



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Studies

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta
Katedra veřejného a sociálního zdravotnictví

Diplomová práce

Západonilská horečka - globální změny epidemiologické situace a surveillance v ČR

Vypracovala: Bc. Renata Vondráková
Vedoucí práce: MUDr. Dlhý Jozef, Ph.D.

České Budějovice 2015

Abstrakt

Hlavním cílem práce je prozkoumat měnící se globální epidemiologickou situaci v závislosti na změně klimatu a zmapovat trendy změn epidemiologické situace. Dílčím cílem je zjistit, zda existují rozdíly v geografické distribuci výskytu viru Západonilské horečky (dále jen „WNV“) v časovém období 2004-2014 celosvětově, dále samostatně pro Evropu a pro ČR; zmapovat surveillance v ČR a ve světě; navrhnout možnosti zlepšení prevence při měnící se geografické distribuci; popsat případy onemocnění hlášených v ČR; zjistit zda se v plzeňských a českobudějovických zdravotnických zařízeních rutinně provádí vyšetření na záchyt nákazy WNV a konečně zmapovat promořenost WNV a její příčiny v koňských chovech.

Část pojednávající o změně geografické distribuce byla zpracována na základě prostudování dostupné literatury, převážně české, a doplněna o zahraniční vědecké články. Změny geografické distribuce viru Západonilské horečky v EU byly posuzovány pomocí oficiálních statistik Evropského střediska pro prevenci a kontrolu nemocí. Informace k surveillance ve světě byly čerpány z publikovaných zahraničních článků. Surveillance týkající se ČR byla zmapována pomocí české legislativy a prací českých vědců, zabývajících se touto problematikou. K návrhům zlepšení prevence vzniku onemocnění způsobeného WNV, ke kterým bude docházet vlivem změny počasí, byly použity zahraniční vědecké články, které se věnují otázkám prevence WNV v různých částech světa, kde problematiku infekce WNV řeší již několik let. Epidemiologické údaje, vztahující se k hlášeným případům onemocnění WNV v České republice, byly čerpány z databáze systému EPIDAT. Konkrétní údaje o infikovaných osobách poskytl Státní zdravotní ústav a místně příslušná krajská hygienická stanice. Údaje ohledně vyšetřování záchytu nákazy WNV byly získány přímým dotazem na konkrétní zdravotnické zařízení. Tato problematika byla doplněna i o průzkum v soukromých laboratořích, taktéž provedený přímým dotazem na konkrétní laboratoř. Promořenost koňských chovů nákazou WNV byla zkoumána pomocí informačního bulletinu Státní veterinární správy (dále jen „SVS“).

Pomocí rešerší se podařilo zmapovat měnicí se globální distribuci WNV a její příčiny; dále se povedlo diferencovat měnicí se trendy epidemiologické situace, které souvisejí se změnou klimatu. Rozdíly ohledně geografické distribuce WNV jsou uvedeny pouze pro EU a to v letech 2008-2012. V práci je popsán návrh prevence v souvislosti s měnicí se klimatickými podmínkami. Při průzkumu ve zdravotnických zařízeních nastal problém s vyjádřením malých zdravotnických zařízení, která ani opakovaně na vznesený dotaz nereagovala, proto je v práci uveden pouze závěr z jednoho velkého zdravotnického zařízení v Plzni a Českých Budějovicích. Od většiny oslovených soukromých laboratoří v Plzni i v Českých Budějovicích se podařilo získat odpověď. Se získáním dat o počtu nakažených koní nebyl problém, jelikož každoročně vychází informační bulletin „Zpráva o činnosti v oblasti ochrany zdraví zvířat“ vydávaný Státní veterinární zprávou.

Ze získaných informací se dá velmi dobře posoudit vliv změny klimatu na distribuci WNV. Tento vývoj je dán především osídlením nových oblastí, jak původcem, tak rezervoáry, posouvající se vlivem změn klimatu mimo původní endemické oblasti. Za změnu globální distribuce může také ve větší míře globalizace světa, a to převážně díky zvětšujícímu se objemu dopravy - letecké, lodní i pozemní.

Měnicí se epidemiologická situace je dána tím, že virus napadá organismy, které se do té doby s virem nesetkaly. Díky tomu dochází ke změně klinického obrazu a objevují se závažnější formy onemocnění.

Oficiální statistiky počtu onemocnění v EU v letech 2008-2012, publikované Evropským střediskem pro prevenci a kontrolu nemocí, odhalily, že počet onemocnění je závislý, jak na globální změně klimatu, tak na klimatu v průběhu daného roku. Údaje pro rok 2010 jasně ukázaly, jak velký vliv mají extrémní teploty na počty hlášených onemocnění.

Za důležité při prevenci výskytu onemocnění zvaného Západonilská horečka (dále jen „WNF“) v České republice považují adekvátní informování turistů, nejlépe prostřednictvím turistických kanceláří, očkovacích center a informací, které jsou

dostupné na internetu. Podstatnou součástí represivního opatření proti výskytu onemocnění způsobeným WNV je zamezení přenosu WNV krevními transfuzemi. Z dárcovství krve musí být vyřazeni ti dárči, kteří se mohli nakazit při pobytu v místech výskytu humánních onemocnění. Tímto se zabývá příloha 3, část B, bod 2.1 vyhlášky č. 143/2008 Sb. o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek. Dle tohoto dokumentu jsou z dárcovství krve dočasně vyřazeny osoby, které byly vystavené riziku získání infekce WNV, a to na období 28 dní po opuštění oblasti, kde dochází k přenosu WNV na člověka. V současné době je v připomínkovém řízení návrh metodického pokynu, kterým se stanovuje postup při posuzování rizika nákazy virem Západonilské horečky a možnosti snížení rizika přenosu tohoto viru krevní transfuzí. K zamezení importu nákazy WNV ze zahraničí pomáhají zařízení transfuzní služby (dále jen „ZTS”), která na podkladě aktuálního seznamu zemí s potvrzeným přenosem WNV na člověka vyloučí z darování krve fyzické osoby, zdržující se v dané oblasti alespoň jeden nocleh v období od 1. června do 30. října daného roku. K zabránění autochtonního přenosu WNV v České republice ZTS vyřadí z darování krve ty fyzické osoby, které pobývaly v oblasti prokázaného autochtonního onemocnění alespoň jeden nocleh.

Průzkumem zdravotnických zařízení bylo zjištěno, že se řídí legislativou, a to konkrétně vyhláškou č. 233/2011 Sb., kterou se mění vyhláška č. 473/2008 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce, ve znění vyhlášky č. 275/2010 Sb. Biologický materiál k testování na přítomnost WNV odesílají zařízení k vyšetření do Národní referenční laboratoře pro arboviry Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě. Soukromé mikrobiologické a sérologické laboratoře v Plzni a Českých Budějovicích testování na pozitivitu WNV neprovádějí. Daná vyšetření v těchto dvou městech provádí laboratoř Synlab, konkrétní vyšetření vzorku na WNV pozitivitu provádí centrální laboratoř Synlab v Praze.

