

Příušnice – znovu se vracející infekce? Současná situace ve výskytu příušnic ve východočeském regionu

Štěpánová V. ¹, Plíšková L. ², Kosina P. ³, Šplíňo M. ¹, Förstl M. ¹, Bolehovská R. ², Dlhý J. ⁴, Chrzová M. ⁵

¹Ústav klinické mikrobiologie

²Ústav klinické biochemie a diagnostiky

³Klinika infekčních nemocí Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařské fakulty UK v Hradci Králové

⁴KHS Královéhradeckého kraje

⁵Univerzita Hradec Králové

Souhrn

Naše práce prezentuje přehled onemocnění příušnicemi ve východočeském regionu v letech 2003 až 2005, kdy došlo ke statisticky významnému zvýšení počtu onemocnění jak u nevakcinovaných, tak u vakcinovaných dětí a mladých dospělých. Klinická diagnóza byla potvrzena sérologickým vyšetřením metodou ELISA a průkazem IgM a/nebo sérokonverzí a signifikantním vzestupem IgG protilátek. Byla zavedena polymerázová řetězová reakce nested s reverzní transkripcí (RT-nPCR) pro přímou detekci RNA viru příušnic z klinického materiálu (nazofaryngeálního sekretu, slin, likvoru a séra). Izolovaná RNA bude sloužit pro pokus o identifikaci cirkulujících genotypů viru příušnic v naší oblasti. V diskusi jsme se pokusili nastínit možné příčiny současného signifikantního nárůstu případů onemocnění příušnicemi u vakcinovaných jedinců v České republice.

Klíčová slova: virus příušnic – příušnice – sérologie – PCR – vakcinace.

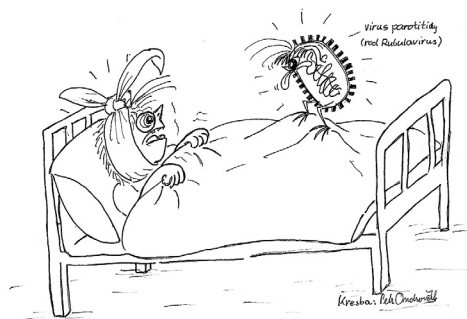
Summary

Štěpánová V., Plíšková L., Kosina P., Šplíňo M., Förstl M., Bolehovská R., Dlhý J., Chrzová M.: Mumps – a Reemerging Infection? The Current Incidence of Mumps in the East Bohemian Region in the Czech Republic

A review of mumps outbreaks among both non-vaccinated and vaccinated children and young adults in the East Bohemian region in 2003–2005 is presented. A significant increase in mumps cases was observed over this period. The clinical diagnosis was confirmed serologically by ELISA detection of IgM antibodies and/or IgG seroconversion and increased levels of IgG antibodies. A reverse transcriptase nested PCR was introduced for direct detection of mumps virus RNA from clinical specimens (nasopharyngeal secretion, saliva, CSF and serum). The isolated RNA will be stored for further analysis and mumps virus genotyping attempts, helpful in tracing the virus circulation in the East Bohemia region. Possible causes of the recent significant increase in mumps cases among the vaccinated population in the Czech Republic are discussed.

Key words: mumps virus – mumps – serology – PCR – vaccination.

Evropská centrála Světové zdravotnické organizace v roce 2003 vypracovala projekt na dosažení kontroly nad výskytem příušnic a snížení jejich roční incidence na 1 případ na 100 000 obyvatel [21]. Bude tento cíl dosažen? Příušnice se vyskytují celosvětově, častěji v zimních a jarních měsících, před zavedením vakcinace v epidemiích ve 2 až 4letých cyklech. Často byly popisovány místní epidemie v uzavřených kolektivech (ve školách, vojenských zařízeních). Po zavedení vakcinace došlo k prudkému poklesu jejich výskytu. Ale již



koncem 80. let 20. století se začínají objevovat zprávy o jejich zvýšeném výskytu v populaci vakcinovaných dětí v USA [7, 15, 29, 31]. Také v různých evropských zemích, např. v Anglii, Walesu, Skotsku, Španělsku, Portugalsku i Švýcarsku dochází v posledních letech k výraznému nárůstu počtu onemocnění, a to i u jedinců, kteří byli proti příušnicím v příslušném věku řádně očkováni [11, 12, 18, 21, 25, 26, 27]. Současná epidemie příušnic ve Velké Británii vrcholila v roce 2005 a postihla přibližně 56 000 jedinců, převážně mladých dospělých. V této epidemii byl hlavním izolovaným kmenem genotyp G viru parotitidy, který se také objevil v lednu 2006 v americkém státě Iowa v epidemii mezi převážně očkovánými studenty [6, 13, 17].

Také v České republice byl po velkém poklesu výskytu příušnic po zavedení vakcinace v roce 1987 zaznamenán v předcházejících letech jejich výrazně zvýšený výskyt nejen u nevakcinovaných jedinců, ale též u dětí a adolescentů, kteří v odpovídajícím věku již byli v naší republice zahrnuti do vakcinačního programu.

Virus příušnic je RNA virus, příslušníkem čeledi *Paramyxoviridae*, podčeledi *Paramyxovirinae* a spolu s virem parainfluenzy typ 2 a 4 příslušníkem rodu *Rubulavirus*. I když se jedná o sérologicky monotypový virus, bylo v posledních letech na základě sekvenční analýzy identifikováno již 12 genotypů, které byly označeny písmeny A až L [14]. Molekulárně genetická charakteristika viru a molekulární epidemiologie je důležitá pro surveillance infekce, neboť jako jediná umožňuje zjistit cesty přenosu a odlišit vakcinační virus od divokého. Kmeny viru byly zařazeny do jednotlivých genotypů podle struktury nukleotidů 270 až 318 SH oblasti viru, která je více heterogenní než kterákoliv jiná část genu.

