

Západonilská horečka – autochtonní výskyt na jižní Moravě v roce 2018 z pohledu epidemiologa

Ciupke R.¹, Juráš P.¹, Šebesta O.¹, Rudolf I.², Šikutová S.², Zelená H.^{3,4}

¹Krajská hygienická stanice Jihomoravského kraje se sídlem v Brně

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

³Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Národní referenční laboratoř pro arboviry, Ostrava

⁴Univerzita obrany, Fakulta vojenského zdravotnictví, Hradec Králové

SOUHRN

Cíl práce: Analyzovat opakovaný záchyt viru západonilské horečky (WNV) v komárech na území jižní Moravy ve vztahu s prvními autochtonními případy západonilské horečky (WNF) u lidí, se zaměřením na epidemiologické a environmentální šetření.

Materiál a metodika: Případy lidských onemocnění tvoří soubor 5 kauzistik onemocnění západonilskou horečkou diagnostikované v roce 2018 u osob žijících na jižní Moravě, bez cestovní anamnézy, a jejich důkladné epidemiologické a environmentální šetření. Případy byly uzavřeny jako potvrzené na základě diagnostických kritérií definovaných v rozhodnutí Evropské komise 2018/945.

Výsledky: V období července až září 2018 bylo dokumentováno 5 případů neuroinfekcí, u kterých bylo vysloveno podezření na západonilskou horečku a tato diagnóza byla následně potvrzena v Národní referenční laboratoři pro arboviry v Ostravě. Všechny vyšetřené komáří suspenze z místa výskytu prvního popsaného případu WNV infekce byly negativní na přítomnost WNV.

Závěr: Cirkulace WNV na jižní Moravě je známa již od roku 1997, kdy bylo potvrzeno několik autochtonních případů WNV

infekce po povodních způsobené pravděpodobně WNV linií 1 (WNV-1). Přítomnost nebezpečnější WNV linie 2 (WNV-2), která v současnosti cirkuluje ve střední a východní Evropě, byla opakovaně prokázána během cíleného monitorování komárů *Culex modestus* a *Cx. pipiens* v letech 2013, 2015 a 2016. Tyto informace byly v letech 2016–2018 opakovaně publikovány v odborném tisku i veřejných médiích. Bylo jen otázkou času a správné diferenciálně diagnostické úvahy infektologů při stanovení etiologie nespécifických neuroinfekcí, kdy budou potvrzeny první autochtonní případy západonilské horečky způsobené kmeny WNV-2. Epidemiologická šetření případů provedená pracovníky Krajské hygienické stanice Jihomoravského kraje a Akademie věd tyto předpoklady potvrdila.

KLÍČOVÁ SLOVA

West Nile virus (WNV) – západonilská horečka (WNF) – neuroinfekce – epidemiologické šetření

ABSTRACT

Ciupke R., Juráš P., Šebesta O., Rudolf I., Šikutová S., Zelená H.: West Nile fever – autochthonous human cases in South Moravia in 2018 from the epidemiological perspective

Aim: To analyse repeated detection of West Nile virus (WNV) in mosquitoes in South Moravia in correlation with the first documented autochthonous human cases of West Nile fever (WNF), focusing on epidemiological and environmental investigation.

Materials and methods: Here we report case studies of five patients with autochthonous WNF without any travel history diagnosed in South Moravia in 2018, along with in-depth epidemiological and environmental investigation. The cases were classified as confirmed based on the case definition criteria established in Commission Implementing Decision (EU) 2018/945.

Results: Between July and September 2018, a total of five human cases of West Nile virus infection were suspected and subsequently confirmed by the National Reference Laboratory for Arboviruses in Ostrava. All mosquito suspensions from the area where the first case of WNV infection was diagnosed tested WNV negative.

Conclusions: WNV circulation in South Moravia has been known since 1997 when the first human cases (probably caused by WNV lineage 1) were confirmed after floods. The presence of more serious neuroinvasive lineage 2 (WNV-2), now circulating in central and eastern Europe, was detected repeatedly in 2013, 2015, and 2016 in *Cx. modestus* and *Cx. pipiens* mosquitoes within the scope of targeted entomological surveillance. These findings were published in 2016–2018 in both the professional press and mass media. It was only a matter of time and of making the correct differential diagnosis in patients with non-specific neuroinfections before there were confirmed autochthonous human cases of WNF caused by WNV-2. These presumptions were corroborated by epidemiological investigations performed by the staff of the Regional Public Health Authority of the South Moravian Region and Academy of Sciences.

KEYWORDS

West Nile virus (WNV) – West Nile fever (WNF) – neuroinfections – epidemiological investigation

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 68, 2019, č. 4, s. 159–167

PŮVODNÍ PRÁCE

ÚVOD

Západonilská horečka (WNV) patří ve středoevropském regionu k nově se objevujícím nákazám. Je způsobena obaleným RNA virem náležejícím do rodu *Flavivirus*, dosud je popsáno 9 genomických linií, lidská onemocnění vyvolávají prokazatelně pouze linie 1, 2 a 5. Virus je přenašán převážně komáry rodu *Culex*, v našich podmínkách zejména druhu *Cx. pipiens* a *Cx. modestus*. Riziko nákazy virem se shoduje se sezonní aktivitou komárů a stoupá při jejich přemnožení, které ústí ve zvýšené napadání člověka. Negativní roli mohou sehrát i záplavy po vydatných srážkách, při kterých dochází ke kalamitnímu výskytu komárů. Virus v přírodě cirkuluje mezi ptáky, rezervoáry viru a ornitofilními druhy komárů. Tažní ptáci mohou virus šířit z tropů a subtropů do oblastí mírného pásma. Koně a lidé jsou konečnými (tzv. dead-end) hostiteli viru, a nepřispívají tedy k jeho další cirkulaci v ohnisku nákazy. Lidská nákaza probíhá v 80 % případů inaparentně, v 18–20 % případů pod obrazem horečnatého onemocnění s chřipkovými příznaky, popisován bývá také makulopapulózní exantém a lymfadenopatie, v 1–2 % případů může dojít k rozvoji neuroin vazivního onemocnění s příznaky meningitidy, encefalitidy, meningoencefalitidy, myelitidy nebo paréz. Riziko závažnějšího průběhu je spojováno s vyšším věkem, imunopresí a komorbiditami. Smrtnost neuroin vazivních forem se uvádí kolem 10 %. Inkubační doba je 2–6 dní (s rozpětím 2–15 dní, u imunokompromitovaných osob až 21 dní). K přenosu nákazy primárně dochází poštípáním komáry, vzácně dochází k přenosu krve a tkáněmi, jsou popsány výjimečné případy transplacentárního přenosu, nelze vyloučit ani profesionální nákazu. Virémie začíná asi 2 dny před objevením se prvních příznaků a trvá po dobu následujících 4–6 dní. Při typickém průběhu probíhá onemocnění 2 až 7 dní. Léčba je nespecifická a vakcína není v současnosti dostupná [1, 2].

