

Onemocnění člověka způsobená hantaviry – stále opomíjené zoonózy?

Vrbovská V.^{1,2}, Chalupa P.³, Straková P.^{1,2}, Hubálek Z.^{1,2}, Rudolf I.^{1,2}

¹Ústav experimentální biologie, Masarykova univerzita, Brno

²Ústav biologie obratlovců AV ČR, v. v. i., Brno

³Klinika infekčních nemocí, 1. LF UK v Praze a Ústřední vojenská nemocnice – Vojenská fakultní nemocnice Praha

SOUHRN

Nejčastějším virovým onemocněním přenášeným hlodavci jsou v České republice hantavirózy s průměrnou roční incidencí 0,02 případů/100 000 obyvatel a výskytem specifických protilátek asi u 1 % obyvatel. Na našem území byli doposud popsáni 4 zástupci hantavirů (Puumala, Dobrava-Belgrade, Tula, Seewis), z nichž onemocnění u člověka prokazatelně způsobují viry Puumala (obvykle s mírnou formou onemocnění, *nephropathia epidemica*) a Dobrava-Belgrade (způsobující hemoragickou horečku spojenou se selháním ledvin). Cílem předkládané práce je podat nejnovější ucelený přehled pro člověka patogenních hantavirů vyskytujících se

v České republice ve světle studií, které byly publikovány v posledních třiceti letech, včetně geografického rozšíření hantavirů a popisu klinických onemocnění. Nedávná detekce viru Tula u imunokompromitovaného jedince na Ostravsku nebo současné zprávy o klinických onemocněních způsobených virem Seoul v Evropě zdůrazňují problém možné emergence opomíjených hantavirových nákaz v blízké budoucnosti.

KLÍČOVÁ SLOVA:

hantaviry – Dobrava-Belgrade – Puumala – hlodavci – hmyzožravci – emergentní nákazy – surveillance

ABSTRACT

Vrbovská V., Chalupa P., Straková P., Hubálek Z., Rudolf I.: Human hantavirus diseases – still neglected zoonoses?

Hantavirus disease is the most common rodent-borne viral infection in the Czech Republic, with a mean annual incidence of 0.02 cases per 100 000 population and specific antibodies detected in 1% of the human population. Four hantaviruses (Puumala, Dobrava-Belgrade, Tula, and Seewis) circulate in this country, of which Puumala virus (responsible for a mild form of hemorrhagic fever with renal syndrome called *nephropathia epidemica*) and Dobrava-Belgrade virus (causing haemorrhagic fever with renal syndrome) have been proven

to cause human disease. The aim of this study is to provide a comprehensive review of the hantaviruses occurring in the Czech Republic, based on the literature published during the past three decades, including their geographical distribution and clinical symptoms. The recent detection of Tula virus in an immunocompromised person as well as reports of Seoul virus infections in Europe highlight the possible emergence of neglected hantavirus infections in the foreseeable future.

KEYWORDS:

hantaviruses – Dobrava-Belgrade – Puumala – rodents – insectivores – emerging diseases – surveillance

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 64, 2015, č. 4, s. 188–196

ÚVOD

Hemoragická horečka s renálním syndromem (HFRS) byla poprvé popsána v čínských rukopisech datovaných do období před 900 lety a na asijském kontinentu se tedy toto onemocnění vyskytuje již po staletí [1]. Během Korejské války v letech 1951–1954 onemocnělo tzv. korejskou horečkou asi 3 200 spojeneckých vojáků se smrtností dosahující 5–10 % [2]. Etiologické agens bylo objeveno až v roce 1978, kdy korejsko-americký tým zjistil, že antigen v plicní tkáni z divoče odchycené myšice temnopásé (*Apodemus agrarius*) reaguje se vzorky sér pacienta s korejskou horečkou [3]. Hlodavčí rezervoár viru (současně byl totiž dokumentován přenos viru mezi hlodavci) se nacházel v blízkosti řeky Hantaan v Koreji a podle této lokality byl následně virus pojmenován [3, 4]. Virus se poprvé podařilo kultivovat na

buněčné linii až v roce 1981. Dnes je každoročně dokumentováno ve světě přibližně 100 000 případů HFRS, více než dvě třetiny jsou hlášeny z Číny [5].

První případy onemocnění hantavirovým plicním syndromem (HPS) byly zaznamenány v roce 1993 v oblasti Four Corners, na společných hranicích Nového Mexika, Utahu, Arizony a Colorada v USA u místní indiánské populace Navajo [6]. Bylo dokumentováno 52 případů těžkého akutního selhání plic včetně 32 úmrtí [2]. Virus pojmenovaný Sin Nombre (ze špan. „beze jména“) byl nejprve popsán na základě genomické podobnosti s evropským hantavirem Puumala [7] a až posléze izolován v buněčné kultuře [8]. Jako rezervoár viru byl zjištěn křeček dlouhoocasý (*Peromyscus maniculatus*) [9]. Od té doby bylo ve světě detegováno dalších 43 genotypů/druhů

hantavirů, z toho 20 v souvislosti s klinickými případy HPS [10]. Více než 500 klinických případů HPS bylo hlášeno v USA od data objevení syndromu [11], a četné další případy z Jižní Ameriky.

CHARAKTERISTIKA HANTAVIRŮ (MORFOLOGIE, STRUKTURA, GENOM A ZPŮSOB PŘENOSU)

Morfologie hantavirů je typická pro členy čeledi *Bunyviridae* [10]: jsou to obalené, většinou sférické nebo ovoidní částice s průměrem 80–120 nm. Mohou ale tvořit i protáhlé útvary, které se u jiných bunyvirů tak často nevyskytují. Na povrchu mají charakteristický šachovnicový vzor složený ze čtvercových, přibližně 8 x 8 nm velkých morfologických podjednotek. Viriony obsahují husté jádro s ribonukleoproteinovými strukturami a povrchové glykoproteiny uložené v dvojrvtvém lipidovém obalu [12, 13]. Virové částice jsou inaktivovány teplem (30 min/60 °C), kyselým pH, detergenty, organickými rozpouštědly a UV zářením [5].

Genomy hantavirů sestávají ze tří jednořetězcových RNA segmentů, které jsou převážně negativní polaritě [14]. Velký (L, „large“) segment je přibližně 6 500 nukleotidů dlouhý [10], kóduje protein L, který slouží jako RNA-dependentní-RNA-polymeráza [15, 16]. Střední (M, „medium“) segment o velikosti 3 700 nukleotidů kóduje glykoproteinový prekurzor [12], který se posttranslačně štěpí na dva glykoproteiny, G1 (72 kD) a G2 (54 kD). Proteiny G1 a G2 fungují jako antigeny rozpoznávané neutralizačními protilátkami [17]. Glykoproteiny mají N konec vystavený na povrchu virionu a C konec ukotvený v membráně a pravděpodobně se účastní interakce viru s hostitelskou buňkou při její infekci [13]. Malý (S, „small“) segment kóduje nukleokapsidový protein N a je 1 700 až 2 100 nukleotidů dlouhý [10]. V rámci zástupců hantavirů se délka a sekvence S segmentu podstatně nemění, což naznačuje, že hraje důležitou funkční úlohu [18]. N protein se syntetizuje v rané fázi infekce [4] a jde o nejhornější virový protein, který hraje klíčovou roli v některých důležitých procesech životního cyklu viru: zamezuje např. přístupu nukleáz hostitelské buňky k virové RNA a podílí se na replikaci viru a sestavování virionů [10]. Pravděpodobně interaguje s hostitelskou buňkou a ovlivňuje imunitní odpověď na infekci [19].

