována jedнокroková strategie screeningu rozdělená na dvě fáze.

Dvoukroková strategie:

V roce 2013 byla v USA doporučena dvoukroková strategie, která má ale řadu variant. Shodným základem je screeningová zátěž s 50 g glukózy bez nutnosti lačnění před vyšetřením a v případě positivity druhá zátěž se 100 g glukózy (nalačno). Shoda se také týká nevhodnosti použití HbA_{1c} jako screeningového testu pro GDM. Tím ale jednotnost končí a varianty jsou dány

- různými hodnotami cut-off pro pozitivitu screeningové zátěže (7,2 nebo 7,5 nebo 7,8 mmol/l),
- různými hodnotícími kritérii pro zátěž 100 glukózy a časy nalačno, za hodinu, za dvě a za tři hodiny,
- různým pohledem na definici positivity po zátěži 100 g – diagnóza GDM se stanoví na základě positivity buď v jednom nebo nejméně ve dvou z hodnotících kritérií.

Různé cut-off hodnoty screeningového testu jsou spojeny s různou senzitivitou a specifitou testu. Hodnota 7,2 mmol/l má senzitivitu 88-99 % a specifčnost 66-77 %. Cut-off 7,8 mmol/l má senzitivitu 70-88 % a specifčnost 69-89 % (ADA). Je ponechána benevolence při výběru cut-off hodnot, protože čím nižší cut-off je zvolen, tím vyšší je skupina žen s nutností provést zátěžový test se 100 g glukózy.

Zátěž se 100 g glukózy připouští v jednotlivých odběrech také různá hodnocení. Cut-off hodnoty jsou 5,3 mmol/l nalačno, 10 mmol/l za hodinu, 8,6 mmol/l za dvě hodiny a 7,8 mmol/l za tři hodiny (dle Carpenter a Coustan), nebo cut-off hodnoty ve stejných časech odběru 5,8 – 10,6 – 9,2 – 8,0 mmol/l (National Diabetes Data Group, NDDG). Rozdíly vyplývají pouze z matematických přepočtů z původních dat definovaných pro plnou krev a neenzymatické metody stanovení glukózy z let 1979 a 1982. ADA se přiklání k použití nižších diagnostických cut-off (Carpenter – Coustan, 1982).

Žádné z doporučení se ke dvoukrokové strategii v ČR zatím nepřiklání. Ani samotná ADA není v tomto ohledu jed-

notná a v novém doporučení problematiku spíše diskutuje, než konkrétně doporučuje. V současné době nejsou pro jednoznačná stanoviska dostatečná data.

Celkové shrnutí:

V roce 2019 nedochází v diagnostice GDM k zásadním změnám. V ČR platí diagnostické postupy a cut-off hod-

noty z let 2016 a 2017. Zůstává v platnosti jednokroková strategie screeningu rozdělená na dvě fáze. Současná data nejsou konzistentní, probíhající studie pravděpodobně přispějí k navržení budoucí optimální strategie. HbA_{1c} lze použít při diagnostice DM (první screeningové vyšetření u žen, které měly preexistující, pregestační, zjevný diabetes s hodnotou koncentrace glukó-

zy nalačno ≥ 7 mmol/l. Hodnota HbA_{1c} ≥ 48 mmol/mol svědčí pro DM. HbA_{1c} ale nelze použít pro diagnostiku GDM ani pro reklasifikaci ve 4. až 6. týdnu po porodu.

MUDr. Janka Franeková, Ph.D.
vedoucí OKB, IKEM Praha

Novinky v mikrobiologických vyšetřeních

Vyšetření protilátek proti spalničkám ve třídě IgM, IgG

Vyšetřování protilátek proti spalničkám bylo v naší laboratoři zavedeno 1. 3. 2019 vzhledem k epidemiologické situaci a nárůstu onemocnění v ČR a ke zvýšené potřebě kontroly hladiny ochranných protilátek (IgG) u osob, které přišly do přímého kontaktu s onemocněním.

Stanovení protilátek proti spalničkám ve třídě IgM a IgG provádíme na analyzátoru LIAISON XL od firmy Diasorin metodou chemiluminiscence. V době epidemie provádíme stanovení pravidelně v pondělí, středu a pátek, statimová vyšetření provádíme denně. Stanovení se provádí v séru.

