

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



## **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

# **Laboratorní diagnostika hepatitidy E – zkušenosti z rutinní laboratoře**

**Andrea Tužáková**

**Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Ondřej Jand'ourek, Ph.D.**

**Konzultant: MUDr. Miluše Kreidlová**

**HRADEC KRÁLOVÉ, 2024**

## **Poděkování**

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala konzultantce mé práce, paní doktorce Miluši Kreidlové. Bez jejích cenných rad, trpělivosti a odhodlání čelit všem úskalím, by tato práce nemohla vzniknout.

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

**V Hradci Králové 13.5 2024**

Andrea Tužáková

## Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Studijní obor: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví

Autor: Andrea Tužáková

Vedoucí práce: PharmDr. Ondřej Jand'ourek, Ph.D.

Název práce: Laboratorní diagnostika hepatitidy E – osobní zkušenosti z rutinní laboratoře

Tato práce se zabývá virovou hepatitidou E (VHE) komplexně, včetně teoretických a praktických aspektů. V teoretické části je podrobně představena VHE, včetně epidemiologie, genotypových variant, klinických příznaků, diagnostických metod, prevence a léčby. Jsou analyzovány epidemiologické trendy a prevalence VHE, genotypové varianty a jejich souvislost s klinickými projevy. V souvislosti s VHE jsou diskutovány různé diagnostické metody a terapeutické možnosti.

Hepatitida E je infekce jater způsobená virem hepatitidy E. Jedná se o jeden z pěti hlavních typů virových hepatitid: A, B, C, D, a E. Virus hepatitidy E se přenáší především fekálně-orální cestou, často prostřednictvím kontaminované vody nebo potravin. Může způsobit akutní onemocnění charakterizované žloutenkou (zežloutnutí kůže a očí), tmavou močí, únavou, bolestmi břicha a nechutenstvím. Většina případů hepatitidy E odezní sama během několika týdnů až měsíců, aniž by způsobila dlouhodobé poškození jater, ale v některých případech, zejména u těhotných žen nebo osob s již existujícím onemocněním jater, může vést k závažným komplikacím. Neexistuje žádná specifická léčba hepatitidy E, ale podpůrná léčba může pomoci zvládnout příznaky.

V praktické části byla provedena statistická analýza dat získaných z vyšetření pacientů s HEV. Byly analyzovány různé parametry, jako je věk, pohlaví a laboratorní výsledky za účelem pochopení charakteristiky pacientů s HEV a identifikace faktorů ovlivňujících závažnost onemocnění. Předložená zjištění jsou důležitým příspěvkem k lepšímu pochopení a léčbě virové hepatitidy E.

**Klíčová slova:** hepatitidy, hepatitida E, virus hepatitidy E, HEV, Western blot, ELFA

## Abstract

Charles University

Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove

Department of Biological and Medical Sciences

Study program: Specialist on Laboratory Methods

Author: Andrea Tužáková

Supervisor: PharmDr. Ondřej Jand'ourek, Ph.D.

Title thesis: Laboratory diagnosis of hepatitis E - personal experience in a routine laboratory

This thesis takes a comprehensive review of viral hepatitis E (VHE), including theoretical and practical aspects. In the theoretical part, the VHE is presented in detail, including epidemiology, genotypic variants, clinical symptoms, diagnostic methods, prevention and treatment. The epidemiological trends and prevalence of VHE are analysed, along with genotypic variants and their correlation with clinical manifestations. Various diagnostic modalities and therapeutic options in the context of VHE are discussed.

Hepatitis E is a liver infection caused by the hepatitis E virus. It is one of the five main types of hepatitis viruses: A, B, C, D, and E. Hepatitis E virus is transmitted mainly through the faecal-oral route, often *via* contaminated water or food. It can cause acute illness characterized by jaundice (yellowing of the skin and eyes), dark urine, fatigue, abdominal pain, and loss of appetite. Most cases of hepatitis E resolve on their own within a few weeks to months without causing long-term liver damage, but in some cases, particularly in pregnant women or people with pre-existing liver disease, it can lead to severe complications.

In the practical part, a statistical analysis of data obtained from examinations of patients with HEV was performed. Various parameters such as age, gender, clinical symptoms and laboratory results were analysed to understand the characteristics of patients with HEV and to identify factors influencing the severity of the disease. Findings provide an important contribution to better understanding and management of viral hepatitis E.

**Keywords:** hepatitises, hepatitis E, hepatitis E virus, HEV, Western blot, ELFA

## Obsah

1	Úvod .....	8
2	Zadání a cíl práce .....	9
3	Anatomie a fyziologie jater .....	10
4	Virová hepatitida E .....	11
4.1	Historie .....	11
4.2	Charakteristika viru .....	12
4.3	Epidemiologie .....	13
4.3.1	Genotyp 1 a 2 .....	14
4.3.2	Genotyp 3 a 4 .....	15
4.3.3	Genotypy 5, 6, 7 a 8 .....	16
4.4	Patofyziologie .....	16
4.5	Klinické příznaky infekce .....	17
4.6	Extrahepatální klinické příznaky infekce .....	18
4.7	Transplantace a transfuze .....	19
4.8	Infekce HEV během těhotenství .....	19
4.8.1	Imunita .....	20
4.8.2	Hormonální faktory .....	20
4.8.3	Virové faktory .....	21
5	Laboratorní diagnostika .....	22
5.1	Sérologické metody .....	22
5.2	Molekulárně-biologické metody .....	24
5.3	Antigenní testy .....	24
5.4	Vyšetření jaterních enzymů .....	25
6	Léčba a prevence .....	26
6.1	Léčba v ČR .....	26
6.2	Prevence .....	26
6.2.1	Očkování .....	27

7	Materiál a metodika.....	29
7.1	VIDAS® Anti-HEV IgM (HEVM) a Anti-HEV IgG (HEVG).....	29
7.2	RecomLine HEV IgG/IgM.....	30
7.3	ampliCube HEV 2.0 Quant.....	34
8	Praktická část .....	38
8.1	Výsledky .....	38
8.2	Rok 2019 .....	38
8.3	Rok 2020 .....	42
8.4	Rok 2021 .....	45
8.5	Rok 2022 .....	48
8.6	Rok 2023 .....	50
9	Diskuze.....	54
10	Závěr .....	60
11	Seznam zkratk .....	61
12	Seznam tabulek .....	63
13	Seznam obrázků.....	64
14	Seznam grafů .....	65
15	Použitá literatura.....	67

# 1 Úvod

Hepatitidy jsou skupinou zánětlivých onemocnění jater, která jsou způsobena různými virovými původci. Existuje několik typů hepatitid, z nichž nejznámější jsou hepatitidy A, B, C, D a E. Viry jako původci těchto onemocnění se liší svou cestou přenosu, závažností způsobených onemocnění a možnostmi léčby. Symptomy hepatitid mohou zahrnovat zvýšenou únavu, bolest břicha, zvracení, žloutnutí kůže a bělma očí (žloutenka) a další. Některé hepatitidy mohou vést k akutnímu zánětu jater, zatímco jiné mohou přejít do chronické formy a způsobovat vážné komplikace.

Virová hepatitida E představuje významný globální problém v oblasti infekčních onemocnění jater a stává se stále aktuálnějším tématem veřejného zdraví také u nás. I přesto, že je považována za nemoc spojenou zejména s rozvojovými zeměmi, její výskyt a dopad ale nejsou omezeny pouze na tyto regiony. V minulosti se onemocnění hepatitidou E často spojovalo s cestováním do zemí s horší kvalitou pitné vody, kde byl zaznamenán vyšší výskyt tohoto onemocnění. Postupně se však začalo šířit i mezi lidmi, kteří necestovali. Nárůst počtu hlášených případů lze vysvětlit nejen pokrokem v laboratorních diagnostických metodách, ale také zvýšenou informovaností lékařů. V posledních letech je v České republice každoročně hlášeno přibližně 200-400 případů virové hepatitidy E.



## **2 Zadání a cíl práce**

Tato bakalářská práce se zaměřuje na analýzu onemocnění způsobeného virem hepatitidy E a současně se věnuje metodám vyšetřování tohoto onemocnění v kontextu českého zdravotnického prostředí. Cílem této práce je poskytnout komplexní pohled na problematiku hepatitidy E především v České republice, přičemž se bude detailněji zabývat diagnostickými postupy, které jsou v současné době využívány ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze.

Důraz bude kladen na zhodnocení účinnosti dostupných diagnostických nástrojů, možné komplikace při diagnostice a současné trendy v oblasti výzkumu hepatitidy E.

Cílem této práce je tedy přispět k lepšímu porozumění hepatitidě E a tím k optimalizaci diagnostických postupů, což by mohlo vést k včasné identifikaci a eventuální léčbě pacientů s touto virovou infekcí.

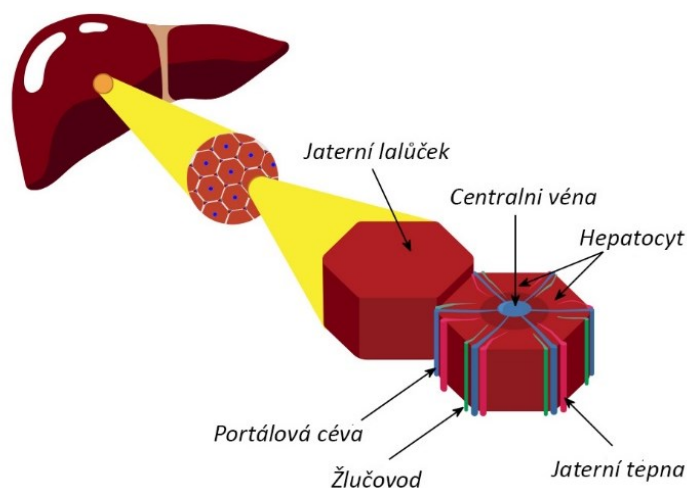
### 3 Anatomie a fyziologie jater

Játra představují exokrinní žlázu umístěnou na pravé straně pod bránicí. S průměrnou hmotností kolem 1,5 kg je nejtěžší žlázou lidského těla. Jejich vnější povrch má hnědočervenou barvu, je měkký a poddajný na dotek. Játra jsou relativně křehká, což je nebezpečné zejména při nárazech a otřesech, které mohou vést k jejich natržení a následnému závažnému krvácení v důsledku bohatého systému krevních cév, kterými jsou zásobeny. (Čihák, 2016)

Je to klínovitý orgán se dvěma laloky nestejně velikosti a povrch tohoto orgánu obaluje vazivové pouzdro (*capsula hepatis Glissoni*).

Za základní strukturální složku parenchymu je považován hepatocyt (Obrázek 1), což je jaterní buňka, která má polyedrický tvar a povrch pokrytý trámcově uspořádanými mikroklyky. Spojením hepatocytů vzniká lalůček centrální vény, který je označován za základní morfologickou jednotku. (Konrádová, 2000)

Játra mají v těle důležité funkce, které nezahrnují pouze tvorbu žluči a fetální hematopoézu, ale také rozsáhlou paletu metabolických procesů. Poté, co se živiny z potravy rozštěpí v tenkém střevě, jsou absorbovány a transportovány do jater prostřednictvím portální žíly. Zde se transformují na látky, které tělo využívá, jako je například glykogen a různé proteiny krevní plazmy nebo i proteiny spojené s homeostázou. Játra rovněž slouží jako zásobárna sacharidů, produkují ketolátky a podílejí se na regulaci metabolismu sacharidů a inaktivaci určitých hormonů. Důležitou rolí jater je i tvorba některých steroidních hormonů a účast na metabolických procesech týkajících se tuků. Dále produkují somatomediny, které umožňují růstovému hormonu z hypofýzy působit na určené tkáně. Kromě toho plní i detoxikační funkce, což je další důležitý aspekt jejich biologických procesů. (Čihák, 2016)



Obrázek 1 Schéma znázorňující strukturu šestibokých jaterních lalůčků a propojení jednotlivých jaterních cév.

(Zdroj: <https://www.nagwa.com/en/explainers/353190259376>)

## 4 Virová hepatitida E

Virus hepatitidy E (HEV), původce hepatitidy E, má malé, neobalené viriony, které obsahují jednořetězcový genom ribonukleové kyseliny (RNA). Virus má nejméně čtyři odlišné, klinicky významné genotypy, číslované od 1 do 4. Genotypy 1 a 2 infikují pouze člověka a jsou zodpovědné za většinu lidských onemocnění způsobené tímto virem v globálním měřítku; naproti tomu genotypy 3 a 4 kolují především mezi savci, včetně domácích prasat, divokých prasat, jelenů, a pouze příležitostně infikují člověka. Genotypy 1 a 2 jsou spojeny s rozsáhlými epidemiemi přenášenými vodou. Genotyp 3 byl identifikován v občasných malých ohniscích nákazy, jež mají původ v potravinách z rozvinutých zemí.

Není známo, jak dlouho virus přetrvává v životním prostředí. Zdá se, že virus je citlivý na působení tepla. Bylo prokázáno, že zahřátí na 60 °C po dobu několika minut inaktivuje velkou část částic HEV. Pitnou vodu lze pasterizací nebo převařením učinit bezpečnou a zabránit infekci HEV.

Bylo zjištěno, že několik ohnisek hepatitidy E, například v Alžírsku nebo Iráku, souviselo s neprovedením chlorace, což naznačuje, že ošetření chlórem je schopno usmrtit HEV a chrání tak před nákazou hepatitidou E. Ačkoliv neexistuje přímý důkaz, že chlór inaktivuje HEV, chlorace pitné vody s dostatečným množstvím zbytkového chlóru v místě spotřeby je i nadále vhodným zásahem chránícím veřejné zdraví. (World Health Organization, 2014)

### 4.1 Historie

Objev hepatitidy E je spojen s vyšetřováním epidemie hepatitidy v Kašmíru v roce 1978. Tato oblast, kde se nemoc vyskytla, byla ovlivněna velmi nepříznivými klimatickými podmínkami, neměla základní systém poskytování zdravotní péče a chyběla zde špičková vyšetřovací zařízení. V listopadu 1978 vyšetřoval Dr. Mohammad S. Khuroo epidemii žloutenky ve městě vzdáleném 50 km od Šrínagaru v Kašmíru v Indii a jeho okolí. Epidemie zasáhla dvě stě vesnic s 600 000 obyvateli, bylo zaznamenáno přibližně 52 000 případů onemocnění s ikterickým průběhem a způsobila 1700 úmrtí. Těhotné ženy byly postiženy více a mnoho z nich zemřelo. To vedlo k objevu enterálně přenosné hepatitidy typu non-A, non-B, která v Kašmíru vyvolávala opakované epidemie. Nemoc postihovala zejména mladé dospělé ve věkové skupině 15 až 45 let. Jedním z pozoruhodných objevů během studie byl vztah této nemoci k těhotenství. Původce se přenášel vertikálně s vysokou fetální a perinatální úmrtností. Onemocnění bylo samovolně vyléčitelné a nezpůsobovalo chronickou virémii, chronickou hepatitidu a cirhózu.

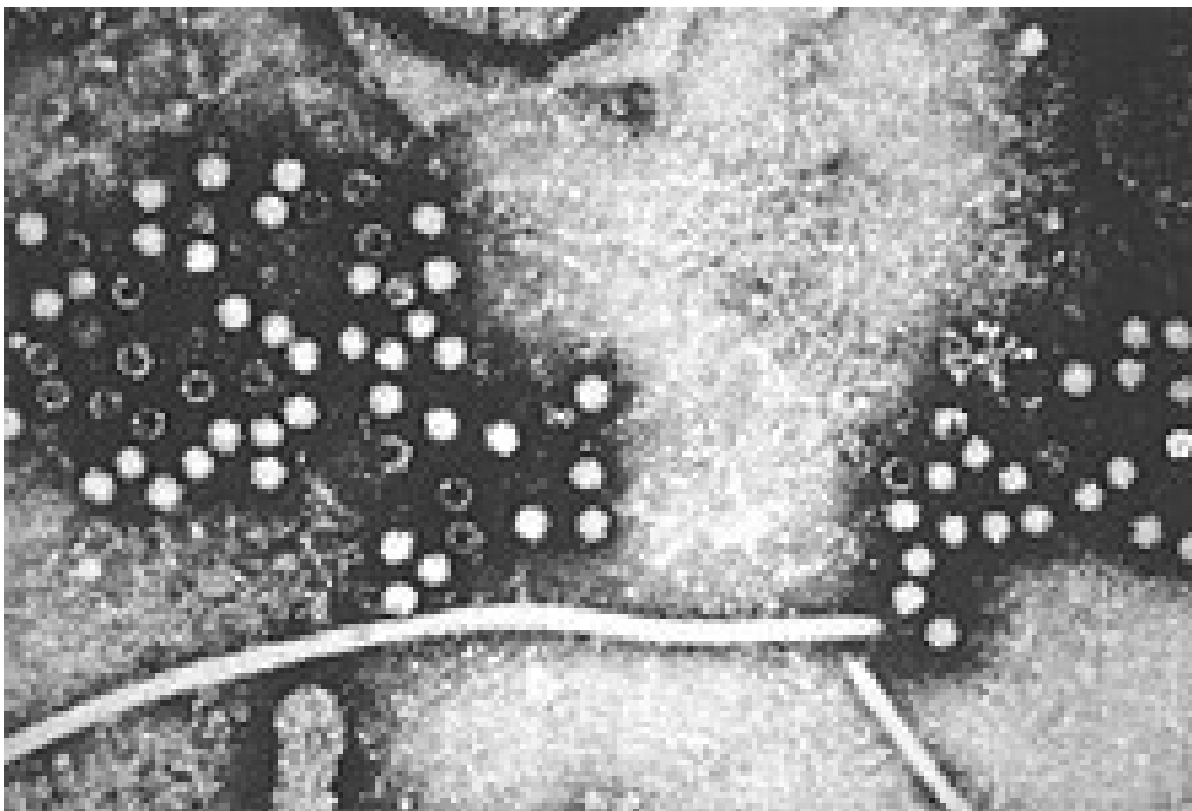
U ruských vojáků vyslaných do Afghánistánu byla také hlášena epidemie non-A, non-B hepatitidy. Epidemie měla podobné epidemiologické rysy jako epidemie v Kašmíru v roce

1978. Dr. Michail S. Balajan při vlastním experimentu požil směsné výtažky ze stolice 9 takových pacientů. 36. den po požití výtažků ze stolice se u něj rozvinula těžká akutní hepatitida se žloutenkou a zvýšenými jaterními testy. Ve vzorcích stolice z 28., 43. a 45. dne byly při imunoelektronové mikroskopii zjištěny částice podobné virům. (Khuroo et al., 2016)

Virus nebylo možné po řadu let klonovat kvůli nízké výtěžnosti v infekčním materiálu. To bylo překonáno základním poznatkem, že se velké množství viru vyskytuje ve žluči odebrané infikovaných primátů, a bylo provedeno částečné klonování viru. Následně byl sekvenován genom HEV a byl vytvořen diagnostický test založený na enzymové imunanalýze. (Hepatitis E: Discovery, global impact, control and cure, 2016)

## 4.2 Charakteristika viru

HEV patří do čeledi *Hepeviridae* a je jediným členem rodu *Orthohepevirus*. HEV je malý neobalený RNA virus o průměru 27-34 nm (Obrázek 2).

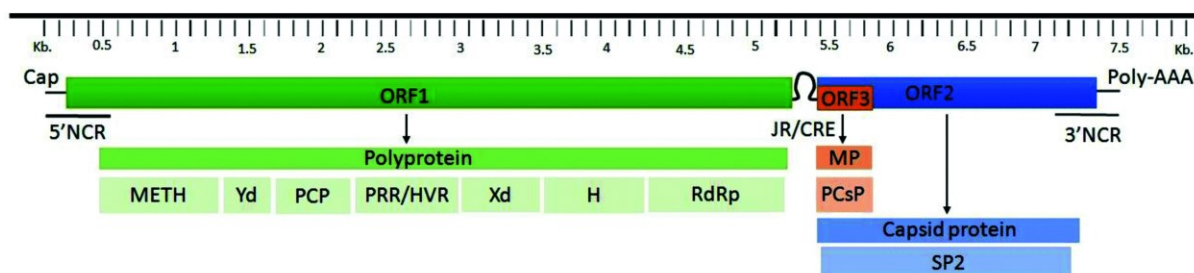


Obrázek 2. Elektronová mikrofotografie virů hepatitidy E.

Tato transmisní elektronová mikrofotografie zobrazuje četné viry hepatitidy typu E (HEV), známé také jako ortohepevirus A, které patří do čeledi virů *Hepeviridae*. HEV je kulovitý, neobalený, jednovláknový RNA virus o průměru přibližně 32-34 nm.

(Zdroj: <https://phil.cdc.gov/details.aspx?pid=5605>)

Jeho genom je lineární jednovláknová RNA (Obrázek 3) s délkou přibližně 7,2 kb. Tento genom má krátkou 5'-nepřekládanou oblast (untranslated region, UTR) s methylguaninovým koncem, tři otevřené čtecí rámce (open reading frame, ORF) a polyadenylovaný 3-UTR. ORF1 má několik konzervovaných domén, z nichž např. některé kódují nestrukturální proteiny potřebné pro virovou replikaci: předpokládanou metyltransferázu (MT), cysteinovou proteázu podobnou papainu (PCP), helikázu (H) a RNA-dependentní RNA polymerázu (RNA-dependent RNA polymerase – RdRp). ORF2 kóduje virový kapsidový protein, zatímco ORF3 kóduje malý proprotein asociovaný s cytoskeletem. (Al-Sadeq *et al.*, 2018)



Obrázek 3. Schematický diagram genomu viru hepatitidy E.

Jednovláknová RNA s délkou přibližně 7,2 kb. Tento genom má krátkou 5'-nepřekládanou oblast s methylguaninovým koncem, tři otevřené čtecí rámce a polyadenylovaný 3-UTR.