Konce 3' a 5' hantavirového RNA genomu jsou rodově specifické, vysoce konzervované a reverzně komplementární a jsou tedy schopné tvořit struktury ve tvaru držadla pánvice (znak čeledi *Bunyviridae*). Tyto struktury fungují jako promotor a hrají úlohu při regulaci virové replikace a transkripce [12]. Segmentovaný genom relativně snadno podléhá reasortaci a také homologní rekombinaci, což jsou klíčové procesy určující jejich bohatou genetickou diverzitu a odrážející se v evoluci hantavirů [5].

Na rozdíl od hlodavců s celoživotní perzistentní infekcí člověk nehraje zásadní roli při cirkulaci hantavirů v přírodním ohnisku nákazy, jde o tzv. konečného hostitele (dead-end host), který se nakazí náhodně při vstupu do ohniska po kontaktu s infikovaným hlodavcem. Nákaza se přenáší aerosolem obsahujícím infikované exkřety hlodavců (sliny, moč, trus). Ačkoliv inhalační cesta přenosu hantavirů je klíčová, byla popsána i onemocnění po kousnutí infikovaným hlodavcem. U viru Andes je navíc zvažován interhumánní přenos [13, 20, 21].

GEOGRAFICKÉ ROZŠÍŘENÍ HANTAVIRŮ

Hlavní geografické rozdělení hantavirů je na hantaviry Starého a Nového světa. Hantaviry Starého světa se vyskytují v mnoha oblastech Evropy a Asie a mezi nejdůležitější patogenní zástupce patří hantaviry Hantaan, Puumala, Dobrava-Belgrade a Seoul [15, 21]. Viry Saaremaa, Kurkino, Dobrava-Belgrade a Sochi, které podle katalogu ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) byly původně deklarovány jako odlišné viry, jsou nyní na základě konsenzu expertů řazeny pouze jako čtyři odlišné genotypy viru Dobrava-Belgrade [22]. Hantaviry Starého světa jsou přenášeny hlodavci z podčeledi *Murinae* (řád *Rodentia*, podřád *Myomorpha*, čeleď *Muridae*) [23]. Hantavirus Puumala je členem skupiny hantavirů Starého světa, které jsou přenášeny hlodavci podčeledi *Arvicolinae* (řád *Rodentia*, podřád *Myomorpha*, čeleď *Cricetidae*). Hantaviry Nového světa se vyskytují v Severní a Jižní Americe a jejich hostiteli jsou křečci podčeledi *Neotominae* a *Sigmodontinae* (řád *Rodentia*, podřád *Myomorpha*, nadčeleď *Muroidea*, čeleď *Cricetidae*) [24, 25]. Přehled významných hantavirů Starého i Nového světa včetně patogenity, hlodavčích hostitelů a geografického rozšíření je uveden v tabulkách 1 a 2 [21].

Tabulka 1. Přehled patogenních hantavirů Starého světa, včetně rezervoárů a geografického rozšíření [21]

Table 1. List of Old World hantaviruses pathogenic for human, including reservoirs and geographic distribution [21]

| Název viru | Onemocnění | Rezervoár | Geografické rozšíření |
|------------------|------------|---|---|
| Hantaan | HFRS | <i>Apodemus agrarius</i> | Čína, Jižní Korea, Rusko, Taiwan |
| Seoul | HFRS | <i>Rattus norvegicus</i> , <i>R. rattus</i> | celosvětové |
| Dobrava-Belgrade | HFRS | <i>Apodemus flavicollis</i> , <i>A. agrarius</i> , <i>A. sylvaticus</i> | evropská část Ruska, Estonsko, střední a jihovýchodní Evropa (Balkán) |
| Puumala | HFRS (NE) | <i>Myodes glareolus</i> | Evropa (včetně západního Ruska) |
| Tula | HFRS | <i>Microtus arvalis</i> | Evropa (včetně Ruska) |
| Thailand | HFRS | <i>Bandicota indica</i> , <i>B. savile</i> | jihovýchodní Asie: Srí Lanka, Indie, jih Číny, Laos, Taiwan, Thajsko, Vietnam |
| Amur | HFRS | <i>Apodemus peninsulae</i> | Rusko, severovýchod Číny, východní ostrovy Sachalin a Hokkaidó |
| Soochong | HFRS | <i>Apodemus peninsulae</i> | Jižní Korea |
| Sangassou | * | <i>Holomyscus simus</i> | centrální Afrika |

SOUHRNNÉ SDĚLENÍ

Tabulka 2. Přehled patogenních hantavirů Nového světa, včetně rezervoárů a geografického rozšíření [21].

Table 2. List of New World hantaviruses pathogenic for human, including reservoirs and geographic distribution [21].

| Název viru | Onemocnění | Rezervoár | Geografické rozšíření |
|-------------------|------------|-----------------------------------|--|
| Sin Nombre | HPS | <i>Peromyscus maniculatus</i> | USA (včetně Aljašky), Mexiko, Kanada |
| Bayou | HPS | <i>Oryzomys palustris</i> | jihozápad USA |
| Black Creek Canal | HPS | <i>Sigmodon hispidus</i> | Florida |
| New York | HPS | <i>Peromyscus leucopus</i> | USA, Kanada, Mexiko |
| Monongahela | HPS | <i>Peromyscus maniculatus</i> | západ USA, Kanada |
| Andes | HPS | <i>Oligoryzomys longicaudatus</i> | Jižní Amerika, hlavně Argentina, Chile, Brazílie |
| Araraquara | HPS | <i>Bolomys lasiurus</i> | Brazílie |
| Juquitiba | HPS | <i>Oligoryzomys nigripes</i> | Brazílie, Uruguay |
| Laguna Negra | HPS | <i>Calomys laucha</i> | Brazílie, Paraguay, sever Argentiny, Bolívie |
| Castelo dos Sohos | HPS | <i>Oligoryzomys moojeni</i> | Brazílie |
| Anajatuba | HPS | <i>Oligoryzomys fornesii</i> | Brazílie |
| Choclo | HPS | <i>Oligoryzomys fulvescens</i> | Panama |
| Bermejo | HPS | <i>Oligoryzomys chacoensis</i> | Argentina |
| Lechiguanas | HPS | <i>Oligoryzomys flavescens</i> | Argentina, jihovýchod Brazílie, Uruguay |
| Orán | HPS | <i>Oligoryzomys longicaudatus</i> | Argentina |
| Rio Mamore | HPS | <i>Oligoryzomys microtis</i> | Bolívie, Brazílie, Peru, Argentina, Paraguay |
| Rio Mearim | HPS | <i>Holochilus sciureus</i> | Brazílie |

Vysvětlivky: HFRS – hantavírová horečka s renálním selháním; NE – *nephropathia epidemica*; HPS – hantavírový plicní syndrom.
* detegovány protilátky u lidí

Explanations: HFRS – haemorrhagic fever with renal syndrome; NE – *nephropathia epidemica*; HPS – hantavirus pulmonary syndrome
* antibodies detected in humans

V poslední době bylo díky progresivním molekulárním technikám (především sekvenování nové generace) objeveno několik nových zástupců hantavirů také u hmyzožravců (*Soricomorpha*) – rejsků, krtků, a u letounů (řád *Chiroptera*) [26, 27]. Dosud však není nic známo o jejich patogenním potenciálu pro obratlovce včetně člověka.