Pravidelné povinné očkování proti příušnicím bylo v České republice zahájeno v roce 1987 u dětí ve věku od 15 měsíců, kdy by v séru dítěte již neměly interferovat přenesené mateřské protilátky. Očkování bylo zavedeno nejprve formou monovakcíny (Pavivac), po krátkou dobu v podobě bivakcíny proti spalničkám a příušnicím (Mopavac) a v dnešní podobě trivakcínou (Trivivac) proti spalničkám, příušnicím a zarděnkám se očkují děti stejného věku od roku 1994 (podle údajů Sevapharmy, Praha, ČR). V České republice se aplikuje dvojdávkové schéma, druhá dávka se podává za 6 až 10 měsíců po první. Jejím cílem je vyvolat imunitní odpověď u jedinců, kteří na první dávku neodpověděli [3]. Použitým vakcinačním kmenem je živý atenuovaný kmen Jeryl Lynn připravený pasážováním na primárních kulturách buněk psích ledvin (Sevapharma, Praha, ČR). Vakcína se podává subkutánně, je velmi citlivá vůči faktorům zevního prostředí, např. zvýšené

teplotě nebo UV záření. Po podání první dávky vakcíny je indukována protilátková odpověď prokazovaná virus neutralizačním testem u 70 % očkovaných při minimálním pozitivním titru 1:2, po druhé dávce až u 100 % očkovaných (údaje z Příbalového letáku k očkovací látce, Sevapharma, Praha, ČR).

V naší práci jsme se zaměřili nejen na diagnostiku a průběh onemocnění u neočkovaných ale hlavně u očkovaných jedinců. Zpracována byla data získaná laboratořemi Úseku virologie Ústavu klinické mikrobiologie (ÚKM) a Úseku molekulární biologie Ústavu klinické biochemie a diagnostiky (ÚKBD) a ambulancí Kliniky infekčních nemocí Fakultní nemocnice (FN) Hradec Králové v průběhu let 1997 až do konce roku 2005.

Materiál a metody

V letech 1997 do konce roku 2005 bylo v laboratořích virologie ÚKM sérologicky vyšetřeno celkem 2 312 vzorků sér od 1 802 pacientů (1 006 mužů a 796 žen ve věku 1 měsíce až 83 let) z klinických a terénních pracovišť východočeského regionu. Spádová oblast virologické laboratoře ÚKM FN Hradec Králové nemůže být v současné době přesně geograficky vymezena, protože území bývalého Východočeského kraje bylo rozděleno na nynější kraj Královéhradecký, Pardubický a Vysočina a virologická vyšetření jsou naší laboratoří stále poskytována žadatelům z tohoto širokého území. Všechny údaje od pacientů byly zpracovávány důsledně anonymizované. Soubor byl rozdělen do skupin podle věku, a to: 0 až 4, 5 až 9, 10 až 14, 15 až 19, 20 až 24 a 25 let a starší.

V roce 2005 jsme také vyšetřili celkem 14 vzorků výtěrů z ústí příušní slinné žlázy a slin od 13 pacientů, 21 vzorků séra od 21 pacientů a 5 vzorků mozkomíšního moku od 5 pacientů na průkaz RNA viru parotitidy metodou RT-nPCR. Výtěr z oblasti ústí slinné žlázy byl proveden suchým vatovým tamponem na špejli a taktó uchován při teplotě +4°C do zpracování. Séra, u nichž byl prováděn průkaz RNA viru parotitidy, byla nejprve zpracována metodou ELISA na průkaz protilátek a potom uchovávána při teplotě -20°C až do zpracování. Mozkomíšní mok byl uchován nativní při teplotě +4°C do zpracování. Pro zavedení metody PCR byly vybrány vzorky od pacientů, u nichž onemocnění parotitidou bylo bez klinických pochybností. Tito pacienti byli ve věku od 9 do 47 let a byli mezi nimi jedinci jak neočkovaní, tak již očkovaní proti parotitidě. Nejčastějšími klinickými diagnózami, pod kterými onemocnění probíhalo, byly B269 – parotitis epidemica bez komplikací, B268 – parotitis epidemica s jinými komplikacemi, B260 – orchitis parotitica, L040 – lymphadenitis acuta obličej, hlavy a krku a K112 – sialoadenitis – zánět slinné žlázy.

Séra byla vyšetřována na přítomnost specifických IgM a IgG protilátek metodou ELISA na mikrodestičkách manuálním zpracováním. V letech 1997 až 2004 byly používány komerční soupravy ELISA Mumps IgG a IgM, Human, se semikvantitativním hodnocením pomocí indexu pozitivity, od roku 2005 používáme soupravy Mumps EIA IgG a IgM, R-Biopharm s kvantitativním stanovením hladiny protilátek obou tříd pomocí arbitrárních jednotek, U/ml. Kalibrační křivka, ze které se provádí přepočítání hodnot adsorbancí na U/ml, je šestibodová. Jako pozitivní sérologický marker onemocnění příušnicemi je hodnocen průkaz sérokonverze nebo průkaz

4násobného signifikantního vzestupu titru IgG protilátek v rekonvalescentním vzorku séra nebo průkaz specifických IgM protilátek ve vzorku séra.

PCR je možné využít v diagnostice parotitidy zejména u komplikací infekce týkajících se CNS nebo v případě nejasných výsledků sérologického vyšetření. V naší práci jsme se zaměřili na to, zda je možné prokázat virovou RNA v různých materiálech od pacientů očkováných proti příušnicím, kteří přesto onemocněli. Metoda PCR pro průkaz RNA viru parotitidy byla zavedena, optimalizována a je prováděna v laboratořích Úseku molekulární biologie pro diagnostiku extrahumánního genomu, ÚKBD FN Hradec Králové pod vedením PharmDr. Lenky Plíškové. Metoda nested PCR s reverzní transkripce byla převzata z práce Poggio et al. [24]. Primery byly vybrány z konzervativní oblasti genomu viru parotitidy kódující nukleoprotein. Produkt o velikosti 112 bp byl detekován elektroforeticky na 3% agarózovém gelu barveném ethidium bromidem. Jako pozitivní kontrola byl použit očkovací kmen viru parotitidy Jeryl Lynn, obsažený v očkovací látce Trivivac v minimální koncentraci $10^{4,6}$ CCID₅₀ v 1 dávce (údaje z Příbalového letáku k očkovací látce, Sevapharma, Praha, ČR).