Meze pro hodnocení u námi prováděných metod jsou:

Pozitivita IgM protilátek $\geq 1,1$

Pozitivita IgG protilátek $\geq 16,5$ AU/ml

Dostatečná hladina ochranných IgG protilátek je $\geq 16,5$ AU/ml.

Laboratorní průkaz spalniček je založen na nepřímém průkazu infekce – vyšetření protilátek v séru (IgM, IgG) a přímém průkazu infekce – vyšetření virové RNA ze stěru z nazofaryngu metodou PCR (provádí smluvní laboratoř).

Pozitivita IgM protilátek v séru a průkaz virové RNA ve výtěru z nazofaryngu jsou potvrzením onemocnění spalničkami. Všechny vzorky séra s pozitivními IgM protilátkami a vzorky nazofaryngeálních výtěrů s pozitivním nálezem virové RNA jsou odeslány ke konfirmaci do Národní referenční laboratoře pro spalničky v SZÚ v Praze.

Nejvhodnější doba odběru pro sérologický průkaz infekce je mezi 4. až 28. dnem po výsevu exantému, do 72 hod po výsevu exantému může být až 30 % sér falešně negativních.

Nejvhodnější doba pro odběr vzorků pro průkaz virové RNA je co nejdříve po objevení se klinických příznaků, nejpozději do 5. dne od výsevu exantému.

Laboratorní nálezy u vakcinovaných osob těmito kritérii nemusi odpovídat, IgM protilátky mohou být negativní díky rychle stoupajícím hodnotám IgG protilátek a ze stejného důvodu nemusí

být prokazatelný ani několikanásobný vzestup IgG protilátek v párovém séru a ani přítomnost virové RNA, neboť virus je rychle neutralizován. Z uvedeného plyne, že případ onemocnění spalničkami u vakcinovaných osob může zůstat laboratorně nerozpoznán.

Na druhou stranu ani pozitivita IgM protilátek nemusí být projevem probíhajícího onemocnění, pozitivita IgM protilátek může přetrvávat po vakcinaci – až 6 týdnů, ale i při boosteru existujících IgG protilátek, pozitivita IgM protilátek může být také u jiné probíhající infekce (EBV, Parvovirus B19, HHV6).

Za imunní vůči spalničkám se považují osoby s laboratorně prokázanou pozitivitou IgG protilátek (bez ohledu na výši dosažených hodnot), osoby, které v minulosti spalničky proděly a osoby narozené před rokem 1969, kdy bylo v ČR zavedeno celoplošné očkování.

K vakcinaci osob proti spalničkám se používá živá oslabená trivalentní vakcína Priorix (spalničky, zarděnky, příušnice). Tuto vakcínu lze použít i tzv. profylaktické vakcinaci u osob, které přišly do kontaktu s onemocněním, kdy očkování do 72 hod po expozici může snížit riziko vzniku onemocnění o 90 %.

Změna technologie vyšetřování DNA – HPV, zrušení vyšetřování HPV-LR

Přítomnost určitých typů lidských papilomavirů (HPV) v ženském genitálním traktu je spojována s množstvím chorob, včetně kondylomat, bowenoidní papulosity, cervikální, vaginální a vulvární intraepiteliální neoplazie a karcinomu. Tyto viry jsou převážně přenášeny pohlavní cestou a typy HPV-HR jsou hlavním rizikovým faktorem pro vznik karcinomu cervixu. Karcinom děložního hrdla je celosvětově řazen mezi čtyři nejčastější typy nádorů diagnostikovaných u ženské populace.

Je identifikováno více než 100 typů HPV virů a podle karcinogenity lidských papilomavirů rozlišujeme high-risk HPV (HPV-HR) a low-risk HPV (HPV-LR).

