



Zpravodaj Centra MPI

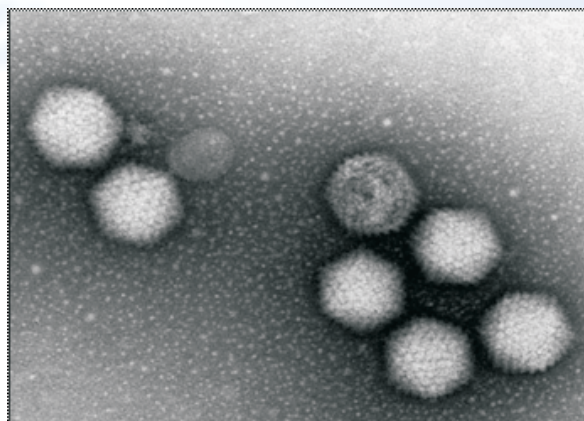
Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

2/2007/Ročník 3
Datum vydání 20. 6. 2007.

Akutní virová průjemová onemocnění

Pomiklová M., Oddělení virologie ZÚ Ostrava

Viry tvoří hlavní skupinu patogenů, které ovlivňují gastrointestinální trakt jak člověka, tak i zvířat. Patofyziologicky jde u průjmu o zvýšení peristaltiky a o nepoměr mezi absorpcí a sekrecí vody a iontů. Akutní virová gastroenteritida je kromě průjmu charakterizována ještě dalšími příznaky jako jsou nauzea, zvracení, bolesti břicha a u části postižených se mohou současně objevit horečka, malátnost, bolesti hlavy a svalů. Virové gastroenteritidy jsou závažným onemocněním i ve vyspělých zemích a patří mezi časté nozokomiální infekce. Ohroženy jsou zejména malé děti a osoby se sníženou imunitou. Viry se na rozdíl od bakterií nepomnožují mimo svého specifického hostitele. Jsou však v potravinách mimořádně stabilní a zůstávají infekčními i po zchlazení nebo zmrazení potravin. Mezi vyvolavatele akutních virových průjemových onemocnění patří rotaviry, adenoviry, caliciviry, astroviry, coronaviry.



více na str. 2

Autoimunita, autoprotílátky a autoimunitní onemocnění

Lochman I., Novák V., Oddělení humorální imunity ZÚ Ostrava

Autoimunita patří v posledních letech mezi nejdiskutovanější problematiku mezi klinickými imunology. Zúžený, často paradigmatický přístup k této problematice však nedovoluje plně vysvětlit patogenezu většiny autoimunitních onemocnění a přispět tak k umožnění jejich kauzální léčby. V tomto článku se pokusíme podívat na autoimunitu a s ní související fenomény poněkud netradičně a najít obecnější vysvětlení některých souvisejících jevů. Aby bylo možné správně pochopit a interpretovat pojem autoimunita, je si nejdříve nutno ujasnit některé základní skutečnosti související s postavením, charakterem a funkcí imunitního systému.

více na str. 6

Domovní studny a odpadní vody z domácností

Heidlerová D., Oddělení chemické laboratoře

Máte na zahradě studnu? Ke každé studni je potřeba stavební povolení a kolaudační rozhodnutí. Abyste ale mohli čerpat vodu, je nutné přidat ještě povolení k odběru podzemních vod (Vodní zákon č.254/2001 Sb. a jeho novela č.20/2004 Sb.). Domácnostem, které vodu ze studni odebírají bez povolení, hrozí pokuta až 50 tisíc korun, podnikatelům až 10 miliónů korun.

Je-li vaše studna vybudovaná před rokem 1955, je povolena automaticky. Pokud máte mladší studnu, musíte mít povolení k odběru podzemních vod, které vydává vodoprávní úřad, zpravidla se jedná o odbor životního prostředí na obecním úřadě obce s rozšířenou působností.

Podnikatelé a drobní živnostníci, kteří vodu ze studny používají k podnikání, jejichž povolení začalo platit před 1.lednem 2002, potřebují prodloužení povolení k používání studny. Zažádat o prodloužení by měli do 1.července 2007, pokud to neudělají, k 1.lednu 2008 jim povolení automaticky zanikne a nebudou moci legálně čerpat vodu.

Majitelé domů, chat a chalup, kteří vodu ze studny využívají pouze k zásobování domácností, včetně zalévání zahrady, napájení zvířat či napouštění bazénu, nemusí žádat o prodloužení povolení.

Kontroly povolení k používání studni provádí vodoprávní úřad nebo Česká inspekce životního prostředí.

více na str. 9

Viry tvoří hlavní skupinu patogenů, které ovlivňují gastrointestinální trakt jak člověka, tak i zvířat. Patofyziologicky jde u průjmu o zvýšení peristaltiky a o nepoměr mezi absorpcí a sekrecí vody a iontů. Akutní virová gastroenteritida je kromě průjmu charakterizována ještě dalšími příznaky jako jsou nauzea, zvracení, bolesti břicha a u části postižených se mohou současně objevit horečka, malátnost, bolesti hlavy a svalů. Virové gastroenteritidy jsou závažným onemocněním i ve vyspělých zemích a patří mezi časté nozokomiální infekce. Ohroženy jsou zejména malé děti a osoby se sníženou imunitou. Viry se na rozdíl od bakterií nepomnožují mimo svého specifického hostitele. Jsou však v potravinách mimořádně stabilní a zůstávají infekčními i po zchlazení nebo zmrazení potravin.

Mezi vyvolavatele akutních virových průjmových onemocnění patří rotaviry, adenoviry, caliciviry, astroviry, coronaviry. Kromě těchto uvedených původců se mohou podílet na vzniku virových gastroenteritid i další viry, které mohou být buď primárně enteropatogenní viry – pestivirus, picobirnavirus. Nebo viry, které primárně postihují jiné orgány – enteroviry (echo, coxsackie, virus hepatitidy A) myxoviry a paramyxoviry, parvovirus B19 a lidský herpetický virus 6.

ROTAVIRY

Rod Rotavirus je zařazen do čeledi Reoviridae. Kompletní virion má průměr 65-75 nm, je tvořen ikosahedrálním jádrem a ostře ohraničenou dvojrstevnou kapsidou. Vnitřní vrstva má kapsomery uspořádané radiálně, vnější cirkulárně, takže v elektronovém mikroskopu připomínají ozubené kolo s loukotěmi. Jádro o velikosti 36 nm je tvořeno dvouvláknovou RNA s 11 segmenty. Všechny segmenty kódují virové bílkoviny (VP). Jsou známy funkce asi jedné poloviny všech těchto bílkovin. Vnější kapsida je složena ze dvou bílkovin VP4 a VP7. Podle antigenního složení proteinu VP4 a glykoproteinu VP7 se rozeznává k dvaceti serotypů P a G.

Důležitý je protein VP4, který odpovídá za přilnutí viru na specifický receptor případně pak u některých rotavirů za hemaglutinaci dále pak za virulenci.