Důležitou roli pro udržování ohnisek hantavirů Starého světa v přírodě hrají místa, kde jsou ideální podmínky pro přemnožení hlodavců (stohy slámy, seníky nebo rozptýlená lidská obydlí). Hantaviry Nového světa, respektive hlodavci, kteří je přenašejí, upřednostňují spíše aridní oblasti [28].

HANTAVIRY V ČESKÉ REPUBLICE

Při hloubkové rešerši domácí literatury za posledních třicet jsme kriticky vyhodnotili asi 30 prací zabývajících se hantaviry, na základě kterých analyzujeme výzkum na našem území.

První česká přehledná práce o hantavirech byla uveřejněna dokonce až v roce 2003 [29]. Ovšem z historického hlediska pocházejí nejstarší údaje týkající se výskytu hantavirů ve střední Evropě z roku 1984 z východního Slovenska (z oblasti Ruské Poruby, místa první epidemie HFRS v bývalém Československu v 50. letech 20. století), kde byl detegován antigen HFRS u hlodavců *Myodes glareolus*, *Apodemus flavicollis* a *Apodemus agrarius* [30] a následně i u hlodavců z Česka spolu s potvrzeným nálezem protilátek u lidí [31, 32]. Vůbec první tři lidské případy způsobené infekcí virem Puumala a potvrzené

sérologicky v České republice popsali Kobzík a Daneš u farmářů na Břeclavsku [33]. Jednalo se o pacienty s lehkou až středně těžkou formou onemocnění. Následně bylo v roce 1995 vyšetřeno 5 228 lidských sér: protilátky k hantavírům se našly jen u 1 % vyšetřených sér. Nejvyšší procento pozitivit dosahovala séra ze skupiny zemědělců z jižní Moravy [34]. Pejčoch a Kříž dále zkoumali přítomnost protilátek v krevních sérech 710 náhodně vybraných osob starších 20 let [35]. Protilátky některých osob reagovaly s antigenem viru Hantaan (7 osob, séropozitivita 1%), u jiných s antigenem viru Puumala (10 osob, prevalence 1,4%), u některých s oběma antigeny. K podobným výsledkům došla ve své starší studii i L. Matyášová u obyvatel Prahy, Severočeského, Východočeského a Západočeského kraje (430 vyšetřených osob, séropozitivita 0,93%) [36]. Přítomnost protilátek v krevním séru v populaci nasvědčuje, že organismus se s virem setkal, avšak infekce mohla mít mírný nebo asymptomatický průběh, nebo byla chybně diagnostikována, což je u hantaviróz bohužel běžný jev. Dále je nutné zmínit, že protilátky detegované v testu ELISA proti viru Hantaan v séru vyšetřovaných osob reagují zkříženě s virem Dobrava-Belgrade. V posledních dvou dekádách bylo u nás publikováno několik důležitých studií zabývajících se séroprevalencí hantavírových protilátek v lidské populaci. V rozsáhlé retrospektivní studii Státního zdravotního ústavu v Praze (séra získaná ze sérologických přehledů z let 1971–1987) bylo vyšetřeno celkem 1 081 osob z jižních a jihozápadních Čech (bývalé okresy Klatovy, Strakonice, Prachatice, Český Krumlov,

České Budějovice, Jindřichův Hradec, Tábor) a 423 osob ze Vsetínska, kdy ve 24 vzorcích vyšetřených kitem ELISA byly prokázány protilátky k virům Puumala (23 osob) a Hantaan (1 osoba), tedy průměrná promořenost 1,6%. Vyšší přítomnost IgG protilátek byla zjištěna především v okrajových věkových skupinách, tedy u nejmladších a nejstarších sledovaných osob [37]. Zelená a Januška vyšetřili séra 464 pacientů z Moravskoslezského regionu a zjistili prevalenci 8% (24 osob reagovalo proti viru Hantaan a 13 proti viru Puumala, 4 osoby proti oběma antigenům) [38]. Klinické symptomy kompatibilní s hantavirózou byly zjištěny u 19 z těchto séropozitivních osob. V jiné studii 5 hemodialyzovaných pacientů ze západočeského regionu z celkového počtu 301 vyšetřených (séropozitivita 0,7%) vykazovalo protilátky proti antigenům Puumala a Hantaan, což naznačuje možnou souvislost mezi chronickým postižením ledvin a přítomností patogenních hantavirů [39]. Výskyt protilátek (celková séropozitivita 1,7%) proti virům Hantaan (3 jedinci), Puumala (2 jedinci) a Seoul (4 jedinci) byl zjištěn u 542 zdravotních vojáků v letech 1999–2000. Vyšší výskyt protilátek k hantavirům u vojáků ve srovnání s běžnou populací lze vysvětlit častým pobytem příslušníků armády ve volné přírodě (především ve výcvikových prostorech) a tedy vyšší expozici aerosolové infekci [40].

Během let 2005–2014 se podle databáze EPIDAT na našem území vyskytlo 55 hlášených případů HFRS [41, 42] a jeden popsáný importovaný případ u vojáka složek UNPROFOR, který se nakazil při misi na Balkáně [43]. Klinická onemocnění způsobená hantaviry byla diagnostikována v Čechách i na Moravě, a to především na Ostravsku (respektive na česko-slovenském pomezí) a v jižních Čechách [44, 45]. V České republice byly popsány lidské infekce hantaviry především u dospělých, ale vyskytlo se i několik případů onemocnění u dětí. V podstatě jde vždy o ojedinělé případy. V roce 2006 byly popsány první tři případy infekce *nephropathia epidemica* u dětí hospitalizovaných s intersticiální nefritidou [46]. Děti nevykazovaly typické příznaky infekce virem Puumala, kterou pravděpodobně získaly vdechnutím infikovaného aerosolu na víkendové chatě při svých opakovaných návštěvách. V srpnu 2008 byl hlášen případ 15letého chlapce, který se infikoval u obce Ostravice (poblíž hranic se Slovenskem). Vyvinula se u něho těžká forma HFRS způsobená virem Dobrava-Belgrade [44]. Případy těžké formy HFRS (původce opět virus Dobrava-Belgrade) byly dokumentovány u dvou imunokompetentních mužů po pobytu na horské chatě na slovensko-českém pomezí. Rizikovým faktorem zde byl úklid chaty těsně před návštěvou [47]. Jediná popsaná epidemie hantaviry u nás se odehrála na Prachaticku, kde bylo mezi roky 2004 až 2009 popsáno 18 případů *nephropathia epidemica*, způsobené virem Puumala. Pejčoch et al. zde provedli geobotanický průzkum spojený s odchylem drobných hlodavců a charakterizovali vhodný biotop pro výskyt hantavirů: smíšený les s predominancí buku *Fagus sylvatica* [45].

Ve střední Evropě v současnosti cirkulují mezi hlodavci a hmyzožravci 4 hantaviry: virus Dobrava-Belgrade je přenášený jak myšicí temnopásou (*A. agrarius*) – genotyp Kurkino (klinicky lehčí průběh infekce), tak myšicí lesní (*A. flavicolis*) – genotyp Dobrava (doprovázený těžším průběhem infekce). Dalším hantavirem je virus Puumala, přenášený normíkem rudým (*Myodes glareolus*), virus Tula,

přenášený hrabošem polním (*Microtus arvalis*) a také nově popsáný virus Seewis, přenášený rejskem obecným (*Sorex araneus*) a rejskem malým (*S. minutus*) [21, 48, 49]. Virus Tula je nejčastěji se vyskytujícím hantavirem u našich hlodavců, s prevalencí pohybující se kolem 10 % [50]. Poprvé byl izolován na jižní Moravě z hraboše *M. arvalis* a je považován za nepatogenní [51, 52]. V roce 2012 byla však popsána infekce tímto virem u imunokompromitovaného jedince z Ostravska [53].