Cílená surveillance WNV u koní je v ČR prováděna od roku 2011. Z údajů uvedených v bulletinu SVS je jasně patrné, že promořenost koní v ČR stoupá. V letech 2011-2013 se jednalo o 4-5 koní WNV pozitivních a v roce 2014 bylo již 13 koní WNV

pozitivních z celkového počtu 783 vyšetřených koní. Surveillance provedená mezi lety 2011 a 2014 prokazuje přítomnost WNV séropozitivní koně v sedmi krajích ČR. V pěti případech se jednalo o autochtonní infekci WNV. Důležité je, že čtyři WNV séropozitivní koně nebyli vůbec přesouváni, jednalo se o koně z lokalit v okrese Břeclav, Český Krumlov, Mnichovo Hradiště a Sokolov. Různá geografická distribuce koní a vysoké měrné titry protilátek naznačují dle veterinářů rostoucí aktivitu viru v ČR a možné rozšíření Západonilské horečky do nových oblastí.

Práce dále analyzuje tři případy onemocnění WNV, které byly do ČR importovány z USA, Tanzanie a Kypru. V USA se WNV vyskytuje ve velké míře a k importu došlo v roce 2002, kdy na území USA propukla velká epidemie infekce WNV. Tanzanie může být taktéž považována za rizikovou oblast, jelikož se nachází v blízkosti Ugandy, kde je WNV rozšířen. Další import byl z Kypru, který sice není považován za rizikovou oblast, ale již bylo hlášeno několik případů importu onemocnění způsobené WNV z této oblasti. V práci je popsán první autochtonní případ nákazy virem Západonilské horečky v ČR v roce 2013, který dokazuje měnící se epidemiologickou situaci i v ČR.

Na základě zjištěných údajů je patrné, že virus se bude s ohledem na měnící se klima a větší globalizaci šířit do nových oblastí a bude pravděpodobně způsobovat onemocnění s vážnějším klinickým průběhem. Vzhledem k tomu, že virus má tendenci k mutacím, dá se předpokládat i postupná změna původního klinického obrazu. K zabránění šíření viru je nutné provádět surveillance i v zemích, kde jsou případy infekce WNV sporadické. Vzhledem k tomu, že v současné době není k dispozici humánní vakcína, jsou nutná další preventivní opatření proti šíření viru, ke kterým patří nošení vhodného oděvu a užívání repelentů. Dále je nutné zabránit rozmnožování komárů redukcí vodních ploch, kde se líhnou. K zásadním prvkům prevence patří i informování turistů, kteří cestují do rizikových krajín i do oblastí, které jsou potenciálně rizikové.

Abstract

The main goal of thesis is to explore the changing global epidemiological situation depending on climate changes and to map trends of changes in epidemiological situation. A sub-objective is to find out if there are differences in the geographical distribution of the incidence of West Nile Virus in the period 2004-2014 for the world, for Europe and the for Czech Republic, next to map surveillance in the Czech Republic and abroad, to propose options for improving prevention in a changing geographical distribution, to describe cases of the diseases reported in the Czech Republic, to determine whether in the Pilsen and Czech Budweis medical facilities are routinely investigating also on detection of WNV infection and finally to chart the West Nile Virus infection rate and its causes in horse breeding.

Part about changing geographic distribution have been prepared on the basis of studying available mainly czech literature and supplemented by foreign scientific articles. Changes of the geographic distribution of WNV in the EU were investigated by the official statistics of the European Centre for Disease Prevention and Control. Information about surveillance in the world were drawn from published foreign articles. Surveillance in the Czech Republic was mapped using the czech legislation and by the work of czech scientists dealing with this issue. For proposals for improving prevention relating to changes in the weather have been used foreign scientific articles, devoted to the prevention of WNV in different parts of the world affected by WNV infections. Epidemiological data about reported cases of WNV disease in the Czech Republic were drawn from a database EPIDAT. Specific information about infected persons provided the State Health Institute and local relevant Regional hygiene station. Data about investigations of capture WNV infection were obtained by direct questioning on specific medical facilities, after analyzing of survey responses were supplemented in private laboratories, also made by methods of direct inquiry. Seroprevalence among horse breeds was investigated by the information bulletin SVS.

Using the search they succeeded in mapping of changing global distribution of WNV and its causes, than they were also mapped the changing trends of the epidemiological situation related to climate changes. Differences regarding the geographic distribution of WNV are only for the EU in the years 2008 – 2012. The thesis describes the proposal of prevention, taking into account expected changes in climatic conditions of the countries in which the West Nile Virus infection did not appear yet, or appeared only to a small extent. During collecting of data from health facilities was a problem with small health care facilities that repeatedly did not respond to asked question. In thesis is mentioned only conclusion from one large health facility in Pilsen and in the Czech Budweis. Data from most private laboratories in Pilsen and in the Czech Budweis managed to get without bigger problems. From the majority polled private laboratories in Pilsen and Czech Budweis managed to get a response. Data regarding the number of infected horses were acquired from annual newsletter „Report about activities in the sector of animal health protection“ published by the State Veterinary Administration.

Influence of climate change on distribution of WNV can be very well observed. This change is mainly due to settlement of new countries by the originator and also reservoirs which are moving further to the north or south because of climate. Distribution of WNV to the new countries is also supported by the changing of landscape, mainly due to the changing climate. The changes of migration routes of migratory birds which are also affected by climate changes have also the effect on changing geographic distribution. The globalization of the world is also mostly responsible for change of distribution and that is because of increasing volume of air, sea and land transport.

The change of epidemiological situation is given by that the virus attacks organisms that did not meet with virus until now. Therefore, there is a change in the clinical picture and more serious forms of the disease appear in the greater degree than before.

Official statistics numbers of diseases in the EU in 2008-2012 published by the European Centre for Disease Prevention and Control revealed that number of illnesses depends on the global climate changes and also on the climate in a current year. Data for year 2010 clearly reveal how big influence extreme temperatures have on the number of reported illnesses.

With regard to prevention in the Czech Republic, as a main step was to designed the informing of tourists through tourist offices, vaccination centres and understandable information published on the internet. The substantial part of the repressive measures against WNV disease is to stop transmission of WNV blood transfusions. From donating blood must be excluded blood donors who could become infected during visit in areas of occurrence human diseases. This deals with in annex 3, part B, item 2.1 of Decree no. 143/2008 Coll. about establishing detailed requirements for ensuring the quality and safety of human blood and its components. From donating blood are temporarily discarded persons at risk of getting infected with WNV for a period of 28 days after leaving the area where WNV is transmitted to humans. Currently the draft of methodological instruction which sets out the procedure for assessing the risk of West Nile Virus infection and the procedure to reduce the risk of transmission of the virus through blood transfusions is in the comment procedure. To stop of import of WNV infection from abroad, the transfusion services (hereinafter „ZTS) will excluded the individuals staying in the area for at least one night in the period from 1. June to 30. October that year according to the current list of countries with confirmed WNV transmission to humans. To stop of autochthonous transmission of WNV in Czech Republic the ZTS will excluded individuals staying in area of proven autochthonous disease at least one night from process of donating blood.

By the survey of health facilities was found out that it is according the legislation, specifically Decree 233/2011 Coll. which is changing the Decree 473/2008 Coll., about system of epidemiological vigilance for selected infections, as amended by Decree 275/2008 Coll. Biological material to test for the presence of WNV is sent for examination to the National Reference Laboratory for arboviruses of Health Institute

in Ostrava. Private microbiology and serology laboratories in Pilsen and Czech Budweis do not test on positivity of WNV. Necessary investigations in these two cities arranges laboratory Synlab and the samples sent to the central laboratory Synlab in Prague for examination.