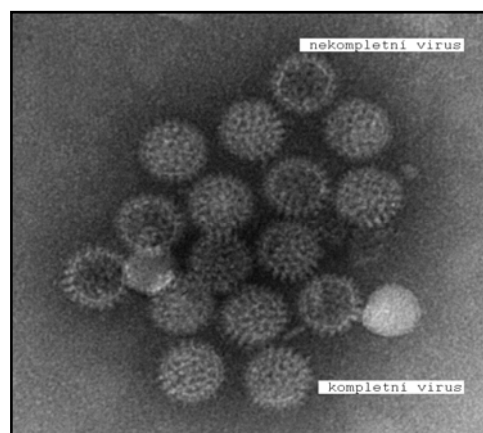
VP6 je skupinově i podskupinově specifickým antigenem ve vnitřní kapsidě. Podle struktury VP6 se rotaviry člení minimálně do sedmi serologických skupin A-G. Uvnitř skupiny mají všechny viry společné antigeny VP6, ale dále se dělí na podskupiny. Skupina A má nejméně dvě podskupiny I a II.

Většina lidských rotavirů patří do skupiny A. Rotaviry skupiny B byly popsány jako původci průjmů u dospělých v Asii. Rotaviry skupiny C se vyskytují jen vzácně.

Viriony mohou existovat ve dvou formách - s kompletní dvojrstevnou kapsidou nebo pouze s vnitřní vrstvou kapsidy. Tyto částice měří v průměru 40 - 45 nm. Pouze kompletní virové částice jsou infekční.

Tab. 1 Jednotlivé skupiny a druhy rotavirů

Skupina	Druh
A	lidský opičí, psí, kočičí, králičí, myší bovinní ptačí prasečí koňský
B	lidský , bovinní, prasečí, ovčí, kozí, opičí, krocaní, krysí
C	lidský , bovinní, prasečí, kuřecí
E	lidský , prasečí, kuřecí
D, F, G	zvířecí a ptačí



Obr. 1 Elektronoptický snímek rotavirů, zvětšení 150 000x (foto M. Pomiklová, ZÚ Ostrava)

Patogeneze

Rotavirus napadá v tenkém střevě cylindrické epitelie. Zralé virové částice se uvolňují lýzou epitelů a do střeva se uvolňuje velké množství viru, který infikuje další buňky. Nové viriony se syntetizují za 10-12 hodin. Poškození buněk se projevuje poruchami trávení, malabsorbce živin, elektrolytů a vody. To má za následek osmotický průjem, zvracení a dehydrataci.

Klinický obraz

Rotaviry jsou nejvýznamnějšími původci akutní gastroenteritidy kojenců a malých dětí. Infekce má nejtěžší průběh u dětí mezi 6 měsíci a 2 roky věku. U novorozenců probíhá většinou latentně, pravděpodobně proto, že jsou chráněni protilátkami získanými od matky. V rozvojových zemích jsou příčinou asi 800 000 úmrtí ročně. Výjimkou nejsou ani postižení dospělých jedinců, často rodičů dětí nebo dospělých osob.

Po krátké inkubační době 1-2 dny vzniká enteritida různé závažnosti od mírných forem až po těžké průjmové onemocnění provázené zvracením a dehydratací. Klinicky méně závažné diagnózy probíhají zpravidla 3-5 dnů. Těžce a dlouho probíhá onemocnění u dětí trpících imunodeficitem a pokud je dítě podvyživené, dochází k ohrožení života. U některých pacientů jsou přítomny i respirační příznaky ačkoliv se rotaviry v respiračním traktu nemnoží.

Přenos

Virus se šíří především fekálně-orální cestou, neboť je ve velké míře vylučován stolicí. Při těžším průběhu trvá vylučování i několik týdnů. V akutní fázi

onemocnění se v 1g stolice nahází 10^{9-11} virových částic. Dále je možný přenos kontaminovanou vodou, ledem, předměty, potravinami. Uvádí se i šíření rotavirů aerosolem a o možných nálezích respirační cestou. Výskyt je během celého roku se zřetelným vrcholem v jarních a zimních měsících.

Základní vlastnosti viru

Rotaviry jsou stálé a zachovávají si infekčnost při pokojové teplotě po mnoho týdnů. Přežívají na kontaminované kůži rukou, předmětech, jsou odolné k vlivům zevního prostředí a jsou rezistentní k působení mnoha dezinfekčních prostředků. Za normálních podmínek je virus inaktivován nízkým pH. Při pH 3,5 – 10 je stabilní. Při pH 2,0 (pH prázdného žaludku dospělé osoby) přežívá virus pouze jednu minutu. U kojenců dochází k této infekci snadněji, protože za normálních okolností je v jejich žaludku pH 3,2. Virus dobře snáší zmrazení, zůstává aktivní i po několika letech při uchování za teploty - 60°C. Naopak při teplotě 56°C dochází k inaktivaci do 30 minut. UV záření o vlnové délce 254 nm narušuje virovou částici už po minutovém působení.

Imunita

Protilátková ochrana po rotavirovému onemocnění je krátkodobá. Opakované infekce bývají mírné až inaparentní. U osob se sníženou imunitou však infekce přetrvává s příznaky těžkého chronického průjmu. Novorozenci mají v krvi mateřské IgG protilátky. Postupně klesají a úplně vymizí do 1 roku.

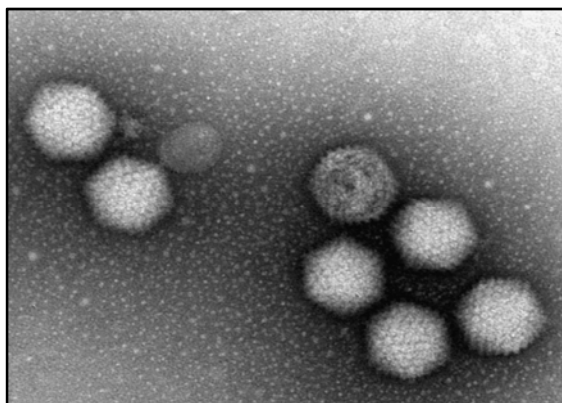
ADENOVIRY

V čeledi *Adenoviridae* rozlišujeme rody:

Mastadenoviry – infikují savce

Aviadenoviry – infikují ptáky.

Oba rody jsou antigenně odlišné. Lidské adenoviry se dále dělí do 6 podrodů (A-F) a rozlišuje se 47 imunologicky odlišitelných serotypů, které jsou patogenní pro člověka. Adenoviry jsou neobalené viry tvořené dvouvláknovou DNA a průměr virionu je 70-75nm. Kapsida má kubickou symetrii. Všechny adenoviry mají společný hexonový antigen.



Obr.2 Elektronoptický snímek adenovirů, zvětšení 150 000x (foto M. Pomiklová, ZÚ Ostrava)

Adenoviry podrodů (A-E), sérotypy 1-39

Vyvolávají nejčastěji onemocnění respiračního systému, oka, ucha, uzlin, exantémy, hemoragické cystitidy, meningoencefalitidy a hepatitidy. U dospělých dobrovolníků se vlivem adenovirů 1-39 nepodařilo gastrointestinální onemocnění vyvolat, ale existuje

názor, že u malých dětí mohou střevní infekce způsobovat.