Naše laboratoř doposud pro diagnostiku HPV infekcí používala neamplifikační hybridizační metodu **Hybrid Capture II** od firmy Digene, která rozlišovala pou-

ze rozdělení do skupin HPV-HR typů (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) a HPV-LR typů (6, 11, 42, 43, 44). Nyní dochází ke změně technologie na amplifikační metodu, která umožňuje detekci 24 high-risk typů HPV a typizaci HPV 16, 18 a 45 metodou real-time polymerázové řetězové reakce. HPV 16 a HPV 18 jsou příčinou až 70 % rakoviny děložního hrdla. Nová metoda bude prováděna na pětikanálovém přístroji **croBEE Real-Time PCR System** od firmy GeneProof. Analytická senzitivita testu dosahuje až 745 IU/ml pro HPV16 a 1561 IU/ml pro HPV18. Detekční souprava využívá technologii "hot start" minimalizující nespecifické reakce a zajišťující maximální citlivost. Kit je určen pro in vitro diagnostiku a umožňuje kvalitativní detekce.

Pro detekci HPV je možno použít cervikální stěr, vaginální stěr nebo stěr z penisu. Odběrové soupravy jsou na vyžádání dostupné v laboratoři. Vzorek může být uchovávan maximálně 48 hodin při teplotě +2 až +8 °C. Při delším skladování je potřeba všechny vzorky uchovávat zamražené při teplotě -20 ± 5 °C. Dostupnost výsledků do 7 pracovních dnů.

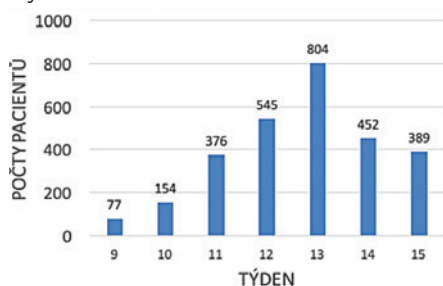
Přínosem provádění HPV screeningu je vyšší citlivost v detekci prekancerózních změn a vyšší ochrana před rozvojem CIN2 a CIN3 prekancerózních lézí a rakoviny děložního hrdla. Podstatnou informací při vyšetřování HPV je výsledek testu pro HPV-HR. Genotypizace HPV má význam zejména pro určení perzistence. Zjištění perzistence HPV-HR během 9 až 21 měsíců napomáhá k odlišení mezi přechodnými a klinicky relevantními HPV infekcemi. U žen s jedním nebo oběma negativními výsledky testování na HPV-HR, v časovém intervalu 9 až 21 měsíců, je riziko rozvoje klinicky významných změn na cervixu nižší. HPV-LR způsobují benigní změny děložního hrdla a genitální bradavice. V souvislosti se screeningem cervikálního karcinomu je testování přítomnosti HPV-LR bezvýznamné a finančně zatěžující. Z tohoto důvodu vyšetření PCR HPV-LR již nebude prováděno.

Mgr. Kateřina Žemličková
vedoucí Laboratorního a diagnostického centra Pardubice, MeDiLa spol. s r.o.

Spalničky mezi námi

Epidemiologická situace onemocnění spalniček zaměstnávala v uplynulých týdnech nejen klinická, ale i laboratorní pracoviště. Laboratoře MeDiLa se tak musely vypořádat se skokovým nárůstem požadavků na vyšetření protilátek třídy IgG a IgM z týdne na týden. Svým způsobem se tak naplnilo poselství článku „Spalničky stále aktuální“, autorů MUDr. Hany Zelené a Mgr. Jakuba Mrázka ze Zdravotního ústavu v Ostravě, který jsme zveřejnili v našem Bulletinu v květnu 2018.

Obr. 1.: Počty pacientů vyšetřených v laboratořích MeDiLa na přítomnost protilátek proti spalničkám v 9. až 15. týdnu 2019



Vzhledem k aktuální epidemiologické situaci je Opatřením ministra zdravotnictví ze dne 22. 2. 2019 doporučeno testování zdravotníků. Vedení laboratoří MeDiLa ihned přistoupilo k vyšetřování protilátek proti spalničkám u vlastních zaměstnanců z důvodů zjištění rizika ohrožení onemocněním zdravotnického personálu odběrových center - zdravotních sestřiček a současně i řidičů svozové služby.