ONEMOCNĚNÍ

U člověka hantaviry primárně infikují buňky endotelu v plicích nebo ledvinách a také makrofágy, i když virový antigen je přítomný i v dalších tkáních [5]. Klinický průběh infekce se liší v závislosti na druhu viru a jeho genotypu (jednotlivé genotypy viru Dobrava-Belgrade mají různě závažný průběh), důležitou roli hraje genetická predispozice (zejména HLA systém), pohlaví, věk, virová nálož anebo imunokompetence člověka, který se s virem setkal [54]. Onemocnění spojené s hantaviry Starého světa, tj. hemoragická horečka s renálním syndromem (HFRS), postihuje hlavně ledviny, zatímco hantavirový plicní syndrom (HPS), jehož původci jsou hantaviry Nového světa, je spojený se selháním kardiopulmonálního systému [15]. V současnosti přibývá důkazů poukazujících na určitou podobnost mezi těmito dvěma syndromy. Jak HFRS tak i HPS mohou vést ke zhoršené funkci ledvin, krvácení a kardiopulmonálnímu postižení v důsledku zvýšené propustnosti kapilár a sníženého počtu krevních destiček (trombocytopenie) [55].

Hemoragická horečka s renálním syndromem (HFRS, „Haemorrhagic Fever with Renal Syndrome“)

HFRS je akutní horečnaté onemocnění v začátcích připomínající chřipku, které může vést až k závažným krvácivým stavům a k selhání ledvin [14]. Typický průběh HFRS se skládá z pěti stadií: fáze horečky, fáze hypotenze, fáze oligurie, diuretická fáze a fáze rekonvalescence [5]. Jednotlivé fáze se dají zřetelně odlišit v průběhu těžké formy onemocnění způsobené hantaviry Hantaan nebo Dobrava-Belgrade.

Infekce viry Hantaan a Dobrava-Belgrade

Viry Hantaan a Dobrava-Belgrade způsobují těžkou formu HFRS [14]. Inkubační doba činí 2–6 týdnů (u viru Dobrava-Belgrade), poté nastupuje febrilní fáze (3–7 dní) s příznaky připomínajícími chřipku (vysoká horečka, zimnice, bolesti hlavy a svalů) a intenzivní bolest zad [54, 56]. Často se vyskytuje bolest v dutině břišní, žaludeční obtíže, nevolnost, zvracení, malátnost a poruchy vizu [13, 57, 58]. Dochází ke zvýšení propustnosti kapilár, která vede k zarudnutí tváří, krku, objevují se petechie a krvácení do spojivek. Po 3–7 dnech vysoká horečka ustoupí a pacient se dostane do fáze hypotenze [5], která může trvat hodiny až dny (většinou 3 dny). Pokles tlaku bývá někdy prudký – může dojít až k šoku, objevuje se trombocytopenie, leukocytóza, zvýšený hematokrit a je výrazná proteinurie. S trombocytopenií souvisí krvácivé projevy – po těle se objevují hematomy, může být hematemeza, epistaxe, hematurie, meléna, případně i krvácení do centrálního nervového systému, které je mnohdy smrtelné [13, 54]. Z laboratorních ukazatelů lze zmínit zvýšené hladiny

SOUHRNNÉ SDĚLENÍ

transamináz, sérového kreatininu (nad 150 $\mu\text{mol/l}$), laktátdehydrogenázy, ury, C-reaktivního proteinu či D-dimerů. Většinou kolem osmého dne se krevní tlak normalizuje, ale onemocnění pokračuje oligurgickou fází, v trvání 3–7 dnů [5]. Zhoršuje se funkce ledvin, což vede k oligurii až anurii. Asi polovina úmrtí nastává právě v této fázi. Krvácivé projevy souvisejí nejen s extrémní trombocytopenií, ale také se zvýšenou propustností kapilár a rozvojem DIC (diseminované intravaskulární koagulace). DIC s šokem a multiorgánovým selháním také bývá nejčastější příčinou úmrtí [13, 14]. Průběh této fáze může zhoršit krvácení do gastrointestinálního traktu nebo hemoptýza. Pacienti, kteří přežijí oligurgickou fází, se dostanou do diuretické fáze, která může trvat několik týdnů a nástup této fáze znamená pro pacienta pozitivní prognózu [5, 14, 54]. Ledviny totiž začínají regenerovat, produkce moči stoupá až na několik litrů denně (3–6 litrů za den), a pokud ztráty tekutin nejsou nahrazeny, pacienti jsou ohroženi dehydratací [13]. Rekonvalescence je konečná fáze onemocnění a obvykle trvá týdny až měsíce [14]. Letalita na infekci způsobenou těmito viry se pohybuje od 5 % do 15 % [14, 54].

Infekce virem Seoul

Onemocnění způsobené virem Seoul se liší od průběhu předchozí infekce závažností a tím, že může postihnout i játra [13]. U pacienta nelze s jistotou rozlišit pět typických fází pro HFRS [5]. Výzkum ukázal, že onemocnění se vyskytuje převážně u 30–40letých mužů [59] (stejně jako u infekcí způsobených jinými hantaviry) a mezi hlavní příznaky patří zvracení, horečka, bolesti svalů a břicha, postižení spojivek a petechie. Na rozdíl od infekcí způsobených ostatními hantaviry bývá často přítomna hepatitida. Letalita je pod 2 % [5, 14].

Infekce virem Puumala

Virus Puumala způsobuje mírnou formu HFRS, která se nazývá „*nephropathia epidemica*“ (NE) [5]. Podobá se HFRS, ale symptomy tohoto onemocnění jsou mírnější. Jednotlivá stadia nejsou výrazně odlišena a ledviny jsou relativně málo postižené. Při infekci virem Puumala se běžně objevují příznaky jako kašel, přítomnost plicního infiltrátu a snížená funkce plic [14]. Tyto příznaky jsou ale většinou málo závažné a často bývají přehlédnuty. Typicky se u pacientů vyskytuje horečka, bolesti svalů, břicha a zad. V případě postižení ledvin se okolo třetího nebo čtvrtého dne objeví oligurie až anurie. Dialýzu vyžaduje méně než 5 % pacientů. Hemoragické příznaky (petechie, hematurie nebo meléna) se vyskytnou asi u 10 % případů [1, 13]. Často se také objeví mlhavé vidění, akutní myopie a popsán byl i glaukom [13, 58]. Během druhého týdne onemocnění se pacienti začínají zotavovat, ale plná údrava vyžaduje vždy delší dobu. Letalita je v rozmezí od 0,1% (Finsko) po 0,4% (Ural). Závažný klinický průběh infekce virem Puumala je silně vázán na přítomnost haplotypu HLA-B8, zatímco u lehkých průběhů je to haplotyp HLA-B27.