Prevence lidských onemocnění spočívá v bariérové ochraně a prevenci poštípání komáry – osobní a prostorové repelenty, vhodné oblečení, eliminace stojatých vod (možných komářích láníšť) v okolí bydliště (především arteficiální nádoby na vodu pro zalévání) a prevence zalétávání komárů do obydlí. Prevenci mezilidského přenosu upravuje legislativa, která stanoví povinnost transfuzní službě vyloučit z dárcovství plné krve a krevních složek všechny osoby, které pobývaly v oblasti s výskytem autochtonních lidských infekcí, a to po dobu 28 dní po opuštění takové oblasti. Z pohledu aktuálního vývoje situace se tento požadavek jeví jako značně problematický [3, 4]. Virus západonilské horečky (WNV) byl poprvé izolován z krve pacientky z provincie West Nile v Ugandě v roce 1937. V dalších letech byl WNV opakovaně zachycen v různých částech Afriky, na Blízkém a Středním východě a ve Středomoří. V roce 1999 byl poprvé dokumentován na území Severní Ameriky. V současné době patří vedle virů dengue, Zika či žluté zimnice k celosvětově nejrozšířenějším patogenním flavivirům. V Evropě bylo v posledních desetiletích zaznamenáno několik významných epidemických výskytů, např. v Rumunsku (1996) a v Itálii (1998). V jižní a střední Evropě je od roku 2004 zaznamenáno šíření linie 2 (WNV-2), která způsobuje závažné neuroin vazivní formy onemocnění [5]. V roce 2018 byl v Evropě zaznamenán vůbec nejvyšší počet případů západonilské horečky, jednalo se o 2 083 případů,

což činilo sedminásobný vzestup oproti období 2011–2017. Nejvyšší počet byl evidován v Itálii (576 případů), nejvyšší meziroční nárůst byl zaznamenán v Bulharsku (15krát) [6]. Přístup k řešení problematiky z hlediska monitorování, prevence a opatření není v zemích Evropské unie jednotný [7].

Až do roku 2018 nebyl zaznamenán žádný případ způsobený WNV-2 linií, který by odpovídal místu nákazy na jižní Moravě. Do té doby byl hlášen pouze jeden případ západonilské horečky z oblasti Moravskoslezského kraje, a to v roce 2013, u ženy původem z Vietnamu, s negativní cestovatelskou anamnézou [8]. V České republice byla mimo uvedený případ zaznamenána pouze importovaná onemocnění, a to v celkovém počtu 5 případů – v roce 2002 (1 import z USA), 2007 (1 import z Tanzanie a 1 import z Kypru), 2018 (1 import z Řecka a 1 import z Rakouska) [8]. V roce 2018 byly v České republice diagnostikovány 2 případy importované a 5 případů autochtonních [8]. Ve srovnání s Rakouskem, nejbližší zemí sousedící jižně, je situace u nás ještě relativně příznivá, avšak naznačuje určitý vývoj. V Rakousku bylo v roce 2018 zaznamenáno 6 případů importovaných a 21 autochtonních, přitom první autochtonní případy tam byly zaznamenány v roce 2014 [9].

Od roku 1995 probíhá na jižní Moravě v úzké spolupráci odborníků Akademie věd ČR a Krajské hygienické stanice Jihomoravského kraje monitorování komárů, zejména s cílem identifikace rizik a včasných preventivních zásahů k zamezení kalamitního přemnožení komárů. V České republice byl WNV poprvé izolován po povodních v roce 1997 na Břeclavsku z komárů *Cx. pipiens*. Jednalo se o novou, méně virulentní linii 3 (WNV-3; Rabensburg) [10]. Současně bylo zaznamenáno několik autochtonních infekcí u lidí, pravděpodobně způsobených linií 1 (WNV-1), která cirkulovala v Evropě [11]. Velmi důležitým byl však první záchyt WNV-2 v roce 2013 u komárů *Cx. modestus* v oblasti Lednicko-valtického areálu, potvrzený také v letech 2015 a 2016 [5, 12]. Na možnost vzniku lidských autochtonních infekcí v České republice a úskalí jejich diagnostiky upozornil již v roce 2007 prof. MUDr. Pavel Chalupa, CSc. [2].

V roce 2018 bylo v České republice poprvé v historii identifikováno a potvrzeno 5 autochtonních případů lidských onemocnění virem západonilské horečky. Všechny případy byly lokalizovány na území Jihomoravského kraje, jižně od 49°19' severní šířky. První případ byl identifikován na základě široké diferencially diagnostické úvahy u úmrtí pacientky z jižní Moravy, při pracovní diagnóze klíšťová encefalitida. Následně byly diagnostikovány další tři případy hospitalizovaných pacientů s příznaky neuroinfekce, poslední pátý případ byl potvrzen na základě retrospektivní analýzy. U všech případů byl na základě epidemiologického šetření vyloučen import onemocnění ze zahraničí a byla identifikována známá rizika – přítomnost láníšť komárů v okolí bydliště a poštípání komáry [8, 13]. Případy byly šetřeny orgánem ochrany veřejného zdraví v souladu s legislativou ČR [3].