Pro sérotyp 31 existuje dostatek důkazů, že se jedná o vyvolavatele gastroenteritid.

Klinický obraz

Střevní infekce vyvolané adenoviry 1-39 probíhají většinou současně s respiračními příznaky, konjunktivitidou nebo zvětšením krčních lymfatických uzlin. Začátek bývá náhlý s vysokou horečkou. Vodnatý průjem často s příměsí hlenu trvá průměrně 5 dní. Zvracení není příliš časté.

Adenoviry podrodu (F), sérotypy 40-41

Jedná se o enterální adenoviry, které způsobují průjmy především u malých dětí. Nedají se kultivovat na běžně užívaných tkáňových kulturách. Nejdříve byly nazývány „nekultivovatelnými adenoviry“, po zjištění, že se dají kultivovat za určitých podmínek, byly označeny „vybíravými adenoviry“.

Klinický obraz

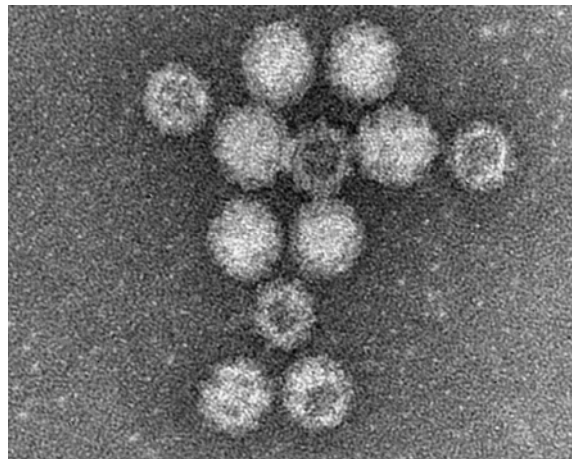
Postiženy jsou hlavně děti ve věku do dvou let. Infikovány symptomaticky či asymptomaticky mohou být i starší děti a dospělí. Horečka bývá nižší stejně jako intenzita průjmu a zvracení. Inkubační doba je 3-14 dní. Průměrné trvání průjmu je 9-12 dní, ale i 20 dní. Mohou se vyskytovat současně i respirační příznaky. Vylučování enterálních adenovirů bývá většinou 7-14 dní. Výskyt adenovirových průjmů není sezónní, mohou se objevovat v průběhu celého roku.

Přenos

Adenoviry jsou odolné vůči fyzikálním i chemickým vlivům, uchovávají si svou nakažlivost i v zevním prostředí. Přenos je fekálně-orální, přímým stykem, kontaminovanou vodou, kapénkovou infekcí. Časté jsou epidemie v nemocnicích a dětských zařízeních.

CALICIVIRY

V čeledi *Caliciviridae* se lidské caliciviry řadí do dvou rodů - *Norovirus* a *Sapovirus*. Jsou tvořeny jednovláknovou RNA bez obalu a průměr virionu je 27-30 nm. Viriony mají na svém povrchu 32 někdy zřetelných, jindy téměř chybějících miskovitých prohlubní (lat.calix,pohár) odtud je i název viru. Celá kubicky symetrická kapsida je tvořena jedním strukturálním proteinem.



Obr.3 Elektronoptický snímek calicivirů, zvětšení 300 000x (foto M. Pomiklová, ZÚ Ostrava)

Rod Norovirus

Virus Norwalk a Norwalk-like viry jsou příčinou epidemií virových gastroenteritid, které postihují hlavně starší děti a dospělí. Norwalk virus byl poprvé prokázán v roce 1968 v městečku Norwalk (Ohio, USA), kde u dětí školního věku způsobil epidemii gastroenteritid. Pro svou příbuznost jsou viry Norwalk a Norwalk-like řazeny do rodu Norovirus. Díky špatně patrným prohlubním na svém povrchu byly dříve tyto viry také označovány jako „malé kulaté strukturované viry“ (SRSV).

V rámci rodu Norovirus byly identifikovány tři genoskupiny - 1 a 2 genoskupina souvisí s lidskými infekcemi, genoskupina 3 je spojována s infekcemi skotu a prasat.

Patogeneze

Noroviry se množí v tenkém střevě, kde vyvolávají mikroléze sliznice, vedoucí k dehydrataci a ke ztrátě elektrolytů, zvláště u starých osob a kojenců může nastat těžké odvodnění a metabolická alkalóza.

Klinický obraz

Vyšší výskyt onemocnění je v zimních měsících (tzv. nemoc zimního zvracení). Po inkubační době 6-72 hodin vzniká akutní gastroenteritida, přičemž průjem a zvracení může trvat 1-4 dny. Dalšími příznaky jsou bolesti břicha, horečka, zimnice, bolest hlavy, svalů a celková únava. Po ústupu onemocnění jsou viry vylučovány ve stolici ještě 1-2 týdny někdy i 4 týdny.

Přenos

Norovirové gastroenteritidy jsou spojeny s vodními nebo alimentárními epidemiemi, zřídka se vyskytují jako sporadická onemocnění. V případě epidemického výskytu jsou častější než rotaviry. Noroviry se vyskytují ve stolici nebo zvracích infikovaných osob ve velkém množství $>10^9$ v 1g. Jsou vysoce infekční, k vyvolání infekce stačí 10-100 virionů. Vektorem je voda v koupalištích, ale i nedostatečně upravená pitná voda. Viry jsou poměrně odolné, snášejí např. chlor v koncentracích používaných k úpravě pitné vody. Obecně platí, že přímý průkaz viru v potravinách nebo ve vodě je vzácný, neboť množství kontaminujícího viru je velice malé. Epidemie vznikají po požití kontaminovaných potravin, nápojů (nevařená, chlazená jídla), zmrzlina, ovoce, zelenina. Konzumací syrových ústřic, mušlí, neboť v nich se virové částice z fekáliemi kontaminované mořské vody zachycují a kumulují. Další přenos je přímým kontaktem - kontaminované ruce, pracovní plochy, vodovodní kohoutky. Je nezvratně prokázáno, že infekci lze získat i respirační cestou inhalací kapének ze zvratků, stolice, z ložního prádla či kapesníků. Replikace v buňkách respiračního traktu nebyla dosud prokázána.

Imunita

Po norovirové infekci vzniká jen krátkodobá imunita 6-14 týdnů. Díky velké variabilitě genomů norovirů je možná reinfekce i při vysoké hladině protilátek.