Hantavirový plicní syndrom (HPS, „Hantavirus Pulmonary Syndrome“, také označovaný HCPS, „Hantavirus Cardio-Pulmonary Syndrome“)

HPS představuje mnohem závažnější onemocnění než HFRS – letalita dosahuje 30–50 % [5]. Primární příčinou

vážného průběhu HPS je zvýšená permeabilita plicních kapilár, která může vyvolat hypoxémii až rychlý rozvoj těžkého respiračního selhání s kardiogenním šokem a selháním srdečním [4, 54]. Nejvíce onemocnění HPS je způsobeno virem Sin Nombre s jasnými klinickými příznaky a minimálními projevy mimo dutinu hrudní [14]. Naopak případy, u kterých nastane porucha funkce ledvin, bývají často spojené s infekcí viry Bayou nebo Black Creek Canal [56].

Klinický průběh HPS je rozdělen do 4 fází s odchylkami v závažnosti a výskytu mezi pacienty: fáze horečky, kardiopulmonální fáze, fáze diuretická a zotavovací fáze [4]. Inkubační doba bývá 14–17 dní a počáteční příznaky zahrnují náhlý vzestup teploty, bolesti hlavy, svalů a žaludeční obtíže (nauzea, zvracení) [14, 60]. Objevuje se také trombocytopenie. Febrilní stadium trvá přibližně 5 dní a postupně se přidává kašel, dušnost, pocit sevřeného hrudníku, tachykardie a hypotenze, jež jsou prvními příznaky nástupu kardiopulmonální fáze, u které se rozvíjí těžké respirační selhání [4, 56]. Často dojde ke kardiogennímu šoku, laktátové acidóze a srdeční arytmii [49]. Právě prvních 24–28 hodin po nástupu šoku je pro přežití pacienta kritických. Nezbytná bývá plicní ventilace včetně monitorování a podpory základních životních funkcí, přesto letalita může dosáhnout až 50 % [15, 60]. Pacienti, kteří toto období přežijí, se dostávají do diuretické fáze, ve které dochází ke zvýšení produkce moče a stav se postupně zlepšuje [54]. Poté nastává zdlouhavá rekonvalescence, provázená zvýšenou slabostí a únavou.

DIAGNOSTIKA HANTAVIRÓZ

Prvotní příznaky infekce hantaviry nejsou specifické, a jejich diagnostika bývá složitá. V diagnostické praxi se nejčastěji využívá kombinace klinických a sérologických nálezů, někdy doplněné o molekulární analýzu [56].

Přímá diagnostika

Na přímou izolaci hantavirů lze použít buňky Vero E6, ve kterých viry replikují bez tvorby cytopatického efektu. Hantaviry také infikují linie buněk Huh7 a A549 získané z lidského karcinomu jater a plic [54]. Obecným problémem při izolačních pokusech bývá skutečnost, že virémie je u člověka poměrně krátkodobá. Poslední slovinská studie však překvapivě udává průměrnou délku virémie u člověka 30 dní pro virus Dobrava-Belgrade a 16 dní pro virus Puumala [61]. Izolační pokusy jsou navíc pracné, časově náročné a pro personál rizikové [48]. Molekulární metody založené na amplifikaci nukleových kyselin viru, jako jsou polymerázová řetězová reakce s využitím reverzní transkriptázy (RT-PCR) nebo real-time RT-PCR, které jsou vysoce citlivé, specifické a rychlé, umožňují druhovou identifikaci hantavirů (po sekvenaci vybraných úseků genu) a dají se použít pro vyšetření ještě před rozvojem onemocnění. Virový materiál (RNA) pro tyto testy bývá purifikován z krve nebo slin pacienta během akutní fáze infekce, případně z autopsie vzorků infikovaných tkání nejlépe ve viremické fázi onemocnění [14]. Úspěšnost molekulární identifikace také závisí na výběru vhodných primerů (primery a sondy se v případě Real-time PCR vážou na vysoce konzervativní oblasti v rámci L segmentu hantavirového genomu nebo vysoce homologní oblasti

S-segmentu) a náloží virové RNA ve vzorku [48, 62]. Pro rozlišení různých kmenů hantavirů lze také využít plak-redukční neutralizační test (PRNT).

Nepřímá diagnostika

Z imunologických metod se pro diagnostiku hantavirových infekcí využívají ELISA (enzyme-linked immunosorbent assays), imunofluorescenční test (IF), a imunoblotové nebo imunohistochemické testy [48]. V současnosti jsou vyvinuté vysoce citlivé a specifické IgM a IgG ELISA testy (např. diagnostické sety firem Progen, Focus nebo Euroimmun). Jako diagnostické antigeny se využívají přirozené nebo rekombinantní N proteiny viru, které jsou významné svou vlastností vyvolávat brzkou a dlouhotrvající imunitní odpověď. Problémem však může být nízká senzitivita či zkřížená reaktivita [48, 56, 63]. Metoda IF je populární metodou díky jednoduchosti provedení, nevýhodou tohoto testu jsou však problémy se specificitou testu ovlivněnou zkříženými reakcemi protilátek proti různým zástupcům hantavirů, a také nezkušenost uživatelů při mikroskopickém hodnocení [64]. Nedávno byl vyvinut vysoce specifický a citlivý imunofluorescenční test navržený na podkladě biočipu, který dokáže detegovat protilátky ke všem známým hantavirům Starého a Nového světa [65]. Imunoblotové testy využívají také rekombinantní antigen a patří mezi specifické a citlivé metody, které slouží ke konfirmaci pozitivního ELISA testu (např. sety Mikrogen). Imunohistochemické metody umožňují obarvení hantavirových antigenů ve vzorcích tkání, a stávají se tak ideálním nástrojem pro retrospektivní diagnózu infekcí hantaviry v konzervovaných biopsiích [64]. Pro detekci akutních infekcí viry Dobrava-Belgrade, Hantaan a Puumala byl nedávno vyvinut pětiminutový imunochromatografický IgM test [5]. Neutralizační test se využívá i na detekci neutralizačních protilátek vyvolaných infekcí a je díky své vysoké specificitě a senzitivitě považován za zlatý standard sérologické diagnostiky [66, 67]. Test je však časově náročný (trvá dny až týdny) a ne vždy je dostupný živý antigen. Kvůli aerosolům, které mohou vznikat během laboratorních procedur se izolační, molekulární a sérologické metody s živým materiálem provádějí pouze v laboratořích s úrovní zabezpečení BSL-3 nebo BSL-4 [14].

LÉČBA

Aktuálně proti hantavirovým nákazám nemáme k dispozici žádnou specifickou terapii [5]. Léčba je proto symptomatická a podpůrná. U těžkých případů je nezbytné umístit pacienta na jednotku intenzivní péče, kde je zajištěno monitorování základních životních funkcí, korekce příjmu a výdeje tekutin, minerálního metabolismu a acidobazické rovnováhy [21, 48, 68]. Taktéž zavedení umělé plicní ventilace anebo mimotělní okysličování v případě HPS a hemodialýza u HFRS jsou u kritických nemocných nezbytné [64]. Velmi důležitá je schopnost lékařů rozpoznat počáteční příznaky hantavirové infekce. V diferenciální diagnostice hantaviróz je nejdůležitější myslet zejména na leptospirózu, při plicním postižení na řadu infekcí, které mohou způsobit postižení dolních cest dýchacích a obdobně i u renálního postižení přichází v úvahu také řada možností [14]. V současné době nemáme žádné účinné antivirové preparáty pro léčbu hantavirových

infekcí [48]. Intravenózně podávaný ribavirin má antivirovou aktivitu proti hantavirům způsobujících HFRS v časných fázích, ale jeho podávání zůstává stále na experimentální úrovni. Například u pacientů v Číně se prokázala snížená úmrtnost v případě, kdy byl ribavirin podáván během prvních 5 dní po nástupu prvotních příznaků [56, 60]. Dokáže zabránit i progresi onemocnění do oligurické fáze a zpomaluje selhávání ledvin. Jeho použití je omezené především na těžké a rychle rozpoznané formy onemocnění, např. během epidemie [64, 68]. Bohužel zůstává neúčinný při léčbě HPS, kde vhodné antivirotikum je třeba teprve vyvinout [69].

