

UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



## **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

# **Rotaviry jako původci průjmových onemocnění**

**TOMÁŠ HAMPL**

**Vedoucí bakalářské práce: Mgr. MARCELA VEJSOVÁ, Ph.D.**

**HRADEC KRÁLOVÉ 2019**

## **Poděkování**

Chtěl bych poděkovat Mgr. Marcele Vejsové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky, velmi vstřícný přístup a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnovala.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové,

.....

Tomáš Hampl

# 1. OBSAH

1. OBSAH.....	4
2. ABSTRAKT .....	6
3. ABSTRACT .....	7
4. ÚVOD.....	8
5. ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE.....	9
6. TEORETICKÁ ČÁST .....	10
6.1 Čeleď Reoviridae.....	10
6.1.1 Replikace .....	11
6.1.2 Rod Orthoreovirus.....	11
6.1.3 Rod Orbivirus.....	12
6.1.4 Rod Coltivirus.....	12
6.1.5 Rod Aquareovirus.....	12
6.2 Rod Rotavirus .....	13
6.2.1 Morfologie virionu .....	14
6.2.2 Genom a antigenní struktura.....	15
6.2.3 Rezistence.....	18
6.2.4 Množení .....	18
6.2.5 Patogeneze.....	18
6.2.6 Imunita .....	21
6.2.7 Klinický obraz.....	21
6.2.8 Epidemiologie.....	22
6.2.9 Laboratorní diagnostika.....	24
6.2.10 Terapie .....	29
6.2.11 Prevence .....	29
7. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	33

8.	VÝSLEDKY.....	34
8.1	Rok 2010 .....	34
8.2	Rok 2011 .....	36
8.3	Rok 2012 .....	38
8.4	Rok 2013 .....	40
8.5	Rok 2014 .....	42
8.6	Rok 2015 .....	44
8.7	Rok 2016 .....	46
8.8	Rok 2017 .....	48
8.9	Zhodnocení období 2010-2017 jako celku.....	50
9.	DISKUSE .....	54
10.	ZÁVĚR .....	59
11.	POUŽITÉ ZKRATKY .....	60
12.	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	61
13.	SEZNAM GRAFŮ.....	61
14.	POUŽITÁ LITERATURA .....	63

## 2. ABSTRAKT

Autor: Tomáš Hampel

Název práce: Rotaviry jako původci průjmových onemocnění

Bakalářská práce

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Studijní obor: Zdravotní laborant

**Cíl práce:** Tato bakalářská práce má za cíl, zabývat se problematikou rotavirů, taxonomicky je zařadit, popsat jejich strukturu, vlastnosti, vznik a průběh onemocnění, které způsobují. Dále popsat laboratorní diagnostiku onemocnění, možnosti terapie a prevence. V experimentální části se práce bude věnovat epidemiologii rotavirových infekcí ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové v období mezi lety 2010-2017 a jejich vyhodnocení.

**Hlavní poznatky:** Rotaviry jsou velmi často původcem vážných a nebezpečných průjmů u dětí do 5 ti let, včetně kojenců a batolat. Podle WHO zemře ročně na tuto infekci přes půl miliónu dětí na celém světě, přičemž dětí onemocní kolem 150 miliónů. Proto je velice důležitá včasná diagnostika a vhodná terapie. Dospělý člověk se může rovněž nakazit, průběh onemocnění je ale daleko mírnější než u dětí.

**Závěry:** Důležitá prevence vzniku a šíření rotavirových infekcí vyžaduje dodržování důkladné osobní hygieny, zejména mytí rukou. Protože infekce vzniká nejčastěji v dětských kolektivech, je nutná v případě rozšíření infekce dezinfekce prostředí, hraček, nábytku a dalších předmětů. Základem prevence je včasné očkování, které není součástí povinného očkovacího kalendáře v České republice.

**Klíčová slova:** rotavirus, průjem, vakcinace, statistické zpracování

### 3. ABSTRACT

Author: Tomáš Hampl

Title: Rotavirus as an agent of diarrheal diseases

Bachelor thesis

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy, Hradec Králové

Field of study: Medical Laboratory

**Background:** This bachelor thesis aims at dealing with rotavirus issues, taxonomically classifying them, describing their structure, properties, origin and course of the diseases they cause. In the experimental part the thesis will deal with the epidemiology of rotavirus infections at the Faculty Hospital in Hradec Králové in the period between 2010-2017 and their evaluation.

**Main findings:** Rotaviruses are very often the cause of serious and dangerous diarrhea in children up to 5 years of age, including infants and toddlers. According to the WHO, more than half a million children worldwide die each year, where children will get ill around 150 million. Therefore, early diagnosis and appropriate therapy are very important. An adult can also become infected, the course of the disease is much milder than children.

**Conclusions:** Important prevention of the origin and spread of rotavirus infections requires careful personal hygiene, especially hand washing. Because infections are the most common in children's groups, disinfection of the environment, toys, furniture and other objects is necessary in case of spread of infection. Prevention is based on early vaccination, which is not part of the mandatory vaccination calendar in the Czech Republic.

**Keywords:** rotavirus, diarrhea, vaccination, statistical processing

## 4. ÚVOD

Rotavirus je virus ve tvaru koule z čeledi Reoviridae s průměrem okolo 75 nm, charakteristický vysokou nakažlivostí, poněvadž patří mezi nejčastější původce průjmových onemocnění u dětí po celém světě. Pro způsob šíření je infekce řazena mezi nozokominální nákazy. Aspoň jednou prodělá rotavirovou infekcí většina dětí do věku 5 ti let. Virus byl objeven v šedesátých letech u zvířat a o 10 let později u lidí. Existují tři hlavní skupiny rotavirů-A, B a C, které způsobují onemocnění u dětí a dospělých. V rozvinutých zemích je za většinu epidemií zodpovědná skupina A. Virus má přitom ještě několik sérotypů, nejčastější jsou G1-G4 a G9 (Bednář, 1996; Anonymous, 2018).

Při pozdní diagnostice a terapii mohou být infekce rotaviry smrtelné, proto se práce bude věnovat i této problematice. Objev vakcíny pomohl předcházet infekci už miliónům lidí po celém světě, vakcína ale není v ČR v současnosti součástí povinného očkovacího kalendáře.



## **5. ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE**

Cílem bakalářské práce je zpracovat publikované informace, které se týkají rotavirů. Charakterizovat původce z hlediska struktury, patofyziologie a epidemiologie, přiblížit klinické projevy onemocnění, možné komplikace a prognózu. Zaměřit se na laboratorní diagnostiku, možnosti případné terapie a prevence.

V experimentální části je cíl věnovat se epidemiologii rotavirových infekcí za dané časové období (2010-2017) ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové, vyhodnotit jednotlivá data (počet vyšetření, počet pozitivit, zastoupení mužů, žen, rozdělení do věkových kategorií nebo nejčastější diagnostika) a interpretovat výsledky.

## 6. TEORETICKÁ ČÁST

### 6.1 Čeleď Reoviridae

Rotavirus lze svou strukturou taxonomicky zařadit mezi neobalené RNA-viry do čeledi Reoviridae. Název čeledi byl odvozen od prvního izolovaného viru z této skupiny – reoviru (*Respiratory Enteric Orphan virus*). Kromě rodu Rotavirus čeleď obsahuje ještě rody Orthoreovirus, Orbivirus, Coltivirus a Aquareovirus (Celer, 2010).

Jméno pro reoviry bylo tedy určeno podle toho, že kmeny byly původně izolovány z respiračního sekretu a ze stolice a že nebyly spojeny s žádným do té doby známým onemocněním. Proto bylo jméno vytvořeno jako akronymum z anglického označení *respiratory enteric orphan* (*orphan* = sirotek). Dosud není zcela přesně vymezen vztah všech těchto virů k onemocnění, ačkoli velká většina lidské populace s nimi přichází do styku a protilátky jsou přítomny u člověka od časného dětství (Greenwood, 1999).

Viriony mají ikosaedrální tvar s dvěma kapsidovými skořápkami, které jsou kompletní infekční formou viru s průměrem okolo 60 – 80 nm. Obsahují z 85 % dvojvláknové RNA a z 15 % proteiny. Genom je tedy tvořen dvojvláknovou RNA v 10-12 segmentech, celková jeho velikost se odhaduje na 16-28 kbp, velikost genomu se u jednotlivých rodů liší. Zatímco rotaviry obsahují 11 genomových segmentů, orthoreoviry a orbiviry mají jen 10 segmentů a coltiviry mají dokonce až 12 segmentů. Jednotlivé segmenty RNA se rovněž u jednotlivých rodů liší ve velikosti, rotavirové mají 680 bp a například orthoreoviry mají 3900 bp. Virionové jádro obsahuje velké množství enzymů potřebných pro transkripci a zakrytí virových RNA (Brooks 2013).

Na vnější kapsidě jsou při pozorování elektronovým mikroskopem zřetelné výběžky, které se uplatňují jako nástroj adsorpce na buněčné receptory a jako hemaglutinin, což je glykoprotein způsobující, že se červené krvinky aglutinují nebo srážejí (Bednář, 1996; Rogers, 2009).

Reoviry jsou v přírodě velice rozšířené, vyskytují se u obratlovců, hmyzu, a dokonce i rostlin. Jsou velmi rezistentní k fyzikálním a chemickým vlivům. Zachovávají si infekční aktivitu v širokém rozmezí pH a teplot. Dlouho přetrvávají v odpadních a v povrchových vodách (Bednář, 1996).

Rotaviry jsou stabilní při teplotě 50 °C, pH 3,0 až 9,0 a k lipidovým rozpouštědlům, jako jsou například éter a chloroform, jsou však inaktivovány 95% ethanolem, fenolem či chlorem. Omezená léčba proteolytickými enzymy zvyšuje jejich infekčnost (Brooks, 2013).

### 6.1.1 Replikace

Podmínkou replikace je enzymatické štěpení některých povrchových virových proteinů, ke kterému dochází u rotavirů v gastrointestinálním traktu, u jiných reovirů však až po vstupu do buňky uvnitř lysozomu. Replikace začíná tak, že se virové částice připojí ke specifickým receptorům na povrchu buněk. Buněčný připojovací protein pro reovirus je virový hemaglutinin ( $\sigma 1$ ). Po připojení a průniku dochází k postupnému odlupování virových částic v lysozomech v buněčné cytoplasmě. To vede ke vzniku infekční subvirové částice a k aktivaci reverzní transkriptázy. Tato transkriptáza transkribuje molekuly mRNA z minus řetězce každého dvouřetězcového RNA segmentu obsaženého v jádru. Reovirové jádra obsahují všechny enzymy nezbytné pro transkripci, zakrytí a vytlačování mRNA z jádra. Monocistronické RNA opouští dřeň, následně lysozom a připojuje se na ribozomy, kde je následně překládána. Většina segmentů RNA kóduje jeden protein.

Nově vytvořené proteiny se shlukují v cytoplasmě a vytvářejí částice, které jsou ohraničené vnitřní kapsidou, a obsahují transkripty virové RNA s pozitivní polaritou a enzymy. Uvnitř částic pak dochází k tvorbě komplementárního vlákna RNA. Vnější kapsidu získá virion na mikrotubulech. Rotaviry navíc získávají druhou glykoproteinovou kapsidu tak, že pučí do vezikul endoplasmatického retikula. Společně s ní získávají i lipidový obal, který však ztrácejí při výstupu z cisteren. Reoviry produkují inkluzní tělíčka v perinukleární oblasti cytoplasmy, ve kterých se nacházejí virové částice. Při replikaci reovirů dojde k zástavě proteosyntézy hostitelské buňky a k její smrti. Novotvořené viriony jsou zřídka buňkou vyvrhovány, protože jsou většinou uvolněny až po lýze hostitelské buňky (Bednář, 1996; Brooks, 2013).

### 6.1.2 Rod Orthoreovirus

Do rodu Orthoreovirus můžeme zahrnout zvířecí i lidské viry. Jejich částice mají průměr okolo 80 nm a existují ve třech typech, označovaných jako reovirus T1 – T3. Všechny tyto typy jsou velmi termorezistentní, snášejí nízké pH, vyznačují se necitlivostí vůči éteru a vzdorují řadě dezinfekčních prostředků (Bednář, 1996).

Jsou dále velmi stabilní ve vlhkém prostředí, běžně se nalézají v odpadních vodách a v rybnících. Dají se pěstovat na různých tkáňových kulturách, nejlépe však na lidských. U různých živočišných druhů vyvolávají respirační, střevní a neurologická onemocnění. Například kmen T3 infikuje chovy laboratorních potkanů a myši. Laboratorní průkaz spočívá v izolaci orthoreovirů ze stolice nebo z materiálu postižených tkání na běžných tkáňových kulturách (Votava, 2003).

### 6.1.3 Rod Orbivirus

Rod Orbivirus běžně infikuje členovce, kteří ho přenášejí na rostliny, zvířata a výjimečně i na člověka. Zástupci tohoto rodu se množí na tkáňových kulturách a jsou patogenní pro sající malé myši. U člověka někdy způsobují lehká horečnatá onemocnění s velmi malým nálezem v likvoru, výjimečně mohou způsobit meningoencefalitidu. U člověka také pravděpodobně souběžně dochází k infekci virem klíšťové encefalidity (Votava, 2003).

Virus je tedy přenášen hlavně klíšťaty, v kterých se pomnožuje. Následně je předán na hlodavce. V krvi se virus váže na erythrocyty. Pokud se virus dostane až na člověka, trpí pacient zmíněným horečnatým onemocněním s výraznou leukopenií (Greenwood, 1999).

### 6.1.4 Rod Coltivirus

Coltivirus obsahuje 12 genomových segmentů o celkové molekulové hmotnosti 28,5 kbp. Virion je isosaedráltní a má průměr asi 80 nm. Podobně jako orbiviry jsou i coltiviry přenášeny klíšťaty. Jsou známy dva druhy coltivirů, jeden byl nalezen v Severní Americe a druhý v Evropě. Prototypovým virem je virus klíšťové horečky zvaný Colorado (*Colorado tick fever virus*), ze kterého vznikl název pro tento rod (Strauss, 2008).

Infekce se vyznačuje týdny trvajícím virémiím, kdy je virus přítomen v erythrocytech. V našich zeměpisných šířkách vyskytuje jen *virus Eyach* izolovaný z klíšťat. Protilátky proti němu byly prokázány u nemocných s meningoencefalitidou a polyneuritidou. Jeho vztah k těmto chorobám nebyl zatím s konečnou platností dokázán (Votava, 2003).

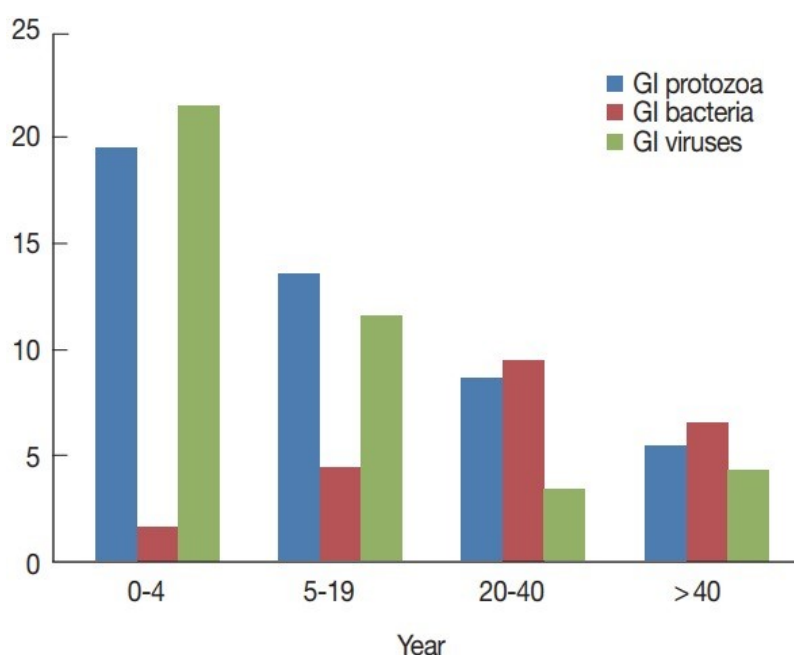
### 6.1.5 Rod Aquareovirus

Rod Aquareovirus patří k méně prozkoumaným reovirům, které napadají lososy, kapry a jiné ryby.

## 6.2 Rod Rotavirus

Do čeledi Reoviridae patří i rod Rotavirus neboli Duovirus. Představitel tohoto rodu objevil Kapikian se svými spolupracovníky mezi lety 1974-1975 (Djačenko, 1983).

Rotaviry jsou hlavní příčinou průjemového onemocnění u lidských kojenců a mladých zvířat, včetně selat a telat. Z obrázku 1 je patrné, že infekce dospělých lidí jsou méně časté. Mezi rotaviry patří původci lidských dětských průjmů, původci průjmů selat u Nebrasky, epizootické průjmy u mladých myší a SA11 virus opic (Brooks, 2013).



Obrázek 1 **Distribuce gastrointestinálních patogenů ve vztahu k věkovým skupinám pacientů.**

vysvětlivky: protozoa-prvoci, bacteria-bakterie, viruses-viry

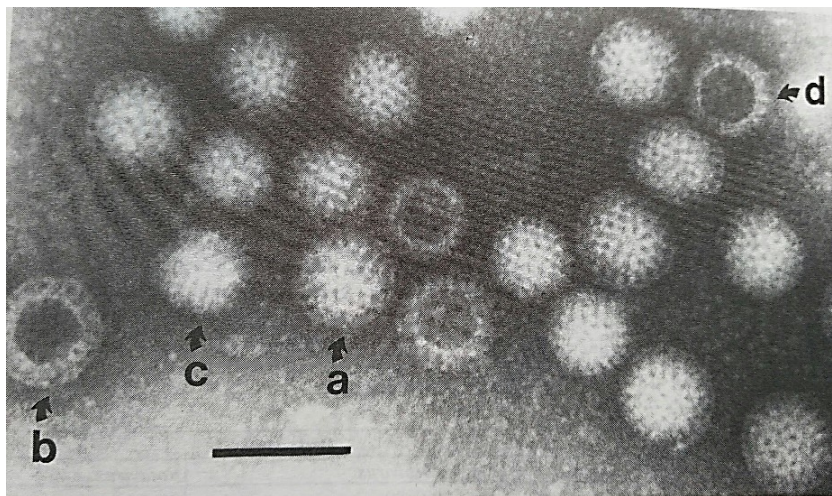
zdroj: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5678467/figure/f3-kjp-55-5-513/>

Druhy rotavirů někdy bývají označovány podle přirozeného hostitele jako lidské, hovězí, opičí nebo psí. Některé druhy nelze takhle snadno zařadit, protože mohou infikovat i širší okruh hostitelů. Například lidský rotavirus může infikovat selata, telata, nebo opice. Přenos infekce ze zvířat na člověka dříve patřil téměř k absolutním výjimkám (Bednář, 1996).

Avšak studie v posledních letech prokázaly možnosti zoonotického přenosu. Například ve východní Indii byl popsán neobvyklý rotavirus způsobující akutní gastroenteritidu u 3-14 měsíčních dětí. Následné celogenomové sekvenování zde

prokázalo zoonotický přenos rotaviru od přežvýkavců. Rotavirové kmeny izolované od pacientů v Thajsku a jejich podrobná genetická analýza odhalila prasečí původ nejméně 9 genomových segmentů. Z popsaných případů by bylo možné se chybně domnívat, že k zoonotickému přenosu infekce dochází především v zemích s nižšími hygienickými standardy. Není tomu ale tak, protože k přenosu dochází i v zemích s vyššími hygienickými standardy. V Belgii byl popsán kmen, který byl izolovaný od měsíčního kojence. Celogenomové sekvenování ukázalo, že se jednalo o přímý přenos rotaviru od prasete, což bylo potvrzeno i tím, že otec postiženého dítěte byl zaměstnán na prasečí farmě. Podobně přímý přenos rotaviru od skotu byl prokázán v Izraeli nebo v Dánsku. Důkazy potvrzující mezidruhový přenos mezi lidskými a zvířecími rotaviry se objevují stále častěji (Moutelíková, 2015).

Viry izolované z různých zvířat vykazují rozsáhlou zkříženou sérologickou reaktivitu, mají však omezené schopnosti replikovat se v jiném hostiteli. Například rotaviry izolované z opic a krav mohou infikovat lidské buňky, ale způsobují mnohem mírnější příznaky než lidské rotaviry. Rotaviry ze zmíněných zvířat byly zkoumány zejména pro použití jako vakcína (Strauss, 2008).



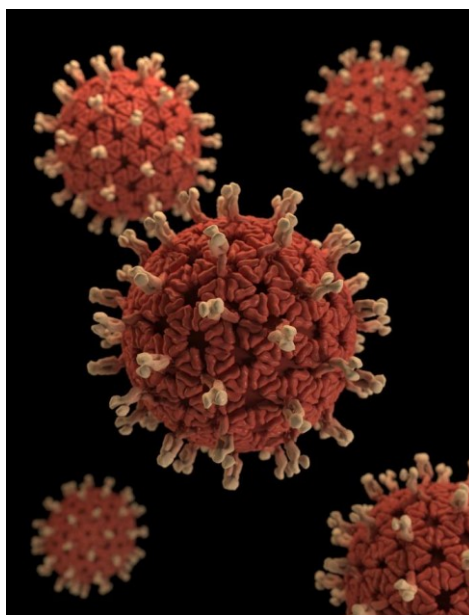
Obrázek 2 *Rotavirus ve stolici dítěte hospitalizovaného pro akutní gastroenteritidu.*

*a-částice s dvojitou kapsidou (ds) uvnitř RNA; b-prázdné ds-částice bez RNA, dřev je naplněná barvivem; c-částice s jednoduchou kapsidou (ss) obsahující RNA; d-prázdná ss-částice zdroj: Greenwood, 1999*

### 6.2.1 Morfologie virionu

Rotaviry (lat. *rota*, kolo) dostaly svůj název podle svého typicky kulatého virionu, který v elektronovém mikroskopu někomu připomíná ozubená kolečka

z budíku (obr.2). Kompletní zralá částice měří asi 75nm a je obklopena dvojitou kapsidou, která má kubickou symetrii. Zevní kapsida, složená z glykoproteinů, je nositelkou hemaglutinačních vlastností a typově specifických antigenů. Z povrchu virionu vyčnívají pravidelné výběžky s rozšířeným koncem, který je tvořen dimery virového hemaglutininu (obr.3). Při základnách výběžků jsou otvůrky vedoucí do kanálků sahající do blízkosti vnitřní vrstvy kapsidy. Vnitřní kapsida obsahuje skupinově specifický antigen. Někdy se v extraktech ze stolice objevují i tzv. incompletní částice, které jsou zbavené vnější vrstvy kapsidy (Bednář, 1996; Votava, 2003).



