

Epidemické případy salmonelóz v České republice v roce 2012

Myšková Petra^{1,2}, Karpíšková Renáta¹, Dědičová Daniela³

¹Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno, CZ

²Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta MU, Brno, CZ

³NRL pro salmonely, Státní zdravotní ústav, Praha, CZ

SOUHRN

V roce 2012 bylo v laboratoři SZÚ Brno celkem vyšetřeno 143 humánních a 10 potravinových kmenů rodu *Salmonella*. Kmeny měly vztah ke zvýšenému výskytu salmonelóz v určitém místě, nebo se jednalo o zástupce vzácných sérotypů, které se v určitém období objevily ve zvýšeném počtu. Tyto kmeny byly zařazeny k 22 epidemickým výskytům na území České republiky. Typizace za použití fenotypových a genotypových metod odhalila, že většina epidemií

(82%) je způsobena sérotypem Enteritidis, ale začínají se objevovat i hromadné výskyty vyvolané pro Českou republiku vzácnými sérotypy (*S. Mikawasima*, *S. 9,12:l,v:-*, *S. Indiana*, *S. Stanley*).

KLÍČOVÁ SLOVA

***Salmonella* – epidemický výskyt – fágová typizace – PFGE – rezistence k antibiotikům**

SUMMARY

Myšková Petra, Karpíšková Renáta, Dědičová Daniela: Salmonellosis Outbreaks in the Czech Republic in 2012

In 2012, the Brno laboratory of the National Institute of Public Health investigated 143 human and 10 food-borne *Salmonella* strains. All strains were linked to salmonellosis outbreaks in various areas or represented rare serotypes that had emerged more often in some periods. These strains were matched to 22 outbreaks reported in the Czech Republic. Phenotyping and ge-

notyping revealed that the cause of most outbreaks (82%) was the serotype Enteritidis, but other serotypes that are rare in the Czech Republic (*S. Mikawasima*, *S. 9,12:l,v:-*, *S. Indiana*, or *S. Stanley*) were also involved in some outbreaks.

KEYWORDS

***Salmonella* – outbreak – phage typik – PFGE – antimicrobial resistance**

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 62, 2013, č. 2, s. 59–63

ÚVOD

Přestože je od roku 2005 zaznamenáván v České republice každoroční pokles v počtu případů salmonelóz, od roku 2011 se trend počtu hlášených salmonelóz mění [1]. V České republice je dlouhodobě nejčastějším sérotypem

Salmonella Enteritidis, druhé místo patří sérotypu Typhimurium a od roku 2008 se na třetí příčce drží monofazická varianta *Salmonella* 4,5,12:i:-. U zmíněných hojně se vyskytujících sérotypů může být obtížné rozpoznat epidemický výskyt od sporadických případů. V první desítku pod-

le četnosti se také objevují sérotypy Infantis, Hadar, Newport, Virchow, Kentucky, Agona, Saintpaul, Derby a další. Ročně je v ČR identifikováno kolem 100 různých sérotypů a pokud se některý z méně častých sérotypů začne vyskytovat hojněji, je třeba zvážit možnost epidemického výskytu.

K odhalení epidemií je nutné provádět pečlivě sérotypizaci a u výskytů způsobených sérotypy Enteritidis, Typhimurium a 4,5,12:i:- využívat některou z typizačních metod, např. fágovou typizaci. Standardní metodou pro potvrzení epidemie je pulsní gelová elektroforéza. Jako doplňkový je využíván i test rezistence k antimikrobiálním látkám.

Podle Manual for reporting of food-borne outbreaks in accordance with Directive 2003/99/EC from the year 2011 [2] je za potvrzenou epidemii možné považovat pouze takovou, u které je laboratorně potvrzeno i vehikulum nákazy. V roce 2011 nebyla v České republice podle těchto parametrů evidována žádná potvrzená epidemie salmonelózy.

MATERIÁL A METODY

Kmeny

V roce 2012 jsme v laboratoři SZÚ Brno obdrželi celkem 451 kmenů rodu *Salmonella* humánního původu. Kmeny pocházely z různých zdrojů – NRL pro salmonely a klinické laboratoře. Pro tuto studii jsme vybrali 143 kmenů, které měly vztah ke zvýšenému výskytu salmonelóz v určitém místě, nebo šlo o zástupce vzácných sérotypů, které se objevily ve zvýšeném počtu. K typizaci byly společně s humánními kmeny zaslány i izoláty z potravin (celkem 10). Celkový počet kmenů v této studii byl 153.