Targeted surveillance of horse WNV in Czech Republic is doing from 2011. From data referred on the bulletin SVS is clearly evident that the seroprevalence of horses in the Czech Republic is rising. In 2011 – 2013 it was 4 – 5 WNV positive horses, in 2014 it was already 13 horses from a total of 783 horses tested positive WNV. Surveillance made between 2011 and 2014 shows WNV seropositive horses in seven regions of the Czech Republic. In five cases were autochthonous WNV infection. Four horses of the sites in the district of Breclav, Czech Krumlov, Mnichovo Hradiště and Sokolov were not moving at all. Various geographic distribution of horses and high specific antibody titers according to veterinarians indicate increasing activity of the virus in the Czech Republic and the possible expansion of West Nile Virus into new areas.

The thesis also analyzes three cases of WNV disease that have been imported to the Czech Republic from the USA, Tanzania and from Cyprus. In the USA WNV occurs widely and import occurred in 2002 when on the USA territory was epidemic outbreak of WNV infection. Tanzania may be also considered as a risk area because is located near Uganda where WNV is widespread. Another import was from Cyprus which is not consider as a risk area but several cases of importing disease caused by WNV were reported in this region.

In thesis is also described the first autochthonous case of West Nile Virus infection in the Czech Republic in 2013 which demonstrates the changing epidemiological situation in the country.

Based on the obtained data is appreciable that the virus will be with regard to a changing climate and increased globalization spread to new areas in which will be probably cause diseases with serious clinical course. Whereas the virus has a tends

to mutation it is expected also a gradual change of the clinical picture. To stop the spread of the virus should be carried out surveillance at all levels even in countries where the cases of WNV infection are sporadic. Insomuch as is not in current time human vaccine available to curb the spread of the virus I suggest to introduce of preventive measures especially wearing appropriate clothing and using repellents. It is also necessary to prevent the breeding of mosquitoes by reducing water areas suitable for their reproduction. The essential elements of prevention includes informing tourists traveling to high-risk countries and countries potentially risky.

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně, pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne (7.8.2015)

.....

(Renata Vondráková)

Poděkování

Tímto bych chtěla velmi poděkovat vedoucímu mé práce panu MUDr. Jozefu Dlhému, Ph.D. za pomoc, ochotu, odborné vedení práce a poskytování cenných rad a materiálních podkladů při zpracování mé diplomové práce.

Dále bych chtěla poděkovat panu MUDr. Janu Kynčlovi, PhD. ze Státního zdravotního ústavu za poskytnutí dat z epidemiologické databáze EPIDAT. Dále děkuji paní MUDr. Lence Pětvaldské, vedoucí oddělení epidemiologie KHS MSK ÚP Karviná, za sdělení informací, které se týkají prvního autochtonního onemocnění v ČR. Mé poděkování patří i spolupracujícím lékařům a zaměstnancům zdravotnických středisek a soukromých laboratoří, kteří se podíleli na průzkumu.

Obsah

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	15
ÚVOD.....	17
1 HISTORIE ONEMOCNĚNÍ	20
1.1 Historie onemocnění ve světě.....	20
1.2 Historie onemocnění v ČR	22
2 PŮVODCE.....	24
2.1 Taxonomie	24
2.2 Struktura viru	24
2.3 Vlastnosti viru	24
2.4 Linie viru.....	25
2.5 Mutace viru	26
3 FORMY ONEMOCNĚNÍ A KOMPLIKACE	28
3.1 Změna klinického obrazu	29
3.2 Rekonvalescence a následky	30
4 DIAGNOSTIKA	31
5 TERAPIE	33
6 PATOGENEZE	34
7 EPIDEMIOLOGICKÉ CHARAKTERISTIKY	36
7.1 Zdroj.....	36
7.2 Vektor.....	36
7.3 Zvířecí hostitelé.....	42
7.4 Cesta přenosu	44
7.5 Nakažlivost.....	45
7.6 Vnímavost	45
7.7 Trendy výskytu.....	45
8 CHARAKTERISTIKA SURVEILLANCE	50
8.1 Surveillance Západonilské horečky.....	52
8.2 Surveillance nákaz virem Západonilské horečky v ČR.....	56
8.3 Hlášení Západonilské horečky v ČR	61

9	EPIDEMIOLOGICKÁ OPATŘENÍ	63
9.1	Preventivní opatření	63
9.2	Represivní opatření	64
10	CÍLE PRÁCE A VÝZKUMNÉ OTÁZKY	66
10.1	Cíle práce	66
10.2	Výzkumné otázky.....	66
11	METODIKA	67
11.1	Metodika práce.....	67
11.2	Charakteristika výzkumného souboru.....	67
12	VÝSLEDKY	68
12.1	Geografická distribuce a trendy rozšíření viru Západonilské horečky	68
12.2	Výzkumná otázka 1	77
12.3	Výzkumná otázka 2	83
12.4	Výzkumná otázka 3	84
12.5	Výzkumná otázka 4.....	85
12.6	Výzkumná otázka 5	87
13	DISKUZE	92
	ZÁVĚR	97
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	101
	KLÍČOVÁ SLOVA	109

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AHC	American Horse Council AHC
EWRS	systém rychlého varování Evropské komise (Early Warning and Response Systém)
BBB	hematoencefalická bariéra (blood-brain barrier)
BSL	úroveň biologické bezpečnosti (Biological Safety Level)
CDC	Centres for Disease Control and Prevention, U.S.A,
CNS	centrální nervová soustava
CT	Počítačový tomograf (Computer Tomograph)
DEET	N,N-diethyl-m-toluamide
DENV	virus Dengue
DyMSiM	Dynamic Mosquito Simulation Model
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EEG	elektroencefalogram
ELISA	enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EPIDAT	informační systém Infekční nemoci
F1	první generace potomků
HIT	hemaglutinačně-inhibiční test
IFA	nepřímá imunofluorescence
IFN	interferon
Ig	imunoglobulin
JE	japonská encefalitida
JEV	virus japonské encefalitidy
KE	klíšťová encefalitida
KHS	Krajská hygienická stanice
MR/MRI	magnetická rezonance
MZČR	Ministerstvo zdravotnictví ČR
NASBA	Nucleic acid sequence based amplification
NRL	Národní referenční laboratoř
OOVZ	orgán ochrany veřejného zdraví
PCR	polymerázová řetězová reakce (Polymerase chain reaction)
RabV	Rabensurg virus, linie III
RNA	ribonukleová kyselina (Ribonucleic acid)
RT-PCR	reverzně transkripční PCR
SVS	Státní veterinární správa
SZÚ	Státní zdravotní ústav
TAHV	virus Ťahyňa
TBEV	virus klíšťové encefalitidy (Tick-borne encephalitis virus)
TESS	The European Surveillance System
ÚZIS	Ústav zdravotnických informací a statistiky
VNT	virus neutralizační test
WND	onemocnění virem Západonilské horečky (West Nile disease)
WNED	encefalitické onemocnění (West Nile encephalitic disease)
WNF	Západonilská horečka (West Nile fever)
WNND	neuroinvasivní onemocnění (West Nile neuroinvasive disease)
WHO	Světová zdravotnická organizace
WNV	virus Západonilské horečky (West Nile virus)
YFV	virus žluté zimnice

Komáři – zkratky rodů:

Ae. komáři rodu *Aedes*
An. komáři rodu *Anopheles*
Cx. komáři rodu *Culex*

Úvod

Práce se zabývá onemocněním zvaným Západonilská horečka (angl. West Nile Fever, dále jen „WNF“). Toto onemocnění se vyskytuje v endemické i epidemické formě v Africe, jižní Asii, jižní Evropě a na americkém kontinentu. Patří mezi nově se objevující zoonózy, vyjádřeno používanou anglickou terminologií „emerging diseases“. Jedná se o onemocnění, která se objevila v populaci poprvé, případně jsou známy již déle, ale v současnosti mají rychlý nárůst incidence a zeměpisného rozšíření. Z těchto důvodů je považováno za nutné správně analyzovat původce, jeho vlastnosti a možnosti mutace. V souvislosti s rychlým růstem incidence a rozšíření je také potřeba zkoumat epidemiologické charakteristiky tohoto onemocnění, a to především ekologická hlediska možných vektorů, jejich současné rozšíření a faktory přispívající k jejich šíření. Dále je nutno diferencovat rezervoárové organismy, které jsou schopny daný virus celosvětově šířit. Měly by být prozkoumány jejich ekologické aspekty, způsobující změnu jejich zeměpisného rozložení. Jelikož se virus šíří i do zemí bez dřívějšího výskytu, dochází ke kontaktu s organismy bez adaptace na infekci, způsobenou tímto virem. Tato skutečnost má zásadní vliv na změnu klinického obrazu. Zároveň se však může na změně typického průběhu onemocnění podílet i nákaza mutovanými kmeny viru, které vykazující daleko větší virulenci. Ke zjišťování rozšíření viru probíhá v mnoha zemích epidemiologická surveillance. Jelikož se virus bude velmi pravděpodobně vyskytovat na nových územích, je nutné znát možnosti prevence.

V práci je nastíněna historie onemocnění jak ve světě, tak v České republice. Blíže se zaměřuje na původce onemocnění, jeho taxonomii, strukturu, vlastnosti, linii viru a na mutace v průběhu sledování viru. Sdělení se zabývá i dopady mutací na rozšíření onemocnění a na změnu klinického obrazu. Jsou zde uvedeny formy onemocnění, příčiny a druhy možných komplikací, průběh rekonvalescence a možné následky onemocnění. Práce popisuje dostupné možnosti diagnostiky WNF, jejich výhody a nevýhody a vhodnost použití v různých situacích. V kapitole terapie jsou uvedeny možnosti terapie a dosavadní zkušenosti s různými druhy terapie. Částečně je nastíněno,

jakým směrem by se mohly možnosti léčby ubírat. Kapitola týkající se patogeneze rozebírá mechanismus vzniku nemoci, jak virus vniká do organismu, kde se lokalizuje a co narušuje. Sleduje vznik, průběh a zakončení nemoci. V rozsáhlé kapitole s názvem epidemiologické charakteristiky je pozornost věnována zdroji nákazy, popisuje nejčastější rezervoárové organismy. Vzhledem k šíření vektorů je velká část práce zaměřena na charakteristiku jejich ekologických aspektů, popisující vhodné klimatické podmínky vybraných druhů, výskyt vektora v průběhu roku a adekvátní biotop určitých druhů vektorů. Cesta přenosu udává, jaké jsou její formy a faktory nutné k úspěšnému uskutečnění přenosu. V části práce, která se věnuje slepým hostitelům, jsou uvedeny hlavní druhy organismů, které jsou pro virus koncové, a dále pak druhy, které by mohly být za koncové považovány. Ovšem je zajímavé, že nedávné studie odhalily potencionální možnost zapojení i těchto koncových organismů do přenosu viru. V trendech výskytu jsou popsány změny, které proběhly od 90. let, a jejich možná příčina; pozornost je zde věnována změně klimatu na výskyt viru ve světě. Téma surveillance se zabývá obecnou charakteristikou surveillance, historií a změnami surveillance WNF ve světě. Jedna z podkapitol je věnována identifikaci rizikových oblastí pomocí modelovacích programů, což je důležité pro prevenci onemocnění. V práci je dále uveden průběh surveillance v ČR a jaké jsou její legislativní základy. V rámci této kapitoly je zmíněno i několik prací, které se věnovaly entomologické surveillance na území ČR. Samostatná kapitola je věnována epidemiologickým opatřením, a to jak preventivním, tak represivním. Nedílnou součástí sdělení je popis geografické distribuce a trendů šíření WNV. Jsou zde analyzovány zdroje šíření a jejich změny. Zároveň je zde uvedeno, jakým způsobem dochází k rozšíření viru pomocí ptáků. Velmi zásadní pro distribuci viru je jeho „přezimování“, proto jsou zde uvedeny i dostupné informace, týkající se způsobu „přezimování“.

Výzkumná část rozebírá otázky, které byly položeny před zahájením studia dané problematiky. Je zde analyzována otázka vlivu změn klimatu na šíření výskytu onemocnění, způsobené WNV. Prevence WNF v ČR je zde zkoumána otázkami týkající se případů WNF hlášených v ČR. Zajímalo nás, zda je většina hlášených případů v přímé souvislosti s cestovatelskou anamnézou a zda tito cestovatelé navštívili země,

které by se daly označit za rizikové. Dále jsme se věnovali tomu, jak je analyzován materiál získaný od osob podezřelých z positivity WNV. Z tohoto důvodu bylo kontaktováno několik zdravotnických zařízení v Plzni a Českých Budějovicích. Všem byl položen dotaz, jak v tomto případě konkrétně postupují. S ohledem na výsledky, které byly v souladu s vyhláškou č. 233/2011 Sb., kterou se mění vyhláška č. 473/2008 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce, ve znění vyhlášky č. 275/2010 Sb., byl průzkum rozšířen o soukromé mikrobiologické a sérologické laboratoře. Surveillance WNF v ČR byla prošetřena pomocí analýzy počtu případů sérologicky WNV pozitivních koní, jejichž testování provádí každoročně Státní veterinární ústav a o výsledcích informuje v bulletinu vycházejícího pod SVS.

Práce byla zpracována jako rešerše dostupné literatury a převážně zahraničních vědeckých článků. Případy hlášených onemocnění v ČR byly získány z epidemiologické databáze EPIDAT. Průzkum zdravotnických zařízení a soukromých mikrobiologických laboratoří proběhl pomocí elektronické komunikace s vytipovanými pracovišti.

1 Historie onemocnění

1.1 Historie onemocnění ve světě

První případ WNF byl popsán v Ugandě roku 1937, kdy byl virus izolován od nemocného muže s horečkou¹. Během prvních desetiletí po izolaci byl poté WNV určen jako častá příčina epizootického onemocnění koní, které mělo vysokou míru úmrtnosti².

Kolem roku 1950 byla zaznamenána ohniska nákazy humánního onemocnění, způsobené WNV, v některých případech se jednalo o smrtelná postižení. Vyskytovala se zejména na Blízkém východě a v severní Africe¹. V 50. letech byla odhadována 40% séropozitivita u populace v oblasti delty řeky Nil. První epidemie encefalidity, postihující člověka, byly zaznamenány v roce 1951 v Izraeli³, při nichž onemocnělo 123 obyvatel. Zajímavé na této informaci je skutečnost, že více než polovinu z tohoto počtu tvořily děti mladší 6 let⁴.

První zdokumentované případy onemocnění, které se vyskytly v Evropě, pochází z Albánie (1958), Španělska (1961), Francie (1962) a Portugalska (1966). V letech 1962 a 1965 se ve francouzském Camargue objevilo několik ohnisek nemoci, která postihovala jak koně, tak i lidi¹. V roce 1963 proběhla epidemie v Rusku (delta řeky Volhy), vektorem přenosu bylo klíštěte *Hyalomma marginatum*. V 60. - 80. letech byla u evropské populace zjištěna séropozitivita kolem 40 %. V roce 1971 byl WNV izolován z komárů v jižním Portugalsku v rámci epidemiologické studie, spuštěné po vypuknutí encefalidity u koní, v níž 29 % přeživších koní bylo séropozitivní proti WNV¹.