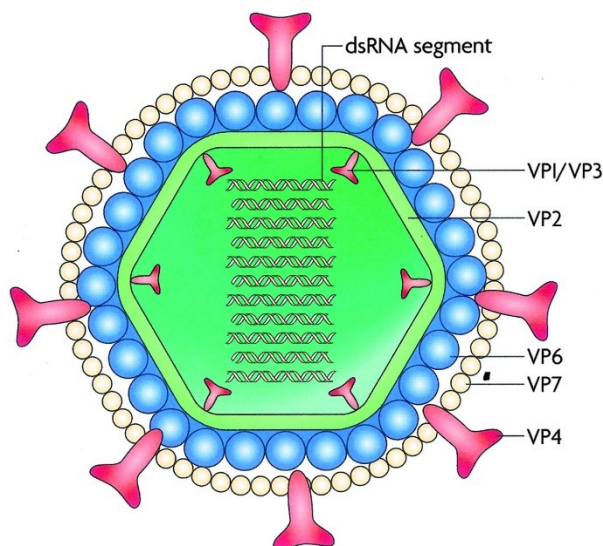
*Obrázek 3 3D grafické znázornění virionů rotaviru.  
zdroj: <https://www.cdc.gov/rotavirus/about/photos.html>*

## **6.2.2 Genom a antigenní struktura**

Genom je tvořen dvojřetězcovou molekulou RNA skládající se z 11 segmentů, z nichž každý kóduje alespoň jeden strukturální nebo nestrukturální protein (VP). Jsou známy funkce asi jedné poloviny všech těchto proteinů. Důležitými proteiny jsou VP4, VP7 a VP6. Protein VP4, který je kódován segmentem 4, se nachází ve výbězcích a odpovídá za přilnutí rotaviru na specifický receptor, u některých virů za hemaglutinaci, za virulenci a tvorbu neutralizačních protilátek. Glykoprotein VP7 je kódován segmenty RNA 7,8 nebo 9 v závislosti na kmeni. Jedná se rovněž o typově specifický protekční antigen a můžeme ho nalézt v zevní vrstvě kapsidy. Skupinově a podskupinově specifickým antigenem je protein VP6 ve vnitřní vrstvě kapsidy (obr.4). Ke klasifikaci

sérotypů se používají jen monoklonální protilátky specifické pro určitý protein (Greenwood, 1999; Votava, 2003).

Celkem bylo identifikováno sedm sérotypů (A až G) lidských a zvířecích rotavirů na základě proteinu VP6, který se nalézá ve vnitřním kapsidovém obalu. Lidské onemocnění je způsobeno především skupinou A, příležitostně i skupinami B a C (Murray, 2009).



Obrázek 4 Schématické znázornění rotavirového virionu včetně proteinů a RNA  
zdroj: Dennehy, 2008

Podle antigenního složení proteinu VP4 a glykoproteinu VP7 se rozeznává ke dvaceti sérotypům P a G. Pro člověka jsou klinicky a epidemiologicky nejdůležitější P-typy P1A a P1B a G-typy G1 až G4. Klasifikace rotavirů však není zcela definitivní, protože se stále vyvíjí (Votava, 2003).

Protilátky proti společným antigenům lze dokazovat pomocí KFR nebo IF. Při sérologickém vyšetřování těmito zmíněnými testy se často používají jako antigeny zvířecí rotaviry (Bednář, 1996).

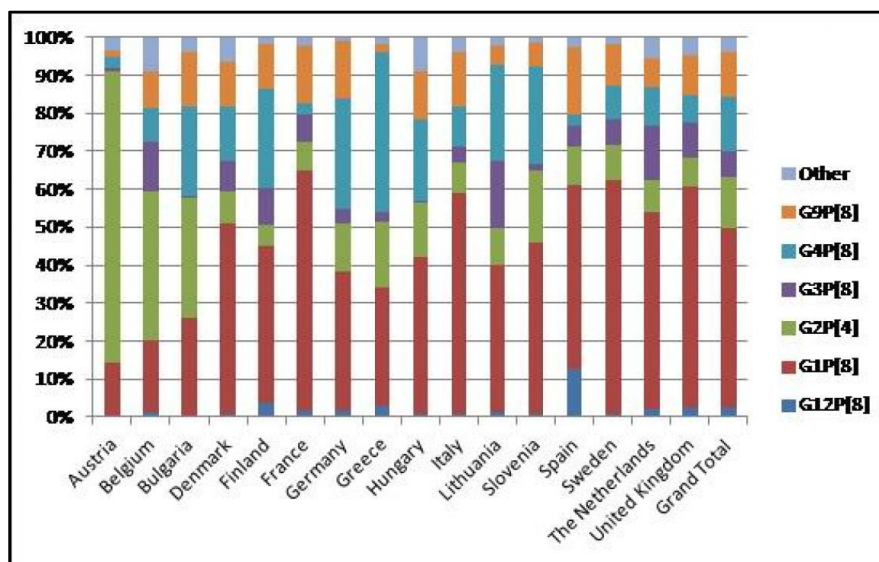
Segmentace genomu rotavirů umožňuje tzv. genomické přeskládání, což je vlastně výměna segmentů mezi jednotlivými kmeny. To vede stále ke vzniku nových a nových antigenních typů. Zároveň také dochází k šíření zvířecích rotavirů do lidské populace. Rotaviry proto prochází neustálým zřetelným vývojem (Votava, 2003).

Na blízký vztah mezi lidskými a zvířecími rotaviry ukázala v České republice studie z roku 2016. Cílem této studie bylo odhadnout u populace volně žijících



divočáků ČR prevalenci střevních virových patogenů včetně rotavirů. Byly použity vzorky stolice z 203 divokých kanců, které byly vyřazeny během lovecké sezóny 2014-2015 a které byly následně vyšetřeny pomocí RT-PCR. Věk zvířat se pochyboval od 2 do 90 měsíců s průměrem 12,9 let. Rotaviry skupiny A byly detekovány ve 2,5 % testovaných vzorků, ve větším množství byly zastoupeny i rotaviry skupiny C. Následná fylogenetická analýza genů VP7, VP4 a VP6 naznačila úzkou vazbu mezi prasečími a lidskými rotaviry skupiny A. Výskyt rotavirů skupiny C u divokých kanců dosáhl 12,8 %. Dvě třetiny z pozitivních vzorků na rotaviry skupiny C obsahovaly právě tyto rotaviry jako jediný detekovaný patogen. Ve zbytku bylo popsáno více patogenů. Šestnáct pozitivních PCR produktů na skupinu C bylo podrobena sekvenaci a byla opět prokázána určitá podobnost s lidskými rotaviry. Studie poskytla první důkaz o prevalenci rotavirů skupiny C u divokých kanců a naznačila, že divoké kančí rotaviry mohou přispívat ke genetické variabilitě i lidských rotavirů skupiny A (Moutelíková, 2016).

Genotypy rotavirů, které ve společnosti cirkulují, se liší podle sezóny nebo podle země a každoročně je zaznamenáno několik hlavních genotypů. Velká většina lidských případů v Evropě a ve světě je však způsobena pěti genotypy séroskupiny A: G1P [8], G2P [4], G3P [8], G4P [8] a G9P [8] (obr. 5) (Anonymous, 2018).



Obrázek 5 Celkové rozdělení šesti nejčastějších genotypů rotavirů podle zemí v letech 2006-2013.

zdroj: <https://ecdc.europa.eu/en/rotavirus-infection/facts>

### 6.2.3 Rezistence

Rotavirové viriony jsou stejně jako ostatní zástupci čeledi Reoviridae relativně stabilní při pokojové teplotě, při extrémních hodnotách pH (3,5 až 10) a dokonce i při opakovaném zmrazování a rozmrazování (Murray, 2009).

Jsou rezistentní na tuková rozpouštědla (éter), dají se inaktivovat oxidačními činidly, např. sloučeninami chlóru, dále formalinem, fenolovými deriváty nebo 95% ethanolem (Votava, 2003).

### 6.2.4 Množení

Množení rotavirů probíhá v cytoplasmě. Příslušný potřebný enzym je součástí virionu, protože buňky nedokážou replikovat dvojřetězcovou RNA. Dozrávající viriony nabývají během pronikání do endoplasmatického retikula přechodně obal, který je později nahrazen zevní vrstvou kapsidy (Votava, 2003).

Schopnost replikace je však u různých druhů rotavirů *in vitro* v buněčných kulturách různá. Lidské rotaviry byly považovány za nekultivovatelné *in vitro*. Jako zdroj antigenů pro jejich sérologickou diagnostiku se proto používaly kmeny hovězích nebo opičích rotavirů, které se dobře množí v různých buněčných liniích (Bednář, 1996).

Později bylo zjištěno, že většina ze skupiny A lidských rotavirů může být kultivována. Je toho dosaženo, pokud jsou předem ošetřeny proteolytickým enzymem trypsinem nebo pokud jsou v tkáňovém kultivačním médiu obsaženy nízké hladiny trypsinu. Trypsin totiž usnadňuje štěpení vnějšího kapsidového obalu. Kmenů z jiných skupin, než je skupina A, bylo kultivováno jen minimálně (Brooks, 2013).

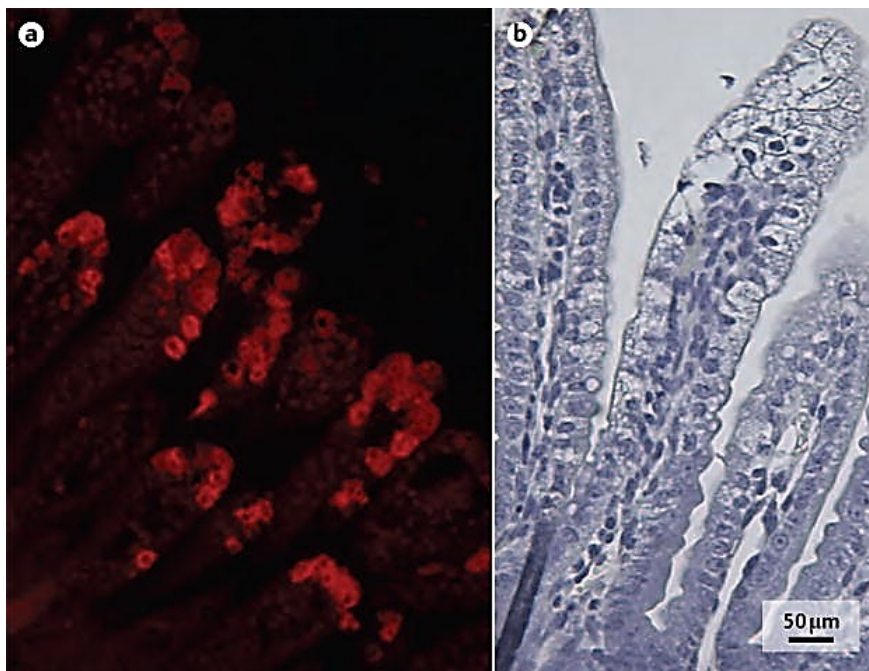
### 6.2.5 Patogeneze

Rotaviry patří mezi jedny z nejdůležitějších vyvolavatelů dětských průjmů. Rozhodujícím způsobem šíření infekce je fekálně-orální přenos a přenos pomocí kontaminovaných předmětů (Bednář, 1996).

Po jídle rotavirus přežívá v kyselém prostředí žaludku. K replikaci dochází po adsorpci na diferencované epiteliální buňky, které pokrývají střevní buňky na vrcholech

klků tenkého střeva (obr.6). Receptorem viru je betagalaktosidáza, což je enzym štěpící disacharidy a porucha její funkce hraje v patogenezi onemocnění velmi významnou roli. Cukerná složka potravy totiž zůstává nerozštěpena a dostává se až do tlustého střeva, kde disacharidy teprve začnou být štěpeny bakteriemi. Vznikající plyn pak rozpíná tlusté střevo a dochází k poruše vstřebávání vody a ztrátě iontů, což má za následek průjem a dehydrataci (Votava, 2003).

Zhruba 8 hodin po infekci se v buňce objevují cytoplasmatické inkluze, které obsahují nově syntetizované proteiny a RNA. Během onemocnění se může uvolnit až  $10^{10}$  virových částic na gram stolice. Studie tenkého střeva, buď z experimentálně nakažených zvířat, nebo ze vzorků z biopsie od dětí, ukazují zkrácení a oslabení mikrokfků a infiltraci mononukleárních buněk především do lamina propria (Murray, 2009).

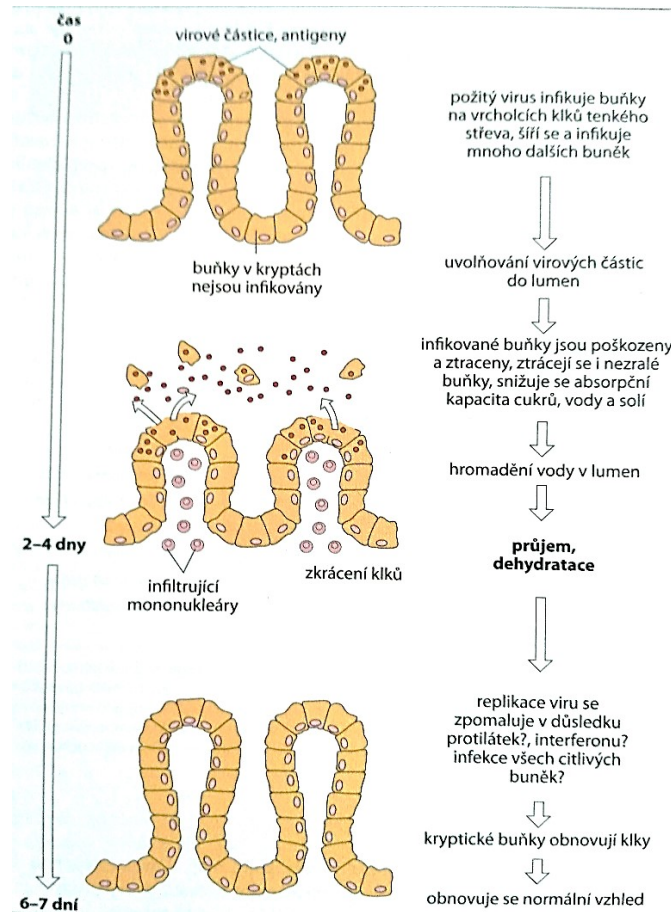


**Obrázek 6 Histopatologické snímky duodena infikovaného rotaviry 48 hodin po infekci.**

- a)** Virus převážně infikuje enterocyty ve střední a horní části klků, indikace provedena imunofluorescenčním označením virového proteinu
- b)** Patrná vakuolizace enterocytů ve střední a horní části klků, kryptické buňky nejsou ovlivněny
- zdroj: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5858916/figure/F5/>

Vylučování virových částic obvykle trvá u jinak zdravých pacientů od 2 do 12 dní, toto období může být prodlouženo u těch, kteří mají špatnou výživu (Brooks, 2013).

Důležitou roli hraje protein NSP4 rotaviru, který působí podobně jako toxin podporující influx vápenatých iontů do enterocytů a způsobující uvolnění nervových aktivátorů. Aktivátory podněcují neuronální změny absorpce vody. Ztráta vody a elektrolytů může vést k těžké dehydrataci a někdy dokonce ke smrti, pokud následná léčba nezahrnuje hydrataci a výměnu elektrolytů (Murray, 2009).



Obrázek 7 *Patogeneze rotavirových průjmů.*

zdroj: Goering, 2016

Onemocnění s klinickými příznaky i asymptomatické infekce způsobují různé sérotypy. Bylo zjištěno, že dřívější infekce jedním sérotypem nechrání před další infekcí a průjmovým onemocněním vyvolaným jiným sérotypem (Greenwood, 1999).

Za uzdravení z rotavirové infekce odpovídají faktory vrozené i získané odolnosti. Předpokládá se náhrada zralých buněk na povrchu klků buňkami méně diferencovanými a méně vnímavými, dále pak zrychlená střevní peristaltika a tvorba interferonu. Obrovský význam v uzdravení mají specifický IgA a cytotoxické

lymfocyty. Studie ukázaly, že u dětí s imunodeficiencí přetrvávají příznaky onemocnění a průjem se stává chronickým (Votava, 2003).

### **6.2.6 Imunita**

Po onemocnění vzniká krátkodobá typově až skupinově specifická imunita, což znamená, že se dítě může v další sezóně opět nakazit a někdy dokonce i onemocnět znovu. Imunita vyžaduje přítomnost protilátek, primárně imunoglobulinu IgA v lumen střeva, které mohou však po několika měsících vymizet. Protilátky proti VP7 a VP4 neutralizují virus. Krátká inkubační doba onemocnění nedovoluje, aby se při opakované infekci včas aktivovaly paměťové buňky. Nicméně opakované infekce bývají mírné až asymptomatické. Při nepřítomnosti protilátek inokulace i malého množství viru způsobuje infekci a průjem. Infekce u kojenců a malých dětí je obecně symptomatická, zatímco u dospělých je obvykle asymptomatická (Votava, 2003, Murray, 2009).

### **6.2.7 Klinický obraz**

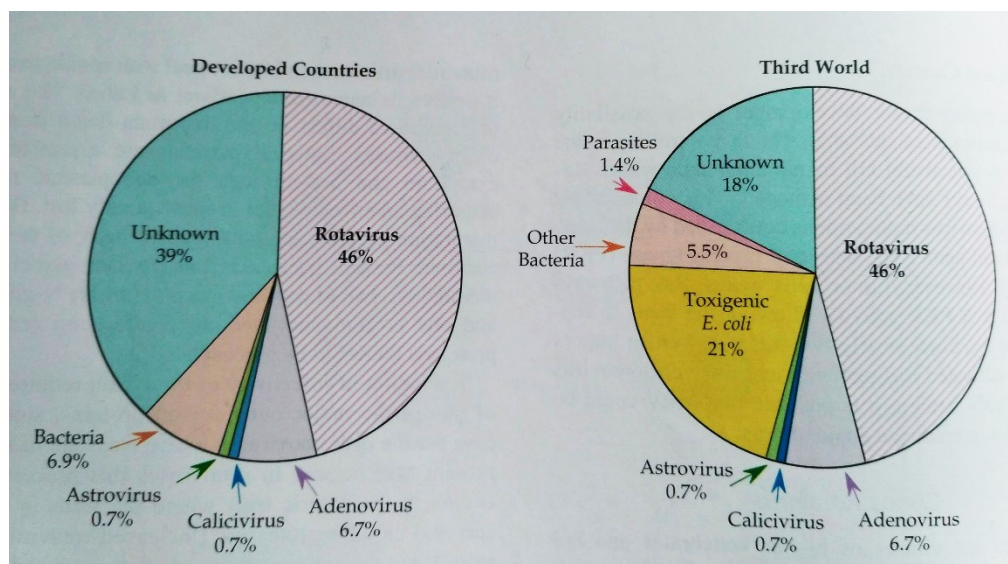
Rotaviry vyvolávají akutní hořčnaté gastroenteritidy. Příznaky infekce se po krátké jednodenní až dvoudenní inkubační době objevují zcela náhle. Většina osob, zejména dětí, trpí intenzivním průjemem a zvrací. Tento stav trvá přibližně 2–6 dní. Při onemocnění se někdy vyskytují také příznaky respiračního onemocnění, rotaviry se ale v respiračním traktu nemnoží. Často onemocnění začíná faryngitidou. Mezi extraintestinální projevy lze poměrně výjimečně zařadit encefalitidy, časté je zvýšení aminotransferáz, což jsou enzymy katalyzující přenos aminoskupiny z aminokyseliny na ketoskupinu a mající tak významnou roli při syntéze a odbourávání aminokyselin. Klinický průběh je v širokém rozmezí od mírnějšího po těžší, a to v závislosti na kmeni, který infekci vyvolal. Odhaduje se, že asi polovina všech průjemových onemocnění, která vyžadují hospitalizaci, je způsobeno rotaviry (Greenwood, 1999, Göpfertová, 2013).

Infekce byla několikrát prokázána také u starších dětí a i u dospělých, u kterých je však většinou nemá. Jak už bylo naznačeno, zvláště těžce a dlouho probíhá onemocnění u dětí trpících imunodeficitem. Jestliže je dítě podvyživené, může infekce ohrozit i život pacienta. V zemích třetího světa umírá na průjemové onemocnění

každoročně asi 5 miliónů dětí do dvou let života, rotaviry k této bilanci významně přispívají (Greenwood, 1999).

### 6.2.8 Epidemiologie

Jak bylo výše řečeno rotaviry, zejména skupiny A, jsou jedním z nejdůležitějších celosvětových příčin způsobujících akutní gastroenteritidu u malých dětí. Problémem je zejména v rozvojových zemích. V zemích s vysokou proočkovaností (Belgie, USA, Rakousko, Finsko) došlo k prokazatelnému poklesu rotavirových infekcí, a dokonce i k celkovému snížení počtu průjmových onemocnění. Vyspělé státy mají velkou morbiditu (nemocnost), avšak nízkou míru mortality (úmrtnosti). Okolo 50 % případů akutní gastroenteritidy u hospitalizovaných dětí na celém světě je způsobeno rotaviry (obr.8) (Strauss, 2008).