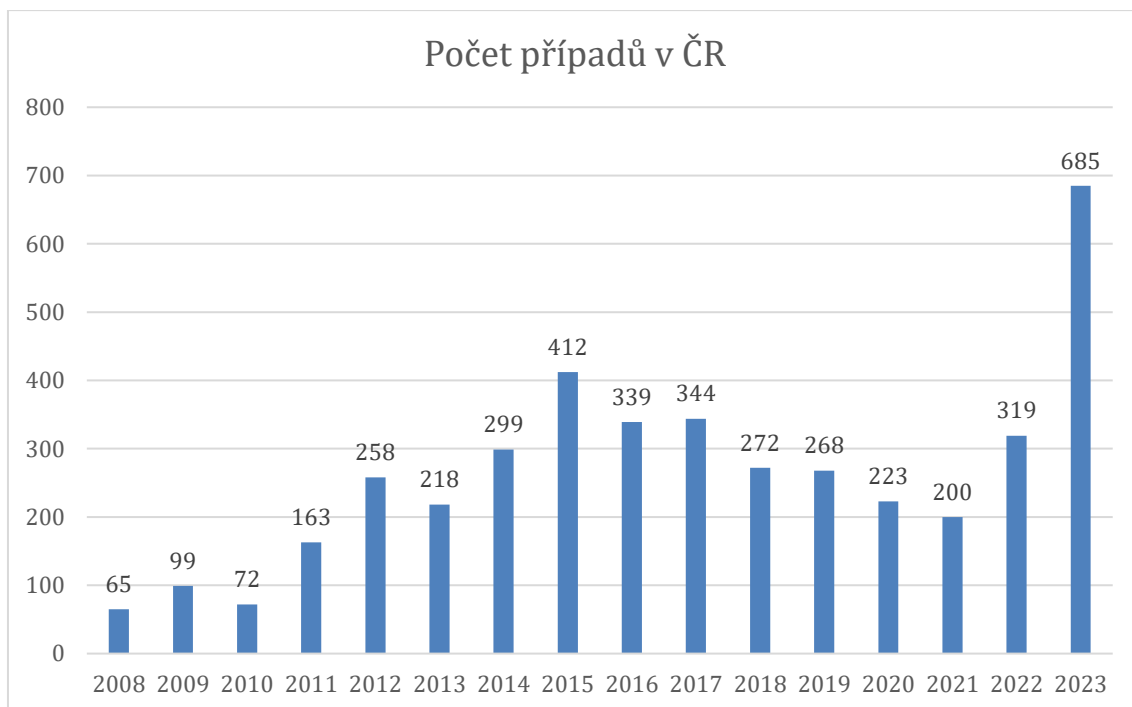
(Zdroj: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.000706>)

### 4.3 Epidemiologie

HEV1 a HEV2 infikují pouze lidi a vyskytují se převážně v zemích s nízkými a středními příjmy v Africe a Asii (HEV1 a 2) a v Mexiku (HEV2). Přenášejí se fekálně-orální cestou, zejména v prostředí s omezenými zdroji pitné vody a špatnými hygienickými podmínkami; možný je také přenos z člověka na člověka (včetně přenosu z matky na dítě). HEV1 a 2 způsobují sezónní epidemie i izolované nebo ojedinělé infekce obvykle přenášené prostřednictvím pitné vody kontaminované odpadními vodami. HEV3 a 4 se vyskytují v Severní a Jižní Americe (HEV3), Evropě (HEV3 a 4) a Asii (HEV3 a 4). Tyto viry mají širší spektrum hostitelů a způsobují sporadické přenosy ze zvířat na lidi. Mezi zvířecí hostitele HEV3 a HEV4 patří domestikovaná prasata, divoká prasata, králci, jeleni, mangusty, a domácí psi a kočky. V endemických oblastech mají lidé žijící v úzkém kontaktu s infikovanými zvířaty, jako jsou pracovníci na farmách a ošetřovatelé zvířat, relativně vysoké riziko nákazy VHE. Lidé se mohou nakazit i konzumací nedostatečně tepelně zpracovaného masa (zejména vepřového, ale také kančího, králíčího a jeleního), mléka nebo syrových měkkýšů. Méně často a většinou právě v endemických oblastech typických pro všechny čtyři

genotypy HEV se může infekce přenášet také parenterálně krevní transfuzí, orgánovou transplantací nebo vertikálně z infikovaných matek na plod. (Diagnosis of Hepatitis E Virus Infection: Current Capabilities and Shortcomings, 2023)

V posledních letech došlo v České republice k nárůstu výskytu virové hepatitidy E (Graf 1), což odpovídá trendu pozorovanému v rozvinutých zemích Evropy a Severní Ameriky. Jedním z nejčastěji identifikovaných genotypů viru v poslední dekádě je genotyp 3. Tento nárůst incidence virové hepatitidy E v České republice může být spojen s řadou faktorů, včetně změn ve stravovacích návycích, cestování do regionů s vyšší prevalencí viru a rozšíření genotypů viru v populaci. (Virová hepatitida E (žloutenka typu E), 2024)



Graf 1. Trend onemocnění akutní HEV v České republice v letech 2008 až 2023.

(Zdroj: <https://www.nzip.cz/clanek/1322-virova-hepatitida-e-zloutenka-typu-e>)

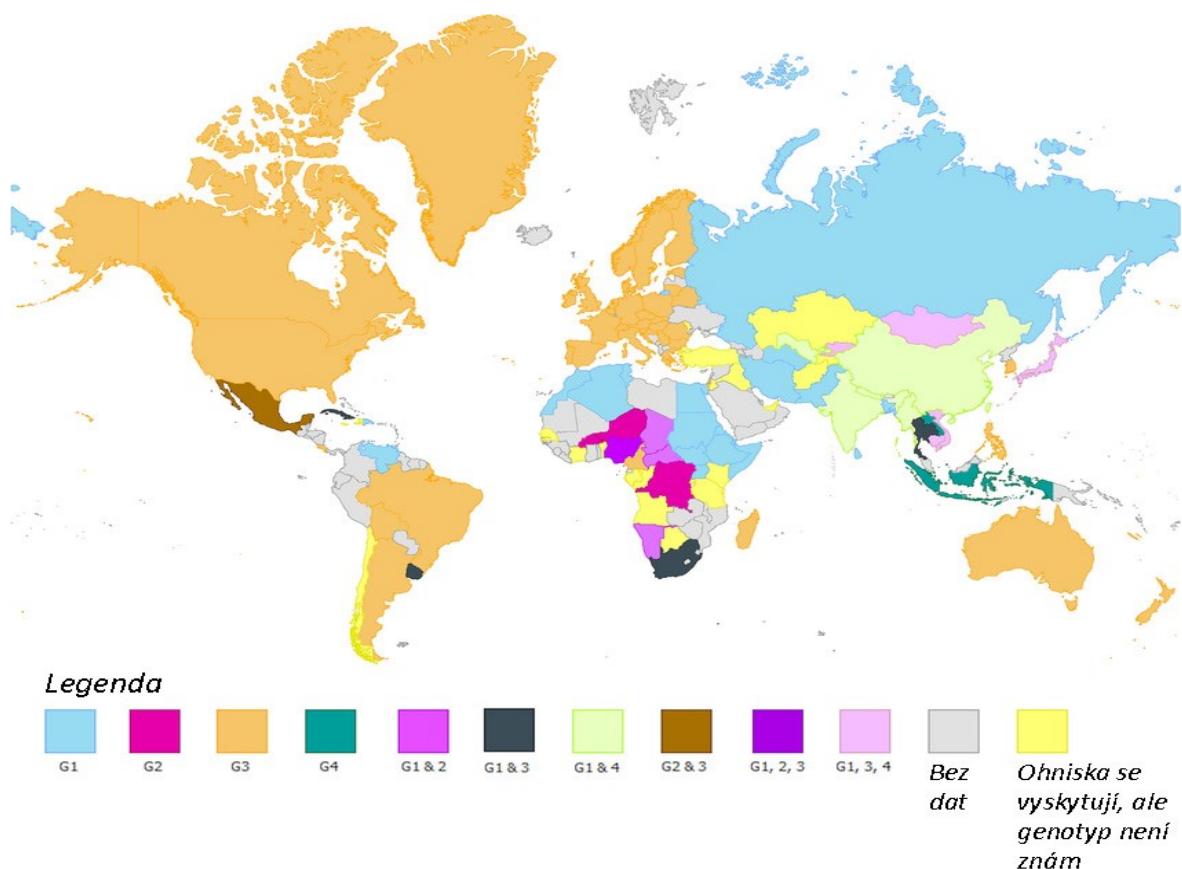
#### 4.3.1 Genotyp 1 a 2

Přestože infekce spojené s genotypy HEV1 a HEV2 obvykle vedou k akutní virové hepatitidě, která se často vyřeší sama, tyto infekce stále představují významné riziko pro veřejné zdraví v zemích s nízkými příjmy. Podle matematického modelu z roku 2005 bylo odhadováno, že tyto genotypy jsou zodpovědné za 20,1 milionu nových infekcí ročně v Asii a Africe, přičemž z toho bylo 3,4 milionu symptomatických případů hepatitidy E, 70 000 úmrtí způsobených akutním selháním jater a 3000 mrtvě narozených dětí. Přenos HEV1 a HEV2 z člověka na člověka je vzácný v jak sporadickém, tak i epidemickém prostředí, zatímco vertikální přenos z matky na plod během těhotenství je dobře znám. Navíc byl zaznamenán

i přenos HEV1 krevní transfuzí. Přestože mechanismy nejsou zcela známy, úmrtnost na akutní infekci HEV1 nebo HEV2 u těhotných žen a kojenců je výrazně vysoká. (Tarik Aslan, Yasemin Balaban, 2020)

### 4.3.2 Genotyp 3 a 4

Infekce způsobené HEV3 a HEV4 se šíří především prostřednictvím zoonotického přenosu, který probíhá blízkým stykem s nakaženými zvířaty nebo konzumací kontaminovaných potravin (často syrového nebo nedostatečně tepelně upraveného masa). Hlavním zdrojem těchto genotypů jsou prasata domácí, přítomnost byla zjištěna také u divokých prasat, králíků, koz, ovcí, jelenů, koní, koček a psů. Ve velkém množství lze virus detekovat také ve výkalech asymptomatických zvířat a v mléce infikovaných krav. Kromě toho může být předpokládanou cestou přenosu HEV ovoce a zelenina mytá kontaminovanou vodou. S ohledem na způsoby šíření HEV3 a HEV4 bylo vyzorováno, že zemědělci, veterináři a osoby pracující v jatkách jsou náchylnější k infekci HEV než běžná populace. (Tarik Aslan, Yasemin Balaban, 2020)



Obrázek 4. Zeměpisné rozšíření genotypů HEV 1-4.

Tento obrázek ukazuje genotypy HEV, které jsou endemické pro každou zemi.

(Zdroj: [https://www.researchgate.net/figure/The-geographical-distribution-of-HEV-genotypes-1-4-This-figure-shows-the-genotypes-of\\_fig1\\_350168078](https://www.researchgate.net/figure/The-geographical-distribution-of-HEV-genotypes-1-4-This-figure-shows-the-genotypes-of_fig1_350168078))

Ve vyspělých zemích je nejčastěji vyskytujícím se genotypem viru HEV3. Nicméně, v posledních desetiletích HEV4 získal významnou pozornost v Číně, Japonsku, na Tchajwanu, v Hongkongu a v Jižní Koreji. V Evropě se výskyt infekcí HEV liší v závislosti na regionech. Zvláště v jihozápadní Francii je HEV3 vysoce rozšířen s extrémně vysokou mírou přítomnosti viru (> 50 %). Stejně tak je HEV3 endemický v severní Francii, Belgii, Nizozemsku a Německu, kde míra předchozí expozice HEV může dosáhnout až 30 %. (Aspinall, 2017)

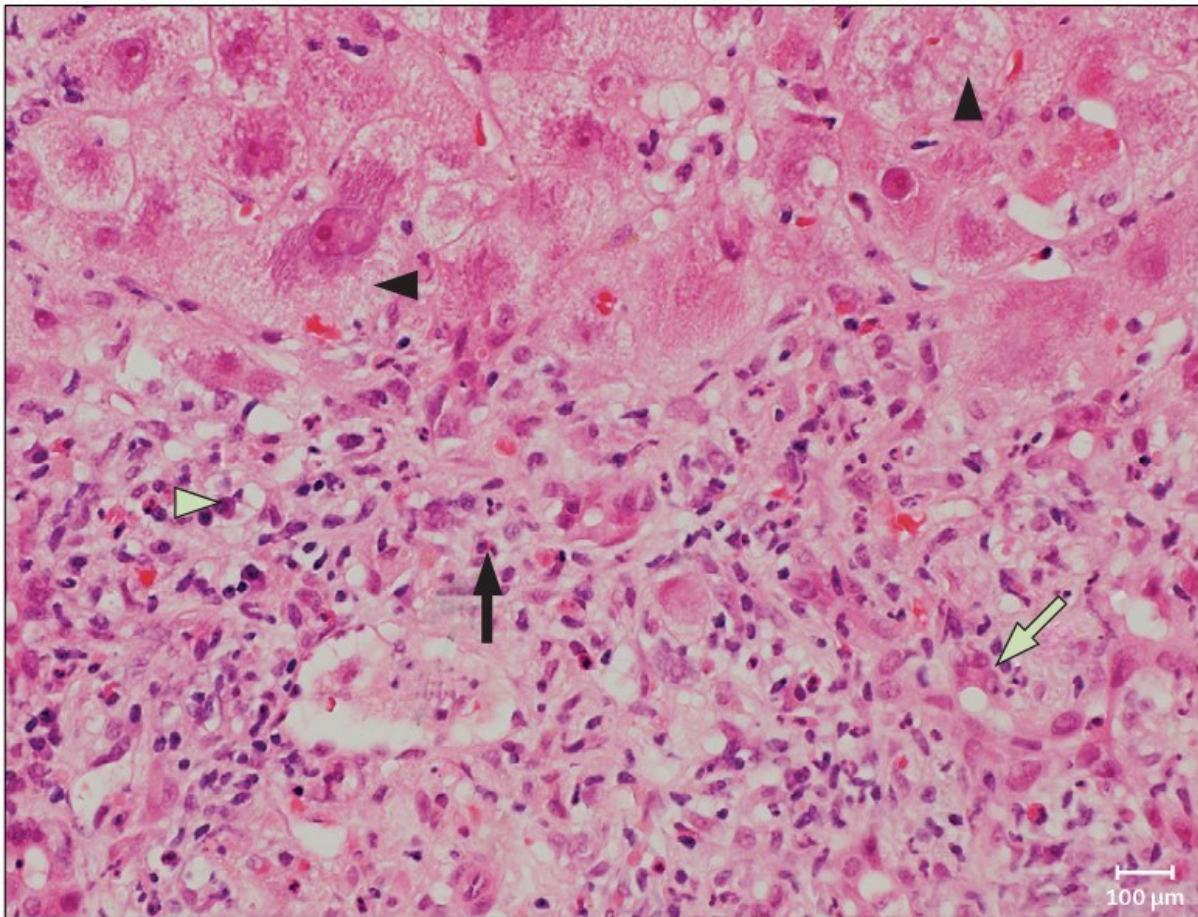
### **4.3.3 Genotypy 5, 6, 7 a 8**

HEV5 a HEV6 byly dosud hlášeny pouze u divokých prasat a nejsou spojovány s infekcemi u lidí. HEV7 a HEV8 byly zjištěny u velbloudů. V roce 2016 byl HEV7 poprvé zjištěn u pacienta pravidelně konzumujícího velbloudí mléko a maso ze Spojených arabských emirátů. (Tarık Aslan, Yasemin Balaban, 2020)

## **4.4 Patofyziologie**

Přesný proces, při kterém HEV způsobuje infekci, je stále nejasný. Předpokládá se, že se přenáší fekálně-orální cestou, ale jak se dostane do jater, zůstává záhadou. Existuje možnost, že se virus replikuje v místech mimo játra, a teprve poté do nich migruje. Důkazy naznačují, že RNA HEV, která svědčí o replikaci viru, byla nalezena na různých místech, jako je tenké střevo, lymfatické uzliny, tlusté střevo a játra prasat, což naznačuje právě mimojaterní replikaci. Jakmile se HEV dostane do jater, replikuje se v cytoplazmě hepatocytů a uvolňuje se do krve a žluči. Poškození jater infekcí HEV může být zprostředkováno imunitním systémem, který zahrnuje cytotoxické T-lymfocyty a NK buňky, protože HEV sám o sobě není pro jaterní buňky přímo škodlivý (Obrázek 5). Virus se vylučuje stolicí. (Lhomme *et al.*, 2016)





Obrázek 5. Histologie jater pacienta s akutní autochtounní hepatidou E (zvětšení 200x).

Řez ukazuje rozšíření portálních cest intenzivním smíšeným zánětlivým infiltrátem s občasnými lymfoidními agregáty a proliferací žlučových cest (světle zelená šipka; barvení hematoxylinem a eozinem). Zánětlivý infiltrát je tvořen lymfocyty, včetně plazmatických buněk (světle zelená hlava šipky) a polymorfonukleárů, včetně eozinofilů (černá šipka). Periportální hepatocyty vykazují určitou balónovitou degeneraci (černá hlava šipky).

Zdroj: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S147330990870255X>

#### 4.5 Klinické příznaky infekce

V naprosté většině případů je akutní infekce HEV (bez ohledu na genotyp původce) klinicky němá. Pokud se přece jen projeví klinicky, průběh je podobný jako u jiných virových hepatitid, začíná krátkou nespecifickou prodromální fází s příznaky podobnými chřipce, myalgií a malátností, následovanou žloutenkou, svěděním a tmavou močí. Nejvyšší hladina alaninaminotransferázy (ALT) v séru se objevuje přibližně 6 týdnů po infekci; inkubační doba symptomatické akutní HEV infekce se pohybuje mezi třemi a osmi týdny. Varianty onemocnění v tropických a endemických oblastech (HEV1 a HEV2) jsou spojeny s agresivnějším biochemickým a klinickým projevem, přičemž 16 % osob nakažených virem vykazuje příznaky akutní zánětlivé hepatitidy ve srovnání s pouhými 2 % nakažených virem HEV3 nebo HEV4. (Chauhan *et al.*, 2011) Progrese akutní infekce HEV do fulminantního

selhání jater zůstává vzácná. (Rein, 2011) Někteří autoři vzhledem k možné podobnosti projevů doporučují testovat všechny případy podezření na léky indukované poškození jater též na infekci HEV.

#### 4.6 Extrahepatální klinické příznaky infekce

Přesné mechanismy, které stojí za těmito extrahepatálními příznaky zůstávají nejasné. Infekce HEV se spojuje s různými mimojaterními projevy, jako jsou neurologické příznaky, hematologické poruchy, onemocnění ledvin, akutní pankreatitida, myokarditida, artritida a autoimunitní tyreoiditida (Tabulka 1). Je možné, že virové infekce spouští různé obranné mechanismy v těle hostitele, které nejsou omezeny pouze na místo primární infekce. To může vést k reakcím mezi virovými epitopy a vlastními antigeny, což může způsobit projevy v různých částech těla. Dalším možným vysvětlením je, že HEV se replikuje nejen v játrech, ale také v jiných tkáních. (Fousekis *et al.*, 2020)

Tabulka 1. Seznam extrahepatálních příznaků infekce HEV.

Systémové projevy	Projevy
Neurologický systém	Guillainův-Barrého syndrom
	Neuralgická amyotrofie
	Encefalitida
	Myelitida
	Vestibulární neuritida
	Periferní neuropatie
	Bellova obrna
	Mononeuritis multiplex
Hematologický systém	Trombocytopenie
	Monoklonální gamapatie nejistého významu
	Hemolytická anémie
	Aplastická anémie
	Hemofagocytární syndrom
	Trombotická trombocytopenická purpura
Ledviny	Kryoglobulinemie
	Membranoproliferativní glomerulonefritida
Pankreas	Akutní pankreatitida

## 4.7 Transplantace a transfuze

U pacientů s oslabeným imunitním systémem však více než 60 % infekcí přechází do chronické formy a u 10 % z nich se vyvine cirhóza do dvou let. U imunokompetentních jedinců obvykle akutní infekce HEV nakonec sama vymizí. Stejně tak je u příjemců transplantátů (ledviny, srdce a slinivky břišní), nemocných s lymfomem a leukémií, vyšší pravděpodobnost přechodu infekce HEV do chronického stavu. Od prvního případu chronické infekce HEV u pacienta po transplantaci jater hlášeného v roce 2008, bylo provedeno mnoho studií zkoumajících imunopatologii, klinické důsledky a léčebné režimy u těchto kriticky nemocných pacientů. (Thakur *et al.*, 2020)

Bylo prokázáno, že mnoho dárců krve bylo infikováno HEV a že HEV byl přenesen z člověka na člověka krevní transfuzí. Mezi dárci krve bylo 16 % séropozitivních ve Spojených státech a jihozápadní Anglii, 21 % v Dánsku, 52 % v jihovýchodní Francii, 7 až 30 % v Německu a 29,4 % ve Švýcarsku. Přenos HEV krevní transfuzí může být pro příjemce nebezpečný. (Denner, 2019) Screening dárců krve je možný ale není běžný, ekonomické náklady jsou příliš vysoké. Alternativou plošného screeningu může být screening selektivní, prováděný u odběrů krve určených k transfuzi rizikovým pacientům. (Domanović *et al.*, 2017) V ČR dárci krve nejsou testováni na přítomnost HEV.

## 4.8 Infekce HEV během těhotenství

Podle většiny klinických studií a kazuistik z rozvojových zemí je infekce HEV spojena s vysokou incidencí a úmrtností (především v důsledku fulminantní hepatitidy) u těhotných žen. Prospektivní terénní studie provedená Khuroo *et al.* ukázala, že hepatitida E se rozvinula u 36 (17,3 %) z 208 těhotných žen ve srovnání se 71 (2,1 %) z 3350 netěhotných žen a 107 (2,8 %) z 3822 mužů. (Wu *et al.*, 2020)

Tato studie poprvé odhalila, že výskyt hepatitidy E a míra onemocnění jsou vyšší u těhotných žen než u netěhotných žen a mužů. Studie naznačily, že těhotné ženy, zejména ve druhém a třetím trimestru, jsou během epidemií postiženy častěji než běžná populace. Různé studie z různých oblastí indického subkontinentu uvádějí, že míra prevalence HEV u akutní virové hepatitidy během těhotenství se pohybovala od 58 do 86 %. Infekce HEV může mít za následek až 30% úmrtnost těhotných žen ve třetím trimestru. HEV1 a HEV2 jsou pravděpodobně zodpovědné za většinu epidemií HEV, protože se jedná o nejrozšířenější genotypy v rozvojových zemích. Kromě toho je infekce HEV v těhotenství spojena také s vysokou mírou předčasného porodu a vertikálního přenosu. S infekcí HEV u těhotných žen souvisí také častý výskyt dalších komplikací, jako je diseminovaná intravaskulární koagulopatie. V průmyslově vyspělých zemích je hlášeno jen několik případů u těhotných žen;

s těmito případy jsou spojeny HEV3 a HEV4. Na rozdíl od HEV1 a HEV2 se nezdá, že by HEV3 a HEV4 způsobovaly smrtelné infekce hepatitidy u těhotných žen. (Wu *et al.*, 2020)

Mihalčín a Husa uvádí „V ČR nebyla pozorována u těhotných žen vyšší morbidita ani komplikace.“ (Mihalčín, Husa, 2019)

Kombinace jiných virových infekcí s infekcí HEV může zvýšit úmrtnost. Odhaduje se, že u pacientů trpících chronickým onemocněním jater (např. infekcí virem hepatitidy B) tyto infekce často progredují do jaterního selhání s 27 % úmrtností. U těhotných žen s chronickou koinfekcí virem hepatitidy C bylo pozorováno výrazné zvýšení seropozitivity anti-HEV IgG a významné zhoršení biochemických jaterních ukazatelů. Proto je třeba věnovat více úsilí zkoumání epidemiologie jiných virových infekcí v kombinaci s infekcí HEV v těhotenství. (Wu *et al.*, 2020)

#### 4.8.1 Imunita

Mechanismy závažného poškození jater v důsledku infekce HEV u těhotných žen nejsou známy. Podle předchozích studií mohou se závažností onemocnění souviset jedinečné vlastnosti těhotných žen, jako je změněná imunita, hladiny hormonů a virové faktory, například heterogenita a varianty genomu HEV.