Pouze ojedinělé případy infekcí u lidí byly v Evropě do poloviny roku 1990 spojovány s WNV. K jeho znovuobjevení došlo téměř současně v západním Středomoří: 1994 v centrálním Alžírsku, 1996 v Maroku, 1997 v Tunisku a 1998 v Itálii. Ve střední a východní Evropě: 1996 v Rumunsku, 1997 v České republice, 1998 v Rusku a na Blízkém východě, 1998 v Izraeli¹.

Významné propuknutí onemocnění WNF v Rumunsku roku 1996 je považováno za důležité ohledně distribuce WNV na evropském kontinentu. Jednalo se celkem o 835 případů s podezřením na infekci centrálního nervového systému (CNS). Z celkových 509 laboratorně vyšetřených nemocných byla u 77 % potvrzena diagnóza WNF. U pacientů s WNF odpovídal klinický průběh ve 40 % meningitidě, ve 44 % meningoencefalitidě a v 16 % encefalitidě. Smrtnost této infekce byla 4,3 %, přičemž všichni zemřelí byli starší 50 let⁵.

Další důležitá epidemie WNF proběhla v červenci 1999 v oblastech jižního Ruska, kde byly hlášeny lidské případy WNF a neuroinvazivního onemocnění způsobené WNV. Nejvyšší výskyt byl zaznamenán ve třech provinciích na jihu evropské části Ruska (Volgograd, Astrachaň a Rostov). Celkový počet případů byl 826 se 40 úmrtími⁵. Nové epidemie humánních onemocnění v oblasti Volhy způsobuje od roku 2004 nový kmen WNV (tzv. linie 2)¹. Linie 2 se odtud dále rozšířila na západ a dosáhla Rumunska (2010). Jedná se o geneticky odlišnou variantu od linie 2 ovlivňující centrální Evropu¹.

K podstatnému výskytu WNV, s ohledem na pozdější výskyt a rozšíření viru v USA, došlo v roce 1998 v Izraeli, kde byl izolován virulentní kmen WNV linie 1 z čápa bílého s klinickými příznaky encefalitidy a ochrnutí³. V roce 2000 v Izraeli došlo k více než 430 případům WNF s 37 případy úmrtí⁵.

V roce 2000 došlo k propuknutí epidemie ve francouzské Camargue (další ohniska nákazy zde proběhly v letech 2003, 2004 a 2006)¹. V roce 2003 došlo k epidemii v Maroku, která podobně jako v roce 1996 zasáhla především populaci koní. V roce 2008 došlo k epidemii v Itálii v deltě řeky Pád, kde roku 1998 proběhla epidemie u koní. Od té doby probíhá ve stejné oblasti epidemie WNF každý rok.

Distribuce lidských případů se v letech 2010-2012 rozšířila na sever⁶. V roce 2010 došlo k velkému propuknutí epidemie WNF v Evropě (střední Makedonie, severní Řecko, Rumunsko, Maďarsko, Itálie, Španělsko, Rusko, Turecko a Izrael). Celkem zde onemocnělo 262 osob, z toho 35 lidí zemřelo. Nejvíce autochtonních

případů bylo zaznamenáno v Řecku, došlo k nejvyššímu počtu onemocnění u lidí od epidemie v Rumunsku (1996–97). Ohniska onemocnění byla doprovázena infekcemi oslů v Bulharsku a koní v Portugalsku, jižní Itálii, Řecku a Maroku⁷. Byla prokázána cirkulace WNV linie 2. U WNV linie 2 byl izolován z *Culex* (dále jen „Cx.“) *mosquitoes* a divokých ptáků. V roce 2011 virus vyvolal epidemie s velkým počtem lidských onemocnění v oblastech Balkánu, Řecka, Rumunska, Chorvatska, bývalé Jugoslávské republiky, Makedonie, Kosova, Černé Hory a Srbska⁸. V roce 2012 byla WNF hlášena u více než 50 případů v Itálii, Izraeli, Rusku, Srbsku a Tunisku, Maďarsku a Řecku³. V Itálii se jednalo o nejpočetnější propuknutí onemocnění u lidí.

První výskyt infekce WNV na americkém kontinentu byl popsán v roce 1999⁹. Epidemie závažných encefalitid proběhla v oblasti New York, zde zemřelo 7 osob. V následujících letech se výskyt onemocnění vyvolaných WNV v rámci USA rozšířil a onemocnění přibývalo (2000 – 21; 2001 – 66; 2002 – 4156, z toho 284 úmrtí; 2003 – 9862, z toho 264 úmrtí). Od roku 1999 do roku 2006 bylo v USA zaregistrováno více než 19 000 případů infekce WNV u lidí. V roce 2010 došlo v USA k neobvykle rychlému a závažnému propuknutí WNF¹⁰. Roku 2012 USA zažily druhou nejhorší vlnu epidemie WNV. Jednalo se celkem o 5387 případů onemocnění WNF, s vyšším podílem neuroinvasivních případů³. Infekce měla kritický průběh hlavně u starších osob.

Do Kanady se WNV rozšířil v roce 2001 a v roce 2002 dosáhl západního pobřeží, kdy bylo v provinciích Ontario a Quebec hlášeno více než 400 lidských nálezů¹¹.

Do oblasti Karibiku se virus dostal v roce 2002, kde přestože byla zjištěna vysoká séropozitivita u koní i ptáků, nepůsobil žádné klinicky závažné případy onemocnění člověka¹². V roce 2003 došlo k hlášení nálezů z Mexika¹².

1.2 Historie onemocnění v ČR

V Československé socialistické republice (dále jen ČSSR) byly protilátky k WNV prokázány již v roce 1979 u dobytka a volně žijících zajíců v jižních Čechách.

Protilátky k WNV se zde vyskytovaly u 2 % krav i koní a 4 % zajíců¹³. Začátkem 90. let byly protilátky k WNV prokázány na jižní Moravě u 8 % lovné zvěře a u 10 % kormoránů¹⁴. Ve čtyřech jihomoravských okresech byl v letech 1988 a 1989 proveden sérologický přehled WNV z krevního séra 525 osob. WNV pozitivní byly detekovány pouze tři lidé. Aktivita WNV před rokem 1990 byla v ČSSR velmi nízká¹⁵.

První izolace WNV v ČR byla provedena po povodních v roce 1997 z komára *Cx. pipiens* nedaleko Lanžhotu. Po těchto povodních byly neutralizační protilátky k WNV prokázány u 2 % obyvatel Břeclavska z 619 vyšetřených. Klinické příznaky WNF se objevily u 5 z těchto séropozitivních osob. U 2 pediatrických pacientů se jednalo o průkazný vzestup titru protilátek mezi akutním a rekonvalescentním vzorkem séra¹⁶. V roce 2002 došlo k prvnímu importovanému případu infekce WNV z USA, který byl patrně v souvislosti s uvedenou rozsáhlou epidemií⁵. Další importované případy WNF do ČR byly z Kypru a Tanzanie v roce 2007. Ve všech případech se jednalo o turistický pobyt českých občanů.

2 Původce

2.1 Taxonomie

WNV taxonomicky patří do rodiny *Flaviviridae*, rodu *Flavivirus*. Jedná se o malý, kulovitě obalený +ssRNA virus, zařazen podle molekulárně-biologických a sérologických vlastností do antigenního komplexu JE (Japanese encephalitis), kam patří viry japonské encefalitidy, encefalitidy Murray-Valley, encefalitidy Saint Louis, či australský Kunjin virus a další, méně často stanovované viry, které v různých částech světa způsobují encefalitidy lidí i zvířat⁵.