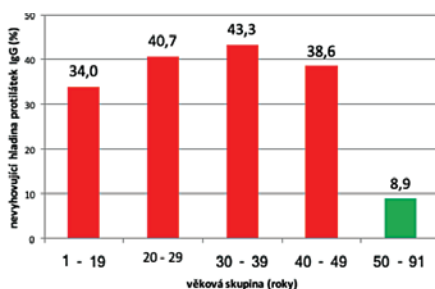
Paralelně s tím se začaly zvyšovat požadavky na stanovení protilátek pro-

ti spalničkám, a to jak od jednotlivců - samoplátců, tak na hromadná vyšetření zaměstnanců společností a institucí, u nichž by případná karanténní opatření vedla k výraznému omezení akceschopnosti pracovních týmů - hasičské záchranné sbory, pracovníci v sociálních službách, příslušníci policejních sborů, záchranáři, zaměstnanci škol a mateřských školek atd.

Celkové počty pacientů vyšetřených na přítomnost protilátek proti spalničkám v 9. až 15. týdnu 2019 v laboratořích MeDiLa jsou znázorněny v obr. 1. Celkem bylo v uvedeném období takto vyšetřeno 2797 pacientů.

Statistické vyhodnocení znázorněné v obr. 2. potvrzuje rozdíl ve výskytu protilátek třídy IgG mezi populací narozenou před r. 1969 (začátek vakcinace) a mladší populací. Za nevyhovující (nízké) hladiny protilátek jsou považovány výsledky stanovení menší než 16,5 AU/ml. Další charakteristiky uvedených vyšetření naleznete v předcházejícím článku „Novinky v mikrobiologických vyšetřeních“.

Obr. 2.: Podíl vyšetřených pacientů s nevyhovující hladinou protilátek třídy IgG



Závěrem:

Dosavadní výsledky vyšetřování na přítomnost postvakcinačních protilátek proti spalničkám u exponovaných skupin obyvatelstva potvrzují obecně udávaná data, že v populaci mladší než 50 let je přibližně 40 % jedinců s nevyhovující hladinou protilátek. V populaci starší než 50 let (před r. nar. 1969), která většinou onemocnění prodělala, má nevyhovující hladiny protilátek pouze 9 % jedinců.

Vyšetřování hladiny protilátek proti spalničkám u exponovaných skupin obyvatelstva považujeme za velmi účelné a zodpovědné vzhledem ke spolehlivému zajištění zdravotní péče a dalších důležitých funkcí státu.

Těší nás, že jsme díky moderní technice a pokročilé organizaci práce mohli včas a kvalitně splnit všechny požadavky na uvedená speciální vyšetření.

MUDr. Jana Doležalová
vedoucí lékař, MeDiLa spol. s r.o.

Aktuality

Dne 2. ledna 2019 převzala společnost MeDiLa spol. s r.o. provoz odběrového centra na Poliklinice „Bavlna“ ve Veverkově ul. 1631 v Hradci Králové – dříve v rámci společnosti MEDIKA Hradec Králové s.r.o. Odběry krve zde probíhají v pracovní dny od 6:30 do 11:45 hod.

Dne 1. března 2019 jsme zahájili provoz dalšího odběrového centra - na

Poliklinice Trutnov, v Masarykově domě v Palackého ul. 201. Odběry krve jsou zde prováděny denně od 7:00 do 11:45. Svoz biologického materiálu je zajištěn v 9:00 a 10:30 hod.

Ve dnech 8. – 10. března 2019 došlo k přestěhování kompletního laboratorního provozu MeDiLa do nově zrekonstruovaných prostor v rámci Polikliniky

na Halasově nám. v Brně - Lesné. Řada zájemců si nové prostory prohlédla v rámci Dne otevřených dveří 11. 4. 2019.

David Maršálek
ředitel obchodu a marketingu
MeDiLa spol. s r.o.



Editor: **Ing. František Šturm, Ph.D.**
Vydává: **MeDiLa spol. s r.o.**
Adresa: **Štrossova 1931,**
530 03 Pardubice
E-mail: **medila@medila.cz**
Web: **www.medila.cz**

Pardubice, Štrossova 1931, 530 03 Pardubice - areál „Veteriny“
tel. 800 737 304; e-mail: **medila@medila.cz**

Hradec Králové, II. poliklinika, Slezské předměstí, Bratři Štefanů 895
tel. 800 737 305; e-mail: **medila@medila.cz**

Brno, Poliklinika Lesná, Halasovo nám. 1, tel. 800 111 210; e-mail: medila@medila.cz