Imunoterapie je jedna z dalších perspektiv pro léčbu hantavirových infekcí. Podání lidských neutralizačních protilátek během akutní fáze HPS by mohlo vést k poklesu virémie a podpořit rekonvalescenci. Studie na hlodavcích ukázala, že pasivní transfer neutralizačních monoklonálních protilátek nebo polyklonálního séra dokáže ochránit zvířata před infekcí [4]. Imunoterapie se jeví být slibnou metodou, avšak na léčbu hantavirových infekcí by bylo zapotřebí udržovat přiměřené koncentrace protilátek po dostatečně dlouhou dobu, což se dosud nedaří. V současné době se testují také speciální imunoterapeutika, která by inhibovala zvýšenou propustnost kapilár, jež je důsledkem hantavirové infekce [60].

VAKCINACE

V Asii se využívají inaktivované monovalentní vakcíny (např. *Hantavax* v Koreji) byt s krátkodobou protektivní odpovědí a nutností častého dávkování [5, 70]. Žádná z nich se však neosvědčila pro používání v Evropě či USA (neexistuje zkřížená protektivita). Je potřeba vyvinout takovou vakcínu, která by byla bezpečná, účinná a multivalentní, zároveň však adaptovaná na místní podmínky [60]. Zatím byly vyrobeny pouze kandidátní rekombinantní vakcíny na podkladě replikačních komponent viru vakcinie nebo rekombinantních bakterií, které kódují jeden nebo více virových proteinů. V Evropě byla vyvinuta kandidátní vakcína proti viru Puumala, která obsahuje proteinové komplexy s mnoha žádanými vlastnostmi, jako imunogeny prezentující N protein viru, a která vyvolává silnou imunitní odpověď [67, 71]. V současnosti se v USA pracuje na vakcíně, která využívá M segment virů Hantaan a Puumala [5]. Specifickou imunitní odpověď dokáží vyvolat i hantavirové proteiny získané biotechnologickou cestou z transgenních rostlin [72]. Jako užitečný nástroj pro vývoj vakcín se ukázaly např. také kvasinky *Sacharomyces cerevisiae* poskytující vysoký výtěžek nukleokapsidových proteinů hantaviru [73].

PREVENCE

Možnosti léčby hantaviróz jsou nedostatečné, proto je velmi důležitá prevence vzniku onemocnění [67]. Nejefektivnějším způsobem prevence infekcí způsobených hantaviry nebo jinými hlodavci přenosnými viry (např. arenavirus lymfocytární choriomeningitidy) je potlačení kontaktu s hlodavci a jejich exkrety (sliny, moč, trus). Člověk by se měl vyhýbat místům, kde žijí početné populace volně žijících synantropních hlodavců a dochází k hromadění jejich exkretů (např. staré

SOUHRNNÉ SDĚLENÍ

budovy, sklepy, půdy). Je důležité aktivně omezovat počet jejich úkrytů a zdrojů potravy v okolí lidských obydlí. Dále je vhodné uzavřít vstupy do domů a budov a zamezit přístup těmto živočichům, popř. vydenzifikovat již potenciálně kontaminované úseky [4, 74, 75]. Prevence ve formě osvěty by také měla směřovat k rizikovým skupinám, kterým hrozí vystavení volně žijícím hlodavcům (pracovníci v lesnictví a zemědělství, zoologové, vojáci, trampové) stejně jako imunokompromitovaným jedincům (těhotné ženy, staří lidé, onkologičtí pacienti, pacienti po transplantaci, chronicky nemocní lidé). Žádoucí by bylo vyšetřovat osoby s akutním či chronickým postižením ledvin na možnou souvislost s výskytem hantavirového onemocnění, mj. za účelem lokalizace přírodních ohnisek nákazy.

ZÁVĚR

Relevantní údaje o výskytu hantavirů v hlodavcích, stejně jako o klinických případech, jsou na našem území stále spíše kuse a nedávají opravdový vzhled do problematiky rozšíření potažmo emergence této závažné zoonózy v rámci České republiky. Data o klinických případech hantavirových nákaz z poslední doby jsou publikována takřka výlučně ze severní Moravy, kde se nachází virologické pracoviště Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě, které danou problematiku dlouhodobě sleduje a region diagnosticky pokrývá. Na základě distribuce hantavirů např. v sousedním Německu se lze domnívat, že hantaviry se vyskytují ve více přírodních ohniscích i na našem území, avšak jejich přesný výskyt dosud nebyl podrobně zmapován. Nálezy antigenů u hlodavců z jižní Moravy, Krušných hor, jižních Čech anebo Ostravska jsou patrně jen střípky reálné distribuce tohoto agens na našem území. Řada infekcí je asymptomatických anebo zůstává nerozpoznána, takže je v budoucnu třeba zlepšit diagnostiku hantaviróz na všech klinických pracovištích v rámci celé České republiky. Dále bychom měli prozkoumávat a cíleně (podle výskytu onemocnění) vyhledávat nová ohniska hantavirů v populacích drobných hlodavců (především *M. glareolus*, *A. flavicolis*, *A. agrarius*) a propojovat tyto údaje s výskytem klinických případů u člověka. Kvalitní surveillance hantavirových nákaz je dnes dostupná jen v malé části evropských zemí (např. Německo, Finsko, Belgie), a to jen díky integrované spolupráci přírodovědců a lékařů. Hantavirózy jsou sice vzácná, ale svým průběhem a následky velmi nebezpečná onemocnění, a proto by se studii jejich ekologie a epidemiologie měla věnovat dostatečná pozornost. Z poslední doby lze dokumentovat zajímavý případ infekce virem Seoul u těhotné ženy v Belgii [76] nebo infekci způsobenou zástupcem tzv. nepatogenních hantavirů u imunokompromitovaného jedince dokonce na našem území [53]. Na základě údajů v EPIDAT a při srovnání s ostatními zeměmi středoevropského regionu se lze domnívat, že řada asymptomatických infekcí podobně jako u ostatních zoonóz dnes uniká pozornosti specialistů. Jak ve své knize Přírodní ohniskovost nákaz konstatuje významný český epidemiolog Luděk Daneš: „Viry, které jsou dnes málo významné, se mohou stát velkými patogeny, mohou měnit svá působiště, hostitele i přenašeče. Je na místě skromnost a zapotřebí smířit se s tím, že všechny vědecké poznatky mohou platit jen

dočasně, protože příroda a přírodní ohniska se vyvíjejí a mění dál, i když velmi pomalu“ [77].

Poděkování

Autoři děkují Evropské komisi za podporu projektu 7. rámcového programu EU grant FP7-261504 EDENext (<http://www.edenext.eu>), který se zabývá biologii a kontrolou infekcí přenášených vektory v Evropě. Publikace je v rámci tohoto programu katalogizována jako EDENext356. Věcný obsah publikace podléhá zodpovědnosti autorů a nereflektuje nutně pohled Evropské komise. Dále děkujeme Operačnímu programu Ministerstva školství (Vzdělávání pro konkurenceschopnost) projektu CEB (CZ.1.07/2.3.00/20.0183) a projektu Specifického výzkumu MU (MUNI/A/0884/2013) a (MUNI/A/1437/2014).

