

Případy horečky dengue u českých pracovníků zaměstnaných na Maledivách

Trojánek Milan^{1, 2}, Tomíčková Dora², Roháčová Hana^{1, 2}, Kosina Pavel³, Gebouský Jan³, Dvořák Jan⁴, Chmelík Václav⁵, Batistová Květoslava⁶, Husa Petr⁷, Maixner Jan⁸, Sojková Naděžda⁸, Zelená Hana⁹, Marešová Vilma^{1, 2}, Stejskal František^{1, 2, 10, 11}

¹ 1. infekční klinika, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a Nemocnice Na Bulovce, Praha

² Klinika infekčních, tropických a parazitárních nemocí, Nemocnice Na Bulovce, Praha

³ Klinika infekčních nemocí, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze a Fakultní nemocnice v Hradci Králové

⁴ Interní klinika, 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a Fakultní nemocnice Motol

⁵ Infekční oddělení, Nemocnice České Budějovice, a. s.

⁶ Infekční ambulance, Oblastní nemocnice Písek

⁷ Infekční klinika, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita a Fakultní nemocnice Brno

⁸ Oddělení virologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem, Praha

⁹ Národní referenční laboratoř pro arbovirózy, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

¹⁰ Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a Všeobecná fakultní nemocnice

¹¹ Infekční oddělení, Krajská nemocnice Liberec, a. s.

SOUHRN

Cíl práce: Cílem předkládané studie je popis epidemiologických charakteristik a klinických příznaků u souboru pacientů nakažených virem dengue během pracovního pobytu na ostrově Fushivelavaru na Maledivách. Studie dále srovnává senzitivitu nových metod přímé detekce, tj. RT-PCR a detekce NS1 antigenu viru dengue.

Materiál a metody: Retrospektivní studie sledovala klinický průběh případů horečky dengue u pacientů, kteří pracovní pobývali na Maledivách a u nichž byla prokázána nákaza virem dengue v období od 1. září do 31. října 2012. V laboratorní diagnostice bylo využito detekce protilátek třídy IgM a IgG, NS1 antigenu metodou ELISA a real-time RT-PCR.

Výsledky: V září a říjnu 2012 bylo v ČR diagnostikováno celkem 18 případů onemocnění (18 mužů, medián věku 40 let, IQR 36-47) po pracovním pobytu na Maledivách. Pouze jeden pacient byl hospitalizován, ostatní byli ošetřeni ambulantně. U nemocných byly nejčastěji přítomny následující příznaky: horečka či subfebrilie (18 pacientů), bolesti hlavy (9), svalů (8), kloubů (7) a vyrážka (9). V laboratorních vyšetřeních

byla typickým nálezem leukocytopenie, trombocytopenie, nízké hodnoty CRP a vzestup aktivity aminotransferáz. Ve všech případech onemocnění proběhlo bez závažnějších komplikací. NS1 antigen byl prokázán v séru u všech 10 pacientů s akutní horečkou dengue, ale virová RNA pouze u 4 pacientů. Rozdíl v senzitivě těchto metod je statisticky signifikantní ($p = 0,011$).

Závěry: Přestože většina případů horečky dengue po návratu z tropů je diagnostikována u turistů, tato práce poukazuje na rizika, která nákaza představuje pro osoby dlouhodobě pracující v endemických oblastech. Primoinfekce virem probíhá obvykle nekomplikovaně, avšak nakažené osoby jsou ve zvýšeném riziku závažného průběhu při nákaze jiným sérotypem viru. Pracovní neschopnost či nutnost předčasně ukončit pracovní pobyt představuje též finanční zátěž pro zaměstnavatele. V diagnostice akutní horečky dengue by měla být dána přednost citlivým a specifickým metodám přímého průkazu viru.

KLÍČOVÁ SLOVA

dengue – flaviviry – importované nákazy – horečka

SUMMARY

Trojánek Milan, Tomíčková Dora, Roháčová Hana, Kosina Pavel, Gebouský Jan, Dvořák Jan, Chmelík Václav, Batistová Květoslava, Husa Petr, Maixner Jan, Sojková Naděžda, Zelená Hana, Marešová Vilma, Stejskal František: Dengue Fever Cases in Czech Workers Returning from the Maldives

Aim: The objective of this study is to present epidemiological characteristics and clinical symptoms of dengue fever cases in Czech workers who acquired the infection while working on the island of Fushivelavaru, Maldives. Furthermore, the study compares the sensitivity of novel direct detection assays, i.e. Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) and detection of Dengue NS1 antigen.

