

SOUHRN

V rámci studia doktorského studijního programu byla navržena, vypracována a do klinického provozu laboratorní diagnostiky akutní formy leptospirózy zavedena real-time PCR metoda založená na detekci genu kódujícího povrchový lipoprotein LipL32. Metoda vykazala velmi dobrou analytickou pozitivní i negativní specifitu, kdy se obě hodnoty rovnaly 100 %. Na 230 laboratorních kmenech leptospir ze sbírkových kultur Royal Tropical Institute v Holandsku byla real-time PCR odzkoušena. Mez detekce byla stanovena na 1 – 5 kopií genomu / ml tekutého biologického materiálu. V praxi byla metoda ověřena na biologických materiálech 295 pacientů se suspektní leptospirozou, vyšetřených v období duben 2010 – duben 2013. Devět osob (3,1 %) a jim přínáležejících 15 (3,2 %) biologických materiálů bylo vyhodnoceno jako LipL32 pozitivní.

Real-time PCR byla použita při analýze vzorků z vnějšího prostředí na přítomnost leptospir. Z celkového počtu 680 vzorků (povrchové vody, čistírny odpadních vod, vlhké substráty) bylo 5 real-time PCR reakcí (0,7 %) vyhodnoceno jako hraniční, ovšem výsledek jejich sekvenční analýzy byl opakovaně „nekultivovatelné bakterie“. Všechny vzorky byly vyhodnoceny jako negativní. Z uvedené skutečnosti je zřejmé, že metoda není vhodná pro testování takto náročných materiálů

Multilokusová sekvenční typizace detekující 5 genů (*adk*, *icdA*, *rrs2*, *lipL41* a *lipL32* gen) byla použita pro vytvoření knihovny sekvencí pro 11 laboratorních kmenů patogenních leptospir. S její pomocí mohlo být následně stanoveno, o jaký infikující sérovar patogenní leptospiry se u pacientů se suspektní leptospirovou infekcí jednalo.

V retrospektivní studii výskytu leptospirózy v České republice v letech 2002 – 2013 bylo vyšetřeno celkem 5840 pacientů se suspektní leptospirozou, z nichž bylo vyhodnoceno 101 osob (1,7%) jako pozitivní. Onemocnění bylo diagnostikováno častěji u mužů (n = 71; 70,3 %) než u žen (n = 30; 29,7 %). Maximum incidence bylo zaznamenáno v roce 2002 (celkem 21 osob) a 2005 (celkem 25 osob), kdy Českou republiku postihly jak rozsáhlé, tak lokální povodně. Nejvyšší počet pozitivních pacientů byl zaznamenán v měsíci listopadu (celkem 20 případů). Nejfrekventovanějším infikujícím typem byl v naší studii sérovar *Leptospira grippotyphosa* (n=43; 42,6 %).

Pro confirmaci výsledků real-time PCR analýzy byly využity metody mikroaglutinačního a ELISA testu. Vyšetřením 1553 příslušníků Armády České republiky bylo ELISA metodou na přítomnost specifických protilátek určeno ve třídě IgM 292 (18,8 %) a v IgG 392 (25,5 %) pozitivních osob. Naprostá většina pozitivních krevních sér byla s využitím 11 laboratorních kmenů patogenních leptospir používaných v České republice a nepatogenní *Leptospira biflexa* vyhodnocena metodou mikroaglutinačního testu jako negativní. U 26 krevních sér (1,7 %) byla zaznamenána slabá reakce v titrech 1:50 – 1:200