Žamberk, Poliklinika, nám. Gen. Knopa 837, tel. 800 737 306; e-mail: medila@medila.cz

Dačice, areál Nemocnice Dačice, Antonínská 85/II, tel. 800 111 210; e-mail: medila@medila.cz

Turnov, Ohrazenice 285, tel. 800 888 250; e-mail: medila@medila.cz

Tanvald, areál Nemocnice Tanvald, Nemocniční 287, tel. 800 888 770; e-mail: medila@medila.cz

ATB konzultace; pondělí – pátek 10:00 -15:00 tel. 800 737 338

BULLETIN - PŘÍLOHA

Západonilská horečka v České republice

Úvod

Virus západonilské horečky (WNV) je významným neurotrofním virem přenášeným komáry rodu *Culex*. Byl poprvé izolován v roce 1937 z krve člověka s horečnatým onemocněním na severu Ugandy. Patří do komplexu virů japonské encefalitidy rodu *Flavivirus* a je blízké příbuzný např. virům Usutu, viru japonské encefalitidy a viru St. Louis encefalitidy. Jedná se o obalený ss-RNA virus s nesegmentovaným genomem kódující polyprotein, který se následně štěpí na tři strukturální proteiny (C, M a E) a sedm nestrukturálních proteinů (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B a NS5) uplatňující se v různých fázích virové replikace. V současnosti je známo osm fylogenetických linií viru (Fall et al. 2017), z nichž pouze linie 1 a 2 prokazatelně způsobují lidská onemocnění. Linie 1a se vyskytuje v Evropě, na Blízkém Východě, v Africe a v roce 1999 byla introdukována do Severní Ameriky. Linie 1b se vyskytuje v Austrálii, označuje se názvem Kunjin. Linie 2 byla původně přítomna pouze v subsaharské Africe, od roku 2004 se šíří v Evropě a v současné době zde dominuje. V Evropě se nyní paralelně vyskytují genotypy 1a a 2.

Epidemiologie

Rezervoárem infekce jsou různé druhy ptáků, u nichž dochází k významné virémii, která je většinou asymptomatická a bývájí tak zdrojem pro další šíření nákazy prostřednictvím vektorů. Pro některé druhy ptáků, především dravce a krkavcovité, je však WNV vysoce virulentní a nákaza se u nich projevuje hromadnými úhyny v zasažených oblastech. Úhyny ptáků často předcházejí případům infekce u lidí nebo koní. Šířitelé infekce napříč kontinenty jsou viremiciťní ptáci cestující ze subsaharské Afriky, severní Afriky nebo středního Východu do Evropy. Předpokladem introdukování nákazy v nových lokalitách je schopnost viru přezimovat v nakažených komárech. Člověk a ostatní savci (např. koně) se mohou virem nakazit a onemocnět, ale virémie je u nich jen krátkodobá a nízká, a proto nejsou rezervoárem infekce pro její další šíření. Přenašeči (vektory) infekce jsou komáři rodu *Culex*, v Evropě jsou hlavními vektory *Culex pipiens* a *Culex modestus*, tedy komáři u nás zcela běžní. Rozlišují se dva biotypy *C. pipiens*, z nichž *C. pipiens pipiens* saje přednostně na ptácích a má klíčovou roli v enzootickém cyklu pře-

nosu WNV v populacích ptáků, zatímco *C. pipiens molestus* saje na savcích a v přenosu viru nehraje významnou roli. V přenosu nákazy na člověka a koně se pravděpodobně nejvíce uplatňují hybridy obou biotypů. K přenosu nákazy dochází v období aktivity komárů, tedy od jara do podzimu. Jejich aktivita závisí na průměrných denních teplotách. Nejvíce nálezů je v mírném podnebí pozorováno od července do září.