Pro statistické zpracování výsledků byl použit chí-kvadrát test. Testování bylo jak na hladině významnosti $\alpha = 0,05$, tak na hladině významnosti $\alpha = 0,01$.

Výsledky

Situaci ve výskytu příušnic v oblasti východních Čech (podle ústních údajů i v jiných regionech České republiky) kopíruje i prudký vzestup počtu požadavků o laboratorní diagnostiku tohoto

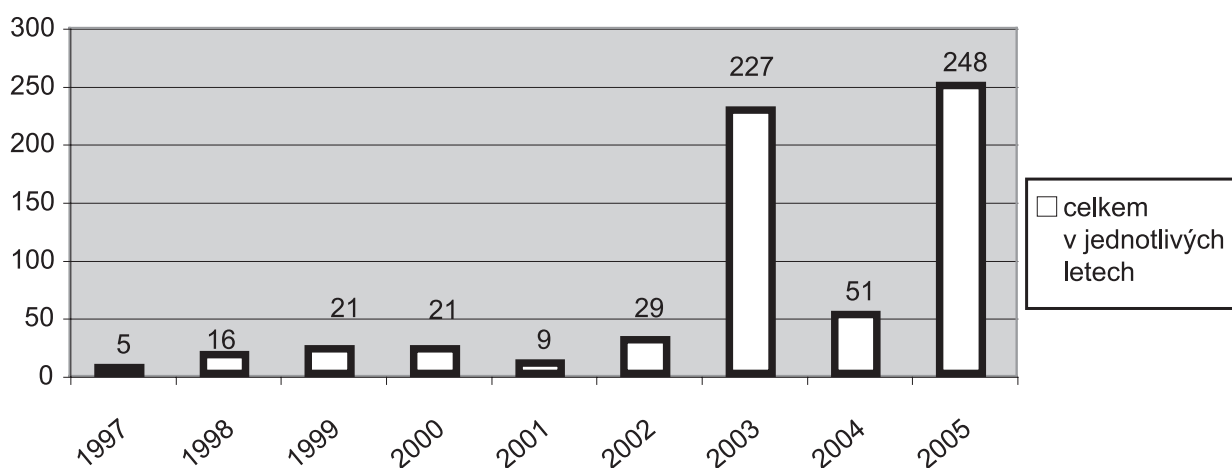
onemocnění v roce 2003 a 2005, zejména u očkováných jedinců. Tabulka 1 prezentuje oficiální počty hlášených onemocnění a nemocnost příušnicemi v jednotlivých letech 1997 až 2005 v bývalém Východočeském a nyníšším Královéhradeckém kraji. Tyto uvedené počty závisí na hlášení klinických a hlavně terénních lékařů a nemohou být identické s námi prezentovanými počty sérologicky prokázaných infekcí.

V naší laboratoři dochází k prudkému vzestupu počtu vyšetřených i počtu sérologicky prokázaných parotitid na konci roku 2002 a začátku roku 2003 (graf 1). Objevují se místní epidemie, a to jak u jedinců neočkovaných, tak u již očkováných. Nejvíce pozitivních případů mezi očkovánými je ve věkové skupině 15 až 19letých a 10 až 14letých. Protože očkování proti parotitidě bylo zahájeno v roce 1987 u dětí ve věku 15 měsíců, tedy narozených v roce 1986 a v některých případech ještě v roce 1985, jedná se tedy o mladistvé ve věku 17 let a mladší. V tehdejší Československé republice bylo očkování povinné, a tak se dá předpokládat, že očkování mohli uniknout pouze jednotlivci z výjimečných důvodů. Protože nebylo možné přesně zjistit data týkající se očkování u všech našich vyšetřovaných pacientů, schematicky jsme jedince narozené v roce 1985 a starší považovali za neočkované a narozené v roce 1986 a později za očkované proti parotitidě. Chí-kvadrát testem byl potvrzen statisticky významný roz-

Tab. 1. Hlášené počty onemocnění a nemocnost příušnicemi na 100 000 obyvatel v letech 1997 až 2005 v bývalém Východočeském a nyníšším Královéhradeckém kraji (zdroj KHS Hradec Králové)

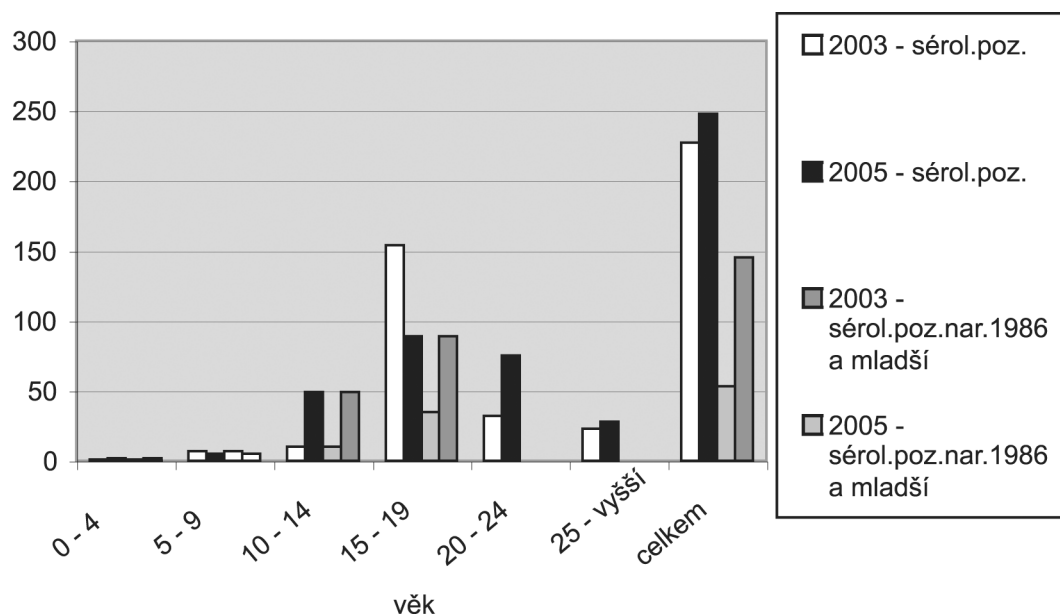
Table 1. Reported mumps cases and mumps incidence rates per 100000 population in 1997–2005 in the East Bohemian region, currently called the Hradec Králové region (source: Regional Public Health Institute, Hradec Králové)