2.2 Struktura viru

Viriony kulovitého tvaru o průměru 50 nm se skládají z lipidové dvojvrstvy, ta obklopuje nukleokapsid po obvodu genomu. Genomem je unikátní jednořetězcová molekula RNA, složená z nukleotidů kódující polyprotein, jenž je enzymaticky zpracován virovými a hostitelskými buněčnými proteázami za vzniku deseti virových proteinů¹⁷. Z nich tři (kapsidový (C), obálkový (E), a membránový (M)) tvoří část struktury virionu, a sedm (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4B, a S5) tzv. nestrukturálních proteinů hraje důležitou roli v intracelulárních procesech replikace, morfogeneze a sestavě viru.

2.3 Vlastnosti viru

Proteiny E a M, se podílejí na důležitých biologických vlastnostech viru, jako je určení skupiny hostitelů, tkáňového tropismu, replikace virionů a stimulace buněčné a humorální imunitní odpovědi. E protein obsahuje hlavní antigenní determinanty viru¹. Protein M stabilizuje konformaci proteinu E při virionové sestavě¹⁷. Nukleokapsidový protein C uzavírá genom jednořetězcové pozitivní polární RNA, která je translatována do jednoho polypeptidu po infekci hostitelské buňky. Existují důkazy, že NS1 se podílí na neuroinvazi WNV¹⁷.

2.4 Linie viru

WNV byl vymezen do pěti odlišných linií (1-5), na bázi fylogenetické analýzy sekvencí shromážděných ze šesti kontinentů od roku 1937 do roku 2013¹². Těchto pět linií se nepatrně liší proteinovou strukturou⁷.

Linie 1 představuje největší linii WNV s celosvětovou distribucí izolátů. Je široce rozšířena v Evropě, Africe, Americe, Asii a Oceánii. Tato linie se dělí na dva subtypy, 1a a 1b. Do subtypu 1b náleží Kunjin virus (KUNV), který cirkuluje v Austrálii. Subtyp 1a obsahuje většinu izolátů linie 1 a dále se rozděluje do šesti samostatných klastrů. Do klastru 1 náleží izoláty ze severní Afriky (1951 – 1976), Izraele (1953), Indie (1968) a Portugalska (1971). Klaster 2 obsahuje novější izoláty z Rumunska (1996), Maroka (1996 a 2003), Keni (1998), Itálie (1998 a 2008 - 2011), Ruska (1999 – 2000), Francie (2000), Portugalska (2004) a Španělska (2007). Klaster 3 zahrnuje izoláty z oblasti Astrachaň v Rusku (1995 – 2005). Klaster 4 se skládá z izolátů z Tuniska (1997), Izraele (1998 a 2000), Maďarska (2003) a Ameriky (1999-2013). Klaster 5 se sestává z izolátů střední Afriky (1965 – 1979; klaster 6 obsahuje izoláty z Nigérie (1965), Středoafrické republiky (1967) a Senegalu (1979)¹².

Linie 2 cirkulovala v subsaharské Africe a na Madagaskaru v lokálních endemických přenosových cyklech s omezenými důkazy epidemického přenosu a byla spojena s méně závažným onemocněním u lidí, nebo s onemocněním které nebylo neuroinvasivního charakteru. Nedávné epidemie v Řecku (2010), Rusku (2004, 2007 a 2010), Itálii, Rumunsku a Jihoafrické republice poskytly důkazy o závažném neurologickém onemocnění člověka spojené s touto linií¹². Rostoucí význam této linie vyústilo ve zvyšující se počet sekvencí celého genomu linie 2, což umožnilo přesné fylogenetické a evoluční studie. Studie zjistily, že WNV linie 2 se v současné době skládá ze 4 subtypů (2a-2d); největší subtyp 2d obsahuje kmeny z Afriky, Ruska a Evropy¹⁸.

Zatímco všechny analyzované izoláty z evropských epidemií proběhlých v letech 1951 až 1971, patřily k linii 1, analýza novějších evropských epidemií odhalila

nejen dvě klasické WNV linie, ale také tři "neobvyklé" WNV varianty, včetně kmene Rabensburg (RabV) (linie 3) a kmene Krasnodar (linie 4)¹. Linie 3 byla analyzována v roce 1997 z WNV pozitivních komárů v Rakousku a v České republice (jižní Morava). Linie 4 se sestává z několika ruských izolátů, které cirkulují od roku 1988. Linie 5 se skládá z 13 indických izolátů identifikovaných v letech 1955-1982¹².

2.5 Mutace viru

Infekční agens, mající mimořádnou schopnost změny a přizpůsobení se, je příčinou vzniku nových infekčních onemocnění. Naproti tomu organismy v průběhu času mění své adaptivní procesy, což způsobuje zánik nebo změnu stávajících a vznik nových infekčních onemocnění¹. Přenosové systémy hostitel-vektor-virus jsou dynamické a obvykle se vyvíjejí v čase. Získání a udržení alespoň jedné významné mutace mohlo být příčinou zvýšené vektorové kompetence a lepší přenosové dynamiky¹³. Další důležitou rolí v diverzifikaci patogena mohou hrát některé součásti ekologických regionů. Selekční tlak na viry může být vyvolán rozdílností hostitelských populací a řadou vnějších mikrohabitačních podmínek, jako je teplota nebo vlhkost²⁰.

V současné době je známo, že WNV má potenciál mutovat, přizpůsobovat se novému prostředí, způsobovat onemocnění s vysokou morbiditou a mortalitou a způsobovat velká ohniska epidemií¹⁸. Mutace vznikají především prostřednictvím pochybení RNA polymerázy. V důsledku toho se objevují a šíří nové varianty, které mají větší epidemický potenciál, např. efektivnější replikaci u hostitelů nebo lepší přenos pomocí vektoru¹⁷. Některé mutace v genomu WNV mohou být spojeny se vznikem více virulentních kmenů. Zvýšená virémie byla připsána zvýšené tepelné stabilitě. Tato mutací vzniklá stabilita je pozorována u vysoce virulentních kmenů linie 1. Zároveň je tato mutace přítomna ve většině nově identifikovaných vysoce virulentních kmenů linie 2. Po prvních letech epidemie v severní Americe byl dominantní kmen WNV v průběhu roku 2002 nahrazen novou variantou. Tento kmen se vyznačuje mutací, díky níž se účinněji replikuje ve vektoru při vyšší teplotě. Prokázalo se, a to zejména za vyšších teplot, že virus po infikování vektora dříve napadá jeho slinné žlázy¹⁹. Podíl infikovaných komárů se tím rychle zvyšuje. Urychlený rozvoj

tohoto kmene je spojen s kratší vnější inkubační dobou u vektorů²¹. Další mutace viru způsobuje vysokou virémii a úmrtnost hostitelů, konkrétně vran amerických¹⁹. Pro virus, replikující se u ptáků, je výhodou mutace způsobující účinnější virovou replikaci při vyšších teplotách. Tato mutace se nezávisle na sobě několikrát objevila pokaždé ve spojení se závažnými příznaky onemocnění u lidí. V posledních letech byla tato mutace identifikována u kmene linie 1, který působí v severní Itálii. Další mutace, které změny nízkopatogenní kmene WNV na více virulentní, zvyšují schopnost viru vyhnout se imunitní odpovědi hostitelů¹⁷. Adaptivní změny hostitelů by mohly snížit účinnost přenosu, pokud není kompenzován zvýšenou schopností viru infikovat vektory¹⁹.