Na základě vývoje epidemiologické situace vydalo Ministerstvo zdravotnictví ČR Doporučený postup při výskytu západonilské horečky ze dne 27. 3. 2019 [14], doporučení pro vyřazování dárců z odběrů stanovila Společnost pro transfuzní lékařství ČLS JEP [4] a tyto postupy jsou k datu odevzdání tohoto textu redakci předmětem dalších jednání.

MATERIÁL A METODY

Popis série případů

Jedná se o soubor 5 případů vzniklých v roce 2018 na území jižní Moravy, s potvrzenou diagnózou západonilská horečka – podle Mezinárodní klasifikace nemocí (10. revize) „A 92.3 Západonilská virová infekce“, splňující kritéria potvrzeného případu [3]. Podle platné legislativy [3] osoba poskytující péči, která vyslovila podezření na nákazu WNV, provede odběr biologického materiálu k laboratornímu průkazu etiologického agens a zajistí transport odebraného materiálu do Národní referenční laboratoře pro arboviry. NRL pro arboviry ohlásí výsledky osobě poskytující péči a příslušnému protiepidemickému oddělení orgánu ochrany veřejného zdraví.

Laboratorní diagnostika

Laboratorní šetření klinických případů bylo založeno na metodách přímého průkazu detekcí virové RNA metodou RT-PCR a na metodách nepřímého průkazu detekcí specifických protilátek proti viru západonilské horečky a viru klíšťové encefalitidy ve třídách IgG a IgM metodou enzymatické imunoanalýzy (ELISA) a nepřímé imuno-fluorescence (NIF). Pro konfirmaci výsledků sérologických testů byl využíván virusneutralizační test (VNT) v mikromodifikaci na 96jamkových mikrotitračních destičkách. Pro přímý průkaz metodou RT-PCR byla využita komerční diagnostická souprava RealStar® WNV RT-PCR Kit 1.0 (Altona Diagnostics GmbH, Německo). Pozitivní vzorky byly sekvenovány [15]. Pro vyšetření sér pacientů na přítomnost specifických protilátek IgG a IgM proti WNV byly použity tyto komerční diagnostické soupravy: Anti-West Nile virus IIFT IgG and IgM, Anti-West Nile virus ELISA IgG and IgM (obě Euroimmun, Lübeck, Německo) a ELISA West Nile Virus IgG and IgM capture Dx Select™

(Focus Diagnostics, Cypress CA, USA). Komerční testy NIF a ELISA a jejich vyhodnocení byly provedeny podle návodu výrobce v příbalovém letáku. Pro konfirmaci sérologických výsledků byl proveden VNT v mikromodifikaci s viry WNV, Usutu a s virem klíšťové encefalitidy podle publikovaného „in house“ protokolu [16, 17] z důvodu vyloučení možných zkřížených reakcí s jinými flaviviry.

Epidemiologické šetření

Následné epidemiologické šetření bylo zaměřeno na ověření cestovatelské anamnézy a zjištění, zda nemocný byl/nebyl v rozhodujícím období dárce krve a tkání. Pověření pracovníci KHS také navštívili pravděpodobná místa nákazy, aby se pokusili dohledat její zdroj (vodní rezervoáry s larvami komárů).

Environmentální šetření

(screening komárů na přítomnost WNV)

Nad rámec povinností daných legislativou proběhlo bezprostředně po nahlášení prvního případu v místě výskytu nákazy na Břeclavsku tzv. environmentální šetření – odchyt samic komárů v ohnisku nákazy a jejich vyšetření na přítomnost WNV molekulárně biologickými metodami. V místě bydliště pacientky bylo rozmístěno 12 tzv. EVS pastí doplněných suchým ledem k záchytu komárů ve třech po sobě následujících dnech/nocích od 17. do 20. 9. 2018 na základě aktivity komárů (16:30–8:30 hod). Sběr, determinace a molekulární vyšetření komárů probíhalo dle standartních postupů [5, 12].

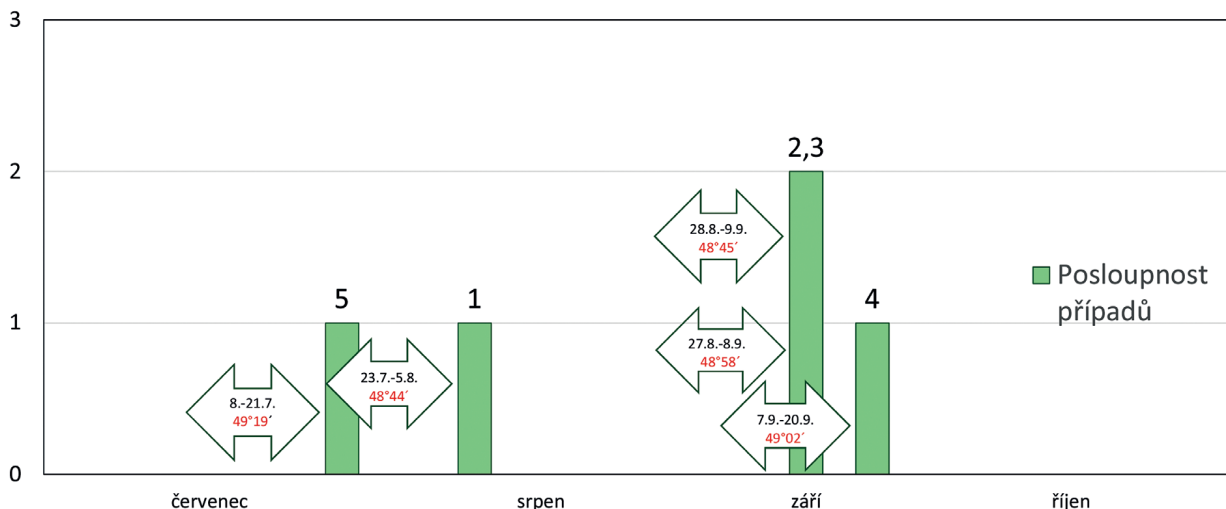
VÝSLEDKY

Soubor kazuistik tvoří 5 autochtonních případů, splňujících kritéria potvrzeného případu západonilské horečky