| | Východočeský kraj | | | | Královéhradecký kraj | | | | |
|---------------|-------------------|------|------|------|----------------------|------|-------|------|-------|
| | 1997 | 1998 | 1999 | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 |
| B26 příušnice | 87 | 24 | 17 | 23 | 4 | 3 | 145 | 26 | 134 |
| Nemocnost | 6,96 | 1,9 | 1,38 | 1,87 | 0,73 | 0,55 | 26,51 | 4,75 | 24,49 |



Graf 1. Celkové počty sérologicky prokázaných případů parotitidy v letech 1997 až 2005

Fig. 1. Serologically confirmed mumps cases in 1997–2005



Graf 2. Sérologicky prokázaná parotitida v roce 2003 a 2005 – ve všech věkových kategoriích

Fig. 2. Serologically detected mumps cases in 2003 and 2005, distribution by age

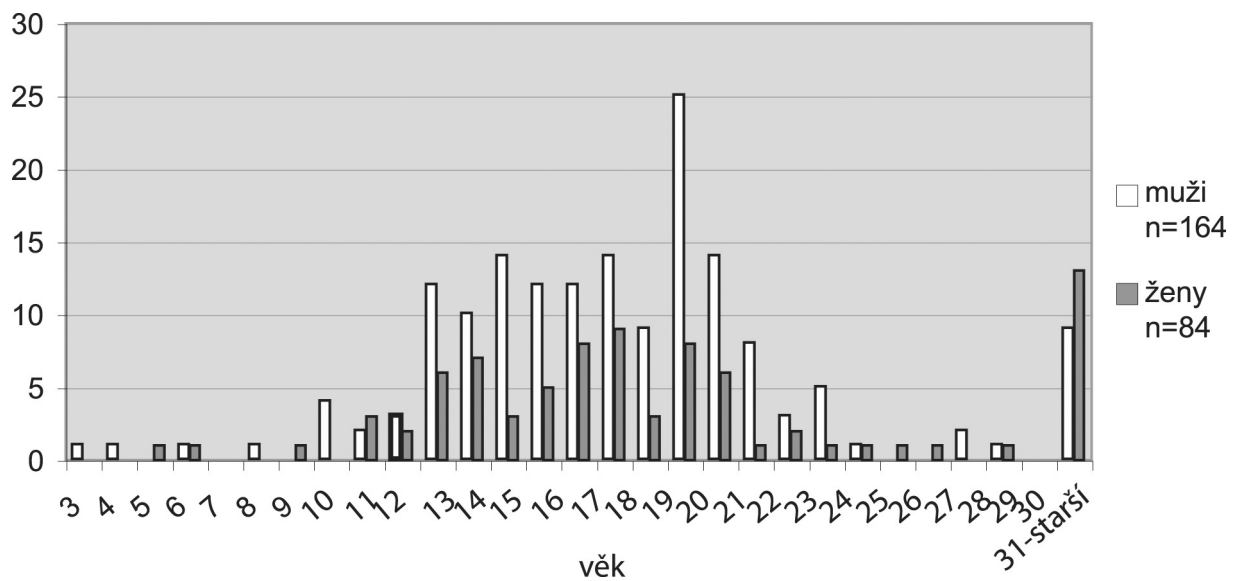
díl mezi počty sérologicky prokázaných parotitid v letech 2003 a 2005 na hladině významnosti jak 0,01, tak 0,05 oproti letům 1997 až 2002. Současně byla v letech 2003 a 2005 chí-kvadrát testem prokázaná statistická významnost výskytu onemocnění v jarních měsících na hladině významnosti 0,01, tedy stejně jako v obdobích před zavedením očkování, kdy v populaci cirkuloval divoký virus.

V roce 2003 byla parotitida naší laboratoří sérologicky prokázána u 53,9 % vyšetřených.

Z celkového počtu 227 všech sérologicky prokázaných případů v tomto roce bylo onemocnění diagnostikováno u 53 jedinců narozených v roce 1986 a mladších, u nichž předpokládáme již provedené očkování. Přesto u nich proběhla parotitida většinou pod klasickým klinickým obrazem. Většina těchto nemocných patřila do věkové skupiny 15 až 19letých. Chí-kvadrát testem byl potvrzen statisticky významný rozdíl mezi hodnotami této věkové skupiny a ostatních na hladině významnosti jak 0,05, tak 0,01. Byli to tedy jedinci očkování na začátku po zavedení vakcinace u nás (graf 2). Byl prokázán místní a časový vztah lokálního výskytu parotitidy v roce 2003 v některých okresech bývalého Východočeského kraje, např. 15 případů parotitidy v lednu 2003 v Rokytnici v O. h., 19 případů v březnu a dubnu v Moravské Třebové, 49 případů v Jičíně během měsíců dubna až června, 24 případů v březnu a dubnu v Pardubicích.