3 Formy onemocnění a komplikace

WNV vyvolává u svého přirozeného hostitele manifestní onemocnění jen výjimečně. U člověka, který je pouze náhodným článkem řetězce, většina infekcí WNV vede k asymptomatické formě onemocnění a blíže neurčeným horečnatým onemocněním (80 %). U 20 % pacientů se onemocnění projeví ve formě WNF. Virus se zpočátku replikuje v kůži, následně v mízní uzlině v blízkosti sání. Primární virémií je postižen retikuloendotel. V některých případech nastává druhá vlna virémie, kdy se virus může dostat do různých orgánů, včetně CNS¹.

Lidské onemocnění WNF se rozvíjí po inkubační době, která trvá obvykle 3-6 dnů (maximální inkubační doba je až 14 dní) od sání infikovaného komára. Po uplynutí inkubační doby se ke klinickým příznakům řadí prudký nástup horečky (kolem 39°C, trvající 3-5 dní, někdy se zimnicí, občas dvojfázová), nechutenství, nevolnost, zvracení, bolest břicha, průjem, bolesti svalů a hlavy (často v čelní oblasti, mnohdy úporné), také bolesti hrdla, kloubů. Jako typické se uvádějí bolesti za očními bulvami, zánět spojivek, světloplachost, značná únava, neklid, zvětšení uzlin a respirační obtíže. Vyskytnou se mohou různé kožní projevy, převážně generalizovaný rozeolární či makulopapulární exantém. Výše uvedené obtíže přetrvávají 3-6 dní.

Onemocnění označováno jako Západonilská encefalitida (WNED) postihuje výrazněji CNS. Virus infikuje šedou a bílou hmotu nervového systému²². Při postižení CNS se virus replikuje v nervových buňkách (neuronech), vyvolává zánětlivou lymfocytární infiltraci mozkového kmene a míchy. Infekce se dle místa a struktur postižení projeví jako meningoencefalitida (zánět mozku a mozkomíšních blan), encefalitida (zánět mozkové tkáně), meningitida (zánět mozkomíšních blan), myelitida (zánět míchy) či radikuloneuritida (zánět mozkových kořenů). Meningitida a encefalitida se objevuje u 15 % případů. V některých případech se může projevit doprovodná hepatitida (zánět jater), pankreatitida (zánět slinivky) nebo myokarditida (zánět srdečního svalu). U 50 % pacientů s encefalitou jsou popisovány poruchy bazálních ganglií, což jsou pomocná motorická koordinační ústředí uložená v hloubce

mozku. Stav se projeví třesem, záškuby a nekoordinovanými pohyby. Frekvence nervových příznaků je v rozsahu 0,5–1 %, s klesající četností jde o meningitidy, encefalitidy a radikuloneuritidy²³.

Odhaduje se, že přibližně 10 % případů neuroinvazivních forem má smrtelný (fatální) průběh. Míra úmrtnosti se zvyšuje s věkem - u osob mladších než 40 je pravděpodobnost 0,8% a u osob ve věku nad 60 let se udává 17%²⁴. Fatální průběh onemocnění je pozorován u pacientů s vícečetnými základními onemocněními a nemocných s potlačenou imunitou.

3.1 Změna klinického obrazu

V první polovině dvacátého století bylo onemocnění WNF považována za málo důležité, a to vzhledem k benigní patologii způsobené v endemických oblastech rovníkové Afriky¹. Zde mají některé populace Afričanů starší patnácti let z více než 80 % protilátky proti WNV⁷. V roce 1950 byl WNV zkoušen jako protinádorová terapie²⁵.

Při epidemiích v posledním desetiletí se ohniska výskytu WNV vyznačují zvýšeným podílem neurologického onemocnění u lidí i koní³. Nemoc nebývá provázena kožními projevy. V Evropě i Americe se u části nemocných, zvláště starších 50 let, po několika dnech trvajících horeček rozvíjí meningeální syndrom. Ve vzorku odebraného mozkomíšního moku je laboratorní nález jako při neinfekční meningitidě, bývá přítomna světloplachost, dvojité vidění, svalová slabost, nerovná chůze, třesy, obtížná řeč, dezorientace, poruchy vědomí až komatózní stav. Nález na elektroencefalografickém (EEG) vyšetření je typický pro zánět mozkové tkáně. V těžkých případech dochází k asymetrickým chabým obrnám, dále bývá porucha močení a defekace.

V souvislosti s neuroinfekcí jsou důležitá tato fakta - v roce 2010 bylo popsáno v Itálii jen 7 klinicky zjevných případů infekce WNV (4 WNF, 3 WNED), na začátku roku 2012 bylo ze stejné oblasti hlášeno 13 případů infekce WNV (3 WNF, 5 WNED, 5 RNA pozitivních dárců krve). V roce 2010 bylo z oblasti Volgograd hlášeno

413 případů (50 WNED, 5 úmrtí)⁸. V roce 2010 ve státě byl New York zjištěn vysoký počet WNED²⁵. V roce 2012 se podíl hlášených WNED zvýšil na 51 %²⁵. Při epidemiích hlášených v Řecku v letech 2010 a 2011 měly případy WNED 15% míru úmrtnosti⁸. V letech 2008 a 2011 byla v Itálii hlášena 16% míra úmrtnosti na WNED⁸. V USA se míra úmrtnosti pohybuje v rozmezí od 3 % do 15 %⁸. Celosvětově byl počet úmrtí v letech 1999-2001 významně nižší než v samotném roce 2002²⁰.

3.2 Rekonvalescence a následky

Rekonvalescence po proběhlé WNF je u dětí obvykle rychlá, u dospělých bývají dlouhodobé bolesti svalů a celková slabost. Po prodělání encefalitidy byly u věkově starších severoamerických pacientů ještě rok po onemocnění přítomny významné funkční poruchy např. únava u 67 %, poruchy paměti u 50 %, obtíže při chůzi u 49 %, svalová slabost u 44 % a deprese u 38 % rekonvalescentů¹⁶. Obdobné výsledky prezentuje i studie²⁶ z USA z roku 2006, ve které byly sledovány dlouhotrvající následky po prodělané infekci WNV. Pacienti, kteří byli vyšetřeni v průměru 13 měsíců od průkazu infekce WNV, udávali únavu, problémy s pamětí, velkou slabost, obtíže při vybavování slov a bolesti hlavy. Bylo zjištěno, že tyto obtíže byly přítomny jak po prodělání lehkých, tak závažných průběhů onemocnění.

Vědci stále nevědí, zda jsou tyto následky způsobeny přetrvávajícím poškozením v důsledku virové infekce, nebo vedlejším poškozením organismu imunitní reakcí²². Nedávné vědecké sdělení²⁴ popisuje detekci RNA WNV ve vzorcích moči u některých pacientů s neurologickými poruchami přibližně 6 let po počáteční infekci. Jinou studií byla RNA WNV identifikována v moči 20 % zotavujících se pacientů až 7 let po infekci². Tyto výsledky nasvědčují přetrvávající infekci WNV, která může přispívat k prodloužení následků²⁴. Nedávné studie popisují případy infekcí WNV, které se následně projevují onemocněním ledvin¹⁸. Vědci v roce 2012 uvedli, že známky dlouhodobého onemocnění ledvin vykazovalo 40 % vzorků moči zotavujících se pacientů²⁷.