Obr. 1. Lokality akvirace nákazy
Figure 1. WNV affected areas

PŮVODNÍ PRÁCE



Obr. 2. Autochtonní případy západonilské horečky na jižní Moravě v r. 2018 dle posloupnosti hlášení, inkubační doby a lokalizace
Figure 2. Distribution of autochthonous human cases of West Nile fever in South Moravia in 2018 by case report date, incubation period, and acquisition area



Obr. 3. Okolí nákazy
Figure 3. WNV transmission area



Obr. 4. Okolí nákazy
Figure 4. WNV transmission area

podle diagnostických kritérií definovaných v rozhodnutí Evropské komise z června 2018 [18]. Laboratorní výsledky byly potvrzeny v Národní referenční laboratoři pro arboviry ve Zdravotním ústavu v Ostravě. Jedná se o 3 muže (ve věku 51, 52 a 74 let) a 2 ženy (ve věku 72 a 46 let). Čtyři pacienti byli hospitalizováni – 3 případy bez komplikací, 1 případ fatální; 1 případ léčen ambulantně. Délka hospitalizace v časovém rozpětí 11–17 dnů, průměr 14 dnů, medián 14 dnů. K nákaze WNV došlo ve všech případech v oblasti jižní Moravy, v okolí bydliště pacientů, s vhodnými podmínkami pro výskyt komárů (obr. 1).

První diagnostikovaný případ jsme zaznamenali v září 2018. Zpětně bylo zjištěno, že k nákaze došlo na přelomu července a srpna 2018. K nákaze dalších osob došlo v období 28. 8.–20. 9. 2018. U posledního případu se období, kdy k nákaze došlo, vztahuje k měsíci červenci 2018 (obr. 2, graf 1). Mezi případy nebyla zjištěna vzájemná souvislost ve smyslu pobytu ve stejné lokalitě, u všech

případů byla v místech pobytu zaznamenána riziková místa pro množení komárů (obr. 3 a 4) a jejich vyšší výskyt, bylo uvedeno nebo nebylo vyloučeno poštípání komáry v místních lokalitách a byla vyloučena nákaza jinou cestou (např. transfuze) [8, 13].

Vyšetření vzorků komárů zajištěných ze 3 nočních odchytů v září roku 2018 v rámci cíleného environmentálního šetření v ohnisku nákazy prvního případu však již neprokázalo přítomnost WNV. Šetření dalších případů se uskutečnilo v říjnu 2018, po nahlášení a confirmaci případů. V té době však již byla aktivita komárů minimální, proto vzhledem k pokročilé podzimní sezóně nebyly již provedeny jejich odchty.

Případy onemocnění západonilskou horečkou jsou uvedeny v posloupnosti podle data hlášení, laboratorní výsledky NRL pro arboviry od všech pacientů jsou shrnuty v tabulce 1. Pro upřesnění lokalizace u případů uvádíme údaj o rovnoběžce, bližší informace neuvádíme z důvodu anonymizace místa bydliště a osob (viz obr. 2).

Případ 1

Žena, 72 let, z okr. Břeclav. Lokalizace: 48°45' severní šířky.

První potíže 7. 8. 2018 – celková slabost, průjem, bolesti svalů. 13. 8. 2018 nalezena doma neschopná pohybu, převezena na interní oddělení. Dochází k výrazné kvantitativní poruše vědomí (sopor), následně přeložena na ARO, intubována. Vysloveno podezření na klíšťovou meningoencefalitidu (v séru i likvoru IgM hraniční, IgG slabě pozitivní, podle biochemie zánětlivý likvor). 28. 8. 2018 pacientka umírá v důsledku rozvoje nezvládnutelného multiorgánového selhání. Na základě pozitivní sérologie byl případ prvotně uzavřen jako úmrtí na infekci virem klíšťové encefalitidy. Komorbidity v anamnéze: revmatoidní artritida, lichen ruber, chronická gastritis, hypotyreóza. Přizvaným infektologem bylo dne 27. 8. 2018 vzhledem k nejednoznačnému průběhu onemocnění a publikovaným informacím o výskytu WNV na jižní Moravě vysloveno podezření na západonilskou horečku. Bylo indikováno dodatečné vyšetření krve a moči pacientky a byly zajištěny zbytky již odebraného mozkomíšního moku a séra ze dnů 18., 20. a 24. 8. 2018 ke confirmaci v NRL. Podrobné výsledky vyšetření jsou uvedeny v tabulce 1.

Délka hospitalizace: 15 dnů, úmrtí.

První epidemiologické šetření provedené pracovníky Krajské hygienické stanice Jihomoravského kraje, pracoviště Břeclav, proběhlo dne 4. 9. 2018 a bylo zaměřeno na diagnózu uvedenou z hlášení o úmrtí – na klíšťovou encefalitidu. Bylo zjištěno, že osoba necestovala, a to ani v rámci České republiky, klíště neguje, na zahradě v místě bydliště byla jen poštípána komáry. Očkování proti klíšťové encefalitidě nebyla. Dne 12. 9. 2018 byly ohlášeny prvotní výsledky z NRL, svědčící pro západonilskou horečku. Dne 13. 9. 2018 bylo provedeno cílené environmentální šetření v okolí bydliště, které vzhledem k časovým parametrům prvních příznaků onemocnění a obvyklé inkubační době probíhalo cca 38–42 dnů po předpokládané expozici, tj. expozice 1.–5. 8. 2018 (s maximem rozpětí 23. 7.–5. 8. 2018) – zahrada, stojatá voda v nádobách, výskyt komárů. Celkem bylo molekulárně vyšetřeno 87 samic komárů druhů *Cx. pipiens*, *Anopheles maculipennis sensu lato*, *Aedes vexans*, *Ae. caspius* a *Ae. sticticus*. Výsledek vyšetření těchto komářích suspenzí byl negativní na přítomnost WNV.

Případ 2

Muž, 52 let, z okresu Břeclav. Lokalizace: 48°54' severní šířky.