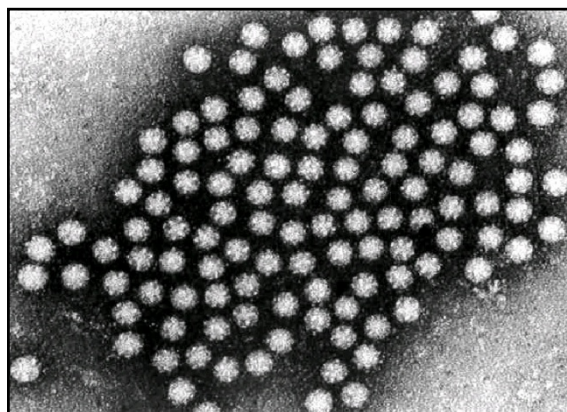
Rod Sapovirus

Tento rod zahrnuje viry Sapporo a Sapporo-like viry. Opět byla tato agens nazvána podle prototypového kmene pojmenovaného podle místa izolace (Sapporo).

Pod elektronovým mikroskopem mají zřetelnou miskovitou strukturu. Jedná se především o patogeny u dětí do 5 let věku. U novorozenců působí bezpříznakové infekce, u kojenců a starších dětí celkem mírně probíhající akutní gastroenteritidy. Imunita po nich by měla být dlouhodobá.

ASTROVIRY

Jsou nazvány podle hvězdicovitého vzhledu částic s pěti až šesti paprsky vyzařujícími ze světlého centra. Viry jsou velké přibližně 28 nm, neobalené a obsahují jednovláknovou RNA a tři strukturální proteiny. Astroviry patří do čeledi Astroviridae a doposud se rozlišuje 8 lidských serotypů astrovirů se společným skupinovým antigenem, který lze prokázat metodou ELISA. Nejrozšířenější je sérotyp 1, sérotypy 6-8 se vyskytují vzácně. Na rozdíl od calicivirů lze astroviry pěstovat na tkáňových kulturách.



Obr.4 Elektronoptický snímek astrovirů (foto převzato z internetu)

Klinický obraz

Nejčastěji jsou postiženy děti do 5 let věku. Většina dětí ve věku 5-10 let má proti těmto virům protilátky. Epidemie mohou vznikat i u starších osob. Po 3-4 dnech inkubace vzniká průjem trvající 2-3 dny. Může se objevit horečka, zvracení a bolesti břicha. Řada případů je inaparentních. Virus je stolicí vylučován jen krátce. U imunosuprimovaných pacientů trvá infekce déle, stejně jako vylučování viru ve stolici. Výskyt je během celého roku s mírným vrcholem v zimních měsících.

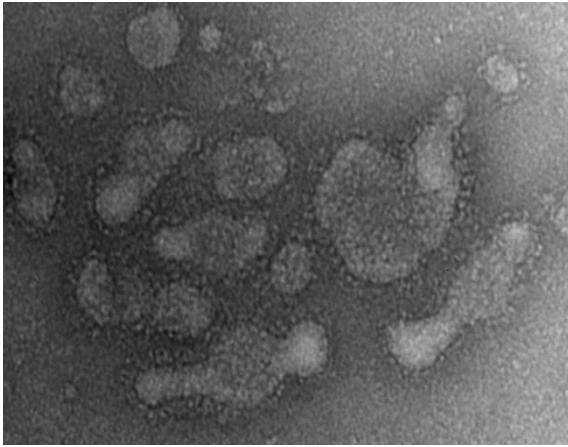
Přenos

Fekálně-orální, přímým stykem, kontaminovanou vodou, potravou, vzduchem. Byly pozorovány i epidemie po požití mořských měkkýšů.

Astroviry jsou poměrně odolné vůči extrémním hodnotám pH, teplu, UV záření a koncentracím chloru v plaveckých bazénech.

CORONAVIRY

V čeledi Coronaviridae rozlišujeme dva rody *Coronavirus* a *Torovirus*. Coronaviry jsou pleomorfní obalené RNA-viry, velikosti 100-150 nm s typickými povrchovými výběžky tvořícími paprsky - coronu, podle níž byly viry pojmenovány. Výběžky (peplomery), jejichž délka je kolem 20 nm, tvoří glykoprotein, který je citlivý na lipidická rozpouštědla.



Obr.5 Elektronoptický snímek koronavirů, zvětšení 150 000x (foto M.Pomiklová, ZÚ Ostrava)

Rod Coronavirus

Coronaviry z respiračního systému jsou už déle známe, jedná se o kmeny OC43 a 229E. Odhaduje se, že způsobují až 30% infekcí horních i dolních cest dýchacích, včetně obstrukčních bronchitid, bronchopneumonií, ale také způsobují lymfadenitidy a konjunktivitidy.

U lidských enteritických koronavirů se na dobrovolnících patogenitu dosud nepodařilo prokázat. Vyskytují se ve stolici dětí a dospělých s průjmem, ale i u zdravých jedinců. Byly popsány lehčí epidemie průjmů v souvislosti s dlouhodobým vylučováním koronavirů v geriatrických a psychiatrických léčebnách. V útlém věku je vztah koronavirů ke střevním, často těžkým onemocněním. Dále byly koronaviry jediným prokázaným enteropatogenem při epidemiích gastroenteritid a enterokolitid na novorozeneckých a nedonošeneckých odděleních. Byly zde pozorovány hemoragické stolice, biliózní zvratky a distenze břicha u dětí. Fekální koronaviry, na rozdíl od respiračních kmenů rostou špatně na tkáňových kulturách.

U zvířat jsou koronaviry bezpochyby původci střevních infekcí. Přenos fekálně-orální cestou nebyl prokázán, ale je téměř jisté, že se virus touto cestou skutečně šíří. Je také možný přenos vodou.

Rod Torovirus

Viriony jsou tvaru ledvinovitého, rohlíčkovitého až prstenčitého. Peplomy jsou kratší než u koronavirů. K torovirům patří původci gastroenteritid koní – virus *Berne* a u telat – virus *Breda*. Viry příbuzné viru *Breda* jsou prokazovány ve stolici u dětí s gastroenteritidou. Častěji onemocní osoby s porušenou imunitou a jsou přítomny krvavé průjmy. Zvracení není příliš časté.

Laboratorní diagnostika akutních virových průjmových onemocnění

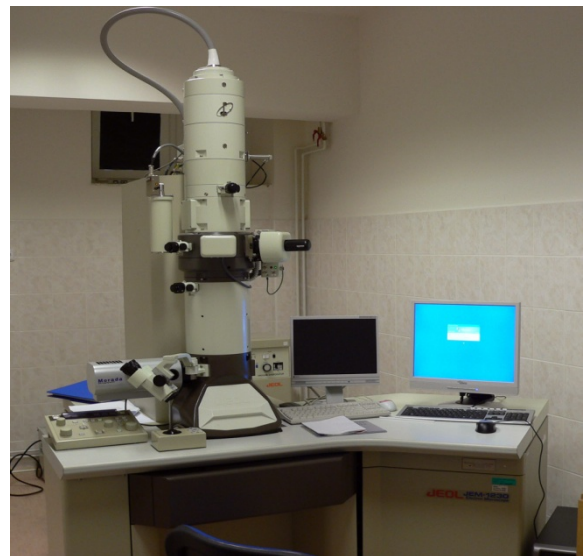
Laboratorní průkaz je založen na přímém průkazu virového antigenu nebo nepřímém průkazu protilátek. Z metod přímého průkazu lze použít elektronmikroskopické metody, průkaz virového genomu ve stolici (PAGE, PCR), průkaz antigenu pomocí protilátek (ELISA, latexová aglutinace). Kultivační metody je možné použít pouze u některých virů, které

jsou schopny růstu na tkáňových kulturách. U nepřímých metod jde o průkaz protilátek např. metodou ELISA nebo dalšími testy jako je komplement fixační reakce (KFR), virusneutralizační test (VNT) nebo nepřímá imunofluorescence (NIF).