Během těhotenství musí mateřský imunitní systém vyvažovat potřebu udržovat silnou imunitní reaktivitu k ochraně matky i plodu, před invazivními patogeny a tolerovat vysoce imunogenní otcovské aloantigeny k udržení integrity plodu. Imunitní změny, ke kterým dochází během těhotenství, jsou proto značně komplexní. Longitudinální studie ukázala, že ve srovnání s obdobím po porodu se během těhotenství snižuje počet a aktivita NK buněk a T-buněk, zatímco monocytů, granulocytů a dendritických buněk v periferní krvi během těhotenství přibývá, což naznačuje, že adaptivní imunitní reakce jsou oslabeny, zatímco vrozené imunitní reakce jsou během těhotenství posíleny. Vzhledem k těmto okolnostem mohou být těhotná matka a plod chráněni před rozvojem infekce. Po infekci však může dojít ke zhoršení clearance patogenu, což má za následek zvýšenou závažnost onemocnění, zejména u infekcí, jako je chřipka, infekce cytomegalovirem, těžký akutní respirační syndrom, nákaza virem *Varicella zoster*, malárie a infekce virem *Herpes simplex*, u nichž je důležitá buňkami zprostředkovaná imunita. (Wu *et al.*, 2020)

#### 4.8.2 Hormonální faktory

S postupujícím těhotenstvím se dramaticky mění hladiny hormonů, jako jsou progesteron, estrogen a lidský choriový gonadotropin (HCG), které jsou výrazně vyšší než kdykoli jindy, což může rovněž přispívat k nepříznivému vývoji infekce. Zvýšený estradiol v séru těhotných žen infikovaných HEV podporuje replikaci viru, což může souviset se špatnou

prognózou. Kromě toho bylo zjištěno, že vysoká hladina estrogenu souvisí s předčasným porodem, nízkou porodní hmotností dětí a úmrtností plodu v důsledku dysfunkce placenty u těhotných žen s HEV infekcí. (Wu *et al.*, 2020)

### **4.8.3 Virové faktory**

Mezi různými genotypy HEV jsou zjištěny variace v míře mateřské morbidity a mortality. Z aktuálních dat vyplývá, že nejčastěji spojené s těmito komplikacemi v těhotenství jsou genotypy HEV1 a HEV2. Naopak, genotypy HEV3 a HEV4 nevykazují významnou souvislost s vyšší závažností hepatitidy E u těhotných žen. (Wu *et al.*, 2020)

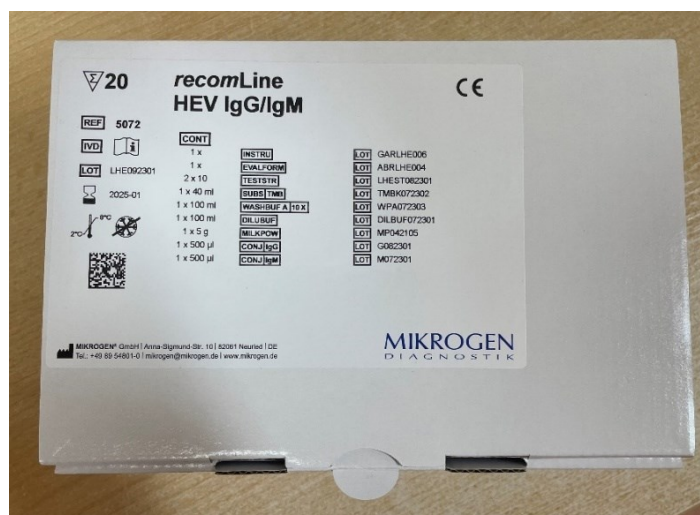
## 5 Laboratorní diagnostika

Klinické příznaky virové hepatitidy E a výsledky biochemických testů samy o sobě nedokáží definitivně potvrdit diagnózu infekce HEV, avšak jsou cenným nástrojem pro identifikaci počátku a stádia infekce. Optimální diagnostika vyžaduje kombinaci molekulárních a sérologických technik, které umožňují nejen potvrzení infekce, ale také sledování odezvy na léčbu u pacientů trpících chronickou formou infekce. Pro detekci hepatitidy E jsou k dispozici různé sérologické a molekulárně-biologické metody, které umožňují stanovení specifických protilátek proti HEV, identifikaci virových proteinů nebo genomu patogenu.

### 5.1 Sérologické metody

Testy, které zjišťují přítomnost nebo měří koncentraci cirkulujících specifických protilátek proti HEV, jsou základem diagnostiky HEV, díky své relativní jednoduchosti a nízké ceně ve srovnání s testy detekujícími HEV RNA. Většina dosud popsaných sérologických testů HEV detekuje protilátky anti-HEV IgG nebo IgM v séru nebo plazmě. Testy anti-HEV jsou komerčně dostupné od několika různých výrobců, z nichž některé jsou označeny CE-IVD, ale žádný z nich nebyl schválen americkým úřadem U.S. Food and Drug Administration. Testy na protilátky mohou být prováděny ve formě enzymových imunoanalýz (ELISA), nebo ve formátu rychlých testů s laterálním průtokem.

Rychlé testy s laterálním průtokem, často označované jako testy typu "lateral flow" (Obrázek 6), jsou diagnostické testy navržené k rychlé detekci cílových látek. Tyto testy jsou obvykle jednoduché na použití a nevyžadují speciální vybavení, což je činí vhodnými pro terénní použití nebo rychlé screeningové účely.

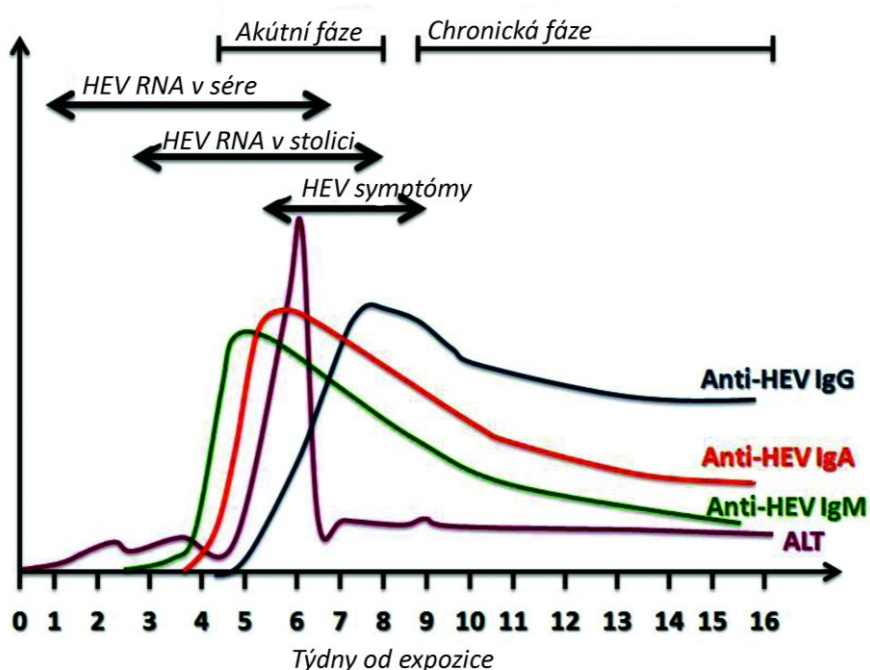


Obrázek 6. Mikrogen Diagnostik recomLine HEV Lateral Strip Test Kit

(Zdroj: Vlastní)

Výkonnostní charakteristiky testů anti-HEV jsou různé, zejména pokud jde o citlivost. Kalibrace anti-HEV IgG pomocí referenčního činidla WHO pro protilátky proti HEV situaci poněkud zlepšila. (Diagnosis of Hepatitis E Virus Infection: Current Capabilities and Shortcomings, 2023)

Anti-HEV IgM séropozitivita předchází tvorbě IgG, dosahuje vrcholu ve stejnou dobu jako vrchol ALT a trvá až 4-6 měsíců po počátečním nástupu onemocnění; protilátky IgG se naopak objevují až po IgM, ale mohou přetrvávat i déle než rok (Graf 2). Může se ale také stát, že vymizí před uplynutím jednoho roku. (Khudyakov, Kamili, 2019)



Graf 2. Graf znázorňující tvorbu markerů v průběhu infekce HEV.

RNA HEV lze detekovat velmi brzy v akutním průběhu infekce a začíná klesat v séru na nedetekovatelné hladiny 5-6 týdnů po infekci. Následně se začne objevovat ve stolici přibližně po 2 týdnech po infekci. RNA je detekovatelná pouze v akutní fázi infekce, což ji činí specifitější pro akutní infekci a výhodnější než sérologická detekce protilátek, které jsou rovněž detekovány v akutním, ale i rekonvalescentním období. První vytvářenou protilátkou anti-HEV je IgM, která může přetrvávat až 6 měsíců po infekci. IgA se vytváří po IgM a je detekovatelný asi 1 měsíc po vypuknutí infekce. Detekce IgM a IgA tedy indikuje akutní infekci HEV. Jako poslední jsou detekovatelné IgG, jejichž hladina přetrvává déle než IgM a IgA. Kromě toho lze jako užitečný nástroj při diagnostice infekce HEV použít ALT, jaterní markerový enzym.

(Zdroj: [https://www.researchgate.net/figure/A-graph-illustrating-the-pathogenic-events-throughout-the-course-of-HEV-infection-HEV\\_fig1\\_323439561](https://www.researchgate.net/figure/A-graph-illustrating-the-pathogenic-events-throughout-the-course-of-HEV-infection-HEV_fig1_323439561))

Většina antigenů používaných k detekci HEV je odvozena od proteinů kódovaných v oblasti ORF2, která kóduje i kapsidový protein. Geny z regionu ORF3 sice kapsidový protein nekódují, ale antigeny zde kódované jsou detekovatelné v séru během akutního průběhu infekce a tím pádem se mohou také použít v diagnostice. (Al-Sadeq *et al.*, 2018)

## 5.2 Molekulárně-biologické metody

Detekce virové RNA v krvi je považována za zlatý standard průkazu aktivní virové replikace. Většina testů na HEV RNA je založena na kvantitativní reverzně transkripční polymerázové řetězové reakci (PCR) v reálném čase (RT-PCR) a je velmi citlivá. Vzhledem k tomu, že testy RT-PCR jsou navrženy tak, aby amplifikovaly a detekovaly specifické sekvence ve virovém genomu, hrozí u nich riziko snížené citlivosti nebo dokonce falešně negativních výsledků u pacientů infikovaných virovými variantami, které nesou sekvenční změny, jež ruší vazbu primeru nebo sondy. Strategií, která může toto riziko zmírnit, je cílení na vysoce konzervované oblasti a použití degenerovaných primerů. Virová RNA je první biomarker, který je detekovatelný po uplynutí inkubační doby, následovaný virovým antigenem. Poté se v séru objeví protilátky anti-HEV IgM a následně IgG. Koncentrace IgM klesají rychleji než IgG a obvykle se stávají nedetekovatelnými 3 až 4 měsíce po jejich prvním nálezu. Současné testování obou typů protilátek, stejně jako virové RNA nebo antigenu může poskytnout informaci o přibližné délce trvání infekce. Pokud lze získat více měření v průběhu času, může posouzení, zda se hladiny IgM nebo IgG zvyšují nebo snižují. U imuno-kompromitovaných jedinců však může být tvorba protilátek opožděná nebo k ní vůbec nedochází, takže k diagnostice infekce HEV je nutná detekce virové RNA. U některých pacientů mohou protilátky anti-HEV IgM přetrvávat i několik měsíců. V situacích, kdy je přístup k testování RNA omezený, byl navržen multifaktoriální model pro identifikaci akutní infekce, který využívá anti-HEV IgM, virový antigen a hladiny ALT. (Diagnosis of Hepatitis E Virus Infection: Current Capabilities and Shortcomings, 2023)

## 5.3 Antigenní testy

Detekce HEV antigenu (Obrázek 7) může být důležitým indikátorem aktivní viremie při akutní infekci virem hepatitidy E, což platí jak pro pacienty s akutní virovou hepatitidou, tak pro ty s akutním jaterním selháním. Tato detekce může sloužit jako alternativa k metodě HEV RT-PCR, zejména u pacientů s oslabenou imunitou, kteří nemohou zareagovat dostatečnou imunitní reakcí a přímý průkaz patogenu je u nich zásadní. V těhotenství může být detekce antigenu užitečná pro rychlé zahájení adekvátní léčby. Kromě toho může být cenným, levným a rychlým diagnostickým testem při podezření na komunitní výskyt HEV infekce, a tím napomáhat časnějšímu odhalení subklinických případů a omezit šíření infekce. Detekce antigenu HEV v séru však nekoreluje se závažností jak u pacientů s akutní virovou hepatitidou s HEV, tak u pacientů s akutním jaterním selháním. (Mishra *et al.*, 2016) V rutinní praxi se v ČR metoda antigenního testování nepoužívá.





Obrázek 7. OnSite HEV IgM Rapid Test

Laterální průtoková chromatografická imunoanalýza pro kvalitativní detekci IgM protilátek proti viru hepatitidy E v lidském séru nebo plazmě.

(Zdroj: <https://store.athenesedx.com/product/hev-igm-rapid-test/>)

#### 5.4 Vyšetření jaterních enzymů

K diagnostice jaterních poruch lze využít měření aktivity různých enzymů. Poškození jater vzniká pravděpodobně na imunologickém podkladě. Výsledky laboratorního vyšetření vykazují v akutní fázi onemocnění vždy zvýšenou aktivitu sérové ALT spolu s aspartátaminotransferázou, která však u pacientů bez chronického onemocnění jater bývá nižší než ALT. Nicméně, protože se tyto enzymy vyskytují i v jiných tkáních těla, nejenom v hepatocytech, je důležité interpretovat laboratorní výsledky v kontextu klinického obrazu. (Mihalčín, Husa, 2019)

## 6 Léčba a prevence

Většina akutních infekcí HEV probíhá inaparentně a nevyžaduje léčbu. Ribavirin byl s různým úspěchem použit k léčbě případů akutního selhání jater způsobeného infekcí HEV v oblastech, kde se endemicky vyskytují infekce HEV1 a HEV2. V poslední době však byly zaznamenány případy rezistence na ribavirin a selhání léčby, které zřejmě souvisejí buď se snížením dávky ribavirinu v důsledku nežádoucích účinků, jako je anémie, nebo s mutacemi HEV. Ve všech případech zůstávají parametry pro zahájení léčby ribavirinem nedefinované. (Chauhan *et al.*, 2011)

Je zajímavé poznamenat, že studie provedená v Nizozemsku ukázala, že u imuno-kompromitovaných pacientů s extrahepatálními projevy HEV je vysazení imunosupresivní léčby účinnější při eradikaci HEV než použití ribavirinu. (Tjwa *et al.*, 2017)

### 6.1 Léčba v ČR

V České republice je povinností umístit všechny pacienty s akutní virovou hepatitidou do nemocniční péče na oddělení infekčních nemocí. Toto platí i pro případy podezření na virovou hepatitidu E. Nicméně, epidemiologický význam hospitalizace pacientů s akutní virovou hepatitidou je předmětem diskuse. Nejvyšší riziko přenosu nákazy je spojeno s virovými hepatitidami A a E, jak je patrné z mechanismu přenosu. V těchto případech je infekčnost nejvyšší ke konci inkubační doby a poté prudce klesá. Proto se často stává, že hospitalizovaný pacient je již bezinfekční nebo výrazně méně infekční než v době před klinickým projevem onemocnění. Léčba akutních hepatitid je obvykle pouze symptomatická, zaměřená na zmírnění závažných příznaků onemocnění a urychlení regenerace. Běžně se podávají infuze glukózy s vitamínem B a C, někdy i K, a roztoky aminokyselin. (Husa, 2011)

Z psychologického hlediska není možné nechat hospitalizovaného pacienta bez léků. Důraz se klade na pozitivní motivaci pacienta ke spolupráci s lékařem, zejména k pravidelnému podávání podpůrné léčby. (Husa, 2000)

### 6.2 Prevence

Základem účinného boje proti infekci je prevence, zejména v případě HEV. Na populační úrovni může přenos těchto virů významně omezit několik opatření:

1. **Udržování standardů kvality veřejných vodovodů:** Zajištění toho, aby veřejné zdroje vody splňovaly přísné normy kvality, pomáhá minimalizovat riziko kontaminace

HEV. Pravidelné monitorování a ošetřování vodních zdrojů je nezbytné k zabránění šíření infekce vodní cestou.

2. **Zavedení správných systémů likvidace lidských výkalů:** Správná hygienická infrastruktura, včetně zajištění odpovídajících zařízení na čištění odpadních vod a podpory bezpečných postupů likvidace odpadu, hraje zásadní roli v prevenci přenosu hepatitidy E. Účinná likvidace lidského odpadu zabraňuje kontaminaci vodních zdrojů a snižuje riziko fekálně-orálního přenosu. (WHO, 2023)

Na individuální úrovni existují postupy, které mohou jednotlivci použít ke snížení rizika infekce HEV:

1. **Dodržování hygienických návyků:** Dodržování hygienických návyků, jako je časté mytí rukou vodou a mýdlem, zejména po použití toalety nebo manipulaci s potenciálně kontaminovanými materiály, může pomoci zabránit přenosu viru hepatitidy E. Správná hygiena snižuje riziko fekálně-orálního přenosu.
2. **Vyvarování se konzumace vody a ledu neznámé čistoty:** Osoby by měly být opatrné při konzumaci vody nebo ledu z neznámých zdrojů, zejména v oblastech, kde se hepatitida E endemicky vyskytuje nebo kde došlo k jejímu vypuknutí. Převažování vody nebo používání alternativních zdrojů bezpečné pitné vody může snížit riziko požití kontaminované vody a přenosu infekce HEV. (WHO, 2023)
3. **Pečlivé zpracování potravin:** V ČR je největší hrozbou přenos infekce z potravin, především z vepřového masa a divokých zvěřin. Je klíčové dodržovat správné postupy při výrobě, distribuci a zpracování masa, a také pečlivě kontrolovat tepelnou úpravu, abychom minimalizovali riziko nákazy. To platí obzvláště při domácích úpravách masa. Při manipulaci s ulovenou zvěří je vhodné používat ochranné rukavice a případná zranění ošetřit. Důležité je také zajistit, aby syrové maso a vnitřnosti byly řádně tepelně ošetřeny při přípravě pokrmů a zabránit kontaminaci již hotových jídel kuchyňskými nástroji použitými při manipulaci se syrovými potravinami. Všechny nástroje používané k úpravě masa nebo vnitřností je nutné pečlivě vyčistit. (Státní veterinární správa)

### 6.2.1 Očkování

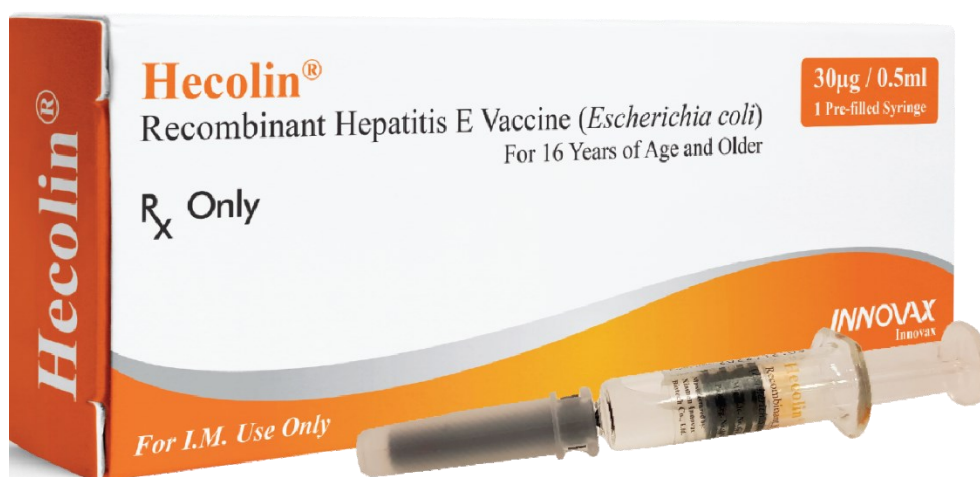
V březnu 2022 zahájili Lékaři bez hranic a jihosúdánské ministerstvo zdravotnictví první očkovací kampaň v reakci na epidemii hepatitidy E v táboře pro vysídlené osoby v Bentiu v Jižním Súdánu. Jedná se o vůbec první použití v současnosti jediné dostupné vakcíny proti hepatitidě E, Hecolin, kterou WHO doporučuje pro intervenci jako reakci na epidemie od roku 2015. Jedná se o významný milník pro očkování proti hepatitidě E, které je vedle dalších

kontrolních opatření jedním z klíčových nástrojů k omezení budoucích epidemií hepatitidy E. (WHO, 2023)

Hecolin (Obrázek 8), rekombinantní vakcína používaná k prevenci hepatitidy E, byla vyvinuta a je vyráběna společností Xiamen Innovax Biotech v Číně. Hecolin se připravuje pomocí geneticky upraveného kmene *E. coli*. V prosinci 2011 mu Státní úřad pro potraviny a léčiva udělil v Číně registraci. Na čínském trhu je od října 2012, kde je schválen pro použití u osob starších 16 let, a je doporučen osobám s vysokým rizikem infekce virem HEV, včetně osob zabývajících se chovem zvířat, osob manipulujících s potravinami, studentů, příslušníků ozbrojených sil, ženám ve fertilním věku a cestovatelům do endemických oblastí. (WHO, 2016)

Desetiletá studie prokázala, že imunizace touto vakcínou proti hepatitidě E poskytuje robustní ochranu proti hepatitidě E po dobu až 10 let, přičemž vakcínou navozené protilátky proti HEV přetrvávají nejméně 8,5 roku. (Huang *et al.*, 2024)

U vysoce rizikových skupin obyvatelstva, jako jsou těhotné ženy, pacienti s chronickým onemocněním jater a děti ve věku do 2 let, je třeba provést další klinické studie, aby se ověřil přínos a bezpečnost této vakcíny proti HEV. (Wu *et al.*, 2012)



Obrázek 8. Hecolin. Balení komerční očkovací látky Hecolin.  
(Zdroj: [https://ferozsons-labs.com/feroz\\_products/hecolin/](https://ferozsons-labs.com/feroz_products/hecolin/))

## 7 Materiál a metodika

### 7.1 VIDAS® Anti-HEV IgM (HEVM) a Anti-HEV IgG (HEVG)

Podstata testu spočívá v kombinaci dvoukrokové sendvičové enzymové imunoanalýzy se závěrečnou detekcí pomocí fluorescence (ELFA). Špička s navázanou pevnou fází (SPR) slouží jako pevná fáze reakce a zároveň jako pipetovací zařízení pro tento test. Reagence pro stanovení jsou připraveny k použití a dodány v uzavřených reagenčních stripch (Obrázek 9). Všechny kroky stanovení jsou prováděny automaticky přístrojem. Reakční médium ze stripu se cyklicky několikrát natáhne a opět vypustí špičkou.

Na pevnou fázi nenavázané složky se odstraní během promývání. Anti-HEV IgM a IgG je specificky detekována protilátkou proti lidskému IgM, IgG značenou alkalickou fosfatázou (konjugát). Nenavázané složky se opět odstraní během promývání. Během konečného detekčního kroku se substrát (4-methylumbelliferyl fosfát) cyklicky několikrát natáhne a opět vypustí špičkou SPR. Konjugovaný enzym katalyzuje hydrolýzu substrátu za vzniku fluorescenčního produktu (4-methylumbelliferon), jehož fluorescence se měří při 450 nm. Intenzita fluorescence je přímo úměrná koncentraci protilátky, která je přítomna ve vzorku.