Výskyt v Evropě

Na základě sérologických studií byla potvrzena cirkulace WNV v Evropě již v 50. letech minulého století (Bardos V. et al. 1959). První hromadný výskyt onemocnění WNV u lidí byl zaznamenán v letech 1962-1963 na jihu Francie (Joubert L. et al. 1970), velká epidemie proběhla v roce 1996 v Rumunsku (Tsai TF et al. 1998). Od té doby jsou případy onemocnění u lidí i koní pravidelně hlášeny z různých států především na jihu Evropy (Sambri V. et al. 2013). V roce 2018 byl v Evropě zaznamenán nebyvalý nárůst počtu humánních případů WNV infekce ve srovnání s předchozím obdobím. Případy se začaly objevovat o několik týdnů dříve než v dřívějších sezónách, případy se vyskytly nejen ve známých endemických oblastech, ale i v nových lokalitách a ve státech dosud infekcí nezasažených. K 6. prosinci 2018 bylo v Evropě evidováno 2082 onemocnění WNV u lidí, z toho v zemích EU bylo hlášeno 1503 případů, což představuje pěti násobný nárůst ve srovnání s rokem 2017. 180 osob v Evropě na tuto infekci zemřelo. Nejvíce případů hlásí Itálie (576), Srbsko (415), Řecko (311), Rumunsko (277) a Maďarsko (215). Případy se dále vyskytly v Chorvatsku, Francii, Rakousku, Bulharsku, Turecku, Kosovu, Slovinsku, na Kypru a v České republice (ECDC 2018). V České republice bylo k tomuto datu hlášeno pět autochtonních nálezů včetně jednoho úmrtí a dva případy importovaných nálezů z Řecka a Rakouska.

Situace v České republice

V České republice má výzkum západonilské horečky dlouhou tradici. První případy pravděpodobné infekce WNV u lidí byly zaznamenány již v roce 1997 v souvislosti s rozsáhlými povodněmi, původcem byla pravděpodobně linie WNV-1, jehož přítomnost byla opakovaně potvrzena v populacích komárů *Culex modestus* odchycených v okolí rybníků na jižní Moravě (Hubalek et al. 1999, Rudolf

et al. 2014). Opakovaně byly detekovány specifické protilátky proti WNV u ptáků (Straková et al. 2015) a koní (Sedlák et al. 2014). Od roku 2013 je opakovaně nalézána přítomnost linie WNV-2 u komárů *Culex modestus* a *Culex pipiens* v oblasti rybníků Lednicko-Valtického areálu (Rudolf et al. 2014, Rudolf et al. 2018). První humánní případy s lokálním přenosem byly v ČR potvrzeny až v roce 2018, kdy onemocnělo celkem pět osob neuroinvasivní formou WNV infekce. U jedné osoby onemocnění skončilo úmrtím. Ke všem těmto případům došlo na Jižní Moravě.

Klinické projevy infekce WNV

Nejčastějším způsobem nákazy člověka je bodnutí infikovaného komára. Možnou cestou přenosu je i krevní transfúze nebo transplantace orgánů, z toho důvodu jsou v zasažených oblastech aplikována opatření pro zabránění přenosu. Vzácně lze virus přenést i z matky na plod nebo prostřednictvím mateřského mléka při kojení.

Inkubační doba západonilské horečky se pohybuje mezi 2 až 15 dny. Okolo 80 % nálezů probíhá bezpříznakově. Nejlehčí formou symptomatického průběhu je tzv. západonilská horečka objevující se přibližně u 20 % nakažených. Kromě horečky ji provázejí chřipkovité příznaky jako je bolest hlavy, svalů, kloubů, únava, malátnost, nadměrné pocení, makulopapulózní exantém, zvětšení lymfatických uzlin, bývají i zažívací obtíže jako nevolnost, zvracení, nechutenství a průjem. Všechny tyto příznaky zpravidla odezní bez následků během 3-5 dní. Pouze u méně než 1 % nakažených virus napadá centrální nervový systém. V těchto případech probíhá závažná, neuroinvasivní forma onemocnění. Nejmírnější z nich je meningitida, těžší formou jsou meningoencefalitida či myelitida. Tato forma může probíhat i bez horečky nebo dalších symptomů typických pro ostatní formy infekce WNV. Plně rozvinuté neuroinvasivní onemocnění končí smrtelně přibližně v 10 % případů. Těžký průběh a úmrtí jsou častější u starších a imunokompromitovaných osob. (Sejvar JJ et al. 2003, Pervanidou D. et al. 2014)

Laboratorní diagnostika infekcí WNV

Laboratorní diagnostika západonilské horečky je svízelná vzhledem k tomu, že se jedná o virus z čeledi *Flaviviridae*, a v běžně používaných sérologických

testech (ELISA, NIF) se vyskytuje vysoké procento zkřížených reakcí s ostatními flaviviry, např. s virem klíšťové encefalitidy. Vzhledem k tomu, že i klinický průběh je obdobný, nelze vyloučit, že za některými případy sérologicky diagnostikované klíšťové encefalitidy se mohou skrývat případy nepoznané západonilské horečky. Nejspolehlivější diagnostikou je kombinace přímých i nepřímých metod.