Mezi nejčastěji používané a dostupné metody v rutinní praxi se řadí :

- 1) **latexová aglutinace**, kdy jsou shlukovány částice latexu potažené specifickou protilátkou. Test je jednoduchý, rychlý a nenáročný, ovšem méně citlivý než elektronová mikroskopie a metoda ELISA.
- 2) **Enzymová imunoanalýza (ELISA)** detekuje virový antigen zachycený ze suspenze stolice na protilátku navázanou na pevný nosič (jamku destičky nebo kuličku z umělé hmoty)

Elektronová mikroskopie (EM) je metoda méně dostupná a je možná jen na některých vybraných pracovištích. EM detekuje virus, je-li v koncentraci minimálně 10^6 virových částic v 1 ml. Optimální množství je 10^9-12 virových částic v 1ml. Metoda je tedy vhodná vzhledem k největšímu počtu virů ve stolici především v akutní fázi onemocnění. Virové částice jsou absorbovány na membránu elektronmikroskopické sítěky a negativně obarveny. Negativní barvivo vytvoří temné pozadí, v němž se jednotlivé objekty v důsledku nižší schopnosti rozptylovat elektrony jeví jako světlé. Barvivo přitom pronikne do povrchových nerovností objektu a umožní tak vizualizaci substrukturálních detailů. Hlavní výhodou metody je, že prokáže i jiné virové částice přítomné ve stolici – neselektivní metoda.



Obr.6 Transmisní elektronový mikroskop

Odběr materiálu pro virologické vyšetření

Stolice musí být odebrána v akutní fázi onemocnění, nejlépe do 48 hodin. Vzorek se odebírá do sterilní odběrové nádoby, v objemu jako pro parazitologické vyšetření. Před odesláním do laboratoře může být vzorek uložen v lednici při $+4^{\circ}\text{C}$. Zmrazení by mohlo vést k destrukci některých virů a k porušení jejich typické morfologie. Tím by byl znemožněn průkaz virů pomocí elektronové mikroskopie (např. u calicivirů).

Tab.2 Přehled prokázaných virů ve vzorcích stolic na virologickém oddělení ZÚ Ostrava

Virus	Použitá metoda	Období	Počet vyšetřených stolic S1	Počet pozitivních stolic	Záchytnost
Rotaviry	ELISA	1-12 měsíc 2006	1181	364	30,8%
Adenoviry	Latexový test	1-12 měsíc 2006	235	9	3,8%
Noroviry	ELISA	3-12 měsíc 2006	520	218	41,9%
Astroviry	ELISA	3-12 měsíc 2006	212	4	1,9%

Tab.3 Přehled prokázaných virů pomocí elektronové mikroskopie na virologickém oddělení ZÚ Ostrava ze souboru 223 vzorků stolic

Čeď	Samostatně	Současné s			Počet prokázaných jednotlivých virů z celkového počtu 223 stolic	
		Coronaviry Caliciviry Adenoviry	Coronaviry Caliciviry	Coronaviry		
Reoviry	1	1	-	1	3	1,3%
Adenoviry	3	-	2	9	15	6,7%
Coronaviry	95	-	-	-	194	87,0%
Caliciviry	5	-	-	86	94	42,2%

Viry byly prokázány celkem u 203 vzorků stolic – 91,0%.

Elektronovou mikroskopií jsou v současné době na virologickém oddělení ZÚ Ostrava vyšetřovány vzorky stolic, které jsou metodou ELISA-Ag-ROTA negativní pro přítomnost rotavirového antigenu.

Testem ELISA-Ag-ROTA jsou detekovány rotaviry skupiny A, které v našich geografických podmínkách vyvolávají přibližně 95% všech rotavirových akutních průjemových onemocnění.

Literatura:

1. Alfred S. Evans, Richard A. Kaslow: Viral Infections of Humans Epidemiology and Control. Plenum Publishing Corporation, New York 1997
2. Petr Pazdiora, Jana Táborská : Průjemová onemocnění vyvolána rotaviry. Grada Publishing a.s., Praha 2004
3. Ludmila Šrámková, Miloš Rýc : Virové gastroenteritidy v klinické praxi. Grada Avicenum, Praha 1993
4. Bohuslav Korych : Laboratorní diagnostika virových gastrointestinálních onemocnění. Avicenum, Praha 1987
5. M.Rýc, F. Čiampor, M. Wagner: Elektronová a imuno-elektronová mikroskopie ve virologii. Avicenum, Praha 1989
6. D.Greenwood, Richard C., B. Slack, John F., Peutherer a kol.: Lékařská mikrobiologie. Grada Publishing, s.r.o., Praha 1999
7. Miroslav Votava : Lékařská mikrobiologie speciální. Neptun, Brno 2003

AUTOIMUNITA, AUTOPROTLÁTKY A AUTOIMUNITNÍ ONEMOCNĚNÍ

Lochman I., Novák V.

Autoimunita patří v posledních letech mezi nejdiskutovanější problematiku mezi klinickými imunology. Zúžený, často paradigmatický přístup k této problematice však nedovoluje plně vysvětlit patogenезi většiny autoimunitních onemocnění a přispět tak k umožnění jejich kauzální léčby. V tomto článku se pokusíme podívat na autoimunitu a s ní související fenomény poněkud netradičně a najít obecnější vysvětlení některých souvisejících jevů. Aby bylo možné správně pochopit a interpretovat pojem autoimunita, je si nejdříve nutno ujasnit některé základní skutečnosti související s postavením, charakterem a funkcí imunitního systému.

Imunitní systém (IS) je homeostatický systém, který spolu se systémem nervovým a endokrinním udržuje vnitřní integritu a vnější individualitu organismu. Při výkonu své funkce se IS chová jako systém informační, který má svou analytickou a

výkonnou část (obr.1). K tomu, aby mohl tuto úlohu plnit, si vytvořil během fylogenetického vývoje řadu nástrojů, které jsou pro něj často specifické, jiné jsou společné i s nástroji jiných systémů. Některé látky účastníci se přenosu informací mezi jednotlivými strukturálními elementy homeostatických systémů si během evolučního vývoje zachovávají až podivuhodnou rigiditu. Namátkou lze jmenovat některé hormony, např. kortikosteroidy, proteiny tepelného šoku (HSP – heat shock proteins) nebo tzv. Toll-like receptory. Tyto látky a struktury, prostřednictvím nichž se funkce IS realizují, patří většinou mezi faktory tzv. přirozené imunity. U vyšších organismů se vyvinuly během fylogeneze další struktury a prostředky IS, které mu dovolují rychleji a efektivněji reagovat na signály, které získává během ontogeneze z vnějšího i vnitřního prostředí. Ty se řadí mezi prostředky a struktury tzv. získané (adaptivní) imunity. Mezi takovéto prostředky patří i protilátky.