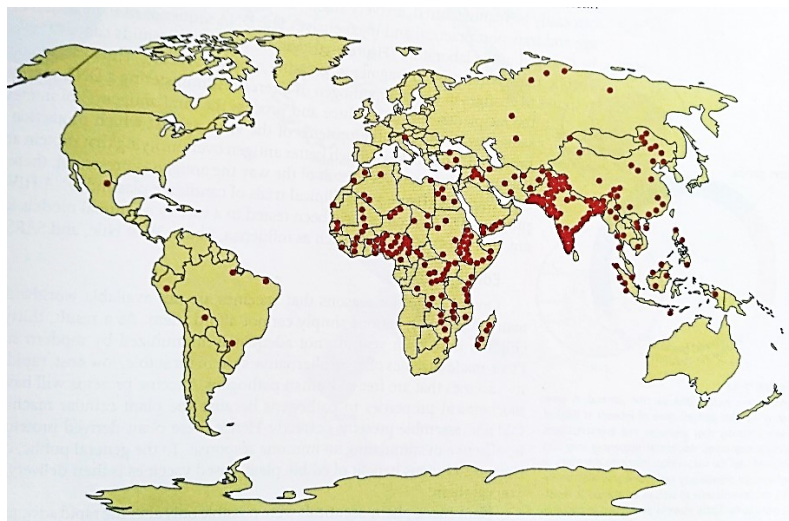
Obrázek 8 Procentuální zastoupení různých mikroorganismů jako původců průjmových onemocnění v rozvinutých státech (vlevo) a v zemích třetího světa (vpravo)

zdroj: Strauss, 2008

Podle SZÚ bylo v České republice v roce 2010 hlášeno celkem 3 168 pacientů trpících gastroenteritidou. V roce 2011 bylo zaznamenáno 3 199 případů, v roce 2012 bylo 2 634, v roce 2013 2 748, v roce 2014 2 843, v roce 2015 3 229, v roce 2016 2 991 a v roce 2017 2 270 případů. Nejvíce lidí trpících gastroenteritidou bylo tedy v roce 2015. V loňském roce 2018 bylo nahlášeno 2448 pacientů s gastroenteritidou (Anonymous, 2019).



I přes zavedení očkování proti rotavirům v celém světě před více než deseti lety způsobují rotavirové infekce každoročně více než 200 000 úmrtí (obr. 9), většinou v rozvojových zemích (Crawford, 2017).



**Obrázek 9 Mapa celosvětových úmrtí na rotavirovou infekci**

*Jedna tečka znázorňuje 1000 úmrtí.*

*zdroj: Shors, 2009*

Rotavirové infekce v ČR obvykle převládají během zimní sezóny (od prosince do dubna). Úmrtí jsou v naší republice výjimečná. Symptomatické infekce jsou přenášeny fekálně-orální cestou a jsou nejčastější u dětí ve věku od 6 měsíců do 4 let. (Brooks, 2013; Göpfertová, 2013).

Existuje však řada nepřímých důkazů, které svědčí i o možnosti přenosu nákazy cestou respirační. Protilátky mohou rychle získat i některé děti v rozvinutých zemích a v rodinách s vysokou úrovní hygieny, u části těchto pacientů jsou přítomny i respirační příznaky (Votava, 2003).

Snadný přenos viru je způsoben uvolněním ohromného množství virionů v akutní fázi infekce. Maximální uvolňování virů probíhá mezi 2 až 5 dnem od začátku průjmu, toto období se může projevovat asymptomaticky. Déletrvající hromadná onemocnění se vysvětlují schopností viru přežít po určitou dobu mimo organismus. Často vznikají tzv. nozokomiální infekce. Tento se virus dobře zachycuje na nábytku, hračkách, nebo na rukou a to z důvodu vysoké odolnosti proti vysušení. Ohniska infekce se nacházejí v předškolních zařízeních, ve školních budovách a u hospitalizovaných dětí (Greenwood, 1999; Murray, 2009).

Část infekcí proběhne asymptomaticky, protože už ve věku 3 let má 90 % dětí proti rotavirům protilátky. U dospělých probíhá infekce zpravidla vždy asymptomaticky, byly však popsány i epidemie rotavirových průjmů v geriatrických zařízeních. Infekce u novorozenců někdy probíhá bez příznaků, souvislost se hledá v ochranném vlivu mateřských protilátek.

Rotaviry skupiny B byly popsány jako původci průjmů u dospělých v Asii, rotaviry skupiny C a dalších skupin se vyskytují jen vzácně (Votava, 2003).

### **6.2.9 Laboratorní diagnostika**

Pokus o izolaci viru se běžně neprovádí. V průběhu onemocnění jsou vylučována velká kvanta infekčních částic (až  $10^{10}$  virových částic na gram stolice). Diagnostika je proto založena nejčastěji na přímém důkazu viru ve stolici. Je možné použít vyšetření elektronovým mikroskopem nebo stanovení virových antigenů metodou ELISA. Nejpraktičtější a nejrychlejší je průkaz aglutinací latexových partikulí pokrytých specifickými anti-rotavirovými protilátkami nebo imunochromatografickými testy. Sérologické vyšetření párových sér na přítomnost antirotavirových protilátek se provádí běžnými technikami, nejčastěji pro epidemiologické účely (Bednář, 1996).

Podskupiny a sérotyp se určují citlivějším vyšetřením ELISA s monoklonálními protilátkami. Ve stolici je většinou dostatek virionů, aby se mohl určit profil RNA pomocí vyšetření PAGE. Rotaviry lze také izolovat ze sekundárních ledvinných buněk primátů. Tato metoda je však pracná. K dosažení dobrého výsledku se do kultivačního média přidává (v kapitole 6.2.4 zmíněný) trypsin, který usnadňuje štěpení vnějšího kapsidového povlaku (Greenwood, 1999).

Technikou ELISA lze rovněž prokazovat protilátky, které jsou při první infekci přítomny ve třídě IgM, při reinfekci ve třídě IgA (Votava, 2003).

Nejcitlivější, ale poměrně značně finančně a časově náročnou metodou je genotypování rotavirové nukleové kyseliny ze vzorků stolice polymerázovou řetězovou reakcí (PCR) (Brooks, 2013).



## Detekce viru elektronovou mikroskopií

Elektronová mikroskopie (EM) umožňuje identifikaci viru jeho přímou vizualizací. Morfologie některých virů je natolik charakteristická, že umožňuje jejich zařazení do virové čeledi a následné stanovení diagnózy. Tato metoda se počala uplatňovat konce 60. let při vyšetřování a vizualizaci řady patogenů, zejména pak gastrointestinálního traktu, jako byly rotaviry, kalciviry, astroviry a koronaviry. Preparáty jsou obvykle připraveny k pozorování negativním barvením (Celer, 2010).

Citlivost detekce může být zvýšena reakcí vzorku s antivirovými protilátkami, což vede k vytvoření viditelných shluků virových partikulí. Tento postup se nazývá imunoelektronová mikroskopie, technika analogická s imunofluorescencí ve světelném mikroskopu (Goering, 2016).

## ELISA (z angl. *enzyme-linked immunosorbent assay*)

Metoda ELISA využívá kombinace enzymaticky značené protilátky s adsorpcí jedné z reakčních složek na vhodný povrch, např. na dno mikrotitrační destičky. K průkazu protilátek existuje několik modifikací této metody. Pro průkaz protilátek v jednotlivých třídách imunoglobulinů je nespolehlivější metoda zachytných protilátek, při které se ze séra nejprve vychytávají všechny molekuly IgM bez ohledu na jejich protilátkovou specifitu a teprve potom se nechají reagovat s antigenem (Votava, 2001).

Při výběru enzymů vhodných pro ELISA testy platí několik zásad:

- Enzym musí mít malou molekulovou hmotnost.
- Musí být schopen vazby na protilátky a různé funkční skupiny antigenů.
- Musí být stabilní a mít vysokou enzymovou aktivitu.
- Reakční produkt enzymatické reakce musí být barevný a detekovatelný.
- Musí být snadno dostupný a co nejlevnější.

Těmto nárokům vyhovuje a je nejčastěji používána křenuvová peroxidáza a alkalická fosfatáza.

V další variantě ELISA testu se využívá vysoké vazebné afinity dvou biomolekul – avidinu a biotinu. Protilátka konjugovaná s biotinem se váže na prokazovaný antigen. Komplex antigen-protilátka je pak s vysokou citlivostí prokazován přidáním avidinu konjugovaného s enzymem. V současné době existuje

řada různých modifikací ELISA testu, jako je nepřímá, sandwich a kompetitivní ELISA (Celer, 2010).

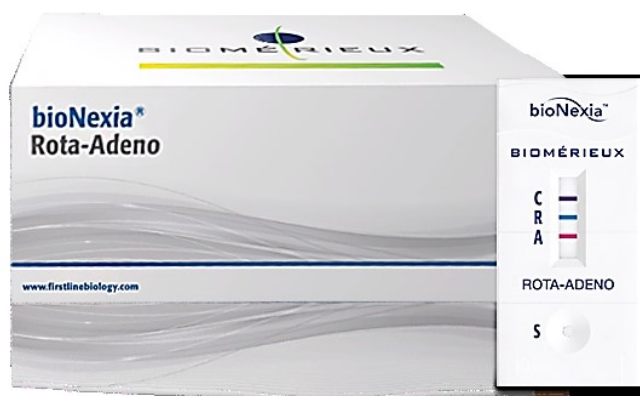
### Latexová aglutinace

Latexová aglutinace je sérologická metoda, při které se antigen nebo protilátky ve vzorku prokazují vznikem nápadné sraženiny. Antigen (v případě průkazu protilátek) nebo protilátky (v případě průkazu antigenu) jsou navázány na povrch latexové částice (Žampach, 2001).

V porovnání latexové aglutinace a PAGE s testem ELISA pro detekci lidského rotaviru ve vzorcích stolice z roku 1991 bylo testováno 145 vzorků od dětí mladších dvou let. Vzorky byly testovány na antigen rotaviru pomocí testu ELISA, latex aglutinačního testu s použitím komerčně dostupné soupravy s PAGE. Celkem 136 vzorků bylo buď pozitivní nebo negativní všemi třemi použitými testy, devět vzorků se lišilo. Pět vzorků bylo pozitivních metodou ELISA, další dva vzorky metodou latexové aglutinace a poslední dva vzorky pak metodami ELISA a latexové aglutinace, nikoliv však pomocí PAGE. Pro virový antigen tak bylo pozitivních 32 vzorků latexovou aglutinací, 28 vzorků PAGE a 35 vzorků metodou ELISA. Citlivost latexové aglutinace byla 91,4 % (32/35) a PAGE měla citlivost 80 % (28/35), příslušná specifita byla 98,18 % (108/110) a 100 % (110/110). Latexová aglutinace je však nejméně složitá, vyžaduje nejmenší množství přístrojů a poskytuje za velmi krátkou dobu výsledek. Byla tedy dokázána vysoká specifita a citlivost této metody a výsledky dobře korelovaly s metodami ELISA a PAGE (Chakravarti, 1991).

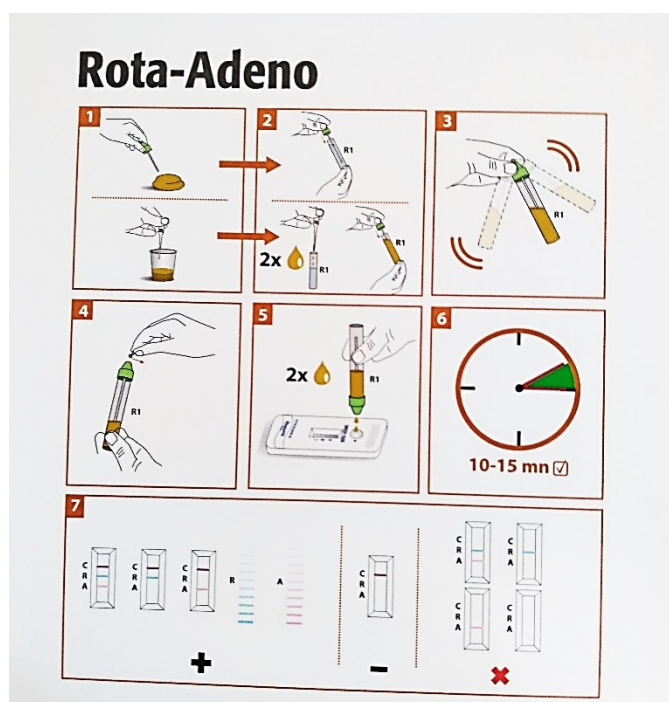
### Imunochromatografický test Rota-Adeno

Rota-adeno test (obr.10) je kvalitativní imunochromatografický test, který umožňuje současnou detekci a diferenciaci rotavirů a adenovirů ze stolice. Patří mezi nejrychlejší a nejmodernější způsoby, jak diagnostikovat virovou gastroenteritidu, protože je odlišnost virové a bakteriální gastroenteritidy velmi důležitá k zajištění správné léčby pacienta. Včasná diagnostika virové infekce totiž pomáhá zamezit zbytečnému používání antimikrobiální terapie. Postup tohoto testu (obr.11) je velice jednoduchý a výsledek je možné odečíst za pouhých 10 minut (Anonymous, 2018).



Obrázek 10 Rota-Adeno test od firmy bioNexia®

zdroj: <https://www.biomerieux-diagnostics.com/bionexia-rota-adenorapid-test>



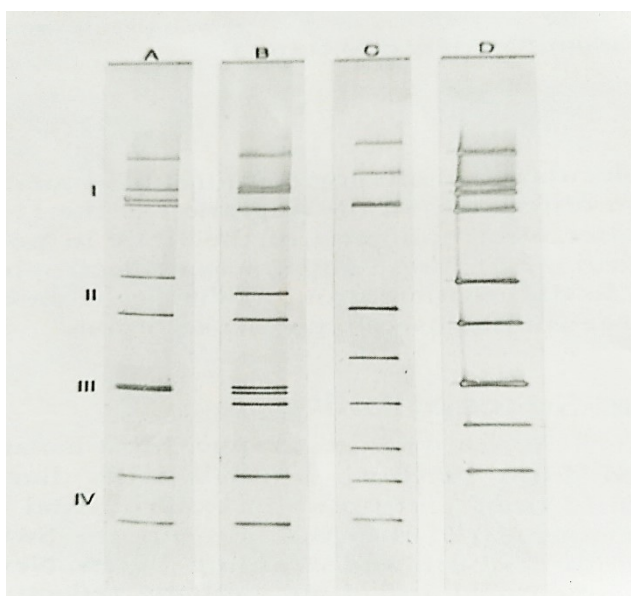
Obrázek 11 Postup Rota-Adeno testu

- 1) Sebrat 50 mg stolice pomocí aplikační tyčinky do injekční lahvičky R1. Pokud je stolice tekutá, odebrat vzorek pipetou a dát 2 kapky do lahvičky R1.
- 2) Vzorek vložit do injekční lahvičky R1 s obsahem ředícího pufru a pořádně uzavřít víčkem.
- 3) Pořádně protřepat.
- 4) Odlomit špičku injekční lahvičky R1.
- 5) Nakapat 2 kapky do otvoru v dolní části indikační destičky.
- 6) Počkat 10-15 minut a odečíst výsledek.
- 7) Výsledek je negativní, pokud se objeví kontrolní jeden proužek C. Pozitivní v případě, kdy se objeví minimálně 2 proužky, při čemž 1 z nich musí být kontrolní. Test se považuje za nezdařilý, pokud se vůbec neobjeví kontrolní proužek C.

zdroj: Laskavě poskytnuto při praxi v laboratoři klinické mikrobiologie v Trutnově.

## SDS-PAGE

Polyakrylamidová gelová elektroforéza je výkonný nástroj pro analýzu vzorků RNA. Denaturační PAGE poskytuje informace o složení vzorku a strukturální příslušnosti jednotlivých druhů RNA. Nedenaturující elektroforéza umožňuje separaci alternativně složených molekul RNA. RNA může být v gelu analyzována různými způsoby v závislosti na povaze použitého detekčního činidla. Molekuly mohou být barveny různými barvivy, například toluidinovou modří, SYBR green barvou nebo ethidiumbromidem. Radioaktivně značené molekuly jsou vizualizovány autoradiografií a fluorescenčně značené molekuly pomocí speciálního fluorescenčního skeneru. Gely pro analytickou PAGE se používají nejčastěji o tloušťce 0,4 až 1,5 mm (Petrov, 2013).



*Obrázek 12 Elektroforetické profily segmentů rotavirových RNA různých živočichů. a-opičí virus skupiny A, b-lidský virus skupiny A, c-virus skupiny B způsobující průjmy u dospělých, d-králičí virus skupiny A zdroj: Brooks, 2013*

## RT-PCR (z angl. reverse transcription polymerase chain reaction)

Při RT-PCR se používá jako výchozí RNA pro *in vitro* amplifikaci nukleových kyselin. Objev virové reverzní transkriptázy na počátku sedmdesátých let definitivně umožnil RT-PCR. Reverzní transkriptáza je vlastně RNA-dependentní DNA polymeráza, která katalyzuje syntézu DNA podle templátu RNA. Konečným produktem je komplementární DNA, označována jako cDNA, která na rozdíl od RNA nepodléhá

degradaci RNázou. V RT-PCR se výchozí RNA degraduje, produkuje se dsDNA a amplifikace probíhá obvyklým způsobem (Farkas, 2009).

### **6.2.10 Terapie**

Povaha rotavirů a jejich rezistence způsobuje obtížnosti v omezování šíření viru. Hospitalizovaní pacienti musí být izolováni od ostatních, aby se tak omezilo dalšího šíření infekce, zejména mezi pacienty s vnímavými vadami.

Pro rotavirovou infekci jako takovou neexistuje žádná specifická antivirová léčba. Morbidita a mortalita spojená s rotavirovým průjmem je výsledkem masivní dehydratace a nerovnováhy elektrolytů v těle. Účelem podpůrné terapie je proto nahrazení tekutin tak, aby byly v těle korigovány objemy krve, důležitá je rovněž korekce acidobazické rovnováhy a množství iontů (Murray, 2009).

V ambulantní léčbě jsou perorální tekutiny zásadní pro osoby s mírným a středně závažným onemocněním. Pro kojence je podporován nadbytečný příjem mateřského mléka. U kojenců, u kterých není možnost mateřského mléka, se podává komerčně připravený roztok vody, cukru a elektrolytů. Starším batolatům a mladším dětem může být rovněž komerčně připravená tekutina, která musí odpovídat jejich věku. Jakmile se ustanoví střevní tolerance na tyto tekutiny, je vhodné opětovné zavedení například kravského mléka s plným obsahem. Nejsou naopak tolerovány potraviny s vysokým obsahem tuku. Ovoce, zelenina, libové maso a jogurty jsou obvykle pro pacienty velmi přijatelné potraviny (Mersch, 2018).

### **6.2.11 Prevence**

Vhledem k fekálně-orálnímu přenosu je velmi významným kontrolním opatřením zacházet s odpady a dbát na osobní hygienu, zejména na mytí rukou. Další účinnou prevencí je důsledná individualizace hraček, léčiv, zdravotnických pomůcek nebo ochranných prostředků (Göpfertová, 2013).

Protože rotavirové infekce mohou být velmi závažné, v celém světě se stále vyvíjejí snahy o vývoj vakcín. Takové vakcíny byly zaměřeny na novorozence a kojence, u kterých je onemocnění nejčastější. V roce 1998 byla objevena nová orální živá atenuovaná rotavirová vakcína RotaShield® založená na opičích rotavirech, která

dostala ve Spojených státech licenci. Při rozšířeném použití právě ve Spojených státech se zjistilo, že u očkovaných dětí došlo ke vchlípení střeva, odborně označováno jako intususcepcie. Vakcína proto musela být následně stažena (Strauss, 2008; Brooks, 2013).

Problémy spojené s vakcínou RotaShield® popsal Shors ve svém díle. Do července 1999 byla ve Spojených státech podána nejméně jedna dávka vakcíny více než 600 000 dětem. V říjnu 1999 bylo použití vakcíny pozastaveno, protože se po podání vakcíny u 15 dětí vyvinula zmíněná intususcepcie, kdy se jedna část střeva sklouzla do dalšího, podobně jako kusy dalekohledu při skládání do sebe. Vytvořila se tak zřetelná překážka ve střevě, stěny střev se navzájem přitlačovaly. To vedlo k bolestivým otokům a ke snížení průtoku krve do střev. Náklady na stažení škodlivé vakcíny z trhu činily asi 80 milionů dolarů. Různé společnosti zabývající se vakcinací v tomhle případě viděly, jak mohou vakcíny poškodit zdraví dětí (Shors, 2009).

V roce 2006 byla ve Spojených státech udělena další licence na novou perorální živou atenuovanou pentavalentní vakcínu Rotateq® od společnosti Merck Sharp & Dohme Corp a v roce 2008 byla následně udělena licence na druhou z dnes používaných vakcín, a to na perorální živou atenuovanou monovalentní vakcínu Rotarix® od společnosti Glaxo Smith Kline. Obě vakcíny (obr.13) jsou velice účinné a jejich podávání není spojeno s intususcepcií. Bezpečná a účinná vakcína stále zůstává nejlepší nadějí na snížení celosvětového výskytu rotavirových infekcí. Tyto vakcíny jsou důležité pro použití v rozvojových zemích, protože mohou být podávány ústně (Strauss, 2008; Brooks, 2013).