První potíže 11. 9. 2018 – nespecifické příznaky (febrilie, artralgie, myalgie, únava), od 15. 9. 2018 cefalea, opakovaný vodnatý průjem, zvracení. S těmito potížemi se dostavil k praktickému lékaři, který jej 18. 9. 2018 odeslal k hospitalizaci na infekčním oddělení, s podezřením na neuroinfekci. V rámci diferenciální diagnostiky, vzhledem k nejednoznačným výsledkům svědčícím pro klíšťovou meningoencefalitidu a na základě zkušeností s případem 1 bylo infektologem indikováno vyšetření biologického materiálu na západonilskou horečku v NRL pro arboviry. Vyšetřeno bylo sérum, plná krev i moč – podrobné výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

Délka hospitalizace: 17 dnů, bez komplikací.

V osobní anamnéze chronická cefalea nejasného původu, arteriální hypertenze bez terapie, jinak bez závaž-

ných komorbidit. Předpokládaná doba expozice 5.–9. 9. 2018 (časové rozpětí pro expozici 28. 8.–9. 9. 2018). Epidemiologické a environmentální šetření proběhlo dne 1. 10. 2018 po nahlášení případu z infekčního oddělení a z NRL pro arboviry. Muž bydlí v rodinném domě na okraji obce, nedaleko se nachází menší rybník s bohatou vegetací. U domu je zahrada, v době předpokládané expozice se zde nacházely konve s nastřídanou stojatou vodou. V rámci svého zaměstnání vykonával služební cesty v okrese Hodonín a Břeclav, do zahraničí necestoval. Poštípání komáry nevyklučuje, drůbež nechová. Očkován proti klíšťové encefalitidě nebyl. Dárcovství krve neguje.

Případ 3

Muž, 51 let, z okresu Břeclav. Lokalizace: 48°45' severní šířky.

První potíže se objevily 10. 9. 2018 – nespecifické příznaky (febrilie, cefalea, únava, vyčerpanost, artralgie, poruchy spánku). Dne 2. 10. 2018 byla praktickým lékařem pro protražované potíže indikována hospitalizace na infekčním oddělení. V rámci diferenciální diagnostiky (vyšetření na klíšťovou meningoencefalitidu, herpetické viry, VZV, enteroviry negativní) bylo infektologem indikováno vyšetření biologického materiálu i na západonilskou horečku v NRL pro arboviry. Vyšetřeno bylo sérum a plná krev – podrobné výsledky jsou uvedeny v tabulce 1. Délka hospitalizace 14 dnů, bez komplikací.

V osobní anamnéze jen lymeská nemoc a vertebroalgický syndrom, jinak dosud bez závažných komorbidit. Předpokládaná doba expozice 4.–8. 9. 2018 (časové rozpětí pro expozici 27. 8.–8. 9. 2018). Epidemiologické šetření proběhlo dne 8. 10. 2018 po nahlášení případu z NRL pro arboviry. Bylo zjištěno, že pacient bydlí v rodinném domě se zahradou, kde jsou konve se stojatou vodou na zalévání a malé jezírko. Pobýval jen v místě bydliště, necestoval. Pravidelně chodí na procházky do blízkého lesa, poštípání komáry nevyklučuje. Očkován proti klíšťové encefalitidě nebyl. Dárcovství krve neguje.

Případ 4

Žena, 46 let, z okresu Břeclav, přechodně okres Brno-venkov. Lokalizace: 48°58' a 49°02' severní šířky.

První potíže se dostavily 22. 9. 2018 během dovolené v Turecku (pobytový zájezd v termínu od 20. 9. do 30. 9. 2018) – únava, zvracení, febrilie, vertigo, nestabilita. Po návratu do ČR dne 1. 10. 2018 byla hospitalizována pro suspektní meningoencefalitidu nejasné etiologie. Vyšetřeno bylo sérum, zjištěna byla také pozitivita protilátek proti USUV – podrobné výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

Délka hospitalizace: 11 dnů, bez komplikací.

Vzhledem k epidemiologické situaci a recentním případům na jižní Moravě byla vyšetřena na arbovirózy včetně WNV a viru *Usutu* (USUV), kdy nákaza WNV byla v NRL potvrzena (VNT pozitivní). Vzhledem k vysokému titru USUV neutralizačních protilátek však nelze vyloučit ani infekci tímto arbovirem. Vzhledem k časovému souvislostem import vyloučen, předpokládaná expozice 16.–20. 9. 2018 (časové rozpětí pro expozici 7.–20. 9. 2018). Bydliště venkovského charakteru, zahrádka, stojatá voda na zalévání, v blízkosti bydliště slepá říční ramena. V osobní anamnéze hluboká žilní trombóza, jinak bez závažných komorbidit. Očkována proti klíšťové encefalitidě nebyla. Dárcovství krve neguje.

PŮVODNÍ PRÁCE

Tabulka 1. Výsledky laboratorních vyšetření v NRL pro arboviry u pacientů s potvrzenou autochtonní infekcí virem západonilské horečky v roce 2018 splňující diagnostická kritéria podle rozhodnutí Evropské komise z roku 2018 [18]
Table 1. Laboratory tests results of patients with confirmed autochthonous West Nile fever meeting the EU case definition (Commission Implementing Decision (EU) 2018/945), obtained by the National Reference Laboratory for Arboviruses in 2018