LITERATURA

- Vapalahti O, Mustonen J, Lundkvist A, et al. Hantavirus infections in Europe. *Lancet Inf Dis*, 2003; 3:653–661.
- Gratz N. *Vector- and Rodent-borne Diseases in Europe and North America: Their Distribution and Public Health*. Cambridge: Cambridge Univ. Press; 2006.
- Lee HW, Lee PW, Johnson KM. Isolation of etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J Infect Dis*, 1978; 137:298–308.
- Jonsson CB, Figueiredo LTM, Vapalahti O. A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease. *Clin Microbiol Rev*, 2010; 23:412–441.
- Avsic-Zupanc T, Saksida A, Korva M. Hantavirus infections. *Clin Microbiol Infect*, 2013; doi: 10.1111/1469-0691.12291.
- Jenison S, Yamada T, Morris C, et al. Characterization of human antibody responses to Four Corners hantavirus infections among patients with hantavirus pulmonary syndrome. *J Virol*, 1994; 68:3000–3006.
- Nichol ST, Spiropoulou CF, Morzunov S, et al. Genetic identification of a hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness. *Science*, 1993; 262:914–917.
- Maupin G, Gage K, Childs JE, et al. Isolation of the causative agent of hantavirus pulmonary syndrome. *Am J Trop Med Hyg*, 1994; 5:102–108.
- Childs JE, Ksiazek TG, Spiropoulou CF, et al. Serologic and genetic identification of *Peromyscus maniculatus* as the primary rodent reservoir for a new hantavirus in the southwestern United States. *J Infect Dis*, 1994; 169:1271–1280.
- Hjelle B, Torres-Perez F. Hantaviruses in the Americas and their role as emerging pathogens. *Viruses-Basel*, 2010; 2:2559–2586.
- CDC, MMWR. Annual U.S. HPS Cases and Case-fatality, 1993–2013. Dostupné na [www: http://www.cdc.gov/hantavirus/surveillance/annual-cases.html](http://www.cdc.gov/hantavirus/surveillance/annual-cases.html).
- Charrell RN, Coutard B, Baronti C, et al. Arenaviruses and hantaviruses: From epidemiology and genomics to antivirals. *Antiviral Res*, 2011; 90:102–114.
- Peters CJ, Mills JN, Spiropoulou C, et al. *Hantavirus infections*. In: Guerrant RL, Walker DH, Weller PF. *Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens & Practice* Philadelphia: Elsevier; 2006.
- Lednický JA. Hantaviruses: A short review. *Arch Pathol Lab Med*, 2003; 127:30–35.
- Kruger DH, Schonrich G, Klempa B. Human pathogenic hantaviruses and prevention of infection. *Hum Vaccines*, 2011; 7:685–693.
- Hepojoki J, Strandin T, Lankinen H, Vaheiri A. Hantavirus structure-molecular interactions behind the scene. *J Gen Virol*, 2012; 93:1631–1644.
- Safronetz D, Zivcec M, LaCasse R, et al. Pathogenesis and host response in Syrian hamsters following intranasal infection with Andes virus. *PLoS Pathog*, 2011; 7:1–15.
- Plyusnin A, Vapalahti O, Vaheiri A. Hantaviruses: Genome structure, expression and evolution. *J Gen Virol*, 1996; 77:2677–2687.