**Obrázek 13 Vakcíny Rotateq® (vlevo) a Rotarix® (vpravo)**

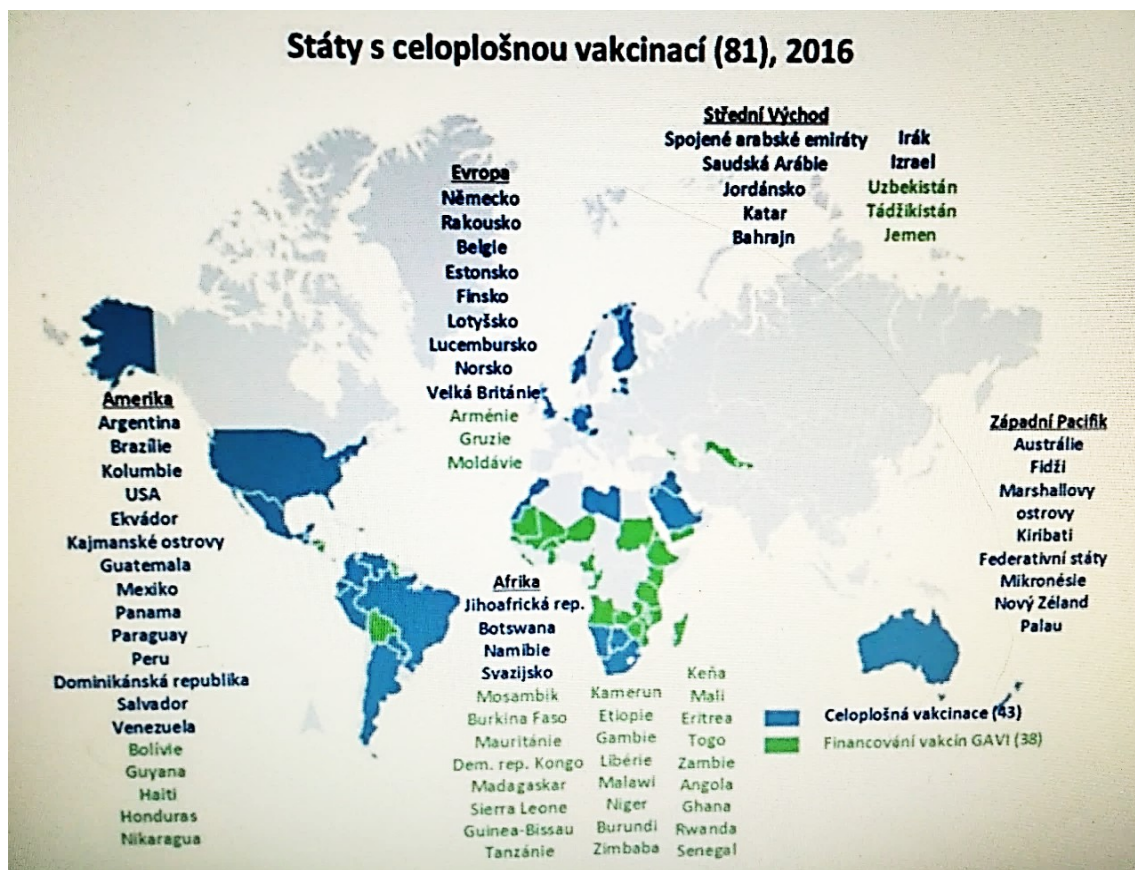
*zdroje: <https://www.tradeindia.com/fp1678790/Rotateq.html>*

*<https://www.mims.co.uk/rotavirus-vaccination-programme-launched/infections-and-infestations/article/1187233>*

Přípravek Rotateq® se v ČR od 1. 1. 2018 podává u dětí ve třech dávkách, první ve věku od 6 týdnů, druhá za měsíc po dávce první a třetí za další měsíc. Rotarix® se podává pouze ve dvou dávkách ve stejném věku jako první dvě dávky přípravku Rotateq®. Jak bylo řečeno, obě vakcíny se podávají ústně. Ani jedna vakcína není určená k očkování dospělých. Nežádoucí účinky se vyskytují pouze u malého množství pacientů, patří mezi ně bolest břicha, nadýmání, podrážděnost a průjem. Doporučuje se, aby pacienti dostávali stejný očkovací přípravek v celé imunizační sérii. (Anonymous, 2018; Mersch, 2018).

Na podkladě doporučení WHO některé státy zařadily vakcinaci proti rotavirovým onemocněním do národních imunizačních schémat. V České republice spadá vakcína do států a pojišťovny plošně nehrazeného očkování. Proočkovanost kojenců se v letech 2008-2009 pohybovala v desetinách procent, v roce 2010 se procento očkovaných dětí zvýšilo asi na 6 %, v roce 2013 asi na 15 %, tento trend zvyšování neustále pokračuje dále.

Do ledna 2015 zařadilo rotavirové vakcíny do národních očkovacích programů 75 států, k roku 2016 (obr.14) už dokonce států 81. Zavádění plošné vakcinace v Evropě je v porovnání se světem značně pomalé. Důvody lze zřejmě hledat v lepších socioekonomických podmínkách, protože úmrtí dítěte na rotavirovou infekci je v evropských státech vcelku vzácné (Kosina, 2008; Kračmarová, 2015).



Obrázek 14 Přehled států s celoplošnou vakcinací k roku 2016 (celkem 81 států)

zdroj: Moutelíková, 2017



## 7. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

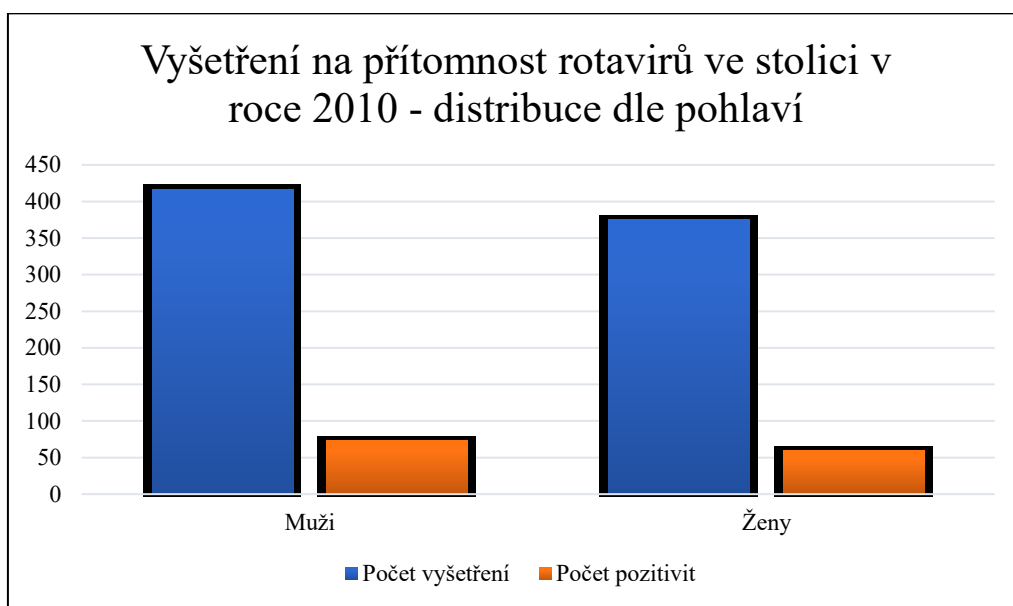
Experimentální část této bakalářské práce se věnuje studiu četnosti rotavirových vyšetření a onemocnění ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové. Statisticky zpracována byla data obsahující výsledky vyšetření stolice na přítomnost rotavirového antigenu od 8135 pacientů získaná z laboratorního informačního systému (LIS) Ústavu klinické mikrobiologie ve FNHK Hradec Králové za období let 2010 - 2017. Data byla zpracována, upravena a dále vyhodnocena pomocí MS Excel s využitím různých předpřipravených funkcí, možnosti filtrování jednotlivých dat podle data vyšetření, věku, pohlaví, diagnostiky a výsledků. Grafy byly rovněž vytvořeny s dostupnými funkcemi v Excelu.

Zpracování dat je zaměřeno nejprve na epidemiologii rotavirů v jednotlivých zmíněných letech, následně je pak zhodnoceno období 2010-2017 jako celek a porovnány roky mezi sebou.

## 8. VÝSLEDKY

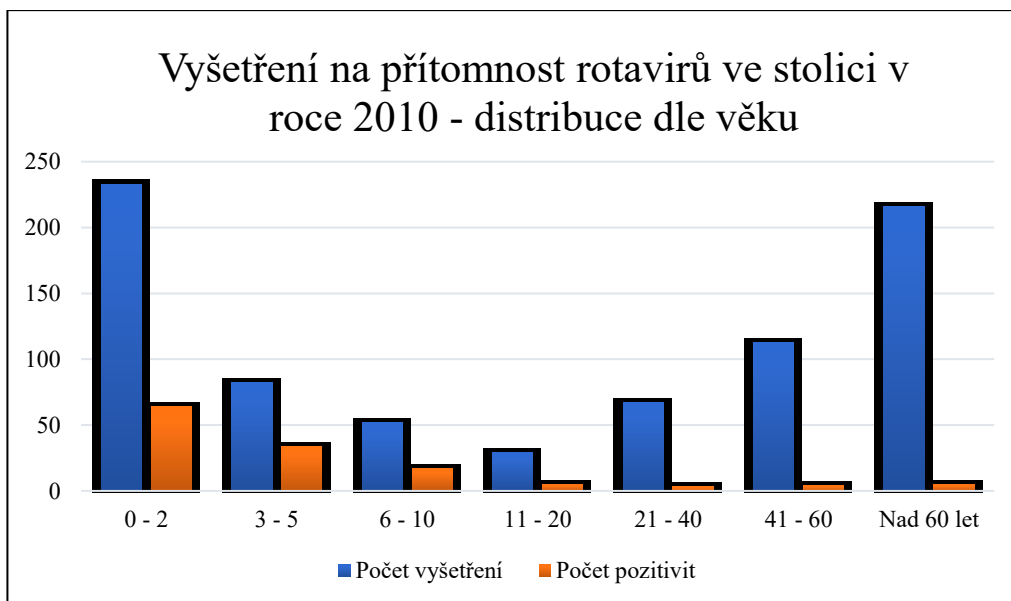
### 8.1 Rok 2010

V 2010 bylo vyšetřeno 792 vzorků stolice od pacientů s možným výskytem rotavirového onemocnění. Mužů bylo 417 (52,7 %) a žen 375 (47,3 %). Počet pozitivních nálezů na rotaviry byl 132, tedy 18,1 % z celkového počtu vyšetřených vzorků. Více pozitivit bylo zjištěno u mužů a to 73 (55,3 %), u žen pak 59 (44,7 %) (graf 1).



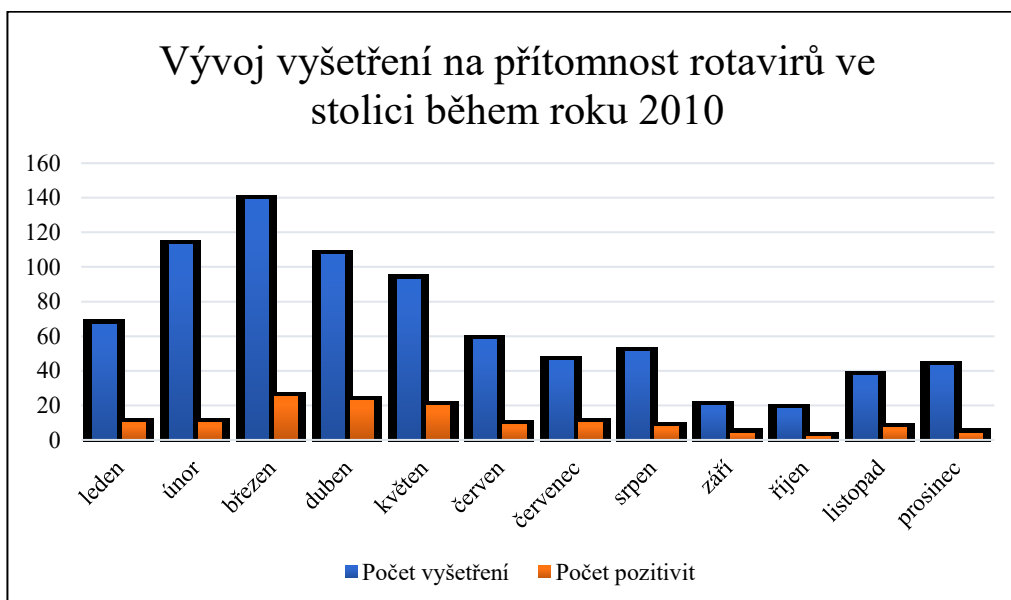
*Graf 1 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2010 - distribuce dle pohlaví pacientů*

Nejvíce vyšetření, 233 (32 %), bylo provedeno u dětí ve věku do 2 let, kde bylo taky nejvíce pozitivit a to 64, což představuje 48,5 % z celkového počtu pozitivit. Následují pacienti ve věku více jak 60 let, u těch bylo provedeno 216 vyšetření (29,6 %), avšak zjištěno bylo jen 5 pozitivních vzorků. Co do počtu pozitivit byly s 34 pozitivními vzorky na druhém místě děti od 3 do 5 let, za nimi s 17 pozitivními vzorky děti od 6 do 10 let. V tomto roce bylo provedeno dost vyšetření i u dalších věkových skupin, což je vidět v grafu 2, pozitivita nálezu u těchto pacientů však nebyla častá.



*Graf 2 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2010 - distribuce dle věku pacientů*

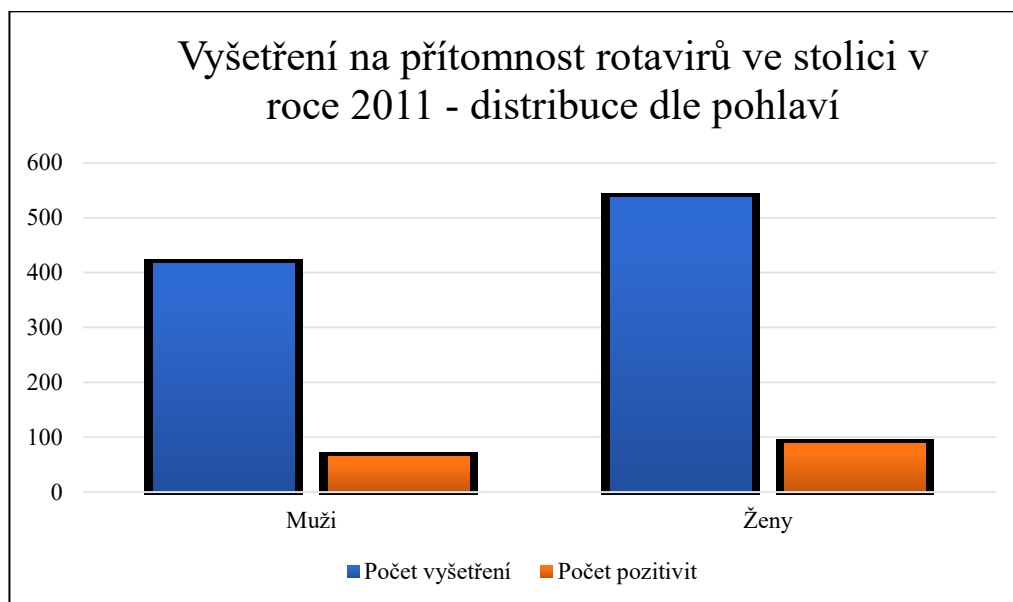
Během roku 2010 bylo provedeno nejvíce vyšetření v období od února do května s maximem v březnu (139), kde bylo rovněž zjištěno největší množství pozitivit (25). Naopak minimum vyšetření a zároveň pozitivních vzorků bylo od září do prosince. V září bylo dokonce jen 18 vyšetření s nálezem pouhých 2 pozitivních vzorků (graf 3).



*Graf 3 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2010*

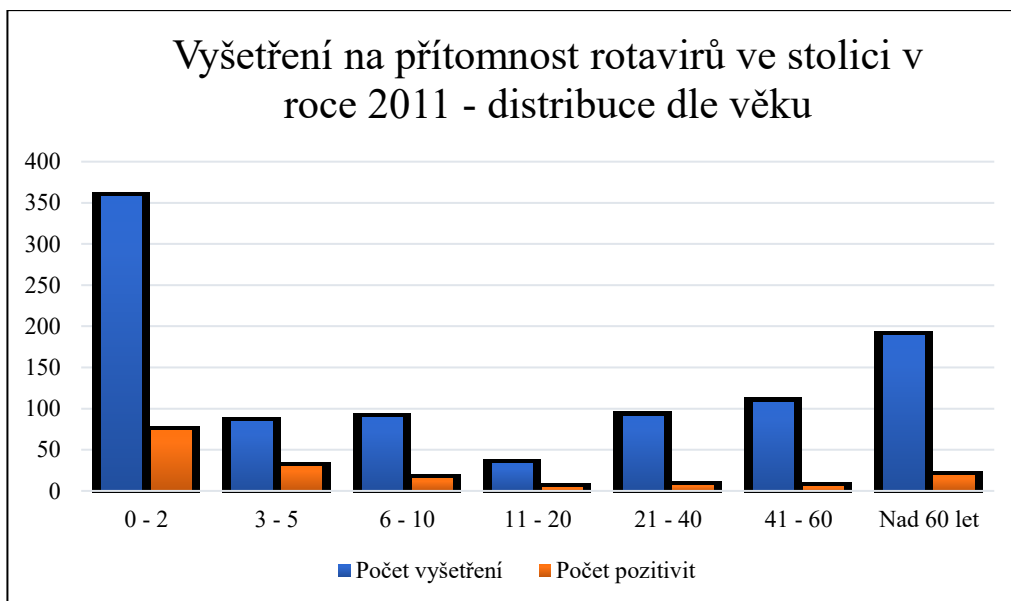
## 8.2 Rok 2011

V roce 2011 bylo provedeno 952 vyšetření vzorků stolice na přítomnost rotavirů, 153 (16,1 %) vzorků bylo pozitivních. Více pacientů, 536 (56,3 %), bylo ženského pohlaví, mužů pak 416 (43,7 %), čemuž odpovídá i převažující počet pozitivit. U žen bylo pozitivních vzorků 88 (57,5 %) a u mužů 65 (42,5 %) (graf 4).



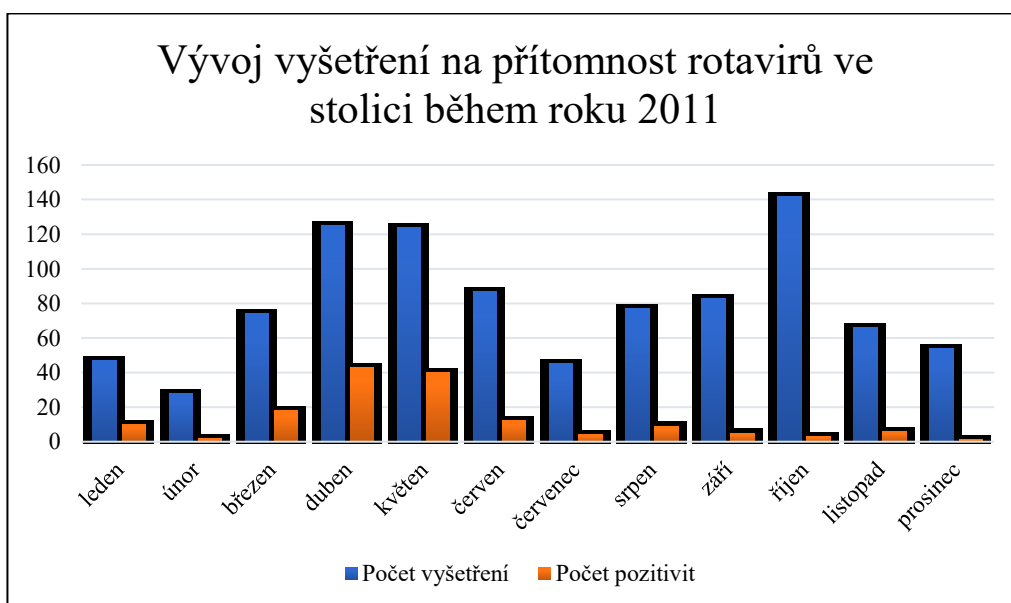
*Graf 4 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2011 - distribuce dle pohlaví pacientů*

Celkem 358 (37,6 %) vyšetření stolice bylo u dětí do 2 let s 73 pozitivními vzorky, tedy 47,7 % z počtu pozitivit. Následují děti od 3 do 5 let, kteří však měly jen 84 (8,8 %) vzorků a nalezeno bylo 30 pozitivních. Velké množství vzorků bylo rovněž u starších pacientů nad 60 let a to 189 (19,9 %). V porovnání s předcházejícím rokem bylo v této kategorii nalezeno více pozitivit (19). Ostatní věkové skupiny jsou zastoupeny podobně jako v roce 2010 (graf 5).