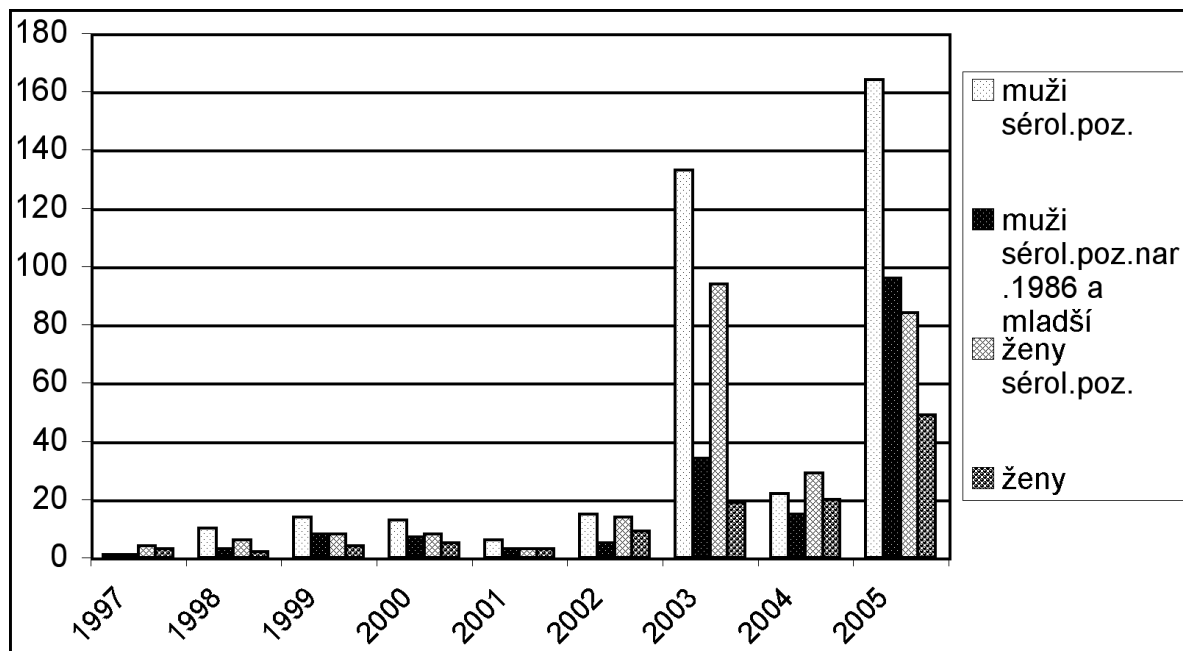
V roce 2005 došlo opět k výraznému nárůstu počtu vyšetřených pacientů. Spolu s rokem 2003

má rok 2005 nejvyšší počty vyšetřených a také nejvyšší počty sérologicky potvrzených případů příušnic (graf 2). Počet 145 19letých a mladších se sérologicky prokázanou parotitidou, kteří i přes předchozí očkování onemocněli, činí 58,4 % všech sérologicky potvrzených případů v roce 2005. I v roce 2005 byl prokázán statisticky významný rozdíl v onemocnění parotitidou u jedinců ve věku 15 až 19 let, kteří byli očkováni, i u starších, kteří očkováni nebyli, na hladině významnosti 0,05 proti ostatním věkovým skupinám. Při bližší analýze věkového rozložení případů sérologicky diagnostikované parotitidy u dětí a mladistvých, kteří věkově spadají do skupiny již očkovaných, byl v roce 2005 zjištěn signifikantní nárůst případů již od 13. roku věku, a.j. narozených v roce 1992 a starších. Tito jedinci byli vakcinováni před 12 lety a déle. Tato data jsou v souladu s výsledky zjištěnými v roce 2003 (viz graf 3). Co se týká rozdílů mezi počty všech sérologicky pozitivních mužů a žen a těch, kteří byli očkováni, chí-kvadrát testem byl potvrzen statisticky významný rozdíl mezi hodnotami zjištěnými v letech 1997 až 2002 a 2003 a 2005, stejně tak jako mezi skupinami mužů a žen v roce 2003 a 2005, na hladině významnosti 0,05, tak i 0,01 (graf 4). Nejvyšší počty případů parotitidy byly diagnostikovány na Náchodsku v měsíci dubnu (30) a později tamtéž v podzimních měsících, na Pardubicku v lednu a od května do června 2005 (64). Stejně i v tomto roce počty námi prezentovaných případů nekorelují s počty hlášených onemocnění.



Graf 3. 2005 – všechny případy sérologicky prokázané parotitidy u mužů a žen (graf. znázornění podle věku)

Fig. 3. Serologically detected mumps cases in males and females in 2005, distribution by age



Graf 4. Celkový poměr všech mužů a žen sérologicky pozitivních a nar. 1986 a mladších

Fig. 4. Serologically positive males and females born in 1986 and younger

Při rozboru případů sérologicky potvrzené parotitidy v roce 2005 (viz graf 3) lze uzavřít, že osoby od 20. do 25. roku věku a osoby z kategorie pozitivní starší 30 let vykazující onemocnění, jsou většinou jednotlivé domácí nebo místní kontakty dětí a mladistvých nemocných parotitidou (sourozenci, rodiče, příbuzní). Zjišťovali jsme, jestli je signifikantní rozdíl ve výskytu sérone-

gativity u jednotlivých věkových skupin našich vyšetřených. V roce 2003 jsme nepřítomnost IgG protilátek proti viru parotitis prokázali u 9,26 % ze všech 421 vyšetřených, podíl séronegativních vakcinovaných činil 8,98 %. V roce 2005 byla séronegativita u očkovanych zjištěna celkem u 18,9 % ze všech vyšetřených. Pomocí T-testu nebyl prokázán statisticky významný rozdíl

Tab. 2. Klinický obraz pacientů ambulance infekční kliniky se susp. B269 v průběhu roku 2003, 2004 a 2005 (muži n=48, ženy n=18)**Table 2.** Clinical pictures in infection clinic outpatients with suspected B269 in 2003, 2004 and 2005 (48 males and 18 females)

| Věk/klinický obraz | Zduření příušní žlázy | Horečka | Bolest hlavy | Meningitis | Zduření varlat | Bolest břicha |
|--------------------|-----------------------|---------|--------------|------------|----------------|---------------|
| 0–19 let | 46 | 13 | 4 | 0 | 4 | 0 |
| muži | 31 | 9 | 3 | 0 | 4 | 0 |
| ženy | 15 | 4 | 1 | 0 | | 0 |
| 20 let a starší | 20 | 13 | 3 | 1 | 6 | 1 |
| muži | 17 | 12 | 3 | 1 | 6 | 1 |
| ženy | 3 | 1 | 0 | 0 | | 0 |

mezi séronegativními muži a ženami ve sledovaných letech.