Infekci WNV lze prokázat přímým průkazem metodou PCR vyšetřením z krve, mozkomíšního moku nebo moče. Moč se podobně jako i u jiných flavivirů ukazuje jako mimořádně vhodný materiál pro přímý průkaz viru, protože pozitivita virové RNA v moči je delší a virová nálož vyšší než v séru nebo likvoru. Průkaz viru metodou PCR je vhodné pro jednoznačný průkaz a bližší charakterizaci viru konfirmovat sekvenací virové RNA. Srážlivá krev (sérum) a mozkomíšní mok jsou vhodným materiálem k RT-PCR jen v prvním týdnu trvání klinických příznaků, protože virus (resp. virová RNA) se v těchto materiálech vyskytuje jen krátkou dobu. Později lze virovou RNA detekovat v moči nebo v plně EDTA krvi, ve kterých trvá PCR pozitivita dva týdny i déle. Virovou RNA lze prokázat i v bi-optických či sekčních vzorcích mozku nebo míchy.

Negativní výsledek PCR však nevylučuje infekci WNV. Z toho důvodu musíme spoléhat na výsledky sérologické diagnostiky. Pro detekci specifických protilátek využíváme nejčastěji srážlivou krev (sérum), případně plazmu nebo mozkomíšní mok. Vyhledávací metodou je ELISA nebo nepřímá imunofluorescence (NIF), kterými detekujeme protilátky tříd IgG a IgM, případně aviditu IgG. Pozitivní výsledky sérologie je nutno vždy konfirmovat virusneutralizačním testem (VNT) z důvodu častého výskytu zkřížených reakcí s jinými flaviviry, které jsou způsobeny vazbou protilátek na společné epitopy E proteinu flavivirů. Je nutno vyloučit infekci jiným flavivirem a přítomnost zkříženě reagujících protilátek po předchozích vakcinacích (klíšťová encefalitida, žlutá zimnice, japonská encefalitida). Po očkování jsou dlouhodobě přítomny IgG protilátky a IgM mohou přetrvávat až několik měsíců. Obě třídy protilátek mohou zkříženě reagovat v testech ELISA a NIF určených pro diagnostiku WNV infekcí. Dokonce i konfirmační test VNT může vykazovat částečnou zkříženou reaktivitu. Proto pro rozlišení těchto infekcí by měl být proveden paralelně VNT na různé flaviviry, v našich podmínkách alespoň na virus klíšťové encefalitidy a virus Usutu a vzájemným porovnáním títů ve VNT stanovit správnou diagnózu. V nejasných případech je požado-

ván odběr párového séra s odstupem alespoň jednoho týdne, kdy průkazem akutní infekce je sérokonverze nebo minimálně čtyřnásobný vzestup titru neutralizačních protilátek.

Léčba a prevence

Léčba infekcí WNV je pouze symptomatická, jelikož není k dispozici účinné kauzálně působící antivirotikum. Není k dispozici ani vakcína proti WNV. Prevence spočívá především v ochraně před bodnutím komárů, použití repelentů, ochranných sítí do oken a eliminace nádob se stojatou vodou v blízkosti lidských obydlí, ve kterých se vyvíjejí komáří larvy. Pracoviště transfúzní služby v zasažených oblastech by měla v sezóně aktivity komárů zavádět plošné vyšetřování dárců krve metodou přímého průkazu virové RNA. V ostatních oblastech by pak měly být osoby po návratu z regionů s lokálním přenosem vyloučeny z dárcovství po dobu 28 dní.