*Graf 5 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2011 - distribuce dle věku pacientů*

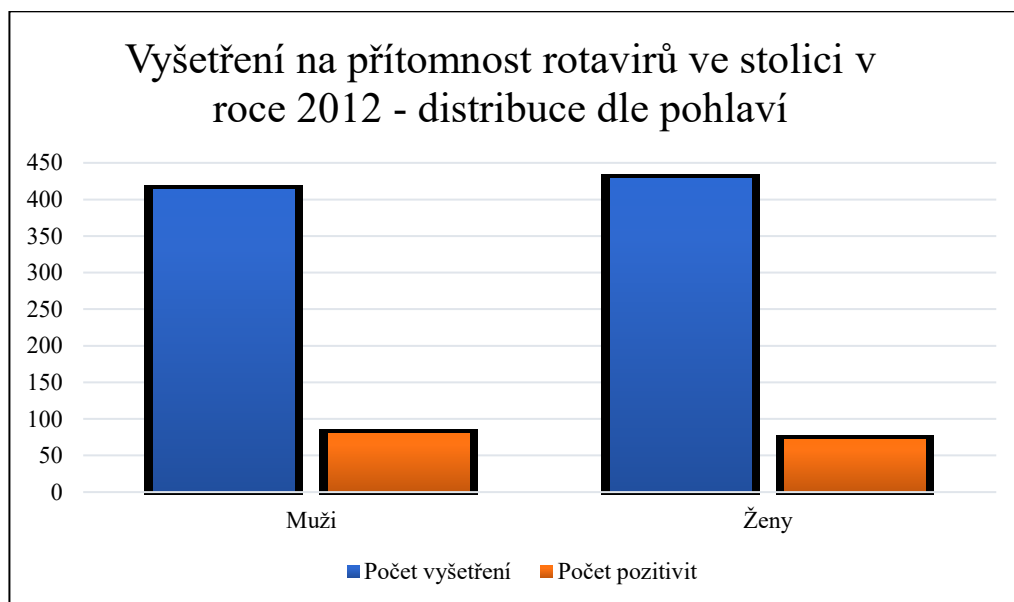
Na rozdíl od předcházejícího roku počet vyšetření během roku více kolísá. Maximum vyšetření, 142, bylo v říjnu, z tohoto velkého počtu vzorků byly však jen 3 vzorky pozitivní. Vzácně vyrovnané je období dubna a května, v dubnu bylo 125 vyšetření s 43 pozitivními vzorky, v květnu pak 124 s 40 pozitivitami. Minimum pacientů, pouze 1, s nákazou rotaviry bylo zaznamenáno v prosinci (graf 6).



*Graf 6 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2011*

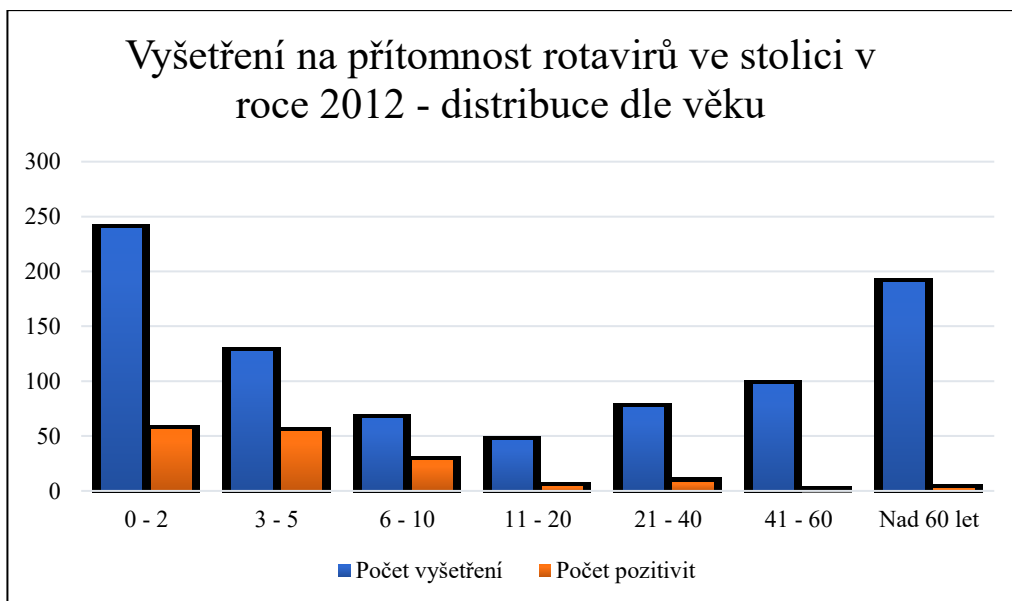
### 8.3 Rok 2012

V roce 2012 bylo vyšetřeno 841 pacientů na rotavirové onemocnění, 413 (49,1 %) mužů a 428 (50,9 %) žen. Pozitivit bylo 152 (18,1 %), 80 (52,6 %) vzorků od mužů a 72 (47,4 %) od žen. Mužů tedy bylo zastoupeno méně, avšak měli více pozitivních vzorků (graf 7).



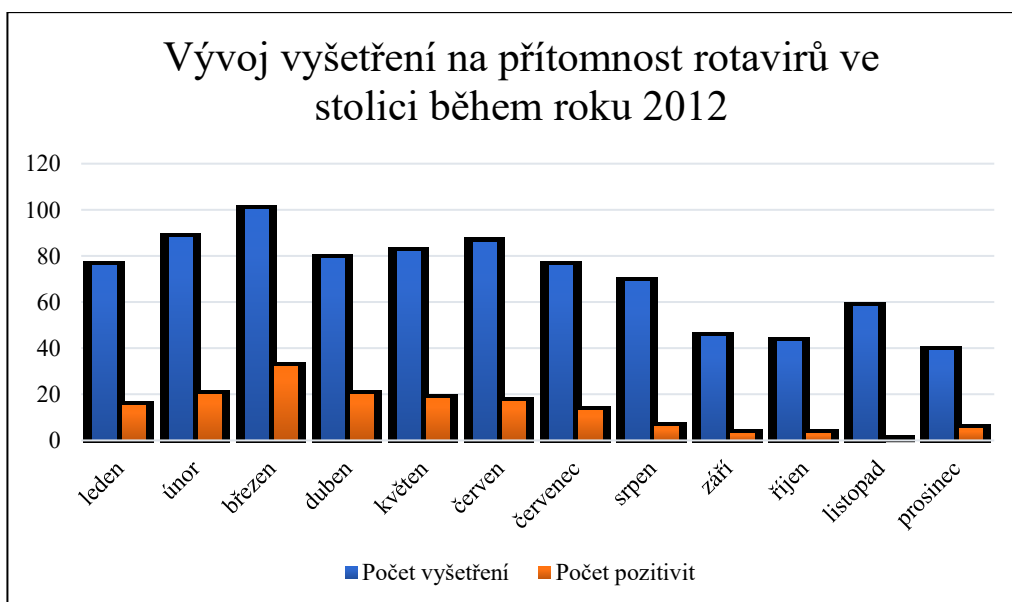
*Graf 7 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2012 - distribuce dle pohlaví pacientů*

Opět bylo nejvíce vzorků (239) od dětí do 2 let, kde bylo rovněž nalezeno maximum pozitivit a to 56 (36,8 % z počtu pozitivit). Na dalším místě jsou děti od 3 do 5 let s 127 vzorky a 54 pozitivitami (35,5 % z počtu pozitivit). Za povšimnutí stojí, že u pacientů ve věku od 41 do 60 let nebyl v tomto roce žádný pozitivní vzorek. Velké zastoupení na množství vzorků mají znovu pacienti nad 60 let, celkem 190 vzorků (graf 8).



*Graf 8 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2012 - distribuce dle věku pacientů*

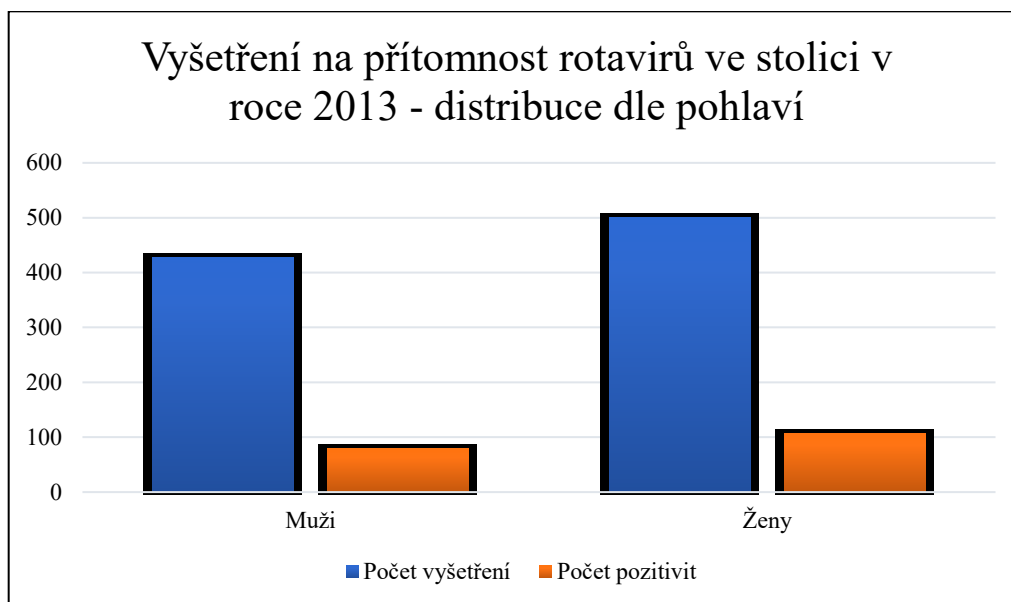
Počet vyšetření během roku 2012 byl docela konstantní, kde trochu klesl až v období od září do prosince. Maximum vyšetření, celkem 100, bylo v březnu a bylo zde nalezeno také nejvíce pozitivit (32). Minimální množství pozitivních vzorků stolice na rotaviry bylo od srpna do prosince, v listopadu dokonce nebyl žádný (graf 9).



*Graf 9 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2012*

## 8.4 Rok 2013

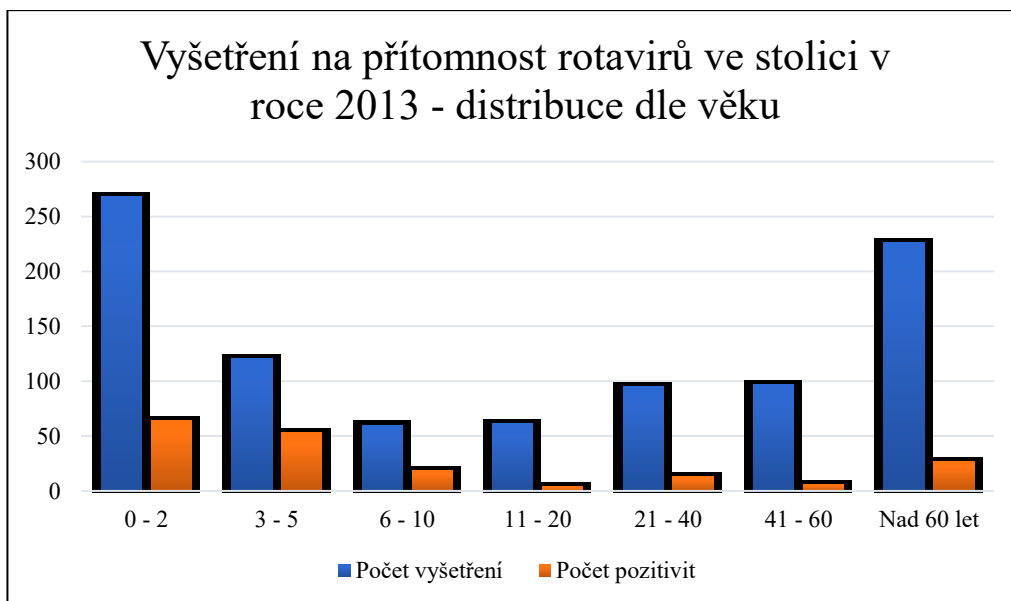
V tomto roce bylo provedeno 928 vyšetření stolice na přítomnost rotavirů, z tohoto počtu bylo 186 (20 %) vzorků pozitivních. Z celkového množství vzorků bylo 500 (53,9 %) vzorků od žen, kde se pozitivně projevilo 107 (57,5 %), a 428 (46,1 %) od mužů s pozitivními 79 (42,5 %) (graf 10).



*Graf 10 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2013 - distribuce dle pohlaví pacientů*

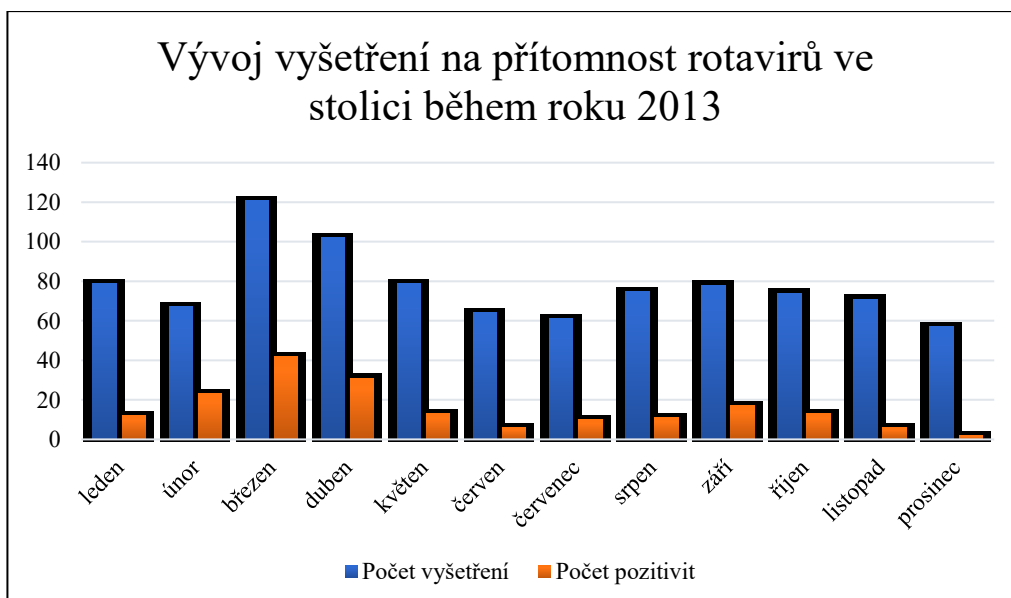
Nejvíce vyšetření (268) a rovněž pozitivit (64) bylo opět u dětí do 2 let. Následovaly děti od 3 do 5 let s 53 pozitivními vzorky ze 121 vyšetření. Velké množství bylo také u lidí starších 60 let, 27 pozitivit z 226 vyšetření. Ostatní věkově skupiny jsou zastoupené podobně jako v předcházejících letech (graf 11).





*Graf 11 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2013 - distribuce dle věku pacientů*

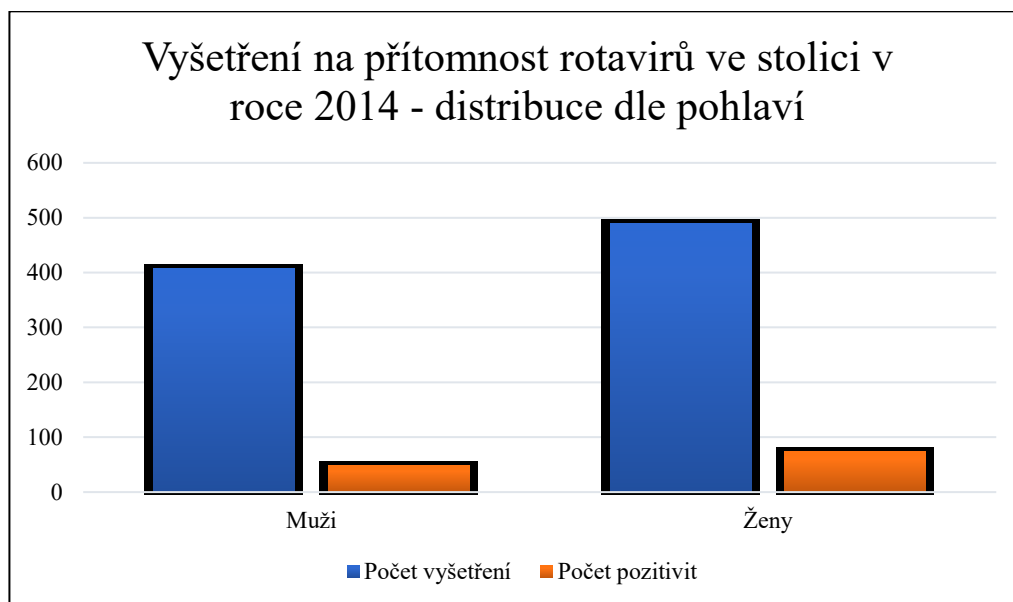
Počet vyšetření v tomto roce je skoro rovnoměrně rozdělen mezi všechny měsíce, trochu více jich bylo v březnu (121) a v dubnu (102). V těchto měsících bylo nalezeno také nejvíce pozitivit, v březnu 42 a v dubnu 31. Minimum, co do počtu vyšetření i pozitivit, bylo v červnu a v prosinci, v prosinci pouze 2 pozitivní vzorky z 57 vyšetření (graf 12).



*Graf 12 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2013*

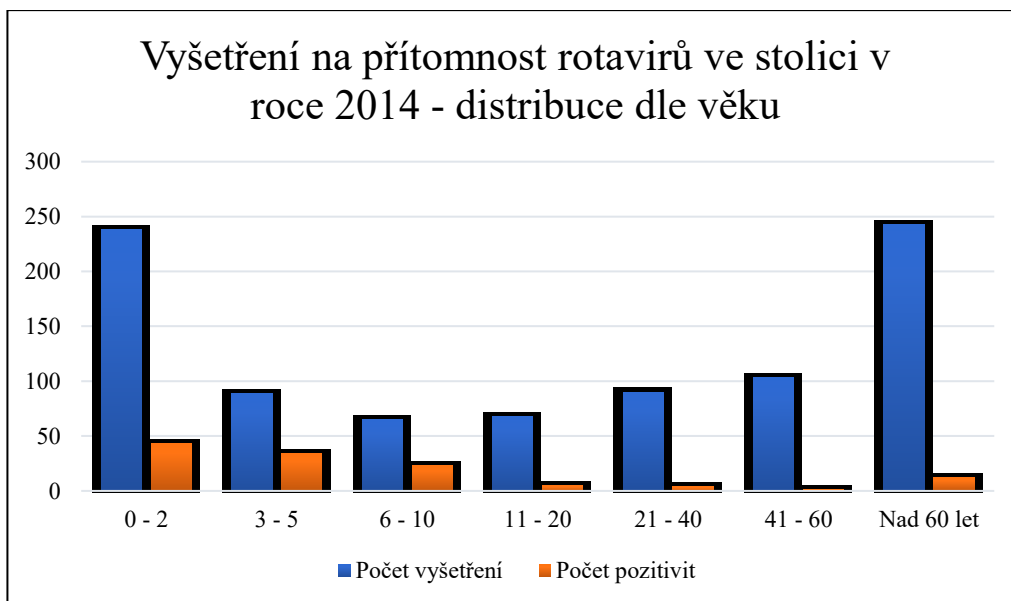
## 8.5 Rok 2014

Vyšetření na rotaviry ve stolici bylo 896, z toho 489 (54,6 %) vzorků od žen a 407 (45,4 %) od mužů. Pozitivit bylo zatím od roku 2010 nejméně a to 122 (13,6 %). Více pozitivit, celkem 74 (60,7 %), bylo nalezeno u žen než u mužů, u kterých to bylo 48 (39,3 %) (graf 13).



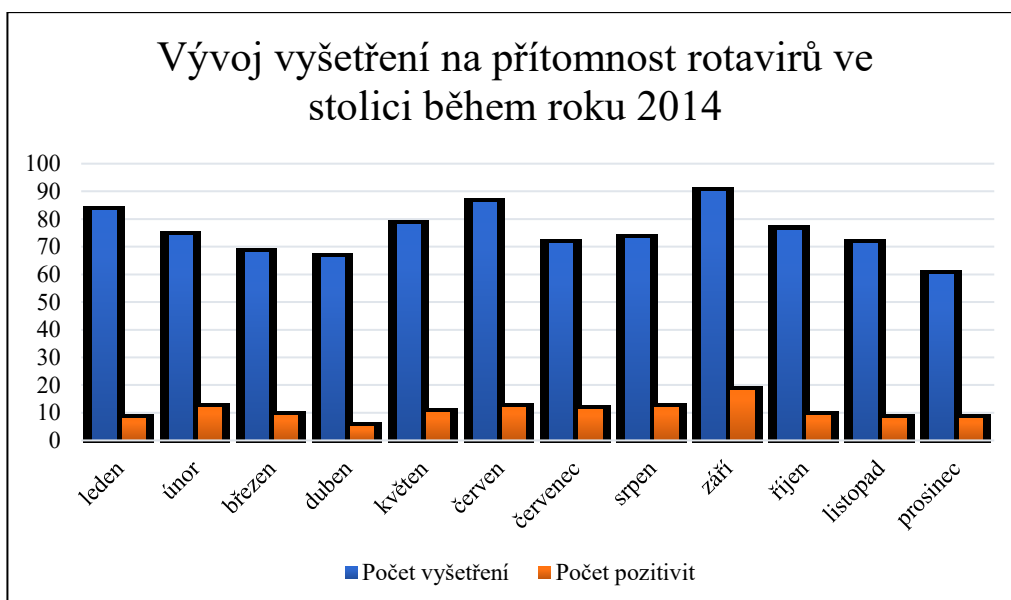
*Graf 13 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2014 - distribuce dle pohlaví pacientů*

Celkem 238 (26,6 %) vyšetření bylo u dětí do 2 let s nálezem 43 pozitivních vzorků. Na druhém místě v počtu pozitivit jsou opět děti od 3 do 5 let, z 89 bylo 34 pozitivních. U starších 60 let bylo tentokrát 243 (27,1 %) vyšetření, z toho 12 pozitivních. Za povšimnutí stojí, že ve věku 41-60 let byl jen 1 vzorek pozitivní ze 103 (graf 14).