Imunitní systém

je homeostatický systém, který spolu se systémem nervovým a endokrinním udržuje vnitřní integritu a vnější individualitu organismu

funkce IS

analytická	imuno	výkonná
tolerance z vysoké dávky	modulace	Cíl: obnovení homeostázy. Děje se tak: - reparaci poškozených buněk - odstraněním cizorodého materiálu nebo poškozených buněk (fagocytóza → zánět)
analytický rozsah		- izolaci cizorodého materiálu - adaptaci na nové prostředí
tolerance z nízké dávky		

Obr.1 Imunitní systém a jeho funkce

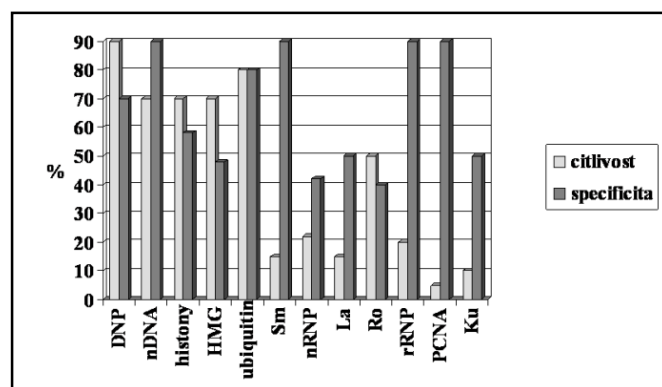
Aby mohl IS vykonávat řádně svou funkci, musí rozeznávat všechny signály, které získává jak z vnějšího, tak z vnitřního prostředí a hodnotit nejen kvalitu, ale i kvantitu (sílu) těchto signálů a to, zda se nacházejí ve správném prostředí a ve správném čase. Základní informace, jak hodnotit tyto signály, získává IS jedince, jehož homeostázu zajišťuje, z jeho genetického vybavení. Adaptivní imunita umožňuje, že IS může během života jedince svou reaktivitu do jisté míry korigovat podle situací, do nichž se jedinec dostává. Vzhledem k důležitosti funkce IS, nemůže být založeno obecně jeho rozhodování na vyhodnocení jen jednoho signálu. Vždy je vyhodnocováno několik signálů najednou. Proto jen zřídkakdy je výsledná informace, kterou IS dostává, zcela jasná. Proto IS nemůže při svém rozhodování používat tzv. booleanovskou (kategoriální) logiku, ale logiku pravděpodobnostní (fuzzy). Právě pohled, popisování a hodnocení funkce IS z pohledu booleanovské logiky, vytváření ostrých hranic a kategorií, způsobuje, že se je a jeho reakce nedaří často dobře popsat a pochopit.

Jak již bylo řečeno, musí IS při plnění své homeostatické funkce rozpoznávat všechny signály, podněty a struktury, se kterými se setkává, tedy i struktury vlastní. Jsou-li protilátky součástí analytických nástrojů IS, pak i tvorba autoprotilátek je v určité míře fyziologickou reakcí. Je-li však výskyt autoantigenů v určitém prostoru a čase neobvyklý, je neobvyklá i tvorba protilátek proti těmto autoantigenům. Většinou se jedná o zvýšenou nabídku autoantigenů, a tím i zvýšenou tvorbu protilátek. I když rozhodující úlohu ve fyziologické i patologické autoimunitní odpovědi hrají složky buněčné imunity, jejímiž řídicími elementy jsou T-lymfocyty, jsou autoprotilátky nejobvyklejším laboratorním diagnostickým nástrojem autoimunitních onemocnění. Poněvadž jako autoantigeny jsou nejčastěji nabízeny jak membránové tak intracelulární struktury poškozených, modifikovaných a rozpadajících se buněk, které jsou pro většinu buněk společné, nepřekvapuje, že jen velmi málo autoprotilátek je pro některé autoimunitní onemocnění specifických. Zvýšené koncentrace autoprotilátek proti určitým strukturám však bývají s některými autoimunitními onemocněními asociovány daleko častěji, než s onemocněními jinými nebo než jsou nalézány u zdravých jedinců. Takovéto autoprotilátky lze úspěšně využívat v diferenciální diagnostice autoimunitních onemocnění a některé z nich i pro monitorování aktivity a úspěšnosti léčby těchto onemocnění. Zvýšené koncentrace některých autoprotilátek se nacházejí v sérech daleko dříve, než se

u daného jedince projeví klinické příznaky onemocnění, s nímž jsou asociovány (prediktivní autoprotilátky). Mezi takovéto autoprotilátky patří např. protilátky proti citrulinovaným proteinům (anti-CCP) u revmatoidní arthritidy (RA) nebo protilátky asociované s diabetem 1. typu (anti-GAD, anti-IA2, IAA a ICA).

Co to tedy autoimunitní onemocnění je? Na rozdíl od autoreaktivity, která je, v určitém rozsahu, jak jsme naznačili již výše, fyziologickou reakcí, je autoimunitní onemocnění patologickým stavem provázeným zvýšenou reaktivitou IS proti vlastním antigenním strukturám. Je však tato zvýšená reaktivita chybou imunitního systému, nebo jeho logickou reakcí na zvýšenou, nefyziologickou nabídku autoantigenů? Aby mohlo být onemocnění považováno za autoimunitní, musí splňovat určitá kritéria, které definoval již v roce 1957 Witebsky (tab. 1). V souvislosti s novými poznatky imunologie musela být postupně tato kritéria revidována a doplněna. Že to není s definicí autoimunitních onemocnění jednoduché dodnes si můžeme ukázat na několika případech onemocnění uznávaných za typické autoimunitní choroby.

Za zcela klasické autoimunitní onemocnění je považován systémový lupus erythematosus (SLE). Toto onemocnění je asociováno s výskytem autoprotilátek především proti některým antigenům jádra buněk (obr.2).