Pořadové číslo pacienta	Datum odběru vzorku	WNV PCR (S, WB, CSF, U)	WNV IgM ELISA (IP) ¹ Euroimmun ² Focus WNV IgM NIF (titr) ³ Euroimmun	WNV IgG ELISA (IP) ¹ Euroimmun ² Focus WNV IgG NIF (titr) ³ Euroimmun	WNV VNT (titr)	TBEV IgM ELISA (IP)	TBEV IgG ELISA (IP)	TBEV IgG avidita (%)	TBEV VNT (titr)	USUV VNT (titr)	Diagnostický závěr
1	18.8.		> 20 (poz.) ³	> 20 (poz.) ³	4 (hran.)	neg.	neg.		neg.		potvrzený případ infekce WNV
	20.8.	S-inhib. CSF-poz.	> 20 (poz.) ³	> 20 (poz.) ³	8 (poz.)						
	24.8.	S-poz. CSF-neg.	> 20 (poz.) ³	> 20 (poz.) ³	16 (poz.)						
	28.8.	U-poz.									
2	18.9.	S-neg.	2,36 (poz.) ¹ 5,27 (poz.) ² 500 (poz.) ³	neg. ¹ neg. ² 20 (poz.) ³	neg.	neg.	neg.		neg.	neg.	potvrzený případ infekce WNV
	24.9.	S-neg. U-poz.	2,90 (poz.) ¹ 6,39 (poz.) ² > 500 (poz.) ³	1,31 (poz.) ¹ 1,26 (poz.) ² 20 (poz.) ³	8 (poz.)	0,96 (hran.)	1,19 (poz.)	38%	neg.	4 (hran.)	
	1.10.	S, U-neg.	3,69 (poz.) ¹ 6,28 (poz.) ²	2,12 (poz.) ¹ 2,13 (poz.) ²	64 (poz.)	neg.	2,18 (poz.)	22%	neg.	16 (poz.)	
	4.10.	WB-poz.									
	19.10.	WB, U-neg.	3,10 (poz.) ¹	3,16 (poz.) ¹	64 (poz.)	neg.	2,75 (poz.)	20%	neg.	4 (hran.)	
	25.1.	WB-neg. U-poz.	neg.	3,05 (poz.)	32 (poz.)	neg.	2,10 (poz.)	43%	neg.	neg.	
3	3.10.	S, CSF, U-neg.	3,11 (poz.) ¹ 7,22 (poz.) ² > 20 (poz.) ³	1,10 (hran.) ¹ 1,02 (hran.) ² 20 (poz.) ³	64 (poz.)	neg.	neg.		neg.	16 (poz.)	potvrzený případ infekce WNV
	4.10.	WB-poz.									
	10.10.	WB-poz. S, U-neg.	5,63 (poz.) ²	2,28 (poz.) ²	128 (poz.)	neg.	neg.		neg.	32 (poz.)	
	8.11.	WB-poz. S, U-neg.	1,65 (poz.) ¹	2,82 (poz.) ¹	32 (poz.)	neg.	1,81 (poz.)	33%	neg.	8 (poz.)	
	13.12.	WB-poz. U-neg.	1,61 (poz.) ¹	3,13 (poz.) ¹	32 (poz.)	neg.	2,41 (poz.)	36%	neg.	neg.	
15.2.	WB-poz. U-neg.	neg.	3,91 (poz.) ¹	16 (poz.)	neg.	2,05 (poz.)	37%	neg.	neg.		

Tabulka 1. pokračování
Table 1. continuation

Pořadové číslo pacienta	Datum odběru vzorku	WNV PCR (S,WB, CSF,U)	WNV IgM ELISA (IP) ¹ Euroimmun ² Focus ³ WNV IgM NIF (titr) ³ Euroimmun	WNV IgG ELISA (IP) ¹ Euroimmun ² Focus ³ WNV IgG NIF (titr) ³ Euroimmun	WNV VNT (titr)	TBEV IgM ELISA (IP)	TBEV IgG ELISA (IP)	TBEV IgG avidita (%)	TBEV VNT (titr)	USUV VNT (titr)	Diagnostický závěr
4	1.10.	S, CSF-neg.	neg. ^{1,2,3}	neg. ^{1,2,3}	neg.	neg.	neg.		neg.	16 (poz.)	potvrzený případ infekce WNV (nelze vyloučit infekci USUV)
	5.10.	WB, U-neg.	neg. ^{1,2} 20 (poz.) ³	neg. ^{1,2,3}							
	10.10.		1,37 (poz.) ¹ 20 (poz.) ³	neg. ¹ 20 (poz.) ³	16 (poz.)	neg.	neg.		neg.	256 (poz.)	
	25.10.		neg. ²	0,93 (hran.) ¹							
5	23.10.		0,91 (hran.) ¹ 1,57 (poz.) ²	3,49 (poz.) ¹	512 (poz.)	neg.	12,67 (poz.)	100%	32 (poz.)	128 (poz.)	potvrzený případ infekce WNV

Pozitivní hodnoty jsou zvýrazněny tučným písmem.

Legenda: S – sérum, WB – plná krev, CSF – mozkomíšni mok, U – moč, IP – index positivity, NIF – nepřímá imunofluorescence, VNT – virusneutralizační test, poz. – pozitivní, neg. – negativní, hran. – hraniční, inhb. – inhibice, WN – virus západonilské hořčky, USUV – virus Usutu

Referenční meze pro ELISA (IP): < 0,90 negativní, 0,90–1,10 hraniční, > 1,10 pozitivní

Referenční meze pro NIF (titr): < 20 negativní, ≥ 20 pozitivní

Referenční meze pro VNT (titr): < 4 negativní, 4 hraniční, > 4 pozitivní

Positive values are highlighted in bold.

Legend: S – serum, WB – whole blood, CSF – cerebrospinal fluid, U – urine, IP – positivity index, NIF – indirect immunofluorescence, VNT – virus neutralization test, pos. – positive, neg. – negative, edge. – borderline, inhb. – inhibition, WN – West Nile virus, USUV – Usutu virus

ELISA (IP) reference limits: < 0,90 negative, 0,90–1,10 borderline, > 1,10 positive

NIF reference limits (titr): < 20 negative, ≥ 20 positive

VNT reference limits (titr): < 4 negative, 4 borderline, > 4 positive

PŮVODNÍ PRÁCE

Případ 5

Muž, 74 let, z okresu Brno-město. Lokalizace: 49°19' severní šířky.

První potíže se objevily v období 23. 7.–4. 8. 2018, kdy se potýkal s febriliemi, bez zjištěné příčiny, 5.–7. den od začátku horečky došlo k výsevu makulózního exantému na trupu, bez neurologického nálezu.

Léčen byl ambulantně.