Material and Methods: The retrospective study evaluated the clinical course of dengue fever cases in Czech workers returning from a job in the Maldives who were diagnosed with dengue virus infection from September 1 to October 31, 2012. The laboratory diagnosis of dengue fever was based on the serological detection of IgM and IgG antibodies, detection of dengue NS1 antigen by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and detection of dengue virus DNA by RT-PCR.

Results: The infection with dengue virus was confirmed in 18 males with a median age of 40 years (IQR 36-47) who returned from a job in the Maldives. Only one patient required admission to the hospital while

the others were treated on an outpatient basis. The most frequently observed symptoms were fever (18), headache (9), muscle and joint pain (8 and 7, respectively), and rash (9). Typical laboratory findings were leukocytopenia and thrombocytopenia, a low CRP level, and elevated aminotransferase activity. The clinical course was uncomplicated in all patients. The dengue NS1 antigen detection (positive in all 10 patients with acute dengue fever) showed significantly higher sensitivity than the detection of viral RNA using RT-PCR (positive in 4 patients), $p = 0.011$.

Conclusion: Although the vast majority of dengue fever cases are diagnosed among travellers returning from the tropics, the presented study points out the risks posed by dengue fever to long-term workers in endemic areas. The infection in the serologically naïve hosts is usually uncomplicated; however, infected persons are at significant risk of developing a severe complicated clinical course if challenged by another serotype. Furthermore, sick leaves or premature departures cause a considerable economic burden to employers. In the diagnosis of acute dengue fever, preference should be given to highly sensitive and specific tests for the direct detection of dengue virus (NS1 antigen and RT-PCR assays).

KEYWORDS

dengue - flaviviruses - imported infections - fever

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 62, 2013, č. 3, s. 100-105

ÚVOD

Horečka dengue patří mezi celosvětově nejrozšířenější arbovirové nákazy. Ročně se virem nakazí přibližně 50 miliónů osob. Původcem onemocnění jsou čtyři blízce příbuzné sérotypy viru dengue. Nákaza je přenášena komáry rodu *Aedes*, zejména *A. aegypti* a *A. albopictus*. Rezervoárem infekce jsou především osoby ve viremické fázi onemocnění [1].

Nejvíce případů onemocnění je hlášeno z oblastí jihovýchodní Asie, indického subkontinentu, Tichomoří, Karibiku a Latinské Ameriky [2]. Horečka dengue patří mezi jednu z nejčastěji importovaných horečnatých nákaz do vyspělých zemí, neboť řada z výše uvedených oblastí patří mezi oblíbené turistické destinace [3].

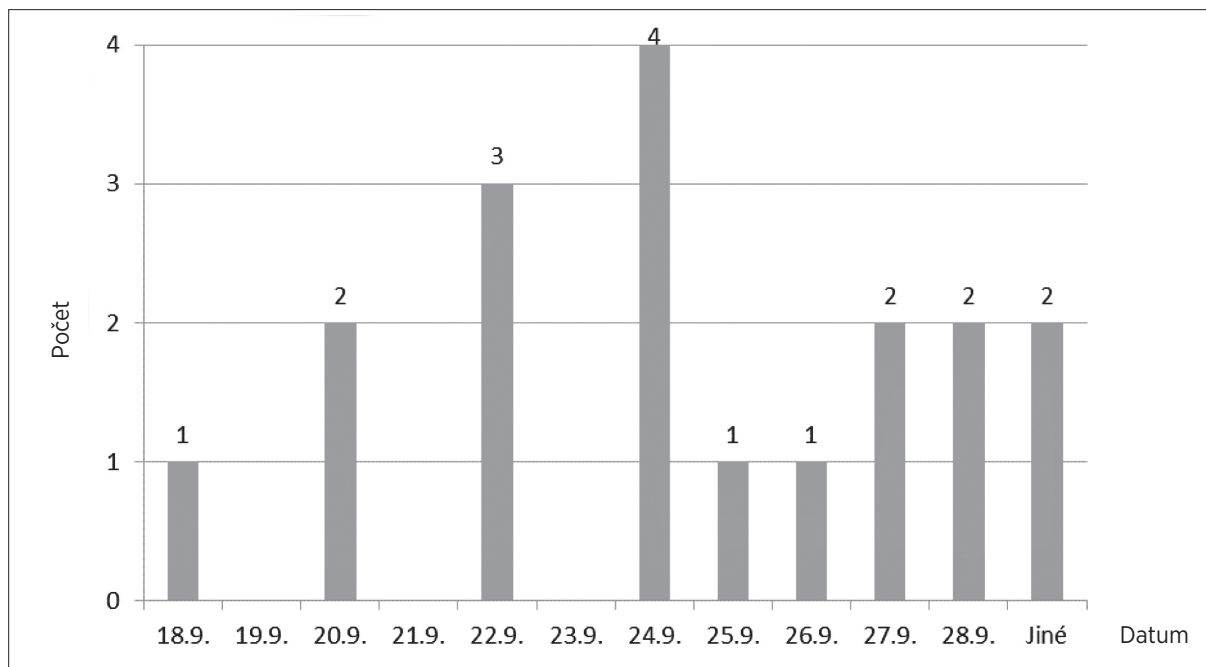
Onemocnění může proběhnout asymptomaticky nebo po inkubační době 4-7 dnů jako nekomplikované horečnaté onemocnění doprovázené výraznými bolestmi hlavy, kloubů, svalů, výsevem makulopapulózního exantému, svěděním dlaní rukou a plosek nohou [4]. V případě opakované nákazy jiným sérotypem viru však může dojít k rozvoji život ohrožující závažné dengue, původně označované jako tzv. hemoragická horečka dengue („dengue haemorrhagic fever“), nebo šokového stavu („dengue shock syndrome“). V laboratorních