Obrázek 9. Reagenční stripy pro systém VIDAS®.

(Zdroj: Vlastní)

Po skončení testu software přístroje automaticky analyzuje výsledky. Pro každý testovaný vzorek se dvakrát změří fluorescence v odečítací kyvetě reagenčního stripu. První odečet slouží jako pozadí kyvety se substrátem před zavedením špičky SPR do substrátu. Druhý odečet se provádí po inkubaci substrátu s enzymem navázaným na vnitřní stěně špičky

SPR. Hodnota relativní fluorescence (RFV) se vypočítá odečtením pozadí od konečného výsledku. Tento výpočet se uvede v přehledu výsledků. Systém VIDAS® (Obrázek 10) interpretuje výsledek RFV pacienta následujícím způsobem.

$$\text{Hodnota testu} = \text{RFV pacienta} / \text{RFV standardu}$$

Na konci testu přístroj automaticky vypočítá výsledky podle kalibrační křivky uložené v paměti analyzátoru a poté vytiskne zprávu o výsledku. (VIDAS®, 2019)



Obrázek 10. Analytický systém VIDAS®.  
(Zdroj: Vlastní)

## 7.2 RecomLine HEV IgG/IgM

Je to kvalitativní *in vitro* test na zjištění a bezpečné určení IgG nebo IgM protilátek proti viru hepatitidy E v lidském séru nebo plazmě (Obrázek 11). Rekombinantní bílkoviny (virové antigeny), pečlivě vyčištěné, jsou aplikovány na membránu z nitrocelulózy, která je následně rozkrojena na stripy.



Obrázek 11. Testovací sada RecomLine HEV IgG/IgM.

WASHBUF A – Promývací pufr A (desetinásobná koncentrace)

SUBS TMB – Roztok substrátu Tetramethylbenzidin (černý uzávěr)

STRIP – Testovací strip (červený uzávěr)

MILKPOW – Odtučněné mléko (bílý pytlík)

CONJ IgG – Konjugát protilátky proti lidskému IgM (fialový šroubovací uzávěr)

CONJ IgG – Konjugát protilátky proti lidskému IgG (zelený šroubovací uzávěr)

DILUBUF – Ředící pufr (připravený k použití)

(Zdroj: Vlastní)

Pro detekci specifických protilátek proti HEV jsou tyto proužky inkubovány s naředěným vzorkem séra nebo plazmy (Obrázek 12). Protilátky se vážou na antigeny přítomné na proužcích. Po ukončení inkubace jsou nenavázané protilátky odstraněny a proužky jsou následně inkubovány se sekundární protilátkou, která je specifická pro lidské IgG a IgM a zároveň spojená s avidin-peroxidázou. Specificky vázané protilátky jsou poté detekovány prostřednictvím barevné reakce, kterou katalyzuje peroxidáza. V případě, že došlo k interakci mezi antigenem a protilátkou, na příslušném místě na stripu se objeví tmavý pruh. Tímto způsobem je umožněna identifikace a vizualizace pozitivní reakce na přítomnost specifických protilátek proti hepatitidě E.

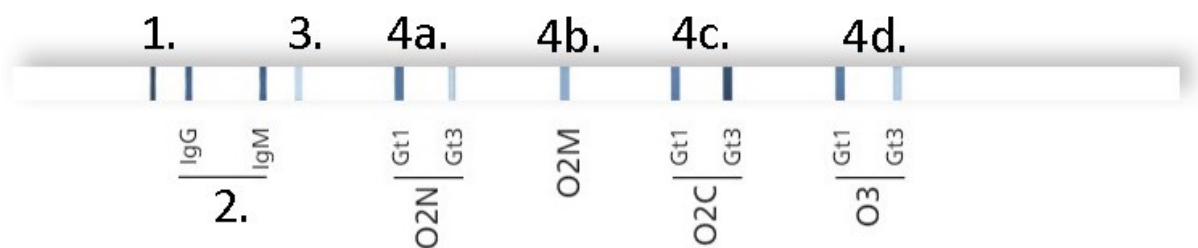


Obrázek 12. Míchací plotna pro testovací stripy.  
(Zdroj: Vlastní)

Každý strip obsahuje několik zón důležitých pro vyhodnocení (Obrázek 13):

1. **Kontrolní reakční pruh (označený pod číslem proužku):** Každé testované sérum anebo plazma vykazuje v této lokalizaci reakci.
2. **Konjugované kontrolní pruhy IgG/IgM:** Slouží k monitorování detekce specifické třídy protilátek. Při testování na protilátky IgG se konjugovaný pruh IgG projeví jasným zabarvením. To stejné platí i pro konjugovaný pruh IgM.
3. **"Cut-off kontrola":** Určuje intenzitu proužku pro kontrolu barvicího procesu a hodnocení testovacího proužku. Intenzita tohoto pruhu stanovuje kritérium pro vyhodnocení reaktivity protilátek jako pozitivní, hraniční nebo negativní.





Obrázek 13. Reakční strip pro RecomLine HEV IgG/IgM.

1. Kontrolní reakční pruh, 2. Konjugované kontrolní pruhy IgG/IgM, 3. Cut-off kontrola, 4a,b,c,d Cílové antigeny  
(Zdroj: Vlastní)

Pro usnadnění hodnocení a zlepšení srozumitelnosti bylo v rámci testu RecomLine HEV zavedeno bodové hodnocení pro HEV antigeny. Výsledek testu se získá přičítáním bodových hodnot jednotlivých pruhů, které dosáhly alespoň intenzity cut-off (viz Tabulka č. 2 a 3). Celkové body z těchto pruhů jsou pak zaznamenány a sumarizovány symbolem součtu (Obrázek 14). Bez ohledu na intenzitu reakce, zůstává hodnota bodů konstantní. Je třeba zdůraznit, že bodová hodnota pruhů O2N, O2C a O3 se započítává pouze jednou, bez ohledu na to, kolik a které pruhy genotypu O2N, O2C nebo O3 vykazují reakci. Nakonec je výsledek interpretován jako pozitivní, hraniční nebo negativní.

Antigen O2N se nachází na N-terminální části ORF2 proteinu a koreluje s HEV1 a HEV3. O2C antigen se nachází na C-terminální části ORF2 a souvisí s HEV1 a HEV3. O2M se nachází na střední části ORF2 a koreluje s HEV1 a poslední protein O3 je kódován v oblasti ORF3 a odkazuje na genotypy HEV1 a HEV3.

Tabulka 2. Bodové hodnocení HEV antigenů v RecomLine HEV.

Antigen	Body
O2N	2
O2C	4
O2M	2
O3	3

Tabulka 3. Hodnocení testu.

Součet bodů	Hodnocení
≤ 2	negativní
3	hraniční
≥ 4	pozitivní

Datum Date: 11.4.2024  
 Bearbeiter Testing person: [redacted]  
 Chargen-Nr. Lot No.: LHE092 301  
 Röhren-Nr. Tube No.: 1125  
 Antikörperklasse Antibody class: [redacted]  
 Färbezeit Time of dyeing: [redacted]

**Auswertebogen Evaluation Form** **MIKROGEN DIAGNOSTI**  
 ABRLEH003

Wenn Sie den Auswertebogen selber ausdrucken oder kopieren: Bitte überprüfen Sie Ihre Kopien auf absolute Übereinstimmung mit dem mitgelieferten original Auswertebogen - wichtig für die korrekte Bänderfindung sowie für die Auswertung mit recomScan!  
 If you copy or print out the evaluation form by yourself: Please check your copies on absolute compliance with the enclosed original evaluation form - important for the correct band finding as well as for the evaluation with recomScan!

Nr. No.	Probe Sample	recomLine HEV IgG/IgM Art.-Nr., Art. No. 5072 (5070)										Antigenbanden Antigen bands			Beurteilung Interpretation s. Gebrauchsanweisung, s. Instructions for use					
		Reakt. Kontr.	Kontrolle IgG	Cutoff- IgM	Kontrolle O2N	O2C	O3	G11 G13	O2M	G11 G13	G11 G13	G11 G13	G11 G13	G11 G13	G11 G13	G11 G13	Σ	negativ negative ≤ 2	fraglich borderline 3	positiv positive ≥ 4
1	1140																			
2																				
3	1140																			
4	1140																			
5																				
6																				
7																				
8																				
9																				
10																				
11																				

Obrázek 14. Hodnotící formulář pro test RecomLine HEV IgG/IgM.

(Zdroj: Vlastní)

I při negativním výsledku testu RecomLine HEV nelze vyloučit možnost infekce virem hepatitidy E. V situaci, kdy existuje klinické podezření na infekci a sérologický test ukáže negativní výsledek, je doporučeno provést opakovaný odběr vzorku a provedení vyšetření po dvou týdnech. U pacientů v imunosupresi se doporučuje provést test detekující RNA viru.

Naopak, pozitivní výsledek testu RecomLine HEV neznamena automaticky akutní patologický proces ve všech případech. Je nezbytné vzít v úvahu klinický kontext a další diagnostické faktory pro přesnější vyhodnocení infekčnosti. (RecomLine, 2009)

### 7.3 ampliCube HEV 2.0 Quant

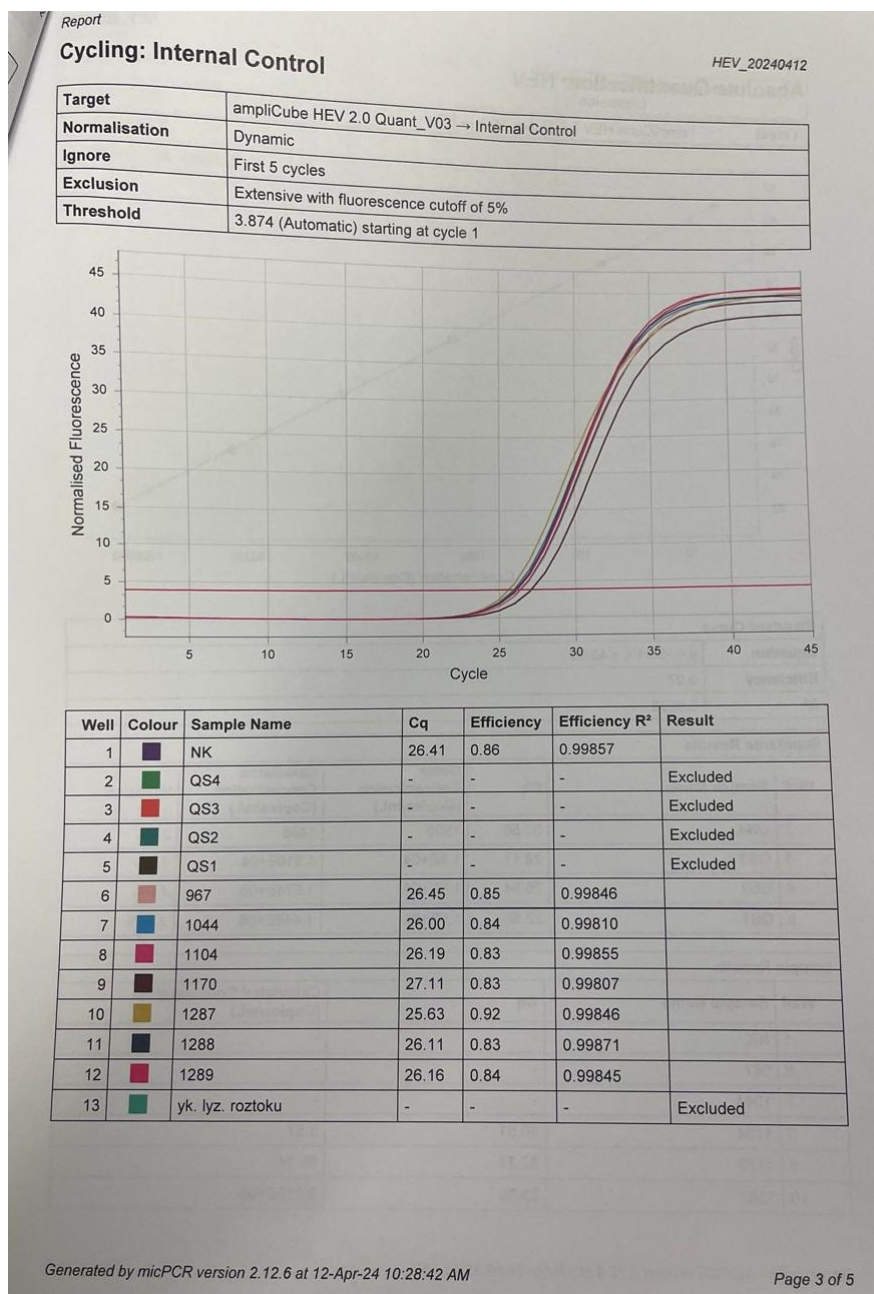
Princip testu spočívá v použití metody reverzní transkripce a následně real-time polymerázové řetězové reakce (RT-PCR). Tato metoda využívá specifické iniciátory a značené sondy pro převod RNA viru hepatitidy E lidských patogenních genotypů 1, 2, 3 a 4 na komplementární DNA (cDNA), jejich amplifikaci a následnou detekci. K hodnocení výsledků se využívá porovnání hodnoty prahu cyklu (Ct) vzorku pacienta s normální křivkou.

Pro zajištění, že izolované nukleové kyseliny z patientského vzorku neobsahují inhibitory RT-PCR, se do vzorku během izolace v automatickém izolátoru DNA (Obrázek 15) přidává interní kontrola (Obrázek 16). Tato interní kontrola je následně transkribována do cDNA, amplifikována a detekována ve stejné RT-PCR reakci. To eliminuje možnost falešně negativních výsledků způsobených inhibicí RT-PCR reakce a zároveň slouží jako potvrzení o úspěšné extrakci nukleových kyselin ze vzorku pacienta.



Obrázek 15. Izolátor DNA pro zpracování vzorků na vyšetření metodou PCR.  
(Zdroj: Vlastní)

Sondy pro detekci RNA specifické pro hepatitidu E jsou označeny fluorochromem FAM, zatímco sondy pro detekci interní kontroly jsou označeny fluorochromem ATTO 647N. Tato dvoubarevná značení umožňují současnou detekci obou cílových sekvencí v jedné reakční směsi.



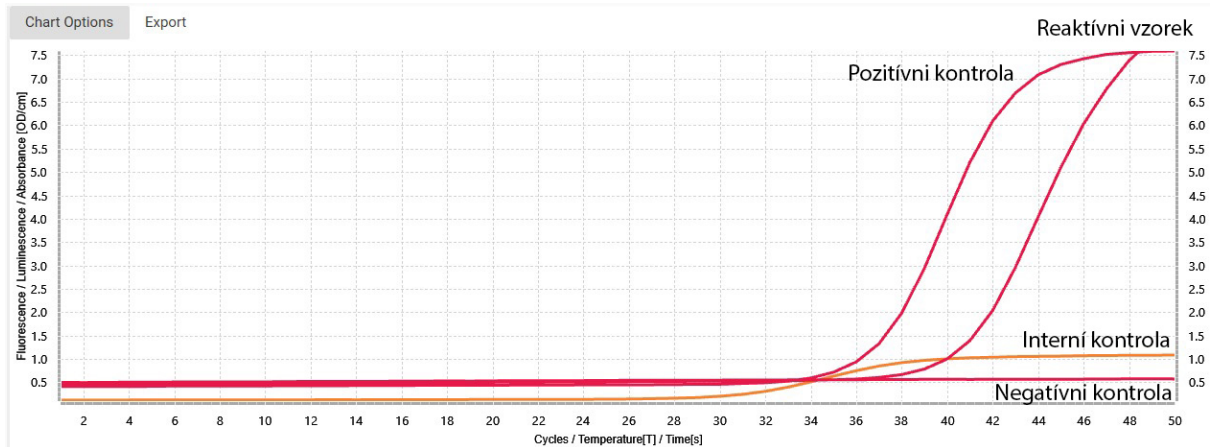
Obrázek 16. Příklad výsledkového listu. Znázorněné amplifikační křivky interní kontroly vzorků pro test ampliCube HEV 2.0 Quant.

(Zdroj: Vlastní)

Hodnota Ct je dána bodem křivky (Obrázek 17), kde fluorescence poprvé exponenciálně stoupá nad hodnotu pozadí, což poskytuje informaci o množství detekované RNA ve vzorku.

Pro ampliCube HEV 2.0 Quant používáme RNA, kterou získáme z plazmy (EDTA, citrát, citrát-fosfát-dextróza), séra nebo lidské stolice. Kvalita získané nukleové kyseliny má vliv na výsledky testu, takže je důležité, aby metoda extrakce byla kompatibilní s technologií real-time PCR.

Pokud analyzujeme vzorky stolice, doporučuje se připravit suspenzi ve vhodném pufru, například S.T.A.R.® - pufr pro transport a zpracování stolice od firmy Roche. Pro optimální výsledky doporučujeme rozpustit přibližně 200 mg vzorku stolice v 1 ml pufru, poté centrifugovat suspenzi stolice po dobu 5 minut při 4400 g a použít supernatant k extrakci nukleových kyselin. Pro úspěšnou analýzu pomocí technologie RT-PCR je důležité si zvolit vhodný postup extrakce podle typu vzorku. (AmpliCube, 2019)



Obrázek 17. Příklad amplifikace reaktivního vzorku, pozitivní, negativní a interní kontroly.

(Zdroj: Vlastní)

## 8 Praktická část

### 8.1 Výsledky

Bakalářská práce je věnována analýze dostupných patientských dat týkajících se hepatitidy E za posledních pět let na pracovišti Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky (ÚLBDL) Všeobecné fakultní nemocnice (VFN) Praha. Tento výzkum má za cíl poskytnout důkladné pochopení epidemiologie, klinických charakteristik a průběhu onemocnění hepatitidou E, což by mohlo pomoci zlepšit péči o pacienty s touto infekcí.

Analyzován byl rozsáhlý soubor dat obsahující informace o pacientech testovaných na hepatitidu E během posledních pěti let. Tyto údaje zahrnovaly demografické údaje, klinické příznaky a výsledky laboratorních testů.

Analýza dat se zaměřila na identifikaci trendů, distribuci výskytu v různých věkových skupinách, efektivitu metodiky testování. Byly využity statistické metody k zhodnocení významnosti nalezených trendů a vztahů mezi jednotlivými proměnnými.

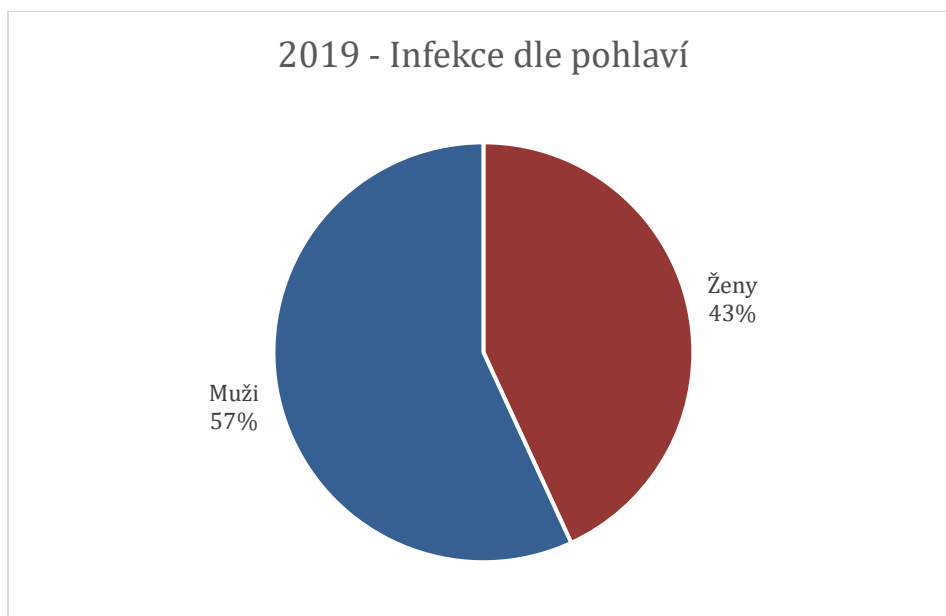
Závěrečná část bakalářské práce se věnuje komplexnímu srovnání všech pěti let analýzy. Byly shrnuty hlavní zjištění a trendy z každého roku a diskutován jejich význam a implikace pro péči o pacienty s hepatitidou E. Tato analýza může přispět k lepšímu porozumění této infekční chorobě.

Za pozitivního pacienta je v souboru považován každý imunoserologicky pozitivní na HEV IgM, HEV IgG případně oba typy protilátek a HEV-RNA.

### 8.2 Rok 2019

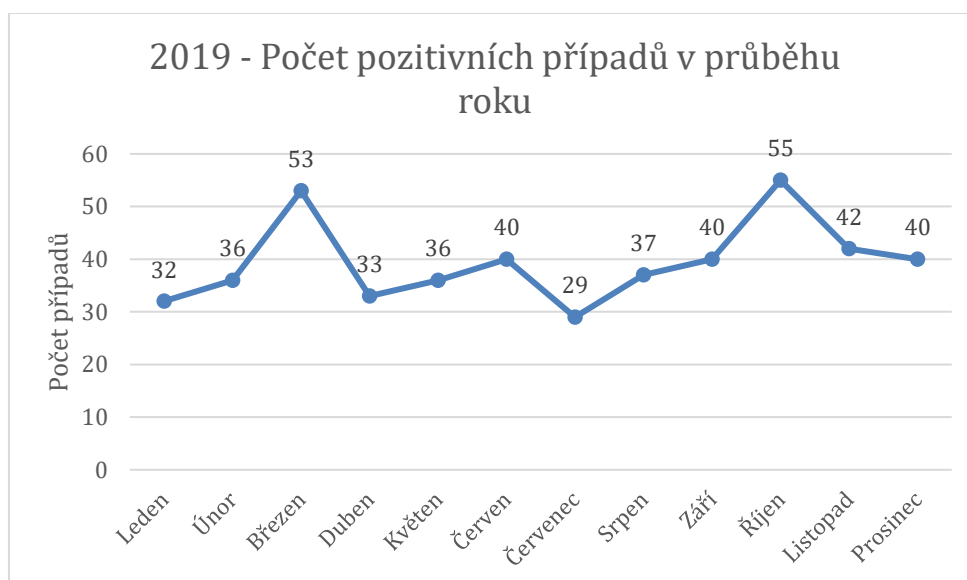
V roce 2019 bylo testováno 2457 pacientů, z nichž 1115 byly ženy a 1342 muži. Z této skupiny bylo 473 (19,24 %) pacientů testováno pozitivně na hepatitidu E. Z toho 204 bylo pozitivních žen a 269 mužů.

Graf 3 ukazuje, že v roce 2019 je patrně vyšší incidence positivity hepatitidy E u mužů než u žen. Tento fakt může naznačovat možné rozdíly v expozici nebo vnímání rizikových faktorů mezi oběma pohlavími, které by mohly přispět k vyššímu výskytu infekce u mužů.