Obr. 2 Autoprotilátky u SLE (podle L.Cebecauera, nepublikováno, kompilováno z několika zdrojů)

V 80. letech minulého století se předpokládala přímá účast těchto protilátek na vzniku a v patogenezi SLE. Zcela byl ignorován fakt, že protilátky obecně nemohou za normálních okolností volně pocházet plasmatickou membránou intaktních buněk, aby tak uvnitř nalézaly své cílové struktury a mohly zahájit patologický proces ústící v manifestaci onemocnění. Pokud byly tyto protilátky uvnitř buněk nacházeny, pak nebyla brána v úvahu možnost, že může jít o buňky poškozené, resp. buňky v procesu apoptózy nebo nekrózy. Apoptóza (programovaná buněčná smrt) na rozdíl od nekrózy, za normálních okolností nevede k indukci patofyziologických procesů ústících v zánětlivou reakci. Probíhá-li však v dané lokalitě (tkáni) u velkého počtu buněk neúměrně dlouho, může mít především u geneticky predisponovaných jedinců podobné důsledky jako nekróza. Za stále pravděpodobnější se z pohledu patogeneze SLE ukazuje, že vlastní onemocnění může vznikat již na úrovni aktivace příslušných úseků DNA buněk během jejich běžného života. Při tomto procesu dochází občas i k aktivaci chybných úseků DNA nebo špatnému přepisu. Na úrovni prvodohledu jsou takovéto fragmenty DNA

odstraňovány pomocí DNA-áz nebo interferenčních RNA (iRNA) a nedochází tak k narušení homeostázy (restaurace homeostázy na obr.1). Nefunkčnost nebo nepřítomnost příslušných DNA-áz či iRNA vede v konečném důsledku k poškození buňky a její apoptóze. Zvýšená nabídka takto poškozených nebo irelevantních úseků DNA je při funkčnosti těchto DNA-áz asociována se zvýšenou produkcí těchto enzymů, jejich zvýšenou aktivitou a pochopitelně i tvorbou protilátek proti nim. Tyto procesy jsou obecné a nejsou nacházeny jen u SLE. V diagnostice samotného SLE se jejich monitorování dodnes příliš nevyužívá. Apoptotické a nekrotické, rozpadávající se buňky nabízejí teprve autoantigeny, proti nimž jsou vytvářeny protilátky využívané dnes v diagnostice tohoto i jiných autoimunitních onemocnění. Vystává tedy otázka, zda je tedy SLE autoimunitním onemocněním ve smyslu poruchy reaktivity IS, nebo zda jde o adekvátní reaktivitu IS na neadekvátní, patologické podněty. Dodnes také nejsou reparační mechanismy na úrovni DNA a RNA obecně zařazovány mezi nástroje IS a imunitní reakce.

Málo si uvědomujeme, že průkaz většiny autoproti látek včetně anti-nukleárních protilátek (ANA) je prováděn na buňkách v nestandardním, nefysiologickém stavu způsobeném fixací těchto buněk nebo tkání, které je obsahují, na vhodný nosič (většinou sklo), nebo pomocí imunochemických technik, kde jsou jako substráty používány více či méně purifikované autoantigeny, které také jen částečně korespondují s nativními antigeny nacházejícími se v organismu in vivo. Proto je standardizace technik pro průkaz autoproti látek obecně velmi obtížná a při interpretaci výsledků těchto technik by měla být udávána také přesná identifikace metody, kterou bylo stanovení nebo detekce prováděno. Např. fluorescenční obrazy autoproti látek proti stejným autoantigenům mohou vypadat na HEp-2 buňkách, které jsou používány jako standard pro jejich detekci, často velmi rozdílně v závislosti na zdroji (producentu) těchto buněk. Jako další příklad může sloužit diagnostika protilátek proti cytoplasmě neutrofilů (ANCA) metodou nepřímé imunofluorescence (IIF). Je známo, že zcela rozdílné fluorescenční obrazy ANCA může způsobit různý způsob fixace granulocytů (etanol/formol/metanol), přičemž na intaktních neutrofilech nejsou tyto protilátky vůbec detekovatelné. Jako příklad velké náchylnosti substrátu ztratit během fixace své biologicky aktivní epitopy účastníci se patofysiologického procesu, mohou sloužit tkáně využívané pro diagnostiku protilátek proti hladkým svalům (nejčastěji žaludek) a také „imunochemická“ alternativa tohoto stanovení – diagnostika protilátek proti F-aktinu pomocí imunoblotovacích nebo ELISA technik. V některých případech se nativní epitopy důležité pro detekci a stanovení autoproti látek při fixaci nebo navázání substrátu/antigenu na podložku/sorbent vůbec nedaří zachovat a pro jejich průkaz je zapotřebí

Literatura u autora.

používat techniky dovolující pracovat s volnými antigeny v roztoku (např. stanovení anti-insulinových protilátek – IAA).

Podle Witebského kritérií může být považována za autoimunitní onemocnění také celiakie (CD). Pro neléčenou celiakii je charakteristický výskyt protilátek proti tkáňové transglutamináze (tTG), a gliadinu (součásti obilného lepku), který je jedním z mnoha substrátů pro tTG. Deamidací gliadinu tTG se spouští řetězec reakcí, které vedou u vnímavých jedinců k zánětu a destrukci střevní sliznice (vymizení klků a zbytnění krypt). Tvorba protilátek proti tTG a gliadinu je jen jedním z fenoménů u CD, ale samotný jejich výskyt nemusí vždy korelovat s rozsahem poškození střevní sliznice. Na druhé straně zvýšená tvorba protilátek proti tTG u jedinců s přecitlivělostí na lepek může způsobovat, zvláště u dospělých, i mimostřevní, např. neurologické nebo kožní potíže. Je to dáno tím, že transglutaminázy, jako všudypřítomné, především intracelulární, enzymy s velkou homologií, mohou být exprimovány také v buněčných membránách, mají kromě transamidační a deamidační aktivity také významnou GTP-ázovou aktivitu a podílí se tak na přenosu signálů přes buněčnou membránu. Gliadin je u vnímavých jedinců vlastním vyvolávajícím agens CD a bezlepková dieta vede k vyléčení intestinálních i extraintestinálních forem onemocnění a vymizení protilátek jak proti gliadinu, tak proti tTG. Přestože autoantigen (tTG) zůstává v organismu, je jeho intraintestinální nabídka imunitnímu systému po nasazení bezlepkové diety nízká, snižuje se výrazně i tvorba protilátek proti němu a mizí obtíže způsobené imunopatologickým procesem jak ve střevě, tak mimo něj.

Jak již bylo řečeno, většina autoproti látek je namířena proti obecným strukturám buněk a tkání a není pro dané autoimunitní onemocnění specifická. Kromě různých typů ANA protilátek to lze demonstrovat např. u autoproti látek využívaných v diagnostice autoimunitních hepatopatií, kdy z celé palety stanovovaných autoproti látek jsou pro tato onemocnění dnes považovány za specifické pouze protilátky proti SLA/LP u autoimunitní hepatitidy. Podobná je situace u autoimunitního diabetu 1. typu, kdy vzhledem k nespecifitě diagnosticky použitelných protilátek (anti-GAD, anti-IA-2, IAA a ICA) je indikace jejich vyšetření doporučována jen při preventivní diagnostice rizikových jedinců a není doporučována jako screening běžné populace pro vznik diabetu 1. typu.

Závěrem lze shrnout: Diagnostika a monitorování průběhu autoimunitních onemocnění pomocí detekce nebo stanovení autoproti látek je často velmi přínosnou informací pro klinické pracovníky. Při neznalosti postavení a funkce těchto protilátek v patofysiologickém procesu a fungování IS nebo špatné interpretaci těchto vyšetření však mohou být jejich výsledky také velmi zavádějící.