Závěr

S ohledem na vývoj epidemiologické situace v Evropě a v České republice je nutno západonilskou horečku zahrnout do diferenciální diagnostiky neuroinfekcí, a to i u osob s negativní cestovatelkou anamnézou. Lze předpokládat další šíření této infekce v následujících sezónách i do dalších regionů České republiky, kde se zatím humánní případy nevyskytly. Vzhledem k častým zkříženým reakcím v rámci flavivirů je nutno počítat s tím, že za pozitivní sérologii klíšťové encefalitidy, která je u nás podstatně častější, se může skrývat infekce virem západonilské horečky. Je nutno myslet i na možnost zkřížených reakcí s dalšími flaviviry, např. s virem Usutu. Správná etiologická diagnostika pacientů s neuroinfekcemi je důležitá především z důvodů epidemiologických. Výskyt WNV v ČR má významný dopad také na transfúzní službu z důvodu zavedení nutných opatření k zabránění šíření této infekce krví.

Literatura

Fall G, Di Paola N, Faye M, Dia M, Freire CCM, Loucoubar C, et al. Biological and phylogenetic characteristics of West African lineages of West Nile virus. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017 Nov;11(11):e0006078

Bardos V, Adamcova J, Dedei S, Gjini N, Rosticky B, Simkova A. Neutralizing antibodies against some neurotropic viruses determined in human sera in Albania. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*. 1959;3:277-82.

Joubert L, Oudar J, Hannoun C, Beytout D, Corniou B, Guillon JC, et al. Epidemiology of the West Nile virus: study of a focus in Camargue. IV. Meningo-encephalomyelitis of the horse. *Ann Inst Pasteur (Paris)*. 1970 Feb;118(2):239-47.

Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, Nedelcu NI. West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet*. 1998 Sep 5;352(9130):767-71.

Sambri V, Capobianchi M, Charrel R, Fyodorova M, Gaibani P, Gould E, et al. West Nile virus in Europe: emergence, epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Aug;19(8):699-704.

European Center for Disease Prevention and Control. Weekly updates: 2018 West Nile fever transmission season. Stockholm: ECDC; 2018 [cited 20 September 2018]. Available from: <https://ecdc.europa.eu/en/west-nile-fever/surveillance-and-disease-data/disease-data-ecdc>

Hubalek Z, Halouzka J, Juřicová Z. 1999, West Nile fever in Czechwchland. *Emerg Infect Dis*, 5:594-5

Rudolf I., Bakonyi T., Šebesta O., Peško J., Vencliková K., Mendel J., Betášová L., Blažejová H., Straková P., Nowotny N., Hubálek Z. 2014. West Nile virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: expansion of the European WNV endemic area to the North? *Euro Surveill*. 19 (31):pii=20867.

Straková P., Šikutová S., Jedličková P., Sitko J., Rudolf I., Hubálek Z. 2015. The Common Coot as sentinel species for the presence of West Nile and Usutu flaviviruses in Central Europe. *Res. Vet. Sci*. 102: 159-161.

Sedlák K, Zelená H, Krívda V, Šatrán P. Surveillance západonilské horečky u koní v České republice v letech 2011-2013. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 2014;63:307-311.

Rudolf I., Bakonyi T., Šebesta O., Peško J., Vencliková K., Mendel J., Betášová L., Blažejová H., Straková P., Nowotny N., Hubálek Z. 2014. West Nile virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: expansion of the European WNV endemic area to the North? *Euro Surveill*. 19 (31):pii=20867

Rudolf I, Blažejová H, Šebesta O et al. West Nile virus (lineage 2) in mosquitoes in southern Moravia - awaiting the first autochthonous human cases. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*. Spring 2018;67(1):44-6. PubMed PMID: 30157657.

Sejvar JJ, Haddad MB, Tierney BC, Campbell GL, Marfin AA, Van Gerpen JA, et al. Neurologic manifestations and outcome of West Nile virus infection. *JAMA*. 2003 Jul 23;290(4):511-5

Pervanidou D, Detsis M, Danis K, Mellou K, Papanikolaou E, Terzaki I, et al. West Nile virus outbreak in humans, Greece, 2012: third consecutive year of local transmission. *Euro Surveill*. 2014 Apr 3;19(13).

MUDr. Hana Zelená
Mgr. Jakub Mrázek
Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě