KLINICKÁ MIKROBIOLOGIE A INFEKČNÍ LÉKAŘSTVÍ

Interdisciplinární časopis vydávaný pod záštitou
Společnosti infekčního lékařství, Společnosti pro lékařskou mikrobiologii
a Společnosti pro epidemiologii a mikrobiologii České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně

REDAKČNÍ RADA

Šéfredaktor

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.
Ústav mikrobiologie FNOL a LF UP v Olomouci

Zástupci šéfredaktora

Doc. MUDr. Stanislav Plíšek, Ph.D.
Klinika infekčních nemocí LF UK a FN Hradec Králové
Doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA
Státní veterinární ústav, Olomouc

Redakční rada

Prof. MUDr. Jiří Beneš, CSc.
Infekční klinika 3. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha
Prof. MUDr. Jiří Beran, CSc.
Centrum očkování a cestovní medicíny, Hradec Králové
Doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.
Ústav klinické mikrobiologie LF UK a FN Hradec Králové
Doc. MUDr. Pavel Čermák, CSc.
Odd. klinické mikrobiologie Thomayerova nemocnice, Praha
MUDr. Pavel Dlouhý
Infekční oddělení a AIDS centrum,
Krajská zdravotní, a. s., Ústí nad Labem
Doc. MUDr. Petr Hamal, Ph.D.
Ústav mikrobiologie FNOL a LF UP v Olomouci
Prof. MUDr. Petr Husa, CSc.
Klinika infekčních chorob, LF MU a FN Brno
RNDr. Dittmar Chmelař, Ph.D.
NRL pro anaerobní bakterie, LF Ostravské Univerzity
Doc. RNDr. Jarmila Jelínková, CSc.
Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, Praha
Prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.
Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. LF UK v Praze
Prof. MUDr. Daniela Kotulová, PhD.
Čestná členka Slovenskej spoločnosti klinickej mikrobiológie, SLS
MUDr. Pavla Křížová, CSc.
Státní zdravotní ústav, Praha
MUDr. Roman Kula, CSc.
Anesteziologicko-resuscitační klinika, FN Ostrava
Ing. Mgr. Tomáš Látal
TRIOS, spol. s r. o., Praha
Doc. RNDr. Alexandr Nemec, Ph.D.
Státní zdravotní ústav, Praha
MUDr. Otakar Nyč, Ph.D.
Ústav lék. mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, Praha
MUDr. Hanuš Rozsypal, CSc.
Infekční klinika 1. LF UK, Nemocnice Na Bulovce, Praha
Doc. MUDr. Luděk Rožnovský, CSc.
Klinika infekčního lékařství, FN Ostrava
MUDr. Josef Scharfen, CSc.
Odd. lék. mikrobiol. a imunol. Oblast. nemocnice Trutnov
Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.
Klinika pre infekčné choroby, LF UPJŠ, Košice
Doc. MUDr. Anna Součková, CSc.
Ústav lék. mikrobiologie 2. LF UK Praha
Doc. MUDr. Marie Staňková, CSc.
Infekční klinika 1. LF, Nemocnice Na Bulovce, Praha
Doc. MUDr. Karel Urbánek, Ph.D.
Ústav farmakologie, FN a LF UP v Olomouci
Prof. MUDr. Miroslav Votava, CSc.
Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny v Brně
MUDr. Eva Žampachová
Centrální laboratoře, laboratoř virologie, Nemocnice České Budějovice, a. s.

OBSAH

ÚVODNÍK 47
J. Bardoň

PŮVODNÍ PRÁCE

Výskyt salmonel v mase a masných výrobcích na Moravě v letech 2010 až 2015 48
J. Bardoň, J. Ondrušková, P. Ambrož

Sledování autoimunitních fenoménů při léčbě chronické hepatitidy B a C interferonem alfa – dvacetileté zkušenosti 61
I. Orságová, L. Rožnovský, L. Petroušová, M. Konečná, L. Kabieszová, J. Martinek, A. Kloudová, L. Pavliska

PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

Problematika vankomycín rezistentných enterokokov – podstata rezistencie a riziko prenosu zo zvierat na človeka 54
L. Hermanovská, J. Bardoň, P. Čermák

Vzteklina netopýrů 68
Beranová K., Zendulková D.

Biologické faktory ovlivňující vybrané infekční nemoci přenášené invazivními druhy komárů 75
V. Boštíková, M. Pasdiorová, J. Marek, P. Prášil, M. Salavec, R. Sleha, H. Střítecká, P. Blažek, I. Hanovcová, R. Šošovičková, M. Špliňo, J. Smetana, R. Chlíbek, V. Hytych, K. Kuča, P. Boštík

POSTERY

Postery Kongresu klinické mikrobiologie, infekčních nemocí a epidemiologie – KMINE 2015 (2. část) 86

TRIOS® spol. s r. o.

VYDAVATEL

a adresa redakce:

TRIOS, spol. s r. o.,
Zakouřilova 142, 149 00 Praha 4-Chodov

Tel.: +420 267 912 030, Fax: +420 267 915 563
redakce@trios.cz, http://kmil.trios.cz
Redakce: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.
Mgr. Hedvika Nevečeřalová

Inzerce: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

Sazba: SILVA, s. r. o., Táborská 31, Praha 4
Tisk: GRAFOTECHNA Plus, s. r. o.
Lýskova 1594/33, 155 00 Praha 13-Stodůlky

Časopis je indexován a excerptován v databázích Medline/Index Medicus, Embase/Excerpta Medica Database a Scopus.

Všechny příspěvky kromě zpráv a dopisů redakci procházejí nezávislou recenzí.

Vychází 4x ročně, roční předplatné 540,– Kč.
Povoleno Ministerstvem kultury ČR pod č. MK ČR 7352.
ISSN 1211-264X
Podávání novinových zásilek povolila Česká pošta, s. p., odštěpný závod Praha, čj. nov. 5449/95 ze dne 7. 12. 1995.
Vydavatel nenese odpovědnost za údaje a názory autorů jednotlivých článků nebo inzercí. Současně si vyhrazuje právo na drobné stylistické úpravy článků. Žádná část tohoto časopisu nesmí být bez předchozího písemného souhlasu vlastníka autorských práv kopírována a rozmnožována za účelem dalšího rozšiřování v jakékoliv formě či jakýmkoliv způsobem (ať mechanickým, nebo elektronickým – včetně pořizování fotokopií, nahrávek či informačních databází).

9 771211 264000 06

CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES

Interdisciplinary journal published under the auspices
of the Societies for Clinical Microbiology, for Epidemiology and Microbiology and for Infectious Diseases,
Members of the Czech Medical Association of Jan Evangelista Purkyně

EDITORIAL BOARD

Editor in Chief

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.
Department of Microbiology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University in Olomouc

Editors

Doc. MUDr. Stanislav Plíšek, Ph.D.
Department of Infectious Diseases, Univ. Hospital Hradec Králové and Fac. of Medicine Hradec Králové, Charles Univ.

Doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA
State Veterinary Institute, Olomouc

Prof. MUDr. Jiří Beneš, CSc.
Dept. Infect. Dis. 3rd Med. Faculty, Charles Univ. Prague

Prof. MUDr. Jiří Beran, CSc.
Vaccination Centre and Travel Medicine, Hradec Králové

Doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.
Dept. of Clinical Microbiology, Univ. Hospital Hradec Králové and Fac. of Medicine Hradec Králové, Charles Univ.

Doc. MUDr. Pavel Čermák, CSc.
Dept. of Clinical Microbiology, Thomayer Univ. Hospital, Prague

MUDr. Pavel Dlouhý
Department of Infectious Diseases and AIDS Centre, Masaryk Hospital in Ústí nad Labem

Doc. MUDr. Petr Hamal, Ph.D.
Department of Microbiology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University in Olomouc

Prof. MUDr. Petr Husa, CSc.
Department of Infectious Diseases, Faculty of Medicine, Masaryk University and University Hospital in Brno

RNDr. Dittmar Chmelař, Ph.D.
Dpt. of Biomedical Sciences, University of Ostrava's Faculty of Medicine

Doc. RNDr. Jarmila Jelínková, CSc.
Institute for Postgraduate Medical Education, Prague

Prof. RNDr. Libuše Kolářová, CSc.
Inst. of Immunol. and Microbiol., 1st Fac. of Med., Charles Uni. in Prague and General Uni. Hosp. in Prague

Prof. MUDr. Daniela Kotulová, PhD.
Honorary member of Slovak Society of Clinical Microbiology

MUDr. Pavla Křížová, CSc.
National Institute of Public Health, Prague

MUDr. Roman Kula, CSc.
Dept. of Anaesthesiology and Resuscit., Univ. Hosp. Ostrava

Ing. Mgr. Tomáš Látal
Trios, spol. s r. o., Prague

Doc. RNDr. Alexandr Nemec, Ph.D.
National Institute of Public Health, Prague

MUDr. Otakar Nyč, Ph.D.
Inst. Med. Microbiol. Charles Univ. 2nd Med. Fac. Prague

MUDr. Hanuš Rozsypal, CSc.
Dept. of Infect. Dis, 1st Med. Faculty, Charles Univ. Prague

Doc. MUDr. Luděk Rožnovský, CSc.
Dept. Infectious Diseases, University Hospital Ostrava

MUDr. Josef Scharfen, CSc.
Dept. Med. Microbiol. Immunol. Regional Hospital Trutnov

Prof. MUDr. Ivan Schréter, CSc.
Clinic of Infectious Diseases, Medical faculty, Košice

Doc. MUDr. Anna Součková, CSc.
Dept. Med. Microbiol. Charles Univ. 2nd Med. Fac., Prague

Doc. MUDr. Marie Staňková, CSc.
Dept. Infect. Dis, 1st Med. Faculty, Charles Univ., Prague

Doc. MUDr. Karel Urbánek, Ph.D.
Dept. of Pharmacology, Univ. Hospital Olomouc and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký Univ. Olomouc

Prof. MUDr. Miroslav Votava, CSc.
Microbiol. Dept., Masaryk Univ. and St. Anna's Hosp. Brno

MUDr. Eva Žampachová
Central Laboratories, The Laboratory of Virology, Hospital České Budějovice

TRIOS® spol. s r. o.

PUBLISHER

and Editorial Office:

Redakce TRIOS, spol. s r. o.,
Zakouřilova 142, 149 00 Praha 4-Chodov

Tel.: +420 267 912 030, Fax: +420 267 915 563
redakce@trios.cz, http://kmil.trios.cz
Mgr. Sabina Janovicová, DiS.
Mgr. Hedvika Nevečeřalová

Advertising: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

DTP: SILVA, s. r. o., Táborská 31, Praha 4
Printed by: GRAFOTECHNA Plus, s. r. o.
Lýskova 1594/33, 155 00 Praha 13-Stodůlky

CONTENTS

EDITORIAL 47

J. Bardoň

ORIGINAL ARTICLE

Prevalence of *Salmonella* in meat and meat products in Moravia in 2010–2015 48
J. Bardoň, J. Ondrušková, P. Ambrož

Investigation of autoimmunity markers during interferon alpha therapy of chronic hepatitis B and C – twenty years of experience 61
I. Országová, L. Rožnovský, L. Petroušová, M. Konečná, L. Kabieszová, J. Martinek, A. Kloudová, L. Pavliska

REVIEWS

Vancomycin-resistant enterococci – the nature of resistance and risk of transmission from animals to humans 54
L. Hermanovská, J. Bardoň, P. Čermák

Rabies in bats 68
Beranová K., Zendulková D.

Biological factors influencing infectious diseases transmitted by invasive species of mosquitoes 75
V. Boštíková, M. Pasdiorová, J. Marek, P. Prášil, M. Salavec, R. Sleha, H. Střítecká, P. Blažek, I. Hanovcová, R. Šošovičková, M. Špliňo, J. Smetana, R. Chlíbek, V. Hytych, K. Kuča, P. Boštík

POSTERS

Congress of Clinical Microbiology, Infectious Diseases and Epidemiology (2nd part) 86

This journal is Indexed in Medline/Index Medicus, Embase/Excerpta Medica Database and Scopus.

A peer – reviewed journal

4 issues per volume.
ISSN 1211-264X
Copyright © Trios Ltd. All rights reserved.
The views expressed in this journal are not necessarily those of the Editor or Editorial Board.

Úvodník

Vážené kolegyně, vážení kolegové,

na počátku léta vychází druhé číslo našeho časopisu KMIL, které je už tradičně věnováno zejména problematice zoonóz. Tomu jsme se pokusili přizpůsobit také obsah tohoto čísla, které Vám zde stručně představím.

První článek je původní práce, která se věnuje problematice alimentárních bakteriálních zoonóz, tentokrát salmonelóze. Toto sdělení mapuje výskyt salmonel v mase a masných výrobcích na Moravě v období 2010 až 2015. Přes vyšší výskyt salmonel v drůbežím mase a výrobcích z drůbežího masa ukazuje analýza izolovaných sérovarů, že se tato komodita na vzniku humánních salmonelóz zřejmě výrazně nepodílí. Ve sledovaných potravinách byly totiž izolovány převážně jiné sérovary než *Salmonella* Enteritidis, která je dominujícím původcem salmonelózy člověka.

Následující článek formou přehledové práce shrnuje poznatky o výskytu vankomycin-rezistentních enterokoků (VRE) u zvířat a možnostech přenosu na člověka. Ukazuje se, že řada studií ve světě potvrzuje nezanedbatelnou prevalenci VRE u domácích i divoce žijících zvířat. V některých případech upozorňují molekulárně epidemiologické analýzy na shodu animálních a humánních izolátů.

Třetí článek nespadá do oblasti zoonóz, ale jedná se o zajímavou původní práci o problematice terapie hepatitidy B a C.

Mezi „klasické“ zoonózy právem náleží vzteklina. Přestože se v České republice v současnosti tato nákaza u domácích zvířat, ani divoce žijících šelem nevyskytuje, jsou sporadicky diagnostikovány případy vztekliny u netopýrů. První záchyty této nákazy u netopýrů byly identifikovány a popsány na Státním veterinárním ústavu Olomouc, poslední případ byl zaznamenán v Praze. Přehledový článek „Vzteklina netopýrů“ přináší souhrn současných poznatků o této život ohrožující virové infekci šířené netopýry.

Řada zoonóz je na člověka přenášená vektory, zejména klíšťaty a komáry. Poslední práce je zaměřena na infekce přenášené invazivními druhy komárů.

Problematika zoonóz ukazuje, že lidské zdraví, zdraví zvířat a zdravý ekosystém jsou neoddělitelně spojeny. V této souvislosti bych chtěl připomenout mezinárodní projekt „One Health“, který se snaží podporovat, zlepšovat a chránit zdraví člověka a zvířat, včetně prostředí, ve kterém žijí. Iniciativa usiluje o užší spolupráci mezi humánními lékaři, veterinárními lékaři a odborníky v oblasti životního prostředí za účelem dosažení výše uvedených cílů. „One Health“ představuje celosvětovou strategii pro rozšíření interdisciplinární spolupráce a komunikace ve všech aspektech zdravotní péče o lidi, zvířata a životní prostředí (http://www.onehealthinitiative.com). V rámci výše uvedeného projektu je vydáváno několik odborných časopisů, např. One Health (Official Journal of the One Health Foundation), které si kladou za cíl vytvořit platformu pro rychlou komunikaci vysoce kvalitních vědeckých poznatků o inter – a intra druhovém přenosu patogenů. Časopis sdružuje přední odborníky v oblasti virologie, patologie, imunologie, bakteriologie, parazitologie, veterinární medicíny, bezpečnosti potravin, matematického modelování, epidemiologie, výzkumu a připravenosti na mimořádné události (http://www.journals.elsevier.com/one-health). Výměnu vědeckých poznatků i osobní setkání odborníků umožňují kongresy. V letošním roce kongres (OneHealth-EcoHealth Congress 2016) proběhne koncem roku v hlavním městě australského státu Victoria – Melbourne (http://oheh2016.org/).

Přeji Vám krásné letní dny, klidnou dovolenou a hodně zdraví i úspěchů v práci.

Srdečně zdraví

doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA
zástupce šéfredaktora

Výskyt salmonel v mase a masných výrobcích na Moravě v letech 2010 až 2015

J. BARDOŇ[1,2], J. ONDRUŠKOVÁ[1], P. AMBROŽ[1]

[1]*Státní veterinární ústav, Olomouc*
[2]*Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého, Olomouc*

SOUHRN

Bardoň J., Ondrušková J., Ambrož P.: **Výskyt salmonel v mase a masných výrobcích na Moravě v letech 2010 až 2015**

Cíl práce: Bakterie rodu *Salmonella* se výrazně podílejí na alimentárních infekcích gastrointestinálního traktu člověka. Významným zdrojem onemocnění bývají potraviny živočišného původu. Cílem práce bylo sledování a zhodnocení výskytu jednotlivých sérovarů salmonel ve vzorcích masa a masných výrobků na Moravě.

Materiál a metody: V letech 2010 až 2015 vyšetřil Státní veterinární ústav Olomouc mikrobiologicky celkem 52 735 vzorků masa a masných výrobků na přítomnost bakterií *Salmonella* spp. Vzorky byly odebrány na území Moravy a části východních Čech. Bakteriologické vyšetření vzorků bylo provedeno podle ČSN EN ISO 6579. Rodová identifikace suspektních izolátů byla prováděna metodou MALDI – TOF MS, sérotyp salmonel byl identifikován sklíčkovou aglutinací pomocí schématu White-Kaufmann-Le Minor.

Výsledky: *Salmonella* spp. byla prokázána ve 2,4 % z 52 735 vyšetřených vzorků. Nejvyšší záchyt (21,9 %) byl prokázán u drůbežího masa, následovaly drůbeží polotovary (9,1 % pozitivních vzorků) a ostatní polotovary (0,7 % pozitivních vzorků). Nejčastěji identifikovaným sérovarem z pozitivních vzorků byly *Salmonella* Infantis a *S.* Derby. Počet pozitivních nálezů salmonel ve sledovaných komoditách od roku 2012 narůstá. Příčinou však může být i lepší analýza rizik při zaměření na výběr vzorků k vyšetření.

Závěr: Komoditou s nejčastějším výskytem salmonel byla drůbež a drůbeží výrobky. Ostatní druhy masa a výrobků se podílely na pozitivních případech v malé míře. Analýza izolátů salmonel z potravin ukázala, že v mase a výrobcích prevalují jiné sérovary než sérovar *S.* Enteritidis, který je dominantním původcem onemocnění u člověka.

Klíčová slova: Salmonella spp., alimentární infekce, zoonózy, maso a masné výrobky

SUMMARY

Bardoň J., Ondrušková J., Ambrož P.: **Prevalence of *Salmonella* in meat and meat products in Moravia in 2010–2015**

Objectives: Bacteria of the genus *Salmonella* greatly contribute to foodborne infections of the gastrointestinal tract in humans. An important source of the diseases is foods of animal origin. The study aimed at monitoring and assessing the prevalence of individual *Salmonella* serovars in samples of meat and meat products collected in Moravia, Czech Republic.

Material and Methods: Between 2010 and 2015, the State Veterinary Institute in Olomouc performed microbiology tests in a total of 52,735 meat and meat product samples to detect *Salmonella* spp. The samples were collected in Moravia and a part of East Bohemia. Bacteriological examination of the samples was carried out in accordance with the Czech version of the European Standard EN ISO 6579 : 2002. Genus identification of suspected isolates was performed using the MALDI–TOF MS method; *Salmonella* serotypes were identified by a slide agglutination test using the White–Kaufmann–Le Minor scheme.

Results: *Salmonella* spp. were detected in 2.4 % of the 52,735 samples examined. The highest rate of detection (21.9 %) was noted in poultry meat, followed by poultry meat preparations (9.1 % of positive samples) and other meat preparations (0.7 % of positive samples). The serovars most frequently identified from positive samples were *Salmonella* Infantis and *S.* Derby. The rates of *Salmonella* spp. detected in the monitored commodities have been increasing since 2012. However, this may be due to a better risk analysis when selecting samples to be tested.

Conclusion: *Salmonella* spp. were most frequently detected in poultry and poultry products. The other types of meat and meat products constituted only a small proportion of the positive cases. The analysis of *Salmonella* spp. isolated from foods showed that serovars most prevalent in meat and meat products are different from the serovar *S.* Enteritidis, mainly responsible for causing the diseases in humans.

Keywords: Salmonella spp., foodborne infections, zoonoses, meat and meat products

Klin mikrobiol inf lék 2016;22(2):48–53

Adresa: doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA, Státní veterinární ústav Olomouc, Jakoubka ze stříbra č. 1, Olomouc 779 00, e-mail: jbardon@svuol.cz

Došlo do redakce: 25. 4. 2016
Přijato k tisku: 17. 6. 2016

Úvod

Alimentární infekce představují významný medicínský i ekonomický problém. Např. statistiky z USA uvádějí, že každoročně onemocní 75 miliónů lidí, pro těžký průběh je 325 tisíc hospitalizováno a 5 tisíc postižených na alimentární infekci umírá [1]. Většina bakteriálních původců alimentárních infekcí patří mezi zoonózy. Klasickým zástupcem této skupiny jsou bakterie rodu *Salmonella*. První popis těchto bakterií pochází již z 80. let 19. století a své jméno tato bakterie dostala v roce 1900 podle amerického veterinárního lékaře Daniela Elmera Salmona (1850–1914) [2]. Salmonelové infekce se podle patogeneze, způsobu přenosu a kliniky rozdělují do dvou skupin. Do první skupiny patří břišní tyfus a paratyfy (*S.* Typhi, *S.* Paratyphi A, B, C), do druhé skupiny pak náleží ostatní salmonelové infekce označované jako salmonelózy, což jsou typické zoonózy, kterým je věnováno toto sdělení.

V Evropě bylo dle údajů Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA – European Food Safety Authority) v roce 2014 hlášeno 88 715 potvrzených případů salmonelózy, což znamená 15% nárůst oproti předchozímu roku. V 65 případech došlo k úmrtí postižené osoby na tuto infekci. Nejčastěji izolovaným sérovarem v Evropě je *S.* Enteritidis (44,4 % evidovaných případů v roce 2014) následovaná *S.* Typhimurium (17,4 % evidovaných případů v roce 2014). Nejvyšší incidence byla v rámci výroční zprávy EFSA v roce 2014 uváděna v České republice (126,1 případů na 100 tisíc obyvatel) a Slovenské republice (75,3 případů na 100 tisíc obyvatel). Nejnižší incidenci podle tohoto materiálu vykazovalo v roce 2015 např. Portugalsko a Řecko (≤ 4 případů na 100 tisíc obyvatel) [3]. Už tato stručná data signalizují, že zřejmě neodrážejí skutečnou nákazovou realitu v Evropě, ale spíše dokumentují úroveň systému vyšetřování, evidence a hlášení. Počet hlášených salmonelóz se v ČR pohybuje v posledních deseti letech mezi 10 až 12 tisíci případů ročně, konkrétně v roce 2015 to bylo 12 727 případů [4].

Maso a masné výrobky představují významný zdroj alimentárních infekcí člověka. Je to dáno i tím, že tato komodita představuje vhodný substrát pro přežívání a množení řady bakterií. Vedle původců kažení masa mohou být přítomny i bakterie schopné vyvolávat u člověka alimentární infekce jako např. *Salmonella* spp. Významnou roli hraje také fakt, že maso a masné výrobky jsou neodmyslitelnou součástí jídelníčku většiny lidí. Spotřeba masa celosvětově rok od roku roste. V Evropě, včetně ČR, tvoří až polovinu konzumovaného masa vepřové maso [5]. Zdrojem patogenních bakterií může být přímo jatečné zvíře, které je již před poražením mikroby infikováno či kolonizováno, nebo jsou maso a výrobky kontaminovány sekundárně při zpracování, výrobě a další manipulaci. Na sekundární kontaminaci se může pochopitelně podílet také člověk, ať už nemocný, nebo bezpříznakový nosič.

V kategorii masa a masných výrobků jsou v Evropě salmonely nejčastěji izolovány z masa drůbežího, méně často vepřového a hovězího. Salmonely jsou významné svou schopností vyvolávat alimentární epidemie. To potvrzují také údaje o těchto epidemiích zpracovaných EFSA. V roce 2014 EFSA evidovala v Evropě 5 251 alimentárních epidemií (silný i slabý průkaz původce). Bakterie rodu *Salmonella* se na těchto epidemiích podílely 20 %, nejčastějším původcem byly viry (20,4 %), k častým původcům dále patřily bakteriální toxiny (16,1 %) a kampylobaktery (8,5 %). V roce 2014 evidovala EFSA celkem 592 epidemií s tzv. silným průkazem původce, což znamená, že etiologické agens bylo jednoznačně identifikováno jak u nemocných, tak v potravině. Z tohoto souboru způsobily salmonely 225 epidemií (38 %), ve kterých onemocnělo 3 609 lidí, 885 jich muselo být hospitalizováno a 11 zemřelo. Hlavním zdrojem salmonelových epidemií byla vejce a vaječné výrobky. Podíl masa a masných výrobků se v případě evidovaných epidemií způsobených všemi sledovanými mikrobiálními agens pohybuje kolem 22 % [3].

Materiál a metodika

V letech 2010 až 2015 mikrobiologicky vyšetřil Státní veterinární ústav Olomouc celkem 52 735 vzorků masa a masných výrobků na přítomnost bakterií *Salmonella* spp. Vzorky byly odebrány veterinárním inspektorem nebo přímo výrobcem na území spádové oblasti ústavu. Spádovou oblastí SVÚ Olomouc je Morava a část východních Čech. Analytické metody použité při vyšetření vzorků vycházely z ČSN EN ISO 6579 Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda průkazu bakterií rodu *Salmonella* [6]. Rodová identifikace suspektních izolátů byla prováděna metodou MALDI – TOF MS (Bruker), sérotyp salmonel byl identifikován sklíčkovou aglutinací pomocí schématu White-Kaufmann-Le Minor [7]. K identifikaci jednotlivých antigenů dle uvedeného schématu byla použita aglutinační séra fy BIO-RAD (Francie), Sifin (Německo) a DENKA-SEIKEN (Japonsko). V případě, že se nepodařilo identifikovat konkrétní sérovar, byl izolát zařazen alespoň do příslušné skupiny. Další postup v případě snahy o typizaci konkrétního sérovaru v rámci dané skupiny odvisel od stanoviska zadavatele vyšetření. V naprosté většině případů zadavatel dotypizaci nepožadoval a příslušná hygienicko-epidemiologická opatření realizoval na základě potvrzení bakterií rodu *Salmonella* a zařazení do skupiny.

Počty vyšetřených vzorků podle sledovaných komodit uvádí *tabulka 1*. V případě drůbežího masa se jednalo zejména o chlazenou, případně mraženou drůbež a vzorky kůže z krku, které jsou odebírány na jatkách v rámci sledování povrchové kontaminace jatečné drůbeže salmonelami. Do kategorie drůbeží tepelně opracované masné výrobky (TOMV) byly zařazeny např. drůbeží párky, klobásy, šunky, tlačenky a obdobné výrobky. Do kategorie drůbeží polotovary zejména spadaly výrobky ze syrového drůbežího masa, které byly marinovány nebo nasoleny. Vzorky vepřového i hovězího masa zahrnovaly jak vlastní svalovinu, tak stěry z jatečně opracovaných těl (JUT) prasat a skotu. Jednalo se o tampónové stěry, které byly odebrány z povrchu JUT. Jatečné opracované hovězí čtvrtě a vepřové půlky byly stírány z několika míst, každý stěr byl odebrán vždy ze 100 cm^2 pomocí sterilní šablony o rozměrech 10 × 10 cm. TOMV ostatní představovaly různé typy uzenin (párky, klobásy, šunky) hlavně z vepřového masa. Do skupiny TNMV byly zařazeny zejména zrající masné výrobky, které neprocházejí tepelnou úpravou (např. zrající salámy typu Herkules, Poličan atp.). Komodita ostatní polotovary se skládala ze-

Tabulka 1
Počet vyšetřených a procento pozitivních vzorků na *Salmonella* spp. v letech 2010 až 2015

Sledovaná komodita vzorků	2010		2011		2012		2013		2014		2015		Celkem	
	N	%n	N	%n	N	%n	N	%n	N	%n	N	%n	N	%n
Drůbeží maso	393	14,0	540	8,7	729	20,2	839	23,0	764	29,5	894	27,4	**4 159**	**21,9**
Drůbeží TOMV	10	0,0	16	0,0	28	0,0	0	0,0	5	0,0	15	0,0	**74**	**0,0**
Drůbeží polotovary	250	9,2	164	8,5	126	6,3	180	11,1	346	11,0	369	7,3	**1 435**	**9,1**
Vepřové maso + stěry z JUT	3 637	0,4	3 828	0,2	3 101	0,7	2 920	0,6	3 583	0,5	3 383	0,8	**20 452**	**0,5**
Hovězí maso + stěry z JUT	2 458	0,3	2 341	0,1	2 136	0,2	2 087	0,9	1 756	0,9	1 342	0,2	**12 120**	**0,4**
TOMV ostatní	624	0,0	642	0,0	294	0,0	297	1,3	317	0,0	320	0,0	**2 494**	**0,2**
TNMV ostatní	205	0,0	184	0,0	163	0,0	179	0,0	159	0,6	43	0,0	**933**	**0,1**
Ostatní polotovary	2 236	0,4	1 897	0,5	1 591	0,6	1 772	1,0	2 180	1,2	1 358	0,7	**11 034**	**0,7**
Ryby syrové	1	0,0	1	0,0	3	0,0	1	0,0	0	0,0	5	0,0	**11**	**0,0**
Ryby uzené	1	0,0	1	0,0	3	0,0	1	0,0	1	0,0	1	0,0	**8**	**0,0**
Marinované rybí výrobky	0	0,0	2	0,0	12	0,0	1	0,0	0	0,0	0	0,0	**15**	**0,0**
Celkem	9 815	**1,1**	9 616	**0,8**	8 186	**2,3**	8 277	**3,3**	9 111	**3,6**	7 730	**4,0**	52 735	**2,4**

N – počet vyšetřených vzorků, %n – procento pozitivních/nevyhovujících vzorků, TOMV – tepelně opracované masné výrobky, TNMV – tepelně neopracované masné výrobky, JUT – jatečně upravené tělo

jména z výrobků vepřového a hovězího masa (vyjma drůbežího masa), které bylo upraveno např. marinováním či nasolením. Skupina syrových, uzených a marinovaných ryb či výrobků je vlastním názvem definovaná dostatečně.

Výsledky

Výskyt salmonel ve sledovaných komoditách dokumentuje *tabulka 1*. Z výsledků je patrné, že nejvíce kontaminovanými komoditami bylo ve sledovaném období drůbeží maso (21,9 % pozitivních vzorků) a drůbeží polotovary (9,1 % pozitivních vzorků). V tepelně opracovaných masných výrobcích (TOMV) z drůbeže nebyly salmonely prokázány.

Procentuální podíl sledovaných komodit vzorků na pozitivních nálezech salmonel znázorňuje *graf 1*. Z grafu je patrné, že vzorky pocházející z drůbeže se na pozitivních nálezech salmonel podílejí 94 % (drůbeží maso – 66,5 % a drůbeží polotovary 27,5 %). Podíl vepřového, hovězího masa a výrobků z nich na pozitivních nálezech salmonel tak činí pouhých 6 %. V rybách a rybích výrobcích salmonely ve sledovaném období nebyly diagnostikovány vůbec. *Graf 2* ukazuje trend pozitivních nálezů podle jednotlivých let za období 2010 až 2015. S výjimkou roku 2011 vykazuje záchyt pozitivních nálezů postupný růst.

V případě pozitivních vzorků, které spadaly do komodit drůbež a drůbeží polotovary, byl dominujícím sérovarem *Salmonella* Infantis, který se na pozitivních nálezech v této skupině vzorků podílel 39 %. Následovaly salmonely sérologické skupiny C (16 %), *S.* Indiana 11 % a *S.* Enteritidis (10 %). Přehled podílu deseti nejčastěji izolovaných sérovarů (skupin) salmonel v této komoditě vzorků znázorňuje *tabulka 2.*

Ve vzorcích vepřového masa a stěrů z JUT měly na pozitivních nálezech salmonel největší podíl sérovary *S.* Derby (30 %), salmonely sérologické skupiny B (26 %) a *S.* Typhimurium (12 %). Podíl deseti nejčastějších sérovarů uvádí *tabulka 3.*

U vzorků hovězího masa a stěrů z JUT byly nejčastěji izolovány salmonely sérologické skupiny B (podíl 29 %), *S.* Derby (23 %) a *S.* Typhumurium (17 %). Bližší údaje uvádí *tabulka 4.*

Při testování izolátů salmonel ze vzorků komodity ostatní polotovary byl nejčastěji detekován sérovar *S.* Infantis (podíl 30 %), *S.* Derby (23 %) a *S.* Typhimurium (14 %). Obdobně jako u výše uvedených vzorků je podíl deseti nejčastějších sérovarů (skupin) dokumentován v *tabulce 5.*

Diskuze

Komoditou, která byla v rámci předložené studie nejvíce kontaminovaná bakteriemi rodu *Salmonella*, bylo drůbeží maso a polotovary. Naprostá většina salmonel z celkem 52 735 vyšetřených vzorků byla izolována z drůbežího masa a polotovarů. Tyto komodity se podílely společně na 94 % případů s pozitivním nálezem této bakterie. Výskyt salmonel v dalších komoditách vzorků tvořil v našem souboru vyšetření zanedbatelnou část. Podíl sledovaných komodit vzorků na pozitivních nálezech salmonel za šestileté období dokumentuje *graf 1.* Distribuce pozitivních nálezů v naší práci odpovídá evropským údajům, podle kterých je nejvyš-

ší výskyt salmonel v tříletém horizontu (2011 až 2014) v rámci EU sledován právě u produktů z drůbežího masa [3]. Tîrziu a kol. (2015) ve své práci sledovali výskyt salmonel u drůbežího masa v Rumunsku. V roce 2012 vyšetřili celkem 317 vzorků syrového drůbežího masa, které bylo odebráno na drůbežích jatkách (289) a tržní síti (28). V 13,2 % (42 případů) byly vzorky kontaminovány salmonelami. Nejčastěji se jednalo o sérovary *S.* Infantis (18 izolátů), *S.* Bredeney (7 izolátů) a *S.* Virchow (6 izolátů) [8]. Naše studie za období 2010 až 2015 prokázala ve srovnání s citovanou studií u drůbežího masa vyšší pozitivitu salmonel, a sice 21,9 %. Ještě vyšší prevalenci popisují Siriken a kol. (2015), kteří sledovali výskyt salmonel u drůbežího masa v Turecku. Vyšetřili 150 vzorků a kontaminaci salmonelami prokázali ve 42,6 % případů [9]. Z výsledků sledování prevalence salmonel v komoditách drůbeží provenience mimo Evropu lze zmínit např. práci Sajid a kol. (2015), kteří vyšetřili 1 069 vzorků drůbežích orgánů v Pakistánu, ze kterých byly v 8 % případů prokázány bakterie rodu *Salmonella* [10].

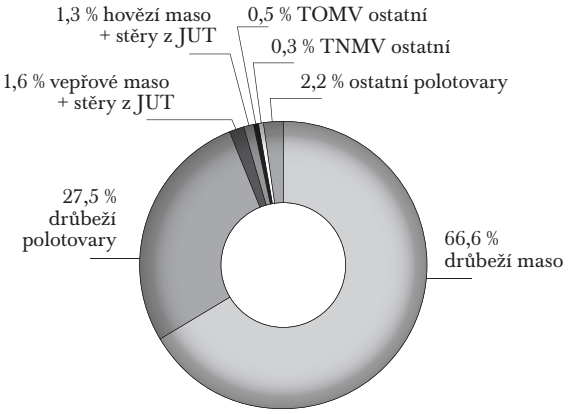
Prevalence salmonel ve vepřovém a hovězím mase (včetně vzorků stěrů z JUT) dosáhla v šestiletém období naší studie pouze 0,5 %, respektive 0,4 %. Společný podíl vzorků vepřového, hovězího masa a výrobků na pozitivních nálezech salmonel činil v naší studii pouhých 6 %. Obdobné výsledky referoval např. Vipham a kol. (2012), kteří sledovali v rozsáhlé práci výskyt salmonel u hovězího masa odebíraného v roce 2010 v tržní síti 38 amerických měst. Z 2 885 vyšetřených vzorků byla salmonela prokázána v 0,66 % případech [11]. Vzorky mletého hovězího masa (n = 4 136) odebrané v průběhu 24 měsíců (červenec 2005 až červen 2007) vyšetřovali v USA na přítomnost salmonel také Bosilevac a kol. (2009). Zjištěná prevalence dosáhla 4,2%. Analýzy počtů salmonelových buněk v pozitivních vzorcích ukázaly, že v 94 % byly salmonely zjištěny na úrovni pod 2 CFU/g. V americké studii byly mezi nejčastějšími sérovary identifikovány *S.* Montevideo, Anatum, Münster a Mbandaka [12].

Nejmenší počet vzorků vyšetřených v naší studii byl vyšetřen v rámci komodity ryb a rybích výrobků. Celkem bylo vyšetřeno pouze 34 vzorků a všechny s negativním výsledkem. Epidemiologický potenciál této komodity však nelze podceňovat. Soubor námi prezentovaných negativních vzorků ryb je pro obecné závěry příliš malý a v ČR i v jiných evropských státech byly popsány epidemie salmonelóz, kde byla zdrojem nákazy právě ryba. Např. v ČR způsobila epidemii *Salmonella* Typhimurium, která byla posléze izolována na řadě pracovišť, včetně laboratoří SVÚ Olomouc, z makrel (nepublikovaná data SVÚ Olomouc). Obdobnou zkušenost publikovali také holandští autoři Friesema a kol. (2014). Jednalo se o největší popsanou epidemii salmonelózy v dějinách Holandska, která proběhla v období od srpna do prosince 2012. V této epidemii onemocnělo gastroenteritidou cca 23 000 lidí a u 1 149 osob byla jako původce potíží identifikována *S.* Thompson. Zdrojem nákazy byl v tomto případě uzený losos [13].

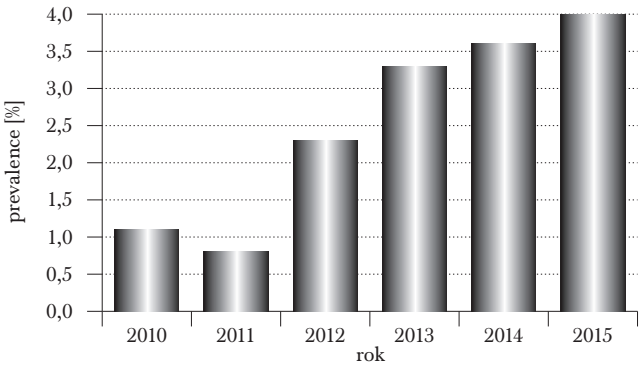
Šestiletý trend vývoje pozitivních nálezů salmonel v mase a masných výrobcích znázorňuje *graf 2*, ze kterého je od roku 2012 patrný mírný, ale setrvalý růst procenta pozitivních vzorků v průběhu. Tuto skutečnost však nelze jednoznačně přičíst zhoršující se úrovni bezpečnosti potravin. Charakteristiku klasického monitoringu splňuje pouze podkategorie vzorků stěrů z jatečně upravených těl jatečných zvířat (JUT). Zde jsou definovaná pravidla o počtu a místě odběru vzorků, včetně podchycení sezónnosti. U ostatních komodit veterinární inspektoři, ale i výrobci, kteří si kontrolují sami své produkty, vycházejí při indikaci odběru mimo jiné i z analýzy rizika. Část vzorků je tedy odebírána se zaměřením na skutečnosti signalizující riziko. I když lze obecně říct, že obdobný postup byl realizován na vysokém počtu vzorků každý rok sledovaného období, je faktem, že úroveň analýzy rizik se u výrobců i dozorových orgánů postupně zvyšuje.

V případě analýzy rizika významu masa a masných výrobků pro onemocnění člověka salmonelózou, je zapotřebí se podívat na spektrum prevalujících sérovarů u pozitivních potravin a klinických izolátů nemocného člověka. Spektrum nejčastěji izolovaných sérovarů u sledovaných komodit ukazují *tabulky 2* (drůbež), *3* (prasata), *4* (skot) a *5* (ostatní po-

Graf 1
Podíl sledovaných komodit vzorků na pozitivních nálezech salmonel



Graf 2
Pozitivní nálezy salmonel ve sledovaných komoditách vzorků v letech 2010 až 2015



lotovary). Podle poslední zprávy EFSA (2015) byla v roce 2014 nejčastějším sérovarem izolovaným v Evropě z případu onemocnění člověka *S.* Enteritidis (44,4 %), následovaná *S.* Typhimurium (17,4 %). Ještě vyšší podíl *S.* Enteritidis v ČR uvádí např. Šrámová a kol. (2000) [14]. Myšková a kol. (2014), ve své práci konstatují, že nejčastějším původcem humánních salmonelóz na jižní Moravě jsou *S.* Enteritidis a *S.* typhimurium. [15]. Tatáž autorka se svými spolupracovníky v jiné práci analyzující původce salmonelových epidemií konstatuje, že *S.* Enteritidis se na jejich vzniku v roce 2012 podílela 82 % [16]. Obdobné zkušenosti popsali ve své práci Polák a kol. (2014). Tito autoři se věnovali popisu klinických, laboratorních a mikrobiologických charakteristik u 161 pacientů, kteří byli hospitalizováni ve Fakultní nemocnici Brno se salmonelózou. Z uvedeného souboru pacientů byla příčinou infekce *S.* Enteritidis v 67,2 % a *S.* Typhimurium v 11,2 % případů [17]. Význam sérovaru *S.* Enteritidis v 67leté historii epidemiologie salmonelóz v Anglii zhodnotili ve své práci Lane a kol. (2014). V letech 1945–2011 onemocnělo v této zemi více než 525 000 osob, u kterých byla jako původce infekce identifikována *S.* Enteritidis. S případy infekcí přímo souviselo 6 750 000

Tabulka 2
Podíl nejčastěji izolovaných sérovarů salmonel v pozitivních vzorcích drůbeže a drůbežích polotovarů

Sérovar	n%
S. Infantis	39 %
sérologická skupina C	16 %
S. Indiana	11 %
S. Enteritidis	10 %
sérologická skupina B	8 %
S. Ohio	4 %
S. Mbandaka	3 %
S. Newport	2 %
S. Agona	2 %
S. Derby	1 %
Ostatní sérovary	4 %

Tabulka 3
Podíl nejčastěji izolovaných sérovarů salmonel v pozitivních vzorcích vepřového masa a stěrů z JUT

Sérovar	n%
S. Derby	30 %
sérologická skupina B	26 %
S. Typhimurium	12 %
S. Infantis	5 %
sérologická skupina C	5 %
S. Agona	3 %
S. Enteritidis	2 %
S. Newport	1 %
S. Lagos	1 %
S. Goldcoast	1 %
Ostatní sérovary	14 %

Tabulka 4
Podíl nejčastěji izolovaných sérovarů salmonel v pozitivních vzorcích hovězího masa a stěrů z JUT

Sérovar	n%
sérologická skupina B	29 %
S. Derby	23 %
S. Typhimurium	17 %
S. Infantis	6 %
sérologická skupina C	6 %
S. Rissen	4 %
S. Enteritidis	2 %
S. Newport	2 %
S. Indiana	2 %
S. Panama	2 %
Ostatní sérovary	7 %

Tabulka 5
Podíl nejčastěji izolovaných sérovarů salmonel v pozitivních vzorcích ostatních polotovarů

Sérovar	n%
S. Infantis	30 %
S. Derby	23 %
S. Typhimurium	14 %
S. Enteritidis	6 %
S. Kentucky	4 %
S. Indiana	4 %
sérologická skupina B	4 %
S. Saintpaul	2 %
sérologická skupina C	2 %
S. Kapemba	1 %
Ostatní sérovary	10 %

dnů pracovní neschopnosti, 27 000 případů hospitalizací a 2 000 úmrtí [18]. Uvedená data dokladují dominující význam tohoto sérovaru v epidemiologii humánních salmonelóz. Z uvedených zdrojů vyplývá, že v Evropě, ČR nevyjímaje, převažuje jako původce alimentárních infekcí člověka sérovar *S.* Enteritidis. Na rozsáhlém souboru více než 1 000 kmenů salmonel izolovaných z masa a masných výrobků v naší práci jsme však následnou sérotypizací prokázali, že podíl sérovaru *S.* Enteritidis v souboru testovaných izolátů salmonel, na rozdíl od jiných sérovarů, nepřekračuje 10 % (viz *tabulky 2* až *5*). To svědčí o tom, že testované maso a masné výrobky se jako zdroj salmonelóz člověka zřejmě významně neuplatňují, ale problém bude v jiných komoditách, jako jsou např. vejce a vaječné výrobky.

Samostatným problémem v široké oblasti epidemiologie humánních salmonelóz jsou veřejně dostupné publikace např. EFSA, které mimo jiné porovnávají incidenci onemocnění mezi jednotlivými státy v Evropě. Podle těchto zpráv figurují jako země s nejvyšším výskytem salmonelóz Česká a Slovenská republika [3]. Absolutní porovnávání těchto údajů mezi státy, které hlásí roční výskyt onemocnění, je však zavádějící. Počty hlášených infekcí jsou výrazně ovlivňovány systémem surveillance, úrovní laboratorní diagnostiky a přístupem k odběru vzorků od pacientů s průjmovým onemocněním. Např. Krištúfková a kol. v této souvislosti upozorňují na fakt, že Česká a Slovenská republika jsou jediné dva státy EU, kde je v případě alimentárních infekcí (salmonelóza, kampylobakterióza apod.) aplikován aktivní systém surveillance těchto nákaz [19]. Tuto skutečnost potvrzuje i fakt, že dle výše citované zprávy EFSA má nejvyšší procento hospitalizovaných pacientů se salmonelózou např. Kypr, Řecko, Portugalsko a Rumunsko, které vykazují hospitalizaci u 77 % až 85 % zjištěných případů, ale zároveň vykazují celkově velmi nízkou incidenci tohoto onemocnění [3]. Z toho lze dovodit, že tyto státy zřejmě hlásí pouze těžké případy onemocnění, které bylo nutno hospitalizovat. Vzhledem k tomu, že většina klinických případů salmonelózy, zejména u zdravých dospělých, se bez hospitalizace obejde, je pak pochopitelné, proč ČR vykazuje v evropském porovnání nejvyšší výskyt onemocnění. Mezi odborníky je tato skutečnost dostatečně známa, a proto tato srovnání berou s patřičnou rezervou. Problém však může nastat v případě, že jsou data bez patřičného komentáře prezentována masmédii. Další skutečností je, že tato volně dostupná data o incidenci určitých chorob v jednotlivých zemích mohou ovlivnit rozhodování cizinců o výběru destinace dovolené, ale i regionu podnikání. A v tomto případě, by nás tyto statistiky mohly poškodit.

Závěr

Maso a masné výrobky představují bezesporu možný zdroj salmonelových infekcí člověka. Nejvyšší záchyt bakterií rodu *Salmonella* vykázala komodita drůbež a drůbeží výrobky, zejména pak drůbeží maso. Na základě analýzy výskytu prevalujících sérovarů ve vyšetřovaných komoditách vzorků je však zřejmé, že dominantní sérovar humánních infekcí, a to *S.* Enteritidis, se ve sledovaných potravinách vyskytuje s relativně malou frekvencí. Je zapotřebí edukovat odbornou a laickou veřejnost, zejména spotřebitele, v oblasti zásad hygienické manipulace s produkty živočišného původu. Prezentace porovnání incidence salmonelózy podle zemí v Evropě by měla reflektovat skutečnou situaci. V případě souboru nekompatibilních dat, by srovnání nemělo být oficiálně prezentováno. Lidské zdraví a zdraví zvířat jsou neoddělitelně spojeny. Salmonelové infekce jsou příkladem možnosti spolupráce na platformě mezinárodní iniciativy „One Health“.

Tato práce byla podpořena Státní veterinární správou ČR.

Literatura

1. Newell DG, Koopmans M, Verhoef L, a kol. Food-borne diseases – The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *International Journal of Food Microbiology*. 2010;139:3–15.
2. Adams MR, Moss MO. Food microbiology. 3rd ed., Cambridge. The Roayal Society of Chemistry. 2008.235–248.
3. EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2015. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. EFSA Journal 2015;13(12):4329, 191 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4329.
4. Státní zdravotní ústav. EPIDAT Infekce v ČR – [online]. [cited 2016-04-10]. Available from: http://www.szu.cz/publikace/data/vybrane-infekcni-nemoci-v-cr.
5. Kameník J. Maso jako vehikulum alimentárních onemocnění. In: Kameník J. a kol. Maso. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. 2014, p. 130–138.
6. Český normalizační institut. ČSN EN ISO 6579. Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda průkazu bakterií rodu *Salmonella.* 2003.
7. Popoff MY, Le Minor L. Antigenní formule sérovarů salmonel. Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica. Příloha č. 3/1998. Státní zdravotní ústav v Praze. 1998.
8. Tîrziu E, Lazăr R, Sala C, et al. *Salmonella* in raw chicken meat from the Romanian seaside: frequency of isolation and antibiotic resistance. *J Food Prot.* 2015;78:1003–1006.
9. Siriken B, Türk H, Yildirim T, Durupinar B, Erol I. Prevalence and characterization of *Salmonella* isolated from chicken meat in Turkey. *J Food Sci.* 2015; 80:1044–1050.
10. Sajid SU, Sajid M, Hashmi RI. Isolation studies on the prevalence of *Salmonellae* in chicken organs, eggs and feed components. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2015; 27:530–533.
11. Vipham JL, Brashears MM, Loneragan GH, et al. *Salmonella* and *Campylobacter* baseline in retail ground beef and whole-muscle cuts purchased during 2010 in the United States. *J Food Prot.* 2012;75:2110–2115.
12. Bosilevac JM, Guerini MN, Norasak Kalchayanand N, Koohmaraie M. Prevalence and Characterization of *Salmonellae* in Commercial Ground Beef in the United States. *Appl Environ Microbiol.* 2009;75:1892–1900.
13. Friesema I, de Jong A, Hofhuis A, et al. Large outbreak of *Salmonella* Thompson related to smoked salmon in the Netherlands, August to December 2012. *Euro Surveill.* 2014; vol. 19, p. 20918.
14. Šrámová H, Beneš Č. Salmonelózy v České republice 1989–1998. *Epidemiologie, Mikrobiologie, Imunologie.* 2000;49:34–38.
15. Myšková P, Karpíšková R. Diverzita humánních izolátů salmonel v Jihomoravském kraji v letech 2009–2012. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 2014;63: 116–120.
16. Myšková P, Karpíšková R, Dědičová D. Epidemické případy salmonelóz v České republice v roce 2012. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 2013;62:59–63.
17. Polák P, Vrba M, Bortlíček Z, et al. Infekce způsobené netyfovými sérovary salmonel na Klinice infekčních chorob Fakultní nemocnice Brno v letech 2011–2013 – retrospektivní studie. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 2004;63:289–296.
18. Lane ChR, Le Baigue S, Esan OB., et al. Salmonella enterica Serovar Enteritidis, England and Wales, 1945–2011. *Adak Emerg Infect Dis.* 2014;20:1097–1104.
19. Krištúfková Z, Beneš Č, Micska M, Čižnár I. Is really the morbidity rate of samonellosis in the Slovak and Czech Republic the highest in EU? 4th scientific congress with international participation. Zoonoses – common protection of human and animal health. Bratislava 16–18. 10. 2013. Abstract. ISBN 978-80-970552-7-1.

Problematika vankomycín rezistentných enterokokov – podstata rezistencie a riziko prenosu zo zvierat na človeka

L. HERMANOVSKÁ[1], J. BARDOŇ[2,3,4], P. ČERMÁK[1]

[1]Oddělení klinické mikrobiologie, Thomayerova nemocnice, Praha, [2]Státní veterinární ústav, Olomouc
[3]Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta UP v Olomouci, [4]Ústav mikrobiologie, LF UP v Olomouci

SÚHRN

Hermanovská L., Bardoň J., Čermák P.: **Problematika vankomycín rezistentných enterokokov – podstata rezistencie a riziko prenosu zo zvierat na človeka**

Enterokoky sú súčasťou normálnej črevnej mikroflóry človeka a zvierat schopné za určitých okolností extraintestinálnej konverzie na oportúnny patogén. Sú pôvodcami endogénnych, ako aj exogénnych infekcií, komunitných a nozokomiálnych. Gastrointestinálny trakt cicavcov im poskytuje výhodné podmienky pre získavanie a šírenie génov rezistencie, napr. k vankomycínu (*van*), od iných symbiotických baktérií. Takto sa vankomycín-rezistentné enterokoky (VRE) stávajú možnými rezervoármi a prenášačmi (*van*) génov. Prvý výskyt VRE v populácii obyvateľstva Českej republiky potvrdil v roku 1997 Kolář a kol. Niektoré varianty *vanA* génového klastru VRE nesené na Tn*1546*, kódujúce vankomycínovú rezistenciu sú rovnaké u ľudí aj u zvierat, čo znamená, že zvieratá, najmä hovädzí dobytok, hydina a ošípané, by mohli predstavovať pre človeka dôležitý rezervoár VRE. Prvý záchyt VRE u zvierat v Českej republike zdokumentovali v roku 2000 Kolář a Bardoň. V Európe malo najväčší podiel na selekcii VRE u zvierat glykopeptidové antibiotikum, rastový stimulátor – avoparcín. Kmene *Enterococcus faecium* živočíšneho pôvodu môžu pôsobiť ako donory génov antimikrobiálnej rezistencie pre ďalšie enterokoky alebo priamo predstavovať nebezpečenstvo pre človeka, čoho dôkazom sú izoláty *E. faecalis* od ľudských pacientov a ošípaných, majúce veľmi podobný profil génov rezistencie a virulencie.

Cieľom práce bolo poukázať na podobnosť izolátov humánnych a animálnych kmeňov enterokokov rezistentných k vankomycínu, a na možnosť ich vzájomného prenosu medzi ľuďmi a zvieratami.

Kľúčové slová: vankomycín, glykopeptidy, enterokoky, rezistencia, klonálny komplex, zvieratá, avoparcín, nozokomiálne infekcie

SUMMARY

Hermanovská L., Bardoň J., Čermák P.: **Vancomycin-resistant enterococci – the nature of resistance and risk of transmission from animals to humans**

Enterococci are part of the normal intestinal flora of humans and animals. Under certain circumstances, they are capable of extraintestinal conversion to opportunistic pathogens. They cause endogenous as well as exogenous community and nosocomial infections. The gastrointestinal tract of mammals provides them with favorable conditions for acquisition and spread of resistance genes, for example to vancomycin (*van*), from other symbiotic bacteria. Thus, vancomycin-resistant enterococci (VRE) become potential reservoirs and vectors of the *van* genes. Their occurrence in the population of the Czech Republic was first reported by Kolář et al. in 1997. Some variants of the *vanA* gene cluster carried on Tn*1546* which encode resistance to vancomycin are identical in humans and in animals. It means that animals, especially cattle, poultry and pigs, could be an important reservoir of VRE for humans. Kolář and Bardoň detected VRE in animals in the Czech Republic for the first time in 2000. In Europe, the glycopeptide antibiotic avoparcin, used as a growth stimulator, is responsible for selection of VRE strains in animals. Strains of *Enterococcus faecium* from animals may offer genes of antimicrobial resistance to other enterococci or they can be directly dangerous to human. This is demonstrated by finding isolates of *E. faecalis* from human patients and from pigs having very similar profiles of resistance and virulence genes.

The goal of the paper was to point out the similarity between isolates of human and animal strains of enterococci resistant to vancomycin, and the possibility of their bilateral transfer between humans and animals.

Keywords: vancomycin, glycopeptides, enterococci, resistance, clonal complex, animals, avoparcin, nosocomial infection

Klin mikrobiol inf lék 2016;22(2):54–60

Adresa: MVDr. Lýdia Hermanovská, Oddelení klinické mikrobiologie, Thomayerova nemocnice, Vídeňská 800, 140 59 Praha 4-Krč, e-mail: lydia.hermanovska@ftn.cz

Došlo do redakce: 30. 3. 2016
Přijato k tisku: 7. 5. 2016

Úvod

Rezistencia k antibiotikám sa stáva v posledných dvoch desaťročiach celosvetovou vážnou hrozbou pre verejné zdravie. Postupné zvyšovanie miery rezistencie baktérií k antibiotikám, napr. *Staphylococcus aureus* rezistentný k meticilínu (oxacilínu) (MRSA), multirezistentný (MDR) *Pseudomonas aeruginosa*, imipenem rezistentný *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae rezistentné* k cefalosporínom 3. generácie a v neposlednom rade enterokoky rezistentné k vankomycínu, predstavuje stále vážnejší problém predovšetkým v nemocniciach [1].

Z hľadiska mikrobiologického enterokoky predstavujú grampozitívne, fakultatívne anaeróbne, kataláza negatívne, nesporulujúce koky, usporiadané jednotlivo, v pároch alebo v krátkych reťazcoch [2]. Sú schopné prežiť v drsných podmienkach, akým je prostredie s vysokou koncentráciou solí a široké teplotné rozmedzie (10 °C až viac ako 45 °C) [3].

Do roku 1984 patrili taxonomicky enterokoky do rodu *Streptococcus*, a to aj napriek tomu, že už v roku 1899 boli prvýkrát popísané a predbežne označené názvom enterokoky (*enterocoque*) [2]. Dnes je známych 40 rôznych druhov enterokokov. Najčastejšie druhy vyskytujúce sa v čreve ľudí sú *Enterococcus faecalis* a v menšej miere *Enterococcus faecium*. Najbežnejšími druhmi rôznych hospodárskych a spoločenských zvierat sú *E. faecium* spolu s *E. cecorum*, *E. faecalis* a do istej miery *E. hirae*, *E. gallinarum*. V poslednej dobe sa u ľudí a zvierat používali aj ako probiotiká. Vďaka tvorbe bakteriocínov plnia ochrannú funkciu. Enterokoky sú baktérie mliečneho kvasenia, preto sa uplatňujú aj v potravinárskom priemysle, napr. ako fermentátory syrov a údenín [4].

Klinický význam enterokokov

Klinicky najvýznamnejšie druhy získané z humánnych vzoriek sú *E. faecalis* a *E. faecium*. Približne 80 až 90 % ľudských enterokokových infekcií vyvoláva *E. faecalis*, zatiaľ čo 5 % až 15 % infekcií je spôsobených *E. faecium* [5]. *E. faecalis* je považovaný za druh s najväčším patogénnym potenciálom [6]. Enterokoky nie sú tak invazívne ako pyogénne streptokoky alebo *S. aureus*. Neprodukujú cytolytické toxíny ani superantigény. Disponujú rôznymi povrchovými molekulami, ktoré im umožňujú adherenciu k bunkám sliznice. Produkujú biofilm, vďaka ktorému sú schopné dlhodobej kolonizácie [7].

Enterokoky sú komenzálne baktérie žijúce najmä v čreve ľudí, domestikovaných i voľne žijúcich zvierat [8]. Sú súčasťou ich normálnej črevnej flóry. Menej sa vyskytujú v orofaryngeálnom, vaginálnom sekréte a na koži [9]. Vykazujú nízku mieru virulencie. Avšak, za určitých okolností, závažné základné ochorenie, imunosupresia, môže dôjsť extraintestinálne k ich konverzii na oportúnny patogén [4]. Sú príčinou endokarditídy, prvý prípad bol zdokumentovaný už v roku 1899 [3], infekcií genito-uretrálneho traktu, infekcií rán a krvného riečiska, neonatálnej infekcie [6]. Taktiež bolo u ľudí zdokumentovaných niekoľko prípadov vzniku infekcií vyvolaných druhom *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. caselliflavus* či *E. hirae* [10].

Enterokoky sú príčinou infekcií aj u zvierat, u ktorých spôsobujú mastitídy, hnačky, najmä u ošípaných a hovädzieho dobytka, endokarditídu, septikémie, spondylitídy a amyloidné artropatie u hydiny [6].

Rezistencia enterokokov k antibiotikám

Enterokoky sú prirodzene rezistentné k cefalosporínom, linkozamidom, cotrimoxazolu (aj keď *in vitro* citlivé byť môžu). Majú prirodzene nižšiu citlivosť k penicilínovým antibiotikám, preto k dosiahnutiu účinku je potrebné voliť vyššie dávky alebo pridať aminoglykozid (synergia). Flurochinolóny, tetracyklíny, makrolidy sú málo účinné a nespoľahlivé. Dobrá citlivosť je zachovaná k nitrofurantoínu, ktorý je indikovaný k liečbe infekcií močových ciest. U závažnejších infekcií vyvolaných *E. faecalis* je liekom voľby vysoko dávkovaný penicilín alebo ampicilín. Enterokoky neprodukujú β-laktamázu, preto nie je potrebné používať antibiotiká s inhibítorom β-laktamáz. *E. faecium* je rezistentný k penicilínom, a liekom voľby je preto vankomycín. Ako možnú alternatívu možno použiť linezolid alebo tigecyklín [7]. Gastrointestinálny trakt človeka a zvierat poskytuje enterokokom výhodné podmienky pre získavanie génov rezistencie, napr. k vankomycínu, od iných symbiotických baktérií [6].

Vankomycín rezistentné enterokoky (VRE) patria medzi celosvetovo najrozšírenejšie komenzály ľudí a zvierat [11], preto je asymptomatická kolonizácia ich čreva bežná [2]. Prvá správa o vankomycín rezistentnom *E. faecium* pochádza z roku 1988. Ku glykopeptidom rezistentné enterokoky sa šírili celosvetovo a boli nachádzané v nemocniciach a tiež v prostredí (zvieratá a potraviny) [11]. V populácii obyvateľstva Českej republiky výskyt VRE ako prvý zdokumentoval v roku 1997 Kolář a kol. [12].

VRE sa vďaka jedinečnej schopnosti vymieňať genetický materiál, dostávajú do pozície možných rezervoárov a prenášačov (*van*) génov vankomycínovej rezistencie [13]. Ich šírenie je rýchle v miestach vysokej denzity bakteriálnej populácie, hlavne v čreve cicavcov [14,3]. Frekvencia výskytu VRE sa líši v závislosti od geografickej lokality a od miesta odberu vzoriek [10].

Vankomycín je glykopeptidové antibiotikum, produkované pôdnou baktériou *Streptomyces (Amycolatopsis) orientalis*. Bol objavený v roku 1950. Používa sa v liečbe vážnych infekcií, spôsobených grampozitívnymi baktériami z rodu *Staphylococcus* a *Streptococcus* [1]. V minulosti predstavoval vankomycín obvyklú alternatívu k liečbe infekcií spôsobených ampicilín rezistentnými enterokokmi, alebo u pacientov s alergiou k β-laktámovým antibiotikám [4]. Z hľadiska chemického sa jedná o zložitú zlúčeninu, obsahujúcu rozvetvený tricyklický glykozylátový peptid. Je to vzácny príklad prírodnej haloorganickej zlúčeniny, obsahujúcej dva kovalentne naviazané atómy chlóru. Glykopeptidy, a teda aj vankomycín, inhibujú rast baktérií zásahom do syntézy peptidoglykánu v ich bunkovej stene. Väzobným miestom sú D-Ala-D-Ala peptidové konce peptidoglykánu [1].

Rezistencia k vankomycínu je prirodzená – determinanty rezistencie sú kódované na chromozóme, alebo získaná – determinanty rezistencie sú umiestnené na mobilných elementoch (plazmidy a transpozóny), umožňujúcich horizontálnu výmenu [6,15]. Iba získaná (akvírovaná) rezistencia je prenosná na iné enterokoky, čo umožňuje horizontálne

šírenie [16]. Hlavným rezervoárom génov získanej rezistencie k vankomycínu je *E. faecium*, vankomycín rezistentný *E. faecalis* je vzácnejší [17].

U enterokokov bolo popísaných deväť odlišných génových klastrov, genotypy *vanA, B, C, D, E, G, L, M* a *N* rezistentných ku glykopeptidom [16]. Sú označované podľa charakteristických génov pre kľúčovú ligázu, ktorá zodpovedá za syntézu buď D-alanyl- D- laktát (*vanA, vanB, vanD* a *vanM* gény) alebo D-alanyl- D- serín (*vanC1, vanC2, vanC3, vanE, vanG, vanL* a *vanN* gény). Okrem VanC rezistencie sú všetky typy rezistencie získané externe, t. j. horizontálnym prenosom [11]. Medzi tri najčastejšie varianty patria fenotypy VanA, B a C *E. faecium*. Vo všeobecnosti prevládajú u ľudí medzi VRE kmene *E. faecium* s fenotypom VanA. Výnimkou je Austrália a Švédsko, kde vo väčšine prípadov boli zistené VRE s fenotypom VanB [2]. Gény *vanA* a *vanB* sa šíria horizontálne, preto majú zásadný význam pre antibiotickú rezistenciu enterokokov [10].

Génový klaster *vanA* sa nachádza na mobilnom DNA elemente, transpozóne Tn*1546* [8], ktorý patrí do tzv. TN3-rodiny transpozónov [16]. Je zložený zo siedmich génov pomenovaných *vanR, vanS, vanH, vanA, vanX, vanY* a *vanZ* [18]. Expresia rezistencie k vankomycínu u kmeňov enterokokov s VanA/VanB fenotypom je riadená dvojzložkovým transdukčným signálnym systémom (TSS) pre VanA značeného ako (*vanR* – regulátorový gén a *vanS* – senzorový gén; pre VanB *vanRB/vanSB*), ktoré sú transkribované zo spoločného promótora. Ich úlohou je aktivovať transkripciu génov van klastru [2].

Úlohou TSS je sledovať integritu bunkovej steny a aktivovať príslušné adaptívne reakcie na zaistenie tejto funkcie [16]. *VanS* klaster bol primárne zistený u *E. faecium* a u *E. faecalis*, menej často u iných druhov enterokokov [2]. *VanS* je senzorový gén, ktorý v prítomnosti glykopeptidu fosforyluje konzervované zvyšky aminokyseliny histidínu v proteínovej zložke cytoplazmatickej membrány. Táto fosforylovaná skupina môže byť prenesená na konzervovaný aspartátový zvyšok vo *vanR*, čím aktivuje expresiu tohto génu [8]. Po aktivácii génového komplexu, gén *vanH* redukuje pyruvát na laktát, ktorý *vanA* používa pri syntéze alternatívneho D-Ala-D-Lac konca pentapeptidu. To je základom rezistencie, ktorá vedie k zastaveniu syntézy normálneho D-Ala-D-Ala konca pentapeptidu peptidoglykánu (*vanA, vanB* a *vanD*). Svoj podiel na tom majú aj gény *vanX* a *vanY*, kde *vanX* hydrolyzuje väzbu pentapeptidu peptidoglykánu, a tým preruší jeho syntézu. *VanY* štiepi pentapeptid, ktorý by mohol byť ešte stále syntetizovaný. Z uvedeného vyplýva, že ku glykopeptidom rezistentné enterokoky produkujú zmenené prekurzory peptidoglykánu, v ktorých D-Ala-D-Ala konce sú modifikované v D-Ala-D-Lac alebo D-Ala-D-Ser. Nahradenie D-Lac vyústi k takmer 1 000násobnému poklesu väzobnej afinity antibiotika k peptidoglykánovému receptoru. Nahradenie D-Ala-D-Ser tiež znižuje väzobnú afinitu glykopeptidov pre peptidoglykanové prekurzory, aj keď v menšej miere ako predchádzajúca substitúcia. Funkcia *vanZ* nie je objasnená.

V prípade neprítomnosti glykopeptidu v prostredí, *vanS* iniciuje defosforyláciu *vanR*, čo vedie k deaktivácii tohto génu [2]. Zmeny vo *vanS* sa zistili u kmeňov izolovaných od pacientov liečených glykopeptidmi. Vyšetrenie po sebe idúcich izolátov *E. faecium* získaných od pacienta trpiaceho infekciou spôsobenou kmeňom VanB *E. faecium* odhalilo, že krátke delécie vo *vanSB* kináze vedú k strate schopnosti aktivovať fosforyláciu a k následnej konštitutívnej glykopeptidovej rezistencii [16].

Hoci je expresia *vanA* aj *vanB* riadená rovnakým systémom, existujú v rámci neho významné rozdiely. *VanA* gény rezistencie sú indukované v prítomnosti ako vankomycínu, tak aj teikoplanínu, čo potvrdzuje existencia rezistencie k obom antibiotikám, ale gény rezistencie vanB sú indukované len vankomycínom, teda VanB kmene zostávajú citlivé k teikoplanínu. Súvisí to s odlišnou genetickou organizáciou *VanB* genotypu [16,8]. VanC (gény *vanC1, vanC2* a *vanC3*) rezistencia ku glykopeptidom sa vyznačuje chromozomálne kódovanou a konštitutívne exprimovanou rezistenciou k nízkej hladine vankomycínu, ale citlivosťou k teikoplanínu [19]. VanC glykopeptidová rezistencia je prirodzená pre *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* a *E. flavescens* [20]. Gén *vanD* sa zatiaľ vyskytol iba u jedného kmeňa *E. faecium* [21].

Umiestnenie VanA na Tn*1546* závisí od miesta, druhu a pôvodu izolátov [22]. Často sa u neho vyskytuje polymorfizmus, ktorý sa dá využiť pri sledovaní zdroja VRE [8]. Transpozóny sú integrované do plazmidov s vysokou molekulovou hmotnosťou, označovaných ako konjugatívne plazmidy, ktoré prispievajú k horizontálnemu prenosu génov rezistencie, ich následnému šíreniu medzi kmeňmi *E. faecium* a ku kolonizácii čreva človeka aj zvierat rezistentnými kmeňmi *E. faecium* [13,22]. Enterokoky patrili k jednému z prvých rodov grampozitívnych baktérií, u ktorých boli popísané plazmidy. Ich virulencia je často spojená s prítomnosťou konjugačných plazmidov, reagujúcich na feromóny, t. j. na malé peptidové fragmenty [14]. Výsledkom je tvorba agregačných proteínov (AS) lepivého charakteru, ktoré podporujú zhlukovanie buniek darcu a príjemcu, čo následne uľahčuje účinný prenos plazmidov. Plazmidy reagujúce na feromóny sú schopné replikácie iba u enterokokov [16]. Je známy prípad prenosu VanA plazmidu z *E. faecium* do *E. faecalis*, a to buď priamo plazmidom citlivým k feromónom, alebo prostredníctvom kointegráce jedného VanA plazmidu s plazmidom citlivým k feromónom. Čoraz častejšie sa objavuje väčší počet variant klinických izolátov, vznikajúcich inzerciou, t. j. vložením inzerčných sekvencií (IS) do častí transpozónov, alebo naopak stratou – deléciou niektorých segmentov [8]. To dodáva Tn*1546* značnú heterogénnosť [23]. Inzerčné sekvencie (IS) sa bežne vyskytujú v bakteriálnych genómoch a sú schopné uľahčiť prenos génov rezistencie. Boli popísané početné inzercie sekvencií integrovaných do Tn*1546*, a to IS1216V, IS1251 vo *vanSH* intergenovej oblasti, IS1476 vo *vanXY* intergenovej oblasti [8,18]. Je známy prípad, kedy *Tn1546* bol modifikovaný inzerciou génu *fosB*, čo malo za následok vznik nielen k vankomycínu, ale aj k fosfomycínu rezistentného mobilného elementu.

VanB génový klaster sa obyčajne nachádza na transpozóne Tn*5382*/Tn*1549*, takisto inkorporovanom do plazmidov, vrátane plazmidov citlivých k feromónom (*E. faecalis*) alebo chromozómu hostiteľa [16]. Súčasné trendy naznačujú stúpajúcu frekvenciu fenotypu VanB- genotypu *vanB* [24].

Podobnosť Tn*1546* človeka s Tn*1546* zvierat

Porovnávaním molekulárnych charakteristík VRE sa zistili rovnaké varianty *VanA* génového klastru (Tn*1546*) kódujúce vankomycínovú rezistenciu u enterokokov ľudského aj zvieracieho pôvodu. Niektorí jedinci boli kolonizovaní kmeňmi zvieracími, a to najmä tými, ktoré sú typické pre hovädzí dobytok. A naopak, v malom percente sa ľudské klony vyskytli u zvierat [25]. Tieto nálezy zvýšili presvedčenie, že zvieratá skutočne predstavujú pre človeka dôležitý rezervoár enterokokov rezistentných k vankomycínu, čím zohrávajú zásadnú úlohu v prenose a šírení VRE [14].

Kmene *E. faecium* živočíšneho pôvodu väčšinou nepredstavujú samy o sebe nebezpečenstvo pre ľudské zdravie, ale môžu pôsobiť ako donory génov antimikrobiálnej rezistencie pre ďalšie enterokoky. Avšak izoláty *E. faecalis* od ľudských pacientov a ošípaných majú veľmi podobný profil génov rezistencie a virulencie. *E. faecalis* z ošípaných by preto mohol priamo predstavovať nebezpečenstvo pre človeka. Za najčastejší rezervoár VRE spomedzi hospodárskych zvierat sa považuje najmä hovädzí dobytok, hydina a ošípané, menej spoločenské zvieratá (psy, mačky, kone) [8]. Vysoký podiel VRE sa nachádza predovšetkým v ich truse, ktorým kontaminujú prostredie, čo predstavuje jednu z možných ciest, ktorou sa gény rezistencie šíria do komunity, kde sa následne ďalej distribuujú [6].

K šíreniu VRE dochádza aj prostredníctvom potravín, kontaminovaných VRE [22]. Jednou z možností kontaminácie mäsa a výrobkov z neho, určeného pre ľudský konzum, je nedodržanie dostatočných hygienických zásad. Počas spracovania jatočných tiel dochádza k ich kontaminácii výkalmi a následnej invázii črevných baktérií na povrch [5]. Ďalšiu cestu kontaminácie predstavujú odpadové vody alebo ľudské splašky, ktoré obsahujú VRE. Tie sa môžu dostať do rybníkov a potokov, a následne do potravinového reťazca zvierat [23]. Ľudské VRE kmene boli objavené v potravinách a mestských vodných zdrojoch, kde môžu prežívať dlhý čas [10,20].

Výskyt VRE u zvierat a v potravinách

Prvý záchyt VRE u zvierat v Českej republike zdokumentovali v roku 2000 Kolář a Bardoň. Z celkového počtu 4 diagnostikovaných VRE boli tri kmene identifikované ako *Enterococcus faecium* a jeden ako *Enterococcus* sp. skupina III. Na základe stanovení minimálnych inhibičných koncentrácií (MIC) vankomycínu a teikoplanínu boli izoláty *Enterococcus faecium* charakterizované ako VRE fenotypu VanA a kmeň Enterococcus sp. skupina III. ako VRE fenotypu VanB. Väčšina enterokokov vykazovala rezistenciu k viacerým druhom antimikrobiálnych látok [26].

Neskôr, v období rokov 2002–2004 zistili Kolář a kol., že z 821 kmeňov enterokokov pochádzajúcich zo stolice pacientov, bolo 9 kmeňov identifikovaných ako VRE. Dva kmene boli pomenované ako VanA *Enterococcus faecium*, 1 kmeň VanB *Enterococcus faecalis* a 6 kmeňov VanC *Enterococcus casseliflavus*. Z 527 kmeňov eneterokokov získaných z kloakálnych výterov hydiny boli 11 VRE. 54,5 % predstavovalo VanA *E. faecium*. Analýzou genómu sa nezistila nijaká príbuznosť medzi VRE izolovanými z ľudskej populácie a VRE pochádzajúcimi z kŕdľov hydiny [27]. Herrero a kol. našli u 12,6 % psov, umiestnených na veterinárnej poliklinike Univerzity veterinárneho lekárstva v Madride 15 VRE kmeňov. Všetky vlastnili gén *vanA*. Španielsko patrí k najviac VRE zaťaženej krajine v Európe. Odhaduje sa, že 36 % ľudí a 30 % ošípaných tam je nosičmi VRE [19]. Van Belkum a kol. zistili, že 4 z 24 rektálnych výterov od mačiek, ošetrených v jednej z veterinárnych ambulancií v Holandsku, bolo pozitívnych na VRE VanA *E. faecium*. Predpokladá sa prenos VRE z nemocničného personálu na pacientov, ako aj prenos medzi majiteľmi zvierat a domácimi zvieratami [28]. Podobná situácia, aká je v Španielsku, je aj v Portugalsku, kde je vysoký výskyt VRE u malých domácich zvierat, t. j. psov a mačiek. Toto zistenie môže súvisieť s používaním rovnakých antibiotík vo veterinárnej a humánnej medicíne [19].

V Portugalsku boli VanA VRE detekované aj vo vzorkách trusu drozda plavého (*Turdus philomelos*). Štyri VanA VRE izolované z drozda boli identifikované ako: dva kmene *E. faecium*, 1 kmeň *E. durans* a 1 kmeň *E. hirae*. Jednou z hypotéz nosičstva VRE u vtákov je, že prišli do kontaktu s výkalmi zvierat alebo dokonca ľudí, vzhľadom k tomu, že sú to typické všežravé sťahovavé vtáky, ktoré sú v kontakte s veľkou časťou životného prostredia, čo im umožňuje šíriť baktérie ďalej [5,29]. Predstavujú jeden z najčastejšie lovených druhov pernatej zveri na Pyrenejskom polostrove. Mäso týchto zvierat sa tradične konzumuje aj v iných európskych krajinách [5]. Okrem obavy, že by vtáky mohli šíriť baktérie rezistentné k antibiotikám na ľudí, existuje dôkaz, že ľudia šíria k antibiotikám rezistentné baktérie do vtáčích populácií. Svedčí o tom nález VRE izolovaný z novo vyliahnutých mláďat prepelice virdžínskej (*Colinus virginianus*) chovaných v zajatí a kŕmených komerčnými krmivami bez prídavku antibiotík. Rezistentné baktérie boli izolované aj u vtákov žijúcich na Veľkonočných ostrovoch a v oblasti Beringie na Aljaške [29]. Výskyt VRE u divokých zvierat na Slovensku popísali ako prví Oravcová a kol. [30].

Rekreačné miesta, ako sú parky, pláže, rybníky, atď., predstavujú biotopy obojživelníkov, ktoré sú indikátormi čistoty prostredia, preto boli považované za „mikrobiologicky bezpečné“. Prítomnosť žiab nesúcich VRE predstavuje potenciálne riziko pre rozvoj bakteriálnej infekcie u človeka. Koža obojživelníkov je vysoko priepustná. Ľahko ňou vstrebávajú napr. aj zvyšky liekov, ktoré sa v ich tele hromadia. Súčasťou potravinového reťazca žiab sú väčšinou *detrivorné* bezstavovce, čo predpokladá aj ich podiel na šírení baktérií rezistentných voči antibiotikám. VanA Tn*1546 E. faecium* žiab je podobný ľudským VRE izolátom [23].

Na rozdiel od toho v Japonsku je incidencia ku glykopeptidom rezistentných eneterokokov (GRE) u ľudí nižšia (iba 5%), rovnako ako aj u zvierat. Avšak existuje niekoľko dôkazov možného prenosu VRE alebo GRE medzi ľuďmi a potravinovými zvieratami, prostredníctvom potravinových produktov, akým je prevažne kuracie mäso. GRE boli izolované z mäsa importovaných kurčiat, ako aj z mäsa tamojších kurčiat. Jednalo sa prevažne o *vanC* genotyp, ale zistený bol aj *vanN* genotyp [11].

Vysoký pomer VanA enterokokov bol detekovaný vo vzorkách z kuracieho mäsa určeného k ľudskému konzumu (9 z 10 vzoriek) a z mäsa čerstvo zabitej hydiny (10 z 10

vzoriek) v Nemecku. Rovnako bola zistená vysoká prevalencia typu VanA rezistencie enterokokov u kurčiat čerstvých aj mrazených, kúpených v anglických supermarketoch. 58 % izolátov predstavovalo *E. faecium* a 40% *E. faecalis*. Klein a kol. zistili prítomnosť 34 VRE kmeňov v surovom mletom hovädzom a bravčovom mäse. 38 % izolátov bolo identifikovaných ako *E. faecium* a 35 % ako *E. faecalis*. Okrem mäsa sa VRE našli aj v mliečnych výrobkoch. V Taliansku Giraffa a kol. zistili, že 50 % vyšetrených syrov bolo kontaminovaných VRE. Väčšinou boli nachádzané *E. faecium* a *E. faecalis*. V Európe, táto skutočnosť súvisí s predchádzajúcim používaním glykopeptidových antibiotík ako rastových stimulátorov v chovoch hospodárskych zvierat [31].

Epidemiológia výskytu a možnosti prenosu VRE medzi zvieratami a človekom

V prvej polovici 90. rokov minulého storočia bol zaznamenaný zvýšený výskyt vankomycín rezistentných enterokokov (VRE) VanA fenotypu získaných zo vzoriek mäsa jatočných zvierat dodávaného do obchodnej siete, výrobkov z neho ako aj zo vzoriek klinického materiálu zdravých ľudí. Toto zistenie vyvolalo obavy z používania antibiotík ako rastových stimulátorov v chovoch hospodárskych zvierat [32].

K najvýznamnejším stimulátorom rastu u farmových zvierat v Európe patril glykopeptid avoparcín, ktorý je úzko príbuzný vankomycínu. Jedná sa o fermentačný produkt kmeňa *Streptomyces candidus* [33]. Je prakticky neabsorbovateľný v tráviacom systéme kurčiat a ošípaných a väčšina aktívneho antibiotika prechádza tráviacim systémom bez toho, aby bola metabolizovaná [6]. V Dánsku sa v roku 1994 podalo 24 kg vankomycínu v humánnej medicíne a viac ako 24 000 kg avoparcínu k podpore rastu hospodárskych zvierat [2]. Po zistení súvislostí výskytu VRE s používaním avoparcínu, pristúpilo Dánsko v roku 1995 ako prvé k zákazu jeho používania v živočíšnej výrobe [21]. V tom istom roku Nórsko, v roku 1996 Nemecko a v roku 1997 zvyšné krajiny Európskej únie. Mimo Európu bol avoparcín zakázaný v roku 1997 v Kórei, na Taiwane a na Novom Zélande v roku 2000. Pre zaujímavosť, Austrália od roku 1992 do roku 1996 doviezla priemerne 582 kg vankomycínu ročne určeného pre lekárske účely a 62,6 tony avoparcínu ročne pre živočíšnu výrobu.

Po zákaze používania avoparcínu u zvierat sa výskyt VRE znížil, čo podporuje teóriu, že v prípade redukcie selekčného tlaku rezistencia k antibiotiku zmizne [2]. Avšak v Dánsku pri použití selektívneho média (t. j. média s vankomycínom) boli ešte 15 rokov po používaní avoparcínu detekované VRE *E. faecium* a *E. faecalis* v kŕdľoch brojlerov [34]. V Dánsku sa okrem avoparcínu ako koselektor VRE potvrdilo aj makrolidové antibiotikum, tylozín, podávané ošípaným [2].

Výskyt vankomycín rezistentných enterokokov izolovaných z klinických vzoriek bol do roku 2007 v Grécku a Írsku menší než 1 %. Vo Švédsku sa výskyt infekcií spôsobených VRE zvýšil v období rokov 2007–2009 približne štvornásobne, v porovnaní s obdobím rokov 2000–2006 [3]. V Kanade a v USA nebolo používanie avoparcínu nikdy schválené. No aj napriek tomu epidemiologické štúdie v USA odhalili výskyt k vankomycínu a k teikoplanínu rezistentných baktérií, medzi nimi aj enterokokov v pôde, v povrchových vodách, u voľne žijúcich zvierat, hydiny a v nemocničnom prostredí, kde sa podieľali na vzniku nozokomiálnych infekcií [2].

Nozokomiálne enterokokové infekcie v USA prebehli v dvoch vlnách. Infekcie spojené s *E. faecium* rezistentným k vankomycínu predstavujú druhú vlnu [3]. VRE sú v USA dôležitou príčinou morbidity a mortality pacientov hospitalizovaných na jednotkách intenzívnej starostlivosti (JIS) [25], kde sa výskyt infekcií krvného riečiska zapríčinených VRE zvýšil z 0,4 % v roku 1989 na 25,2 % v roku 1999, pričom v roku 1998 15 % až 24 % hospitalizovaných pacientov bolo kolonizovaných VRE [2]. V súčasnosti je *E. faecium* rovnako bežný agens infekcií ako *E. faecalis*. K selekcii VRE v USA došlo nadmerným užívaním vankomycínu pri liečbe klostrídiovej kolitídy a taktiež podávaním piperacilínu a cefalosporínov [3].

Enterokoky sú tolerantné k niektorým chlórovým ako aj alkoholovým preparátom používaných na dezinfekciu v nemocničnom prostredí, čo prispieva k ich dlhodobému (viac ako 4 mesiace) prežívaniu na rôznych suchých povrchoch [28]. Táto skutočnosť predstavuje rizikový faktor rozvoja VRE nozokomiálnej infekcie. Ošetrujúci personál zohráva úlohu vektora, ktorý kontaktom s VRE „pozitívnym“ pacientom prenáša VRE na VRE „negatívnych“ pacientov. Riziko prenosu je zosilnené frekvenciou kontaktu pacienta s personálom a koreluje s hustotou VRE v pacientovej stolici.

Prvé globálne štúdie preukázali, že nozokomiálne izoláty *E. faecium* získané od hospitalizovaných pacientov, patrili do klonálneho komplexu (CC) 17 [CC17], zatiaľ čo *E. faecium* izoláty živočíšneho pôvodu, patrili k iným sekvenčným typom (STS) klonálnych komplexov. Sekvenčné typy, resp. polyklonálne subpopulácie [3], sú zoskupené do klonálnych komplexov (CC) na základe ich podobnosti k centrálnemu alelickému profilu, t. j. genotypu [35]. To znamenalo, že vankomycín rezistentné kmene *E. faecium* boli prevažne hostiteľsky špecifické a že kmene izolované z materiálu hospitalizovaných pacientov boli geneticky odlišné od k vankomycínu rezistentných kmeňov *E. faecium*, ktoré prevládali vo fekálnej flóre zvierat. Jednalo sa o klonálne komplexy [CC17], [CC22] a [CC9]. Do [CC17] podľa týchto štúdií patrili len ľudské izoláty, do klonálneho komplexu [CC22] izoláty prasacie a klonálny komplex [CC9] bol považovaný za komplex typický pre izoláty z hydiny [36].

Dnes ale existujú dôkazy, že VRE nemusia byť hostiteľsky špecifické. Kmeň *E. faecium* klonálny komplex 17 [CC17], podobne ako *E. faecalis* klonálny komplex 2 [CC2], rovnako ako aj kmeň *E. faecium* klonálny komplex 5 [CC5], *E. faecalis* sekvenčný typ 16 [ST16] alebo *E. faecalis* klonálny komplex [CC21] sa vyskytol u ľudí ako aj u hospodárskych a domácich zvierat [21]. Z hľadiska humánnych infekcií má najväčší význam *E. faecium* klonálny komplex 17 [CC17] [20]. Predstavuje prvú globálne rozptýlenú nozokomiálne prispôsobenú klonálnu líniu *E. faecium* [22], ktorá je považovaná za najčastejšiu príčinu vzniku nozokomiálnych enterokokových infekcií ľudí. Kmene [CC17] boli nájdené na piatich kontinentoch. Je pre ne typická rezisten-

cia okrem k vankomycínu aj k ampicilínu a ciprofloxacínu. Sekvenčné typy *E. faecium* [ST17] a [ST18] predstavujú dva najrozšírenejšie kmene zodpovedné za vznik nozokomiálnych infekcií. Boli izolované priamo z jatočných tiel ošípaných, z ich podstielky, a z hydinových výrobkov. [ST17] *E. faecium* boli získané z kuracieho a teľacieho mäsa v Španielsku. Jeho rezervoárom boli aj psy, ktoré strávili istú dobu v priestoroch veterinárnej JIS, a teda líšili sa od zdravých jedincov [20]. [ST18] *E. faecium* je typ M39 zistený v čreve človeka aj ošípaných. To poukazuje na schopnosť M39 kolonizovať oba druhy. Typ M39 ([ST18]) bol objavený v rokoch 2002 až 2003 v strednom Taliansku vo vzorkách stolice hospitalizovaných pacientov, ako aj od ľudí z komunity a u ošípaných, zatiaľ čo typ M49 ([ST78]), taktiež patriaci do [CC17], bol izolovaný zo vzoriek stolice len hospitalizovaných pacientov v Taliansku [22]. Ďalším kmeňom *E. faecium* je sekvenčný typ [ST132], nájdený v truse ošípaných v Holandsku a zároveň v moči pacienta s uroinfekciou [36]. *E. faecium* [ST203] a [ST55] sú pôvodcami nozokomiálnych infekcií, patriacich takisto do klonálneho komplexu [CC17]. [ST203] predstavuje jedinečný alelický typ *E. faecium*, ktorý vyvolal infekciu v nemocniciach v Kórei, Nemecku a Číne. Avšak [ST203] sa našiel aj u zdravých osôb, u prasiat na prasacích farmách, na bitúnkoch, v odpadových vodách a v riekach [20]. Bol izolovaný aj z tela hydiny. Tu sa však predpokladá prenos z človeka, pravdepodobne zamestnanca farmy. Toto tvrdenie podporuje experimentálna štúdia, ktorá preukázala možnosť prenosu VRE ľudského pôvodu na brojlery [25]. Okrem cicavcov sa izoláty VanA *E. faecium* [CC17] našli aj u rýb parmica pruhovaná (*Mullus surmuletus*), ulovenej v rieke Duero, pretekajúcej územím Španielska aj Portugalska a u pražmy kráľovskej (*Sparus aurata*) [37]. VanA *E. faecium* izoláty patriace do klonálneho komplexu [CC5] boli nájdené u ošípaných v piatich európskych krajinách a v USA. Okrem toho, [CC5] *E. faecium* izoláty sa našli aj u pacientov s infekciou močových ciest a vo vzorkách stolice komunitných pacientov [21]. Kmene [ST29] a [ST57] patria do klonálneho komplexu [CC9]. Boli izolované z kurčiat a zároveň z klinických vzoriek u ľudí z komunity, resp. terénu a z ošípaných v Brazílii, Francúzsku, Austrálii a Belgicku [36].

Okrem kmeňa *E. faecium* boli zistené izoláty *E. durans* a *E. gallinarum*, patriace k typom M7, M29, M42, D1, D5 a G2. Boli získané zo vzoriek rôzneho pôvodu a z geograficky odlišných miest, čo takisto potvrdzuje občasné klonálne rozpätie medzi rôznymi rezervoármi [22].

Nomura a kol. zistili prítomnosť VanN *E. faecium* GU121-1 v kuracom mäse v Japonsku. Tento kmeň bol označený ako sekvenčný typ [ST669]. Vykazuje veľkú podobnosť s už skôr popísaným [ST329]. [ST669] je dvojlokusová varianta [ST329]. VanA *E. faecium* GRE, pomenovaný ako [ST329], bol izolovaný z hemokultúry pacienta, hospitalizovaného v Holandsku, v roku 1999. Je pravdepodobné, že plazmid VanN typu vankomycínovej rezistencie je mobilný a že sa šíri prostredím. Ani [ST669], ani [ST329] nepatria do *E. faecium* [CC17] [11].

Podľa niektorých štúdií existuje charakteristická genetická príbuznosť medzi VRE kmeňmi spôsobujúcimi nozokomiálne infekcie a kmeňmi zloženými z komunitných izolátov, t. j. izolátov ľudských a zvieracích. Tento vzťah je výsledkom dlhodobej koevolúcie baktérie a hostiteľa [36]. Klony *E. faecium* nachádzané v súvislosti s nozokomiálnymi infekciami v nemocniciach v USA sa svojím jadrovým genómom líšili od komunitných kmeňov. Ich genóm je tvárny, vďaka čomu sa enterokoky čoraz častejšie uplatňujú ako dôležité nozokomiálne patogény [3].

Záver

Enterokoky sú súčasťou normálnej črevnej flóry človeka a zvierat, ale sú i pôvodcami endogénnych, ako aj exogénnych infekcií, komunitných a nozokomiálnych. Gastrointestinálny trakt cicavcov im poskytuje výhodné podmienky pre získavanie a šírenie génov rezistencie, napr. k vankomycínu (*van*), čím sa VRE stávajú možnými rezervoármi a prenášačmi (*van*) génov. Zvieratá, najmä hovädzí dobytok, hydina a ošípané môžu predstavovať pre človeka dôležitý rezervoár VRE. V Európe malo najväčší podiel na selekcii VRE u zvierat glykopeptidové antibiotikum, rastový stimulátor – avoparcín. Kmene *E. faecium* živočíšneho pôvodu môžu pôsobiť ako donory génov antimikrobiálnej rezistencie pre ďalšie enterokoky alebo priamo predstavovať nebezpečenstvo pre človeka. VRE sú príkladom problému, ktorý je potrebné riešiť spoločne medzi veterinárnymi a humánnymi lekármi v duchu koncepcie One health.

Práca bola podporená grantom Lekárskej fakulty UP v Olomouci IGA_LF_2016_022 a grantom Ústavu molekulárnej a translačnej medicíny, Lekárska fakulta UP v Olomouci č. LO1304.

Literatúra

1. Lee CHR, Lee JH, Park KS, et al. Quantitative proteomic view associated with resistence to clinically important antibiotics in Gram-positive bacteria: a systematic review. *Frontiers in Microbiology*. 2015;6:1–29.
2. Nilsson O. Vancomycin resistant enterococci in farm animals – occurrence and importance. *Infection Ecology and Epidemiology*. 2012;2:16959,1–8.
3. Arias CA, Murray BE. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistence. *Nat Rev Microbiol.* 2013;10:266–278.
4. Garcia-Migura L, Liebana E, Jensen LB. Transposon characterization of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VREF) and dissemination of resistance associated with transferable plasmids. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2007;60:263–268
5. Jackson CR, Fedorka-Cray PJ, Davis JA, et al. Mechanisms of antimicrobial resistance and genetic relatedness among enterococci isolated from dogs and cats in the United States. *Journal of Applied Microbiology*. 2010;108:2171–2179.
6. Bertelloni F, Salvadori C, Moni A, et al. Antimicrobial resistance in Enterococcus spp. isolated from laying hens of backyard poultry flocks. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine.* 2015;22:665–669.
7. Beneš J. Bakteriální infekce. In: Beneš et al. Infekční lékařství. 1. vydání. Praha: Galén; 2009, str. 2010.
8. Hammerum AM. Enterococci of animal origin and their significance for public health. *Clinical Microbiology and Infection.* 2012;18:619–625.
9. Ceci M, Delpech G, Sparo M, et al. Clinical and microbiological features of bacteremia caused by *Enterococcus faecalis. J Infect Dev Ctries.* 2015;9:1195–1203.
10. Rahimi F, Talebi M, Saifi M. Distribution of Enterococcal Species and Detection of Vancomycin Resistance Genes by Multiplex PCR in Tehran Sewage. *Iranian Biomedical Journal.* 2007;11:161–167.
11. Nomura T, Tanimoto K, Shibayama K, et al. Identification of VanN-Type Vancomycin Resistance in an *Enterococcus faecium* Isolate from Chicken Meat in Japan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012;56:6389–6392.
12. Kolář M, Vágnerová I, Kohnová, I. Záchyt vankomycin-rezistentních enterokoků ve Fakultní nemocnici v Olomouci. *Klin Mikrobiol Infekc Lek.* 1997;3:189 – 191.
13. Mater DDG, Langella P, Corthier G, et al. Evidence of vancomycin resistance gene transfer between enterococci of human origin in the gut of mice harbouring human microbiota. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2005;56:975–978.

14. Iseppi R, Messi P, Anacarso I, Bondi M, Sabia C, Condò C, de Niederhausern S. Antimicrobial resistance and virulence traits in *Enterococcus* strains isolated from dogs and cats. *New Microbiologica.* 2015;38:369–378.
15. De Moura TM, Vaz Cassenego AP, Souza Campos F, et al. Detection of vanC1 gene transcription in vancomycin-susceptible *Enterococcus faecalis*. *Mem Inst.* 2013;108(4):453–456.
16. Kristich CHJ, Rice LB, Arias CA. Enterococcal Infection -Treatment and Antibiotic Resistance. 2014;1–48.
17. Werner G, Coque TM, Hammerum AM, et al. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Journal of Applied Microbiology.* 2005;98:564–571.
18. Bustamante W, Alpízar AI, Hernandez S, et al. Predominance of vanA Genotype among Vancomycin-Resistant *Enterococcus* Isolates from Poultry and Swine in Costa Rica. *Applied And Environmental Microbiology.* 2003;69:7414–7419.
19. Kataoka Y, Ito CH, Kawashima A, et al. Identification And Antimicrobial Susceptibility Of Enterococci Isolated From Dogs And Cats Subjected To Differing Antibiotic Pressures. *J. Vet. Med. Sci.* 2013;75:749–753.
20. Liassine N, Frei R, Jan I, et al. Characterization Of Glycopeptide-Resistant Enterococci From A Swiss Hospital. *Journal Of Clinical Microbiology.* 1998; 36:1853–1858.
21. Freitas AR, Coque TM, Novais C, et al. Human and Swine Hosts Share Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* CC17 and CC5 and *Enterococcus faecalis* CC2 Clonal Clusters Harboring Tn*1546* on Indistinguishable Plasmids. *Journal Of Clinical Microbiology.* 2011;49:925–931.
22. Biavasco F, Foglia G, Paoletti C, et al. VanA-Type Enterococci from Humans, Animals, and Food: Species Distribution, Population Structure, Tn*1546* Typing and Location, and Virulence Determinants. *Applied And Environmental Microbiology.* 2007;73:3307–3319.
23. Rana SW, Kumar A, Walia SK, et al. Isolation of Tn1546-like elements in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated from wood frogs: an emerging risk for zoonotic bacterial infections to humans. *Journal of Applied Microbiology.* 2010;110:35–43.
24. Sung K, Khan S, Marasa B, et al. Genomic Sequence of a Clinical Vancomycin-Resistant Reference Strain, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299. *Genome Announcements.* 2015;3:1–2.
25. Donabedian SM, Perri MB, Abdujamilova N, et al. Characterization of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* Isolated from Swine in Three Michigan Countries. *Journal Of Clinical Microbiology.* 2010;48:4156–4160.
26. Kolář M, Bardoň J, Vágnerová I, et al. Occurrence of vancomycin-resistant enterococci in hens in the Central region of Moravia. *Veterinární medicína.* 2000; 45:93–97.
27. Kolář M, Pantůček R, Bardoň J, et al. Occurence of VRE in humans and animals in the Czech Republic. *J Med Microbiol.* 2005;54:965–967.
28. Ghosh A, Kanich KK, Brown CE, et al. Resident cats in small animal veterinary hospitals carry multi-drug resistantent erococci and are likely involved in cross-contamination of the hospital environment. *Frontiers in Microbiology.* 2012; 3:1–14.
29. Ishihara S, Bitner JJ, Farley G, et al. Vancomycin-Resistant Gram-Positive Cocci Isolated from the Saliva of Wild Songbirds. Curr Microbiol. 2013;66:337–343.
30. Oravcova V, Hadelova D, Literak I. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* with *vanA* gene isolated for the first time from wildlife in Slovakia. *Vet Microbiol.* 2015. pii: S0378-1135(15)30096-1.
31. Talebi M, Sadeghi J, Rahimi F, et al. Isolation and Biochemical Fingerprinting of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* From Meat, Chicken and Cheese. *Jundishapur J Microbiol.* 2015;8: e15815 1–5.
32. Novais C, Coque TM, Costa MJ, et al. High occurrence and persistence of antibiotic-resistant enterococci in poultry food samples in Portugal. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2005;56:1139–1143.
33. Butaye P, Devriese LA, Haesebrouck F. Differences In Antibiotic Resistance Patterns Of *Enterococcus Faecalis* and *Enterococcus Faecium* Strains Isolated From Farm And Pet Animals. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy.* 2001; 45:1374–1378.
34. Bortolaia V, Mander M, Jensen LB, et al. Persistence of Vancomycin Resistance in Multiple Clones of *Enterococcus faecium* Isolated from Danish Broilers 15 Years after the Ban of Avoparcin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2015; 59:2926–2929.
35. http://pubmlst.org
36. Getachew Y, Hassan L, Zakaria Z, et al. Genetic Variability of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* Isolates from Humans, Chickens, and Pigs in Malaysia. *Applied and Environmental Microbiology.* 2013; 79:4528–4533.
37. Barros J, Andrade M, Radhouani H, et al. Detection of vanA-Containing *Enterococcus* Species in Faecal Microbiota of Gilthead Seabream (*Sparus aurata*). *Microbes Environ.* 2012;27:509–511.

Sledování autoimunitních fenoménů při léčbě chronické hepatitidy B a C interferonem alfa – dvacetileté zkušenosti

I. ORSÁGOVÁ[1], L. ROŽNOVSKÝ[1], L. PETROUŠOVÁ[1], M. KONEČNÁ[1], L. KABIESZOVÁ[1], J. MARTINEK[2], A. KLOUDOVÁ[2], L. PAVLISKA[3]

[1]Klinika infekčního lékařství, Fakultní nemocnice Ostrava, [2]Centrum klinických laboratoří, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, [3]Útvar náměstka ředitele pro vědu a výzkum, Fakultní nemocnice Ostrava

SOUHRN

Orságová I., Rožnovský L., Petroušová L., Konečná M., Kabieszová L., Martinek J., Kloudová A., Pavliska L.: **Sledování autoimunitních fenoménů při léčbě chronické hepatitidy B a C interferonem alfa – dvacetileté zkušenosti**

Cíl práce: Stanovit výskyt parametrů autoimunity u pacientů s chronickou hepatitidou B a C (VHB, VHC) léčených konvenčním nebo pegylovaným interferonem alfa (IFN) a sledovat rozvoj autoimunitních onemocnění v souvislosti s touto léčbou.

Soubor pacientů a metody: Na Klinice infekčního lékařství v Ostravě byly v letech 1992–2014 hodnoceny autoimunitní parametry u 324 pacientů (271 s VHC, 53 s VHB) léčených IFN. Před léčbou, v jejím průběhu a po léčbě IFN byly stanovovány protilátky antinukleární (ANA), antimitochondriální (AMA), proti hladkému svalu (SMA), proti mikrosomům jater a ledviny (anti-LKM-1), proti dvouvláknové DNA (anti-ds-DNA), proti granulocytům (ANCA), proti deoxyribonukleoproteinu (anti-DNP), anti-nukleozómy, revmatoidní faktor (RF) a cirkulující imunokomplexy (CIK), současně byla hodnocena manifestace autoimunitních onemocnění.

Výsledky: U 267 z 324 pacientů byl přítomen alespoň 1 abnormální parametr, pozitivita ANA byla u 140, AMA u 13, SMA u 100, RF u 118, ANCA u 11, anti-ds-DNA u 2, anti-LKM1 u 1 pacienta. Zvýšení CIK bylo u 150 z 227 pacientů, pozitivita anti-DNP u 39 z 239, anti-nukleozómy u žádného ze 43 pacientů. Alespoň 1 abnormální parametr byl zjištěn u 85 % pacientů s VHC a u 89 % pacientů s VHB, u 81 % pacientů do 40 let a u 84 % starších, u 90 % pacientů s cirhózou a 86 % bez cirhózy, u 74 % pacientů při léčbě kratší než 30 týdnů a u 87 % pacientů při léčbě přesahující 50 týdnů. Autoimunitní onemocnění se rozvinulo u 4 pacientů, jednalo se o autoimunitní hepatitidu, autoimunitní myositidu, myopatii a diabetes mellitus, přitom jen u 3 pacientů byla prokázána pozitivita ANA, SMA nebo anti-DNP.

Závěr: U pacientů s VHB a VHC léčených IFN se často zjišťuje pozitivita ANA a SMA nebo zvýšení RF a CIK, ale jejich výskyt nekoreluje s rozvojem autoimunitních onemocnění.

Klíčová slova: chronická hepatitida B a C, interferon alfa, autoprotilátky

SUMMARY

Orságová I., Rožnovský L., Petroušová L., Konečná M., Kabieszová L., Martinek J., Kloudová A., Pavliska L.: **Investigation of autoimmunity markers during interferon alpha therapy of chronic hepatitis B and C – twenty years of experience**

Objective: To determine the prevalence of autoimmune parameters in patients with chronic hepatitis B and C (HBV, HCV) treated with conventional or pegylated interferon alpha (IFN) and monitor the development of autoimmune diseases in connection with this treatment.

Patients and methods: In the years 1992–2014, autoimmune parameters were evaluated in 324 patients (271 with HCV, 53 with HBV) treated with IFN at the Department of Infectious Diseases in Ostrava. Prior to, during and after completion of IFN treatment, antinuclear antibodies (ANA), antimitochondrial antibodies (AMA), smooth muscle antibodies (SMA), anti-liver/kidney microsomal antibodies (anti-LKM-1), anti-double-stranded DNA antibodies (anti-ds-DNA), antibodies against granulocytes (ANCA), anti-deoxyribonucleoprotein antibodies (anti-DNP), anti-nucleosomes antibodies, rheumatoid factor (RF) and circulating immune complexes (CIC) were determined and clinical manifestations of autoimmune diseases were evaluated.

Results: At least one abnormal parameter was present in 267 of 324 patients: ANA in 140, AMA in 13, SMA in 100, RF in 118, ANCA in 11, anti-ds-DNA in 2 and anti-LKM-1 in 1 patient. Increases in CIC were observed in 150 of 227 patients, anti-DNP positivity in 39 of 239 and anti-nucleosomes were positive in none of 43 patients. At least one abnormal parameter was detected in 85 % of patients with HCV and in 89 % of patients with hepatitis B, in 81 % of patients under 40 years of age and in 84 % of older individuals, 90 % of patients with cirrhosis and 80 % without cirrhosis, in 74 % of patients with treatment shorter than 30 weeks and in 87 % of patients with treatment lasting over 50 weeks. Autoimmune diseases – autoimmune hepatitis, autoimmune myositis, myopathy and diabetes – developed in 4 patients while only 3 individuals had ANA, SMA or anti-DNP positivity.

Conclusions: Positivity of ANA and SMA or increased RF and CIC are often found in patients with HBV and HCV treated with IFN, but their presence does not correlate with the development of autoimmune diseases.

Keywords: chronic hepatitis B and C, interferon alpha, autoantibodies

Klin mikrobiol inf lék 2016;22(2):61–67

Adresa: MUDr. Irena Orságová, Klinika infekčního lékařství, Fakultní nemocnice Ostrava, 17. listopadu 1790, 708 52 Ostrava-Poruba, e-mail: irena.orsagova@post.cz

Došlo do redakce: 5. 12. 2015
Přijato k tisku: 10. 3. 2016

Úvod

U mnoha pacientů s chronickou hepatitidou B a C (VHB, VHC) nadále zůstává pegylovaný interferon alfa (PEG IFN) součástí léčebných režimů. Léčba interferonem (IFN) je provázena řadou nežádoucích účinků, k nimž je nutno přihlížet zejména při rychle se rozvíjející dostupnosti léčby bez IFN u pacientů s VHC. U pacientů s chronickými VHB a VHC dochází v průběhu let až desetiletí k destrukci jaterních buněk, což je spojeno s dlouhodobou nabídkou antigenů imunitnímu systému. U predisponovaných osob dochází k tvorbě autoprotilátek, jejichž podíl se zvyšuje s věkem a s přítomností cirhózy, přitom existuje obava, že autoprotilátky mohou vést k rozvoji autoimunitního onemocnění [1–4]. Podle některých autorů má až 65 % pacientů s chronickou VHC a 60 % s chronickou VHB pozitivní alespoň jednu autoprotilátku nebo jedno autoimunitně podmíněné onemocnění [5]. Naopak asi 20–30 % pacientů s autoimunitní hepatitidou (AIH) nemá žádný z těchto znaků, proto může být diagnóza AIH obtížná [6,7]. IFN má imunostimulační účinky, proto při léčbě může dojít k manifestaci nebo ke zhoršení autoimunitní tyreoiditidy, psoriázy, ulcerózní kolitidy, diabetu 1. typu, celiakie, systémového lupusu, trombocytopenické purpury, autoimunitní hemolytické anémie, revmatoidní artritidy a autoimunitní hepatitidy [8].

V práci je uvedeno sledování vybraných imunologických parametrů u pacientů s chronickou VHB a VHC v Ostravě, kteří byli léčeni IFN, včetně klinické manifestace autoimunitních onemocnění, přitom není hodnocen rozvoj autoimunitní tyreoiditidy, který byl uveden v samostatném sdělení [9].

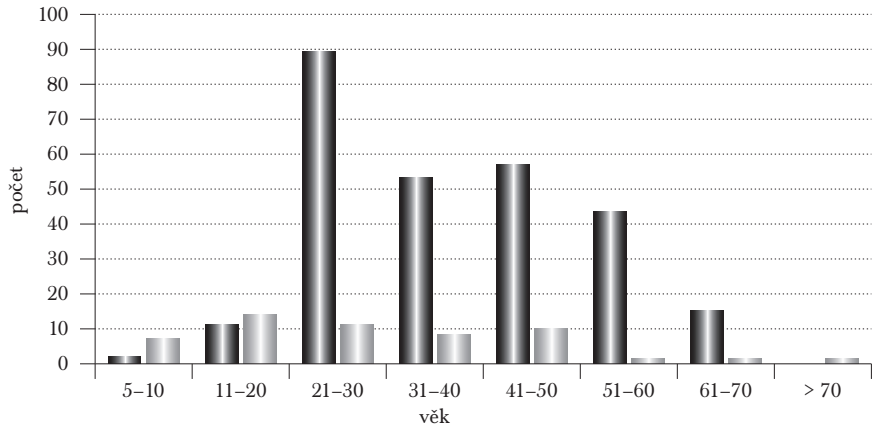
Soubor pacientů a metody

V letech 1992–2014 byla na Klinice infekčního lékařství v Ostravě zahájena léčba konvenčním nebo pegylovaným IFN u 374 pacientů, z nichž 314 pacientů mělo chronickou VHC a 60 pacientů chronickou VHB. Opakovaně bylo IFN léčeno 86 pacientů, přitom dvě léčby mělo 65 pacientů, tři léčby 17 pacientů, čtyři léčby 3 pacienti a pětkrát byl léčen jeden pacient. Při první nebo opakované léčbě byl použit konvenční IFN u 184 pacientů a PEG IFN u 178 pacientů. Věková struktura pacientů je zobrazena na *grafu 1*, u pacientů s opakovanou léčbou je uveden věk při zahájení první léčby.

V retrospektivně hodnoceném souboru, který zahrnoval 324 z 374 pacientů, byly sledovány některé autoprotilátky a parametry humorální imunity a manifestace autoimunitních chorob (50 pacientů nebylo zahrnuto do hodnocení pro nekompletnost údajů). Soubor zahrnoval 194 mužů a 130 žen, přitom 271 pacientů mělo VHC (160 mužů, 111 žen) a 53 pacientů VHB (34 mužů, 19 žen). Jaterní fibrózu nebo cirhózu biopticky potvrzenou mělo 51 pacientů, 160 pacientů cirhózu nemělo, u 113 pacientů nebyla pokročilost jaterní léze určena.

Před léčbou, v jejím průběhu a po ukončení protivirové léčby byly u všech 324 pacientů stanoveny protilátky antinukleární (ANA), antimitochondriální (AMA), proti hladkému svalu (SMA), proti mikrosomům jater a ledviny (anti-LKM-1), proti dvouvláknové DNA (anti-ds-DNA), proti granulocytům (ANCA), revmatoidní faktor (RF). Cirkulující imunokomplexy (CIK) byly stanoveny u 227 pacientů, protilátky proti deoxyribonukleoproteinu (anti-DNP) u 239 pacientů a anti-nukleozómy (nahradily v roce 2006 vyšetření anti-DNP) byly vyšetřeny u 43 pacientů. RF, CIK, anti-DNP a anti-nukleozómy byly hodnoceny jako normální nebo zvýšené, ostatní parametry jako negativní nebo pozitivní. Titry sér pro hodnocení pozitivní reakce byly pro ANA 1 : 100, u AMA, SMA a anti-LKM-1 1 : 40 do roku 2013, poté 1 : 100 [10,11]. U pacientů byl hodnocen výskyt autoimunitních parametrů v závislosti na věku, pohlaví, pokročilosti jaterní léze, délce protivirové léčby a dosažení setrvalé virologické odpovědi (SVR) u VHC (SVR nebylo hodnoceno u VHB pro odlišnou definici). Zastoupení pacientů bylo srovnáváno pomocí oboustranného Fisherova exaktního testu, hodnota $p < 0,05$ byla považována za statisticky významnou. Statisticky významné rozdíly jsou uvedeny v textu nebo jsou obsaženy v jednodušších tabulkách. Dále byla hodnocena klinická manifestace autoimunitních onemocnění v průběhu léčby IFN a její souvislost s výskytem autoimunitních parametrů.

Graf 1
Věková struktura souboru 324 pacientů léčených IFN



Výsledky

Alespoň jeden autoimunitní parametr byl přítomen u 267 z 324 (82 %)

pacientů, jednalo se o 220 z 271 (81 %) pacientů s VHC a 47 z 53 (89 %) pacientů s VHB. V *tabulce 1* je uveden počet pacientů s výskytem abnormálních parametrů kdykoliv v průběhu sledování a následně samostatně v jednotlivých fázích protivirové léčby. V celém souboru 324 pacientů byla alespoň jednou prokázána pozitivita ANA u 140 pacientů, SMA u 100 pacientů, zvýšená hodnota RF u 118 pacientů a CIK u 150 z 227 vyšetřených pacientů. Pozitivita ANA, SMA, RF a CIK se vyskytovala statisticky častěji ($p < 0,01$) ve srovnání s ostatními parametry. Pozitivita ANA byla nejčastěji zjištěna v průběhu léčby, významné rozdíly ($p = 0,03$) byly jen mezi obdobím před léčbou a během léčby. Pozitivita SMA byla nejčastěji zjišťována rovněž v průběhu léčby, rozdíly byly statisticky významné ($p = 0,01$) jen při srovnání období během léčby a po léčbě. Četnost RF byla nejvyšší před léčbou, rozdíly ve srovnání s obdobím během léčby a po ní byly statisticky významné ($p = 0,02$ a $p < 0,01$). Hodnoty CIK byly statisticky vyšší před léčbou ve srovnání s obdobím léčby ($p = 0,02$). Pozitivita anti-DNP po léčbě ve srovnání s obdobím léčby byla významně vyšší ($p = 0,04$). Při srovnávání dalších parametrů nebyly zjištěny v závislosti na období léčby statisticky významné rozdíly.

V souboru 324 pacientů byla ve všech třech vyšetřeních před, během a po léčbě IFN prokázána pozitivita autoprotilátek ANA u 29 (9 %) pacientů, AMA u 3 (1 %) pacientů, SMA u 4 (1 %) pacientů, RF u 18 (6 %) pacientů. ANCA a anti-LKM-1 nebyly trvale prokázány u žádného pacienta. Trvající zvýšená hodnota CIK byla zjištěna u 41 z 227 (18 %) pacientů a anti-DNP u 5 z 239 (2 %) pacientů.

Samostatně byla hodnocena přítomnost kombinací autoprotilátek užívaných k diagnostice autoimunitních hepatitid, výsledky jsou uvedeny v *tabulce 2*. Nejčastěji byla zjištěna současná pozitivita ANA a SMA, a to u 36 z 324 pacientů (11 %), vyskytovala se statisticky častěji ($p < 0,01$) než jiné kombinace autoprotilátek. Nejčastěji se současná pozitivita ANA a SMA prokazovala během léčby, rozdíl byl statisticky významný jen při srovnání s obdobím před léčbou, ale ne po léčbě ($p = 0,03$ a $p = 0,14$). U 5 pacientů byla zjištěna současná pozitivita ANA a AMA, u 1 pacienta ANA a anti-LKM-1 a u 2 pacientů současná pozitivita ANA, AMA a SMA, ale u žádného pacienta nebyla kterákoliv z uvedených kombinací přítomna současně ve všech 3 vyšetřeních.

V následujícím textu a tabulkách je uveden počet pacientů s abnormalitou sledovaných parametrů alespoň v jednom ze

Tabulka 1
Výskyt autoimunitních parametrů během léčby IFN (n = 324)

	Počet pacientů	Před IFN	Během IFN	Po IFN
ANA	140 (43 %)	66 (20 %)	91 (28 %)	75 (23 %)
AMA	13 (4 %)	6 (2 %)	6 (2 %)	7 (2 %)
SMA	100 (31 %)	41 (13 %)	58 (18 %)	35 (11 %)
Anti-LKM-1	1 (0,3 %)	1 (0,3 %)	1 (0,3 %)	0
RF	118 (36 %)	84 (26 %)	58 (18 %)	51 (16 %)
CIK (*227)	150 (66 %)	104 (46 %)	79 (35 %)	100 (44 %)
Anti-DNP (*239)	39 (16 %)	19 (8 %)	13 (5 %)	26 (11 %)
Anti-nukleozómy (*43)	0	0	0	0
Anti-ds-DNA	2 (1 %)	0	0	2 (1 %)
ANCA	11 (3 %)	1 (0 %)	4 (1 %)	7 (2 %)
Alespoň 1 parametr	267 (82 %)	202 (62 %)	189 (58 %)	182 (56 %)

*Odlišný počet vyšetřených pacientů

Tabulka 2
Výskyt kombinací autoprotilátek užívaných k diagnostice AIH (n = 324)

Současná pozitiva	Počet pacientů	Před IFN	Během IFN	Po IFN
ANA + SMA	36 (11,1 %)	8 (2,5 %)	20 (6,2 %)	11 (3,4 %)
ANA + AMA	5	2	1	2
ANA + anti-LKM-1	1	1	1	0
ANA + AMA + SMA	2	1	0	1

tří vyšetření před léčbou, během ní a po protivirové léčbě.

Výskyt sledovaných parametrů v závislosti na typu hepatitidy uvádí *tabulka 3*, pozitivní parametry byly častěji zjištěny u pacientů s VHB, ale statisticky významné rozdíly byly nalezeny jen při hodnocení ANA, CIK a anti-DNP.

V následujícím textu a tabulkách už nejsou vzhledem k malému počtu pozitivních výsledků dále zmiňovány AMA, anti-LKM-1, anti-DNP, anti-nukleozómy, anti-ds-DNA a ANCA.

V *tabulce 4* je uvedena četnost výskytu sledovaných parametrů v závislosti na věku, kdy byla zahájena první léčba IFN. U pacientů starších 40 let byla zjištěna vyšší četnost jednotlivých parametrů, ale pouze u SMA byly rozdíly statisticky významné.

Výskyt sledovaných parametrů v závislosti na pohlaví je uveden v *tabulce 5*. U žen byla zjištěna vyšší četnost jednotlivých parametrů, ale u žádného z nich nebyly prokázány statisticky významné rozdíly (jen u ANA se výsledek blížil statické významnosti).

Podrobnější sledování závislosti výskytu autoimunitních parametrů na pokročilosti jaterního onemocnění je uvedeno v *tabulce 6*, vyšší výskyt abnormalit byl u pacientů s prokázanou cirhózou, ale u žádného z parametrů nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly.

V *tabulce 7* je uvedena pozitivita autoimunitních parametrů v závislosti na délce první léčby IFN. Pozitivní výsledky plynule narůstaly při hodnocení ANA, SMA a RF. Statisticky významné rozdíly byly u ANA při srovnání nejkratší s delšími léčbami ($p < 0,01$ a $p = 0,01$), u SMA a RF při srovnání nejkratší vs. nejdelší a střední vs. nejdelší léčby (pro SMA $p < 0,01$ a $p = 0,01$, pro RF $p = 0,03$ a $p = 0,02$). Zvýšené hodnoty CIK byly nejčastěji prokázány u střední doby léčby v délce 31–50 týdnů, statisticky významný rozdíl byl jen při srovnání nejkratší a střednědobé léčby ($p < 0,01$).

Podíl pacientů s přítomností jednotlivých parametrů v závislosti na dosažení SVR u pacientů s VHC zobrazuje *tabulka 8*. Vyšší byl podíl pacientů s pozitivitou ANA a SMA, kteří SVR nedosáhli, rozdíly byly statisticky významné, naopak u zvýšených RF a CIK byl vyšší podíl pacientů se SVR, ale statisticky významný byl pouze rozdíl u hodnocení CIK.

Při hodnocení menší skupiny 72 pacientů s VHC, kteří měli zvýšené hodnoty RF před léčbou, 45 pacientů dosáhlo SVR a 27 SVR nedosáhlo. Přitom zvýšené hodnoty RF i po léčbě přetrvávaly u 13 pacientů se SVR (29 %) a 13 pacientů bez SVR (48 %), ale rozdíly v přetrvávání zvýšených hodnot RF po léč-bě nedosáhly statistické významnosti ($p = 0,13$).

Tabulka 3
Výskyt autoimunitních parametrů podle typu hepatitidy

	VHC (n = 271)	VHB (n = 53)	Fisherův test
ANA	108 (40 %)	32 (60 %)	p = 0,01
AMA	11 (4 %)	2 (4 %)	p = 1,00
SMA	79 (29 %)	21 (40 %)	p = 0,15
Anti-LKM-1	1 (0,4 %)	0	p = 1,00
RF	99 (37 %)	19 (36 %)	p = 1,00
CIK (*227)	115/*187 (61 %)	35/*40 (88 %)	p < 0,01
Anti-DNP (*239)	26/*200 (13 %)	13/*39 (33 %)	p = 0,02
Anti-ds-DNA	2 (1 %)	0	p = 1,00
ANCA	9 (3 %)	2 (4 %)	p = 0,70
Alespoň 1 parametr	220 (81 %)	47 (89 %)	p = 0,24

*Odlišný počet vyšetřených pacientů

Tabulka 4
Výskyt autoimunitních parametrů v závislosti na věku (n = 324)

	Do 40 let (n = 196)	Nad 40 let (n = 128)	Fisherův test
ANA	82 (42 %)	58 (45 %)	p = 0,57
SMA	50 (26 %)	50 (39 %)	p = 0,01
RF	67 (34 %)	51 (40 %)	p = 0,35
CIK (*227)	87/*136 (64 %)	63/*91 (69 %)	p = 0,48
Alespoň 1 parametr	159 (81 %)	108 (84 %)	p = 0,55

*Odlišný počet vyšetřených pacientů

Pacienti s rozvojem autoimunitního onemocnění

K rozvoji autoimunitního onemocnění v průběhu protivirové léčby IFN došlo u 4 z 324 (1,2 %) pacientů, všichni měli chronickou VHC.

Muž ve věku 40 let byl infikován genotypem 1b, pokročilost jaterní léze nebyla biopticky ověřena, pacient neměl další chronické choroby. Před protivirovou léčbou u něj nebyl prokázán žádný ze sledovaných autoimunitních parametrů. Za 5 měsíců po zahájení kombinované léčby PEG IFN s ribavirinem se objevil inzulindependentní diabetes mellitus, pacient po léčbě trvající 48 týdnů dosáhl SVR. Přechodně během léčby byla u něj prokázána pozitivita ANA, která vymizela po ukončení léčby.

Myopatie dolních končetin se rozvinula u ženy ve věku 33 let, která měla genotyp 3a a anamnézu intravenózní aplikace drog a tetanie. Pacientka byla

léčena PEG IFN s ribavirinem 24 týdnů a dosáhla SVR. Do měsíce po zahájení protivirové léčby se objevila slabost dolních končetin, která byla neurologem hodnocena jako sekundární myopatie v souvislosti s protivirovou léčbou. Pacientka léčbu hůře psychicky tolerovala, přechodně se u ní zhoršila tetanie, a proto užívala neuroleptika a antidepresiva. Půl roku po léčbě myopatie klinicky odezněla. U pacientky nebyl zjištěn před léčbou, během ní ani po léčbě žádný ze sledovaných autoimunitních parametrů.

Pacientka s anamnézou ekzému a astma bronchiale byla infikována genotypem 1 (subtyp neurčen), v biopsii jaterní v 36 letech (rok 1990) byla popsána chronická aktivní hepatitida. Před protivirovou léčbou měla pozitivitu ANA a zvýšenou hodnotu anti-DNP, ale v té době revmatologické vyšetření neprokázalo žádnou autoimunitní chorobu. Pacientka byla léčena ve 41 letech konvenčním IFN v monoterapii, ale po 48 týdnech nedosáhla SVR. Pozitivita ANA a zvýšená hodnota anti-DNP přetrvávala během léčby i po léčbě. V průběhu protivirové léčby se zhoršil ekzém a astmatické obtíže, navíc se objevily bolesti svalů, které neodezněly ani po ukončení léčby. Laboratorně byla zjištěna vyšší hodnota myoglobinu a kreatinkinázy, což bylo neurologem a revmatogem hodnoceno jako myositida, zpočátku byla léčena symptomaticky. Stav se postupně zhoršoval, za 3 roky byl již hodnocen jako systémové onemocnění pojiva, přidružila se revmatoidní artritida, byla zahájena imunosupresivní léčba, přitom se zvažovala i autoimunitní hepatitida. V roce 2015 měla pacientka v elastografii jater jen mírné změny (F0-F1), proto nebyla urychleně indikována protivirová léčba bez interferonu, ale v lednu 2016 pacientka zemřela na pneumonii.

Autoimunitní hepatitida se objevila u pacientky ve věku 36 let s VHC s genotypem 1b. V biopsii jaterní před první neúspěšnou léčbou konvenčním IFN v délce 48 týdnů nebyla prokázána jaterní cirhóza ani žádný ze sledovaných autoimunitních parametrů. Po roce měla druhou léčbu konvenčním IFN s ribavirinem po dobu 48 týdnů, znovu nedosáhla SVR. Během první léčby měla přechodnou pozitivitu ANA a po obou léčbách přechodnou pozitivitu SMA. Za pět let, před třetí protivirovou léčbou, měla současnou pozitivitu obou protilátek ANA a SMA. Krátce po zahájení léčby PEG IFN s ribavirinem došlo nečekaně k rozvoji ikteru, ascitu a hyperglykémie. Stav byl hodnocen jako recentní diabetes mellitus a dekompenzace jaterní cirhózy při VHC v kombinaci s AIH. Za dalších 14 let byla pacientka úspěšně léčena sofosbuvirem a daclatasvirem v transplantačním centru v Brně s následnou transplantací jater.

Tabulka 5
Výskyt autoimunitních parametrů v závislosti na pohlaví (n = 324)

	Muži (n = 194)	Ženy (n = 130)	Fisherův test
ANA	75 (39 %)	65 (50 %)	p = 0,052
SMA	59 (30 %)	41 (32 %)	p = 0,90
RF	67 (35 %)	51 (39 %)	p = 0,41
CIK (*227)	56/*145 (39 %)	35/*82 (43 %)	p = 0,58
Alespoň 1 parametr	160 (82 %)	107 (82 %)	p = 1,00

*Odlišný počet vyšetřených pacientů

Tabulka 6
Výskyt autoimunitních parametrů v závislosti na pokročilosti jaterní léze

	Cirhóza (n = 51)	Bez cirhózy (n = 160)	Fisherův test
ANA	27 (53 %)	64 (40 %)	p = 0,11
SMA	23 (45 %)	50 (31 %)	p = 0,13
RF	23 (45 %)	60 (38 %)	p = 0,52
CIK (*227)	29/*41 (71 %)	85/*129 (66 %)	p = 0,70
Alespoň 1 parametr	46 (90 %)	137 (86 %)	p = 0,48

*Odlišný počet vyšetřených pacientů

Diskuze

Chronická VHB a VHC indukuje produkci autoprotilátek, jejichž podíl se zvyšuje s věkem pacientů a přítomností jaterní cirhózy [2]. Wu prokázal některou z autoprotilátek ANA, AMA, SMA nebo anti-LKM u 29 % pacientů s VHC a 4 % pacientů s VHB, častější výskyt byl u pacientů starších 40 let oproti mladším (23 % vs. 6 %), u pacientů s cirhózou než bez ní (80 % vs. 47 %), ale nezjistil rozdíly v závislosti na pohlaví [2]. V našem souboru byl hodnocen širší soubor parametrů zahrnující např. i RF a CIK, což vysvětluje vyšší výskyt pozitivních výsledků. Alespoň jeden autoimunitní parametr byl u 267 z 324 našich pacientů (82 %), shodně u mužů i žen, bez rozdílů u pacientů s cirhózou či bez ní, ale naopak s mírně vyšším (statisticky nevýznamným) zastoupením u pacientů s VHB ve srovnání s VHC (89 % vs. 81 %). Pro přesnější srovnání je proto nezbytné hodnotit jednotlivé parametry.

Narcisco-Schiavonová uvádí, že ANA se vyskytují u VHC v širokém rozmezí s prevalencí 4–54 % [4]. Wu ve svém souboru uvádí pozitivitu ANA u 11 z 69 pacientů (16 %) s VHC [2]. V našem souboru byla zjištěna pozitivita ANA u 43 % pacientů, pozitivita byla statisticky významně častější u pacientů s VHB než VHC a u pacientů s VHC, kteří nedosáhli SVR. S narůstající délkou léčby jsme prokázali

Tabulka 7
Výskyt autoimunitních parametrů v závislosti na délce první léčby (n = 324)

	Do 30 týdnů (n = 73)	31–50 týdnů (n = 139)	Nad 50 týdnů (n = 112)
ANA	19 (26 %)	64 (46 %)	57 (51 %)
SMA	14 (19 %)	38 (27 %)	48 (43 %)
RF	22 (30 %)	44 (32 %)	52 (46 %)
CIK (*227)	30/*63 (48 %)	62/*87 (71 %)	58/*97 (60%)
Alespoň 1 parametr	54 (74 %)	116 (83 %)	97 (87 %)

*Odlišný počet vyšetřených pacientů

Tabulka 8
Výskyt autoimunitních parametrů v závislosti na SVR u pacientů s VHC (n = 271)

	SVR ano (n = 152)	SVR ne (n = 119)	Fisherův test
ANA	51 (34 %)	57 (48 %)	p = 0,02
SMA	31 (20 %)	48 (40 %)	p < 0,01
RF	60 (39 %)	39 (33 %)	p = 0,31
CIK (*227)	68/*98 (69 %)	48/*89 (54 %)	p = 0,04

*Odlišný počet vyšetřených pacientů

častější výskyt ANA, což vypovídá o imunostimulačním účinku IFN při probíhající léčbě. Uvedený předpoklad podporuje nižší četnost pozitivity ANA po ukončení léčby IFN ve srovnání s obdobím léčby (28 % vs. 23 %), ale rozdíl nebyl statisticky významný.

Prevalenci SMA uvádí Narcisco-Schiavonová u VHC v rozmezí 4–78 % [4]. V našem souboru byla pozitivita SMA prokázána nejméně v jednom vyšetření u 31 % pacientů, statisticky významně častější byla pozitivita u pacientů starších 40 let, pacientů s VHC, kteří nedosáhli SVR, a pacientů s delší protivirovou léčbou, což jako u ANA vysvětlujeme imunostimulačním vlivem IFN.

Czaja srovnával 265 pacientů s AIH s 342 pacienty s jinými chronickými chorobami jater a zjistil, že se kombinace ANA a SMA se vyskytuje statisticky častěji u AIH (51 % vs. 8 %) [12]. V našem souboru se vyskytla kombinace ANA a SMA u 11 % pacientů, přitom AIH se rozvinula pouze u jediné pacientky, která měla během prvních dvou léčeb pouze izolované pozitivity ANA a SMA, až před třetí protivirovou léčbou se vyskytly uvedené protilátky současně. U dalších 35 našich pacientů současný výskyt ANA a SMA nebyl svázán s rozvojem autoimunitního onemocnění. Kombinace ANA a SMA byla nejčastěji prokazována v průběhu protivirové léčby, ve srovnání s obdobím před léčbou byl rozdíl staticky významný.

Narcisco-Schiavonová uvádí prevalenci anti-LKM-1 u VHC v rozmezí 0–13 %, Wu zjistil pozitivitu AMA u jediného z 69 pacientů s VHC [2,4]. Také v našem souboru se uvedené parametry vyskytly ojediněle, a to anti-LKM-1 pouze u jediného pacienta s VHC a AMA u 13 pacientů (4 %), z nichž 11 mělo VHC.

Riccio uvádí zvýšení RF u 30–80 % pacientů s chronickou VHC, ve svém vlastním souboru 66 pacientů s VHC zjistil, že zvýšené hodnoty RF přetrvávají častěji u pacientů, kteří nedosáhli SVR oproti pacientům se SVR (53 % vs. 18 %) a usuzuje na inhibiční vliv protivirové léčby s IFN na imunitní odpověď [13]. Rovněž v podskupině našich 72 pacientů s VHC, kteří měli před léčbou zvýšení RF, jsme zjistili častější přetrvávání vyšší hodnoty RF po léčbě u pacientů, kteří nedosáhli SVR oproti pacientům se SVR (48 % vs. 29 %), ale na rozdíl souboru Riccia nebyl u našich pacientů rozdíl statisticky významný. Normalizace RF může nepřímo svědčit o poklesu zánětlivé aktivity po úspěšné protivirové léčbě.

V literatuře prakticky nejsou zmínky o sledování CIK u pacientů s VHB a VHC s léčbou IFN. V našem souboru pacientů se zvýšené hodnoty CIK vyskytovaly u 66 % pacientů, statisticky častěji u pacientů s VHB ve srovnání s VHC (88 % vs. 61 %). Zvýšené hodnoty CIK se významně častěji prokazovaly před léčbou ve srovnání s obdobím během léčby a u pacientů s VHC, kteří dosáhli SVR.

Anti-ds-DNA, které jsou specifické pro systémový lupus, a ANCA, které jsou prokazovány u Wegenerovy granulomatózy, vaskulitid a nespecifických střevních zánětů, se vyskytují u chronických VHB a VHC zřídka, např. Acay prokázal anti-ds-DNA a ANCA pouze u jediného z 67 pacientů s VHB, ale u žádného ze 77 pacientů s VHC [14]. V našem souboru se obdobně oba parametry vyskytly také ojediněle, a to ANCA u 11 pacientů (9 s VHC, 2 s VHB) a anti-ds-DNA u 2 pacientů s VHC.

Protilátky anti-DNP se dříve užívaly k monitorování aktivity systémového lupusu. Literatura se příliš nevěnuje jejich výskytu u chronických VHC a VHB. Wada popsal pozitivitu anti-DNP u 3 z 57 pacientů s VHC (5 %) [15]. V našem souboru se vyskytly u 16 % pacientů (13 % s VHC), statisticky častěji u pacientů s VHB ve srovnání s VHC. Naopak anti-nukleozómy, které tento parametr nahradily, nebyly pozitivní u žádného ze 43 pacientů. Laboratorní metoda stanovení anti-nukleozómů je podle Cebecauera specifičtější, neboť potlačuje větší heterogenitu protilátek anti-DNP [16,17]. To vysvětluje diskrepanci mezi relativně častou pozitivitou anti-DNP do roku 2006 a negativitou anti-nukleozómů v následujícím období v našem souboru.

Rozvoj autoimunitního onemocnění v našem souboru byl vzácný a vůbec nekoreloval s častou přítomností abnormál-

ních parametrů imunity, které byly prokázány u 82 % pacientů. Pouze u pacientky s rozvojem myositidy byla zjištěna pozitivita ANA a zvýšení anti-DNP již před protivirovou léčbou. U pacientky s AIH se uvedené onemocnění manifestovalo až během třetí protivirové léčby, před níž měla současně pozitivitu SMA a ANA, přitom před první léčbou neměla žádné autoprotilátky a během prvních 2 léčeb s IFN měla jen přechodnou pozitivitu ANA a SMA. Je pozoruhodné, že u dalších 2 pacientů s rozvojem myopatie a diabetu nebyly sledované parametry před protivirovou léčbou prokázány, pacientka s myopatií je neměla ani během léčby nebo po léčbě.

Při výskytu autoimunitních fenoménů u pacientů s chronickými VHB a VHC je nutno zvažovat AIH, u které je použití IFN kontraindikováno [4,5]. Už v 90. letech jsme prokazovali autoprotilátky u mnoha našich pacientů, u nichž jsme s opatrností zahajovali léčbu IFN, přitom typický pokles aminotransferáz po zahájení protivirové léčby prakticky vylučoval přítomnost AIH s výjimkou jediné pacientky uvedené výše.

Přítomnost abnormálních parametrů imunity a jejich kolísání v průběhu léčby IFN ukazuje, že nejsou spolehlivým prognostickým faktorem rozvoje autoimunitních onemocnění [1,2,6]. Přesto IFN může zhoršovat průběh autoimunitních onemocnění [4]. U našich pacientů např. došlo k rozvoji poruch štítné žlázy, ke zhoršení psoriázy, revmatických kloubních obtíží nebo dekompenzaci ulcerózní kolitidy. Jedná se o nežádoucí účinky spojené s léčbou IFN, s nimiž je nutno počítat a zohlednit je při volbě protivirové léčby zejména v současnosti v nastupující éře bezinterferonových režimů.

Závěr

V našem souboru pacientů s VHB a VHC jsme prokázali pozitivní autoprotilátky a zvýšené parametry humorální imunity u 82 % pacientů, nejčastěji se jednalo o pozitivitu autoprotilátek ANA a SMA a zvýšení RF a CIK, přitom častá pozitivita uvedených parametrů nekorelovala s rozvojem autoimunitních onemocnění. V průběhu protivirové léčby IFN došlo u 4 z 324 pacientů k rozvoji autoimunitního onemocnění, a to AIH, myositidy, myopatie a diabetu, přitom autoprotilátky byly zjištěny pouze u 3 z nich.

Literatura

1. Fried MW, Draguesku JO, Shindo M, et al. Clinical and serological differentiation of autoimmune and hepatitis C virus-related chronic hepatitis. *Dig Dis Sci.* 1993;38:631–636.
2. Wu CH, Xu XY, Tian GS, et al. Serum autoantibodies of patients with chronic hepatitis C and the significance thereof in infection of hepatitis C virus. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2006;86(6):390–393.
3. Stroffolini T, Colloredo G, Gaeta GB, et al. Does an 'autoimmune' profile affect the clinical profile of chronic hepatitis C? An Italian multicentre survey. *J Viral Hepat.* 2004;11(3):257–262.
4. Narcisco-Schiavon JL, de Lucca Schiavon L. Autoantibodies in chronic hepatitis C: A clinical perspective. *World J Hepatol.* 2015;7(8):1074–1085.
5. Husa P. Terapie chronických virových hepatitid. In: Husa P. Virové hepatitidy. Praha: Galén;2005. s. 92.
6. Czaja AJ. Autoantibody-negative autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci.* 2012; 57(3):610–624.
7. Obermayer-Straub P, Strassburg CP, Manns MP. Autoimmune hepatitis. *J Hepatol.* 2000;32(Suppl 1):181–197.
8. Bartůňková J. Autoimunitní onemocnění. *Forum medicinae.* 2001;3(5–6):117–123.
9. Orságová I, Rožnovský L, Petroušová L, et al. Dysfunkce štítné žlázy při léčbě chronické hepatitidy B a C interferonem alfa – dvacetileté zkušenosti. *Klin mikrobiol inf lék.* 2014;20(3):92–97.
10. Schur PH. A review of state-of-the-art testing for SLE and connective tissue disease. *Reumatologies.* 2009;3(2):16–18.
11. Tozzoli R, et al. Guidelines for the Laboratory Use of Autoantibodies Test in the Diagnosis and Monitoring of Auroimmune Rheumatic Diseases. *Am J Clin Pathol.* 2002;117:316–324.
12. Czaja AJ. Performance parameters of the conventional serological markers for autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci.* 2011;56(2):545–554.
13. Riccio A, Conca P, Marzocchella C, et al. Rheumatoid factor after antiviral therapy in patients with HCV chronic hepatitis. *Clin Exp Rheumatol.* 2008;26(5): 926–928.
14. Acay A, Demir K, Asik G, et al. Assessment of the Frequency of Autoantibodies in Chronic Viral Hepatitis. *Pak J Med Sci.* 2015;31(1):150–154.
15. Wada M, Kang KB, Kinugasa A, et al. Does the presence of serum autoantibodies influence the responsiveness to interferon-alpha 2a treatment in chronic hepatitis C? *Intern Med.* 1997;36(4):248–254.
16. Hrdá P, Šterzl I. Vyšetření autoprotilátek – současné možnosti. Interní medicína pro praxi. 2003;5(8):410–413.
17. Cebecauer L, Lukáč J, Rovenský J. Antibodies against deoxyribonucleoprotein (anti-DNP) or against nucleosomes: Clinical and pathogenic significance. *Int J Immunotherapy.* 2002;18(3):105–113.

Vzteklina netopýrů

K. BERANOVÁ[1], D. ZENDULKOVÁ[2]

[1]*Ústřední veterinární správa Státní veterinární správy, Sekce veterinární, Odbor ochrany zdraví a pohody zvířat, Oddělení ochrany zdraví zvířat, Praha*
[2]*Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno, Fakulta veterinárního lékařství, Ústav infekčních chorob a mikrobiologie, Brno*

SOUHRN

Beranová K., Zendulková D.: **Vzteklina netopýrů**

Vzteklina je závažná zoonóza, která v případě klinického onemocnění končí smrtelně pro všechny savce, včetně člověka. Pro netopýry však infekce není zpravidla smrtelná. Vzteklinu vyvolávají lyssaviry, které se dělí do několika vzájemně odlišných fylogenetických skupin, zahrnujících 15 známých virů. Má se za to, že původním hostitelem všech lyssavirů jsou netopýři.

Na americkém kontinentě se u netopýrů vyskytuje klasický virus vztekliny (RABV), který zde představuje hlavní příčinu vztekliny u lidí a domácích zvířat. V Euroasii je nejčastěji diagnostikován European bat lyssavirus type 1 (EBLV-1) a European bat lyssavirus type 2 (EBLV-2). Přenos EBLV-1 a EBLV-2 z netopýrů na jiné druhy savců je vzácný. Doposud chybí podrobnější informace o ostatních euroasijských lyssavirech: West Caucasian bat virus (WCBV), Bokeloh bat lyssavirus (BBLV), Aravan virus (ARAV), Irkut virus (IRKV), Khujand virus (KHUV) a Lleida virus. Nejčastěji zjišťovaným lyssavirem na africkém území je Lagos bat virus (LBV). V Austrálii byl až doposud prokázán jen Australian bat lyssavirus (ABLV). V České republice bylo od r. 1994 do r. 2015 potvrzeno celkem pět případů vztekliny u netopýrů.

K přenosu infekce dochází různými cestami, především však kousnutím či škrábnutím. Klinicky nemocní netopýři trpí dezorientací, třesem, paralýzou končetin, neschopností letu či vydávají abnormální zvuky. V případě podezření na vzteklinu je nutné provést laboratorní vyšetření.

Ochrana zdraví člověka spočívá v preexpoziční či postexpoziční vakcinaci. Dostupné vakcíny ale nechrání proti některým nově identifikovaným lyssavirům, jako je např. WCBV.

Přesto však většina netopýřích druhů představuje pro lidskou populaci jen minimální riziko.

Klíčová slova: lyssaviry, vzteklina, netopýři, zeměpisný výskyt, přenos, šíření, ochrana

SUMMARY

Beranová K., Zendulková D.: **Rabies in bats**

Rabies is a zoonosis ending fatally in all mammals, including humans. Unlike the other mammals, this disease is usually not fatal in bats. Rabies is caused by lyssaviruses which are divided into several distinct phylogroups comprising 15 known viruses. It is believed that the original hosts of all lyssaviruses are bats.

Classical rabies virus (RABV) occurs in bats across Americas and represents the major cause of rabies in humans and domestic animals there. European bat lyssavirus type 1 (EBLV-1) and European bat lyssavirus type 2 (EBLV-2) are the most frequently diagnosed lyssaviruses in Eurasia. The transmission of EBLV-1 and EBLV-2 from bats to other mammals is very rare. As of now, more detailed information is missing about the other Eurasian lyssaviruses – West Caucasian bat virus (WCBV), Bokeloh bat lyssavirus (BBLV), Aravan virus (ARAV), Irkut virus (IRKV), Khujand virus (KHUV) and Lleida virus. The lyssavirus most frequently found in Africa is Lagos bat virus (LBV). In Australia, only Australian bat lyssavirus (ABLV) has been demonstrated as yet. In the Czech Republic, a total of five cases of rabies in bats were confirmed between 1994 and 2015.

Rabies can be transmitted from bats mainly by biting or scratching. Clinically ill bats suffer from nervous disorders or produce abnormal sounds. If rabies is suspected, laboratory tests are essential.

Protection of human health is based on pre-exposure and/or post-exposure vaccination. However, the available vaccines do not protect against some newly identified lyssaviruses such as WCBV.

Nevertheless, most bat species pose a minimal risk to humans.

Keywords: lyssaviruses, rabies, bats, geographical occurrence, transmission, spread, protection

Klin mikrobiol inf lék 2016;22(2):68–74

Adresa: MVDr. Kateřina Beranová, Odbor ochrany zdraví a pohody zvířat, Ústřední veterinární správa Státní veterinární správy, Slezská 100/7, 120 56 Praha 2, e-mail: k.beranova@svscr.cz

Došlo do redakce: 27. 4. 2016
Přijato k tisku: 2. 5. 2016

Úvod

Vzteklina, latinsky *rabies*, je významná zoonóza, která v případě, že se rozvinou klinické příznaky onemocnění, má vždy smrtelné následky pro všechny savce, včetně člověka. Vyvolávají ji různé druhy lyssavirů z čeledi *Rhabdoviridae*, řádu Mononegavirales. Patří k nejstarším a nejobávanějším virům v historii lidstva [1,2]. Její spojitost s netopýry je opředena mýty, legendami a bohatou lidskou představivostí. Právě virus vztekliny je důvodem, proč netopýři vzbuzují v lidech takový strach. Většina netopýřích lyssavirů však znamená pro lidskou populaci jen minimální zdravotní riziko, snad jen u hematofágních druhů může být strach z nakažení vzteklinou více oprávněný [3,4].

Lyssaviry se dělí do několika vzájemně odlišných fylogenetických skupin (*tabulka 1*), které v současné době zahrnují celkem 15 virů. Předpokládá se, že původním hostitelem všech lyssavirů jsou netopýři [5]. Do fylogenetické skupiny I patří klasický virus vztekliny (RABV) a většina netopýřích lyssavirů. Fylogenetickou skupinu II tvoří Lagos bat virus (LBV) a Shimoni bat virus (SHBV) [6]. Za zástupce zřejmě nových, prozatím nedefinovaných fylogenetických skupin (III a IV) jsou považovány West Caucasian bat virus (WCBW), Ikoma lyssavirus (IKOV) a Lleida bat lyssavirus (LLEBV) [7–9] (viz *obr. 1*).

Vzteklina u netopýrů ve světě

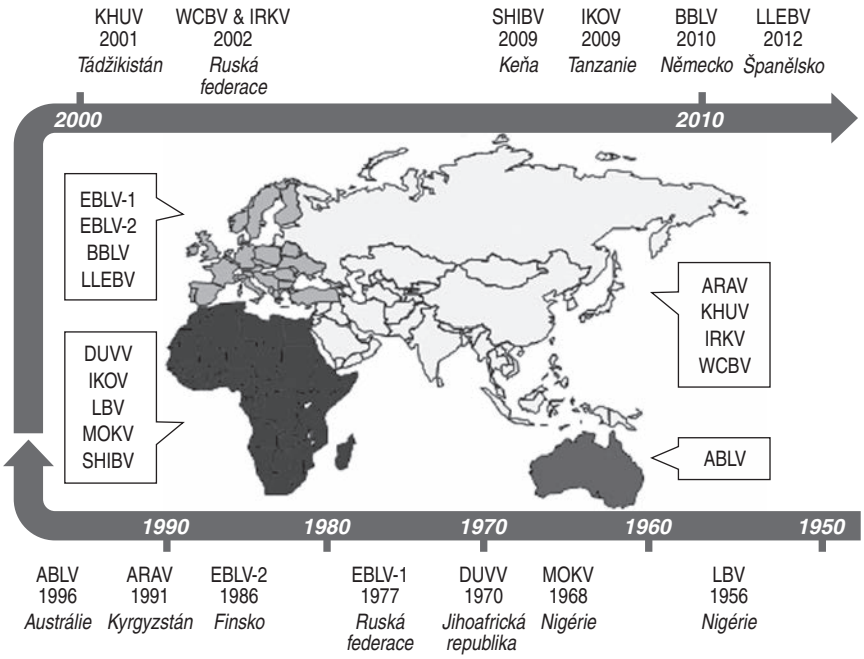
Klasický virus vztekliny se vyskytuje u netopýrů v Severní, Střední a Jižní Americe [10] a byl poprvé zmíněn v souvislosti s hematofágními netopýry, po zjištění vztekliny u skotu v Jižní Americe v roce 1911 [11]. Nejčastěji je prokazován u hematofágního netopýra druhu *Desmodus rotundus* [12]. Tento druh netopýra je široce rozšířen v Mexiku, Střední a Jižní Americe, kde je považován za hlavní příčinu vztekliny u lidí a domácích zvířat [13].

V Kanadě a USA bylo v letech 1951–2006 diagnostikováno 51 případů vztekliny u člověka způsobené non-hematofágními druhy netopýrů – netopýrem stříbřitým (*Lasionycteris noctivagan*), netopýrem žlutavým (*Perimyotis subflavus*) a tadaridou guánovou (*Tadarida brasiliensis*) [10]. Z výsledků seroprevalenčních studií zaměřených na lyssaviry, včetně RABV, u různých druhů netopýrů v zemích obou amerických kontinentů, vyplynulo, že pro mnoho netopýrů infekce lyssaviry není smrtelná, na rozdíl od jiných savčích druhů [10].

Na euroasijském kontinentě bylo až dosud z netopýrů izolováno sedm druhů lyssavirů (*tabulka 1, obr. 1*). V letech 1977 až 2013 bylo z 16 evropských zemích nahlášeno (nejčastěji Nizozemsko, Německo, Dánsko, Polsko, Francie a Španělsko) 1 064 případů vztekliny u 11 druhů netopýrů [14]. Většinou se jednalo o European bat lyssavirus type 1 (EBLV-1). Převážná část izolátů European bat lyssavirus type 2 (EBLV-2) pocházela z Velké Británie a Nizozemska, EBLV-2 byl ale prokázán i v Německu, Finsku, a Švýcarsku. Pouze jediný izolát, zjištěný v Německu, patřil k Bokeloh bat lyssaviru (BBLV) [15]. EBLV-1 a EBLV-2 patří k nejlépe poznaným a nejvíce studovaným lyssavirům. U člověka byly po infekci EBLV-1 popsány tři smrtelné případy a po EBLV-2 dva. Riziko infekce pro člověka je však velmi malé [16,4]. Přenos EBLV-1 a EBLV-2 z netopýrů na jiné druhy savců byl také pozorován, ale jen vzácně. EBLV-1 byl izolován výlučně z netopýra večerního (*Eptesicus serotinus*) a z netopýra tripolitánského (*Eptesicus isabellinus*), zatímco EBLV-2 z netopýra vodního (*Myotis daubentonii*) a z netopýta pobřežního (*Myotis dasycneme*) [15]. Na základě studií, zaměřených na průkaz protilátek proti uvedeným lyssavirům v populaci zdravých netopýrů, se i v tomto případě předpokládá, že velké procento infikovaných netopýrů infekci přežívá [17].

Doposud však chybí více informací o ostatních euroasijských lyssavirech, a to především proto, že každý z nich byl izolován pouze jedinkrát – West Caucasian bat virus (WCBV), který byl poprvé izolován Botvinkinem a kol. v roce 2003 [18], dále Bokeloh bat lyssavirus (BBLV), jehož izolace se zdařila v roce 2011 Freulingovi a kol. [19], Aravan virus (ARAV) izolovaný Kuzminem a kol. v roce 1991 [20], Irkut virus (IRKV) [18] a Khujand virus (KHUV), prvně izolovaný v roce 2001 Kuzminem a kol. [21] Lleida virus (LLEBV) se zatím nepodařilo izolovat a byl charakterizován pouze na základě neúplných sekvenačních údajů [9] (viz *tabulka 1*).

Obr. 1
Časový horizont průkazu jednotlivých lyssavirů a jejich zeměpisné rozšíření.
Zkratky lyssavirů jsou vysvětleny v *tabulce 1*



Upraveno dle Banyard AC, et al. *Viruses.* 2014;6:2974–2990.

Z uvedených virů byl pouze IRKV prokázán i u jiných savčích druhů, konkrétně u člověka po pokousání infikovaným netopýrem [22].

Zřejmě nejširší potenciál z hlediska zeměpisného rozšíření má WCBV. V Rusku byl izolován z létavce stěhovavého (*Miniopterus schreibersii*), zkříženě reagující protilátky byly ale také zjištěny u netopýrů z rodu *Miniopterus* v Keni [23]. Z uvedených údajů je zřejmé, že poměrně široké zeměpisné rozšíření těchto druhů netopýrů a jejich migrační způsob života umožňují snadný transkontinentální přenos zmíněného lyssaviru.

Jiní autoři s odkazem na sérologické studie však uvádějí, že v Keni se vyskytuje spíše IKOV, blízce antigenně příbuzný viru WCBV, případně jiný příbuzný lyssavirus. Tuto hypotézu podporuje i jeho nedávná izolace v této oblasti [8,24].

Specifické protilátky proti ARAV a KHUV byly detekovány u kaloně indického (*Pteropus giganteus*) v Bangladéši [25], dále proti ARAV, KHUV, IRKV nebo Australian bat lyssavirus u kaloně zlatotýlého (*Pteropus lylei*) a u kaloně jeskynního (*Eonycteris spelaea*) v Thajsku [26]. Avšak vzhledem k pouze omezenému počtu studií lyssavirů v dané oblasti a pozitivním sérologickým výsledkům vůči různým lyssavirům u týchž testovaných jedinců nelze vyloučit, že se jedná o zkřížené reakce dosud nepopsaných lyssavirů [27].

Na africkém kontinentě bylo až dosud identifikováno celkem pět druhů lyssavirů, avšak z netopýrů byly izolovány pouze tři z nich (*tabulka 1, obr. 1*). Virus Duvenhage (DUVV) byl poprvé izolován Meredith et al. v roce 1971 [28]. Představuje jediného zástupce fylogenetické skupiny 1 v Africe. DUVV vykazuje mnohem vyšší příbuznost s RABV, ABLV a s většinou evropských druhů lyssavirů než ostatními známými africkými lyssaviry. Virus Duvenhage byl poprvé izolován z člověka v roce 1970; v roce 2006 pak následoval ještě další smrtelný případ v Jižní Africe [29] a v roce 2007 v Nizozemí, k infekci tohoto člověka došlo během jeho pobytu v Keni [30]. Z netopýrů se DUVV podařilo izolovat pouze dvakrát – z létavce stěhovavého (*M. schreibersii*) v jižní Africe a z nycteris egyptské (*Nycteris thebaica*) v Zimbabwe [27].

Tabulka 1
Lyssaviry nejčasteji detekované u jednotlivých druhů netopýrů

Zeměpisné rozšíření	Druh lyssaviru	Druh netopýra nejčastěji infikovaného lyssaviry	Český název	Fatální případy přenosu z netopýra na člověka
Amerika	Rabies virus (RABV)	*Eptesicus fuscus*	netopýr hnědý	Ano
		Tadarida brasiliensis	tadarida guánová	Ano
		Lasionycteris noctivagans	netopýr stříbřitý	Ano
		Perimyotis subflavus	netopýr žlutavý	Ano
		Desmodus rotundus	upír obecný	Ano
Afrika	Lagos Bat Virus (LBV)	*Eidolon helvum*	kaloň plavý	Ne
		Rousettus aegyptiacus	kaloň egyptský	Ne
		Epomophorus wahlbergi	kaloň Wahlbergův	Ne
	Shimoni Bat Virus (SHIBV)	*Hipposideros commersoni*	pavrápenec Commersonův	Ne
	Duvenhage virus (DUVV)	*Miniopterus* sp.	létavec	Ano
		Nycteris thebaica	nykteris egyptská	Ano
Eurasie	European Bat Lyssavirus type 1 (EBLV-1)	*Eptesicus serotinus*	netopýr večerní	Ano
	European Bat Lyssavirus type 2 (EBLV-2)	*Myotis daubentonii*	netopýr vodní	Ano
	Bokeloh Bat Lyssavirus (BBLV)	*Myotis nattereri*	netopýr řasnatý	Ne
	Aravan virus (ARAV)	*Myotis blythii*	netopýr východní	Ne
	Irkut virus (IRKV)	*Murina leucogaster*	murina větší	Ano
	Khujand virus (KHUV)	*Myotis mystacinus*	netopýr vousatý	Ne
	Best Caucasian Bat Virus (WCBV)	*Miniopterus schreibersii*	létavec stěhovavý	Ne
	Lleida Bat Lyssavirus (LLEBV)	*Miniopterus schreibersii*	létavec stěhovavý	Ne
Austrálie	Australian Bat Lyssavirus (ABLV)	*Pteropus alecto*	kaloň vábivý	Ano
		Saccolaimus flaviventris	hrobkovec žlutobřichý	Ano

Upraveno podle Banyard AC, et al. *Viruses.* 2014;6:2974–2990.

Tabulka 2
Přehled počtu laboratorně vyšetřených volně žijících zvířat na vzteklinu v průběhu let 2013–2015

Druh volně žijícího zvířete	2013		2014		2015	
	Počet lab. vyšetřených zvířat	Výsledek lab. vyšetření	Počet lab. vyšetřených zvířat	Výsledek lab. vyšetření	Počet lab. vyšetřených zvířat	Výsledek lab. vyšetření
liška obecná (*Vulpes vulpes*)	3 088	neg.	3 044	neg.	2 245	neg.
psík mývalovitý (*Nyctereutes procyonoides*)	1	neg.	3	neg.	24	neg.
jezevec lesní (*Meles meles*)	5	neg.	4	neg.	8	neg.
kuna sp. (*Martes* sp.)	3	neg.	14	neg.	16	neg.
prase divoké (*Sus scrofa*)	5	neg.	9	neg.	6	neg.
srnec obecný (*Capreolus capreolus*)	11	neg.	5	neg.	8	neg.
hraboš polní (*Microtus arvalis*)	0	neg.	1	neg.	1	neg.
krtek obecný (*Talpa europaea*)	1	neg.	0	neg.	1	neg.
netopýr sp. (*Eptesicus* sp.)	9	neg.	9	neg.	20	1× poz.
ježek sp. (*Erinaceus* sp.)	0	neg.	1	neg.	0	neg.
křeček polní (*Cricetus cricetus*)	0	neg.	1	neg.	0	neg.
lasice sp. (*Mustela*)	2	neg.	1	neg.	1	neg.
muflon (*Ovis orientalis musimon*)	1	neg.	1	neg.	0	neg.
myšice sp. (*Apodemus* sp.)	0	neg.	1	neg.	0	neg.
vydra říční (*Lutra lutra*)	1	neg.	2	neg.	0	neg.
los evropský (*Alces alces*)	0	neg.	1	neg.	1	neg.
mýval severní (*Procyon lotor*)	0	neg.	2	neg.	6	neg.
veverka zemní (*Xerus erythropus*)	0	neg.	1	neg.	0	neg.
ostatní volně žijící zvířata	20	neg.	23	neg.	16	neg.

Zdroj: Státní veterinární správa, Zpráva o činnosti v oblasti ochrany zdraví zvířat v roce 2015 (Informační bulletin č. 2/2016)

Lagos bat virus (LBV) na rozdíl od DUVV, je nejčastěji zjišťovaným lyssavirem na africkém území [10]. Poprvé byl izolován v roce 1956 z kaloně plavého (*Eidolon helvum*). Od té doby byl izolován z ovocem se živících i hmyzožravých netopýrů, ale také z domácích koček, psů a dalších zvířat. Prozatím není znám žádný případ infekce člověka. Co se týče netopýrů, LBV byl izolován jak ze zdravých jedinců, tak z infikovaných či na vzteklinu uhynulých [10]. Na základě dlouhodobě prováděných studií v Ghaně i dalších afrických zemích se však předpokládá vysoká séroprevalence proti LBV [31–33]. První experimentální studie s virem Lagos bat vedly k závěrům, že LBV i další zástupci z fylogenetické skupiny II jsou méně patogenní než ostatní lyssaviry [10]. Avšak experimentální infekce z nedávné doby prokázaly jednak srovnatelnou úroveň mortality mezi LBV a RABV, ale i pravděpodobnost statisticky významných rozdílů mezi různými izoláty LBV [34,35].

Z dalších afrických lyssavirů byl u netopýrů zjištěn pouze Shimoni bat virus (SHIBV), a to v Keni u pavrápence Commersonova (*Hipposideros commersoni*) [34]. Pouze u člověka byl zatím detekován virus Mokola (MOKV) [10].

V Austrálii byl až dosud prokázán jen Australian bat lyssavirus (ABLV), který se vyskytuje ve dvou genetických liniích. První linie se udržuje v populaci kaloňů a druhá u hmyzožravých netopýrů. V 90. letech minulého století došlo ke dvěma smrtelným infekcím člověka ABLV po pokousání netopýrem; v druhém případě se jednalo o ženu, která zemřela za 27 měsíců poté, co byla pokousána kaloněm. V roce 2014 pak následoval případ úmrtí dítěte po škrábnutí kaloněm [36].

Vzteklina u netopýrů v České republice

První potvrzený výskyt vztekliny u netopýra na našem území byl diagnostikován v roce 1994, ve Státním veterinárním ústavu Olomouc, další dva případy následovaly v roce 1999 a předposlední v roce 2005. Všechny byly zaznamenány na jižní Moravě, tři z nich u netopýra večerního (*Eptesicus serotinus*) a jeden u netopýra hvízdavého (*Pipistrellus pipistrellus*). V souvislosti s případem z roku 2005 bylo ošetřeno i šest dětí, které s infikovaným netopýrem přišly do kontaktu. Doposud na našem území nebyl

prokázán žádný případ vztekliny člověka přenesené z netopýrů. Historicky pátý záchyt vztekliny u netopýra byl potvrzen na podzim roku 2015 [37,38].

Popis případu výskytu vztekliny u netopýra v roce 2015

V září roku 2015 Městská veterinární správa v Praze obdržela hlášení o výskytu netypizovaného druhu lyssaviru u samice netopýra večerního (*Eptesicus serotinus*) umístěné v Záchranné stanici hl. m. Prahy-Jinonice. Netopýr byl odchycen v Riegrových sadech v Praze a následně převezen do záchranné stanice, kde ještě téhož večera za nervových příznaků uhynul. Kadáver netopýra byl odeslán k vyšetření do Státního veterinárního ústavu Praha (dále jen „SVÚ“), kde byl metodou přímé imunofluorescence ve vzorku tkáně odebraného z centrálního nervového systému prokázán virus vztekliny. Následně byl metodou RT-PCR a sekvenční analýzou stanoven virus EBLV-1. Biologickým pokusem na myších byl virus vztekliny u tohoto netopýra potvrzen. V záchranné stanici byli umístěni ještě další tři netopýři, kteří byli po utracení odesláni k laboratornímu vyšetření na vzteklinu. Výsledek byl u všech tří netopýrů negativní.

I přes výše zmíněné případy vztekliny u netopýrů má Česká republika podle kritérií Světové organizace pro zdraví zvířat (OIE) od roku 2004 status státu prostého vztekliny (tj. klasického viru vztekliny RABV). Vzteklina netopýrů je považována za specifickou variantu této nákazy, a proto jejím výskytem není dotčen status státu prostého vztekliny.

K eradikaci vztekliny (RABV) na našem území přispělo, kromě povinné vakcinace psů, především zavedení orální vakcinace lišek. Poslední případ vztekliny byl zjištěn roku 2002 u lišky v okrese Trutnov [37,39]. Stále však existuje riziko opětovného zavlečení vztekliny na naše území z okolních států, vzhledem k tamní nákazové situaci (především Polsko a Rumunsko), kdy byly případy vztekliny prokázány jak u volně žijících zvířat, tak u zvířat domácích [39].

Přenos, šíření a způsob přežívání lyssavirů v populacích netopýrů

Mechanizmy, jakými si netopýři udržují lyssaviry ve svých hnízdištích a populacích, zůstávají zatím neznámé. Pravděpodobně k tomu přispívá i skutečnost, že dosud chybí podrobnější znalosti související s ekologií a epidemiologií těchto živočichů.

U některých druhů netopýrů bylo zjištěno, že se pohybují jen na určitém, omezeném území, zatímco jiné druhy se mohou přemísťovat mezi kontinenty. Překonávání velkých vzdáleností se zdá být časté především u velkých druhů netopýrů živících se ovocem a žijících na africkém kontinentě. Tyto druhy jsou schopné migrovat na vzdálenost až několik tisíc kilometrů a během jednoho nočního letu mohou urazit až 370 km. Lety na tak velkou vzdálenost mohou významně ovlivnit šíření virů se zoonotickým potenciálem [33]. Jak u druhů živících se ovocem, tak i u hmyzožravých může být způsob přežívání a přenosu lyssavirů usnadněn velikostí a hustotou kolonií jednotlivých netopýřích druhů. V tomto prostředí byl popsán přenos kousnutím, ale i jinými cestami [40].

Odlišný způsob přežívání byl však popsán u evropských druhů netopýrů, které jsou rezervoárem EBLV-1, EBLV-2

Tabulka 3
Přehled počtu laboratorně vyšetřených domácích zvířat na vzteklinu v průběhu let 2013–2015

	2013		2014		2015	
Druh domácího zvířete	**Počet lab. vyšetřených zvířat**	**Výsledek lab. vyšetření**	**Počet lab. vyšetřených zvířat**	**Výsledek lab. vyšetření**	**Počet lab. vyšetřených zvířat**	**Výsledek lab. vyšetření**
pes domácí (*Canis lupus familiaris*)	94	neg.	84	neg.	68	neg.
kočka domácí (*Felis silvestris catus*)	132	neg.	140	neg.	108	neg.
tur domácí (*Bos primigenius f. taurus*)	1	neg.	0	neg.	2	neg.
ovce domácí (*Ovis orientalis aries*)	1	neg.	0	neg.	0	neg.
králík domácí (*Oryctolagus cuniculus f. domesticus*)	2	neg.	2	neg.	1	neg.
morče domácí (*Cavia aperea f. porcellus*)	1	neg.	1	neg.	1	neg.
myš laboratorní (*Mus musculus var. alba*)	0	neg.	1	neg.	0	neg.
fretka domácí (*Mustela putorius furo*)	5	neg.	5	neg.	1	neg.
koza domácí (*Capra aegagrus hircus*)	0	neg.	0	neg.	0	neg.
křeček domácí (*Phodopus sungorus*)	0	neg.	2	neg.	0	neg.
kůň domácí (*Equus ferus caballus*)	0	neg.	1	neg.	0	neg.
prase vietnamské (*Sus bucculentus*)	0	neg.	1	neg.	1	neg.

Zdroj: Státní veterinární správa, Zpráva o činnosti v oblasti ochrany zdraví zvířat v roce 2015 (Informační bulletin č. 2/2016)

a BBLV. Netopýři těchto druhů totiž žijí v koloniích o maximálním počtu 10–300 jedinců [41]. Na základě provedených sérologických studií se odhaduje, že v evropských populacích netopýrů se seroprevalence pohybuje v rozmezí 1–4 % [42]. Z výsledků vyšetření experimentálně i přirozenou cestou infikovaných netopýrů se lze domnívat, že EBLV-1 i EBLV-2 jsou přenášeny jak kousnutím, tak i škrábnutím [17]. Naopak v trusu ani v tělesných tekutinách viry většinou zjištěny nebyly [43].

Klinický průběh onemocnění

Pokud se klinické příznaky vztekliny u netopýrů objeví, je u nich obvykle pozorována celková slabost, dezorientace, třes, paralýzy končetin, neschopnost letu či abnormální zvukové projevy. Mohou se připojit poruchy chování, provázené snahou pokousat. Na rozdíl od terestriálních savčích hostitelů jen malá část infikovaných netopýrů hyne za příznaků podobných encefalitidě.

Experimentálními studiemi bylo doloženo, že variabilita klinických příznaků souvisí s cestou inokulace viru a jeho infekční dávkou. Velikost infekční dávky má vliv i na délku inkubační doby [10,27]. Z literatury je znám ojedinělý případ, kdy po přirozené infekci netopýra vodního (*Myotis daubentonii*) virem EBLV-2 došlo k rozvoji klinických příznaků až za 9 měsíců [44].

Diagnostika

K intravitální diagnostice vztekliny lze použít pouze klinické vyšetření. Jak už bylo uvedeno výše, u infikovaných netopýrů jsou pozorovány příznaky dezorientace, neschopnosti letu, tremoru či abnormálních zvukových projevů. V případě podezření na vzteklinu je třeba přistoupit k postmortální diagnostice.

Nejčastěji využívanou metodou detekce viru je přímá imunofluorescence za použití antirabického konjugátu, která je v indikovaných případech doplněna biologickým pokusem na myších nebo izolací viru na tkáňových kulturách.

K typizaci viru lze použít metod RT-PCR či sekvenční analýzy. Do laboratoře je třeba transportovat vzorek bezpečně zabalený. K vyšetření se zasílají v případě malých zvířat celá těla, u větších pak pouze hlava.

Diagnostika v České republice se provádí ve třech specializovaných pracovištích, kterými jsou SVÚ Praha, jenž je zároveň národní referenční laboratoří pro diagnostiku vztekliny, dále SVÚ Jihlava a SVÚ Olomouc.

Za rok 2015 bylo v ČR za účelem diagnostiky vztekliny laboratorně vyšetřeno celkem 2 540 zvířat, z toho 2 356 volně žijících zvířat a 184 zvířat domácích. Z volně žijících zvířat byla nejpočetněji vyšetřovaným druhem liška obecná (*Vulpes vulpes*) 95,3 %. Z celkového počtu domácích zvířat byly v nejvyšší míře vyšetřovány kočky (58,7 %) a psi (37 %) [39]. Rozsah laboratorního vyšetření na vzteklinu je uveden v *tabulce 2* a *tabulce 3*.

Laboratorní diagnostika může být v případě aktivního monitoringu lyssavirů v populacích netopýrů doplněna o průkaz viru metodami RT-PCR v orálních výtěrech a o sérologické vyšetření krevních sér virus neutralizačními metodami [15].

Prevence a vakcinace

Nejúčinnější prevencí, jak zabránit případné infekci lyssaviry, je vyhnout se riziku pokousání netopýrem. Dojde-li však k poranění člověka, je nutné vyhledat lékařskou pomoc. V případě, že netopýr, který zranění způsobil, už není dohledatelný, musí být u poraněného člověka neodkladně zahájena postexpoziční vakcinace.

Lidem z rizikových profesí (pracovníci záchranných stanic pro divoká zvířata, zoologové, veterinární lékaři), ale i zájmovým skupinám obyvatelstva přicházejícím často a pravidelně do kontaktu s netopýry (speleologové) je doporučována preexpoziční vakcinace [45]. Zvláště potřebné je v této skupině lidí provádět stanovení titru protektivních protilátek [46]. I přes všechna uvedená preventivní a profylaktická opatření však stále platí, že v současné době dostupné vakcíny nechrání proti některým nově identifikovaným lyssavirům, jako je např. WCBV [47].

Literatura

1. Banyard AC, Evans JE, Luo TR, Fooks AR. Lyssaviruses in bats: Emergence and zoonotic threat. *Viruses.* 2014;6:2974–2990.
2. Kuzmin IV. Basics facts about lyssaviruses. *Curr Lab Tech Rabies Diagn Res Prev.* 2014;1(3).
3. Leonova GN, Somova LM, Belikov SI, et al. The fatal case of lyssavirus encephalitis in the Russian. *Far East. Intech.* 2013;231–250.
4. Fooks AR, Banyard AC, Horton DL et al. Current status of rabies and prospects for elimination. *Lancet.* 2014;384(9951):1389–1399.
5. Jakava-Viljanen M, Nokireki T, Sironen T, et al. Evolutionary trends of European bat lyssavirus type 2 including genetic characterization of Finnish strains of human and bat origin 24 years apart. *Arch Virol.* 2015;160:1489–1498.
6. Badrane H, Bahloul C, Perrin P, Tordo N. Evidence of two Lyssavirus phylogroups with distinct pathogenicity and immunogenicity. *J Virol.* 2001;75:3268–3276.
7. Kuzmin IV, Hughes GJ, Botvinkin AD, Orciari LA, Rupprecht CE. Phylogenetic relationships of Irkut and West Caucasian bat viruses within Lyssavirus genus and suggested quantitative criteria based on the N gene sequence for lyssavirus genotype definition. *Virus Res.* 2005;111:28–43.
8. Marston DA, Horton DL, Ngeleja C, et al. Ikoma lyssavirus, highly divergent novel lyssavirus in an African civet. Emerg Infect Dis. 2012;18:664–667.
9. Ceballos NA, Morón SV, Berciano JM, et al. Novel lyssavirus in bat, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(5):793–795.
10. Banyard AC, Hayman D, Johnson N, McEnhinney L, Fooks AR. Bats and lyssaviruses. *Adv Virus Res.* 2011;79:239–289.
11. Carini A. About one large epizootie of rabies. *Ann Inst Pasteur.* 1911;5:843–846.
12. Kuzmin IV, Bozck B, Guagliardo SA, et al. Bats, emerging infectious diseases, and the rabies paradigm revisited. *Emerg Health Threats J* 2011;4:10.3402/ehtj.v4i0. 7159.
13. Ruiz M, Chávez CB. Rabies in Latin America. *Neurol Res* 2010;32:272–277.
14. WHO Rabies Bulletin Europe. Available from: http//www.who-rabies-bulletin.org/.
15. Schatz J, Fooks AR, McElhinney L, et al. Bat rabies surveillance in Europe. *Zoonoses and Public Health.* 2012;60:22–34.
16. Johnson NA, Vos C, Freuling N, et al. Human rabies due to lyssavirus infection of bat origin. *Vet Microbiol.* 2010;142:151–159.
17. Schatz J, Ohlendorf B, Busse P, et al. Twenty years of active bat rabies surveillance in Germany: a detailed analysis and future perspectives. *Epidemiol Infect.* 2014;142:1155–166.
18. Botvinkin AD, Poleschuk EM, Kuzmin I, et al. Novel lyssavirus isolated from bars in Russia. *Emerg Infect Dis.* 2003;9:1623–1625.
19. Freuling C, Beer M, Conraths FJ, et al. Novel lyssavirus in Natterer s bat, Germany. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:1519–1522.
20. Kuzmin IV, Botvinkin AD, Rybin SN, Baialiev AB. A lyssavirus with unusual antigenic structure isolated from a bat in southern Kyrgyzstan. *Vopr Virusol.* 1991; 37(5–6):256–259.
21. Kuzmin IV, Botvinkin AD, Khabilov TK. The lyssavirus was isolated from a whiskered bat in northern Tajikistan. *Plecotus.* 2001;4:75–81.
22. Leonova GN, Belikov SI Kondratov IG, et al. A fatal case of bat lyssavirus infection in Primorye Territory of the Russian Far East. Rabies – Bulletin – Europe Information Surveillance Report. December 2009;33(4):231–250.
23. Kuzmin IV, Niezgoda M, Franka R, et al. Possible emergence of West Caucasian bat virus in Africa. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:1887–1889.
24. Horton DL, Banyard AC, Marston DA, et al. Antigenetic and genetic characterization of a divergent African virus, Ikoma lyssavirus. *J Gen Virol.* 2014;95: 1025–1032.

25. Kuzmin IV, Niezgoda M, Carroll DS, et al. Lyssavirus surveillance in bats, Bangladesh. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(3):486–488.
26. Lumlertdacha B, Boongird K, Wanghongsa S et al. Survey for bat lyssaviruses, Thailand. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(2):232–236.
27. Schneeberger K, Voight CC. Zoonotic viruses and conservation of bats. In: Voigt CC and Kingstone T (eds). Bats in the Anthropocene: Conservation of bats in a changing world. *Springer Open.* 2016 pp 1–9.
28. Meredith CD, Prossouw AP, Koch HP. An unusual case of human rabies thought to be of chiropteran origin. *S Afr Med J.* 1971;45:767–769.
29. Paweska JT, Blumberg LH, Liebenberg C, et al. Fatal human infection with rabies-related duvenhage virus, South Africa. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:1965–1967.
30. Van Thiel PP, van den Hoek JA, Eftimov F. fatal case of human rabies (duvenhage virusú from bat in Kenya:The Nederlands, December 2007. *Euro Surveill.* 2008;13:8007.
31. Hayman DT, Fooks AR, Rowcliffe JM, et al. Endemic Lagos bat virus infection in Eidolon helvum. *Epidemiol Infect.* 2012;140(12):2163–2171.
32. Peel AJ, Feldman K, Hayman DTS, et al. Widespread seroprevalence to Lagos bat virus and henipavirus in straw coloured fruit bats (*Eidolon helvum*) across East Africa. In: Proc. of the 2nd International Berlin bat meeting: bat biology and infectious diseases, 2010;Berlin;pp 15–16.
33. Peel AJ, Sargan DR, Baker KS, et al. Continent-wide panmixia of an African fruit bat facilates transmission of potentially zoonotic viruses. *Nat Commun.* 2013; 4:2770.
34. Kuzmin IV, Mayer AE, Niezgoda M, et al. Shimoni bat virus, a new representative of the Lyssavirus genus. *Virus Res.* 2010;149(2):197–210.
35. Markotter W, Kuzmin IV, Ruprecht CE, Nel LH. Lagos bat virus virulence in mice inoculated by the peripheral route. *Epidemiol Infect.* 2009;137(8):1155–1162.
36. Francis JR, Nourse C, Vaska VL, et al. Australian bat lyssavirus in a child: the first reported case. *Pediatrics.* 2014;133(4):1063–1067.
37. SVS ČR; Problematika vztekliny a její výskyt v České republice. Available from: http://eagri.cz/public/web/svs/portal/zdravi-zvirat/vzteklina/.
38. Helešic J, Bartoníčka T, Krbková L. Vzteklina netopýrů v Evropě a v České republice. *Klin Mikrobiol Inf Lék.* 2007;13(3):93–98.
39. SVS ČR; Zpráva o činnosti v oblasti ochrany zdraví zvířat v roce 2015. Informační bulletin č. 2/2016.
40. Constantine DG. Rabies transmission by non bite route. *Publ Health Rep.* 1962; 77:287–289.
41. Serra-Cobo J, Lopez-Roig M, Segui M, et al. Ecological factors associated with european byt lyssavirus seroprevalence in Spanish bats. *PLOS One.* 2013;8(5): e64467.
42. Harris SL, Aegerter JN, Brookes SM, et al. Targeted surveillance for european byt lyssavirus in english bats (2003–2006). *J Wildl Dis.* 2009;45:1030–1041.
43. Kgaladi J, Wright N, Coertse J, et al. Diversity and epidemiology of mokola virus. *PLOS Negl Trop Dis.* 2013;7(10):e2511.
44. Pajamo K, Harkess G, Goddard T, et al. Isolation of European bat lyssavirus type 2 (EBLV-2) in Daubenton s bat in the UK with a minimum incubation period of 9 months. *Rabies Bulletin Europe.* 2008;32:6–7.
45. Stantic-Pavlinic M. Public health concerns in bat rabies across Europe. *Eurosurveillance.* 2005;10(11):pii = 576.
46. Racey PA, Hutson AM, Lina HC. Bat rabies, public health and European bat conservation. *Zoonoses and Public Health.* 2013;60:58–68.
47. Fooks AR. The challenge of new and emerging lysaviruse. Expert Rev Vaccines. 2004;3:333–336.

Biologické faktory ovlivňující vybrané infekční nemoci přenášené invazivními druhy komárů

V. BOŠTÍKOVÁ[1,2], M. PASDIOROVÁ[1], J. MAREK[1], P. PRÁŠIL[3], M. SALAVEC[4], R. SLEHA[1], H. STŘÍTECKÁ[6], P. BLAŽEK[5], I. HANOVCOVÁ[1], R. ŠOŠOVIČKOVÁ[1], M. ŠPLIŇO[1], J. SMETANA[1], R. CHLÍBEK[1], V. HYTYCH[7], K. KUČA[1,4], P. BOŠTÍK[1]

[1]Fakulta informatiky a managementu, Univerzita Hradec Králové, [2]Katedra epidemiologie, FVZ OU, Hradec Králové, [3]Klinika nemocí kožních a pohlavních, FN a LF UK, Hradec Králové, [4]Centrum biomedicínského výzkumu, Fakultní nemocnice, Hradec Králové, [5]Katedra vojenského zdravotnictví a managementu, FVZ UO, Hradec Králové, [6]Katedra vojenského vnitřního lékařství a vojenské hygieny, FVZ UO, Hradec Králové, [7]Thomayerova nemocnice, klinika hrudní chirurgie, Praha

SOUHRN

Boštíková V., Pasdiorová M., Marek J., Prášil P., Salavec M., Sleha R., Střítecká H., Blažek P., Hanovcová I., Šošovičková R., Špliňo M., Smetana J., Chlíbek R., Hytych V., Kuča K., Boštík P.: **Biologické faktory ovlivňující vybrané infekční nemoci přenášené invazivními druhy komárů**

Význam studia arbovirových nákaz přenášených invazivními druhy komárů pro Evropu v posledních letech výrazně vzrůstá, v důsledku úspěšného etablování těchto vektorů v Evropě. Komáři (známe více než 3 200 druhů) se vyskytují přirozeně na všech kontinentech s výjimkou Antarktidy, sají krev teplokrevných živočichů a přitom jsou schopni přenášet nebezpečné nemoci. Za noc dokáží některé druhy urazit až 10 km a mohou létat až 4 hodiny bez přestávky rychlostí 1–2 km/h. Většina druhů je aktivní a shání potravu v noci, večer či ráno. Samičkám obvykle trvá asi 50 sekund, než prorazí savci kůži, a sání krve obvykle trvá zhruba 2,5 minuty. Mohou žít po dobu několika týdnů nebo měsíců, v závislosti na podmínkách prostředí.

Projekt VectorNet, evropská síť výměny informací a sdílení dat, se stala důležitým prostředkem pro sledování a kontrolu geografické distribuce arthropoidních vektorů, transmise infekčních agens mezi lidskou populací a zvířaty; zabývá se i vývojem strategických plánů boje s tímto problémem, vakcinační politikou – to vše jsou důležité úkoly současnosti, obdobně jako vývoj a aplikace nových dezinsekčních prostředků.

Klíčová slova: Aedes aegypti, Aedes albopictus, Aedes atropalpus, Aedes koreicus, Aedes triseriatus, Aedes japonicus, Aedes albopictus, rod Anopheles, žlutá zimnice, Zika virus, dengue, západonilská horečka, chikungunya, LaCrosse virus, japonská encefalitida, StLouis encefalitida, malárie, prevence, očkování, dezinfekce

SUMMARY

Boštíková V., Pasdiorová M., Marek J., Prášil P., Salavec M., Sleha R., Střítecká H., Blažek P., Hanovcová I., Šošovičková R., Špliňo M., Smetana J., Chlíbek R., Hytych V., Kuča K., Boštík P.: **Biological factors influencing infectious diseases transmitted by invasive species of mosquitoes**

Studies focused on arbovirus diseases transmitted by invasive species of mosquitoes have become increasingly significant in recent years, due to the fact that these vectors have successfully migrated to Europe and become established in the region. Mosquitoes, represented by more than 3 200 species, occur naturally worldwide, except in Antarctica. They feed on the blood of warm-blooded animals and by this route, they are capable of transmitting dangerous diseases. Some species can travel a distance of 10 km per night and can fly continuously for up to 4 hours at a speed of 1–2 km/h. Most species are active at night, in the evening or morning. It usually takes a mosquito female about 50 seconds to penetrate the skin of mammals and the subsequent blood meal usually takes about 2.5 minutes. Mosquitoes live for several weeks or months, depending on the environmental conditions.

The VectorNet project is a European network of information exchange and sharing of data relating to the geographical distribution of arthropod vectors and transmission of infectious agents between human populations and animals. It aims at the development of strategic plans and vaccination policies which are the main tasks of this time, as well as the development and application of new disinfectants to control vector populations.

Keywords: Aedes aegypti, Aedes albopictus, Aedes atropalpus, Aedes koreicus, Aedes triseriatus, Aedes japonicus, Aedes albopictus, the genus Anopheles, yellow fever, Zika virus, dengue virus, West Nile virus, chikungunya, La Crosse virus, Japanese encephalitis, dirofilariasis, St. Louis encephalitis, malaria, prevention, vaccination, disinfection

Klin mikrobiol inf lék 2016;22(2):75–85

Adresa: doc. RNDr. Vanda Boštíková, Ph.D., katedra epidemiologie, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany Hradec Králové, Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové, e-mail: vanda.bostikova@unob.cz

Došlo do redakce: 21. 4. 2016
Přijato k tisku: 10. 5. 2016

Úvod

Navzdory stále se rozšiřujícímu spektru léků, ať už antibiotik, či antivirotik, jsou infekční choroby stále na pořadu dne. Nerozeznávají územní hranice mezi jednotlivými státy, nerespektují kontinenty, a nelze tím pádem proti nim bojovat pouze na místní či národní úrovni.

Problematika boje s infekčními chorobami zahrnuje imunizační strategie, stejně jako připravenost na klimatické změny a na zdravotní hrozby nových infekcí. Povaha infekčních chorob se soustavně vyvíjí a seznam pravidelně sledovaných infekcí je nutné revidovat. To samé lze říct o rezistenci vůči antibiotikům a pravděpodobně to bude platit i o léčivech proti virovým onemocněním a plísním.

Ročně Evropa zaznamenává stovky případů žluté zimnice, dengue a chikungunya, a to včetně fatálních případů. V důsledku tohoto stoupají obavy z autochtonních arbovirových transmisí, specificky v jižní Evropě, kde jsou klimatické podmínky velmi vhodné ke kolonizaci invazivními druhy komárů (*obr. 1*). Jedná se o závažný nejen medicínský, ale i ekologický problém [1,2].

Cesty importu komárů do Evropy z tropů jsou různé, jedním z nejznámějších je dovoz okrasných rostlin – bambusu, tzv. lucky bamboo, botanicky *Draceana sanderiana*, z Číny. Rostliny jsou dováženy v nádobách s vodou, ideální biotop pro komáry. Masivní dovoz směřuje jak do USA, tak do Evropy, a to převážně do Holandska, odkud se rostliny distribuují do celé Evropy [1,3].

Obavy z invaze potvrdila například významná epidemie dengue, která postihla portugalskou Madeiru. V období od října 2012 do ledna 2013 onemocnělo více než 2 000 subjektů, z toho 78 lidí byli turisté, kteří, jak uvedli, navštívili ostrov a dané onemocnění pak obvykle léčili ve své domovské zemi po návratu z pobytu na ostrově [4].

Podívejme se nyní podrobněji na vybrané infekční nemoci, specificky přenášené invazivními druhy komárů, které významně znepokojují evropskou agenturu ECDC a vedou k novým opatřením jak na národní, tak nadnárodní evropské úrovni. ECDC sleduje šíření *Aedes aegypti*, *A. albopictus*, *A. stropalpus*, *A. koreicus*, *A. triseriatus*, *A. japonicus*, stejně jako malárii přenášející *Anopheles atroparvus*, *An. labrianchiae*, *An. plumbeus* a *An. sacharovi*.

Obr. 1
Mapa Evropy ukazující výskyt invazivních druhů komárů v lednu roku 2015 (http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBORNET_maps.aspx)

Aedes aegypti – žlutá zimnice, Zika virus, dengue, západonilská horečka (West Nile virus), chikungunya

Dospělí jedinci tohoto komára se vyznačují typickými bíločernými skvrnami jak na nohou, tak na těle. V maximálním počtu se vyskytují v přírodě v období února, posléze pak v květnu a jejich počty opětovně stoupají v září. Nejvyšší snůška vajíček je typická pro únor a červen, o měsíc později se larvy líhnou. *A. aegypti* saje přednostně na savcích, zvláště pak na člověku. V minulosti tento druh komára upřednostňoval les a vodní plochy, zatímco v současnosti se velmi dobře adaptuje ve městech. Nacházíme ho v nejrůznějších nádržích na vodu, ve starých nepoužívaných pneumatikách, septicích, ale i uvnitř domácností, například ve vázách. Člověkem uměle vytvářené nádrže na dešťovou vodu, venkovní květníky, bazénky, ale i odhozené konzervy, skládky ojetých pneumatik jsou novým biotopem, který se pro šíření komárů stává v současnosti zásadním. Ukazuje se, že samičky kladou vajíčka co nejblíže lidským obydlím, pokud možno na nehybné vodní plochy.

V první polovině dvacátého století se tento druh komára vyskytoval pouze sporadicky, a to v oblastech kolem Brestu a Oděsy. Posléze kolonizoval Madeiru, stejně jako Gruzii. V poslední době je opakovaně nalézán v Ho-

landsku a stal se nejrozšířenějším druhem z hlediska celosvětového sledování – nalézáme ho na Krétě, Kypru, ve Francii, včetně Korsiky, v Řecku, Izraeli, Itálii, Portugalsku, jižním Rusku, na Sardinii, ve Španělsku, v Turecku, v bývalé Jugoslávii, na středním Východě, v Alžíru, Egyptě, Libyii, Maroku a v Tunisu. Stejně tak je rozšířen v jihovýchodní USA, východní a jihovýchodní Asii, Pacifiku na Indických ostrovech a v neposlední řadě i v severní Austrálii.

Neexistují žádné klimatické důvody, proč by tento druh komára neměl úspěšně masivně osidlovat a přežívat v jižní Evropě. Jakmile se tak ve velkém rozsahu stane, pak se zásadně zvýší pravděpodobnost transmise takových onemocnění jako je žlutá zimnice a dengue pro tuto zeměpisnou oblast. Úspěšnost procesu osidlování nových oblastí je u tohoto druhu komára zaručena globalizací, zvyšující se hustotou populace, problémy z hlediska zásobování vodou, zacházením s odpadky a sanitací.

Historicky se *A. aegypti* stěhoval z kontinetu na kontinent plachetnicemi, a to ze západní Afriky (první zprávy o jeho výskytu jsou z roku 1919 z Velké Británie a Francie, 1953 ze Španělska). Dnes je transportován kamiónovou dopravou hlavně v oblasti Černého moře a námořní dopravou. V Holandsku se detailně sleduje jeho výskyt na skládkách starých ojetých pneumatik, které se proto ošetřují chemickými postřiky. Hypotéza říká, že specificky do této země se tento druh komára dostal právě spolu s dováženými ojetými pneumatikami, konkrétně z Floridy, USA [5,8].

Pro onemocnění **žlutou zimnicí**, stejně jako Zika virem funguje *A. aegypti* jako tzv. „bridge vector“. Jak napovídá anglický termín, komár v tomto případě funguje jako tzv. přemosťující vektor, umožňující přenos viru mezi různými druhy. V praxi je to zařízeno tak, že komár saje na jednom druhu zvířete, později na jiném či na člověku. To vede k mezidruhové cirkulaci patogenu.

Žlutá zimnice vyvolává onemocnění typické horečkou, žloutenkou, může dospět do hemoragického stadia a být fatální pro pacienta, kvůli renálnímu selhání. Symptomaticky se toto one-

Obr. 2
Mapa ukazující všechna v současnosti známá místa s aktivní transmisí Zika viru (stav k 10. 3. 2016). Vyznačená místa zahrnují: Aruba, Barbados, Bolívie, Bonaire, Brazílie, Kolumbie, Puerto Rico, Kostarika, Ekvádor, El Salvador, Francouzská Guyána, Guadeloupe, Guatemala, Guyana, Haiti, Honduras, Jamajka, Nikaragua, Panama, Paraguay, St. Martin, St. Vincent a Grenadiny, Sint Maarten, Suriname, Trinidad a Tabago, Curacao, Dominikánská republika, Martinik, Mexiko, Panenské ostrovy, Venezuela, Samoa, Marshallovy ostrovy, Nová Kaledonie, americká Samoa, Tonga, Cape Verde (http://www.cdc.gov/zika/geo/active-countries.html)

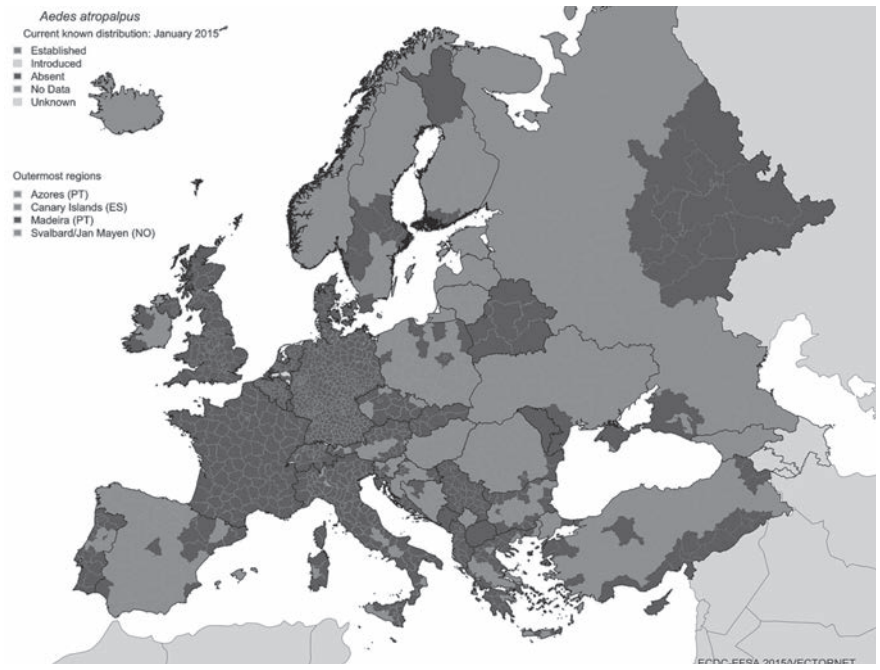
Obr. 3
Výskyt Zika viru v USA a jeho teritoriích (http://www.cdc.gov/zika/geo/united-states.html)

mocnění projevuje u jednoho ze sedmi nakažených a jeho mortalita je udávána okolo 20–50 %.

Přibližně tři milióny turistů cestují ročně do oblastí s výskytem žluté zimnice. Importované případy jsou často hlášeny z Německa, Belgie, Španělska, Francie, Holandska, stejně jako ze Švýcarska.

Obr. 4
Výskyt chicungunyi, k březnu 2015
(http://www.cdc.gov/chikungunya/geo/index.html)

Obr. 5
Mapa výskytu *A. atropalpus*, situace v Evropě během ledna 2015
(http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBORNET_maps.aspx)



Máme k dispozici účinnou prevenci – očkování, které je v tuto chvíli doporučováno (v některých zemích přímo vyžadováno).

Zika virus je obalený virus, jehož genetická informace je uložena v jednořetězcové RNA. Tento virus patří spolu s virem žluté zimnice, dengue, virem západonilské horečky a japonské encefalitidy mezi viry skupiny flavivirů. Dnes jeho výskyt hlásí více než 40 zemí světa – Nikaragua, Kostarika, Panama, Panenské ostrovy, Dominikánská republika, Jamajka, Martinik, Nový Zéland. Evropa se potýká s importovanými nákazami, které hlásí Portugalsko, Švédsko, Itálie, Holandsko, Španělsko, Švýcarsko, Dánsko či Rakousko [9].

Virový genom je přibližně 11 kb dlouhý. RNA obsahuje sekvenci, kódující polyprotein se třemi strukturálními komponentami a sedmi nestrukturálními proteiny NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b a NS5.

Poprvé byl identifikován u opic *Macaca mulata* v ugandském pralese Zika v roce 1947. O sedm let později byl nalezen u tří pacientů. Šlo o záchyt v průběhu vyšetřování a péče o pacienty postižené epidemií žloutenky v Nigérii. Během následujících desetiletí se virus rozšířil do dalších zemí afrického kontinentu, stejně jako do jihovýchodní Asie a oblastí Pacifiku. Většina humánních infekcí byla nicméně asymptomatická nebo s nekomplikovaným průběhem, a tak tento problém nebyl nikdy v centru pozornosti zdravotníků. Mapa na *obr. 2* ukazuje výskyt zachycených onemocnění Zika virem z celosvětového hlediska a odpovídá situaci známé do března 2016 [10,11].

V současnosti rozlišujeme tři genotypy Zika viru – západoafrický (nigerijský), východoafrický (MR766) a asijský. Předpokládá se, že asijský genotyp se rozšířil přes Asii do Pacifiku nejpozději v roce 1966. Nukleotidová shoda mezi všemi kmeny západní polokoule dosahuje 99 %, zatímco shoda mezi kmeny západní polokoule a kmeny z východní Afriky je nižší – 89 %.

Musso D. et al. (2016) [12] se domnívají, že fylogeneze a cirkulace Zika viru a chikungunyi mají mnoho společného. Oba zmiňované viry se vyskytují ve třech genotypech s velmi podobnou geografickou distribucí. U obou virů došlo k diferenciaci před padesáti až sto lety a u obou nachází-

me unikátní asijský genotyp. Z těchto a dalších faktů autoři odvozují, že velmi pravděpodobně stejné ekologické a sociálně společenské faktory v oblasti Nového světa jsou odpovědné za cirkulaci a obdobnou časovou distribuci obou dvou virů.

Poprvé mimo Afriku či Asii byly informace o tomto onemocnění dány do souvislosti s epidemií na ostrově Yap (Mikronésie) v roce 2007. Zde bylo laboratorně potvrzeno celkem 185 nemocných. V letech 2013 a 2015 proběhly masivní epidemie Zika virem ve Francouzské Polynésii (32 000 infekcí v populaci o 270 000 lidech, 80 % infekcí proběhlo asymptomaticky) a v Brazílii, stejně jako v Kolumbii a v Africe (Cape Verde). Vědci se domnívají, že virus se dostal do Brazílie z Francouzské Polynésie během mezinárodního závodu kánoí v srpnu 2014 [11,13].

Nově byly zaznamenány neurologické a autoimunitní komplikace přičtené působení Zika viru. Brazílie zaznamenala vyšší výskyt novorozenců trpících mikroencefalií, konkrétně v severovýchodní části země. V roce 2014 to bylo 150 případů, v říjnu roku 2015 to už bylo 4 700 případů. Okolo 800 případů bylo konfirmováno a zbylé na konfirmaci čekají, WHO se proto zaměřila na studium vztahu mezi tímto výskytem a virem jako jeho původcem – stále hovoří o silně suspektním vztahu, nikoli o jistotě. Je ale faktem, že například u dítěte, které zemřelo, byl Zika virus detekován jak v mozku, tak v placentě a amniotické tekutině. Bylo vydáno doporučení těhotným ženám necestovat do zasažených oblastí. Zika virus je považován za nebezpečný pro matku a plod po celou dobu těhotenství [10,14].

Brazilské ministerstvo zdravotnictví vydalo informaci o možnosti vztahu mezi infekcí Zika virem a zvýšeným výskytem Guillain-Barré syndromu (autoimunitní onemocnění, při včasné léčbě vyvolává dočasnou paralýzu). Jedná se opět o hypotézu, jejíž potvrzení či vyvrácení prověřuje americké CDC [15].

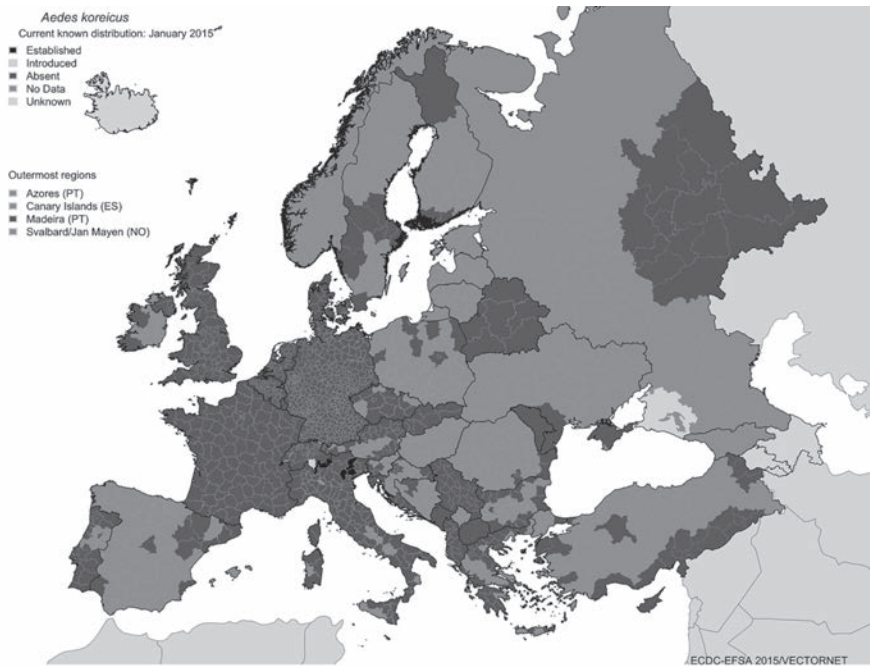
Většina případů mikrocefalií v Brazílii pochází ze severovýchodní části země, v dalších několika desítkách zemí, kde nyní epidemie Zika viru běží, se mikroencefalie dosud neobjevily, je to přičítáno faktu, že musíme čekat na vyhodnocení příslušně časově realizovaných porodů. Současné rozšíření Zika viru ukazuje *obr. 2*.

Unikátnímu postavení atlantského CDC vděčí USA v takovýchto případech, jako je epidemie Zika viru, za obvykle skvěle podchycená epidemiologická data hned na počátku problémů (*obr. 3*). Importovaných případů bylo v celé kontinentální Unii zachyceno 153, žádný případ nebyl získán přímo od vektoru. Nicméně v amerických teritoriích je situace opačná – s cestovatelskou historií čili importem je znám v daném časovém úseku jeden případ, zato lokálně získaných infekcí je v těchto oblastech 107 případů [11,16].

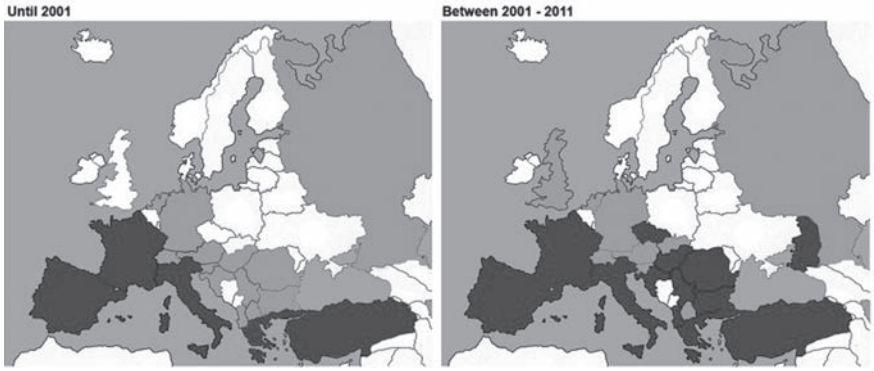
Přenašečem (vektorem) Zika viru jsou komáři rodu *Aedes* (*A. aegypti*, *A. albopictus*, *A. africanus*, *A. luteocephalus*, *A. vitattus*, *A. furcifer*). Rezervoár dosud znám není. Největší obavy v souvislosti s globálním rozšířením viru vyvolávají komáři druhů *A. aegypti* a *A. albopictus*. Oba dva tyto druhy jsou schopny globální migrace a přizpůsobení se změnám klimatu [14,17].

Inkubační doba onemocnění způsobeného Zika virem se odhaduje na několik dnů. Symptomy zahrnují (podobně jako u jiných arboviróz) horečku, kožní vyrážku, konjunktivitidu, bolesti kloubů a svalů, nevolnost, výrazné bolesti zad a hlavy. Obvykle tento stav přetrvává dva dny až týden. Typicky onemocní každý pátý virem infikovaný člověk. Z hlediska terapie je třeba nemocným zajistit dostatek odpočinku, pacienta hydratovat a snažit se snížit bolestivost a horečku klasickými medikacemi. Nicméně se nedoporučuje podávat aspirin a nesteroidní protizánětlivá farmaka (naopak velmi vhodné je podání acetaminofenu). Zmiňované léky by mohly při podání na počátku rozvíjející se infekce zamezit rozlišení mezi Zika virem a dengue onemocněním. V případě nerozeznání dengue a nesprávné léčby by mohlo dojít k fatálnímu ohrožení pacienta na životě. Z tohoto důvodu je velmi důležitá včasná laboratorní diagnostika. Virus Zika lze detekovat v krvi pacienta během prvního týdne infekce. Vyšetření lze provést pomocí molekulárně genetického testu PCR, který detekuje přítomnost Zika virové RNA. V tuto chvíli není dostupný komerčně vyráběný test, vyšetření provádí specializovaná laboratoř CDC v Atlantě, kam lze vzorky zaslat. Pro vyšetření novorozenců je třeba buď sérum, nebo plazma z pupečníkové krve, eventuálně vzorek cerebrospinálního moku. Lze vyšetřit i pla-

Obr. 6
Mapa výskytu *A. koreicus*, situace v Evropě v lednu 2015
(http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBORNET_maps.aspx)



Obr. 7
Porovnání geografické distribuce *Dirofilaria immitis* u psů, detekované v období let 2001 a 2011 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3372948/figure/F1/)



centu (imunohistochemickým barvením tkáně). Existují testy ELISA detekující IgM protilátky proti Zika viru, nicméně tato metoda vykazuje zkříženou reaktivitu s dengue, žlutou zimnicí a západonilskou horečkou. Vakcína proti Zika viru není k dispozici. V současné době panuje názor, že po prodělání tohoto onemocnění je člověk vůči další infekci imunní [13,18].

Postupně se rozšiřují znalosti o transmisi viru, kdy kromě již podrobně diskutovaného přenosu pomocí komářích vektorů byl Zika virus detekován v mateřském mléce, ale zatím nebyl tímto způsobem potvrzen přenos na kojené dítě. Spojené státy vydaly 2. února 2016 informaci o přenosu Zika viru pohlavním stykem u pacienta z texaského Dallasu. Došlo k přenosu od partnera, který si přivezl Ziku z tropické oblasti po kousnutí komárem. CDC vydalo následně doporučení o používání kondomů u mužů, kteří cestovali či cestují do oblastí s výskytem infikovaných komárů, a doporučení k sexuální abstinenci s těhotnými partnerkami. Tento tak diskutovaný přenos pohlavní cestou není prvním známým případem. V roce 2008 infikoval americký vědec, zabývající se problematikou virů přenášených moskyty v Senegalu, svoji ženu a publikoval tuto informaci v rámci své studie vydané v roce 2011. Taktéž je popsán případ, kdy se v roce 2014 vrátil muž z Cookových ostrovů a jeho ejakulát byl pozitivní na Ziku po dobu 62 dnů od té chvíle, kdy onemocnění vypuklo. Jsou publikovány první informace o přítomnosti Zika viru ve slinách a moči, ale patogeneze je dosud neznámá [19,20].

Další druh přenosu oznámilo brazilské Sao Paulo 3. února 2016, a to krevní transfuzí. Dárci krve v Brazílii začali být proto okamžitě dotazováni na svoji cestovatelskou historii. Červený kříž zatím svoji kontrolní agendu vzhledem k Zika viru nemění, ale změny se očekávají.

Pro přenos **dengue a západonilské horečky** funguje *A. aegypti* jako primární vektor. Horečka dengue se vyskytuje ve více než sto zemích světa. WHO udává, že pro 40 % lidské populace představuje hrozbu. Epidemie probíhají ve všech zemích tropického pásu. V těchto oblastech se jedná o jednu z nejčastějších diagnóz u hospitalizovaných dětských pacientů, stejně jako o velmi častou příčinu úmrtí.

Evropa, donedávna kontinent, kde se toto onemocnění vyskytovalo téměř výhradně jako importovaná infekce, začíná řešit, jak se bránit infekcím na domácí půdě v důsledku rozšiřujícího se výskytu vektorů. Z Evropy je známa například velká epidemie dengue, která proběhla v Athénách a Pireu mezi lety 1927–1928. Onemocněl přibližně milión obyvatel a okolo tisíce pacientů nemoci podlehlo. V poslední době se množí informace i o jednotlivých případech autochtonního výskytu například ve Francii a Chorvatsku (2010). Výše byla již zmíněna epidemie dengue v roce 2012 na Madeiře. Nárůstá četnost a druhy neurologických komplikací. Postižena jsou obě pohlaví, napříč věkovým spektrem, i když nejčastěji vidíme neurologické potíže u dětí. Správné diagnózy jsou v našich zeměpisných šířkách problémem. Je to dáno jednak minimální zkušeností, jednak atypickými průběhy tohoto virového onemocnění u našich pacientů, na rozdíl od symptomů popisovaných u domorodého obyvatelstva v místech původního výskytu nemoci. Kvůli postupnému šíření výskytu vektoru z původních oblastí směrem na sever se ovšem toto onemocnění může stát problémem i u nás a v takovém případě je nezbytná včasná a správná diagnostika.

Aedes aegypti je zodpovědný i za další masivní epidemie dengue mimo evropský kontinent, a to jak v Americe, tak v jihovýchodní Asii. Globální incidence dengue je v posledních dvacetipěti letech jednoznačně na vzestupu [21].

Rozlišujeme čtyři klinické formy horečky dengue: inaparentní horečku dengue, klasickou horečku dengue, hemoragickou formu horečky dengue a šokový syndrom dengue.

První forma, tj. inaparentní dengue je zřejmě nejčastějším typem onemocnění. Je popisována hlavně u dětské populace v endemických oblastech, kdy pacienti mají minimální nebo vůbec žádné příznaky choroby. Usuzuje se, že takto chorobu prodělá zhruba 80 % dětí žijících v postižených oblastech.

Druhá forma, tj. klasická horečka dengue je charakterizována febrilním stavem (38–41 °C) s bolestmi hlavy, svalstva, kloubů, zad a zvracením. Tyto příznaky se objevují třetí až sedmý den po infekci. Může se objevit i fotofobie. V následujících 24 hodinách může dojít k poklesu teploty a následujícímu vývinu typického makulopapulózního, petechiálního nebo erytematózního exantému. Ten se objevuje převážně na trupu a naopak jej nenacházíme na dlaních a ploskách nohou. Nástup je typický pro druhou fázi nemoci, kdy se objevují i drobné známky krvácení (kožní léze, hematurie). Bývá popisována i změna chuti, hlavně kovová pachuť v ústech. Často se setkáváme s jaterními lézemi a mohou být přítomny neurologické symptomy. Exantém vymizí zhruba za tři až čtyři dny po ústupu teplot. Jako možné komplikace bývají popisovány myokarditidy, selhání ledvin a jater, může dojít k poškození nervové soustavy.

I u mírného průběhu onemocnění bývá rekonvalescence dlouhodobá (několik týdnů) a je spojená s nechutenstvím, únavou a depresemi.

Třetí formou je hemoragická forma horečky dengue, kterou lze mimo již výše popsané symptomy charakterizovat čtyřmi základními kritérii – teplotou, krvácivými projevy, snížením počtu trombocytů pod 100 000/mm^3 a únikem plazmy mimo krevní řečiště. Počáteční příznaky se neliší od klasické horečky dengue. K rozvoji závažného stavu dochází během dvou až sedmi dnů od nástupu teplot a často se tato forma onemocnění rozvine až po ústupu teplot. Pacienti často trpí neklidem, stěžují si na bolesti břicha a zvrací. I u této formy se objevují neurologické komplikace. Může dojít k hypotenzi, hypovolemii, šoku a onemocnění může skončit smrtí pacienta.