*Graf 14 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2014 - distribuce dle věku pacientů*

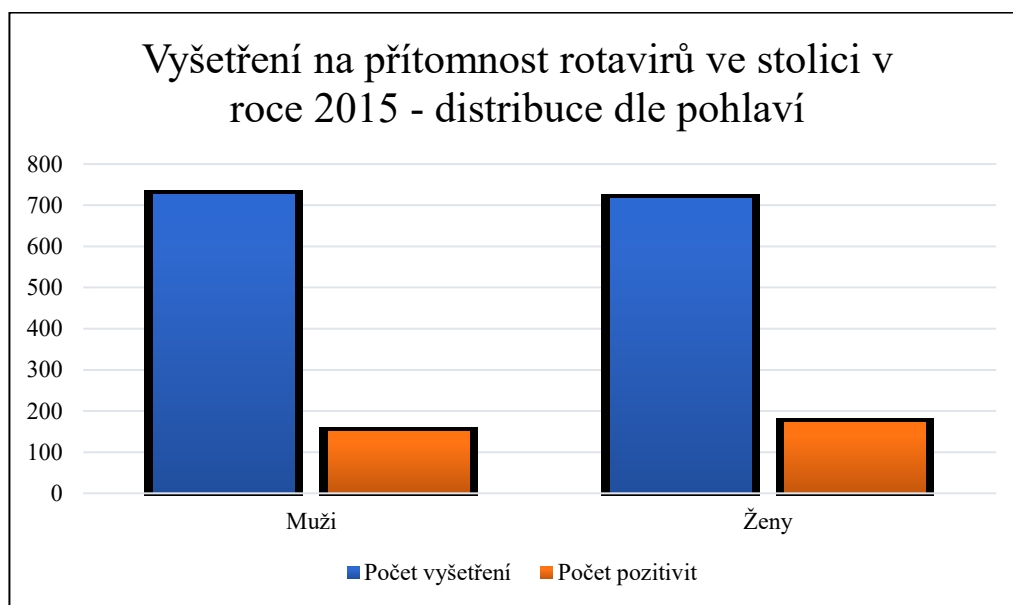
Během roku 2014 byl počet vyšetření v jednotlivých měsících ještě více vyrovnaný než v roce předcházejícím. Maximum vzorků (90) i pozitivit (18) bylo zaznamenáno vzácně v září, což rozdílné od ostatních let od roku 2010. Minimum překvapivě naopak bylo v dubnu, pouze 5 pozitivit z 66 vyšetření (graf 15).



*Graf 15 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2014*

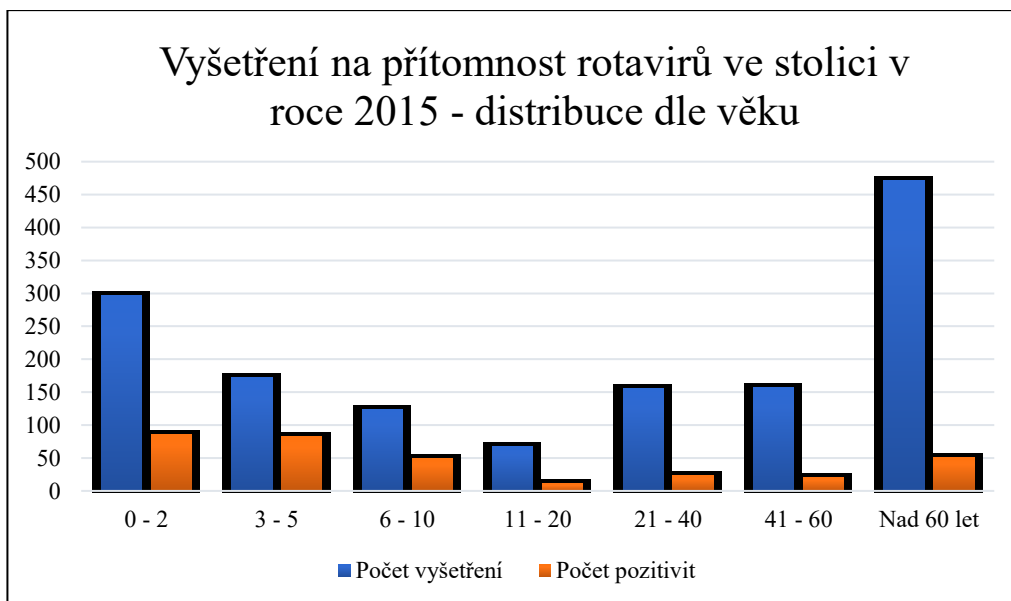
## 8.6 Rok 2015

V tomto roce bylo provedeno nejvíce vyšetření ze zkoumaného období a to celkem 1443. Rozložení mezi muže a ženy bylo velmi vyrovnané, 726 (50,3 %) vzorků od mužů a 717 (49,7 %) od žen. Vzhledem k tomuto velkému množství bylo i nejvíce pozitivit, přesně 323 (22,4 %), 150 (46,4 %) mužů a 173 (53,6 %) žen. Takže ženy měly zastoupeny méně vzorků ale více pozitivit, muži naopak (graf 16).



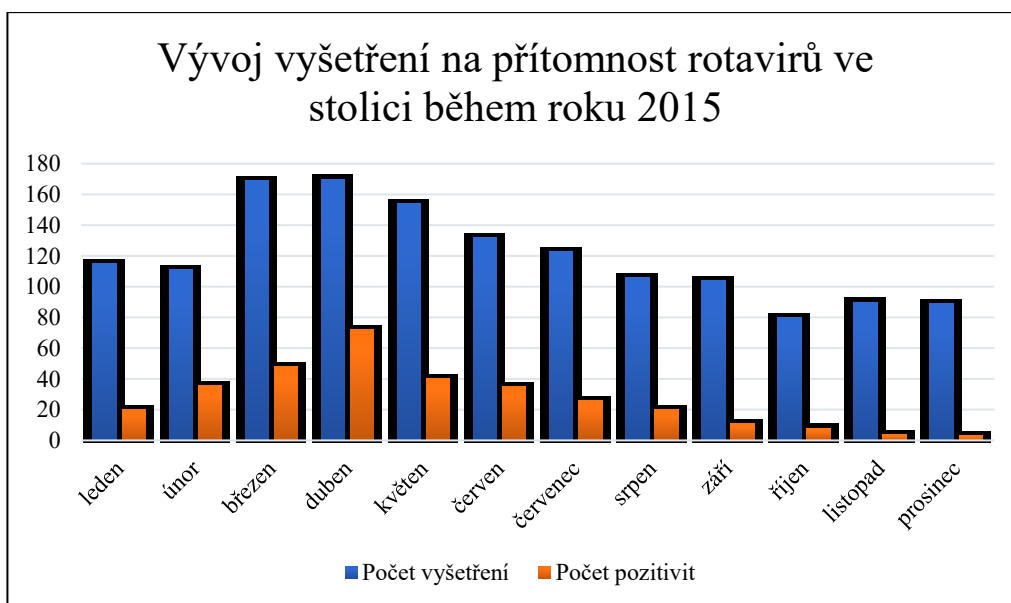
*Graf 16 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2015 - distribuce dle pohlaví pacientů*

Tentokrát bylo nejvíce vzorků 32,6 % (471) od osob starších 60 let, avšak z tohoto množství bylo pouze 51 pozitivit. Nejvíce pozitivit bylo vcelku vyrovnaně u dětí do 2 let (86) a u dětí od 3 do 5 let (82). U dětí do 2 let bylo ale 296 (20,5 %) vyšetření, zatímco u dětí od 3 do 5 let 172 (11,9 %). Nejméně vzorků (66) bylo u dospívajících od 11 do 20 let, čemuž odpovídal i počet 11 pozitivit (graf 17).



*Graf 17 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2015 - distribuce dle věku pacientů*

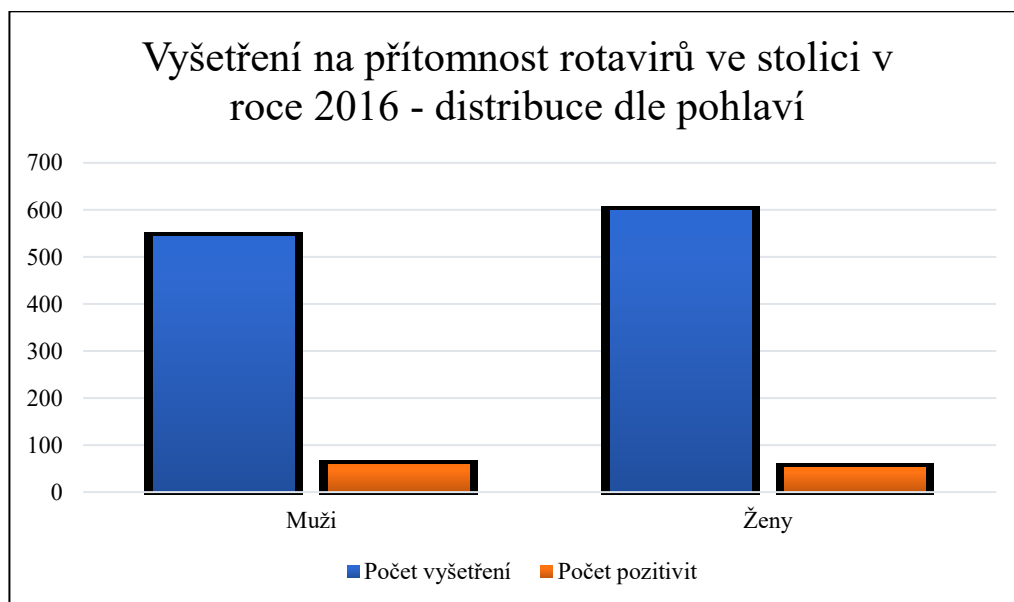
Velký počet vzorků stolice na rotaviry a také pozitivit byl od března do května s maximem v dubnu, kde bylo 170 vyšetření a 72 pozitivit. Nejméně pak v období od října do prosince, kde bylo vzhledem k rokům předcházejícím velké množství vzorků, ale pozitivních jich bylo málo, například v prosinci jen 3 (graf 18).



*Graf 18 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2015*

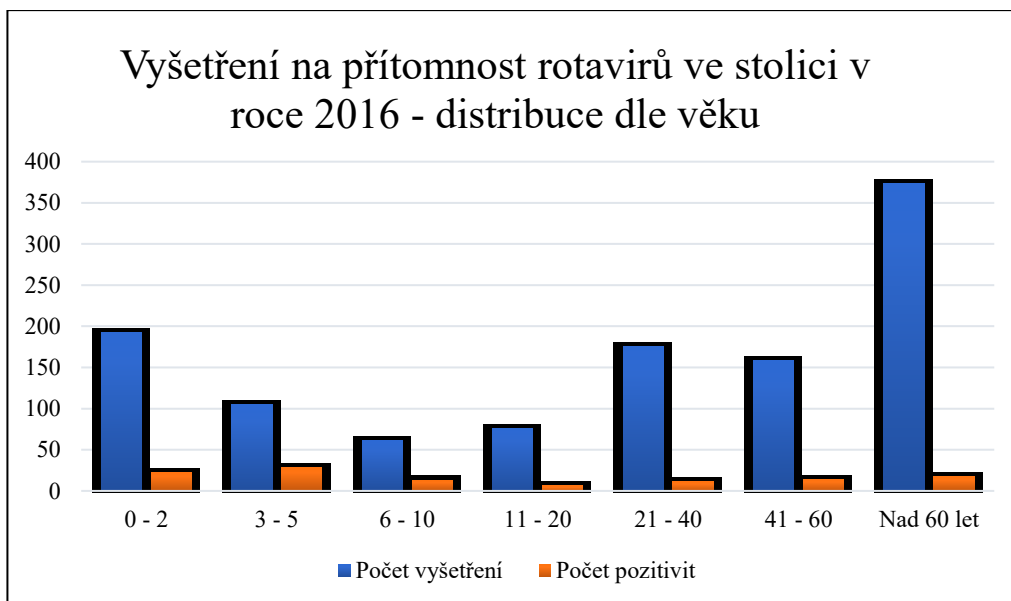
## 8.7 Rok 2016

V roce 2016 bylo provedeno 1141 vyšetření, mírnou převahu s 52,4 % měly vzorky od žen (598) než s 47,6 % vzorky od mužů (543). Počet pozitivit byl vzhledem k velkému počtu vzorků velmi nízký, bylo jich zaznamenáno pouze 111, což představuje 9,7 %, 53 (47,7 %) pozitivit bylo u žen a 58 (52,3 %) u mužů (graf 19).



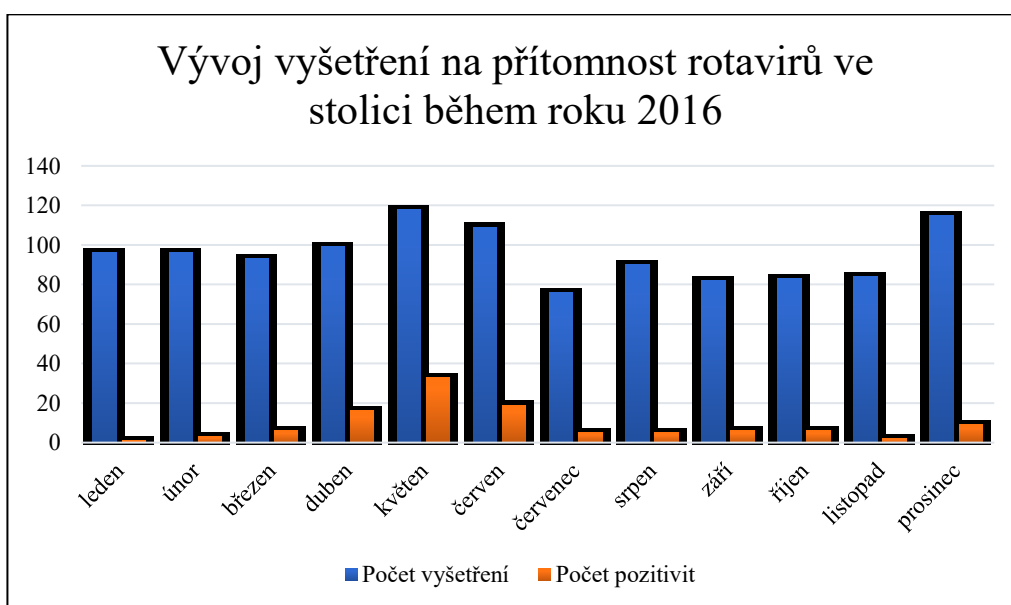
*Graf 19 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2016 - distribuce dle pohlaví pacientů*

Věkově to bylo velmi podobné s rokem 2015. Nejvíce vzorků bylo vyšetřeno ve věkové kategorii nad 60 let 373 (23,7 %), ale pozitivit bylo jen 17. U dětí do 2 let bylo pozitivních 22 ze 193 vzorků a u dětí od 3 do 5 let 28 ze 105 vzorků, takže bylo opět větší procento výskytu rotavirového onemocnění u těchto osob (graf 20).



*Graf 20 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2016 - distribuce dle věku pacientů*

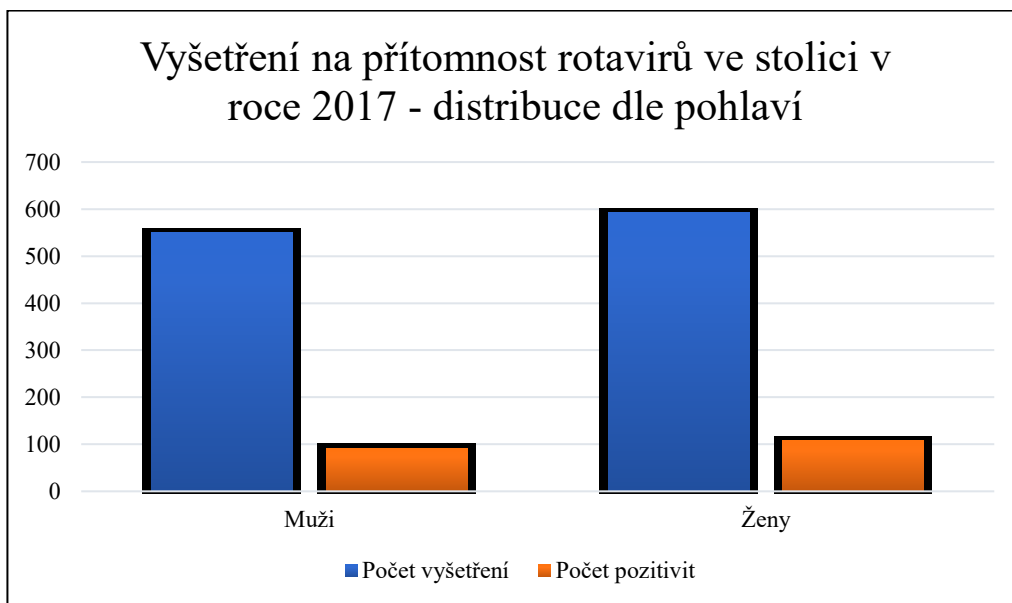
Během tohoto roku byl počet vyšetření v jednotlivých měsících vyrovnaný. Maxima byla zaznamenána v květnu (118) a v prosinci (115). V květnu bylo také nejvíce pozitivit (33), oproti tomu ve zmíněném prosinci pouze 9. Na druhém a třetím místě v pozitivních vzorkách stolice na rotaviry jsou červen (19) a duben (16). Minimum vyšetření (76) bylo provedeno v červenci, minimum pozitivit (1) pak bylo v lednu (graf 21).



*Graf 21 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2016*

## 8.8 Rok 2017

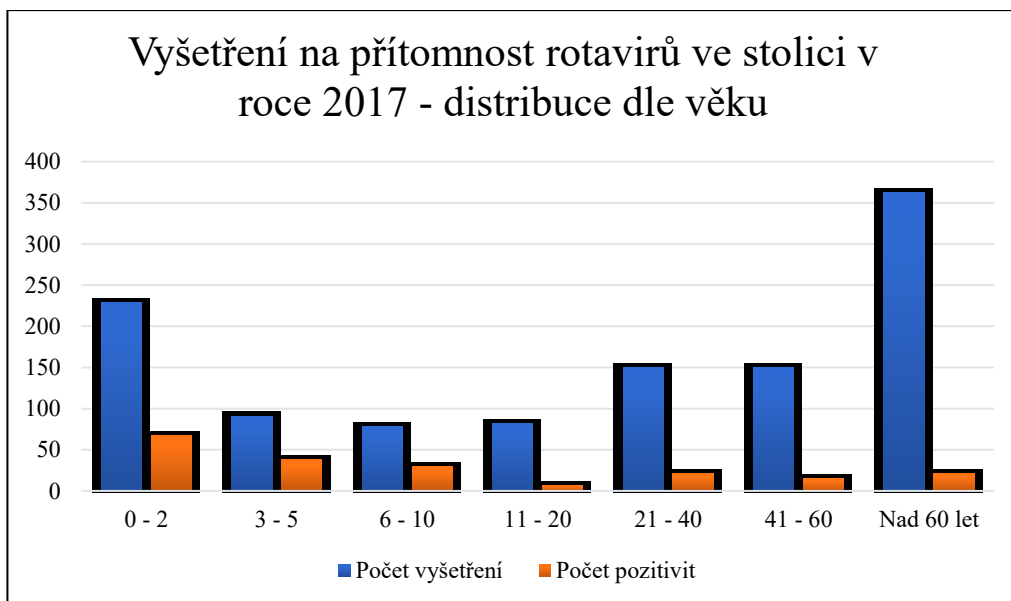
V posledním roce statistického šetření bylo provedeno pouze o 1 vyšetření více než v roce 2016, celkem tedy 1142. Z tohoto počtu bylo 592 (51,8 %) vzorků stolice od žen a 550 (48,2 %) vzorků od mužů. Rozdíl oproti roku 2016 však byl v počtu nalezených pozitivit. V roce 2017 bylo 199 (17,4 %) pozitivit, 107 (53,8 %) u žen a 92 (46,2 %) u mužů (graf 22).



*Graf 22 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2017 - distribuce dle pohlaví pacientů*

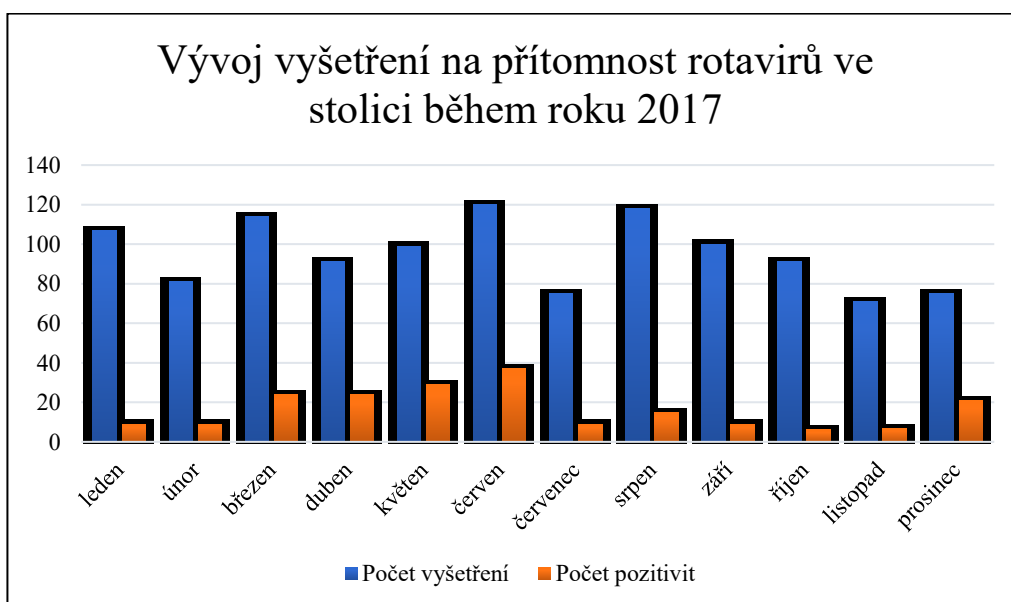
Nejvíce vyšetření s 31,7 % (362) bylo opět u osob starších 60 let, kde ale bylo jen 21 vzorků pozitivních. Na druhém místě v počtu vzorků byly děti do 2 let s 229 (20,1 %) vzorky, zde však bylo opět více pozitivit (67). Následují děti od 3 do 5 let se 38 pozitivními vzorky z 91. Nejméně pozitivit (7) bylo u dospívajících od 11 do 20 let (graf 23).