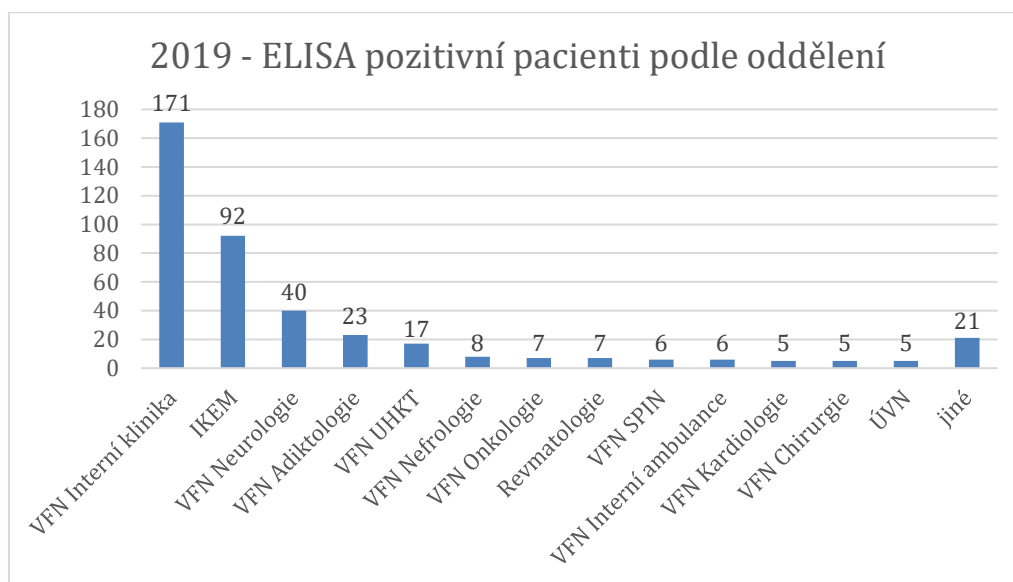
Graf 3. Distribuce pozitivních případů dle pohlaví, muži 57 % (269 případů) a ženy 43 % (204 případů) v roce 2019.

Graf 4 naznačuje zvýšenou incidenci pozitivních případů hepatitidy E v měsících únor-březen, září-říjen. V roce 2019 připadly velikonoční svátky na 22. dubna a inkubační doba HEV je přibližně 2 až 9 týdnů (CDC, 2024) proto se pozoruje postupný nárůst pacientů, s vrcholem v červnu. Toto zvýšení může být spojeno s velikonočními svátky a sezónou zabijaček. Během těchto období může docházet k zvýšené konzumaci masa a příležitostně k neadekvátní úpravě potravin, což může zvyšovat riziko expozice viru hepatitidy E a následného výskytu infekce. Tato skutečnost by mohla být důležitá pro identifikaci opatření prevence a kontroly v určitých obdobích roku.



Graf 4. Počet pozitivně testovaných pacientů v průběhu roku 2019.

Ze 413 ELISA pozitivních pacientů jich 263 pocházelo ze dvou konkrétních oddělení, a to z Interní kliniky VFN a Institutu klinické a experimentální medicíny (IKEM). Interní klinika zaslala materiál k testování pacientů s různými diagnózami, včetně onkologických, kardiovaskulárních, plicních a dalších. Z IKEM přicházely především hepatogastroenterologické diagnózy a pre a post transplantační vyšetření jater. Celková míra positivity ze všech oddělení byla 20,05 % (Graf 5).

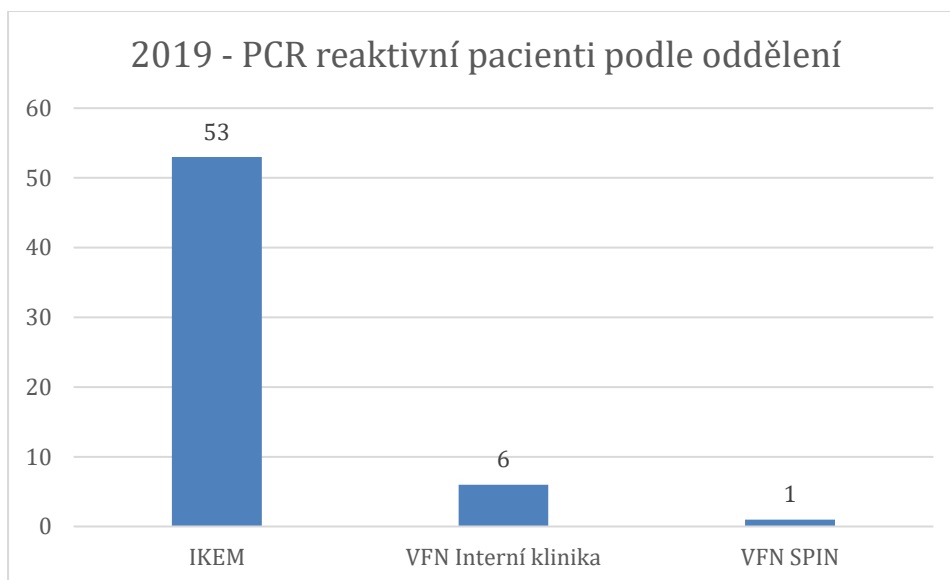


Graf 5. Pacienti pozitivně testovaní imunoanalýzou podle zadávajícího oddělení v roce 2019.

VFN – Všeobecná fakultní nemocnice, IKEM – Institutu klinické a experimentální medicíny, VFN UHKT – Ústav hematologie a krevní transfuze, VFN SPIN – Společný příjem interně nemocných, ÚVN – Ústřední vojenská nemocnice

IKEM má jednoznačně nejvyšší míru positivity při PCR testování, a to 53 pacientů ze celkového počtu 301, což představuje míru positivity 17,6 %. Testování bylo hlavně spojeno s transplantacemi jater a ledvin. Celková míra positivity ze všech oddělení dohromady byla 15,08 %. (Graf 6)

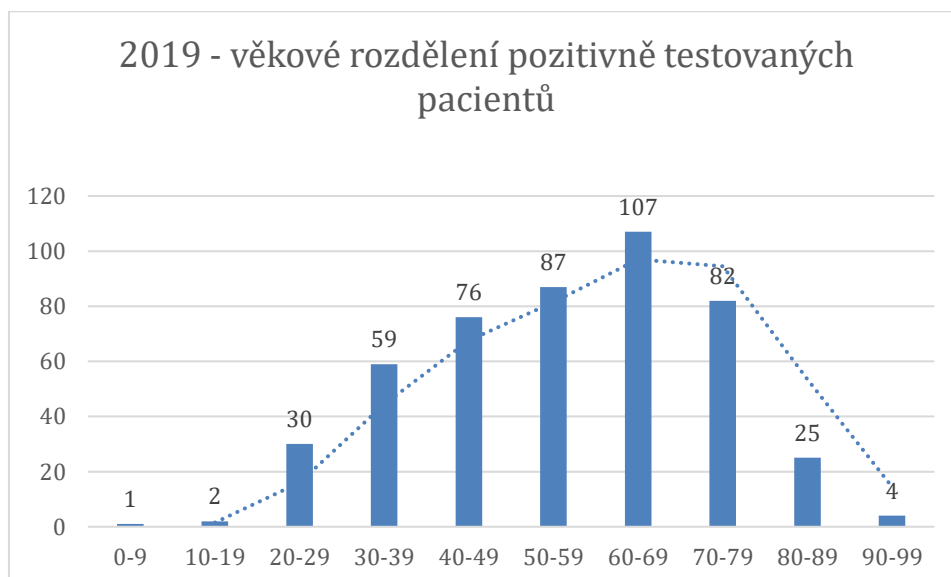




*Graf 6. Pacienti pozitivně testovaní pomocí PCR podle oddělení v roce 2019.*

VFN – Všeobecná fakultní nemocnice, IKEM – Institutu klinické a experimentální medicíny, VFN SPIN – Společný příjem interně nemocných

Věkové rozdělení pozitivních pacientů sleduje normální Gaussovo rozdělení a nejsou pozorovány žádné neočekávané výkyvy (Graf 7). Detaily „standardního rozdělení“ budou blíže popsány v kapitole 9. Diskuze.



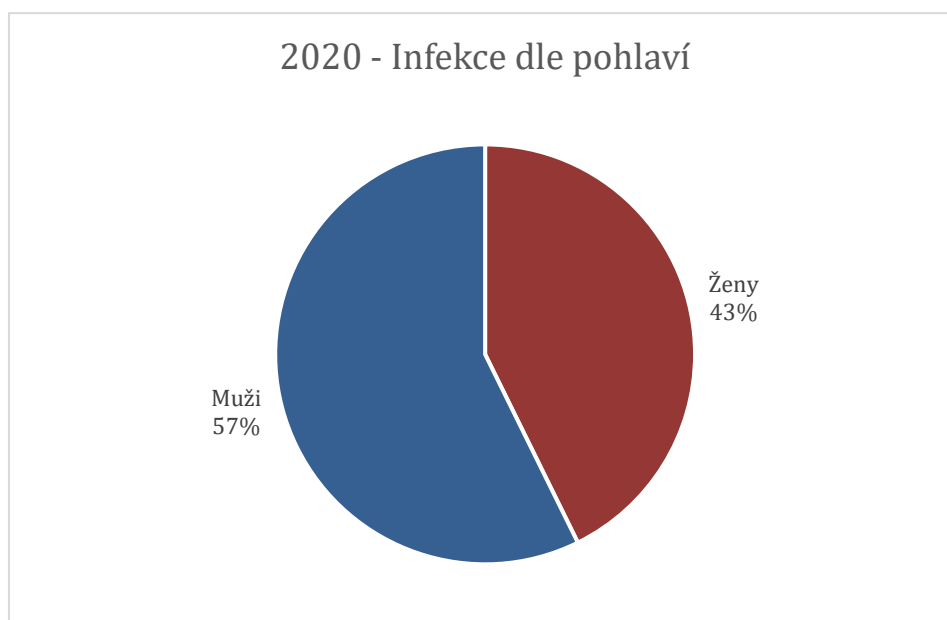
*Graf 7. Rozdělení pozitivně testovaných pacientů v průběhu roku 2019 podle věku.*

### 8.3 Rok 2020

V roce 2020 bylo testováno 2006 pacientů, z nichž 921 byly ženy a 1085 muži. Z této skupiny bylo 405 (20,19 %) pacientů testováno pozitivně na hepatitidu E. Z toho 172 bylo pozitivních žen a 232 mužů.

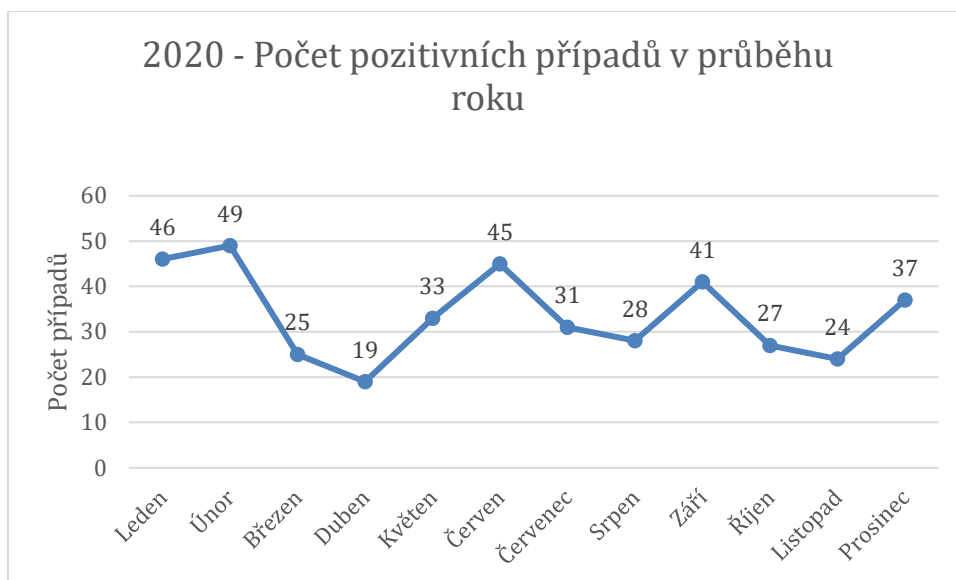
V porovnání s rokem 2019 vidíme pokles počtu testovaných pacientů pravděpodobně v souvislosti s rozpínající se pandemií viru SARS-COV-2.

I v roce 2020 byl rovněž zaznamenán vyšší počet pozitivně testovaných mužů a je možno předpokládat, že tento trend bude pozorován i v následujících letech (viz Graf 8).



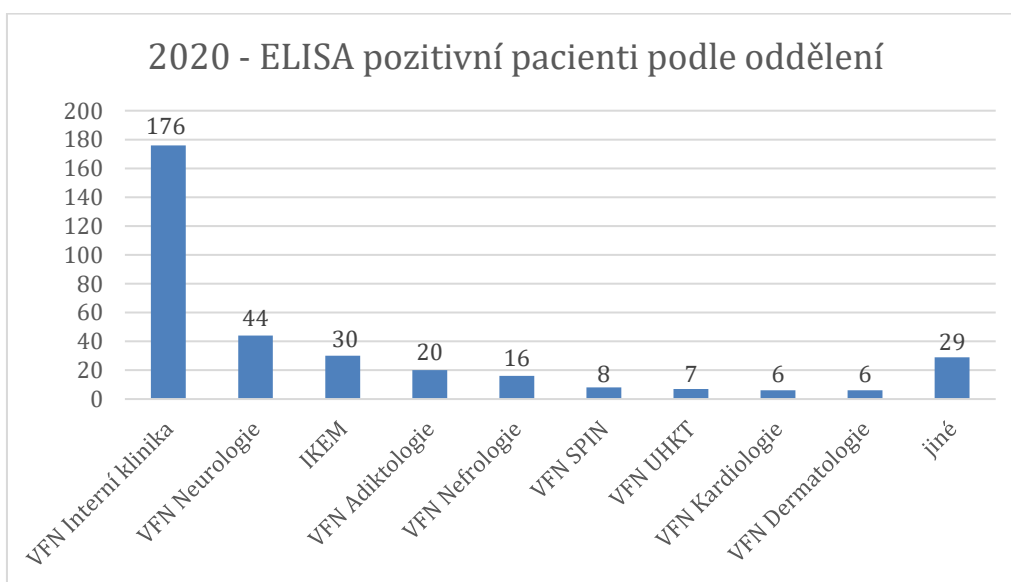
Graf 8. Distribuce pozitivně testovaných dle pohlaví, muži 57 % (232) a ženy 43 % (173) v roce 2020.

Počty pozitivních případů v průběhu roku 2020 sledují očekávanou křivku s píky únorbřezen, září-říjen. V roce 2020 připadly velikonoční svátky na 12. dubna a inkubační doba HEV je přibližně 2 až 9 týdnů. (CDC, 2024) Pozoruje se postupný nárůst pacientů, s vrcholem v červnu (Graf 9).



Graf 9. Počet pozitivně testovaných pacientů v průběhu roku 2020.

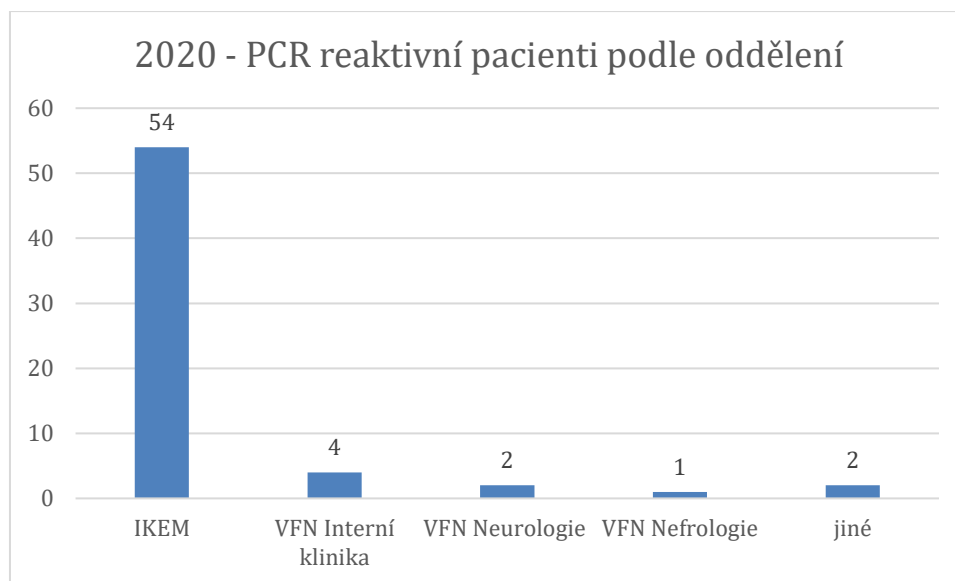
Z 342 ELISA pozitivních pacientů pocházelo 176 z Interní kliniky VFN. Tato klinika zaslala materiál k testování pacientů s různými diagnózami, včetně onkologických, kardiovaskulárních, plicních a dalších. V IKEMu pozorujeme prudký pokles pozitivitu v porovnání s rokem 2019 v důsledku sníženého zasílání materiálu na tento typ vyšetření. Celková míra positivity ze všech oddělení spolu je 20,97 % (Graf 10).



Graf 10. Pacienti pozitivně testovaní imunoanalýzou podle oddělení v roce 2020.

VFN – Všeobecná fakultní nemocnice, IKEM – Institutu klinické a experimentální medicíny, VFN SPIN – Společný příjem interně nemocných, VFN UHKT – Ústav hematologie a krevní transfuze, ÚVN – Ústřední vojenská nemocnice

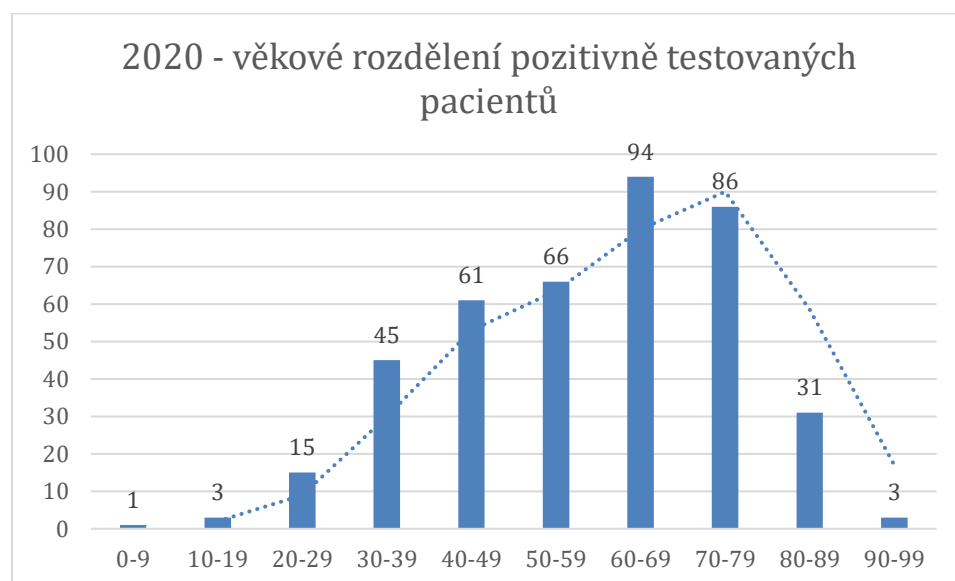
Situace se v porovnání s předchozím rokem příliš nezměnila. IKEM stále zasílal největší počet pozitivních pacientů k testování PCR. Počet zaslaných vzorků se mírně snížil na 272 a při 54 reaktivních vzorcích to činí pozitivitu 19,8 %. Snížení můžeme připsat epidemii viru SARS-COV-2. Celková míra positivity ze všech oddělení celkem je 16,8 % (Graf 11).



Graf 11. Pacienti pozitivně testovaní PCR podle oddělení v roce 2020.

VFN – Všeobecná fakultní nemocnice, IKEM – Institutu klinické a experimentální medicíny

V roce 2020 nebyla pozorována žádná statisticky významná odlehlá hodnota od očekávané křivky (Graf 12).

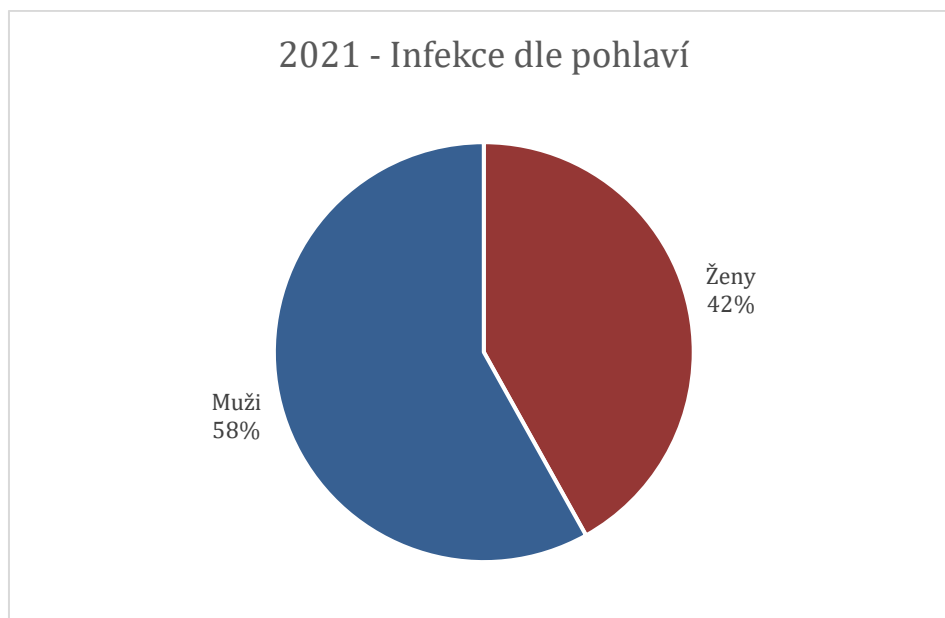


Graf 12. Rozdělení pozitivně testovaných pacientů v průběhu roku 2020 podle věku.

## 8.4 Rok 2021

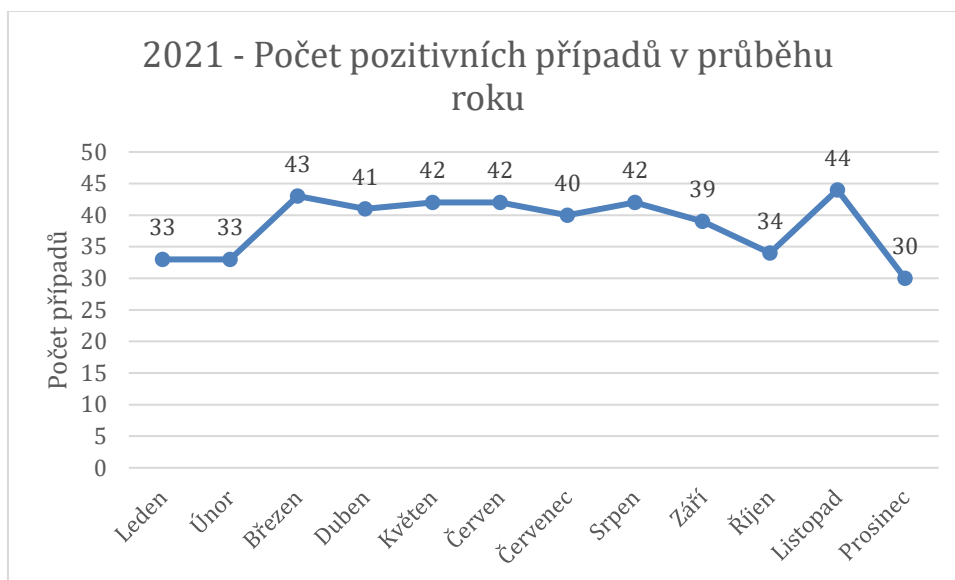
V roce 2021 bylo testovaných 2215 pacientů, z nichž 986 byly ženy a 1229 muži. Z této skupiny bylo 463 (20,9 %) pacientů testováno pozitivně na hepatitidu E. Z toho 194 bylo pozitivních žen a 269 mužů.