Tab. 1: Kritéria autoimunity (podle E. Witebského: J.Am.Med.Assoc. 1957, 164: 1439-1447)

- Prokázat cirkulující autoproti látky nebo autoimunitu zprostředkovanou buňkami
- Definovat a popřípadě i izolovat antigen, proti němuž je autoimunita zaměřena
- Vytvořit imunitu proti tomuto antigenu u pokusného zvířete
- U senzibilizovaného pokusného zvířete vyvolat stejné nebo podobné změny jako u lidí

DOMOVNÍ STUDNY A ODPADNÍ VODY Z DOMÁCNOSTÍ **Heidlerová D., Oddělení chemické laboratoře.**

Máte na zahradě studnu? Ke každé studni je potřeba stavební povolení a kolaudační rozhodnutí. Abyste ale mohli čerpat vodu, je nutné přidat ještě povolení k odběru podzemních vod (Vodní zákon č.254/2001 Sb. a jeho novela č.20/2004 Sb.). Domácnostem, které vodu ze studní odebírají bez povolení, hrozí pokuta až 50 tisíc korun, podnikatelům až 10 miliónů korun.

Je-li vaše studna vybudovaná před rokem 1955, je povolena automaticky. Pokud máte mladší studnu, musíte mít povolení k odběru podzemních vod, které vydává vodoprávní úřad, zpravidla se jedná o odbor životního prostředí na obecním úřadě obce s rozšířenou působností.

Podnikatelé a drobní živnostníci, kteří vodu ze studny používají k podnikání, jejichž povolení začalo platit před 1. lednem 2002, potřebují prodloužení povolení k používání studny. Zažádat o prodloužení by měli do 1. července 2007, pokud to neudělají, k 1. lednu 2008 jim povolení automaticky zanikne a nebudou moci legálně čerpat vodu.

Majitelé domů, chat a chalup, kteří vodu ze studny využívají pouze k zásobování domácností, včetně zalévání zahrady, napájení zvířat či napouštění bazénu, nemusí žádat o prodloužení povolení.

Kontroly povolení k používání studní provádí vodoprávní úřad nebo Česká inspekce životního prostředí.

Pokud vás zajímá kvalita vody z vaší studny, může se obrátit na náš Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, na nejbližší pracoviště v Ostravě, Karviné, Frýdku-Místku, Novém Jičíně, Bruntále nebo Opavě.

Ke kolaudaci studny potřebujete odběr akreditovanou laboratoří, který zajistíme na uvedených telefonních číslech. V ostatních případech se můžete k nám zastavit pro odběrové láhve, zejména sterilní pro mikrobiologické vyšetření, a provést si odběr sami.

Vzorek vody musíte přinést nejlépe v den odběru nebo odběr provést večer, pak uchovat v lednici přes noc a ráno přinést vzorek do laboratoře. Vzorek vody by měl být uchován při transportu v termotašce s chladícími vložkami. Tento postup je vhodný pro studny u chaty či chalupy, které jsou poměrně vzdálené od našich pracovišť.

Stejně jako musíte mít povolení na odběr vody, nemůžete se jí bez povolení zbavovat, pokud odpadní vody nevypouštíte do kanalizace, ale do povrchové vody či do země.

Tato povolení na konci letošního roku rovněž přestanou platit, a to pro všechny, včetně domácností. Výjimkou jsou povolení, která začala platit po 1. lednu 2002. Kdo bude chtít nadále vypouštět odpadní vody, může si u vodoprávního úřadu do 1. července požádat o prodloužení. Viz názorná tabulka Ministerstva ŽP: Povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových nebo podzemních pro domácnosti.

Aby vám vodoprávní úřad vypouštění povolil, musíte splnit několik podmínek. Kromě stavebního povolení a kolaudačního rozhodnutí je nutné dodržet limity kvality vody. Limity nejsou paušálně stanoveny zákonem, ale určuje je vodoprávní úřad podle svých specifických podmínek v souladu s nařízením vlády č.61/2003 Sb.

Sledují se zejména tři ukazatele: CHSK Cr (limit: 125 – 180 mg/l), BSK 5 (limit: 30 – 60 mg/l) a nerozpuštěné látky (limit: 35 - 70 mg/l).

K analýze odpadní vody je nutné provést odběr vzorku vody nezávislou laboratoří. Kontakt na naše pracovníky, kteří vám zajistí akreditovaný odběr vzorku odpadní nebo již zmíněné vody ze studny:



Kontakty:

Ostrava: 596 200 167, 126

Karviná: 596 397 371, 203

Frýdek-Místek: 558 601 452, 460

Ilustrační foto (zdroj internet)



Povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových nebo podzemních **pro domácnosti**

mám zařízení	zaústění do	povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových nebo podzemních	
		stávající stav	výhled
kanalizační přípojka	kanalizace	nemám	nepotřebuji
pouze septik	kanalizace bez ČOV	nemám	nepotřebuji *
pouze septik	povrchových vod	mám vydané před 1.1.2002	musím zažádat o prodloužení do 1.7.2007
pouze septik	podzemních vod**	mám vydané před 1.1.2002	musím zažádat o prodloužení do 1.7.2007
pouze septik	povrchových vod	nemám	musím zažádat o povolení – lze vydat pouze, je-li zajištěna dostatečná účinnost čištění a nemůže dojít k znečištění zdrojů pitné vody
pouze septik	podzemních vod**	nemám	
septik s dalším stupněm čištění	kanalizace bez ČOV	nemám	nepotřebuji *
septik s dalším stupněm čištění	povrchových vod	mám vydané před 1.1.2002	musím zažádat o prodloužení do 1.7.2007
septik s dalším stupněm čištění	povrchových vod	nemám	musím zažádat o povolení
septik s dalším stupněm čištění	podzemních vod**	mám vydané před 1.1.2002	musím zažádat o prodloužení do 1.7.2007
septik s dalším stupněm čištění	podzemních vod**	nemám	musím zažádat o povolení
žumpa	bezodtoková s pravidelným vyvážením	nemám	nepotřebuji
domovní čistírna odpadních vod	kanalizace bez ČOV	nemám	nepotřebuji *
domovní čistírna odpadních vod	povrchových vod	mám vydané před 1.1.2002	musím zažádat o prodloužení do 1.7.2007
domovní čistírna odpadních vod	povrchových vod	nemám	musím zažádat o povolení
domovní čistírna odpadních vod	podzemních vod**	mám vydané před 1.1.2002	musím zažádat o prodloužení do 1.7.2007
domovní čistírna odpadních vod	podzemních vod**	nemám	musím zažádat o povolení

* ustanovení § 18 zákona č. 274/2001 Sb. o vodovodech a kanalizacích (povolení k vypouštění odpadních vod do kanalizace) tímto není dotčeno

** vypouštění do vod podzemních – možné pouze nepřímo přes půdní vrstvy – např. zasakováním, trativodem atd.