Muž bez závažných komorbidit v anamnéze, dosud aktivně sportující. Na základě medializace o vzniku případů na jižní Moravě byl tento případ konzultován lékařem z rodiny na Krajské hygienické stanici dodatečně 23. 10. 2018, již s odstupem více než 3 měsíců od příznaků, a následně dodatečně ambulantně vyšetřen. Do NRL bylo k vyšetření zasláno sérum, byla potvrzena recentně prodělaná infekce WNV, v souladu s anamnestickými údaji a epidemiologickým šetřením – podrobné výsledky jsou uvedeny v tabulce 1. Předpokládaná doba expozice 17.–21. 7. 2018 (rozpětí 8.–21. 7. 2018), kdy byl udáván jen pobyt v místě bydliště, nocování na terase v době letních veder, zde poštípání komáry, dále také rybaření v kraji Vysočina. Na zahradě v místě bydliště byly v době šetření nalezeny skruže se stojatou vodou, které mohly být v letním období potenciálním líhništěm. Mimo ČR udával jen jednodenní pobyt začátkem května v Rakousku, vzhledem k časovému souvislostem nerelevantní. Očkován proti klíšťové encefalitidě byl základním schématem v letech 2008–2010, přeočkován byl v roce 2013 a 2016. Dárce krve nebyl.

DISKUSE

Vzhledem k popsanému vývoji situace – identifikace viru západonilské horečky a prokázání výskytu klinicky závažnější formy WNV-2 v komárech na jižní Moravě a k vývoji epidemiologické situace na Evropském kontinentu bylo již jen otázkou času, kdy budou identifikovány první případy lidských onemocnění také v ČR. V jejich identifikaci hrála klíčovou roli správná diferenciálně diagnostická úvaha u prvního sporného případu úmrtí (zpočátku diagnostikováno jako klíšťová encefalida) v srpnu 2018. Ačkoli Jihomoravský kraj patří k regionům s vyšší incidencí klíšťové encefalidity (5,55 případů/100 000 obyvatel v roce 2018), samotný okres Břeclav vykazuje v rámci kraje incidenci nejnižší (1,72 případů/100 000 obyvatel v r. 2018) [8]. Úmrtí na klíšťovou encefalidu je výjimečnou událostí, proto podezření na úmrtí na klíšťovou encefalidu v okrese Břeclav vyvolalo již na začátku určité pochybnosti.

Vodítkem k správné diferenciálně diagnostické úvaze byly nepochybně informace publikované v odborném tisku v letech 2017 a 2018 [5, 19] a aktuálně také informace v masmédiích iniciované v červnu roku 2018 Krajskou hygienickou stanicí Jihomoravského kraje. Další případy byly pak identifikovány a diagnostikovány na základě následně medializace výskytu západonilské horečky v ČR. Na základě těchto de facto cíleně zjištěných onemocnění se lze domnívat, že tyto mohou být jen „špičkou ledovce“. Je otázkou, kolik případů zůstává skryto pod diagnózou neurčených virových neuroinfekcí.

Identifikací autochonních případů vzniklých v roce 2018 se jižní Morava zařadila k oblastem pro virus západonilské horečky endemickým. Do 2. 10. 2018 byly těmito

oblastmi vnitrozemí Chorvatska (tj. území mimo přímořské oblasti), Slovinsko, Maďarsko, Rumunsko, Řecko, severní Itálie, Srbsko, Dolní Rakousko včetně Vídně a francouzské regiony Okcitanie a Provence [4].

ZÁVĚR

Virus západonilské horečky byl na jižní Moravě izolován z komárů rodu *Culex* opakovaně již od roku 1997 [10]. V roce 2013 byl u komárů *Cx. modestus* poprvé zachycen WNV-2 [12], opakovaně detekovaný také v letech 2015 a 2016 [5]. Vzhledem k vývoji epidemiologické situace v Evropě, s výrazným nárůstem počtu lidských onemocnění a posunu ohnisek nákazy od Středomoří do severnějších oblastí, bylo jen otázkou času, kdy se objeví autochtonní případy také na území České republiky. Vzhledem k výskytu přenašečů WNV je jen otázkou jejich množství a aktivity, s jak vysokou mírou rizika nákazy je nutno počítat. Je nezbytné školit klinické lékaře, aby v rámci diferenciální diagnostiky neuroinfekcí zejména při serózních meningitidách nejasné etiologie s nejasným horečnatým stavem v období aktivního přenosu WNV (jaro–podzim) [14] zvažovali možnost infekce virem západonilské horečky, a to rovněž u případů s negativní cestovatelskou anamnézou. Zároveň je nezbytné provádět monitorování komárů a v případě hrozících kalamit včas informovat orgány státní správy a samospráv, s cílem zajištění včasných opatření k zamezení vzniku komářích kalamit, která by riziko nákazy výrazně zvýšila.

Zajímavým závěrem epidemiologického zjištění zůstává fakt, že všechny popsané případy byly dokumentovány v urbánních biotopech a jako největší riziko akvirace infekce se jevila přítomnost arteficiálních vodních rezervoárů včetně barelů, skruží a jiných nádob na sběr dešťové vody pro zalévání. Z hlediska prevence nákazy lze tedy doporučit zakrývání těchto rezervoárů např. sítěmi proti komárům nebo dokonce zvážit jejich časté vyprazdňování a tím i omezení vývoje komářích larev.

Negativní výsledky vyšetření komárů z podzimního monitorování byly způsobeny jejich již nižší aktivitou a tím i nižší pravděpodobností zachytu viru. V roce 2019 jsou plánovány monitorovací odběry ve vytipovaných lokalitách i hledání nových WNV ohnisek. K zamezení potenciálního rizika mezilidského přenosu transfuzí na oslabené jedince je nezbytné přijmout shodná preventivní opatření, tj. screening dárců v období adekvátním pro riziko nákazy. Jižní Morava je vyhledávanou turistickou oblastí, jsou zde sídla vysokých škol (Brno, Lednice) a je i oblastí tranzitní, bylo by proto žádoucí zavést screening dárců nejen v Jihomoravském kraji, ale také i v regionech mimo něj. Obdobnou situaci lze předpokládat i v jižních Čechách, kde v roce 2018 v období červen až září byl poprvé detekován WNV-2 v komárech *Cx. modestus* na Třeboňsku [20]. V průběhu vzniku tohoto textu byl vydán Věstník Ministerstva zdravotnictví ČR, částka 5/2019, ze dne 30. května 2019, kde je uveden Metodický pokyn, kterým se stanoví postup při posuzování rizika nákazy virem západonilské horečky a postup ke snížení rizika přenosu tohoto viru transfuzí [21].