V roce 2021 byl zaznamenán vyšší počet pozitivně testovaných mužů, což naznačuje možný trend, který by mohl pokračovat i v následujících letech (Graf 13).



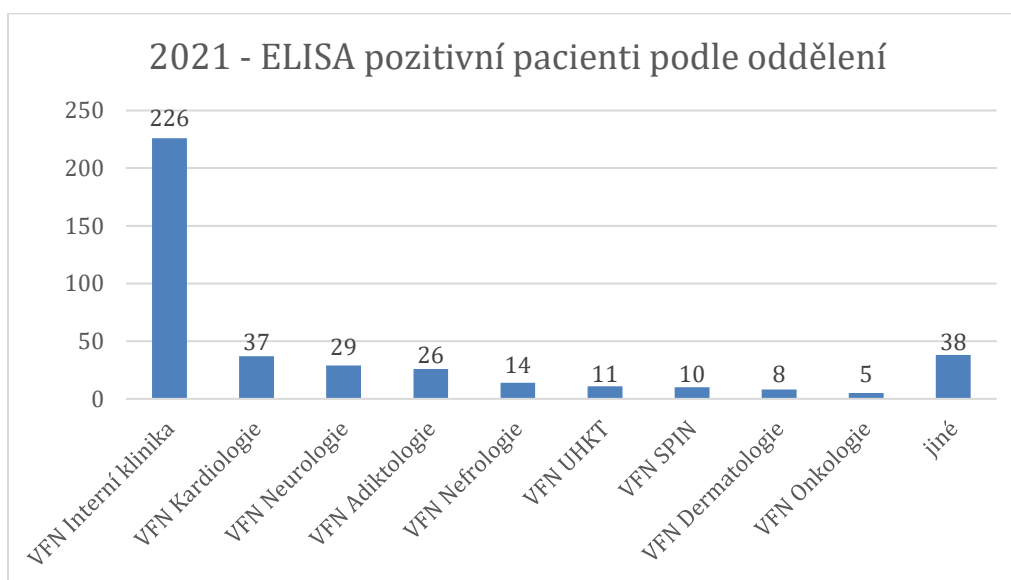
Graf 13. Distribuce pozitivně testovaných dle pohlaví, muži 57 % (269) a ženy 43 % (194) v roce 2021.

V roce 2021 došlo k zajímavému jevu, kdy křivka potvrzených infekcí dosáhla stabilní úrovně a nebyly zaznamenány typické vrcholy, jaké bylo možné pozorovat v předchozích letech (Graf 14).



Graf 14. Počet pozitivně testovaných pacientů v roce 2021.

Ze 404 pozitivních pacientů testovaných metodou ELISA jich 226 pocházelo znovu z Interní kliniky VFN. IKEM byl ze statistik úplně vynechán a přestal úplně objednávat imunologická vyšetření. Celková míra positivity ze všech oddělení spolu je 22,25 % (Graf 15).

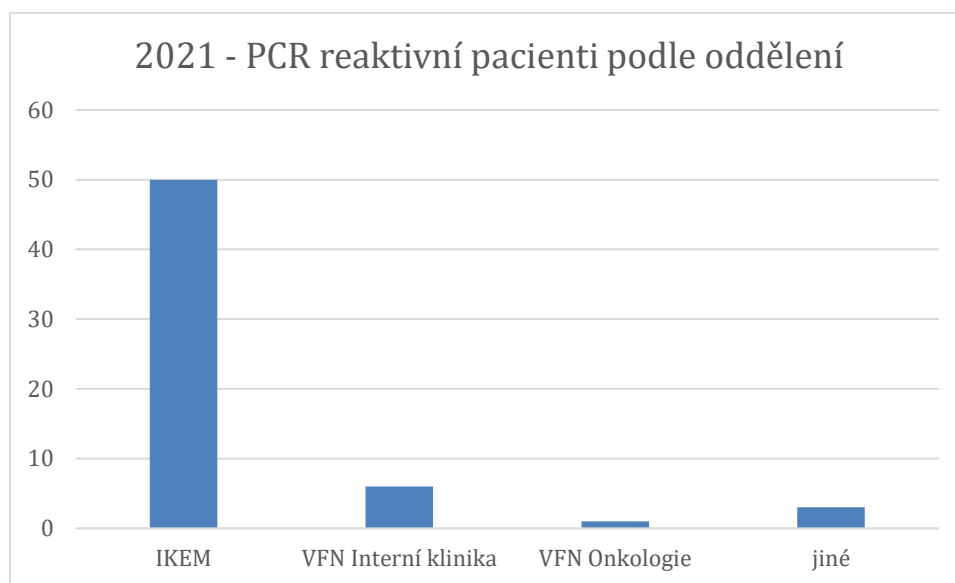


Graf 15. Pacienti pozitivně testovaní imunoanalýzou v roce podle oddělení v roce 2021.

VFN – Všeobecná fakultní nemocnice, VFN UHKT – Ústav hematologie a krevní transfuze, VFN SPIN – Společný příjem interně nemocných

Situace zůstala podobná předchozím rokům a IKEM nadále zasílal největší počet pacientů k testování PCR, zároveň byl zaznamenán i nejvyšší počet pozitivních výsledků. Počet zaslaných vzorků se pomalu vrací k hodnotám před pandemií COVID-19, a to na 292.

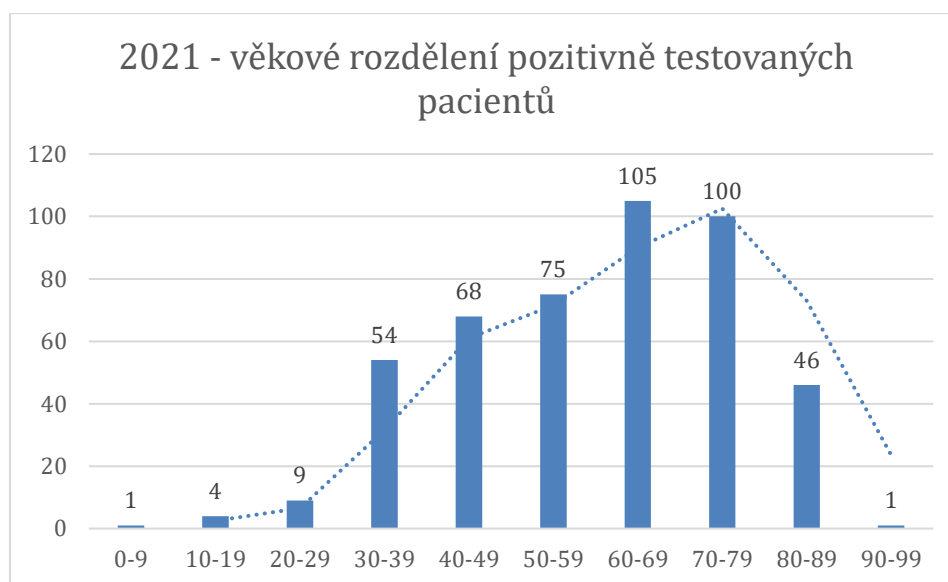
Při 50 reaktivních vzorcích to činí míru pozitivity 17,1 %. Celková míra pozitivity ze všech oddělení spolu je 14,79 % (Graf 16).



Graf 16. Pacienti pozitivně testovaní PCR podle oddělení v roce 2021.

IKEM – Institutu klinické a experimentální medicíny, VFN – Všeobecná fakultní nemocnice

V roce 2021 nebyla pozorována žádná statisticky významná odlehlá hodnota od očekávané křivky (Graf 17).

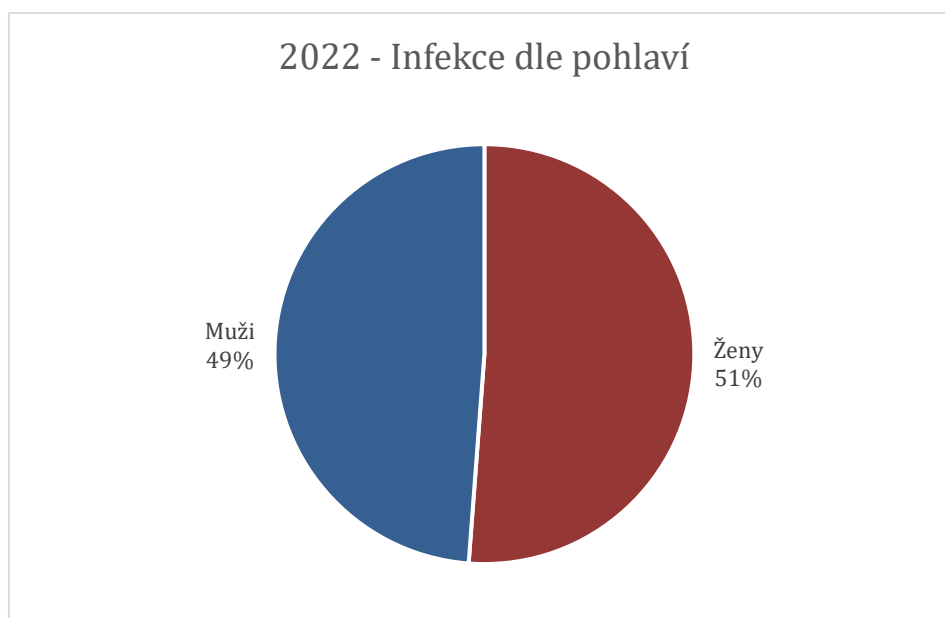


Graf 17. Rozdělení pozitivně testovaných pacientů v průběhu roku 2021 podle věku.

## 8.5 Rok 2022

V roce 2022 bylo provedeno testování u 2410 pacientů, z nichž 1201 byly ženy a 1209 muži. Z této skupiny bylo 459 (19,04 %) pacientů testováno pozitivně na hepatitidu E. Z toho 235 bylo pozitivních žen a 224 mužů.

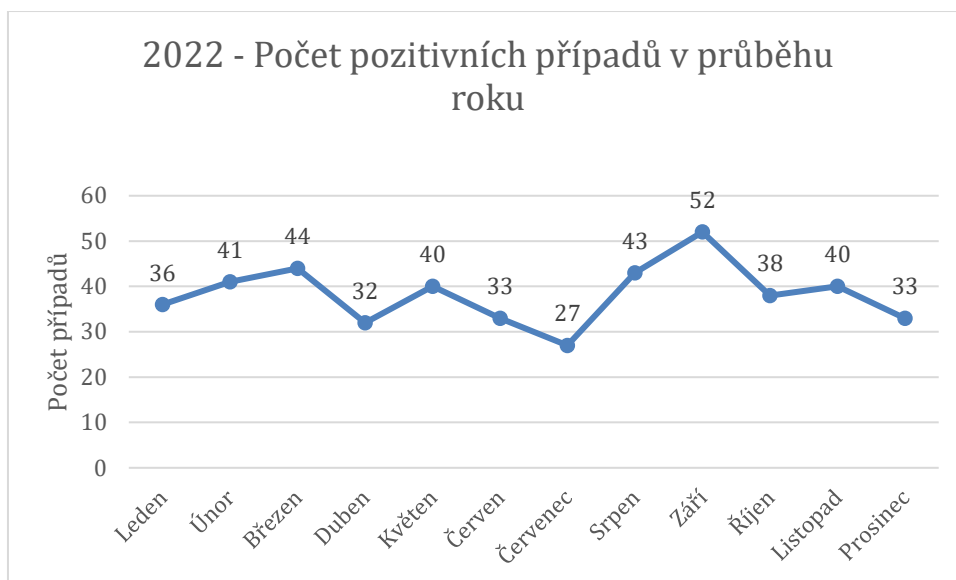
V roce 2022 byl oproti předchozím letům zaznamenán nečekaný obrat v poměru nakažených žen a mužů. Z dostupných údajů nebylo možné určit příčinu tohoto jevu (Graf 18).



Graf 18. Distribuce pozitivních případů dle pohlaví, muži 49 % (224 případů) a ženy 51 % (235 případů) v roce 2022.

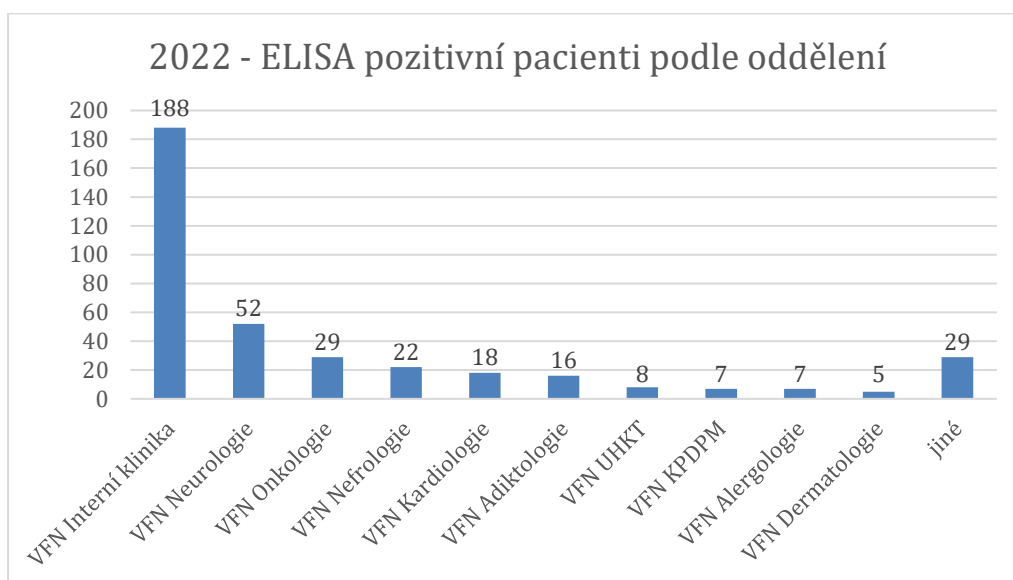
V roce 2022 připadly velikonoční svátky na 18. dubna a inkubační doba HEV je přibližně 2 až 9 týdnů. (CDC, 2024) Vrchol infekcí byl dosažen v květnu. Očekávané píky únor-březen a září-říjen jsou přítomné (Graf 19).





Graf 19. Počet pozitivně testovaných pacientů v roce 2022.

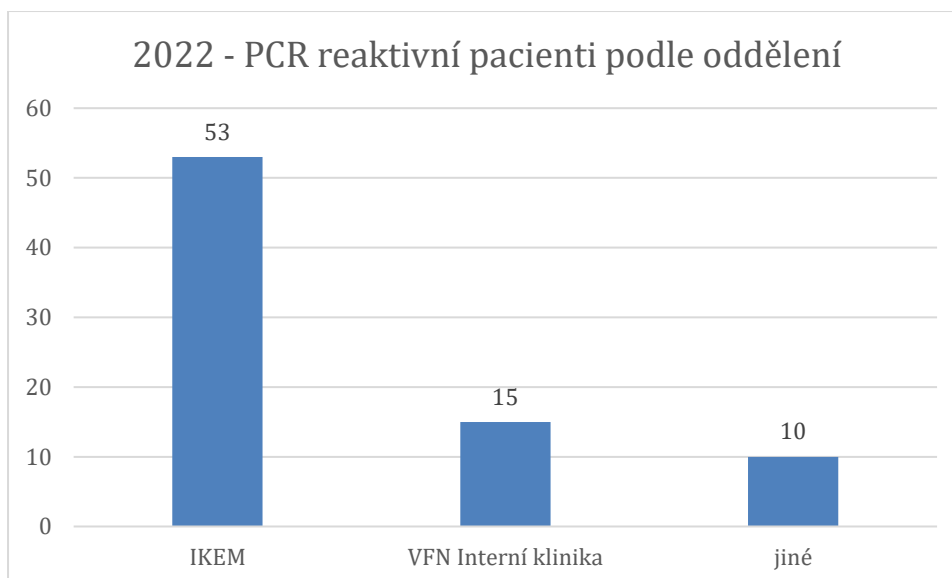
Z 381 pozitivních pacientů na přítomnost antigenu HEV pocházelo 188 z Interní kliniky VFN, dále 52 z Neurologické ambulance VFN. Celková míra positivity ze všech oddělení byla 19,69 % (Graf 20).



Graf 20. Pacienti pozitivně testovaní imunoanalýzou podle oddělení v roce 2022.

VFN – Všeobecná fakultní nemocnice, VFN UHKT – Ústav hematologie a krevní transfuze, VFN KPDPM – Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu

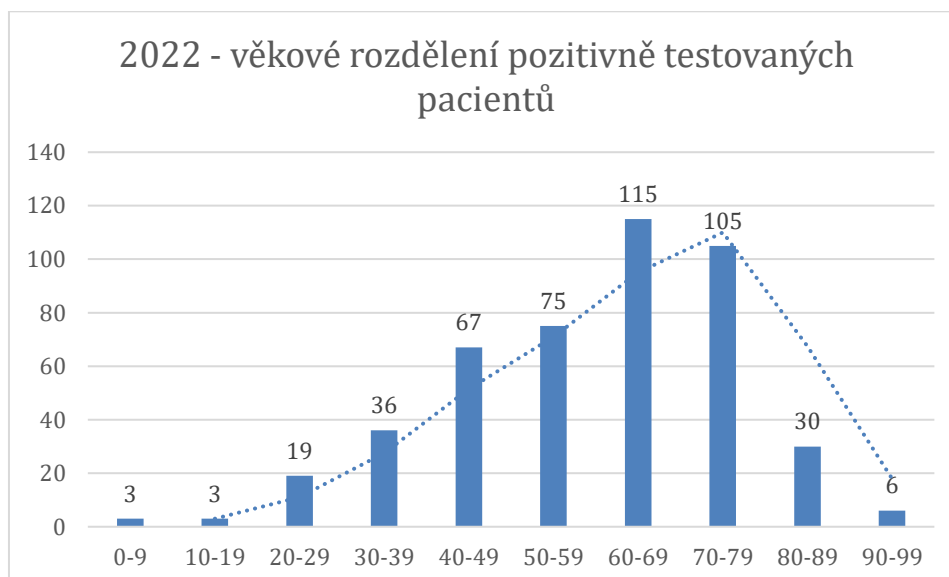
Trend pokračuje a je neměnný, IKEM stále zaslal největší počet pozitivních pacientů k testování PCR. Počet zaslaných vzorků stoupl na 344 a při 53 reaktivních vzorcích to činí míru positivity 15,4 %. Celková míra positivity ze všech oddělení je 16,39 % (Graf 21).



Graf 21. Pacienti pozitivně testovaní PCR podle oddělení v roce 2022.

VFN – Všeobecná fakultní nemocnice, IKEM – Institutu klinické a experimentální medicíny

V roce 2022 nebyla pozorována žádná statisticky významná odlehlá hodnota od očekávané křivky (Graf 22).

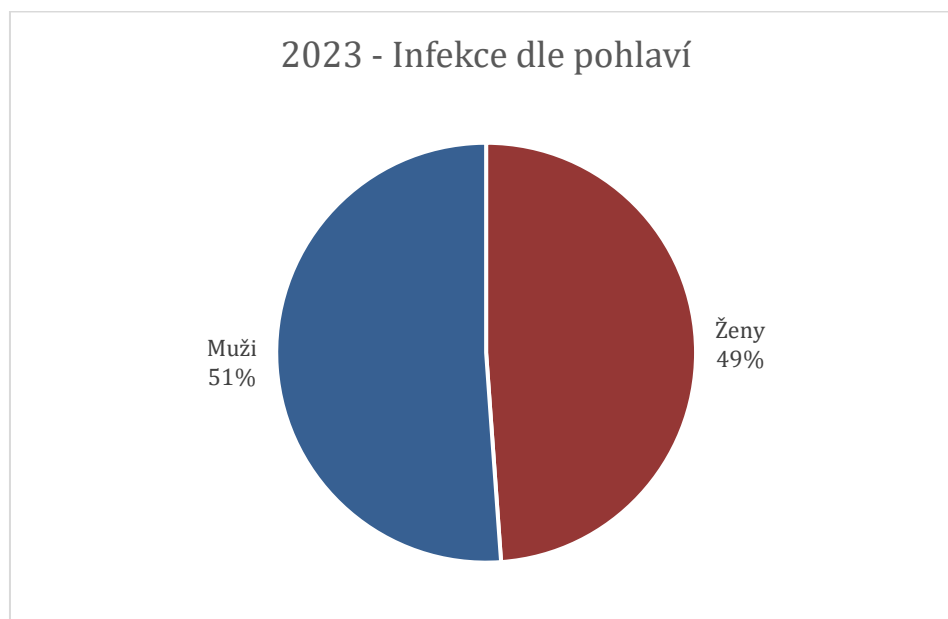


Graf 22. Rozdělení pozitivně testovaných pacientů v průběhu roku 2022 podle věku.

## 8.6 Rok 2023

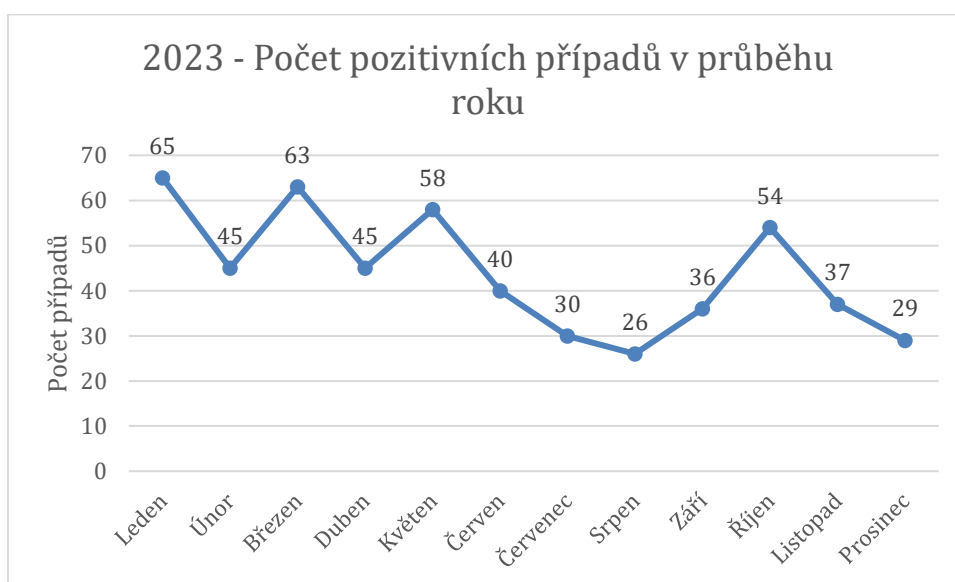
V roce 2023 bylo testovaných 2684 pacientů, z nichž 1314 byly ženy a 1370 muži. Z této skupiny bylo 528 (19,66 %) pacientů testováno pozitivně na hepatitidu E. Z toho 258 bylo pozitivních u žen a 270 u mužů.