Další skupina vyšetřených pacientů, které je nutno analyzovat, představuje jedince, kteří byli proti viru parotitidy řádně očkováni, ale u nichž byla klinicky diagnostikována parotitida, někdy i s klasickými komplikacemi, ale sérologicky tato infekce prokázána nebyla. V roce 2003 jsme vyšetřili 50 očkovaných pacientů, kteří měli klinicky diagnostikovanou parotitidu (dg. B269, B260, B268) a již v prvním séru odebraném na začátku onemocnění měli přítomny IgG protilátky v různém titru, IgM vytvořeny nebyly. V rekonvalescentním séru signifikantní vzestup titru IgG prokázán nebyl. Nejvyšší počty těchto nemocných vykazují věkové skupiny 15 až 18letých a 10 až 14letých. Křivka těchto případů parotitidy v průběhu roku 2003 kopíruje křivku onemocnění potvrzených sérologicky. Diferenciálně diagnosticky bylo u několika jedinců, kdy klinický obraz nebyl jednoznačný, provedeno sérologické vyšetření EBV a CMV infekce. Současná CMV infekce nebyla prokázána, EBV infekce byla potvrzena u několika nemocných.

V rámci zavedení metody jsme se v roce 2005 pokusili potvrdit několik případů onemocnění příušnicemi průkazem RNA viru parotitidy metodou RT-nPCR. Ze 14 vzorků výtěrů z oblasti ústí příušní slinné žlázy byla RNA viru parotitidy detekována 4 krát, 3 pacienti nebyli očkováni a měli přítomny IgG protilátky v hraniční až slabé pozitivitě, IgM byly pozitivní. Čtvrtou nemocnou byla řádně očkovaná dívka s nekomplikovanou parotitidou, narozená v roce 1996, u níž jsme prokázali RNA jak ve slinách, tak i v séru. Sérologické vyšetření u ní prokázalo slabou pozitivitu (30 U/ml) IgG protilátek. Párové sérum nebylo odebráno. V tomto případě PCR vyšetření a průkaz RNA viru parotitidy jednoznačně prokázalo parotitidu u očkované dívky, u níž se v séru odebraném na začátku choroby IgM neprokázaly a byly přítomny IgG protilátky, i když v nízkém titru.

Virémie byla vyšetřena ještě v dalších 20 případech, pozitivita RNA v séru byla prokázána v 6 případech, z toho pouze jednou u pacienta naro-

zeného r. 1985, zbývajících 5 pacientů bylo mladších. U 2 byly detekovány jak IgG, tak IgM protilátky ve vysokém titru v prvním séru, u chlapce narozeného 1995 hraniční hodnota IgG v prvním séru, 2 pacienti byli séronegativní, ale párová séra nebyla odebrána.

Chlapec narozenému 1992 se suspektní aseptickou meningitidou při parotitidě byl odebrán likvor i sérum na vyšetření PCR. V obou materiálech byla RNA viru parotitidy prokázána. Sérologické vyšetření prokázalo pozitivitu IgG protilátek v séru (129 U/ml – hraniční hodnota = 14–24 U/ml). V tomto případě byla PCR jedinou metodou průkazu a konfirmace infekce.

Klinický obraz 66 vybraných případů parotitidy byl sledován na ambulanci Kliniky infekčních nemocí FN Hradec Králové v období od ledna 2003 do listopadu 2005. Nemocných, podle věku proti parotitidě očkovaných, bylo v našem souboru ambulantně vyšetřeno 46. Všichni měli klinické známky odpovídající příušnicím. Rozdělení i klinický průběh onemocnění je prezentován v tabulce 2.

Diskuse

Incidence příušnic v České republice dramaticky poklesla po zavedení očkování v roce 1987, křivky výskytu onemocnění od roku 1990 kromě dvou zvýšení v letech 1995 a 1996, kdy absolutní počty vykazovaly téměř 6000 hlášených případů příušnic za rok, do roku 2003 nestoupají nad hodnoty kolem stovky případů za rok. Situace se ve východních Čechách mění na začátku roku 2003, kdy v jarních měsících dochází k nárůstu počtu vyšetření i sérologicky verifikovaných případů parotitidy. Hned v lednu 2005 došlo opět k místním vzplanutím příušnic. Nálezů obdobné našim jsou komentovány i jinými virologickými laboratorními v naší republice (ústní sdělení). K nemnoha písemným informacím o této situaci v naší republice patří i zpráva o výskytu příušnic ve vojenských kolektivech Armády České republiky [16].

Sérologické přehledy provedené NRL pro paro-

titidu CEM SZÚ Praha v roce 2001 zjistily, že kolektivní imunita je nižší než předpokládaná podle proočkovanosti dětí do 15 let věku (proočkovanost 97 až 100 %), a není dostatečná pro přerušování epidemického šíření viru parotitidy (prevalence protilátek 70–86 %) [19, 20].

Jaké by mohly být důvody této diskrepance? Začneme s tím nejjednodušším – účinek vakcinace živou atenuovanou očkovací látkou může být nižší nebo žádný, pokud není s vakcínou validně nakládáno při její distribuci, uchovávání nebo administraci. Také nesprávná technika aplikace může výsledek ovlivnit. Ale pravděpodobně tento důvod nižší účinnosti očkovací látky se nebude týkat stovek nebo i více případů příušnic u očkovaných po celé republice.

Další otázkou může být účinnost zvoleného virového kmene příušnic pro tuto komponentu MMR vakcíny. Zkušenosti s vakcinací proti příušnicím v jiných evropských zemích ukázaly, že ne všechny virové kmeny použité pro toto očkování, byly stejně účinné [4, 28]. Od roku 1987 byl v Československu používán kmen Jeryl Lynn. V roce 1992 Afzal et al. objevil, že tento kmen obsahuje směs dvou odlišných virových subkmenů [1]. Různé podmínky při jejich produkci mohou zapříčinit změnu v jejich poměru, což může vést ke změně bezpečnosti vakcíny a její účinnosti [2].