Sérotypizace

Kmeny byly sérotypizovány metodou sklíčkové aglutinace s použitím komerčně dodávaných antisér (BioRad, Francie a Denka Seiken, Japonsko). Vyhodnocení bylo provedeno podle Kauffmann-White-Le Minor schématu [3].

Fágová typizace

Pokud byl kmen určen jako sérotyp Enteritidis, byla provedena fágová typizace za použití sady typizačních fágů (HPA Colindale, London, UK) [4]. Jako kontrolní kmen byly použity *S. Enteritidis* PT1 a *S. Enteritidis* PT8.

Rezistence k antimikrobiálním látkám

U všech kmenů byla provedena disková difuzní metoda podle protokolu CLSI [5] ke zjištění re-

zistence k antimikrobiálním látkám. Rezistence byla zjišťována k panelu 17 agens – ampicilin (10 µg), ampicilin/klavulanová kyselina (30 µg), cefotaxim (30 µg), chloramfenikol (30 µg), streptomycin (10 µg), kanamycin (30 µg), gentamicin (10 µg), neomycin (30 µg), apramycin (15 µg), sulfonamidy (300 µg), sulfomethoxazol/trimetoprim (25 µg), trimetoprim (5 µg), tetracyklin (30 µg), nalidixová kyselina (30 µg), ciprofloxacin (5 µg), enrofloxacin (5 µg) a kolistin (10 µg).

Pulsní gelová elektroforéza

Ze všech 153 kmenů byly vytvořeny bločky pro makrorestrikční štěpení enzymem *XbaI* v souladu s protokolem PulseNet [6]. Pulsní profily byly vyhodnoceny pomocí softwaru BioNumerics (v.5.1).

VÝSLEDKY

Sérotypizace

Sklíčkovou aglutinací bylo určeno, že 97 kmenů (63,4%) patřilo k sérotypu Enteritidis (kmeny z 18 suspektních epidemických výskytů), 35 kmenů (22,9%) k sérotypu Stanley (přijaty jako sporadické), 10 (6,5%) k sérotypu Mikawasima (přijaty jako sporadické), 7 (4,6%) k sérotypu 9,12:1,v:- (přijaty jako sporadické) a 4 (2,6%) k sérotypu Indiana (přijaty jako sporadické).

Fágová typizace

Fágovou typizací bylo zjištěno, že kmeny sérotypu Enteritidis náležely k pěti různým fágovým typům: PT8, PT4b, PT14b, PT6c a PT21c.

Rezistence k antimikrobiálním látkám

U 16 suspektně epidemických výskytů způsobených sérotypem Enteritidis nebyla zjištěna rezistence k žádnému z testovaných agens, u jednoho výskytu (pekárna Vlčnov) byla zjištěna rezistence ke třem látkám – streptomycinu, sulfonamidům a kanamycinu a u jednoho výskytu (Jihlava) byla zjištěna rezistence k sulfonamidům.

Kmeny sérotypu *S. Stanley* byly rezistentní k nalidixové kyselině. U 3 kmenů byla zjištěna navíc rezistence k ampicilinu. Kmeny s pulsními profily SSt-Xba-2, SSt-Xba-3 a SSt-Xba-4 byly k testovaným látkám citlivé.

Kmeny z výskytů *S. Indiana*, *S. Mikawasima* a *S. 9,12:1,v:-* byly určeny jako citlivé.

PFGE

Pulsní profily všech kmenů z epidemických výskytů společně s jejich dalšími charakteristikami jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1. Přehled epidemických výskytů a charakteristik etiologických agens (sérotyp, fágový typ a pulsní profil)
Table 1. Epidemic outbreaks and characteristics of the causative agents (serotype, phage type, and PFGE profile)