Trend zvýšené positivity u žen pokračoval v přibližně stejném rozsahu i v následujícím roce ale propast mezi pohlavími se zmenšila (Graf 23).



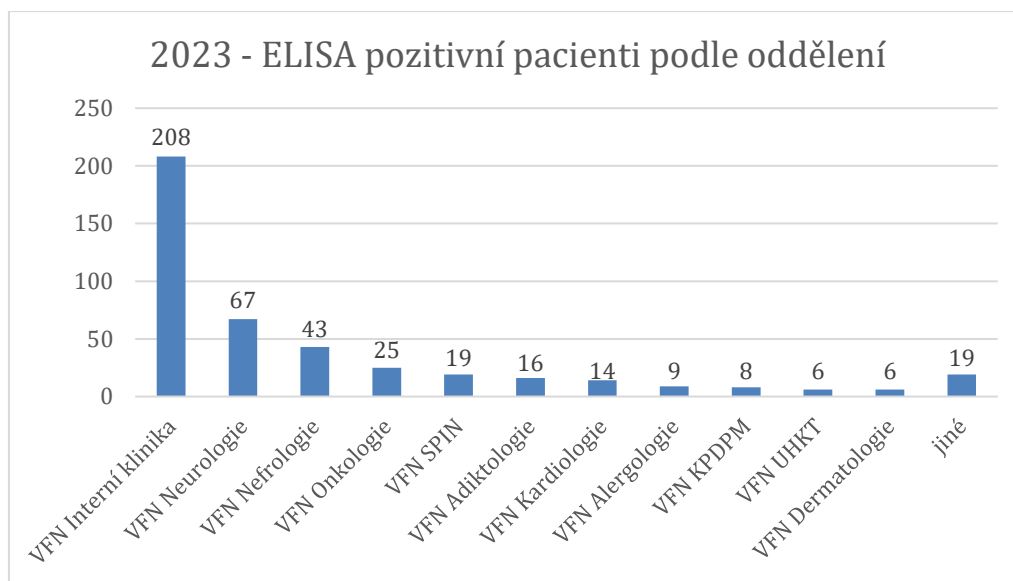
Graf 23. Distribuce pozitivních případů dle pohlaví, muži 51 % (270) a ženy 49 % (258) v roce 2023.

V roce 2023 připadly velikonoční svátky na 10. dubna a inkubační doba HEV je odhadována na přibližně 2 až 9 týdnů podle. (CDC, 2024) Vrchol infekcí byl dosažen v květnu s postupným ústupem. Očekávané vrcholy v únoru-březnu a září-říjnu jsou pozorovatelné (Graf 24).



Graf 24. Počet pozitivně testovaných pacientů v roce 2023.

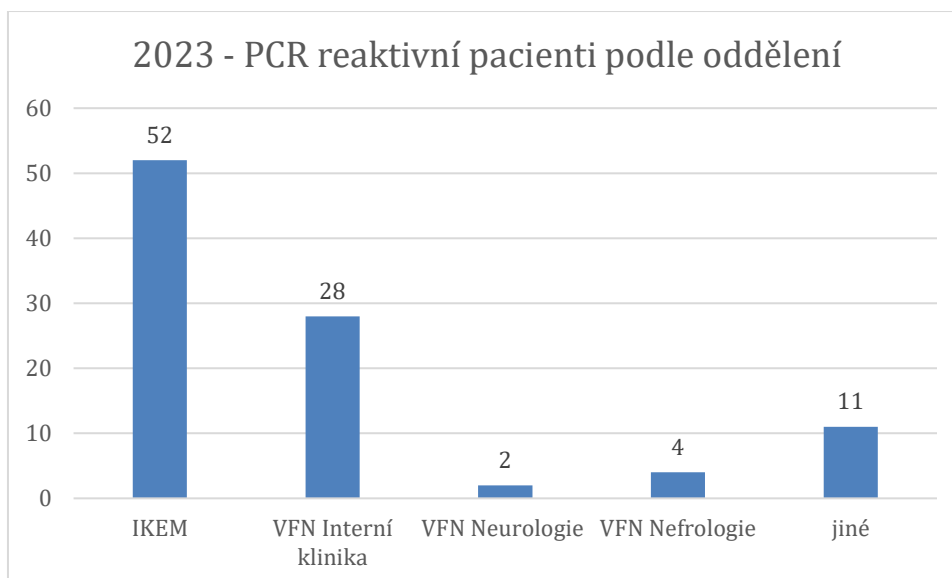
Poslední sledovaný rok nepřinesl výraznější změny. Interní klinika VFN s četnými diagnózami (onkologickými, kardiovaskulárními, plicními atd.) dominovala s nejvyšším počtem případů. Neurologie a nefrologie obsadila druhé, resp. třetí místo. Celkový soubor 431 pacientů s pozitivním nálezem HEV IgG nebo IgM znamenal míru pozitivity 20,49 % (Graf 25).



Graf 25. Pacienti pozitivně testovaní imunoanalýzou podle oddělení v roce 2023.

VFN – Všeobecná fakultní nemocnice, VFN SPIN – Společný příjem interně nemocných, VFN UHKT – Ústav hematologie a krevní transfuze, VFN KPDPM – Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu

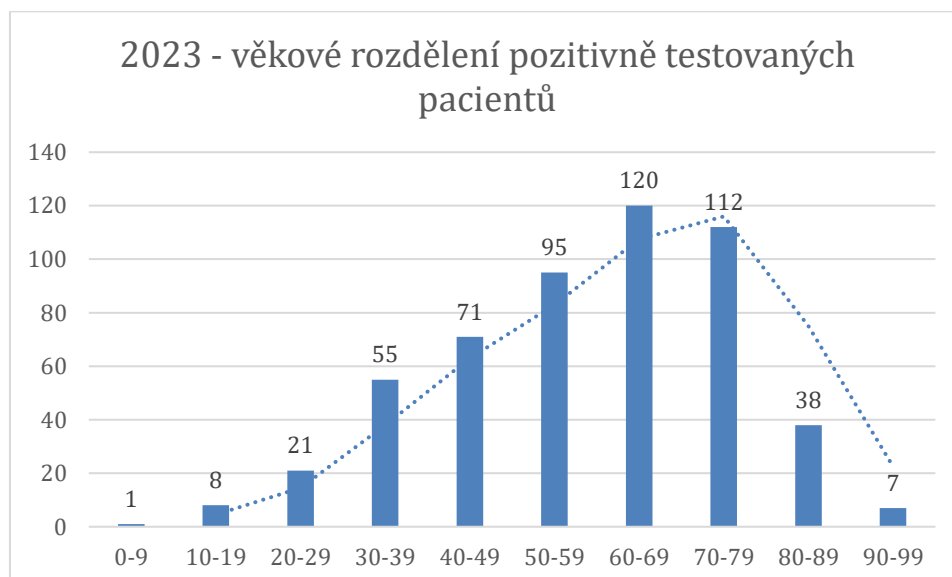
I v posledním roce sledované statistiky byl IKEM na prvním místě mezi zadavateli vyšetření a transplantace byly nejčastějším důvodem pro testování pomocí metody PCR. Hlavním důvodem testování pacientů z interní kliniky byly onkologické diagnózy. Míra pozitivity ze všech oddělení společně je 16,49 % (Graf 26).



*Graf 26. Pacienti pozitivně testovaní PCR podle oddělení v roce 2023.*

VFN – Všeobecná fakultní nemocnice, IKEM – Institutu klinické a experimentální medicíny

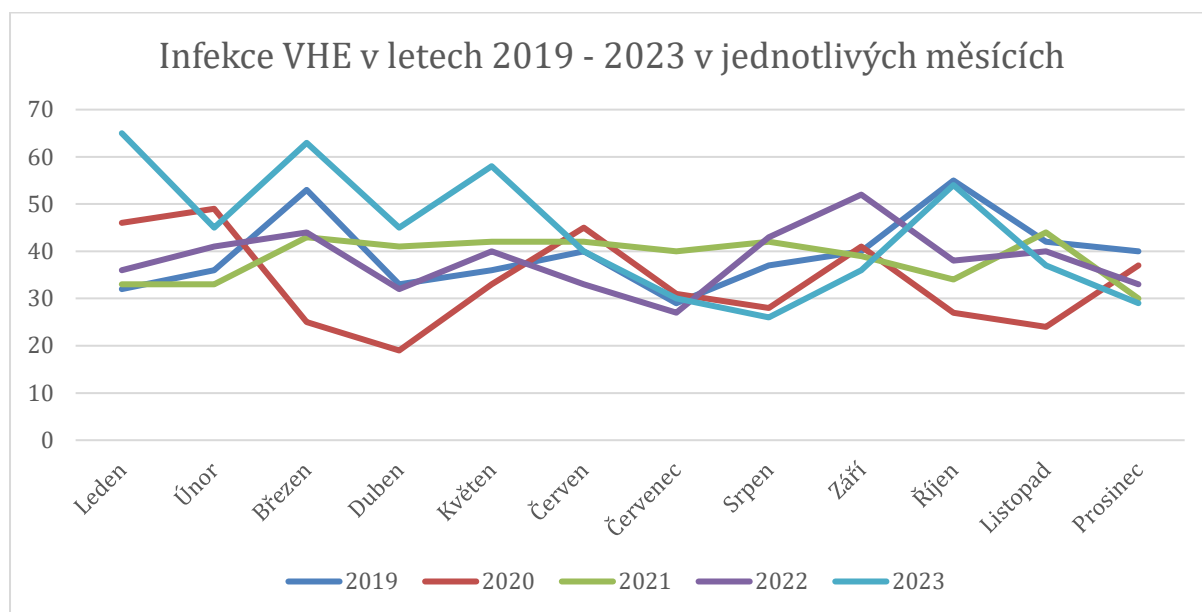
V roce 2023 nebyly zaznamenány výkyvy v očekávané křivce a distribuci pacientů podle věku (Graf 27).



*Graf 27. Rozdělení pozitivně testovaných pacientů v průběhu roku 2023 podle věku.*

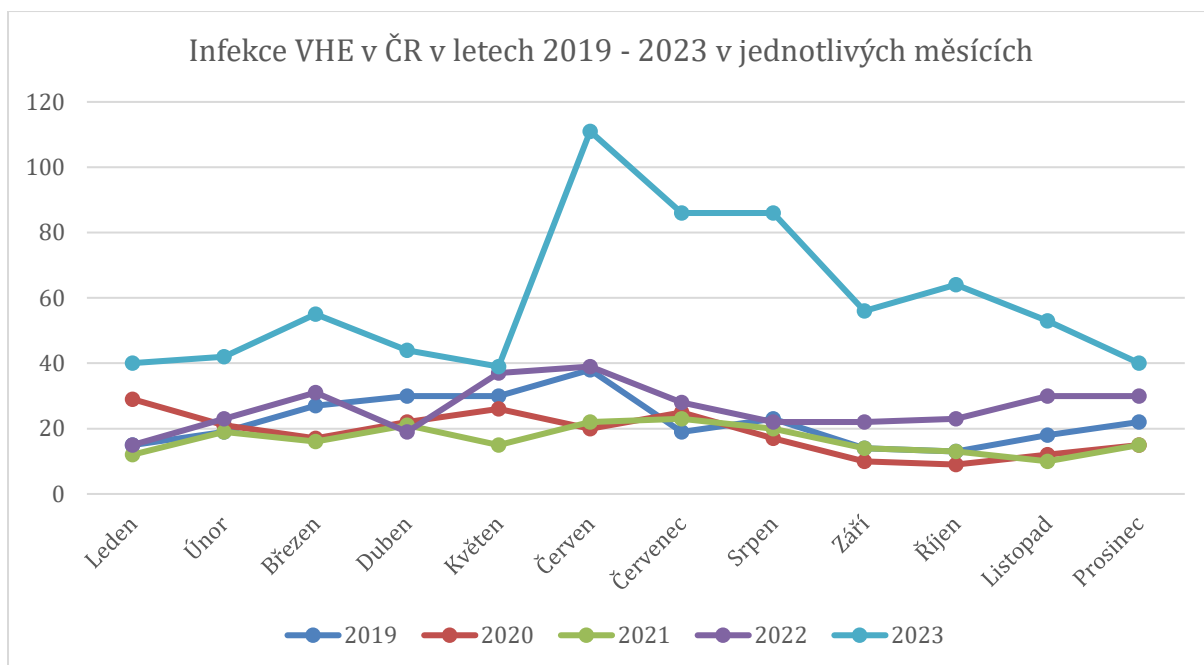
## 9 Diskuze

Statistický vzorek za posledních pět let (celkem 11772 pacientů) je signifikantní a pozorujeme nepopiratelný vrchol v počtu pozitivních testů v měsících únor-březen, květen-červen a září-říjen. S vysokou pravděpodobností to souvisí s rodinnými setkáními, oslavami Velikonoc a sezónou zabijaček (Graf 28).



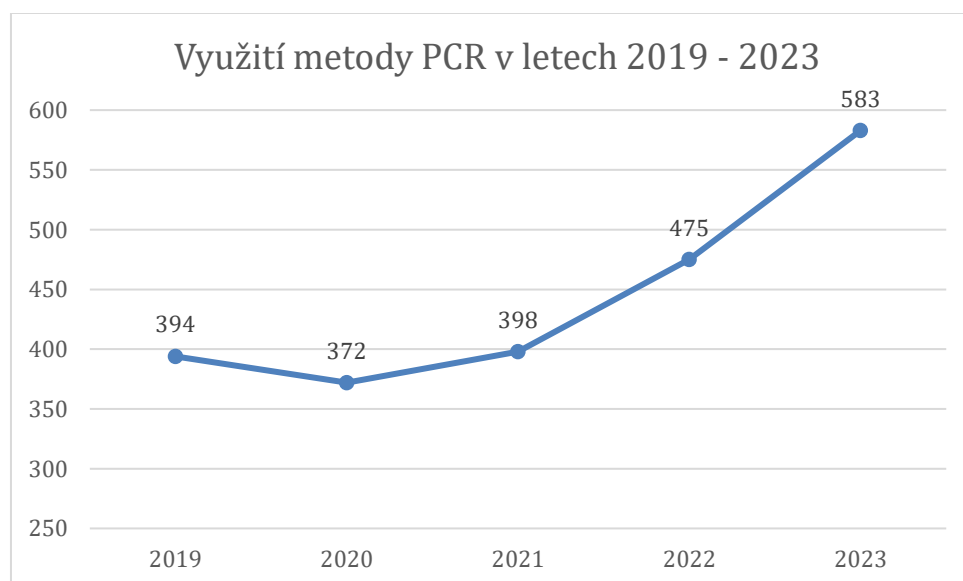
Graf 28. Distribuce pozitivních případů v průběhu let 2019–2023.

Státní zdravotní ústav (SZÚ) zaznamenává pouze akutní případy HEV, což způsobuje, že porovnání s daty z VFN v této práci je pouze orientační. Výsledky úplně nekorelují, ale jemné zvýšení VHE pozorujeme v březnu a říjnu. V roce 2023 je výrazný nárůst v červnu, pravděpodobně způsobený lokálním ohniskem nebo importem nákazy (Graf 29).



Graf 29. Distribuce akutní VHE v průběhu let 2019–2023 v rámci ČR (SZÚ, 2023).

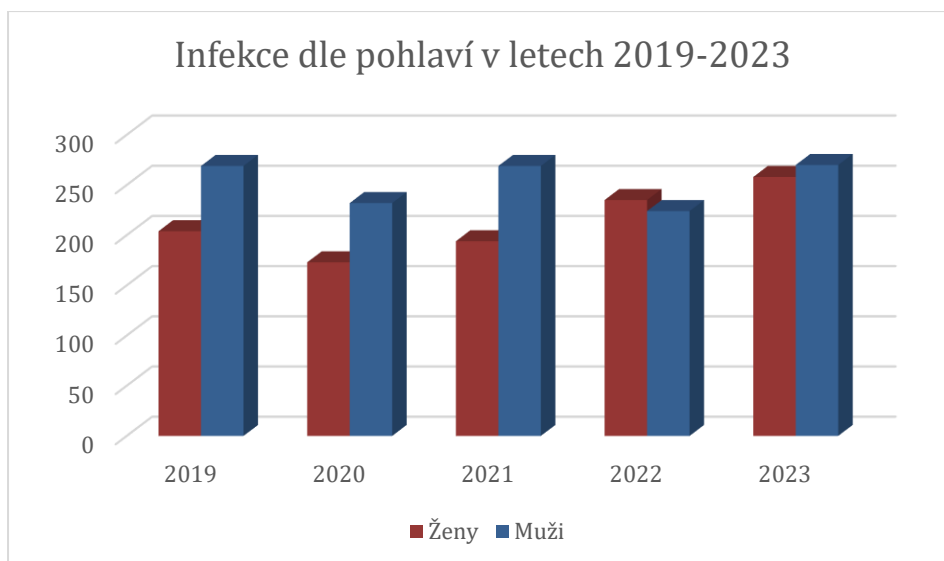
Za posledních pět let pozorujeme nárůst používání metody PCR pro testování. I když je tato metoda dražší, je také přesnější a citlivější než například metoda ELISA. Je možné, že i laboratoře a zdravotnický systém získaly po pandemii COVID-19 zkušenosti s PCR a začaly ji používat častěji (Graf 30).



Graf 30. Využití metody PCR v průběhu let 2019–2023.

Během sledovaného období 2019 až 2023 bylo zjištěno, že muži vedou v počtu případů pozitivních testů na HEV. Tento trend byl pozorován v letech 2019, 2020 a 2021.

V letech 2022 a 2023 však došlo k nárůstu počtu nakažených žen, což naznačuje změnu dynamiky tohoto infekčního onemocnění mezi pohlavími. Tato změna vyžaduje další zkoumání a možná i modifikaci preventivních opatření zaměřených na různá pohlaví, aby bylo možné lépe zvládat rizikové faktory spojené s infekcí hepatitidou E (Graf 31).

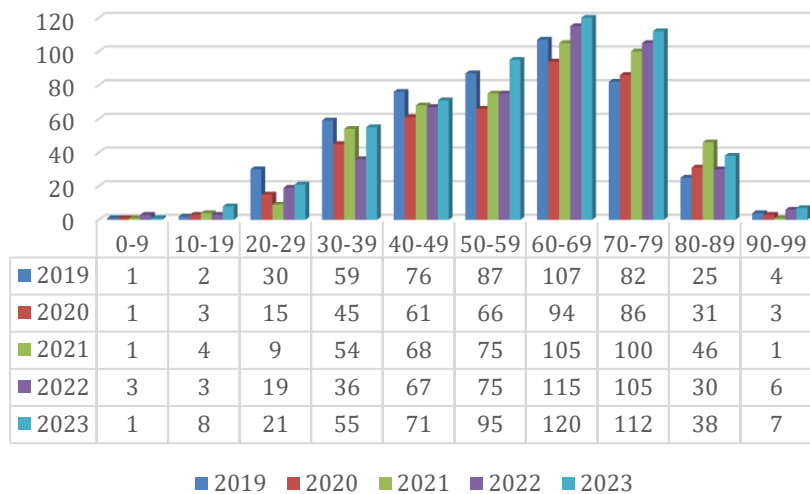


Graf 31. Distribuce pozitivních případů dle pohlaví v průběhu let 2019–2023.

Věkové rozložení pozitivních případů pacientů nevykazovalo během sledovaného období 2019-2023 žádné neočekávané výkyvy. To naznačuje relativní stabilitu věkového rozložení nakažených osob během sledovaného časového intervalu. Takové konzistentní rozložení může být důležité při formulování a přizpůsobování strategií léčby s cílem účinně zvládat případy hepatitidy E v populaci (Graf 32).



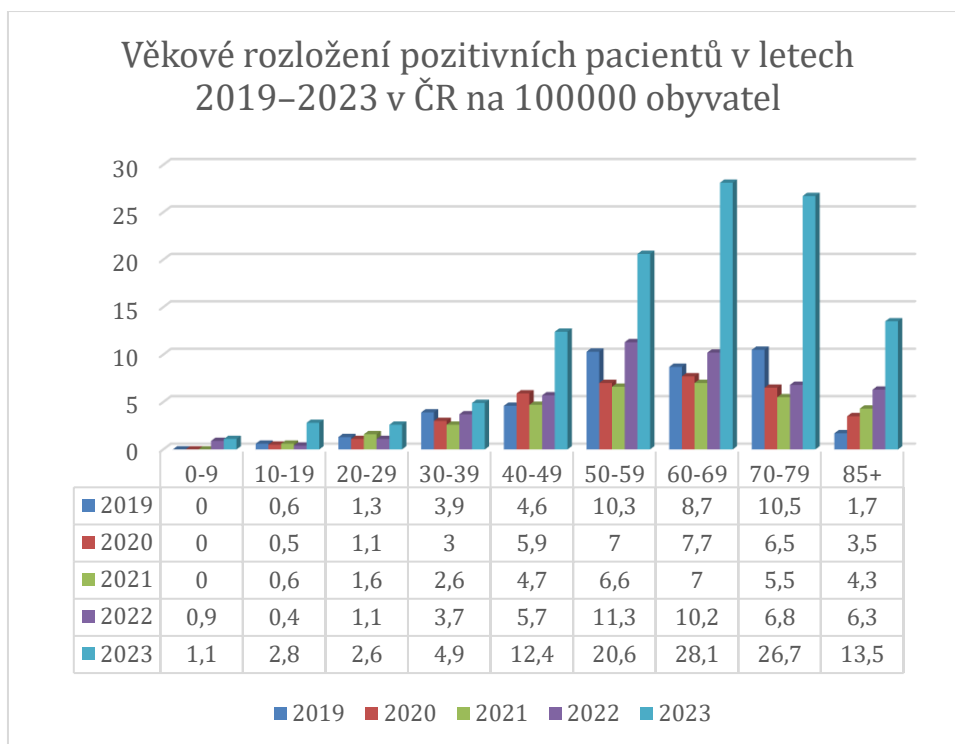
### Věkové rozložení pozitivních pacientů v letech 2019–2023



Graf 32. Věkové rozložení pozitivních pacientů v letech 2019–2023.

Podle dat SZÚ v Informační systém infekční nemoci můžeme přibližně přiřadit rozložení infekcí v populaci podle věku a vidíme, že výsledky ve Všeobecné fakultní nemocnici korelují s průměrem v ČR. Nejvyšší počet pozorujeme ve věkové skupině 60-80 let (Graf 33).