nálezích bývá leukocytopenie s relativní lymfocytózou, trombocytopenie, nízké CRP a elevace aminotransferáz [5].

K diagnostice nákazy se používají sérologické metody detekující specifické IgM a IgG protilátky. Jejich nevýhodou jsou četné zkřížené reakce s jinými flaviviry a negativita v počátku onemocnění [6]. Do rutinní praxe jsou proto zaváděny senzitivnější a specifičtější metody přímého průkazu viru jako RT-PCR a detekce NS1 antigenu. Jejich výhodou je i časná pozitivita [7].

V České republice je ročně hlášeno do systému EPIDAT 15-30 případů horečky dengue, avšak tato čísla zřejmě nereprezentují reálné počty importovaných případů. V Nemocnici Na Bulovce bylo od ledna 2004 do prosince 2012 zachyceno 91 případů onemocnění. Zřetelný nárůst je pozorován zejména v poslední době, neboť v letech 2011 a 2012 bylo z výše uvedeného počtu diagnostikováno 41 případů.

Cílem tohoto sdělení je popsat soubor pacientů s horečkou dengue, kteří se nakazili během pracovního pobytu na ostrově Fushivelavaru na Maledivách. Součástí studie bylo i porovnání senzitivity dostupných diagnostických metod, tj. sérologie, detekce NS1 antigenu (ELISA) a virové RNA (RT-PCR).



Graf 1. Datum začátku onemocnění
Fig. 1. Date of onset of the disease

PACIENTI A METODY

Retrospektivní studie sledovala případy horečky dengue u pacientů, kteří pracovní pobývali na ostrově Fushivelavaru na Maledivách. Do studie byli zařazeni pacienti starší 18 let, u nichž byla ve sledovaném období od 1. září do 31. října 2012 prokázána nákaza virem dengue.

Případy byly identifikovány z laboratorních záznamů Oddělení virologie v Praze (Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem) a Národní referenční laboratoře pro arbovirové nákazy (Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě), které provádějí diagnostiku horečky dengue v ČR. Pro průkaz onemocnění byla využita detekce specifických IgM a IgG protilátek (Dengue IgM capture ELISA a Dengue IgG indirect ELISA, PanBio, Austrálie), NS1 antigenu metodou ELISA (Platelia Dengue NS1 Ag, Bio-Rad Laboratories, USA) a průkaz RNA viru pomocí RT-PCR (Dengue Virus General-Type Real Time RT-PCR, Shanghai ZJ Bio-Tech, Čína).

U všech pacientů byla následně ve zdravotnické dokumentaci dohledána dostupná epidemiologická, klinická a laboratorní data. Z laboratorních údajů byly sledovány parametry krevního obrazu, koagulace, CRP, minerály, parametry renálních a hepatálních funkcí. Pro hodnocení závažnosti průběhu nákazy bylo využito platné klasifikace WHO (2009) [1]. Senzitivita metod přímé detekce (NS1 antigenu a RT-PCR) byla porovnána u souboru

pacientů s akutní horečkou dengue, tj. pacientů, u kterých byl vzorek séra odebrán do 12 dnů od prvních příznaků onemocnění.

Laboratorní data jsou uváděna jako medián a interkvartilový rozptyl (IQR). Pro srovnání délky doby od začátku příznaků do vyšetření u NS1 pozitivních a negativních pacientů byl využit Mannův-Whitneyův test. Pro porovnání citlivosti metod přímé detekce, tj. pozitivita NS1 antigenu či virové RNA, bylo využito Fisherova exaktního testu.

VÝSLEDKY

Ve sledovaném období byla horečka dengue prokázána u 18 pacientů, ve všech případech se jednalo o muže, kteří pracovali na Maledivách. Medián věku v souboru byl 40 let (IQR 36–47). U většiny pacientů došlo k rozvoji onemocnění v 38. a 39. kalendářním týdnu. Pouze u dvou pacientů byly první příznaky popsány až ve 40. a 41. kalendářním týdnu (graf 1). U 15 pacientů (83,3%) se příznaky onemocnění objevily ještě před návratem do ČR, pouze u 3 pacientů (16,7%) došlo k rozvoji horečnatého onemocnění až po návratu. Pobyt na Maledivách 2 týdny a méně udávali 2 pacienti (11,1%), 3–4 týdny 1 pacient (5,6%), 5–6 týdnů 7 pacientů (38,9%), dlouhodobě a déle než 7 týdnů 6 pacientů (33,3%). U zbylých dvou pacientů se přesný údaj o délce pobytu nepodařilo dohledat.

V Nemocnici Na Bulovce bylo ošetřeno 9 pacientů (50 %), ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové 5 pacientů (27,8 %) a po 1 případu (5,6 %) na dalších spolupracujících pracovištích, tj. ve Fakultní nemocnici Motol, Fakultní nemocnici Brno, Nemocnici České Budějovice a v Oblastní nemocnici Písek. Většina pacientů byla ošetřena ambulantně, pouze jeden vyžadoval hospitalizaci. Žádný z pacientů neprodělal horečku dengue v minulosti.

Nejčastějším příznakem nákazy byla horečka či subfebrilie, které byly přítomny u všech 18 pacientů. Dále nemocní udávali frontální nebo retrobulbární bolest hlavy (9 pacientů; 50 %), bolesti svalů (8; 42,1 %), bolesti kloubů (7; 38,9 %) a výsev exantému (9; 50 %). Méně často popisovanými projevy byly: svědění dlaní (2), bolesti břicha (1), kašel a rýma (1), pachuť v ústech (1). Podrobné laboratorní nálezy u 10 pacientů s akutní horečkou dengue jsou uvedeny v tabulce 1.

NS1 antigen viru dengue byl prokázán v séru všech 10 pacientů s akutní horečkou dengue. Medián doby od začátku příznaků do provedení virologického vyšetření u pacientů s prokázaným NS1 antigenem byl 5,5 dne (IQR 5–8 dnů), u pacientů bez prokázané NS1 antigenémie 23,5 (IQR 21–29), $p < 0,001$. Virová RNA byla zachycena u 4 z 10 pacientů v akutní fázi nákazy. Rozdíl mezi počtem pacientů, u kterých byl zachycen NS1 antigen nebo virová RNA, je statisticky signifikantní ($p = 0,011$). Podrobné výsledky virologických vyšetření z prvního odebraného vzorku séra všech pacientů jsou uvedeny v tabulce 2.

Onemocnění proběhlo ve všech případech nekomplikovaně, u žádného pacienta nebyl zaznamenán rozvoj hemoragické či šokové formy onemocnění.

DISKUSE

Počet hlášených případů onemocnění z Malediv byl v posledních letech relativně nízký. Incidence onemocnění v roce 2002 byla 9,6/100 000 obyvatel za rok, což ve srovnání s incidencí v ostatních zemích jihovýchodní Asie, jako např. v Thajsku (180,2/100 000), byl zanedbatelný počet. Avšak od roku 2004 docházelo k nárůstu počtu onemocnění a v roce 2006 incidence dosáhla 935,1/100 000 obyvatel za rok. Po přechodném poklesu došlo k dalšímu nárůstu v roce 2011. Celkem bylo v tomto roce hlášeno 2 909 případů, což je více než v roce 2006 (2 768). Z předběžných zpráv vyplývá, že přibližně 18 % případů je klasifikováno jako hemoragická horečka dengue a 1 % jako šokový stav vyvolaný virem dengue. Těžký průběh nákazy, včetně rizika úmrtí, je popisován zejména u dětí a mladistvých. Přibližně polovina případů (54 %) je hlášena z hlavního města Male, 15 % z ostrova Hulhumale a zbylé případy z ostatních atolů [8].

Všechny případy zařazené do předkládané studie byly diagnostikovány u pacientů, kteří pobývali na ostrově Fushivelavaru (atol Noonu) ležícího na severu Malediv. Na tomto ostrově probíhá stavba rozsáhlého hotelového komplexu, jehož investorem je česká investiční skupina, a proto na stavbě pracovala skupina řemeslníků a techniků z ČR. První skupina Čechů na ostrově začala pracovat

Tabulka 1. Laboratorní nálezy u pacientů s akutní horečkou dengue (n = 10)

Table 1. Laboratory findings in patients with acute dengue fever (n = 10)

Parametr	Medián	Minimální hodnota	Maximální hodnota	25. percentil	75. percentil
Leukocyty ($\times 10^9/l$)	3,94	3,2	6,91	3,3	4,93
Neutrofilly ($\times 10^9/l$)	1,75	0,8	3,54	1,4	3,11
Lymfocyty ($\times 10^9/l$)	1,46	1	2,26	1,24	2,1
Trombocyty ($\times 10^9/l$)	151	41	400	92	250
Erytrocyty ($\times 10^{12}/l$)	5,04	3,82	5,43	4,61	5,24
Hemoglobin (g/l)	152	129	176	142	161
Hematokrit (objemový podíl)	0,44	0,37	0,51	0,42	0,46
CRP (mg/l)	3	0,9	18,1	2,2	3,9
AST ($\mu\text{kat}/l$)	0,83	0,62	3,41	0,66	1,81
ALT ($\mu\text{kat}/l$)	0,89	0,46	7,39	0,6	1,9

Tabulka 2. Přehled výsledků virologických vyšetření z prvního vzorku séra**Table 2.** Summary results of virological examination of the first serum sample

Pacient	IgM	IgG	NS 1 Ag	PCR	Počet dnů od začátku příznaků
1	++	-	++	+	5
2	++	-	++	-	6
3	+	-	++	+	6
4	++	++	++	+	5
5	++	+	-	-	21
6	++	++	-	-	19
7	-	-	++	+	5
8	+	++	-	-	21
9	++	++	-	-	26
10	+	++	-	-	21
11	+	-	++	-	4
12	-	-	++	-	4
13	++	+	+	-	10
14	++	+	++	-	8
15	++	++	+	-	10
16	++	++	-	-	29
17	++	+	-	-	28
18	++	+	-	ND	30

„+“ pozitivní, „++“ silně pozitivní, „-“ negativní, „ND“ nebylo provedeno

v březnu 2012. Ve sledovaném období této studie (září-říjen 2012) pobývalo na ostrově Fushivelavaru přibližně 30–40 českých a 1 500 pracovníků z okolních zemí jižní a jihovýchodní Asie, především ze Srí Lanky, Bangladéše a Malediv.

V roce 2012 bylo na Infekční klinice Nemocnice Na Bulovce ošetřeno celkem 31 pacientů, u nichž byla diagnostikována horečka dengue. Z tohoto počtu tvořily případy z Malediv 29%. Popisované příznaky i jejich frekvence odpovídají literárním údajům. Rovněž laboratorní nálezy jsou v souladu s dříve publikovanými daty. V době nástupu horečky bývá přítomna leukocytopenie s relativní lymfocytózou, která je v době poklesu horečky následována trombocytopenií a postupným vzestupem aktivity aminotransferáz, která obvykle přetrvává až do časného rekonvalescenčního období [9].

V diagnostice onemocnění byla dříve na našem pracovišti využívána pouze sérologie. Mezi její nevýhody patří zejména negativita nálezu v časných stádiích onemocnění, kdy však již bývá

průkazná virémie, častá nespecifická přítomnost IgM protilátek, eventuálně přítomnost IgG protilátek po očkování proti jiným flavivirovým nákazám (klíšťová meningoencefalitida, žltá zimnice či japonská encefalitida). Výsledky sérologického vyšetření v akutní fázi nákazy je proto nezbytné interpretovat s vědomím výše uvedených úskalí a ideálně srovnat s rekonvalescenčním vzorkem [10]. Tato omezení sérologie potvrdily i naše výsledky, neboť z 10 pacientů s průkaznou NS1 antigenémií byly u 2 pacientů IgM protilátky ještě negativní. Při srovnání metod přímého průkazu byl častěji zachycen NS1 antigen viru v porovnání s virovou RNA. Mezi výhody detekce NS1 antigenu patří mimo delší dobu zachytu v séru i relativní nenáročnost metody a cenová dostupnost [11]. Z výše uvedených výsledků vyplývá, že metody přímého průkazu je vhodné využívat zejména v době akutního horečnatého infektu, eventuálně krátce po poklesu horečky, tj. do 10–12 dnů od začátku příznaků.

Později již nelze očekávat pozitivní záchyt virové RNA či NS1 antigenu.

U žádného pacienta zařazeného do této studie nedošlo k rozvoji těžkého či komplikovaného průběhu. Pouze v jednom případě byla nezbytná hospitalizace. Přesto však lokální epidemie horečky dengue a nutnost návratu části pracovníků do ČR byla komplikací pro stavební firmy na Maledivách.

ZÁVĚR

Většina případů horečky dengue po návratu z tropů je diagnostikována u turistů. Předkládaná studie poukazuje na rizika, která tato nákaza představuje pro osoby dlouhodobě pracující v oblastech, kde dosud byla udávána poměrně nízká incidence onemocnění. Pracovní neschopnost či nutnost předčasně ukončit pracovní pobyt představuje finanční zátěž pro zaměstnavatele. Primoinfekce dengue probíhá obvykle nekomplikovaně, avšak nakažené osoby jsou ve zvýšeném riziku závažného průběhu při následné nákaze jiným sérotypem viru. Autoři upozorňují, že vysílající organizace se budou muset více zajímat o rizika profesionálních onemocnění v oblastech tropů a subtropů. Zaměstnanci by měli absolvovat důkladné vyšetření před vysláním do rizikových oblastí a zaměstnavatelé by měli zajistit pojištění i pro případy onemocnění, která nejsou preventabilní.

Ze srovnání metod přímé detekce viru vyplývá, že NS1 antigen bývá detekovatelný v séru pacientů déle než virová RNA. Vzhledem k nižší ceně a nenáročnosti autoři doporučují využití této diagnostické metody u všech pacientů s podezřením na akutní horečku dengue.

Dlouhodobé pobyty českých turistů a pracovníků v zemích s endemickým výskytem horečky dengue pravděpodobně povedou k importu závažněji probíhajících případů této infekce do ČR.

Literatura

1. World Health Organisation. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and Control. New ed. Geneva: WHO Press, 2009, 160 p., ISBN 978-924-154787-1.
2. **Guzman, A. et al.** Update on the global spread of dengue. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2010, 36, p. S40-42.
3. **Jelinek, T.** Trends in the epidemiology of dengue fever and their relevance for importation to Europe. *Euro Surveill.*, 2009, 14, p. 1-3.
4. **Halstead, S. B.** Dengue. *Lancet*, 2007, 370, p. 1644-1652.
5. **Whitehorn, J. et al.** The pathogenesis of dengue. *Vaccine*, 2011, 29, p. 7221-7228.
6. **Domingo, C. et al.** Molecular and serologic markers of acute dengue infection in naive and flavivirus-vaccinated travelers. *Diagn. Microbiol. Infect Dis.*, 2009, 65, p. 42-48.
7. **Teles, F. R. et al.** Trends in dengue diagnosis. *Rev. Med. Virol.*, 2005, 15, p. 287-302.
8. *International Federation of Red Cross*. DREF Operation MDRMV001 Maldives Dengue Outbreak. [on-line]. c2011[-cit.2013-04-18]. Dostupné na [www: <http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/MDRMV001do.pdf>](http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/MDRMV001do.pdf)
9. **Oishi, K. et al.** Dengue illness: clinical features and pathogenesis. *J. Infect. Chemother.*, 2007, 13, p. 125-133.
10. **Wichmann, O. et al.** Clinical features and pitfalls in the laboratory diagnosis of dengue in travellers. *BMC Infect Dis.*, 2006, 6, p. 120-128.
11. **Kumarasamy, V. et al.** Evaluating the sensitivity of a commercial dengue NS1 antigen-capture ELISA for early diagnosis of acute dengue virus infection. *Singapore Med. J.*, 2007, 48, p. 669-673.

Do redakce došlo dne 11. 6. 2013.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Milan Trojáněk

1. infekční klinika, 2. lékařská fakulta UK v Praze
a Nemocnice Na Bulovce
Budínova 2
180 81 Praha 8
e-mail: milan.trojaneck@bulovka.cz