Riziko rozvoje této formy onemocnění je vyšší u pacientů, kteří mají protilátky proti dengue, získané při předcházející infekci nebo transplacentárně. Po primární infekci virem cirkulují v lidském organizmu preexistující protilátky IgG, které jsou však neschopné neutralizace jiného sérotypu. Ty pak tvoří imunokomplexy s viriony heterologního sérotypu, což vede k potenciaci tvorby cytokinů jak v monocytech, tak v makrofázích.

Poslední, čvrtou formou je šokový syndrom dengue. Může se projevit jako iniciální šok se známkami oběhového selhání, eventuálně přejít do rozvinutého šoku s nehmatným pulsem a neměřitelným krevním tlakem [22–24].

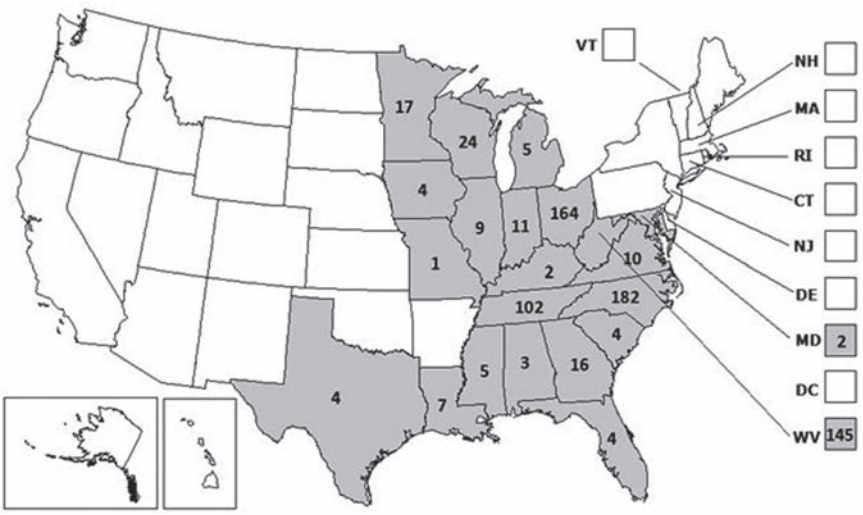
Zásadním vektorem je *A. aegypti* pro onemocnění **chikungunya**. Mapa na *obr. 4* ukazuje země a oblasti, kde bylo toto onemocnění zjištěno. Situace je podchycena do března roku 2015.

V tomto případě se jedná o onemocnění typické horečkami, myalgiemi, kožní vyrážkou a ataralgiemi, které trápí až 65 % nemocných po řadu měsíců. Během epidemie chicungunye na ostrově Reunion byla řada pacientů postižena hepatitidou a mikroencefalitidami. Další velká epidemie se odehrála v roce 2004 v Keni a následující rok postihla Komodorské souostroví. Bylo postiženo 63 % populace. Obdobně je *A. aegypti* zodpovědný za epidemii této nemoci mezi lety 2010 a 2011 v Jemenu. V tuto chvíli nemáme sice k dispozici licencovanou vakcínu, nicméně současné studie ukazují pozitivní výsledky na opicích [25].

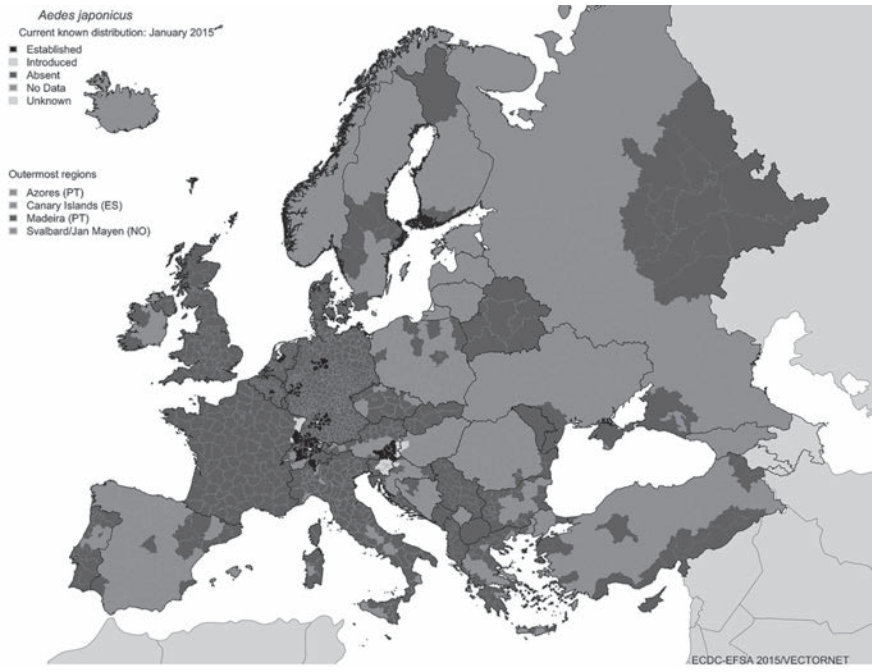
Aedes atropalpus – LaCrosse virus, západonilská horečka

Tento druh komára se typicky vyskytuje v severní Americe, nicméně v současnosti již osidluje Evropu. V roce 1979 byl nalezen ve Francii, v roce 2003 v Itálii, v Holandsku pak v roce 2009 (*obr. 5*). Jeho distribuce po Evropě,

Obr. 8
Výskyt neuroinvasivního onemocnění vyvolaného LaCrosse virem v USA během let 2004–2013 v absolutních číslech pro jednotlivé státy Unie (www.cdc.gov)



Obr. 9
Výskyt *A. japonicus* v Evropě během ledna 2015 (http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBORNET_maps.aspx)



především na severozápadě, je umožněna kvůli trhu s ojetými pneumatikami. V současnosti jsou jejich obřím importérem i exportérem USA – jen v letech 1988 až 1995 vyvezly okolo šesti miliónů pneumatik do 110 států světa, včetně Evropy. *A. atropalpus* je znám jako přenašeč La Cross viru a viru západonilské horečky [26–28].

Aedes koreicus – japonská encefalitida, dirofilarióza

Do současné doby je jeho výskyt hlášen z Ruska, Belgie a Itálie. V Itálii se konkrétně objevil v provincii Veneto, a to v roce 2011. Zdá se, že *A. koreicus* dokáže tolerovat i nižší teploty a začíná v Evropě vyhledávat urbánní oblasti (opět se jedná o ojeté pneumatiky, vyskytuje se v zahradách, ale i ve vázách a květnících na hřbitovech) (*obr. 6*). Je přenašečem viru japonské encefalitidy (konfirmováno v Rusku), což ale nikdy nebylo potvrzeno v jeho původní domovině, v Koreji. Cesta jeho přenosu do Evropy je neznámá. *A. koreicus* saje na člověku během své denní aktivity.

Panuje domněnka, že tento komár by mohl také přenášet některé parazitární zástupce obratlovců, patřící do skupiny vlasovci: *Dirofilaria immitis* na psy a *Brugia malayi* na člověka. Komáři přenášejí konkrétně své infekční larvy, tzv. mikrofilárie, které cirkulují krevním oběhem nebo migrují kůží hostitele po celém těle a stávají se snadno dostupnými krevsajícím přenašečům.

Dirofilaria immitis je až 30 cm dlouhá a u postižených psů, koček nebo i fretek parazituje v krevním řečišti (například v cévách plic a srdci). U lidí nakažených touto dirofilárií se rozvíjí těžké onemocnění plic, které je třeba chirurgicky řešit. Podobné onemocnění (včetně elefantiáz) s mírnějším průběhem způsobují v jižní a jihovýchodní Asii další druhy filárií, např. *Brugia malayi* a *Brugia timori*. Tyto parazitární nákazy se vyskytují převážně v tropických a subtropických oblastech a lidé se s nimi setkávají při zahraničních cestách. V posledních letech se ale i v našich zeměpisných šířkách objevují onemocnění, která jsou vyvolána parazity napadajícími za normálních podmínek zvířata. Mezi ně patří právě zmiňovaná dirofilarióza. Nejbližším místem výskytu byla dříve jižní Evropa. Vlivem změn klimatických podmínek dochází k rozšíření nemoci do dalších oblastí. Nebezpečí představuje i mnohem častější cestování do zahraničí se psy (*obr. 7*) [28–32].

Aedes triseriatus – La Crosse virus, západonilská horečka

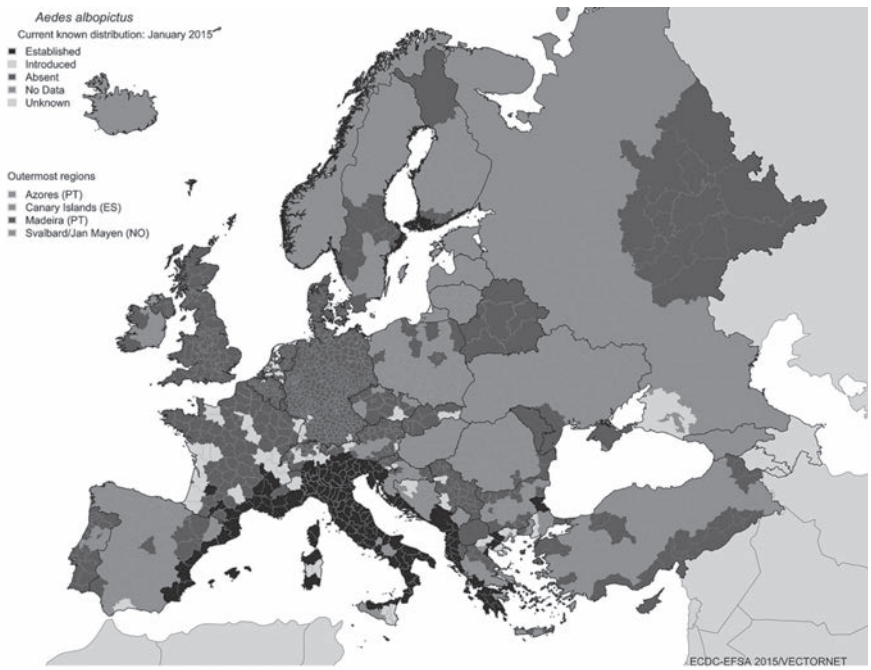
Tento komár je primárním vektorem pro La Crosse virus a bridge vektorem pro virus západonilské horečky. Převážně je rozšířen v USA (*obr. 8*), ale hrozí reálné nebezpečí jeho rozšíření v Evropě. V USA ho nacházíme hlavně v lesích východní a v centrální oblasti Severní Ameriky, nalezen byl i na jihu na ostrovech Florida Keys, v Texasu, v Ontariu, Quebecu a v Novém Brunswicku. V roce 2004 byl odchycen ve Francii, kam se dostal podle všeho opět s dovozem pneumatik, tentokráte z americké Luisiany. Od té chvíle jsou striktně používány na jeho likvidaci při dovozu pneumatik do Evropy chemické postřiky. Larvy jsou dále v přírodě nalézány v dutinách stromů s dešťovou vodou, stejně jako ve městech a vesnicích v různých nádobách, které zadržují srážky.

Tento komár preferuje savčí hostitele, jeleny a veverky, ale saje i na člověku. Stejně tak ho lze nalézt na ptácích a obojživelnících, krysách, kočkách. Tato data jsou známa díky laboratorním testům prováděným ve výzkumném centru arbovirů v Connecticutu, kdy byly analyzovány vzorky krve ze smýkaných komárů.

První případ výskytu **La Crosse viru** u člověka je znám z Wisconsinu, a to z roku 1960. Šlo zároveň o první známý fatální případ. Posléze byli zachyceni pacienti v Minnesotě, Illinois a Ohiu, v posledních dvaceti letech pak nemocní v Západní Virginii, Tennessee a Severní Karolíně.

La Crosse virus vyvolává neuroinvasivní onemocnění, v průměru u 80 až 100 případů v USA ročně. Nicméně tato čísla jsou považována za podhodnocená. Nejčastěji se toto onemocnění objevuje v pozdním jaru a přetrvává do časného podzimu. V oblasti Mexického zálivu se s ním lze setkat i v období zimy [33–37].

Obr. 10
Výskyt *A. albopictus* v Evropě během ledna 2015
(http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBORNET_maps.aspx)



Aedes japonicus – západonilská horečka, dengue, chikungunya

Tento komár je již v Evropě velmi dobře znám a opět sem byl zavlečen s pneumatikami. Je to jeden z hlavních invazivních druhů (z celkového počtu zhruba sta známých na seznamu). Jeho úspěšné rozmnožování a distribuce po centrální Evropě je alarmující (*obr. 9*). Původně pochází z Koreje a Japonska.

Samičky jsou aktivní během dne, což zvyšuje pravděpodobnost sání na člověku a zrychlení transmise jak západonilské horečky, tak dengue či chikungunyi. Laboratorní studie ukazují i na možnost jeho fungování coby vektoru pro japonskou encefalitidu, Saint Louis encefalitidu a horečku Rift Valley.

Dnes je nalézán v Rakousku, Belgii, Kanadě, Číně, Francii, Německu, Koreji, Japonsku, na Novém Zélandu, v Holandsku, Rusku, Švýcarsku, Slovinsku, na Taiwanu, v USA. Poprvé byl v Evropě zachycen v roce 2000, v severní Francii, konkrétně v Normandii v Orne. A byl zde úspěšně eliminován. Nicméně v roce 2002 byl hlášen jeho výskyt z Belgie a opět klasicky ze skládek s ojetými pneumatikami. Bylo zjištěno, že během jara 2013 se velmi dobře etabloval v Německu, v oblasti severního Rýna.

Obvykle vyhledává jezírka, pneumatiky, zahradní a parková pítka pro ptáky, osidluje vyhozené krabice od mléka na skládkách, vlhké dutiny stromů. Má rád vyšší teploty, stín. Ve Švýcarsku byl nalezen v plastových vázách na hřbitovech, ale i v bazénech. Vykazuje více venkovní než vnitřní aktivity v domech [38–41].

Aedes albopictus – chikungunya, dengue, japonská encefalitida, západonilská horečka, žlutá zimnice, StLuis encefalitida, dirofilarióza

A. albopictus patří mezi nejagresivněji se šířící druhy invazivních tropických komárů. Svědčí o tom důsledné sledování ze Spojených států – od roku 1987, kdy byl tento druh nalezen v Houstonu, ve státě Texas, osídlil dodnes 25 států Unie, tj. 678 jejich okrsků. Pravděpodobně se do USA dostal ze severní Asie, opět spolu s importovanými pneumatikami. Podle map a pozorování se zdá, že se zde tento druh komára rozšířil podél systému dálnic, tedy v souvislosti s lidskou činností. Americký Public Health Service proto již v roce 1988 nařídil veškeré dovážené pneumatiky z oblastí, kde se vyskytují invazivní druhy komárů, příslušně před dovozem ošetřit chemickými postřiky.

A. albopictus je v tuto chvíli považován za přenašeče minimálně 22 arbovirů. V Evropě se rozšířil pravděpodobně s distribucí bambusových rostlin dovážených z Číny (*obr. 10*). Byl již zaznamenán i na našem území, a to v okolí Mikulova [58].

Je velmi přizpůsobivý podnebním podmínkám, nicméně nevyhledává brakickou či slanou vodu. Saje na člověku, domácích zvířatech, plazech, ptácích, obojživelnících [42–47].

Rod *Anopheles* – malárie

Rod *Anopheles* je dobře známým přenašečem malárie. Například *A. sacharovi* byl zachycen na územích pobřeží Itálie, Sardínie, na Korsice, v Chorvatsku, v Makedonii, v Albánii, v Bulharsku a Rumunsku, v jižních oblastech bývalého Sovětského svazu, v Turecku, stejně jako v Izraeli, Libanonu, Jordánsku, Sýrii, Iráku a Iránu. Poprvé byl na evropském území odchycen v Řecku, v roce 1928, v roce 2009 pak poprvé na Kypru.

Obdobně další komár rodu *Anopheles*, *An. atroparvus*, taktéž přenášející malárii, je rozšířen od Švédska až po Portugalsko, byl odchycen na pobřeží Atlantiku, stejně jako u Baltu a ve Středozemním moři. Postupně se rozšiřuje do jižní a jihovýchodní Evropy.

A. sacharovi jednoznačně upřednostňuje brakické pobřežní vody s obsahem soli do dvaceti procent, laguny, bazény, louže na cestách, vodní kanály. Primárně osidluje nehýbající se vodu, ale ukazuje se, že je schopen tolerovat i vodní plochy, které se pohybují. Konfirmace jeho přítomnosti nebyla dosud potvrzena pro Maďarsko a Rakousko, nicméně obavy z přítomnosti tohoto komára zde jsou. Faktem je, že v určitých letech jsou komáři tohoto druhu z daných oblastí potvrzováni, nicméně v dalších desetiletích pak zprávy o jejich výskytu chybí. Nelze proto stoprocentně tvrdit, že například v roce 2015 je jisté, že se s tímto druhem setkáme ve všech výše vyjmenovaných zemích.

Tento druh komára má nejvyšší aktivitu v období od července do srpna, jeho imaga jsou schopna se přemísťovat letem až na vzdálenost 14 km, v průměru pak 3 až 5 km. Je to antropophilický druh, ale saje i na ovcích, kozách, telatech, koních, ptácích, králících a domestikovaných zvířatech. Je schopen sát jak na člověku, tak i na zvířatech současně, a mixovat tak jejich krev. Maximálně pak saje během své podvečerní a večerní aktivity.

Historicky je *An. sacharovi* znám jako vektor malárie z Arménie, Turecka, Sýrie, Iráku a Iránu, stejně jako z Řecka a Turecka. Obdobně je zodpovědný za transmisi tohoto onemocnění na Korsice, ve Francii, na Balkáně, v Itálii a v Rumunsku. V poslední době byl potvrzen pro infekci u 42 autiochtonních infekcí *Plasmodium vivax* v Řecku v roce 2011 a 17 autochtonních případů v Řecku v letech 1990 a 2010 [48–54].

Závěr

V boji proti zmiňovaným infekčním nemocem je nesmírně důležitá prevence. Ideálním prostředkem je očkovací látka, bohužel v tomto případě máme k dispozici pouze vakcínu proti žluté zimnici. Na druhou stranu pravidelně jsou publikovány informace o kandidátních vakcínách, jejich vývoji a různých stadiích testování – v tomto případě vede snaha o vakcínu proti dengue a malárii. V poslední době je velmi často zmiňována otázka vakcíny proti Zika viru.

Důležitým preventivním opatřením je likvidace komárů a lokalit, ve kterých se mohou úspěšně množit, stejně jako maximální opatření pro zamezení kontaktu mezi komárem a člověkem (WHO vypracovalo seznam chemikálií, které hubí i komáří larvy). To znamená aktivní používání repelentů, věnování dostatečné pozornosti oblečení, přednostně světlejších barev a s dlouhými rukávy a nohavicemi, používání moskytiér, sítí v oknech a ve dveřích. Pomáhá i zapnutá klimatizace, protože proudění vzduchu nemá tento hmyz v oblibě. Při pobytu v tropech se doporučuje nejprve aplikovat krémy na opalování a poté na tato místa nanést repelenty.

Repelenty jsou obvykle určeny pro aplikaci přímo na kůži nebo pak na různý materiál. Další možnost zahrnuje repelenty obsahující permethrin, který není primárně určen na kůži, ale občas se na ni v kombinaci s dalšími látkami používá. Na pokožku můžeme aplikovat produkty s aktivními složkami DEET (*N,N*-diethyl-*m*-toluamid; *N,N*-diethyl-3-methyl-benzamid), IR3535 (3-[*N*-butyl-*N*-acetyl]-aminopropionová kyselina, ethyl ester), picaridin (1-methylpropylester kyseliny 2-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-karboxylové) nebo PMD (para-menthane-3,8-diol; olej z eukalyptu citrónového), které poskytují dlouhotrvající protekci. Aktivní složky DEET a picaridin jsou podle EPA charakterizovány jako „konvenční repelenty“, zatímco PMD a IR3535 jako „pesticidní repelenty“ [55–57]. Zajímavostí je, že některé účinné látky schválené například pro Spojené státy není povoleno používat v Evropě. Mnohé komerční výrobky pak obsahují specifikace, pro který typ biotopu jsou určeny, a od toho se také odvíjejí obsahy a druhy učinných látek v nich obsažené.

Děti vyžadují zvláštní opatření. Pokud jsou mladší dvou měsíců, není vhodné repelenty používat. Děti je třeba opět vhodně oblékat, zakrývat končetiny, postýlky, kolébky překrývat sítí. V případě, že dítě je starší dvou měsíců, aplikuje dospělý repelent na své ruce a rozetře vše na dětský obličej, s výjimkou úst a očních víček.

Kojící ženy by měly používat pouze repelenty označené jako vhodné pro tuto skupinu.

Práce byla podpořena grantem 15-31847A Vývoj nových dezinfekčních činidel proti patogenům vyskytujícím se v nemocničním prostředí a Dlouhodobým záměrem rozvoje organizace 1011.

Literatura

1. Medlock JM, Hansford KM, Versteirt V, et al. An entomological review of invasive mosquitoes in Europe. *Bulletin of Entomological Research.* 2015;23:1–27.
2. Schaffner F, Angel G, Geoffroy B, et al. The mosquitoes of Europe. Montpellier, France: IRD Edition and EID Méditerranée; 2001.
3. Ramsdale C, Snow K. Distribution of the genus Anopheles in Europe. *Eu Mosq Bull.* 2000;7:1–26.
4. ECDC. Epidemiological update: Outbreak of dengue in Madeira, Portugal [Update 14 Feb 2013] Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2013 [31 March 2014]. Available from: http://ecdc.europa.eu/en/press/news/_layouts/forms/News_DispForm.aspx?List=8db7286c-fe2d-476c-9133-18ff4cb1b568&ID=23.
5. Scholte EJ, Schaffner F. Waiting for the tiger: establishment and spread of the Aedes albopictus mosquito in Europe. In: Takken W, Knols BGJ, editors. Emerging pests and vector-borne diseases in Europe. 1. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2007;241–260.
6. Caminade C, Medlock JM, Ducheyne E, et al. Suitability of European climate for the Asian tiger mosquito Aedes albopictus: recent trends and future scenarios. *J R Soc Interface.* 2012;9(75):2708–2717.
7. Leisnham PT, Juliano SA. Impacts of climate, land use, and biological invasion on the ecology of immature Aedes mosquitoes: implications for La Crosse emergence. *EcoHealth.* 2012;9(2):217–228.
8. Thomas SM, Obermayr U, Fischer D, et al. Low-temperature threshold for egg survival of a post-diapause and non-diapause European aedine strain, Aedes albopictus (Diptera: Culicidae). *Parasit Vectors.* 2012;5:100.
9. Zammarchi D, Tappe D, Fortuna ME, et al. Zika virus infection in a traveller returning to Europe from Brazil, March 2015. *Euro Surveilll.* 2015;23:21153.
10. Imperato PJ. The convergence of a virus, mosquitoes, and human travel in globalizing the Zika virus. *J Community Health.* 2016;33:78–86.
11. EB Hayes. Zika virus outside Africa. *Emerg Infect Dis.* 2009;15:1347–1350.
12. Musso D, Baud D. Zika virus time to move from case reports to case control. *Lancet Infect Dis.* 2016;1:33–36.
13. Wong SS. Zika virus – the next wave after dengue? *J Formosan Medical Assoc.* 2016;3:56–67.
14. Choumet V, Despres P. Dengue and other flavivirus infections. *Rev Sci Tech.* 2015; 34(2): 473–472.
15. Haddow MC, Williams JP, Woodall. Twelve isolations of Zika virus from Aedes (Stegomyia) africanus (Theobald) taken in and above a Uganda forest. Bull World Health Organ. 1964;34:57–69.
16. Enfissi J, Codrington J, Roosblad M. Zika virus genome from the Americas. *Lancet.* 2016;387:227–228.
17. Zmurko J, Neyts K, Dallmeier F. NS4b, chameleon and jack-in-the-box roles in viral replication and pathogenesis, and a molecular target for antiviral intervention. *Rev Med Virol.* 2015;25:205–223.
18. Idrees S, Ashfaq UA. RNAi: antiviral therapy against dengue virus. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2013;13:232–236.
19. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/226377834.
20. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_012532.1.
21. Jansen CC, Beebe NW. The dengue vector Aedes aegypti: what comes next? *Microbes Infect.* 2010;12(4):272–279.
22. Solomon T, Dung NM, Vaughn DW. Neurologic manifestation of dengue infection. *Lancet.* 2000;344:1053–1059.
23. Misra UK, Kalita J, Syam UK, et al. Neurological manifestations of dengue infection. *Lancet.* 2000;25(355):1053–1059.
24. Gulati S, Maheshwari A. Atypical manifestation of dengue. *Trop Med Internat Health.* 2007;12(9):1087–1095.
25. Soumahoro MK, Fontenille D, Turbelin C, et al. Imported chikungunya virus infection. *Emerg Infect Dis.* 2010;16(1):162–163.
26. Nawrocki SJ, Craig GB, Jr. Further extension of the range of the rock pool mosquito, Aedes atropalpus, via tire breeding. *J Am Mosq Control Assoc.* 1989; 5(1):110–114.
27. Armistead JS, Nishimura N, Escher RL, et al. Larval competition between Aedes japonicus and Aedes atropalpus (Diptera: Culicidae) in simulated rock pools. *J Vector Ecol.* 2008;33(2):238–246.
28. Kesavaraju B, Brey CW, Farajollahi A, et al. Effect of malathion on larval competition between Aedes albopictus and Aedes atropalpus (Diptera: Culicidae). J Med Entomol. 2011;48(2):479–484.
29. Versteirt V, De Clercq EM, Fonseca DM, et al. Bionomics of the established exotic mosquito species Aedes koreicus in Belgium, Europe. *J Med Entomol.* 2012; 49(6):1226–1232.
30. Capelli G, Drago A, Martini S, et al. First report in Italy of the exotic mosquito species Aedes (Finlaya) koreicus, a potential vector of arboviruses and filariae. *Parasit Vectors.* 2011;4:188.
31. Korean Centre for Disease Control. Elimination of Lymphatic filariasis in Korea. National document for certification. Republic of Korea: National Institute of Health. Centres for Disease Control and Prevention, Ministry of Health and Welfare, 2007.
32. Tanaka K, Mizusawa K, Saugstad ES. A revision of the adult and larval mosquitoes of Japan (including the Ryukyu Archipelago and the Ogasawara islands) and Korea (Diptera: Culicidae). *American Entomological Institute.* 1979;16:1–987.
33. Shroyer DA, Craig GB, Jr. Egg diapause in Aedes triseriatus (Diptera: Culicidae): geographic variation in photoperiodic response and factors influencing diapause termination. *J Med Entomol.* 1983;20(6):601–607.
34. Barker CM, Paulson SL, Cantrell S, et al. Habitat preferences and phenology of Ochlerotatus triseriatus and Aedes albopictus (Diptera: Culicidae) in southwestern Virginia. *J Med Entomol.* 2003;0(4):403–410.
35. Turell MJ, Dohm DJ, Sardelis MR, et al. An update on the potential of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile Virus. *J Med Entomol.* 2005;42(1):57–62.
36. Turell MJ, O'Guinn ML, Dohm DJ, et al. Vector competence of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. *J Med Entomol.* 2001;38(2): 130–134.
37. Freier JE, Beier JC. Oral and transovarial transmission of La Crosse virus by Aedes atropalpus. *Am J Trop Med Hyg.* 1984;33(4):708–714.
38. Kampen H, Zielke D, Werner D. A new focus of Aedes japonicus japonicus (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) distribution in Western Germany: rapid spread or a further introduction event? *Parasit Vectors.* 2012;5:284.
39. Werner D, Kampen H. The further spread of Aedes japonicus japonicus (Diptera, Culicidae) towards northern Germany. *Parasitol Res.* 2013;112(10):3665–3668.
40. Cameron EC, Wilkerson RC, Mogi M, et al. Molecular phylogenetics of Aedes japonicus, a disease vector that recently invaded Western Europe, North America, and the Hawaiian islands. *J Med Entomol.* 2010;47(4):527–535.
41. Alto BW. Interspecific larval competition between invasive Aedes japonicus and native Aedes triseriatus (Diptera: Culicidae) and adult longevity. *J Med Entomol.* 2011;48(2):232–242.
42. Romi R, Severini F, Toma L. Cold acclimation and overwintering of female Aedes albopictus in Roma. *J Am Mosq Control Assoc.* 2006;22(1):149–151.
43. Roiz D, Rosa R, Arnoldi D, et al. Effects of temperature and rainfall on the activity and dynamics of host-seeking Aedes albopictus females in northern Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010;10(8):811–816.
44. Giatropoulos A, Emmanouel N, Koliopoulos G, et al. A study on distribution and seasonal abundance of Aedes albopictus (Diptera: Culicidae) population in Athens, Greece. *J Med Entomol.* 2012;49(2):262–169.

45. Valerio L, Marini F, Bongiorno G, et al. Host-feeding patterns of Aedes albopictus (Diptera: Culicidae) in urban and rural contexts within Rome province, Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010;10(3):291–294.
46. Laird M, Calder L, Thornton RC, et al. Japanese Aedes albopictus among four mosquito species reaching New Zealand in used tires. *J Am Mosq Control Assoc.* 1994;10(1):14–23.
47. Werner D, Kronefeld M, Schaffner F, et al. Two invasive mosquito species, Aedes albopictus and Aedes japonicus japonicus, trapped in south-west Germany, July to August 2011. *Euro Surveill.* 2012;17(4):20067.
48. De Buck A, Shoute E, Swellengrebel NH. Racial differentiation of Anopheles maculipennis in the Netherlands and its relation to malaria. *Riv Malariol.* 1930; 9:97–109.
49. Capinha C, Gomes E, Reis E, et al. Present habitat suitability for Anopheles atroparvus (Diptera, Culicidae) and its coincidence with former malaria areas in mainland Portugal. *Geospat Health.* 2009;3(2):177–187.
50. Lourenco PM, Sousa CA, Seixas J, et al. Anopheles atroparvus density modeling using MODIS NDVI in a former malarious area in Portugal. *J Vector Ecol.* 2011; 36(2):279–291.
51. Hackett LW, Missiroli A. The varieties of Anopheles maculipennis and their relation to the distribution of malaria in Europe. *Riv Malariol.* 1935;14:1–67.
52. Poncon N, Toty C, L'Ambert G, et al. Biology and dynamics of potential malaria vectors in Southern France. *Malar J.* 2007;6:18.
53. Sedaghat MM, Linton YM, Nicolescu G, Smith L, Koliopoulos G, Zounos AK. Morphological and molecular characterization of Anopheles (Anopheles) sacharovi Favre, a primary vector of malaria in the Middle East. *Syst Entomol.* 2003; 28(2):241–256.
54. Sousa CA. Malaria vectorial capacity and competence of Anopheles atroparvus: implications for the potential re-emergence of malaria in Portugal. New University of Lisbon, Portugal; 2008.
55. http://www.malariajournal.com/content/13/1/344.
56. http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/yellow-fever/basics/prevention/con-20032263.
57. http://www2.epa.gov/insect-repellents/skin-applied-repellent-ingredients.
58. Sebesta O, Rudolf I, Betasova L, et al. An invasive mosquito species Aedes albopictus found in the Czech Republic, 2012. *Euro Surveill.* 2012;17(43):20301.

POSTERY
Kongresu klinické mikrobiologie, infekčních nemocí a epidemiologie – KMINE 2015
23.–25. září 2015, Špindlerův mlýn

2. část

Naše první klinické zkušenosti s novou formou bakteriální imunomodulační vakcíny – nazálním sprejem

Haasová K., Freigangová D., Richter J., Král V., Jílek D.
Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem, Centrum imunologie a mikrobiologie

Nazální aplikace vakcín se stává v posledních 15 letech přitažlivou možností vakcinace jak virovými, tak bakteriálními antigeny. Její předností je nejenom snadná dostupnost sliznice s vysokou vaskularizací a rozsáhlou plochou pro prezentaci antigenu, ale i razantní slizniční i systémová reakce s ochranou i vzdálených slizničních povrchů, s rychlejší odpovědí na daný antigenní impuls. Neagresivní aplikace je preferovanou možností dalšího uplatnění v širším měřítku a její vývoj je podporován Světovou zdravotnickou organizací.

Uvedené skutečnosti nás vedly k vývoji vakcín pro nazální aplikaci na našem oddělení. Prezentujeme první klinické zkušenosti aplikace nazálních vakcín u pacientů s diagnózou opakovaných a perzistujících infekcí dýchacích cest. Pacientům aplikujeme denně jednu dávku vakcíny vstřikem do každé nosní dírky po dobu šesti měsíců. U všech pacientů byla provedeno vstupní bakteriologické a imunologické vyšetření s důrazem na sledování nespecifické i adaptivní imunitní odpovědi jak slizniční, tak celkové. Po třech měsících aplikace bylo opakováno vyšetření slin a bakteriologické vyšetření výtěru z krku a nosu. Po dalších třech měsících (po ukončení kúry) bylo provedeno opakované vyšetření v celém rozsahu a vyhodnocen klinický stav pacientů. U pacientů s onemocněním respiračního traktu došlo po aplikaci vakcíny k významnému zlepšení klinického stavu. V malém procentu pacientů došlo k nepříznivým pocitům při aplikaci vakcíny – pálení v nose, epistaxe. Tyto skutečnosti nás vedou k tomu, abychom věnovali pozornost dalšímu zlepšení kvality nazálních vakcín a jejich rozšířené aplikaci.

I přes zatím poměrně malý počet pacientů lze konstatovat, že klinické i laboratorní výsledky ukazují ve shodě s literaturou na to, že nazální aplikace bakteriálních vakcín má svoje pozitivní uplatnění.

Genotypizace kmenů *Cronobacter* spp. izolovaných z klinických materiálů

Holý O.[1], Petrželová J.[2], Vlčková J.[1], Röderová M.[2], Kollárová H.[1]
[1]Ústav preventivního lékařství, LF UP v Olomouci, [2]Ústav mikrobiologie, LF UP v Olomouci

Světová zdravotnická organizace uznala všechny zástupce rodu Cronobacter jako mikroorganizmy patogenní pro člověka. Do tohoto rodu, který náleží do čeledi Enterobacteriaceae, řadíme: *C. sakazakii*, *C. malonaticus*, *C. muytjensii*, *C. turicensis*, *C. dublinensis*, *C. universalis* a *C. condimenti*. Nicméně pouze *C. sakazakii*, *C. malonaticus*, *C. universalis* a *C. turicensis* jsou druhy s klinickým výskytem. Infekce jsou nejčastěji spojovány s výskytem u novorozenců. Byly ovšem popsány i případy izolací u starší populace, imunokompromitovaných pacientů, případně pacientů s jiným základním onemocněním. Celkově bylo do této studie zahrnuto 51 kmenů, které pocházely z FN Olomouc a Nemocnice Prostějov, nejčastěji z interní a dětské kliniky. Většina klinických izolátů v této studii pochází od pacientů patřících do věkové skupiny 15+ let a nejčastějším klinickým materiálem bylo sputum a výtěr krku. Genotypizace těchto kmenů byla provedena na základě Multi Locus Sequence Typing – MLST (7 lokusů – atpD, fusA, glnS, gltB, gyrB, infB, ppsA), plus byla analýza rozšířena na sekvenaci genu rpoB. Dále byla provedena typizace O-antigenu a pulzní gelová elektroforéza (PFGE) pro zjištění klonality. Celkově byl zachycen 33× *C. sakazaki*, 17× *C. malonaticus* a 1× *C. muytjensii*. Výsledek pro sekvenci rpoB genu ukázal přítomnost 4 profilů a podobný počet profilů byl identifikován i za použití MLST. Výsledky MLST odhalily převahu *C. sakazakii* ST4 (62,7 %) a *C. malonaticus* ST7 (33,3 %). Dle PFGE došlo k celkovému seskupení do 15 pulzotypů; 9 pro *C. sakazakii*, 5 pro *C. malonaticus* a 1 pro *C. muytjensii*. Sérotypizace *C. sakazakii* ST4 a ST64 dal CS O: 2 sérotyp, zatímco *C. malonaticus* ST7 dal CMA O: 2 sérotyp. Byla pozorována vysoká klonalita u většiny kmenů izolovaných ze stejné nemocnice, a to v průběhu dlouhého časového období.