19. Taylor SL, Frias-Staheli N, Garcia-Sastre A, Schmaljohn CS. Hantaan virus nucleocapsid protein binds to import in α proteins and inhibits tumor necrosis factor alpha-induced activation of nuclear factor kappa B. *J Virol*, 2009; 83:1271-1279.
20. Wells RM, Sosa Estani S, Yadon ZE, et al. An unusual hantavirus outbreak in southern Argentina: Person-to-person transmission? *Emerg Infect Dis*, 1997; 3:171-174.
21. Hubálek Z, Rudolf I. *Microbial Zoonoses and Sapronoses*. Dordrecht: Springer; 2011.
22. Klempa B, Avsic-Zupanc T, Clement J, et al. Complex evolution and epidemiology of Dobrava-Belgrade hantavirus: definition of genotypes and their characteristics. *Arch Virol*, 2013;158: 521-529.
23. Maes P, Klempa B, Clement J, et al. A proposal for new criteria for the classification of hantaviruses, based on S and M segment protein sequences. *Infect Genet Evol*, 2009; 9:813-820.
24. Young JC, Mills JN, Enria DA, et al. New World hantaviruses. *Brit Med Bull*, 1998;54:659-673.
25. Kang HJ, Bennett SN, Hope AG, et al. Shared ancestry between a newfound mole-borne hantavirus and hantaviruses harbored by cricetid rodents. *J Virol*, 2011;85:7496-7503.
26. Guo WP, Lin XD, Wang W, et al. Phylogeny and origins of hantaviruses harbored by bats, insectivores, and rodents. *PLoS Pathogens*, 2013;9:1-13.
27. Ling J, Sironen T, Voutilainen L, et al. Hantaviruses in finnish soricomorphs: evidence for two distinct hantaviruses carried by *Sorex araneus* suggesting ancient host switch. *Infect Genet Evol*, 2014;27:51-61.
28. Vacková M, Jebavý L, Beran J, et al. Febrilní stavy způsobené hantaviry. *Prakt. lékař*, 2002; 82: 84-86.
29. Pejčoch M. Hantaviry a náklady jimi vyvolané. *Klin mikrobiol inf lék* 2003;1: 4-9.
30. Grešíková M, Rajčáni J, Sekeyová M, et al. Hemorrhagic fever virus with renal syndrome in small rodents in Czechoslovakia. *Acta Virol*, 1984;28:416-421.
31. Daneš L, Tkachenko EA, Ivanov AP, et al. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Czechoslovakia: detection of antigen in small terrestrial mammals and specific serum antibodies in man. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*, 1986;30:79-85.
32. Daneš L, Pejčoch M, Hubálek Z, et al. Hantaviruses in small wild living mammals in Czechoslovakia. *J Hyg Epidem* 1991;35:281-288.
33. Kobzík J, Daneš L. Laboratory confirmed cases of hemorrhagic fever with renal syndrome which occurred in Breclav 1989-1990. *Epidemiol Microbiol Immunol*, 1992;41:65-68.
34. Pejčoch M. Co to jsou hantaviry. *Vesmír*, 1995;74:446.
35. Pejčoch M, Kříž B. Hantaviruses in the Czech Republic. *Emerg Infect Dis*, 2003;9:756-757.
36. Matyášová L. Sérologický přehled hantavirových nákaz. *Zprávy CEM*, 1998;7:37.
37. Pejčoch M, Kříž B, Malý M. Promořenost hantaviry ve dvou oblastech s přírodními ohnisky hantavirů. *Prakt lékař*, 2010; 90:167-170.
38. Zelená H, Januška J. Serological characteristics of hantavirus from clinical specimens analyzed in 1998-2008 in the Department of Virology, Public Health Institute, Ostrava. *Epidemiol Microbiol Immunol*, 2009;58:115-120.
39. Pejčoch M, Pazdiora P, Eiselt J, et al. Seroprevalence of hantavirus antibodies among chronic hemodialysis patients in the Czech Republic. *Epidemiol Microbiol Immunol*, 2010;59:48-51.
40. Vacková M, Douda P, Beran J, et al. Serologic detection of hantavirus antibodies. *Epidemiol Mikrobiol Immunol*, 2002;51:74-77.
41. EPIDAT (2014). Vybrané infekční nemoci v ČR v letech 2004-2014. Dostupné na www: <http://www.szu.cz/publikace/data/vybrane-infekcni-nemoci-v-cr-v-letech-2003-2012-absolutne>.
42. Heyman P, Ceianu C, Christoval, et al. A five-year perspective on the situation of hemorrhagic fever with renal syndrome and status of the hantavirus reservoirs in Europe, 2005-2010. *Eurosurveillance*, 2011;16:15-22.
43. Petrů K, Pejčoch M, Monhart V, et al. Hemoragická horečka s renálním selháním. *Čas Lék čes*, 1997;136:739-740.
44. Papa A, Zelená H, Barnetová D, Petroušová L. Genetic detection of Dobrava/Belgrade virus in a Czech patient with haemorrhagic fever with renal syndrome. *Clin Microbiol Infect*, 2010;16:1187-1190.
45. Pejčoch M, Unar J, Kříž B, et al. Characterization of a natural focus of Puumala hantavirus infection in the Czech Republic, Cent Eur J Publ Health, 2010;18:116-118.
46. Dušek J, Pejčoch M, Kolský A, et al. Mild course of Puumala nephropathy in children in an area with sporadic occurrence hantavirus infection. *Pediatr Nephrol*, 2006, 21:1889-1992.
47. Zelená H, Zvolánková V, Zuchnická J, et al. Hantavirus infection during a stay in a mountain hut in northern Slovakia. *J Med Virol*, 2011;83:496-500.
48. Kruger DH, Figueiredo LTM, Song JW, Klempa B. Hantaviruses – globally emerging pathogens. *J Clin Virol*, 2015;64:128-136.
49. Schlegel M, Radosa L, Rosenfeld UM, et al. Broad geographical distribution and high genetic diversity of shrew-borne Seewis hantavirus in Central Europe. *Virus Genes*, 2012;45:48-545.
50. Heroldová M, Pejčoch M, Bryja J, et al. Tula virus in populations of small terrestrial mammals in a rural landscape. *Vector-Borne Zoonotic Dis*, 2010;10:599-603.
51. Plyusnin A, Cheng Y, Vapalahti O, et al. Genetic variation in Tula hantaviruses: Sequence analysis of the S and M segments of strains from Central Europe. *Virus Res*, 1995;39:237-250.
52. Vapalahti O, Lundkvist A, Kukkonen SKJ, et al. Isolation and characterization of Tula virus, a distinct serotype in the genus *Hantavirus*, family *Bunyaviridae*. *J Gen Virol*, 1996;77:3063-3067.
53. Zelená H, Mrázek J, Kuhn T. Tula hantavirus infection in immunocompromised host, Czech Republic. *Emerg Infect Dis*, 2013;19:1873-1876.
54. Schönrich G, Rang A, Lutteke N, et al. Hantavirus-induced immunity in rodent reservoirs and humans. *Immunol Rev*, 2008;225:163-189.
55. Rasmussen J, Andersson C, Norrman E, et al. Time to revise the paradigm of hantavirus syndromes? Hantavirus pulmonary syndrome caused by European hantavirus. *Eur J Clin Microbiol*, 2011;30:685-690.
56. Chandy S, Abraham, P, Sridharan G. Hantaviruses: an emerging public health threat in India? A review. *J Biosciences*, 2008;33:495-504.
57. Courouble P, Vanpee D, Delgrange E, et al. Hantavirus infections: clinical presentations in the emergency room. *Eur J Emerg Med*, 2001;8:17-20.
58. Pejčoch M, Kříž B. Hantaviry a jimi vyvolávaná onemocnění v České republice. *Prakt lékař*, 2007;87:545-549.
59. Park SC, Pyo HJ, Soe JB, et al. A clinical study of hemorrhagic fever with renal syndrome caused by Seoul virus infection. *Korean J Intern Med*, 1989;4:130-135.
60. MacNeil A, Nichol ST, Spiropoulou CF. Hantavirus pulmonary syndrome. *Virus Res*, 2011;162:138-147.
61. Korva M, Saksida A, Kejzar N, et al. Viral load and immune response dynamics in patients with haemorrhagic fever with renal syndrome. *Clin Microbiol Infect*, 2013;19:358-366.
61. Aitchou M, Saleh SS, McElroy AK, et al. Identification of Dobrava, Hantaan, Seoul, and Puumala viruses by one-step real-time RT-PCR. *J Virol Methods*, 2005;124:21-26.
62. De Souza WM, Machado AM, Figueiredo LTM, et al. Serosurvey of hantavirus infection in humans in the border region between Brazil and Argentina. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2011;44:131-135.
63. Clement J, Maes P, Van Ranst M. *Hantaviruses in the Old and New world*. In: Tabor E. *Emerging Viruses in Human Populations*. Amsterdam: Elsevier; 2007.
64. Lederer S, Lattwein E, Hanke M, et al. Indirect immunofluorescence assay for the simultaneous detection of antibodies against clinically important old and new world hantaviruses. *PLoS Neglect Trop Dis*, 2013;7:e2157.

SOUHRNNÉ SDĚLENÍ

65. Maes P, Keyaerts E, Li S, et al. Replication reduction neutralization test, a quantitative RT-PCR-based technique for the detection of neutralizing hantavirus antibodies. *J Virol Methods*, 2009;159:295–299.
66. Bi ZQ, Formenty PBH, Roth CE. Hantavirus Infection: A review and global update. *J Infect Dev Ctries*, 2008;2:3–23.
67. Hartline J, Mierek C, Knutson T, et al. Hantavirus infection in North America: a clinical review. *Am J Emerg Med*, 2013;31:978–982.
68. Dolgin E. Hantavirus treatments advance amidst outbreak in US park. *Nat Med*, 2012;18:1448.
69. Chu YK, Jennings GB, Schmaljohn CS. A vaccinia-virus vectored Hantaan and Seoul virus but not Puumala virus. *J Virol*, 1995;69:6417–6423.
70. Ulrich R, Koletzki D, Lachmann S, et al. New chimaeric hepatitis B virus core particles carrying hantavirus (serotype Puumala) epitopes: Immunogenicity and protection against virus challenge. *J Biotechnol*, 1999;73:141–153.
71. Khattak S, Darai G, Sule S, et al. Characterization of expression of Puumala virus nucleocapsid protein in transgenic plants. *Intervirology*, 2002;45:334–339.
72. Razanskiene A, Schmidt J, Geldmacher A, et al. High yields of stable and highly pure nucleocapsid proteins of different hantaviruses can be generated in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biotechnol*, 2004;111:319–333.
73. Maes P, Clement J, Gavrilovskaya I, et al. Hantaviruses: Immunology, treatment, and prevention. *Viral Immunol*, 2004;17:481–497.
74. Vacková M, Beran J, Douda P, et al. Epidemiologická problematika hantavirových nákaz. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 2000; 49:11–15.
75. Mace G, Feyeux C, Mollard N, et al. Severe Seoul hantavirus infection in a pregnant woman, France, October 2012. *Eurosurveillance*, 2013;18:14–17.
76. Daneš L. *Přírodně ohniskové nákazy*. Praha: Karolinum; 2003.

Do redakce došlo dne 13. 2. 2015.

Adresa pro korespondenci:

RNDr. Ivo Rudolf, Ph.D.

Ústav biologie obratlovců AVČR, v. v. i.
Klášterní 212
691 42 Valtice
e-mail: rudolf@ivb.cz