*Graf 23 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2017 - distribuce dle věku pacientů*

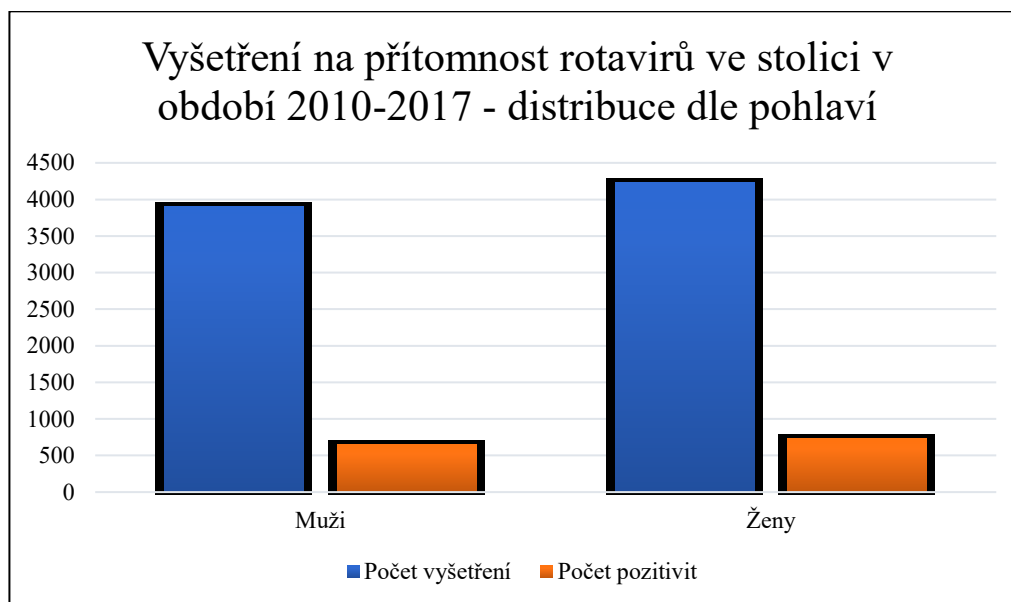
Počet vyšetření během roku 2017 měsíčně velmi kolísal. Maxima vzorků byla zaznamenána v červnu (120) a v srpnu (118), minima pak v červenci (75), v listopadu (71) a v prosinci (75). Nejvíce pozitivních vzorků bylo nalezeno v období od března do června, v tomto měsíci 37. Nejmenší výskyt rotavirů byl v říjnu a to u 6 osob (graf 24).



*Graf 24 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2017*

## 8.9 Zhodnocení období 2010-2017 jako celku

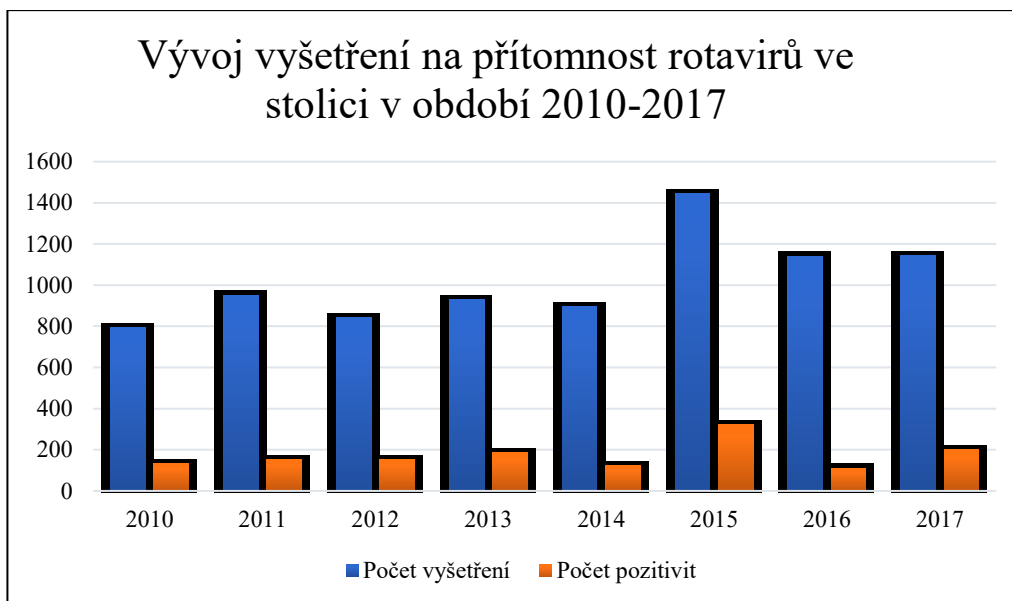
Ve statisticky zkoumaném období 2010-2017 bylo provedeno celkem 8135 vyšetření vzorků stolice na přítomnost rotavirů. Z tohoto množství bylo 4235 (52,1 %) vzorků od žen a 3900 (47,9 %) vzorků od mužů. Diagnostickými testy bylo zjištěno 1378 (16,9 %) pozitivit, 733 (53,2 %) žen a 645 (46,8 %) mužů (graf 25).



*Graf 25 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v období 2010-2017 - distribuce dle pohlaví pacientů*

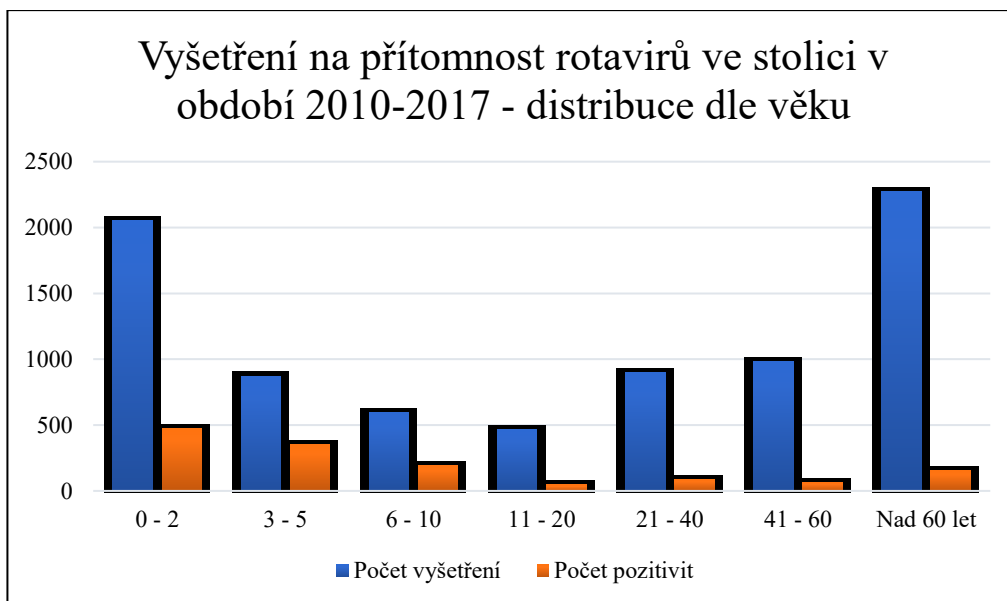
V porovnání jednotlivých let je patrné, že maximum vyšetření (1443) bylo v roce 2015, kde vzhledem k tomuto množství bylo zjištěno i nejvíce pozitivních vzorků (323). V počtu vzorků následují roky 2016 (1141) a 2017 (1142). V roce 2016 bylo jen 111 pozitivit, naproti tomu o rok později hned 199. Minimum vzorků (792) bylo v roce 2010, ale i tam bylo více pozitivit (132) než ve zmíněném roce 2016 (graf 26).

Procentuální srovnání pozitivit k celkovému počtu vyšetření v jednotlivých letech nám ukazuje, že nejvíce 22,4 % pozitivních vzorků bylo v roce 2015. Následuje rok 2013 s 20 % pozitivit, roky 2010 a 2012 shodně s 18,1 %, rok 2017 s 17,4 %, rok 2011 s 16,1 %. Nejmenší procentuální zastoupení, a tedy nejmenší výskyt rotavirů vzhledem z celkovému počtu vzorků, byl s 13,6 % pozitivními vzorky rok 2014 a s 9,7 % rok 2016.



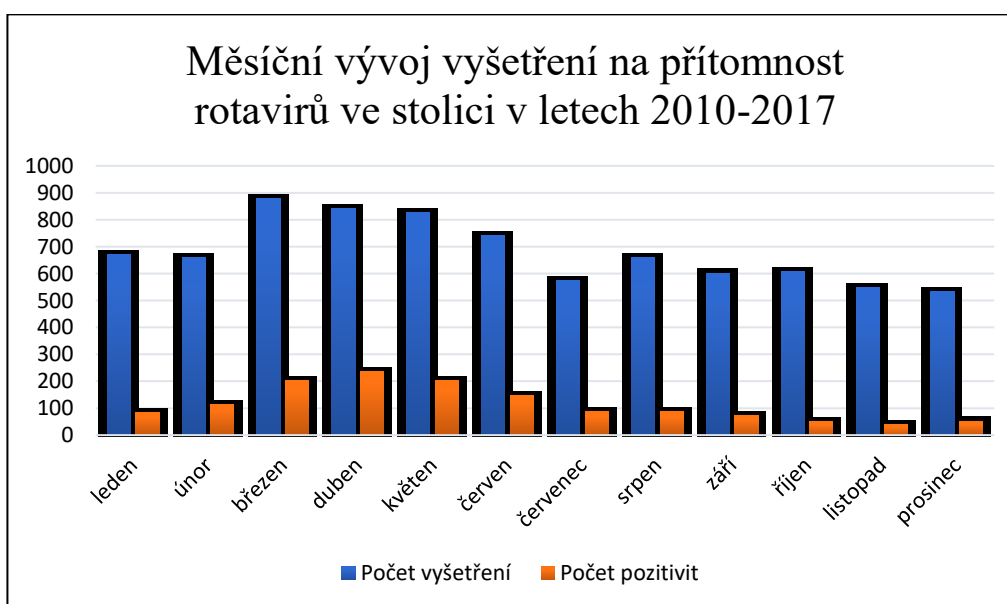
*Graf 26 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů v období 2010-2017*

Nejvíce vzorků, 2270 (27,9 %) bylo od osob starších 60 let, pozitivních bylo však pouhých 154, tedy 6,8 % z počtu vzorků od této skupiny pacientů a 11,2 % z celkového počtu pozitivit. Naproti tomu u dětí do 2 let bylo 2054 (25,2 %) vzorků a pozitivních hned 475, což představuje 23,1 % z počtu vzorků od této skupiny pacientů a 34,5 % z celkového počtu pozitivit ve vyšetřovaném období. U této skupiny lidí byl tedy z celkového množství vzorků u určité skupiny pacientů procentuálně druhý největší výskyt rotavirových onemocnění. Protože na prvním místě (40,5 % pozitivit z počtu vzorků u této skupiny) byly děti od 3 do 5 let s 353 (25,6 % z celkového počtu pozitivit) pozitivními vzorky z 871 (10,7 %) vyšetření. Na třetím místě byly děti ve věku od 6 do 10 let. Rotaviry tedy postihují převážně děti. Nejméně vyšetření, 463 (5,7 %), za zkoumané období bylo u dospívajících osob od 11 do 20 let (graf 27).



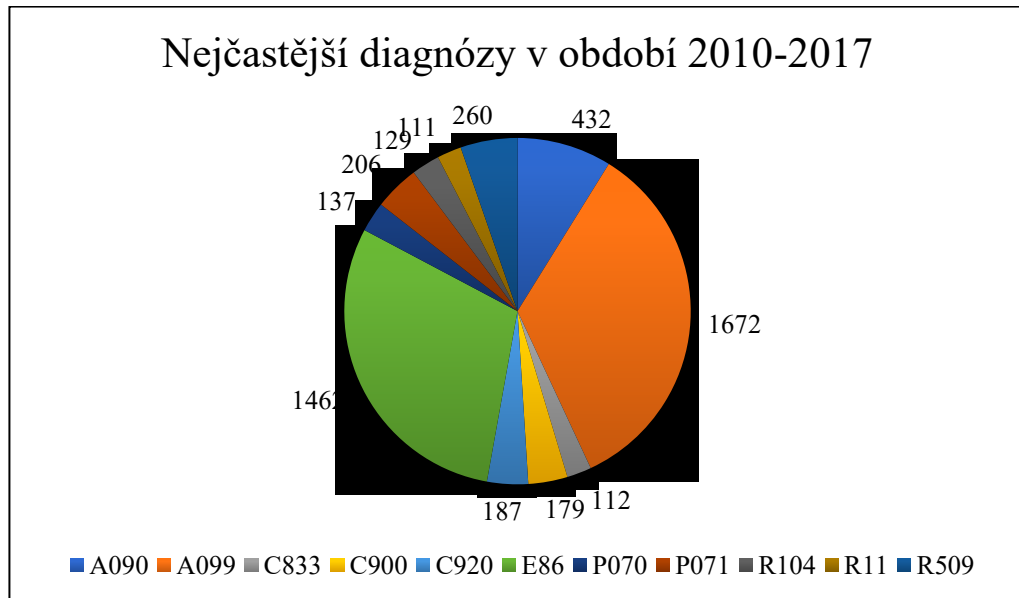
**Graf 27 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v období 2010-2017 - distribuce dle věku**

V porovnání jednotlivých měsíců vychází, že v období od března do května bylo největší množství vyšetření a zároveň i pozitivních vzorků. Maximum počtu vyšetření bylo v březnu (878), zatímco maximum pozitivit v dubnu (237). Nejmenší počet vyšetření na přítomnost rotavirů ve stolici byl v listopadu (548) a v prosinci (532), čemuž odpovídá i nízký počet pozitivit, 39 respektive 52. Lze tedy usoudit, že rotaviry se nejvíce vyskytují v jarních měsících od března do května (graf 28).



**Graf 28 Grafické znázornění měsíčního vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů v období 2010-2017**

Nejčastější diagnóza uvedená na žádance byla A099 (gastroenteritida a kolitida neurčeného původu) u 1672 (20,6 %) pacientů, na druhém místě pak diagnóza E86 (snížení objemu plasmy nebo extracelulární tekutiny) u 1462 (18 %) pacientů. Na třetím místě byla diagnóza A090 (jiná nspecifikovaná gastroenteritida a kolitida infekčního původu) u 432 (5,3 %) pacientů (graf 29).



*Graf 29 Grafické znázornění nejčastějších diagnóz v období 2010-2017*

Význam dalších zkratk diagnóz v grafu 29: C833 = B-buněčný lymfom z velkých buněk, difúzní; C900 = mnohočetný myelom; C920 = akutní myeloblastická leukémie; P070 = velmi nízká porodní hmotnost; P071 = jiná nízká porodní hmotnost; R104 = jiná neurčená břišní bolest; R11 = nauzea a zvracení; R509 = nspecifikovaná horečka (Anonymous, 2018).

## 9. DISKUSE

Obecně je známo, že rotaviry jsou společně s noroviry a adenoviry často původci průjmových onemocnění u malých dětí. Akutní gastroenteritida způsobená rotaviry však postihuje i dospělé osoby. Do lidské populace se tento virus dostal zoonotickým přenosem od některých zvířat. Segmentace genomu u rotavirů umožňuje genomické přeskládání, takže vznikají neustále nové typy rotavirů, které mohou infikovat větší spektrum organismů. Studie ukazují, že až 50 % akutních gastroenteritid je způsobeno právě rotaviry.

V práci byla zpracována data obsahující výsledky vyšetření stolice na přítomnost rotavirového antigenu od 8135 pacientů získaná z LIS Ústavu klinické mikrobiologie ve FNHK Hradec Králové za období let 2010 – 2017. Z experimentálního šetření provedeného v této práci je patrné, že rotaviry postihují nejvíce děti od 3 do 5 let, bylo zjištěno celkem 40,5 % pozitivních vzorků stolice z celkového počtu vzorků od této skupiny pacientů přijatých do laboratoře a vyšetřených na přítomnost rotavirů. Na druhém místě byly dle stejného kritéria s 23,1 % děti do 2 let. Bylo tedy prokázáno to, že akutní gastroenteriditu způsobenou rotaviry trpí zejména děti do 5 ti let, jak i popsali ve svých publikacích například Strauss (2008) a Göpfertová (2013). Díky snadnému přenosu viru fekálně-orální cestou a jeho schopnosti přežít po určitou dobu mimo organismus vznikají v dětských kolektivech často velmi rozsáhlé infekce. Virus se dobře zachycuje na rukou, hračkách nebo nábytku. Rozsáhlé infekce u dětí se objevují v předškolních zařízeních nebo ve školních budovách. Virus je rovněž původcem nozokomiálních infekcí u hospitalizovaných dětí ve zdravotnických zařízeních. Z toho vyplývá, že velice účinnou prevencí je osobní hygiena. Problémem v dětských kolektivech je často nedostatečné mytí rukou. V případě propuknutí infekce je nezbytné veškeré předměty a objekty vhodným přípravkem dezinfikovat.

Jak už bylo zmíněno, rotaviry mohou infikovat méně často i dospělé osoby, zejména pak ve věku nad 60 let, což vyplývá z experimentálního šetření, bylo totiž zjištěno 6,8 % pozitivních vzorků stolic z celkového počtu vzorků od této skupiny pacientů. V minulosti byly prokázány i epidemie rotavirových průjmů v geriatrických zařízeních.

Nejméně se rotaviry vyskytují u osob ve věku od 11 do 40 let, na čemž se může podílet jednak dostatečná hygiena a také vyzrálý imunitní systém. Infekce postihují obě pohlaví stejně. Šetření však ukázalo, že v námi testovaném souboru měly mírnou převahu ženy s 53,2 % nad muži (46,8 %). Nejvíce vyšetření na přítomnost rotavirů ve stolici a zároveň i pozitivních vzorků bylo v roce 2015, kde bylo zjištěno 22,4 % pozitivit z celkového počtu vzorků v daném roce. Lze tedy předpokládat, že ve zmíněném roce proběhla nějaká nozokomiální infekce nebo průjmová epidemie. Volně dostupná data KHS Královehradeckého kraje z roku 2015 ukazují, že byly zaznamenány v letních dětských zařízeních tři hromadné výskyty zažívacích potíží, při čemž v jednom případě byly potíže virového původu, ve zbylých dvou pak byly původu nezjištěného (Krejčí, 2015). Naopak nejméně v procentuálním zastoupení pozitivit z celkového počtu vzorků v roce měl s 9,7 % rok 2016 a s 13,6 % rok 2014.

Rotavirové infekce se vyskytují především v období od března do května, čemuž odpovídá i počet pozitivit v jednotlivých měsících zkoumaného období. Jedinou výjimku lze nalézt v roce 2014, v tomto roce bylo nejvíce pozitivních vzorků v září. Počet vyšetření stolice na přítomnost rotavirů v tomto ohledu odpovídá obvyklému trendu, nejvíce vyšetření je rovněž v období od března do května. Minimum vyšetření i pozitivních nálezů je každoročně v listopadu a v prosinci. Za povšimnutí stojí měsíc říjen v roce 2011, kde bylo do laboratoře dopraveno obrovské množství vzorků stolice s požadavkem na vyšetření na přítomnost rotavirů. Dá se předpokládat, že se nejspíše někde odehrávala velká průjmová epidemie. Imunochromatografickým vyšetřením však bylo zjištěno, že většina vzorků byla na rotaviry negativní a že tedy tato epidemie byla způsobena jiným mikroorganismem.

Podobné šetření provedl v letošním roce SZÚ s tím rozdílem, že zkoumali období 1997-2017 a vyšetřovaným souborem byla celá ČR. Studie ukázala, že i po zahájení očkování v roce 2007 nemocnost rotavirovými gastroenteritidami stoupá, protože je v ČR stále velice nízká proočkovanost. Nejvyšší (sezónní) výskyt tohoto onemocnění byl vyhodnocen rovněž v období od března do dubna. Stejně tak v porovnání nemocnosti dle pohlaví také mírně dominují ženy. Muži měli v jejich hodnoceném období převahu pouze v letech 1999, 2002, 2003, 2005 a 2008. Nemocnost dle věkových skupin je nejvyšší u dětí do 4 let, ve věku 4 až 9 let křivka nemocnosti strmě klesá, u dalších věkových skupin je na minimu a mírně stoupá až ve věku od 65 let. Studie se dále věnovala porovnání nemocnosti dle krajů. Nejvíce

pacientů nakažených rotaviry bylo od roku 1997 v kraji Zlínském a Plzeňském. Nejméně nakažených pak v kraji Ústeckém, Libereckém a v Praze. Královehradecký kraj byl krajem s 5 nejnižším výskytem rotavirových onemocnění (Špačková, 2018).

Z nejčastěji se vyskytujících diagnóz na žadance vyplývá, že lékaři dle pozorovaných příznaků a získaných informací od pacienta mají podezření na gastroenteritidu nebo kolitidu (A099, A090) ve 20,6 %. Pacienti, kteří jsou infikováni rotaviry, trpí výraznými průjmy. Lékaři proto mohou pozorovat snížení objemu plasmu nebo extracelulární tekutiny (E86), diagnóza s tímto označením se objevila na žadance u 18 % vzorků od pacientů.

Ke zjištění přítomnosti rotavirového antigenu ve stolici laboratoře v dnešní době používají hlavně zmíněný imunochromatografický test, protože představuje nejjednodušší a nejrychlejší (výsledky do 10 minut) způsob identifikace. Součástí tohoto komerčně dodávaného testu je zpravidla i vyšetření na adenoviry nebo noroviry, takže se jedná zároveň o velmi komplexní test. Ostatní metody identifikace (elektronová mikroskopie, ELISA, latexová aglutinace, PAGE a RT-PCR) v tomto ohledu zaostávají, jsou značně složitější a dražší a identifikace trvá výrazně delší dobu. Jsou tedy méně využívány (především jako confirmace).

Pro rotavirovou infekci v současnosti neexistuje zatím žádná specifická antivirová léčba. Mortalitu způsobuje významná dehydratace organismu a úbytek elektrolytů v těle, což mají za následek masivní průjmy. Terapie je proto založena na nahrazení ztracených tekutin a na korekci acidobazické rovnováhy a množství iontů v těle.