Označení epidemie	Okres	Počet kmenů	Sérotyp	Fágový typ	Zjištěné pulsní profily	Počet kmenů s daným profilem (humánní/potravinové)
MŠ Bradlec	MB	10	Enteritidis	4b	SE-Xba-7	10 (10/0)
9,12:i,v:-	více	7	9,12:i,v:-	N/A	S9-Xba-1	7 (5/2)
S. Indiana	více	4	Indiana	N/A	SI-Xba-1	4 (4/0)
Vsetín	VS	7	Enteritidis	8	SE-Xba-1	7 (7/0)
Stachy	CB	2	Enteritidis	14b	SE-Xba-1	2 (2/0)
MŠ Dolní Lomná	FM	5	Enteritidis	8	SE-Xba-1	5 (5/0)
Dřevák	JC	4	Enteritidis	8	SE-Xba-1	4 (4/0)
MŠ Obchodní	AB	7	Enteritidis	8	SE-Xba-1	7 (7/0)
Vlčnov	UH	7	Enteritidis	8	SE-Xba-1	7 (7/0)
Jihlava - vejce	JL	6	Enteritidis	6c	SE-Xba-7	6 (4/2)
MŠ Uherský Brod	UH	6	Enteritidis	8	SE-Xba-1	6 (6/0)
DC Beruška	ZL	3	Enteritidis	8	SE-Xba-1	3 (3/0)
DC Kamarád	ZL	3	Enteritidis	8	SE-Xba-1	3 (3/0)
Rossi	ZL	1	Enteritidis	8	SE-Xba-1	1 (1/0)
Restaurace Dolly	ZL	5	Enteritidis	8	SE-Xba-1	5 (5/0)
LT Malá Kráň	FM	5	Enteritidis	8	SE-Xba-1	5 (5/0)
Bohuslavice	OP	2	Enteritidis	8	SE-Xba-1	2 (2/0)
Párek v rohlíku	ZL	13	Enteritidis	8	SE-Xba-1	13 (13/0)
Náchod	NA	5	Enteritidis	8	SE-Xba-1	5 (3/2)
Děčín - chlebiček	DC	6	Enteritidis	21c	SE-Xba-2	6 (5/1)
Mikawasima	více	10	Mikawasima	N/A	SMw-Xba-1	9 (9/0)
					SMw-Xba-2	1 (1/0)
Stanley	více	35	Stanley	N/A	SSt-Xba-1	31 (28/3)
					SSt-Xba-2	2 (2/0)
					SSt-Xba-3	1 (1/0)
					SSt-Xba-4	1 (1/0)

DISKUSE

Salmonelózy jsou alimentárně přenosné zoonózy, které mají díky svému charakteru velký potenciál způsobovat epidemické výskyty. Laboratoř SZÚ v roce 2012 přijala k typizaci kmeny z 18 suspektně epidemických výskytů, které byly způsobeny sérotypem Enteritidis, což odpovídá zjištění ECDC, že sérotyp Enteritidis je stále nejhojněji se vyskytujícím sérotypem v evropských zemích [7]. Přestože celorepubliková data ukazují, že druhým nejčastějším sérotypem je Typhimurium, nebyl zachycen ani jeden hromadný výskyt způsobený tímto sérotypem. Navzdory tomu, že jsou z evropských

zemí hlášeny epidemické výskyty způsobené monofazickou variantou S. 4,5,12:i:- [8, 9], v České republice jsme zatím zachytili pouze sporadické případy. Fágová typizace se ukázala jako stále důležitý nástroj při odhalování epidemií, když v případě kmenů z epidemie „Stachy“ prokázala větší diskriminační schopnost než pulsní gelová elektroforéza.

U epidemických výskytů zaslaných v jednom období ze Zlínského kraje (DC Beruška, DC Kamarád a Rossi) bylo podezření, že jsou navzájem propojeny. Původcem všech epidemií byla S. Enteritidis PT8 SE-Xba-1, která patří v České republice k nejrozšířenějším. Lze tedy usuzovat, že zdroj epide-

mie byl identický, ačkoli vehikulem infekce byly různé potraviny a pokrmy.

Celkem jsme evidovali čtyři epidemické výskyty způsobené vzácnými sérotypy. Onemocnění vyvolaná *Salmonella* Stanley, která byla v České republice hlášena z různých krajů jako sporadická, byla ve stejném období potvrzena jako epidemická z více zemí EU (Rakousko, Maďarsko, Belgie, Německo a další), jedná se tedy o nadnárodní epidemii, kdy zdrojem původce jsou chovy drůbeže a pravděpodobným vehikulem byly u většiny případů pokrmy z krůtího a kuřecího masa [10]. Tento sérotyp se rozšířil v chovech drůbeže v Rakousku a posléze i v dalších zemích, včetně ČR.

U tohoto sérotypu jsme detekovali celkem čtyři pulsní profily, většina kmenů byla shodná s původcem celoevropské epidemie a čtyři kmeny měly odlišné profily a nenáležely k epidemickému klastru.

Salmonella Mikawasima je v České republice i v celé Evropě velmi ojedinělým sérotypem. V roce 1992 způsobil v Anglii epidemii spojenou s konzumací kebabu, ale tato epidemie patří mezi vzácné hromadné výskyty způsobené tímto sérotypem [11]. V České republice jsme v roce 2012 detekovali celkem deset humánních případů (sporadických výskytů), celkem v šesti krajích České republiky.