Epidemiologický význam metabolického syndromu

Horáková D., Azeem K., Horák V., Dumbrovská L., Vlčková J., Kollárová H.
Ústav preventivního lékařství LF UP Olomouc

V současné době probíhají na celém světě odborné diskuze, které se týkají aspektů metabolického syndromu jako nozologické jednotky, a je užíván termín kardiometabolický

syndrom. Je diskutována samostatnost metabolického syndromu a existují rovněž kritické připomínky ze strany diabetologické společnosti v tom smyslu, že diagnóza metabolického syndromu nemá pro daného jedince praktický význam pouze jako průkaz aktuálně přítomných symptomů. Předmětem odborných diskuzí poslední doby jsou otázky vztahů jednotlivých komponent syndromu, jejich souvislostí s kardiovaskulárními onemocněními ve vztahu k predikci rizika onemocnění a také se modifikují diagnostická kritéria metabolického syndromu.

Metabolický syndrom je onemocnění s poměrně vysokou prevalencí. Metabolický syndrom v podmínkách vyspělých populací světa dle odhadů může postihovat více než 30 % obyvatel. Platí také, že výskyt jedné složky metabolického syndromu je prediktorem vzniku složek dalších. Nejdříve se objevuje hypertriglyceridémie, později zvětšení obvodu pasu. Alespoň jednu složku metabolického syndromu získá během života až 80 % populace. Detekce metabolického syndromu v ordinaci praktického lékaře má největší význam pro primární prevenci kardiovaskulárních nemocí a diabetu 2. typu. V primární prevenci bychom se měli zaměřovat nejen na klasické rizikové faktory (BMI, krevní tlak, triglyceridémie, glykémie), ale i nové metabolické biomarkery, které umožňují časnou predikci metabolických změn, jako jsou inzulinémie, CRP, adiponektinémie, kyselina močová a další.

Z praktického hlediska záchyt metabolického syndromu má význam zejména pro odhad kardiovaskulárního rizika a rizika rozvoje diabetu 2. typu. Diagnóza metabolického syndromu identifikuje rizikové jedince, u kterých je potřebná změna životního stylu. Hlavní význam bývá spatřován v tom, že upozorňuje na hrozící nebezpečí a nezbytnost důsledné intervence.

Podpořeno grantem IGA LF 2015 014.

Literatura

Sucharda P. Obezita – klasifikace, etiologie a epidemiologie. In: Svačina Š, a kol. Poruchy metabolismu a výživy. Praha, Galén, 2010:307–310.

Svobodová Š., Topolčan O. Metabolický syndrom, predikce, prevence. *Interní Med.* 2012;14(11):412–414.

Welty FK, Alfaddagh A, Elajami TK. Targeting inflammation in metabolit syndrome. *Transl Res.* 2015;S1931–5244(15):222–224.

CMV resistance in patients after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation

Hubacek P.[1], Kouba M.[2], Boutolleau D.[3], Pliskova L.[4], Vejrazkova E.[5], Keslova P.[6], Sedlacek P.[1], Cetkovsky P.[2]

[1]Department of Paediatric Haematology and oncology, 2nd Medical Faculty of Charles University and Motol University Hospital, Prague, [2]Institute of Haematology and Blood transfusion, Prague, [3]Virology Department, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France, [4]Department of clinical biochemistry and diagnostics, University Hospital Hradec Kralove, Hradec Kralove, [5]Department of hematology and internal medicine, University Hospital Hradec Kralove, Hradec Kralove, [6]Department of Paediatric Haematology and oncology, Motol University Hospital, Prague

Background: Human cytomegalovirus (CMV) reactivation can cause a life threatening disease in allogeneic haematopoietic stem cell transplant (HSCT) recipients. Increasing number of HSCT recipients experiencing the virostatic treatment brings a necessity of better understanding of consequences of CMV infection, including the presence of development of CMV resistance to therapy in UL97 and UL54 CMV genes.

Materials and methods: Between January 2003 and June 2015, we obtained 10,193 whole blood samples from 337 children and 20,454 from 744 adult patients drawn weekly during 3 months after HSCT, less frequently thereafter (median 25/patient) for prospective testing of viral infections. Additional 3,428 biological samples from these patients were obtained during this period. DNA was isolated from whole blood samples using Qiagen DNA Blood Mini Kits and Qiagen DNA Mini Kits in case of most of the rest samples. Viral loads were tested using quantitative real-time PCR technology and CMV quantity was normalized to 100,000 human genomic equivalents assessed by quantification of albumine gene in the samples.

Results: CMV DNA was detected in 7,193 samples from 147 children and 477 adult patients. Viral load of load > 1,000 normalised viral copies (NCVs) which is a threshold for treatment was detected 92 children and 248 adults. Clinical resistance due to non-decrease or increase of viral load after 2 weeks of well conducted virostatic treatment was suspected in 80 adults (32.3%) and 30 (32.6%) children patients. Sequence analysis proved CMV resistence in 7 children (4.7% of treated pts.; 4 boys and 3 girls) and 13 adult patients (5.2% of treated; 7 men and 6 women). Most frequently detected resistance coding mutation in UL97 L959S in 6 pts., A594V in 6 pts., M460V in 2 pts., and A591V, L595F, G598S, C592G and del597-599 in 5 pts. and in 6 pts. mutations del981-982, N408K, V715M, P522S, L545S, T700A. We detected mutations in both UL97 and UL54 genes in 3 patients. Among these, genotypes gB1gH1 was observed in 5 pts., gB3gH1 and gB1gH2 in 4 pts., gB4gH2 in 2 pts., gB2gH1 and gB2gH2 in 2 pts. and infection with more than 1 CMV strain (gB1,gH1,2, gB2, gH1,2 and gB1,3gH1,2) in 3 patients. Resistance was detected with median of 190 days after HSCT (range 53–2105 days) and viral load of 4,245 NVCs. 75% of patients with detected resistance deceased during the observation period; one of them due to histologically proved florid CMV pneumonia.

Conclusion: Resistance to virostatic treatment is an important phenomenon of increasing importance in consequence of different viral infections including CMV. Impact of such changes has undoubtful impact on the long term outcome of the patients.

Supported by grant of Internal Grant Agency of Ministry of Health of Czech Republic NT/13691-4.

Chromosomally integrated HHV-6 in healthy donor and patients treated for haematological malignancy

Hubacek P.[1,2], Hrdlickova A.[1], Muzikova K.[1], Briksi A.[2], Zelezna I.[2], Spacek M.[3], Zajac M.[2], Sedlacek P.[1], Cetkovsky P.[4], Stary J.[1]

[1]Dept. of Paediatric Haematology and Oncology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University and Motol University Hospital, Prague, [2]Dept. of Medical Microbiology, Motol

University Hospital, Prague, [3]Department of a Clinical Haematology, Third Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Kralovske Vinohrady, Prague, [4]Department of Clinical Haematology, Institute of Haematology and Blood Transfusion, Prague

Background: Chromosomal integration of Human herpesvirus 6 (ci-HHV-6) is a biological phenomenon in which HHV-6 viral DNA integrates into telomeric part of the chromosomes and can be vertically inherited from parent to child. Therefore viral DNA is present in every cell of the organism and the ratio of human and viral DNA is about 1 : 1.

Methods: We aimed to find the frequency of ci-HHV-6 in the samples from 1,065 patients treated for haematological, mainly malignant, disease (ALL, AML, Hodgkin Lymphoma) and allogeneic stem cell transplant recipients in a Czech centres between the years 1995– May 2015. Samples were primarily used for detection of minimal residual disease or viral detection. To confirm the frequency also in a general population, we have tested DNA samples from 420 healthy donors. HHV-6 DNA was detected by RQ-PCR. Viral DNA load was normalised to 100,000 human genome equivalents assessed by quantification of albumin gene. Ci-HHV-6 was confirmed by detection of viral DNA in the nail samples. Screening of the nail clippings obtained from the donors from general population was used for. DNA was extracted by using Qiagen DNA Blood Mini and Qiagen DNA Micro Kit according to the manufacturer\'s instruction. IgM and IgG antibody levels were detected in sera samples from 148 patients at time of diagnosis and ci-HHV-6 carriers. Antibody detection was performed using PanBio ELISA kits.

Results: Ci-HHV-6 was detected in 13 patients (1.2%) and in 5 healthy donors (1.2 %). Vertical transmission of ci-HHV-6 in the relatives was confirmed by family studies. Both variants of the virus were detected in patients and healthy donors respectively – A (9 + 2) and B (4 + 3). We have detected common reactivation HHV-6 B DNA in 6 patients with ci-HHV-6 A treated with chemotherapy, same as in allogeneic stem cell transplant recipients. Four patients underwent allogeneic HSCT and two were transplanted from the donor with ci-HHV-6. In one patient transplanted with Ci-HHV-6 donor, we detected post-transplant donor deriver EBV associated lymphoproliferative disease. We did not observe any HHV-6 related complications in the patients. We did not detect a difference in an antibody levels in the patients with and without ci-HHV-6.

Conclusions: Similar frequency of ci-HHV-6 does not suggest any risk of this phenomenon on the development of haematological malignancies. Same antibody profile and HHV-6 B reactivation suggest the similar behaving of the HHV-6 infection in ci-HHV-6 carriers and in general population. Our experience suggests the ci-HHV-6 to be important only with potentially harmful virostatic treatment.

Supported by grant of Internal Grant Agency of Ministry of Health of Czech Republic NT/13691-4 and NS 9907-4.

Bakteriémie způsobené *S. aureus* včetně MRSA jako indikátor kvality péče – léčebné a preventivní intervence

Chrdle A., Filipová P., Horníková M., Šípová I., Chmelík V.

Infekční oddělení, Antibiotické středisko, Pracoviště nemocniční epidemiologie, Nemocnice České Budějovice, a. s., Tropical and Infectious Disease Unit, Royal Liverpool University Hospital, Liverpool, Velká Británie

Mottto: „Pokud je problém v rámci daného systému neřešitelný, stává se systémovou chybou a lze jej odstranit pouze změnou systému."

Úvod: *Staphylococcus aureus* včetně kmenů rezistentních na methicilin (MRSA) je významnou příčinou bakteriémických epizod ve spojitosti s poskytováním zdravotní péče. Bakteriémie způsobená *S. aureus*, a to především MRSA, významně prodlužuje dobu hospitalizace a zvyšuje mortalitu jak během dané hospitalizace, tak i během dalšího sledování po 90 dnech a 1 roce. Pracoviště s vypracovanou metodikou surveillance a intervence mohou využívat poznatků medicíny založené na důkazech napříč jednotlivými odbornostmi a odděleními a systémově zlepšovat jak způsob léčby nemocných, tak především mohou těmto stavům předcházet.

Metody: Od roku 2013 probíhá v Nemocnici České Budějovice, a. s., průběžné sledování bakteriémií způsobených *S. aureus*. Členy týmu jsou infektolog, mikrobiolog a nemocniční epidemiolog. Na základě periodického klinického auditu a re-auditu těchto bakteriémií se podařilo identifikovat oblasti, kde jednotlivé intervence sníží jejich mortalitu a morbiditu, ale hlavním cílem je snížení incidence stafylokokových bakteriémií spojených se zdravotní péčí.

Výsledky: Dosud zavedená opatření vycházející z výsledků klinických auditů jsou:

1. Nemocniční doporučený postup (směrnice generálního ředitele) péče o pacienty se stafylokokovou bakteriémií.
2. Mandatorní/automatické infektologické/klinické konsilium u lůžka nemocného.
3. Aktualizovaný způsob alikvotace a zpracování vysoce důležitého/neopakovatelného biologického materiálu.
4. Jednotný algoritmus léčby vankomycinem.
5. Nový algoritmus péče o periferní kanyly s cílem snížit výskyt flebitid.

Dalšími připravovanými kroky jsou:

6. Indikační schéma přidání rifampicinu do dvojkombinace k protistafylokokovému antibiotiku.
7. Automatické upozornění na doporučený postup při hlášení výsledků pozitivní hemokultury v laboratorním i nemocničním informačním systému.
8. Indikační schéma pro jícnové versus transthorakální echokardiografické vyšetření.

Závěr: Jednotný postup při poskytování zdravotní péče nemocným s bakteriémií způsobenou MRSA v rámci velké nemocnice se zapojením multidisciplinárního týmu vede k větší penetraci účinných postupů založených na důkazech na jednotlivá oddělení, a tím se zvyšuje šance na přežití a úzdravu při již vzniklém onemocnění. Dále analýza výchozích příčin u jednotlivých případů vede k odhalení systémových chyb a jejich odstranění umožňuje omezit výskyt těchto závažných stavů.

Surveillance IPO v České republice, 2014

Kozáková J., Šebestová H.

SZÚ, Praha, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, NRL pro streptokokové nákazy

V roce 2014 bylo do surveillance databáze (spojující data NRL a data EPIDATu) zařazeno celkem 337 případů invazivních pneumokokových onemocnění (IPO). Celková nemocnost IPO v roce 2014 klesla na 3,2/100 000 oproti roku 2013 (4,0/100 000) v důsledku snížení nemocnosti ve věkové skupině 0–11 měsíců (z 9,2/100 000 na 6,5/100 000) a snížení nemocnosti dospělých a seniorů. V ostatních věkových skupinách zůstává nemocnost na stejných hodnotách jako v roce 2013.

I v roce 2014 jsme zaznamenali nízký počet očkovaných případů IPO pneumokokovými vakcínami – pouze 20 případů. V cílové vakcinační skupině pro PCV bylo očkováno pouze 1 dítě ze 7 případů IPO. Z 25 případů IPO ve věkové skupině dětí pod 5 let věku bylo 11 očkováno.

Celková smrtnost zůstává téměř stejná jako v roce 2013 (15,4 %). Bylo zjištěno 52 úmrtí IPO. Zaznamenali jsme 2 úmrtí v nejnižší věkové kategorii 0–11 m.

Z 337 případů IPO bylo zasláno do NRL k typizaci 308 (92 %) izolátů *S. pneumoniae.*

7 případů IPO identifikováno z klinického materiálu PCR metodou. V celkovém počtu 308 typovaných izolátů byl sérotyp 3 v roce 2014 zastoupen nejčastěji.

Molekulární typizace *Clostridium difficile* – mapování epidemiologické situace v ČR

Krůtová M., Matějková J., Nyč O.

Ústav lékařské mikrobiologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha

Úvod: *C. difficile* je významným patogenem vyvolávajícím střevní infekce zpravidla v souvislosti s předchozí nebo současnou antibiotickou terapií. Infekce vyvolané *C. difficile* (CDI) se vyznačují vysokou mortalitou a značnou ekonomickou zátěží pro zdravotnické zařízení. Zmapování epidemiologické situace CDI v ČR v letech 2013–2015 bylo náplní projektu IGA NT 14209-3.

Materiál a metody: Izoláty *C. difficile* od hospitalizovaných pacientů s podezřením na CDI byly zasílány v průběhu studie k typizaci z různých mikrobiologických pracovišť v ČR. Typizace byla provedena pomocí PCR ribotypizace založené na kapilární elektroforéze s použitím Webribo databáze k porovnání elektroforetických profilů.

Výsledky: Ribotypizace byla provedena u 2 052 izolátů *C. difficile* v období 2013–2015. K ribotypu 176 příslušelo 454 izolátů (22,1 %) a jako ribotyp 001 bylo určeno 384 izolátů (18,7 %). Zastoupení nejčastěji se vyskytujících toxigenních ribotypů v jednotlivých letech je zobrazeno na grafu 1. Spektrum dalších signifikantně se opakujících ribotypů odpovídá spektru toxigenních ribotypů vyskytujících se v Evropě. Celosvětově sledovaný ribotyp 027 byl identifikován ve třech případech, z toho dvě infekce byly potvrzeny jako importované (Německo, Srbsko).

Závěr: PCR-ribotyp 001 a 176 jsou predominantními ribotypy v ČR. Zatímco ribotyp 001 se vyskytuje v řadě evropských zemí, ribotyp 176, blízce geneticky příbuzný k ribotypu 027, byl identifikován na území ČR a Polska. Oba tyto ribotypy se vyznačují akumulací rezistence k řadě antibiotik. Zůstává otázkou, které molekulární mechanizmy usnadňují těmto epidemickým ribotypům šíření v nemocničním prostředí ve srovnání s ostatními ribotypy identifikovanými ve studii.

Zjištěné epidemiologicky nepříznivé výsledky podtrhují nutnost zavedení jednotné surveillance CDI v ČR.

Molekulární typizace izolátů C. difficile byla provedena s podporou grantu MZ ČR – IGA NT/14209-3.

Poděkování: Děkujeme všem, kteří se s námi na projektu podíleli. Dále jmenovitě European Study Group for Clostridium difficile (ESGCD) za profesionální podporu.

Akutní virová hepatitida E u pacientů hospitalizovaných na Klinice infekčních nemocí (KIN) FN Hradec Králové letech 2009–2015

Machač J.[1,2], Plíšek S.[1], Chlíbek R.[2], Bunčeková S.[3], Plíšková L.[4]

[1]Klinika infekčních nemocí, LF UK a FN Hradec Králové, [2]Katedra epidemiologie, Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany Hradec Králové, [3]Infekční oddělení, Pardubická krajská nemocnice a. s., [4]Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové

Úvod: Etiologickým agens onemocnění je neobalený RNA virus řadící se do čeledi Hepeviridae (HEV). Vlastní virus se vyskytuje ve čtyřech genotypech. Genotypy 1 a 2 tvoří humánní viry s feko-orálním přenosem a epidemickým výskytem častějším v rozvojových zemích. Genotypy 3 a 4 se vyskytují u divokých i domácích prasat. Přenos se realizuje nejčastěji konzumací nedostatečně tepelně upraveného vepřového masa či masných produktů. Tento typ výskytu je typický především pro rozvinuté země. V České republice je zaznamenáván setrvalý vzestup incidence tohoto onemocnění.

Průběh akutní hepatitidy E je u imunokompententních jedinců, vyjma gravidních žen, obvykle mírný bez nutnosti terapie antivirotiky. U pacientů s poklesem imunity především v důsledku užívání imunosupresivní terapie po orgánových transplantacích může infekce HEV přecházet do chronického stádia.

Metody: Zdrojem dat je soubor pacientů se sérologicky prokázanou hepatitidou E hospitalizovaných na KIN FN HK, nebo řešených ve spolupráci s naší klinikou v letech 2009 až 2015. Hladiny IgG a IgM protilátek proti HEV byly stanoveny metodou ELISA (Diagnostics BioProbes, Italy). U pacientů s rizikem nestandardní tvorby protilátek byl výsledek konfirmován pomocí PCR HEV RNA (in-house Real-time PCR).

Sledovanými parametry bylo procentuální zastoupení pohlaví, věkové složení s rozdělením do 6 věkových kohort. Dále podíl pacientů s ikterickým průběhem, který jsme definovali jako hladinu celkového bilirubinu vyšší než 50 mmol/l zaznamenanou alespoň jedenkrát v průběhu onemocnění. Zajímaly nás také údaje o pobytu v zahraničí do 50 dnů před rozvojem onemocnění a délka sledování pacienta od propuštění z nemocnice do normalizace aminotransferáz. Jen u části pacientů byly dostupné všechny sledované parametry. Počty pacientů a vypočtená procenta se tedy mohou u jednotlivých parametrů lišit.

Výsledky: Soubor tvořilo 80 pacientů, 60 % tvořili muži. Nejvyšší incidence onemocnění byla zaznamenána ve věkové kohortě 45–59 let, kam spadalo 27 (34 %) pacientů, ve věkové kohortě 60–75 let to bylo 22 (28 %) pacientů, 30–44 let 16 (20 %) pacientů, 75 a více let 11 pacientů (13 %)

a v kohortě 19–29 let pouze 3 (4 %) pacienti a v konečně v kohortě 0–18 let 1 pacient (1 %). Suspekce na importovanou nákazu byla pouze v jednom případě u pacienta s anamnézou konzumace grilovaného masa na Slovensku. Ikterický průběh onemocnění jsme zaznamenali u 16 (52 %) pacientů. Fulminantní průběh onemocnění se v našem souboru neobjevil. Nejvyšší zaznamenaná hodnota bilirubinu v séru byla 278 mmol/l.

Závěr: Virová hepatitida E si kvůli každoročně stoupající incidenci v ČR zasluhuje naši pozornost. Je známá možnost rozvoje chronické formy onemocnění u imunokompromitovaných pacientů. V tomto kontextu bude stále naléhavější otázka prakticky použitelné vakcíny proti hepatitidě E. PCR diagnostika je vhodným nástrojem ke konfirmaci sérologického průkazu onemocnění.

Detekce podtypů viru klíšťové encefalitidy metodou RT-qPCR

Matonohová M.[1], Bílek K.[1], Andělová H.[1], Růžek D.[2,3,4], Palus M.[2,3]

[1]Státní ústav jaderné, chemické a biologické ochrany, v. v. i., [2]Laboratoř arbovirologie, Parazitologický ústav, Biologické centrum AV ČR, v. v. i., [3]Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, [4]Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.

Teoretický úvod: Virus klíšťové encefalitidy (tick-borne encephalitis virus, TBEV) je řazen do rodu Flavivirus a je původcem závažných onemocnění mozku v Evropě a Asii. TBEV je malý obalený virus s genomem o velikosti přibližně 11 kb tvořeným pozitivní jednovláknovou RNA. Genom kóduje jediný polyprotein, který je následně rozštěpen na tři strukturní proteiny – C, prM a E – a sedm nestrukturních proteinů – NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B a NS5. Na základě sekvence kódující protein E je možno dále rozdělit TBEV na tři podtypy – evropský, dálného východu a sibiřský. Jednotlivé podtypy se liší nejen lokalitou výskytu, ale hlavně průběhem onemocnění a vektorem přenášejícím daný podtyp. Evropský podtyp způsobuje onemocnění typického dvoufázového charakteru s inkubační dobou 7–14 dní. První fáze se projevuje nespecifickými příznaky podobnými chřipce a je následována asymptomatickým obdobím v délce 2–10 dní. Druhá fáze je již charakterizována neurologickými symptomy. Naopak jednofázový prudší průběh onemocnění se závažnou encefalitidou je typický pro podtyp dálného východu. Sibiřský podtyp pak způsobuje onemocnění s lehčím průběhem oproti podtypu dálného východu, ačkoli je zde tendence ke chronickému nebo zdlouhavému vývoji nemoci. Zejména v evropské části Ruska a v Pobaltí se vyskytují všechny tři podtypy, proto je kladen důraz na rozlišení jednotlivých podtypů zvláště kvůli různému průběhu a závažnosti způsobeného onemocnění. Jelikož je navíc pozorován stoupající trend tohoto onemocnění, klade si metodika za cíl nejen detekci všech podtypů v jedné reakci, ale také jejich diferenciaci pomocí metody kvantitativní PCR v reálném čase.

Metodika: Pro zpracování metodiky byly prostudovány dostupné celogenomové sekvence viru – 27 pro evropský podtyp, 71 pro podtyp dálného východu a 23 pro sibiřský podtyp. Poté byly navrženy degenerované primery, schopné zachytit všechny tři podtypy v jedné reakci, do cílového místa kódujícího protein E. Výsledkem je produkt o délce 173 bp, jehož specificita byla ověřena jak gelovou elektroforézou, tak analýzou teplot tání produktu. Aby byla zajištěna specificita detekce pouze pro TBEV, byly analyzovány i příbuzné viry.

Závěr: Na základě dostupných sekvencí se podařilo navrhnout vhodné primery, které jsou schopné selektivně detekovat pouze TBEV. V následných analýzách byla ověřena specificita reakce. Výsledkem je reakce, kterou lze stanovit daný podtyp TBEV pomocí analýzy teplot tání PCR produktu. Navíc lze v případě potřeby metodiku použít i ke kvantifikaci virové nálože ve vzorku.

Tato práce byla realizována díky finanční podpoře z projektu Ministerstva vnitra ČR, č. VF20112015013.

Význam klostridiových infekcí u dětí do tří let věku hospitalizovaných pro akutní gastroenteritidu

Musil V.[1], Krbková L.[1], Trnková M.[1], Homola L.[1], Hlaváčová A.[1], Ševčíková A.[2]

[1]Klinika dětských infekčních nemocí FN Brno, LF MU Brno, [2]Oddělení klinické mikrobiologie FN Brno

Cíl: *Clostridium difficile* (CD) je grampozitivní, sporulující, obligátně anaerobní střevní bakterie spojená s významnou morbiditou a mortalitou u dospělých. Předběžné studie předkládají navyšování incidence klostridiových infekcí v dětské populaci, což se dává do souvislosti s komorbiditami, užíváním antibiotik, opakovanými hospitalizacemi a zřejmě i objevením hypervirulentních kmenů CD. Mechanizmus, kterým děti odolávají onemocnění navzdory vysoké kolonizaci střev, není zcela objasněn. Cílem observační studie je pomoci zpřehlednit epidemiologickou situaci, zhodnotit význam a závažnost infekcí CD (CDI) u dětí do tří let věku přijatých na naši kliniku s anamnézou průjmovitých stolic.

Materiál a metodika: Sběr dat probíhal od května do srpna 2015 na standardních odděleních Kliniky dětských infekčních nemocí FN Brno u dětí do tří let věku. Každá odebraná stolice byla testována na přítomnost specifického antigenu GDH a toxinů A a B klostridia metodou membránové enzymové imunoanalýzy (TECHLAB C. DIFF QUICK CHEK COMPLETE). Při pozitivitě GDH (a negativitě toxinu) se provedla konfirmace polymerázovou řetězovou reakcí (GeneXpert Clostridium difficile Cepheid) na přítomnost genu pro toxin B, genu pro binární toxin a deleci v nukleotidu 117 v regulačním genu tcdC – NAP1/ribotyp 027. Hodnocení probíhalo dle národních doporučení pro diagnostiku a léčbu CDI.

Výsledky: Dosud vyšetřeno 81 dětí (3 dny až 36 měsíců, medián 15 měsíců), u 2 dětí (2,5 %) pozitivní GDH + toxin (A, B), u 9 dětí (11,1 %) záchyt GDH + genu pro toxin B, ve 2 případech rovněž binárního toxinu (2,5 %). U věkové skupiny batolat (1–2 roky) zachycen největší počet toxigenních kmenů CD (8 dětí – 19 %). Celkově u 2 případů (15,4 %) se zachyceným toxigenním kmenem prokázána předchozí antibiotická terapie (cotrimoxazol), u 2 dětí nezachycena jiná infekční etiologie, v 11 případech pozitivní nález virového nebo bakteriálního agens: rotaviry (n = 7), noroviry (n = 1), adenoviry (n = 1), salmonela (n = 2). Jedno dítě vyžadova-

lo intenzivní péči, z nedostatku informací po překladu z jiného pracoviště indikovaná cílená terapie na CDI.

Závěr: Prokázána minimální citlivost nejmladší dětské populace vůči CDI, četnost nosičství v jednotlivých věkových skupinách přibližně odpovídala údajům v zahraničních publikacích. Autoři jsou si vědomi absencí rizikových faktorů ve vyšetřované kohortě dětí. Na základě toho můžeme potvrdit doporučení nevyšetřovat nejmladší pacienty bez výše uvedených rizik, vyhneme se tak zbytečným diagnostickým rozpakům.

Naše zkušenosti s fidaxomicinem

Širůček P.

Klinika infekčního lékařství, FN Ostrava-Poruba

Na Klinice infekčního lékařství FN Ostrava bylo léčeno od roku 2013 do září 2015 celkem 12 pacientů s infekcí *C. difficile* fidaxomicinem. V souboru mírně převažovali muži nad ženami (7 : 5), věkový průměr byl 67 let (rozpětí 42–87 let). 10denní léčba byla úspěšná u 10 z nich, u jednoho došlo k recidivě, či reinfekci za 2 měsíce po ukončení terapie, u druhého léčbu nebylo možné dokončit pro rozvoj toxického megakolon s následnou kolektomií z vitální indikace, bohužel s infaustním koncem. Ve dvou kazuistikách našeho 12členného souboru šlo o muže s těžkým průběhem akutní virové hepatitidy E, indikované k transplantaci jater pro preexistující cirhózu. Komplikující klostridiovou střevní infekci se u obou podařilo sanovat, první se transplantace pro rozvoj hepatorenálního syndromu nedožil, druhý ji nakonec odmítl. Gros pacientů v našich kazuistikách tvoří rekurující klostridiové kolitidy léčené neúspěšně metronidazolem a následně vankomycinem, nemocní s nutností konkomitantní atb terapie uroinfektů či pneumonií rezistentními patogeny a onkologicky nemocní.

Stručné pokyny pro autory

Redakce přijímá příspěvky v češtině nebo ve slovenštině, které odpovídají odbornému profilu časopisu. Kromě dopisů redakci, diskuzí, zpráv a společenské rubriky jsou všechny přijaté práce recenzovány (*peer review*), přičemž se zachovává oboustranná anonymita. O výsledcích recenzního řízení a názoru redakce na konečnou úpravu článku je autor informován. Před definitivním odevzdáním do tisku bude autorovi zaslán provizorní výtisk práce k autorské korektuře, která musí být zaslána zpět do redakce do pěti pracovních dnů.

Některé články jsou uváděny v plném znění i na internetové stránce časopisu.

Příspěvky se zasílají do redakce časopisu jednak ve formě kompletního výtisku s obrazovou dokumentací a podpisy hlavního autora, jednak v elektronické podobě na CD nebo e-mailem na adresu redakce.

Titulní list obsahuje (a) údaje pro uvedení do časopisu: název, jména autorů ve zkrácené podobě a s odkazy na pracoviště, názvy pracovišť, typ sdělení a kontaktní adresu (včetně e-mailu) korespondujícího autora, (b) celá jména autorů, (c) údaje sloužící ke komunikaci autora s redakcí: telefon, fax, rodné číslo, bankovní spojení, (d) prohlášení, že zaslaný text je určen pro otištění v časopisu *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství* a nebyl ani nebude jinde publikován (vyloučení duplicitních publikací), a klauzuli, že spoluautoři souhlasí s textem zaslaného sdělení a s uveřejněním v tomto časopisu, (e) negativní prohlášení o sponzorování či střetu zájmů; v opačném případě, kdy je práce sponzorována (grantem, jinou organizací, výrobcem apod.) nebo dochází-li ke střetu zájmů (např. autor je přímo či nepřímo zainteresován na výsledcích výroby či prodeje, je majitelem popisovaného patentu apod.), musí být tato skutečnost v závěru sdělení uvedena, (f) u klinických studií čestné prohlášení o schválení místní etickou komisí a (g) u pokusů na zvířatech prohlášení, že byly dodrženy ústavní nebo národní předpisy a směrnice pro chov a experimentální užití zvířat. Formulář s podpisy autora a všech spoluautorů lze doplnit i během recenzního řízení.

Každý příspěvek musí být přiřazen k některému typu sdělení a podle toho je v redakci posuzován. Musí splňovat určité obsahové a formální požadavky: musí mít předepsaný rozsah, počet literárních odkazů a odpovídající souhrn v češtině (popř. slovenštině) a angličtině (viz tabulka). Původní práce se standardně rozděluje na oddíly Úvod – Materiál a metody – Výsledky – Diskuze – Závěr a má strukturovaný abstrakt rozdělený do odstavců Cíl práce, popř. východisko – (Materiál a) metody – Výsledky – Závěr, anglicky Background nebo Objective(s) – (Material and) Methods – Results – Conclusions. Přehledový článek má volnější formu, důraz je kladen na přehlednost a aktuálnost. Jednoduššími typy příspěvků jsou krátké sdělení, dopis redakci, zpráva, recenze knihy a oznámení. Doporučený postup se otiskuje ve znění, jak byl vydán garantující odbornou společností.

Grafy, schémata, tabulky, vzorce či obrázky musí být připojeny na zvláštním listu, na rubu s uvedením prvního autora a názvu práce. V textu je třeba na ně na příslušných místech uvádět odkazy. Digitální fotografie, tabulky, grafy a další ilustrace v elektronické podobě je vhodné zasílat v příloze textového souboru vždy jako samostatné dokumenty v původním formátu.

Formát bibliografických referencí je popsán a vysvětlen v podrobných pokynech, základní vzory citování literárních pramenů vyplývají z příkladů:

- Standardní článek v časopisu:
  Dlouhý P, Herold I, Kolář M, et al. Postavení linezolidu v léčbě rezistentních grampozitivních infekcí. *Klin Mikrobiol Inf Lek.* 2006;12(1):4–9.
- Článek v suplementu časopisu:
  Křemen st J, Stříbrná J, Pavlíková A, et al. Metody molekulární biologie v dermatovenerologické diagnostice. *Prakt Lék.* 2005;85(Suppl 1):40–2.
- Monografie (kniha):
  Wilson SJ. Blood cultures. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone; 1992.
- Kapitola v knize:
  Modr Z. Základy farmakokinetiky antibiotik. In: Vacek V, Hejzlar M (eds). Chemoterapie infekčních nemocí v klinické praxi. 1. vyd. Praha: Avicenum; 1988. s. 42–52.
- Článek ve sborníku:
  Leib SL, Leppert D, Clements J, Lindberg RLP, Pfister LA, Täuber MG. Combined inhibition of tumor necrosis alpha converting enzyme and matrix metalloproteinases by BB1101 attenuates disease, mortality and brain damage in experimental bacterial meningitis (Paper 2044). Abstracts of the 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 1999 September 26–29; San Francisco, USA. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1999.
- CD-ROM (1 CD ze sady):
  Mildvan D. (editor). AIDS (Vol. I). In: Mandell GL (editor-in-chief). Atlas of Infectious Diseases on CD-ROM [CD-ROM]. London: Electronic Press Ltd.; 1996.
- Článek z internetu:
  Scott LA, Stone MS. Viral exanthems. Dermatol Online J. 2003 Nov [cited 2004 Jan 10];9(3):4. Available from: *http://dermatology.cdlib.org/93/reviews/viral/scott.html.*

Převzaté rozsáhlejší partie textu a dokumentace musí být doloženy souhlasem autora a vydavatele původní publikace s otištěním. Sdělení nesmí porušit anonymitu pacienta.

Podrobné návody k členění textu a formální úpravě rukopisu, stejně jako některá pravopisná a názvoslovná doporučení, se nachází v úplných pokynech autorům na internetové stránce časopisu *http://kmil.trios.cz/.*

Tabulka: Přehled jednotlivých typů sdělení

Typ sdělení	Obvyklý rozsah	Počet literárních odkazů	Souhrn	Recenzní řízení
původní práce	8–16 normostran	10–20 referencí	strukturovaný	2 recenzenti
přehledový článek	10–20 normostran	20–50 referencí	nestrukturovaný	2 recenzenti
krátké sdělení	3–6 normostran	3–10 referencí	nestrukturovaný	1–2 recenzenti
dopis redakci	1–5 normostran	0–5 referencí	není	neprobíhá
zpráva	1–5 normostran	obvykle nejsou	není	neprobíhá