Virus příušnic je sérologicky monotypový virus, ale v posledních letech bylo na základě sekvenční analýzy identifikováno již 12 genotypů [14]. Ve světě je intenzivně studována jejich chronologická a geografická distribuce. Zatím není známo, jaký selekční tlak řídí distribuci genotypů, zda jej nemůže vyvolat právě vakcinace. I když zatím nejsou jisté epidemiologické důkazy o redukci zkřížené neutralizační aktivity mezi různými genotypy nebo kmeny viru parotitidy, je možné, že tento fakt hraje v epidemiologii této infekce roli [9, 11, 22]. Švédští autoři experimentálně zjistili, že produkce virus neutralizačních protilátek proti homolognímu kmenu je u králíků vyšší než proti heterolognímu. Je též komentován případ pacientky, u níž byly detekovány virus neutralizační protilátky proti genotypu D, které ji neochránily před novou infekcí genotypem A [22]. Proto je nutné monitorovat cirkulaci kmenů příušnic i kolektivní imunitu populace. Co se týče naší republiky, zatím nikde nebyly publikovány zprávy o genotypizaci kmenů izolovaných z našich lokálních vzplanutí příušnic v posledních letech.

Za epidemie příušnic u vakcinovaných dětí v různých zemích může být také zodpovědné použité vakcinační schéma. Belgičtí autoři analyzovali epidemii příušnic u vakcinovaných dětí základních a mateřských škol v roce 1996 v Belgii. Počet onemocnělých dětí stoupal progresivně s dobou od poslední očkovací dávky [30], což je zřetelné

i u našich současných případů příušnic u očkovaných.

Dvojdávkové schéma očkování, které je použito v ČR, sice rezultuje ve vysokou séropozitivitu, ale nevíme, jak dlouho tato séropozitivita přetrvává. Křivka výskytu onemocnění stoupá s dobou, která uplynula od očkování, i když i mezi nejnižšími věkovými skupinami k onemocnění příušnicemi dochází. Je také důležitým faktem, že zde má vliv snížení cirkulace divokého viru v důsledku zavedení vakcinace, a tím daleko menší možnost setkávat se s antigeny divokého viru než byla krátce po zavedení vakcinace. Část nemocných příušnicemi byla vakcinována krátce po zahájení vakcinace pouze jednou dávkou vakcíny, což může obdobně jako v jiných zemích vést k selhání vakcinace. Pro důslednou surveillance onemocnění by bylo třeba, aby tyto důležité informace týkající se vakcinace klinik nebo terénní lékař zjistil a hlásil epidemiologovi.

Protilátky jsou běžně stanovovány metodou EIA, která nerozliší protilátky protektivní od neprotektivních, které mohou být namířeny proti různým epitopům virových proteinů. V různých pracích autoři citují nízkou korelaci mezi virus neutralizujícími (VN) protilátkami a protilátkami detekovanými metodami ELISA [8, 23]. Tento jev vysvětlují tím, že protilátky detekované metodou ELISA jsou predominantně reagující s core proteiny viru a ne s povrchovými proteiny jako např. HN antigeny, které jsou cílem VN protilátek. Na druhé straně protekce získaná vakcinací může být nižší než se soudilo podle klinických studií [10].

Co se týká našich nálezů, skutečnou hladinu IgG protilátek u vakcinovaných před onemocněním neznáme. Němečtí autoři [5] došli k závěru, že hladina protilátek klesá s dobou od očkování. Není jasné, zda prokazované velmi nízké titry protilátek (vyšetřováno metodou EIA) před infekcí ochrání [28]. Vyšetření IgG protilátek proti viru parotitidy se u nás rutinně nepožaduje, nemůžeme tedy říci, že titr IgG protilátek zjištěný při prvním odběru vzorku séra na začátku klinicky zjevného onemocnění, byl stejný jako v době před infekcí. Nicméně nejvyšší počty nemocných byly ze skupiny jedinců očkovaných před nejdelším časovým intervalem. Určitou roli v průkazu a stanovení hladiny IgG protilátek mohla hrát i skutečnost, že jsme ve sledovaném období změnili diagnostickou soupravu pro průkaz anti-parotitických protilátek. Oba typy námi používaných diagnostických souprav jsou však v evropských laboratořích běžně používány.

Kontakt s přirozeným antigenem po očkování se u mnoha nemocných nestal booster efektem, infikovaní onemocněli. Onemocnění příušnicemi mělo klinický průběh, někdy s komplikacemi. Došlo k signifikantnímu vzestupu titru jak IgM,

tak IgG protilátek, v některých případech průkazu RNA viru parotitidy v různých materiálech. I když jedinec má IgG protilátky, buď nízké nebo pod hladinou detekovatelnosti, proti onemocnění neochrání. Paměťové buňky sice stimulují rychle tvorbu IgG protilátek, my v laboratoři prokážeme signifikantní vzestup titru ve druhém séru oproti prvnímu, ale ke klinicky aparentnímu onemocnění již dojde. Je další otázkou, zda u nemocných, kteří při onemocnění vytvoří v prvním séru IgM protilátky a později IgG, došlo po vakcinaci vůbec k imunitní odpovědi. Oba dva typy reakcí byly v našich souborech pacientů mnohokrát prokázány.

Závěr

V naší práci jsme prokázali návrat příušnic do populace nejen mladých neočkovaných dospělých, ale i očkovaných dětí v posledních letech. Důsledná surveillance, dlouhodobé sledování dynamiky protilátek po očkování, sledování cirkulace a identifikace divokých kmenů a kontrola vakcinačního kmene, stejně tak jako využívání moderních diagnostických metod včetně PCR a metod genotypizace by měla pomoci odhalit příčiny současných vzplanutí příušnic.