Úzká spolupráce infektologů, entomologů, virologů, veterinářů a epidemiologů v době výskytu západonilské horečky v loňském roce byla dobrým příkladem inter-

disciplinární spolupráce ve smyslu přístupu One-Health a měla by se dále rozvíjet v nadcházejících sezónách.

Poděkování

Autoři děkují za klíčovou roli při klinické diagnostice případů MUDr. Janě Kleinerové, Ph. D. z Nemocnice Břeclav; MUDr. Haně Kocourkové, MUDr. Romanu Stebelovi a MUDr. Evě Tesařové z Fakultní nemocnice Brno; RNDr. Zdeně Haasové a kolektivu IFCOR – Klinické laboratoře, s. r. o., Brno za laboratorní diagnostiku a zajištění vzorků; Mgr. Petře Strakové, Ph.D., a Ing. Lence Betášové z pracoviště Ústavu biologie obratlovců AV ČR za pomoc při odchytu komárů a za finanční podporu Agentury pro zdravotnický výzkum (projekt registrační číslo NV19-09-00036).

LITERATURA

- WHO. West Nile virus – Fact Sheet. Dostupné na www: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/west-nile-virus>.
- Chalupa P. Diagnostikujeme správně infekci virem West Nile? Cesk Slov Neurol N, 2007; 70/103(5): 544–546.
- Vyhláška č. 473/2008 Sb., o epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce, ve znění pozdějších předpisů, příloha č. 15.
- Doporučení WNV_2018_4 pro vyřazování dárců z odběrů – riziko WNV infekce. Dostupné na www: <http://www.transfuznispolocnost.cz/index.php?page=novinky>.
- Rudolf I, Blažejová H, Šebesta O, et al. West Nile virus (linie 2) v komárech na jižní Moravě – očekávání prvních autochtonních lidských případů. Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2018;67(1):44–46.
- ECDC publikovaná data. Dostupné na www: <https://ecdc.europa.eu/en/west-nile-fever>.
- Grossner C, Marrama L, Carson M, et al. West Nile virus surveillance in Europe: moving towards an integrated animal-human-vector approach. Euro Surveill, 2017; 22(18):pii=30526.
- EpiDat 1990–2017 a Informační systém infekčních nemocí 2018, Informační systém orgánů ochrany veřejného zdraví, Národního zdravotního informačního systému České republiky.
- Stiassny K. Molecular basis of the problems in the serological diagnosis of flavivirus infections, Oral Session on 21st ISW-TBE, 16–17 May 2019, Vienna, Austria.
- Hubálek Z, Halouzka J, Juřicová Z, et al. First isolation of mosquito-borne West Nile virus in the Czech Republic. Acta Virol, 1998;42(2):119–120.
- Hubálek Z, Halouzka J, Juřicová Z. West Nile fever in Czechland. Emerg Infect Dis, 1999;5(4):594–595.
- Rudolf I, Bakonyi T, Šebesta O, et al. West Nile virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: expansion of the European WNV endemic area to the North? Euro Surveill, 2014;19(31): pii=20867.
- Orgán ochrany veřejného zdraví – výsledky epidemiologických šetření, archiv Krajské hygienické stanice Jihomoravského kraje se sídlem v Brně.
- Stejskal F, Zelená H, Orliková H, et al. Doporučený postup při výskytu západonilské horečky ze dne 27. 3. 2019. Dostupné na www: http://www.mzcr.cz/Verejne/dokumenty/doproceny-postup-pri-vyskytu-zapadonilske-horecky_17025_5.html.
- Scaramozzino N, Crance JM, Jouan A, et al. Comparison of flavivirus universal primer pairs and development of a rapid, highly sensitive heminested reverse transcription-PCR assay for detection of flaviviruses targeted to a conserved region of the NS5 gene sequences. J Clin Microbiol, 2001;39(5):1922–1927.
- Zelená H, Januška J, Raszka J. Micromodification of virus-neutralisation assay with vital staining in 96-well plate and its use in diagnostics of Ťahyňa virus infections. Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2008;57(3):106–110.
- Litzba N, Zelená H, Kreil TR, et al. Evaluation of Different Serological Diagnostic Methods for Tick-Borne Encephalitis Virus: Enzyme-Linked Immunosorbent, Immunofluorescence, and Neutralization Assay. Vector Borne Zoonotic Dis, 2014;14(2): 149–159.
- Commission implementing decision (EU) 2018/945 of 22 June 2018 on the communicable diseases and related special health issues to be covered by epidemiological surveillance as well as relevant case definitions.
- Rudolf I, Šebesta O. Invazní a nepůvodní druhy komárů aneb máme se u nás bát exotických nákaz? Živa, 2017;4:174–180.
- Rettich F, Imrichová K, Rudolf I, et al. Virus západonilské horečky (linie 2) zjištěn v komárech *Culex modestus* na Třeboňsku, Zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie (SZÚ, Praha) 2019;28(2):64–66.
- Metodický pokyn, kterým se stanoví postup při posuzování rizika nákazy virem západonilské horečky a postup ke snížení rizika přenosu tohoto viru transfuzí. Věstník MZ ČR, 2019;5:4–6.

Do redakce došlo dne 26. 6. 2019.

Adresa pro korespondenci:

MUDr. Renata Ciupek

Krajská hygienická stanice Jihomoravského kraje
se sídlem v Brně
Protiepidemický odbor
Jeřábkova 4
602 00 Brno
e-mail: renata.ciupek@khsbrno.cz