V posledních letech došlo díky objevení vakcín celosvětově k zřetelnému poklesu rotavirových onemocnění. Vývoj vakcín proti rotavirům však stál v minulosti obrovské úsilí a značné množství finančních prostředků, protože první vyvinutá vakcína v roce 1998 RotaShield® se později ukázala jako nevhodná, zejména kvůli problému s intususcepcí (Shors, 2009). V současné době se používají dvě vakcíny (Rotateq® a Rotarix®), které jsou velmi účinné a zmíněný problém nevykazují. Vakcíny pomáhají lidem po celém světě, zejména pak v rozvojových zemích, kde vzhledem k nižším hygienickým standardům a vyššímu výskytu rotavirových onemocnění pomohly zachránit milióny lidských životů ročně. Velké množství států už zařadilo očkování proti rotavirům do národních očkovacích programů, další státy je



následují. Roste tedy proočkovanost populace (v ČR je proočkovanost stále nízká). Hlavně díky tomu se v posledních letech značně snížila morbidita a mortalita na rotavirová onemocnění.

V porovnání morbidity na rotaviry za poslední roky je na tom ČR podobně jako ostatní vyspělé státy, například USA. CDC uvádí, že v USA jsou také nejvíce ohroženi kojenci a malé děti, nejtěžší rotavirové infekce se vyskytují zejména u neočkovaných dětí. Starší dospělí a dospělí s narušeným imunitním systémem mají rovněž vysoké riziko vzniku rotavirových onemocnění. V USA může osoba rovněž dostat rotavirovou chorobu kdykoliv během roku, ale častější je v jarních a zimních měsících. Před zavedením očkování v roce 2006 zde začínaly infekce v jihozápadní části země v prosinci a přesunuli se na severovýchod v dubnu a květnu. V současnosti tento vzorek díky zavedení vakcíny už neplatí (Anonymous, 2018).

Pozoruhodným rysem rotavirových infekcí v mírném podnebném pásu je tedy jejich sezónnost, čemuž odpovídá i další studie z Irska. Na rozdíl od jiných enteropatogenních agens, které jsou častější v horkých měsících roku, rotavirové infekce dominují v zimě a na jaře. V Irsku jsou rovněž nejvíce postiženi kojenci a malé děti (Cryan, 1997).

V rozvojových zemích studie ukazují na zvýšený výskyt tohoto onemocnění a vyšší úmrtnost z důvodu nižší dostupnosti očkování. Studie provedená v oblastech Středního východu a v severní Americe informuje o tom, že očkování je dostupné jen asi ve 12 zemích z regionu. Nejvíce rizikovou skupinou v rozvojových zemích jsou děti do 2 let. Další věkové skupiny včetně starších osob jsou také považovány za vysoce rizikové v důsledku virového způsobu přenosu a poruch imunitního systému. Infekce rotaviry jsou v těchto zemích hlášeny po celý rok s vrcholy popsány jak v chladných, tak v horkých měsících, sezónnost není jasně definována. Klima jednotlivých oblastí má na nemocnost značný vliv. Maxima většinou bývají spíše v měsících zimních. Morbidita v některých rozvojových zemích je z různých důvodů obtížně zjistitelná (Zaraket, 2017).

Další studie v rozvojových zemích ukázala rozdíly ve výskytu rotavirových infekcí v různých zemích Afriky v závislosti na podnebí (zeměpisné šířce). Afriku autoři studie rozdělili podle zeměpisné šířky na tři oblasti (severní, subsaharskou a jižní), aby zjistili závislost klimatu na aktivitě rotavirů. V severní Africe (Egypt,

Maroko) měly rotavirové infekce vrcholy na podzim a v zimě, ale ne v období sucha. V jižní Africe (Jižní Afrika, Madagaskar, Zimbabwe nebo Zambie) měly infekce vrchol rovněž na podzim a v zimě, které se ale zde překrývají s obdobím sucha. V subsaharské Africe (Etiopie, Ghana, Keňa, Nigérie nebo Somálsko) je aktivita rotavirů asi šestkrát vyšší během období sucha, ale sezónnost zde není přesně jasná, protože není definovaná samotným počátkem a koncem období sucha (Cunliffe, 1998).

## 10. ZÁVĚR

Bakalářská práce je věnována rotavirům, tedy virům ve tvaru koule patřících do čeledi Reoviridae. V práci je podrobně popsána jejich struktura, možnosti přenosu, replikace virů, značná rezistence a způsoby jejich patogeneze. Dále se zabývá onemocněním akutní gastroenteritidou, kterou rotaviry způsobují, reakcí imunity člověka na zmíněné onemocnění, klinickým obrazem nemocného, epidemiologií a laboratorní diagnostikou. Nedílnou součástí problematiky je rovněž terapie a prevence tohoto onemocnění, obrovský význam má preventivní očkování.

Z experimentálního statistického šetření ve zkoumaném období vyplývá, že rotavirovou gastroenteritidou trpí nejčastěji děti od 3 do 5 let, tedy v období, ve kterém navštěvují kolektivní zařízení. Jak již bylo popsáno, rotavirové nákazy v těchto zařízeních často vznikají a virus se snadno mezi dětmi přenáší. Obě pohlaví, muži i ženy, jsou vystaveny riziku nákazy téměř stejně. Rotaviry jsou aktivní zejména v jarních měsících od března do května, v těchto měsících je tedy vysoká nemocnost.

Přestože je dostupné očkování, tak počet nemocných trpících rotavirovou gastroenteritidou je stále významný. Jako příklad lze zmínit rok 2015, ve kterém ve FNHK Hradec Králové bylo z celkového počtu vyšetření na přítomnost rotavirového antigenu ve stolici zjištěno hned 22,4 % pacientů infikovaných rotaviry. Důvodem je, že očkování proti rotavirům v ČR není součástí povinného očkovacího kalendáře a zároveň není hrazeno ze zdravotního pojištění. Rodiče nenechávají své děti očkovat a proočkovanost na rotaviry v ČR je v porovnání se světem velmi nízká.

## 11. POUŽITÉ ZKRATKY

<u>Zkratka</u>	<u>Význam zkratky</u>
<b>3D</b>	třírozměrné zobrazení
<b>bp</b>	párů bází
<b>CDC</b>	Centra pro kontrolu a prevenci nemocí
<b>cDNA</b>	komplementární deoxyribonukleová kyselina
<b>ČR</b>	Česká republika
<b>DNA</b>	deoxyribonukleová kyselina
<b>dsDNA</b>	dvojvláknová deoxyribonukleová kyselina
<b>ELISA</b>	enzyme-linked immunosorbent assay
<b>EM</b>	elektronová mikroskopie
<b>FNHK</b>	Fakultní nemocnice Hradec Králové
<b>IF</b>	imunofluorescence
<b>IgA</b>	imunoglobulin A
<b>IgM</b>	imunoglobulin M
<b>kbp</b>	kilo párů bází
<b>KFR</b>	komplement fixační reakce
<b>KHS</b>	krajská hygienická stanice
<b>lat.</b>	latinsky
<b>LIS</b>	laboratorní informační systém
<b>mRNA</b>	messenger (mediátorová, informační) RNA
<b>MS Excel</b>	Microsoft Excel
<b>např.</b>	například
<b>nm</b>	nanometr
<b>NSP4</b>	nestruturní protein 4
<b>obr.</b>	obrázek
<b>PAGE</b>	elektroforéza na polyakrylovém gelu
<b>PCR</b>	polymerázová řetězová reakce
<b>pH</b>	veličina vyjadřující kyselost/zásaditost
<b>RNA</b>	ribonukleová kyselina
<b>RNáza</b>	ribonukleáza
<b>RT-PCR</b>	polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí
<b>SA11</b>	virus opic
<b>SDS-PAGE</b>	elektroforéza na polyakrylovém gelu s dodecylsulfátem sodným
<b>SZÚ</b>	Státní zdravotní ústav
<b>tzv.</b>	takzvaně
<b>USA</b>	Spojené státy americké
<b>VP (4,6,7)</b>	virový protein (4,6,7)
<b>WHO</b>	Světová zdravotnická organizace

## 12. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Distribuce gastrointestinálních patogenů ve vztahu k věkovým skupinám pacientů.....	13
Obrázek 2 Rotavirus ve stolici dítěte hospitalizovaného pro akutní gastroenteritidu. ....	14
Obrázek 3 3D grafické znázornění virionů rotaviru. ....	15
Obrázek 4 Schématické znázornění rotavirového virionu včetně proteinů a RNA. ....	16
Obrázek 5 Celkové rozdělení šesti nejčastějších genotypů rotavirů podle zemí v letech 2006-2013. ....	17
Obrázek 6 Histopatologické snímky duodena infikovaného rotaviry 48 hodin po infekci.....	19
Obrázek 7 Patogeneze rotavirových průjmů.....	20
Obrázek 8 Procentuální zastoupení různých mikroorganismů jako původců průjmových onemocnění v rozvinutých státech (vlevo) a v zemích třetího světa (vpravo).....	22
Obrázek 9 Mapa celosvětových úmrtí na rotavirovou infekci.....	23
Obrázek 10 Rota-Adeno test od firmy bioNexia® .....	27
Obrázek 11 Postup Rota-Adeno testu .....	27
Obrázek 12 Elektroforetické profily segmentů rotavirových RNA různých živočichů. ....	28
Obrázek 13 Vakcíny Rotateq® (vlevo) a Rotarix® (vpravo).....	30
Obrázek 14 Přehled států s celoplošnou vakcinací k roku 2016 (celkem 81 států)..	32

## 13. SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2010 - distribuce dle pohlaví pacientů.....	34
Graf 2 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2010 - distribuce dle věku pacientů .....	35
Graf 3 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2010 .....	35
Graf 4 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2011 - distribuce dle pohlaví pacientů.....	36
Graf 5 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2011 - distribuce dle věku pacientů .....	37
Graf 6 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2011 .....	37
Graf 7 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2012 - distribuce dle pohlaví pacientů.....	38
Graf 8 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2012 - distribuce dle věku pacientů .....	39
Graf 9 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2012 .....	39

Graf 10 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2013 - distribuce dle pohlaví pacientů .....	40
Graf 11 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2013 - distribuce dle věku pacientů .....	41
Graf 12 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2013 .....	41
Graf 13 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2014 - distribuce dle pohlaví pacientů .....	42
Graf 14 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2014 - distribuce dle věku pacientů .....	43
Graf 15 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2014 .....	43
Graf 16 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2015 - distribuce dle pohlaví pacientů .....	44
Graf 17 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2015 - distribuce dle věku pacientů .....	45
Graf 18 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2015 .....	45
Graf 19 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2016 - distribuce dle pohlaví pacientů .....	46
Graf 20 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2016 - distribuce dle věku pacientů .....	47
Graf 21 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2016 .....	47
Graf 22 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2017 - distribuce dle pohlaví pacientů .....	48
Graf 23 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v roce 2017 - distribuce dle věku pacientů .....	49
Graf 24 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů během roku 2017 .....	49
Graf 25 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v období 2010-2017 - distribuce dle pohlaví pacientů .....	50
Graf 26 Grafické znázornění vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů v období 2010-2017 .....	51
Graf 27 Grafické znázornění vyšetření na přítomnost rotavirů v období 2010-2017 - distribuce dle věku .....	52
Graf 28 Grafické znázornění měsíčního vývoje vyšetření na přítomnost rotavirů v období 2010-2017 .....	52
Graf 29 Grafické znázornění nejčastějších diagnóz v období 2010-2017 .....	53

## 14. POUŽITÁ LITERATURA

ANONYMOUS. Bionexia® Rota-Adeno. [cit. 2018-09-08]. Dostupné z: <https://www.biomerieux-diagnostics.com/bionexia-rotadeno-rapid-test>

ANONYMOUS. Centers for Disease Control and Prevention. Rotavirus. [cit. 2019-02-04]. Dostupné z: <https://www.cdc.gov/rotavirus/surveillance.html>

ANONYMOUS. Česká vakcinologická společnost, Očkování v ČR, 2018, [cit. 2018-10-16]. Dostupné z: <http://www.vakcinace.eu/ockovani-v-cr>

ANONYMOUS. Dětské infekční lékařství. Průjmy vyvolané rotaviry. [cit. 2018-09-08]. Dostupné z: <http://telemedicina.med.muni.cz/pdm/detske-infekcni-lekarstvi/index.php?pg=vyukove-texty--alimetarni-nakazy--virove-prujmy--rotaviry>

ANONYMOUS. Disease factsheet about rotavirus. [cit. 2018-09-10]. Dostupné z: <https://ecdc.europa.eu/en/rotavirus-infection/facts>

ANONYMOUS. Mezinárodní statistická klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů. [cit. 2018-09-24]. Dostupné z: <http://www.uzis.cz/cz/mkn/index.html>

ANONYMOUS. Rotateq [cit. 2018-09-11]. Dostupné z: <https://www.tradeindia.com/fp1678790/Rotateq.html>

ANONYMOUS. Rotavirus vaccination programme launched. [cit. 2018-09-11]. Dostupné z: <https://www.mims.co.uk/rotavirus-vaccination-programme-launched/infections-and-infestations/article/1187233>

ANONYMOUS. Státní zdravotní ústav. Vybrané infekční nemoci v ČR v letech 2008-2017 – absolutně. [cit. 2018-10-11]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/publikace/data/vybrane-infekcni-nemoci-v-cr-v-letech-2008-2017-absolutne>

ANONYMOUS. Státní zdravotní ústav. Výskyt vybraných hlášených infekcí v České republice, leden-prosinec 2018. [cit. 2019-02-04]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/publikace/data/vyskyt-vybranych-hlasenych-infekci-v-ceske-republice-leden-6>

BEDNÁŘ, Marek. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil, 1996. ISBN 80-238-0297-6.

BROOKS, George F. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's medical microbiology*. 26th ed. New York: McGraw-Hill Medical, c2013. Lange medical book. ISBN 978-0-07-181292-4. ISSN 1054-2744.

CELER, Vladimír a Vladimír CELER. *Obecná virologie*. Hradec Králové: Nucleus HK, 2010. ISBN 978-80-87009-70-3.

CRAWFORD S. E., RAMANI S., TATE J. E., et al. Rotavirus infection. *Nature reviews Disease primers*. [online]. 2017. [cit. 2018-09-07]. Dostupné z: <https://www.nature.com/articles/nrdp201783>

CRYAN B., LYNCH M., WHYTE D., Rotavirus in Ireland. *Euro Surveill*. [online]. 1997. [cit. 2019-02-06]. Dostupné z: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/esm.02.02.00182-en>

CUNLIFFE N. A., KILGORE P. E., BREESE J. S., STEELE A. D., LUO N., HART C. A., & GLASS R. I., Epidemiology of rotavirus diarrhoea in Africa: a review to assess the need for rotavirus immunization. *Bulletin of the World Health Organization*, [online]. 1998. 76(5), 525-37. [cit. 2019-02-04]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2305791/?page=1>

DENNEHY, Penelope H. Rotavirus Vaccines: an Overview. *Clinical Microbiology Reviews*. [online]. 2008, 21 (1) 198-208; [cit. 2018-09-11]. DOI: 10.1128/CMR.00029-07 Dostupné z: <https://cmr.asm.org/content/21/1/198>

DJAČENKO, S. S, K. M SINJAK a N. S DJAČENKO. *Patogenní viry člověka*. Praha: Avicenum, 1983.

FARKAS, Daniel H. a Carol A. HOLLAND, Chapter 3 - Overview of Molecular Diagnostic Techniques and Instrumentation, Editor(s): Raymond R. Tubbs, Mark H. Stoler, *Cell and Tissue Based Molecular Pathology*, Churchill Livingstone, [online]. 2009. [cit. 2018-09-08]. ISBN 9780443069017. <https://doi.org/10.1016/B978->



044306901-7.50008-0.

Dostupné

z:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780443069017500080>

GOERING, Richard V, Hazel M. DOCKRELL, Mark A. ZUCKERMAN a Peter L. CHIODINI, JULÁK, Jaroslav, ed. *Mimsova lékařská mikrobiologie*. 5. vydání. Praha: Stanislav Juhaňák-Triton, 2016. ISBN 978-807-3879-280.

GÖPFERTO VÁ, Dana, Petr PAZDIORA a Jana DÁŇOVÁ. *Epidemiologie: obecná a speciální epidemiologie infekčních nemocí*. 2., přeprac. vyd. Praha: Karolinum, 2013, Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 978-80-246-2223-1.

GREENWOOD, David, John F. PEUTHERER a Richard C. B. SLACK. *Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogenese, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. Praha: Grada, 1999. ISBN 80-7169-365-0.

HAWASH, Yousry A., Khadiga A. ISMAIL, Mazen ALMEHMADI. High Frequency of Enteric Protozoan, Viral, and Bacterial Potential Pathogens in Community-Acquired Acute Diarrheal Episodes: Evidence Based on Results of Luminex Gastrointestinal Pathogen Panel Assay. *The Korean Journal of Parasitology*. [online]. 2017. [cit. 2018-09-11]. DOI: <https://doi.org/10.3347/kjp.2017.55.5.513> Dostupné z: <http://parasitol.kr/journal/view.php?doi=10.3347/kjp.2017.55.5.513>

CHAKRAVARTI A., KUMAR S., MITTAL S. K., BROOR S. Comparison of latex agglutination and polyacrylamide gel electrophoresis with enzyme linked immunosorbent assay for detecting human rotavirus in stool specimens. [online]. 1991. [cit. 2018-09-07]. Dostupné z: <https://www.indianpediatrics.net/may1991/507.pdf>

KOSINA, Pavel, Jan SMETANA, Vanda BOŠTÍKOVÁ, Jana KRAUSOVÁ. Rotavirové infekce v éře vakcinace. *Pediatric pro praxi*, 2011, 12(1), 12-14. Dostupné z: <https://www.pediatricpropraxi.cz/search.php?q=rotavirus>

KRAČMAROVÁ, Renata. Vakcinace proti rotavirovým infekcím-aktuální situace. *Pediatric pro praxi*, 2015, 16(2), 132-133. Dostupné z: <https://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2015/02/17.pdf>

KREJČÍ, Veronika, Letní dětské rekreace – závěrečná zpráva za rok 2015. Krajská hygienická stanice Královehradeckého kraje [cit. 2019-02-04]. Dostupné z: [https://www.khshk.cz/articles.php?article\\_id=1169](https://www.khshk.cz/articles.php?article_id=1169)

MERSCH, John, MD, FAAP, Rotavirus. [online]. 2018. [cit. 2018-09-10]. Dostupné z: [https://www.emedicinehealth.com/rotavirus/article\\_em.htm#what\\_are\\_the\\_symptoms\\_and\\_signs\\_of\\_rotavirus\\_infection](https://www.emedicinehealth.com/rotavirus/article_em.htm#what_are_the_symptoms_and_signs_of_rotavirus_infection)

MOUDELÍKOVÁ, Romana, Lucie DUFKOVÁ, Jiří KAMLER, Jakub DRIMAJ, Radim PLHAL, Jana PRODĚLALOVÁ, Epidemiological survey of enteric viruses in wild boars in the Czech Republic: First evidence of close relationship between wild boar and human rotavirus A strains, *Veterinary Microbiology*, Volume 193. [online]. 2016. [cit. 2018-09-08]. ISSN 0378-1135. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.08.003> Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.is.cuni.cz/science/article/pii/S0378113516302085>

MOUDELÍKOVÁ, Romana, Anna BLÁHOVÁ, Jana PRODĚLALOVÁ, Rotaviry známé a neznámé. *Pediatric pro praxi*, 2017, 18(4), 223-225. Dostupné z: <https://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2017/04/04.pdf>

MOUDELÍKOVÁ, Romana, Jana PRODĚLALOVÁ, Možnosti zoonotického přenosu rotavirových infekcí, *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie*, 2015, 64(2), 66–71.

MURRAY, Patrick R, Ken S ROSENTHAL a Michael A PFALLER. *Medical microbiology*. 6th ed. Philadelphia: Mosby/Elsevier, c2009. ISBN 978-0-323-05470-6.

PETROV, Alexey Albet TSA, Joseph D. PUGLISI. Chapter Sixteen - Analysis of RNA by Analytical Polyacrylamide Gel Electrophoresis, Editor(s): Jon Lorsch, *Methods in Enzymology*. Academic Press, Volume 530. [online]. 2013. [cit. 2018-09-08]. ISBN 9780124200371. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420037-1.00016-6> Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124200371000166?via%3Dihub>

ROGERS, Kara. Hemagglutinin. [online]. 2009. [cit. 2018-09-06]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/hemagglutinin>

SHORS, Teri. *Understanding viruses*. Sudbury, Mass.: Jones and Bartlett Publishers, c2009. ISBN 978-0-7637-2932-5.

STRAUSS, James H. a Ellen G. STRAUSS. *Viruses and human disease*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier / Academic Press, c2008. ISBN 978-0-12-373741-0.

ŠPAČKOVÁ, Michaela, Martin GAŠPÁREK, Výskyt rotavirových onemocnění v České republice v letech 1997-2017, Státní zdravotní ústav, 2018 [cit. 2018-11-09]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/vyskyt-rotavirovych-onemocneni-v-ceske-republice-v-letech>

VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. Brno: Neptun, 2001. ISBN 80-902896-2-2.

ZARAKET H. , CHARIDE R. , KREIDIEH K. , DBAIBO G. , MELHEM N. M.. Update on the epidemiology of rotavirus in the Middle East and North Africa. [online]. 2017. [cit. 2019-02-04]. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.is.cuni.cz/science/article/pii/S0264410X17313208?via%3Dihub>

ŽAMPACH, Pavel. Latexová aglutinace. [online]. 2001. [cit. 2018-09-07]. Dostupné z: <http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/hypertext/200620/hypertext/BOPZAAC.htm>