Salmonella 9,12:1,v:- byla poprvé detekována u humánních kmenů na území České republiky v květnu roku 2011 [12]. Sérotypizace kmenů prokázala v roce 2012 celkem osm epidemicky souvisejících případů této monofazické varianty. Stejný pulsní profil byl potvrzen u humánních i dvou potravinových kmenů. Všechny potvrzené kmeny pocházely z Jihomoravského kraje.

Salmonella Indiana se v žebříčku sérotypů vyskytuje na spodních pozicích, v roce 2008 například NRL pro salmonely zachytila dva kmeny tohoto sérotypu. V měsících lednu a únoru 2012 jsme evidovali zvýšený výskyt sérotypu *S. Indiana* v Jihomoravském kraji. Pulsní gelová elektroforéza prokázala klonální shodu těchto humánních kmenů i shodu s potravinovými kmeny (kuřecí maso) typizovanými v laboratoři SZÚ v roce 2011.

Celkem u tří epidemií způsobených sérotypem Enteritidis byly společně s humánními kmeny zaslány i suspektní potravinové izoláty (Náchod, Děčín a Jihlava). Typizací bylo prokázáno, že mají epidemickou souvislost, tudíž lze považovat tři zmíněné výskyty (podle direktivy 2003/99/EC) za prokázané epidemie.

Vykazování epidemií, které nemají jen regionální charakter, je složité (*S. Stanley* a *S. 9,12:1,v:-*). Při jejich šetření je nutná koordinace na národní

úrovni, a to jak ze strany NRL pro salmonely, tak i ze strany epidemiologů. U nadnárodní epidemie vyvolané *S. Stanley* je ke každému případu vyplňován dotazník sestavený pracovníky ECDC. Získaná data budou vyhodnocena na národní i na mezinárodní úrovni. Po vyhodnocení dotazníků epidemiology by mohla být tato epidemie označena také jako potvrzená.

V roce 2011 jsme v České republice nezaznamenali žádnou potvrzenou epidemii, v roce 2012 evidujeme takové epidemie pouze tři. Vzhledem k tomu, že Česká republika patří v Evropě mezi země s nejvyšším výskytem salmonelóz, je množství potvrzených epidemií neproporční.

ZÁVĚR

V roce 2012 jsme do laboratoře SZÚ Brno přijali kmeny celkem k 22 suspektně epidemickým výskytům salmonelóz. Typizace potvrdila, že kmeny jednotlivých výskytů mají souvislost a zároveň byly odhaleny kmeny, které k epidemickému výskytu nenáležely. Celkové množství kmenů přijatých do naší laboratoře včetně vysokého počtu epidemií ukazují, že salmonelóza v ČR stále patří mezi nejvýznamnější zoonózy. Podle výsledků této studie je v České republice stále nejčastějším původcem salmonelóz *S. Enteritidis* PT8. Jak je ale patrné, stále častěji se objevují i vzácné sérotypy, schopné způsobit epidemické výskyty. Pro včasné odhalování klastřů případů s epidemickou souvislostí je nutná spolupráce epidemiologů, všech dozorových orgánů a pečlivá typizace kmenů salmonel.

Literatura

1. EPIDAT Infekce v ČR - [online]. [cit. 2013-01-20]. Dostupné na [www: http://www.szu.cz/publikace/data/infekce-v-cr](http://www.szu.cz/publikace/data/infekce-v-cr).
2. Manual for reporting of food-borne outbreaks in accordance with Directive 2003/99/EC from the year 2011 [online]. [cit. 2013-01-20]. Dostupné na [www: http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/265e.htm](http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/265e.htm).
3. Grimont, P., Weill, F.-X. *Antigenic formulae of the Salmonella serovars*. 9. vyd. Paris: Pasteur Institute, 2007, 166 p. [online]. [cit. 2013-01-20]. Dostupné na [www: http://www.pasteur.fr/ip/portal/action/WebdriveActionEvent/oid/01s-000036-089](http://www.pasteur.fr/ip/portal/action/WebdriveActionEvent/oid/01s-000036-089).
4. Ward, L. R., de Sa, J. D. H. and Rowe, B. A phage-typing scheme for *Salmonella enteritidis*. *Epidemiol. Infect.*, 1987, p. 291-294.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement*. Wayne: Pennsylvania Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006, 183 p. ISBN 1-56238-588-7.
6. Ribot, E. M., Fair, M. A., Gautom, R., Cameron, D. N., Hunter, S. B. et al. Standardization of pulsed-field gel electrophoresis proto-

cols for the subtyping of *Escherichia coli* O157:H7, Salmonella and Shigella for PulseNet. *Foodborne Pathog. Dis.*, 2006, 3, p. 59–67.

7. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010 [online]. [cit. 2013-01-20]. Dostupné na www: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2597.pdf>.

8. **Mossong, J., Marques, P., Ragimbeau, C., Huberty-Krau, P., Losch, S. et al.** Outbreaks of monophasic *Salmonella enterica* serovar 4,[5],12:i:- in Luxembourg, 2006 [online]. *Euro Surveill.*, 2007, 12, p. 719. Dostupné na www: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=719>.

9. **Bone, A., Noel, H., Le Hello, S., Pihier, N., Danan, C. et al.** Nationwide outbreak of *Salmonella enterica* serotype 4,12:i:- infections in France, linked to dried pork sausage. *Euro Surveill.*, 2010, 15, p. 19592. Dostupné na www: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19580>.

10. Multi-country outbreak of *Salmonella* Stanley infections [online]. [cit. 2013-01-20]. Dostupné na www: http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/20120921_RRA_St Stanley_Salmonella.pdf.

11. **Synnott, M., Morse, D. L., Maguire, H., Majid, F., Plummer, M. et al.** An outbreak of *Salmonella* mikawasima associated with doner kebabs. *Epidemiol. Infect.*, 1993, p. 473–481.

12. **Myšková, P., Karpíšková, R., Dědičová, D.** Výskyt monofazické varianty *Salmonella* 9,12:l,v:- v České republice. *Veterinářství*, 2012, 62, p. 632–634.

Tato studie by nevznikla bez podpory a pochopení ze strany klinických mikrobiologů a epidemiologů hygienické služby. Finančně byla studie podpořena z projektů MŠMT AdmireVet CZ 1.05/2.1.00/01.0006-ED 0006/01/01 a MZE0002716202.

Do redakce došlo dne 29. 1. 2013.

Adresa pro korespondenci:

Mgr. Petra Myšková

Výzkumný ústav veterinárního lékařství
Hudcova 296/70
621 00 Brno
email: myskova.petra@mail.muni.cz



VI. mezioborový lékařský kongres České lékařské akademie *EMOCE V MEDICÍNĚ IV. – Bolest napříč medicínou* Karlovy Vary, Grandhotel Pupp, 24. – 26. října 2013



POZVÁNKA NA KONGRES České lékařské akademie

Česká lékařská akademie ve spolupráci se Společností pro studium a léčbu bolesti ČLS JEP a Psychiatrickou klinikou 3. lékařské fakulty UK si Vás dovolují srdečně pozvat na VI. kongres České lékařské akademie, který se bude konat 24. - 26. října 2013 v Grandhotelu Pupp v Karlových Varech.

Tento mezioborový kongres řeší problematiku bolesti v mnoha medicínských oborech. V úvodu kongresu budou opět předneseny přednášky z obecných, vědeckých a společenských oblastí. Hlavním tématem tohoto kongresu je bolest napříč medicínou. Opět se setkáte s předními lékařskými odborníky. Kongres bude pořádán dle Stavovského předpisu České lékařské komory č. 16 a bude ohodnocen kredity České lékařské komory, České asociace sester a Asociace klinických psychologů ČR.

Prezident kongresu:

Prof. MUDr. Richard Rokyta, DrSc., FCMA

Vědecký výbor:

Prof. MUDr. Miloslav Kršiak, DrSc., FCMA – předseda
Prof. MUDr. Rastislav Druga, DrSc., FCMA
Prof. MUDr. Cyril Höschl, DrSc., FRCPsych., FCMA
MUDr. Jiří Kozák, Ph.D.
MUDr. Jan Lejčko
Prof. MUDr. Pavel Mareš, DrSc., FCMA
Prof. MUDr. Evžen Růžička, DrSc., FCMA
Prof. MUDr. Jan Starý, DrSc., FCMA



Organizační výbor kongresu:

Prof. MUDr. Richard Rokyta, DrSc., FCMA
MUDr. Jiří Kozák, Ph.D.
MUDr. Hana Kurzová
Hana Novotná
Monika Šenderová

Vědecký sekretariát:

Hana Novotná (program)
email: cla@medical-academy.cz/cla telefon: 776 350 000

Organizační sekretariát:



Congress Business Travel, spol. s r. o.
Monika Šenderová (registrace, ubytování, výstava firem)
email: cla2013@cbttravel.cz telefon: 224 942 575