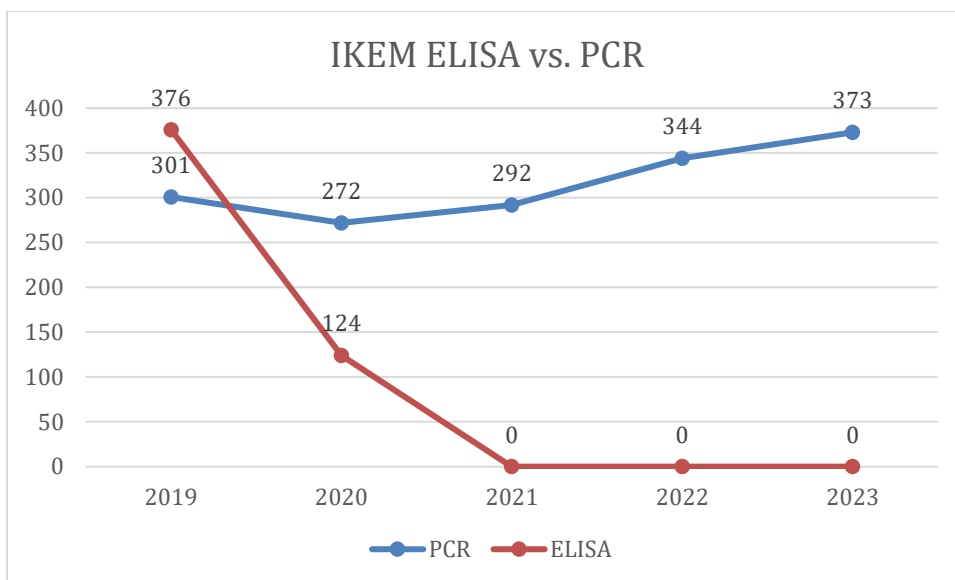
S přibývajícím věkem dochází k postupnému oslabování imunitního systému, což je přirozený proces stárnutí. Tento jev je způsoben tím, že buňky, které tvoří náš imunitní systém, ztrácejí s časem na účinnosti. Důsledkem oslabení imunitního systému je zvýšené riziko nákazy infekcemi u starších jedinců, kteří se tak stávají náchylnějšími k onemocněním, jako je chronická hepatitida E. (Marcus, Tur-Kaspa, 1997)



Graf 33. Výskyt hlášených infekcí akutní VHE v České republice ve věkových skupinách – nemocnost 2019-2023 (SZÚ, 2023).

V letech 2019 a 2020 IKEM posílal vzorky k detekci HEV na PCR a imunoanalýzu. V průběhu času však docházelo k postupnému poklesu počtu požadavků na imunoanalýzu, konkrétně do roku 2021, a v roce 2021 byly požadavky na tento postup zcela utlumeny. Místo toho došlo k úplnému přechodu na používání PCR metody pro diagnostiku hepatitidy E (Graf 34). Tento posun v diagnostických metodách může odrážet lepší citlivost a spolehlivost PCR ve srovnání s imunoanalýzou (Vollmer *et al.*, 2014), což by mohlo vést k přesnější identifikaci případů HEV během transplantací jater a ledvin. Je také možné, že testování protilátek bylo přesunuto do jiné laboratoře, což by mohlo ovlivnit výsledky a způsobit rozdíly v incidenci nákazy mezi různými obdobími a místy.

V celosvětovém měřítku neexistuje shoda ohledně toho, který test je vhodnější k použití: imunoanalýzu nebo RT-PCR. Diagnóza infekce hepatitidou E se stanovuje detekcí specifických imunoglobulinových protilátek anti-HEV IgM proti viru v krevním vzorku jednotlivce; tento postup je často dostačující v oblastech, kde je toto onemocnění běžné. Pro detekci RNA viru hepatitidy E v krvi a ve stolici je zapotřebí specializovaného laboratorního vybavení. Tato metoda má zvláštní význam v regionech s nízkou prevalencí hepatitidy E a v ojedinělých případech s chronickou infekcí HEV, nebo kde je vyžadována vysoká citlivost, například při transplantacích. (WHO, 2023)



Graf 34. Trend objednávek vyšetření z IKEM.

## 10 Závěr

Virová hepatitida E je stále aktuálnějším tématem veřejného zdraví, i přes to, že je často spojována s rozvojovými zeměmi. Existuje mnoho typů hepatitid, přičemž hepatitidy A, B, C, D a E patří mezi nejznámější. Tato onemocnění mohou mít různé příčiny, přenosové cesty a závažnost.

Analýza statistického vzorku pacientů za posledních pět let poskytla cenné poznatky o dynamice hepatitidy E v České republice. Byl pozorován významný nárůst pozitivních testů, zejména v měsících března a října. Tento nárůst pravděpodobně souvisí s rodinnými setkáními, oslavami Velikonoc a sezónou zabijaček. Zároveň jsme zaznamenali trend nárůstu používání metody PCR pro testování, což naznačuje poptávku po lepší citlivosti a spolehlivosti, kterou je v porovnání s imunoanalýzou tato diagnostická metoda typická.

Analýza dat rovněž odhalila změnu v rozložení případů hepatitidy E podle pohlaví. Zatímco muži vedli v počtu případů v minulosti, v posledních letech jsme pozorovali významný nárůst počtu nakažených žen. Tato změna vyžaduje další studium a možnou úpravu preventivních opatření, aby bylo možné lépe zvládat rizikové faktory spojené s infekcí hepatitidou E.

Dále pozorujeme stále vyšší míru potvrzených infekcí hepatitidou E. Tento trend může být způsoben několika faktory. Jedním z nich může být zvýšené testování, které může odhalit více případů infekce než dříve. Důležitou roli mohou hrát také zlepšené diagnostické postupy a větší povědomí lékařů o této nemoci, což může vést k většímu počtu diagnostikovaných případů. Zároveň by však neměla být opomenuta možnost zhoršené hygienické situace v populaci, která by mohla přispět k šíření viru hepatitidy E. V kombinaci mohou tyto faktory hrát klíčovou roli ve zvyšování míry potvrzených případů infekce a je důležité je dále zkoumat a monitorovat pro efektivní řízení této choroby.

Celkově lze vyvodit, že hepatitida E představuje významný problém ve veřejném zdraví, a je důležité nejen sledovat dynamiku onemocnění, ale také přijímat opatření k prevenci a řízení nákazy. Důkladné pochopení faktorů ovlivňujících šíření viru hepatitidy E je klíčem k účinnému zvládnutí této infekční choroby v populaci.

## 11 Seznam zkratek

ALT	alaninaminotransferáza
Ct	cycle threshold, práh cyklu
cDNA	komplementární DNA
ČR	Česká republika
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid, kyselina ethylendiamintetraoctová
ELFA	enzyme linked fluorescent assay
ELISA	enzymová imunoanalýza
HEV	hepatitida E
HEV1	hepatitida E, genotyp 1
HEV2	hepatitida E, genotyp 2
HEV3	hepatitida E, genotyp 3
HEV4	hepatitida E, genotyp 4
HEV5	hepatitida E, genotyp 5
HEV6	hepatitida E, genotyp 6
HEV7	hepatitida E, genotyp 7
HEV8	hepatitida E, genotyp 8
H	helikáza
HCG	human chorionic gonadotropin, lidský choriový gonadotropin
IgG	imunoglobulin G
IgM	imunoglobulin M
IKEM	Institut Klinické a Experimentální Medicíny
kb	kilobáze
KPDPM	Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu
MT	metyltransferáza
NK	natural killer
ORF	open reading frame
PCR	polymerázová řetězová reakce
PCP	cysteinová proteáza podobná papainu
RFV	relativní fluorescence
RNA	ribonukleová kyselina
RdRp	RNA-dependent RNA polymerase
RT-PCR	real time polymerázová řetězová reakce
SPIN	Společný příjem interně nemocných
SPR	špička s navázanou pevnou fází
SZÚ	Státní zdravotní ústav

UTR	untranslated region
ÚHKT	Ústav hematologie a krevní transfuze
ÚLBDL	Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky
VFN	Všeobecná Fakultní Nemocnice
VHE	virová hepatitida E
ÚVN	Ústřední vojenská nemocnice

## 12 Seznam tabulek

Tabulka 1. Seznam extrahepatálních příznaků infekce HEV. ....	18
Tabulka 2. Bodové hodnocení HEV antigenů v RecomLine HEV. ....	33
Tabulka 3. Hodnocení testu. ....	33

## 13 Seznam obrázků

Obrázek 1 Schéma znázorňující strukturu šestiúhelníkových jaterních lalůček a propojení jednotlivých jaterních cév. ....	10
Obrázek 2. Elektronová mikrofotografie virů hepatitidy E. ....	12
Obrázek 3. Schematický diagram genomu viru hepatitidy E. ....	13
Obrázek 4. Zeměpisné rozšíření genotypů HEV 1-4. ....	15
Obrázek 5. Histologie jater pacienta s akutní autochtou hepatitidou E. ....	17
Obrázek 6. Mikrogen Diagnostik recomLine HEV Lateral Strip Test. ....	22
Obrázek 7. OnSite HEV IgM Rapid Test. ....	25
Obrázek 8. Hecolin. Balení komerční očkovací látky Hecolin. ....	28
Obrázek 9. Reagenční stripy pro systém VIDAS®. ....	29
Obrázek 10. Analytický systém VIDAS®. ....	30
Obrázek 11. Testovací sada RecomLine HEV IgG/IgM. ....	31
Obrázek 12. Míchací plotna pro testovací stripy. ....	32
Obrázek 13. Reakční strip pro RecomLine HEV IgG/IgM. ....	33
Obrázek 14. Hodnotící formulář pro test RecomLine HEV IgG/IgM. ....	34
Obrázek 15. Izolátor DNA pro zpracování vzorků na vyšetření metodou PCR. ....	35
Obrázek 16. Příklad výsledkového listu. Znázorněné amplifikační křivky interní kontroly vzorků pro test ampliCube HEV 2.0 Quant. ....	36
Obrázek 17. Příklad amplifikace reaktivního vzorku, pozitivní, negativní a interní kontroly. .	37



## 14 Seznam grafů

Graf 1. Trend onemocnění akutní HEV v České republice v letech 2008 až 2023.....	14
Graf 2. Graf znázorňující tvorbu markerů v průběhu infekce HEV. ....	23
Graf 3. Distribuce pozitivních případů dle pohlaví, muži 57 % (269 případů) a ženy 43 % (204 případů) v roce 2019. ....	39
Graf 4. Počet pozitivně testovaných pacientů v průběhu roku 2019. ....	39
Graf 5. Pacienti pozitivně testovaní imunoanalýzou podle zadávajícího oddělení v roce 2019. ....	40
Graf 6. Pacienti pozitivně testovaní pomocí PCR podle oddělení v roce 2019.....	41
Graf 7. Rozdělení pozitivně testovaných pacientů v průběhu roku 2019 podle věku. ....	41
Graf 8. Distribuce pozitivně testovaných dle pohlaví, muži 57 % (232) a ženy 43 % (173) v roce 2020.....	42
Graf 9. Počet pozitivně testovaných pacientů v průběhu roku 2020. ....	43
Graf 10. Pacienti pozitivně testovaní imunoanalýzou podle oddělení v roce 2020.....	43
Graf 11. Pacienti pozitivně testovaní PCR podle oddělení v roce 2020. ....	44
Graf 12. Rozdělení pozitivně testovaných pacientů v průběhu roku 2020 podle věku. ....	44
Graf 13. Distribuce pozitivně testovaných dle pohlaví, muži 57 % (269) a ženy 43 % (194) v roce 2021.....	45
Graf 14. Počet pozitivně testovaných pacientů v roce 2021. ....	46
Graf 15. Pacienti pozitivně testovaní imunoanalýzou v roce podle oddělení v roce 2021. ....	46
Graf 16. Pacienti pozitivně testovaní PCR podle oddělení v roce 2021. ....	47
Graf 17. Rozdělení pozitivně testovaných pacientů v průběhu roku 2021 podle věku. ....	47
Graf 18. Distribuce pozitivních případů dle pohlaví, muži 49 % (224 případů) a ženy 51 % (235 případů) v roce 2022. ....	48
Graf 19. Počet pozitivně testovaných pacientů v roce 2022. ....	49
Graf 20. Pacienti pozitivně testovaní imunoanalýzou podle oddělení v roce 2022.....	49
Graf 21. Pacienti pozitivně testovaní PCR podle oddělení v roce 2022. ....	50
Graf 22. Rozdělení pozitivně testovaných pacientů v průběhu roku 2022 podle věku. ....	50
Graf 23. Distribuce pozitivních případů dle pohlaví, muži 51 % (270) a ženy 49 % (258) v roce 2023.....	51
Graf 24. Počet pozitivně testovaných pacientů v roce 2023. ....	51
Graf 25. Pacienti pozitivně testovaní imunoanalýzou podle oddělení v roce 2023.....	52
Graf 26. Pacienti pozitivně testovaní PCR podle oddělení v roce 2023. ....	53
Graf 27. Rozdělení pozitivně testovaných pacientů v průběhu roku 2023 podle věku. ....	53
Graf 28. Distribuce pozitivních případů v průběhu let 2019–2023. ....	54
Graf 29. Distribuce akutní VHE v průběhu let 2019–2023 v rámci ČR (SZÚ, 2023).....	55

Graf 30. Využití metody PCR v průběhu let 2019–2023. ....	55
Graf 31. Distribuce pozitivních případů dle pohlaví v průběhu let 2019–2023. ....	56
Graf 32. Věkové rozložení pozitivních pacientů v letech 2019–2023. ....	57
Graf 33. Výskyt hlášených infekcí akutní VHE v České republice ve věkových skupinách – nemocnost 2019-2023 (SZÚ, 2023). ....	58
Graf 34. Trend objednávek vyšetření z IKEM. ....	59

## 15 Použitá literatura

1. AL-SADEQ, Duaa W.; MAJDALAWIEH, Amin F.; MESLEH, Areej G.; ABDALLA, Omnya M. a NASRALLAH, Gheyath K., 2018. Laboratory challenges in the diagnosis of hepatitis E virus. Online. *Journal of Medical Microbiology*. 2018-04-01, roč. 67, č. 4, s. 466-480. ISSN 0022-2615. Dostupné z: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000706>. [cit. 2024-01-13].
2. AmpliCube HEV 2.0 Quant. Neuried, Německo: MIKROGEN GmbH; 2019. [cit. 2024-05-10].
3. ASPINALL, Esther J, 2017. Hepatitis E virus infection in Europe: surveillance and descriptive epidemiology of confirmed cases, 2005 to 2015 separator. Online. *Eurosurveillance*. Roč. 22, č. 26. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.26.30561>. [cit. 2024-04-03].
4. CDC, 2024. Online. Cdc.gov. Dostupné z: <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2024/infections-diseases/hepatitis-e>. [cit. 2024-05-09].
5. ČIHÁK, Radomír, 2016. Anatomie 2. In: *Anatomie*. Třetí, upravené a doplněné vydání. Praha: Grada, 2011-2016, s. 143-144. ISBN 978-80-247-4788-0.
6. DENNER, Joachim, 2019. Hepatitis E virus (HEV)—The Future. Online. *Viruses*. Roč. 11, č. 3, s. 251. ISSN 1999-4915. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/v11030251>. [cit. 2024-03-04].
7. *Diagnosis of Hepatitis E Virus Infection: Current Capabilities and Shortcomings*, 2023. Roche Diagnostics International. [cit. 2024-01-15].
8. DOMANOVIĆ, Dragoslav; TEDDER, Richard; BLÜMEL, Johannes; ZAAIJER, Hans; GALLIAN, Pierre et al., 2017. Hepatitis E and blood donation safety in selected European countries: a shift to screening? Online. *Eurosurveillance*. 2017-04-20, roč. 22, č. 16. ISSN 1560-7917. Dostupné z: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.16.30514>. [cit. 2024-04-22].
9. FOUSEKIS, Fotios S.; CHRISTODOULOU, Dimitrios K. a MITSELOS, Ioannis V., 2020. Extrahepatic manifestations of hepatitis E virus: An overview. Online. *Clin Mol Hepatol*. Roč. 26, č. 1, s. 16-23. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3350/cmh.2019.0082>. [cit. 2024-03-04].
10. HUANG, Shoujie; ZHANG, Xuefeng; SU, Yingying; ZHUANG, Chunlan a TANG, Zimin, 2024. Long-term efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine in adults: 10-year results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. Online. *The Lancet*.

- Roč. 403, č. 10429, s. 813-823. Dostupné z: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)02234-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)02234-1). [cit. 2024-04-23].
11. HUSA, Petr, 2000. *Léčba virových hepatitid: [minimum pro praxi]*. Levou zadní. Praha: Triton. ISBN 80-725-4157-9.
  12. HUSA, Petr, 2011. *Virové hepatitidy*. Galén. ISBN 80-7262-304-4.
  13. CHAUHAN, Abhishek; WEBB, Gwilym a FERGUSON, James, 2011. Clinical presentations of Hepatitis E: A clinical review with representative case histories. Online. *Virus Research*. Roč. 161, č. 1, s. 84-92. Dostupné z: <https://doi.org/doi:10.1016/j.clinre.2019.01.005>. [cit. 2024-03-03].
  14. KHUDYAKOV, Yury a KAMILI, Saleem, 2019. Serological diagnostics of hepatitis E virus infection. Online. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. Roč. 43, č. 6, s. 1-2. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.06.006>. [cit. 2024-01-14].
  15. KHUROO, Mohammad S; KHUROO, Mehnaaz S a KHUROO, Naira S, 2016. Hepatitis E: Discovery, global impact, control and cure. Online. *World Journal of W J G Gastroenterology*. Roč. 22, č. 31, s. 1. Dostupné z: <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i31.7030>. [cit. 2024-03-02].
  16. KONRÁDOVÁ, Václava, 2000. Funkční histologie. In: *Funkční histologie*. 2. vyd. Jinočany: H&H, s. 180. ISBN 80-860-2280-3.
  17. LHOMME, Sébastien; MARION, Olivier; ABRAVANEL, Florence; CHAPUY-REGAUD, Sabine; KAMAR, Nassim et al., 2016. Hepatitis E Pathogenesis. Online. *Viruses*. Roč. 8, č. 8, s. 212. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/v8080212>. [cit. 2024-04-25].
  18. MARCUS, Esther-Lee a TUR-KASPA, Ran, 1997. Viral Hepatitis in Older Adults. Online. *Journal of the American Geriatrics Society*. Roč. 45, č. 6, s. 755-763. ISSN 0002-8614. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1997.tb01484.x>. [cit. 2024-05-09].
  19. MIHALČIN, Matúš a HUSA, Petr, 2019. Vývoj poznatků o nemoci způsobené virem hepatitidy E. Online. *Vnitř Lék*. Roč. 66, č. 9, s. 565. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/vnitri-lekarstvi/2019-9-1/vyvoj-poznatku-o-nemoci-zpusobene-virem-hepatitidy-e-115577>. [cit. 2024-03-05].
  20. MISHRA, Saurabh; BORKAKOTI, Jayanta; KUMAR, Suresh a KAR, Premashis, 2016. Role of HEV antigen detection in HEV-related acute viral hepatitis and acute liver failure. Online. *Journal of Medical virology*. Roč. 88, č. 12, s. 2179-2185. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jmv.24567>. [cit. 2024-03-04].
  21. RecomLine HEV IgG/IgM. Neuried, Německo: MIKROGEN GmbH; 2009. [cit. 2024-05-10].

22. REIN, David, 2011. The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. Online. Roč. 55, č. 4, s. 988-997. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/hep.25505>. [cit. 2024-03-03].
23. TARIK ASLAN, Abdullah a YASEMIN BALABAN, Hatice, 2020. Hepatitis E virus: Epidemiology, diagnosis, clinical manifestations, and treatment. Online. *World Journal of W J G Gastroenterology*. Roč. 26, č. 37, s. 37. Dostupné z: <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i37.5543>. [cit. 2024-03-02].
24. THAKUR, Vikram; RATHO, Radha Kanta; KUMAR, Swatantra; SAXENA, Shailendra K a THAKUR, Pryanka, 2020. Viral Hepatitis E and Chronicity: A Growing Public Health Concern. Online. *Frontiers in Microbiology*. Roč. 11, č. 577339, s. kapitola 4. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.577339>. [cit. 2024-03-04].
25. TJWA, Eric; MUNSTERMAN, Isabelle a DRENTH, Joost, 2017. Treatment of hepatitis E infection in immuno-incompetent patients: reduction of immunosuppression appears to be more effective than ribavirin therapy. Online. *Journal of Hepatology*. Roč. 66, č. 1, s. 331. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(17\)30990-X](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(17)30990-X). [cit. 2024-01-14].
26. VIDAS® Anti-HEV IgM (HEVM) a Anti-HEV IgG (HEVG). Marcy-l'Etoile, France: BioMérieux SA; 2019. [cit. 2024-05-10].
27. VOLLMER, Tanja; KNABBE, Cornelius a DREIER, Jens, 2014. Comparison of Real-Time PCR and Antigen Assays for Detection of Hepatitis E Virus in Blood Donors. Online. *Journal of Clinical Microbiology*. Roč. 52, č. 6, s. 2150-2156. ISSN 0095-1137. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/JCM.03578-13>. [cit. 2024-05-09].
28. WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014. *Waterborne outbreaks of hepatitis E: recognition, investigation and control*. Online. Geneva, Switzerland: World Health Organization. ISBN 9789241507608. Dostupné z: [www.who.int](http://www.who.int). [cit. 2024-01-13].
29. WU, Chunchen; WU, Xiaoxue a XIA, Jianbo, 2020. Hepatitis E virus infection during pregnancy. Online. *Virology Journal*. Roč. 17, č. 73. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01343-9>. [cit. 2024-03-02].
30. WU, Ting; LI, Shao-Wei; ZHANG, Jun; NG, Mun-Hon; XIA, Ning-Shao et al., 2012. Hepatitis E vaccine development. Online. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. Roč. 8, č. 6, s. 823-827. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.4161/hv.20042>. [cit. 2024-03-02].
31. Scientific Opinion on the public health risks associated with hepatitis E virus (HEV) as a food-borne pathogen, 2017. Online. *EFSA Journal*. Roč. 15, č. 7, s. 1-2. Dostupné z: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4886>. [cit. 2024-01-14].

32. *Virová hepatitida E (žloutenka typu E)*, 2024. Online. <https://www.nzip.cz>. Dostupné z: <https://www.nzip.cz/clanek/1322-virova-hepatitida-e-zloutenka-typu-e>. [cit. 2024-05-08].
33. SZÚ, 2023. SZÚ. Online. Státní zdravotní ústav. Dostupné z: <https://szu.cz/>. [cit. 2024-05-06].
34. *Státní veterinární správa*. Online. Dostupné z: <https://www.svscr.cz/zivocisne-produkty/onemocneni-z-potravin/virova-hepatitida-e/>. [cit. 2024-04-11].
35. WHO, 2016. *Hepatitis E Vaccine: Composition, Safety, Immunogenicity and Efficacy*. Online. WHO. Dostupné z: [https://cdn-auth-cms.who.int/media/docs/default-source/immunization/hepatitis/2\\_hepevaccsafety\\_immunogenicity\\_efficacy\\_final\\_1oct2014.pdf?sfvrsn=f8f7f2c8\\_8/](https://cdn-auth-cms.who.int/media/docs/default-source/immunization/hepatitis/2_hepevaccsafety_immunogenicity_efficacy_final_1oct2014.pdf?sfvrsn=f8f7f2c8_8/). [cit. 2024-03-02].
36. WHO, 2023. *Hepatitis E*. Online. WHO. Dostupné z: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e>. [cit. 2024-03-02].