Literatura

- Afzal, M. A., Pickford, A. R., Forsey, T., Minor, P. D. Heterogenous mumps vaccine (letter). *Lancet*, 1992, 340 (8825), 980–981.
- Amexis, G., Ruben, S., Chizhikov, V., Pelloquin, F. et al. Sequence diversity of Jeryl Lynn strain of mumps virus: Quantitative mutant analysis for vaccine quality control. *Virology*, 2002, 300, 171–179.
- Beran, J., Havlík, J., Vonka, V. Očkování. Minulost, přítomnost, budoucnost. Galén, Praha 2005, 63–65.
- Briss, P. A., Fehrs, L. J., Parker, R. A., Wright, P. F. et al. Sustained transmission of mumps in a highly vaccinated population: assessment of primary vaccine failure and waning vaccine-induced immunity. *J Infect Dis*, 1994, 169, 77–82.
- Broliden, K., Abreu, E. R., Arneborn, M., Böttiger, M. Immunity to mumps before and after MMR vaccination at 12 years of age in the first generation offered the two-dose immunization programme. *Vaccine*, 1998, 16, 2/3, 323–327.
- CDC. Mumps epidemic – United Kingdom, 2004–2005. *MMRW* 2006, 55, 175–177.
- CDC. Mumps outbreak. *MMWR*, 1984, 33, 421–430.
- Davidkin, I., Valle, M., Julkunen, I. Persistence of anti-mumps virus antibodies after a two-dose MMR vaccination. A nine-year follow-up. *Vaccine*, 1995, 13, 16, 1617–1622.
- Gut, J.-P., Lablanche, C., Behr, S., Kirn, A. Symptomatic mumps virus reinfections. *J Med Virology*, 1995, 45, 17–23.
- Harling, R., White, J. M., Ramsay, M. E., Macsween, K. F. et al. The effectiveness of the mumps component of the MMR vaccine: a case control study. *Vaccine* 2005, 23, 4070–4074.
- Hersh, B. S., Fine, P. E. M., Kent, W. K., Cochi S. L. et al. Mumps outbreak in a highly vaccinated population. *J Pediatr*, 1991, 119, 187–193.
- Increase in mumps cases in England and Wales. *Eurosurveillance Weekly*, 2004, 8, 48.
- Jin, L., Brown, D. W., Litton, P. A., White, J. M. Genetic diversity of mumps virus in oral fluid specimens: application to mumps epidemiological study. *J Infect Dis*, 2004, 189, 1001–1008.
- Jin, L., Rima, B., Brown, D., Örvell, C. et al. Proposal for genetic characterization of wild-type mumps strains: Preliminary standardisation of the nomenclature. *Arch Virol*, 2005, 150, 1903–1909.
- Lewis, J. E., Chernesky, M. A., Rawls, M. L., Rawls, W. E. Epidemics of mumps in a partially immune population. *CMAJ*, 1979, 121, 751–754.
- Machula, F., Beňa, F., Švamberg, J. Hromadný výskyt příušnic ve vojenských kolektivech AČR. *Vojenské zdravotnické listy*, 2004, 73, 122–123.
- MMWR Weekly, 7 April 2006, 55, 366–368.
- Montes, M., Cilla, G., Artieda, J., Vicente, D. et al. Mumps outbreak in vaccinated children in Gipuzkoa (Basque Country), Spain *Epidemiol Infect*, 2002, 129, 551–556.
- Mrázová, M., Šmelhausová, M., Šestáková, Z. Sérologický přehled ČR v roce 2001–Spalničky, příušnice, zarděnky. *Zprávy CEM (SZÚ Praha)*, 2003, 12, 38–55.
- Mrázová, M., Šmelhausová, M., Šestáková, Z., Švandová et al. The 2001 serological survey in the Czech Republic – mumps. *Centr Eur J Publ Health*, 2003, 11, Suppl., 50–53.
- Nardone, A., Pebody, R. G., van den Hof, S., Levy-Bruhl, D. et al. Sero-epidemiology of mumps in western Europe. *Epidemiol Infect*, 2003, 131, 691–701.
- Nöjd, J., Tecle, T., Samuelsson A., Örvell, C. Mumps virus neutralizing antibodies do not protect against reinfection with a heterologous mumps virus genotype. *Vaccine*, 2001, 19, 1727–1731.
- Pipkin, P. A., Afzal, M. A., Heath, A. B., Minor, P. D. Assay of humoral immunity to mumps virus. *J Virol Methods*, 1999, 79, 219–225.
- Poggio, G. P., Rodriguez, C., Cisterna, D., Freire, M. C. et al. Nested PCR for rapid detection of mumps virus in cerebrospinal fluid from patients with neurological diseases. *J Clin Microbiol*, 2000, 38, 274–278.
- Pons, C., Pelayo, T., Pachón, I., Galmes, A. et al. Two outbreaks of mumps in children vaccinated with Rubini strain in Spain indicate low vaccine efficacy. *Eurosurveillance monthly*, 2000, 5, 7–8.
- Pugh, R. N., Akinosi, B., Pooransingh, S., Kumar, J. et al. An outbreak of mumps in the metropolitan area of Walsall. *Int J Infect Dis*, 2002, 6, 283–287.
- Reaney, E. A., Tohani, V. K., Devine, M. J., Smothson, R. D. et al. Mumps outbreak among young people in Northern Ireland. *Commun Dis Public Health*, 2001, 4, 311–315.
- Tischer, A., Gerike, E. Immune response after primary and re-vaccination with different combined vaccines against measles, mumps and rubella. *Vaccine*, 2000, 18, 1382–1392.

29. **Utz, S., Richard, J. L., Capaul, S., Matter, H. C. et al.** Phylogenetic analysis of clinical mumps virus isolates from vaccinated and non-vaccinated patients with mumps during and outbreak, Switzerland 1998–2000. *J Med Virology*, 2004, 73, 91–96.
30. **Vandermeulen, C., Roelants, M., Vermoere, M., Roseeuw, K. et al.** Outbreak of mumps in a vaccinated child population: a question of vaccine failure? *Vaccine*, 2004, 22, 2713–2716.
31. **Wharton, M., Cochi, S., Hutchenson, R. H., Bistowish, J. M. et al.** A large outbreak of mumps in the postvaccine era. *J Infect Dis*, 1988, 158, 1253–1260.

Do redakce došlo 10. 5. 2006

*MUDr. Vlasta Štěpánová
Ústav klinické mikrobiologie FN a LF UK HK
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: stepanova@fnhk.cz*