4 Diagnostika

Na stanovení diagnózy se kromě zhodnocení celkového stavu a výsledků klinických vyšetření podílí šetření epidemiologických souvislostí. Pro diagnostiku jsou velmi důležité laboratorní testy. Kromě základních laboratorních metod, kterými jsou cytologické a biochemické vyšetření mozkomíšního moku, se používá metoda přímého (kultivace, PCR) a nepřímého průkazu mikroorganismů (stanovení specifických protilátek). Diagnostika onemocnění dále zahrnuje zobrazení mozku magnetickou rezonancí (magnetic resonance, magnetic resonance imaging, MR, MRI). K funkčnímu vyšetření elektrické aktivity CNS se používá EEG.

Průkazným laboratorním nálezem WNF je mírně zvýšená sedimentace červených krvinek, mírná zvýšení počtu bílých krvinek (leukocytóza), nižší počet lymfocytů (druh bílých krvinek) a snížení počtu červených krvinek (anémie). U neurologických případů jsou pozorovány změny v mozkomíšním moku podobné jiným virovým encefalitidám, jedná se o zvýšenou hladinu bílkoviny a zvýšení počtu lymfocytů. Je dokumentováno, že nález zvýšeného počtu plazmocytů (druh bílých krvinek podílející se na imunitní reakci - plasmocytóza) v likvoru (mozkomíšním moku) může upozornit na možnost onemocnění WNV. Ke správné diagnóze infekce CNS WNV může vést plasmocytóza. Na význam zvýšeného počtu plazmocytů v likvoru bylo v roce 2003 upozorněno u pacientů s WNED.

Specifické protilátky proti viru jsou detekovatelné v krvi během několika dnů po infekci. Spolu s výskytem prvních klinických příznaků končí virémie (výskyt viru v krvi) a dochází k tvorbě imunoneutralizačních protilátek. Objevují se od 5. dne po infekci. IgM se tvoří dříve než protilátky IgG a přetrvávají několik týdnů. Protilátky třídy IgG se tvoří později a mohou přetrvávat několik let. Ve specifické laboratorní diagnostice se nejvíce využívá nepřímého průkazu antiWNV. Sérologickou diagnostiku akutní infekce je třeba udělat prostřednictvím detekce IgM protilátek v séru anebo mozkomíšním moku. Jelikož protilátky IgM mohou v séru přetrvávat 12-16 měsíců, doporučuje se odebrat dva vzorky séra, které jsou odebrány jedna v akutní fázi

a druhá alespoň po 2 týdnech²⁸. Akutní infekci se projeví sérokonverzí IgM protilátek na IgG nebo čtyřnásobným zvýšením titru IgG protilátek ve druhém vzorku séra. V některých případech je možno protilátky nalézt dříve v mozkomíšním moku než v séru. Tento ukazatel svědčí pro prognózu WNED. Detekce protilátek se provádí sérologickými testy ELISA (z angl. Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), méně často jsou při průkazu protilátek využívány hemaglutinačně-inhibiční test (HIT), nepřímá imunofluorescence (IFA) a virus neutralizační test. Mohou být potvrzené konkrétnějšími sérologickými technikami.

Přestože je vyšetření protilátek citlivé, rychlé a relativně levné, je jeho interpretace ztížena řadou faktorů. Séroepidemiologické studie, které jsou zaměřené na konkrétní infekce vyvolané flaviviry, komplikuje zkřížená reakce nejen s dalšími příslušníky čeledi *Flaviviridae*, ale i s řadou jiných arbovirů. Nejvíce se jedná o protilátky proti klíšťové meningoencefalitidě, horečce dengue a japonské encefalitidě. Za účelem překonání tohoto nedostatku specifčnosti se na potvrzení pozitivních výsledků doporučuje metoda přímého průkazu viru. Virus se dokládá virologickými technikami (izolace viru), nebo molekulárními metodami (reverzní transkriptáza polymerázové řetězové reakce (RT PCR, NASBA)¹. Přímý průkaz viru z klinických materiálů je možno provést pouze v prvních dnech onemocnění. Nejvhodnější metodou je přímý průkaz virové RNA pomocí RT PCR, průkaz prováděný touto metodou je vysoce specifický. Nejvhodnějším materiálem pro průkaz specifické RNA je mozkomíšní mok²⁸. Tento test musí být proveden za podmínek biologické bezpečnosti stupně 3. biologického rizika (Biological Safety Level, BSL 3)⁵. Vzhledem k tomu je schopno běžně provádět tento konfirmační test pouze několik laboratoří v Evropě. Sérologický průkaz infekce WNV v ČR provádí Národní referenční laboratoř (NRL) pro arboviry Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě.

Do diferenciálně diagnostických analýz je nutné zařadit WNF nejen po návratu z rizikových částí světa, ale je potřeba mít na paměti případnou možnost autochtonní nákazy²⁸. Při pomýšlení na onemocnění WNF je třeba vyloučit mrtvici, bakteriální infekci CNS, zánět mozkomíšních kořenů typu Guillain-Barré²⁹.

5 Terapie

Léčba nekomplikované WNF většinou nevyžaduje zvláštní opatření. Hospitalizovat je však nutno pacienty s příznaky meningoencefalitidy a diagnosticky odlišit jiné příčiny neuroinfekcí. Léčba neurologického onemocnění způsobeného WNV je prakticky shodná s léčbou meningoencefalitid způsobených jinými příslušníky rodu *Flaviviridae* a jiných arbovirových infekcí. Neuroinvazivní formy vyžadují intenzivní péči, která je založena na podpoře dechu, nutriční intervenci a úpravě aktivity imunitního systému doplněním výživy tzv. imunonutrienty (arginin, nukleotidy, w-3 mastné kyseliny). Podávají se analgesedativa (léky na zklidnění a proti bolesti) a je potřeba zabránit vzniku sekundárních infekcí. Při závažném průběhu onemocnění je třeba kolem 50 % pacientů převést na umělou plicní ventilaci²⁹. Symptomatickou léčbou je především potlačení vzniku otoku mozku prostřednictvím kortikosteroidů či infuzí manitolu. Vznik křečí je řešen pomocí antikonvulziv (protikřečové léky). Specifická léčba není známa. Léčba ribavirinem (inhibitor RNA polymerázy) ve vysokých dávkách nebyla úspěšná⁵. Zkouší se kombinace ribavirinu s interferonem alfa-2b³⁰. Terapie těžkých forem nitrožilně aplikovaným imunoglobulinem s vysokým titrem protilátek byla taktéž bez efektu.

Velký výskyt WNF v USA stimuloval vývoj polyklonálních / monoklonálních protilátek a další imunomodulačních sloučenin pro léčebné použití²⁴.

6 Patogeneze

Komáři získávají infekci sáním na viremickém hostiteli³¹. Období od infekčního sání krve k infekčnosti, tzv. vnější inkubační doba, trvá 10 až 14 dnů v závislosti na teplotě³². Průběh virové infekce v populaci je multifaktoriální proces a závisí na celé řadě jak biotických, tak abiotických faktorů¹. WNV se replikuje v epiteliálních buňkách střeva komára, virus prochází přes střevní stěnu do hemolymfy a šíří se jejím prostřednictvím do slinných žláz a dalších orgánů³³. Když jsou slinné žlázy infikovány, virus se může přenést do nového hostitele pomocí slin vstříkovaných do kůže³². Kromě virových faktorů, které blokují imunitní odpověď hostitele, obsahují komáří sliny molekuly, které brání působení hemostázy, snižují tak zánět a mění imunitu hostitele³³. Předpokládá se, že po bodnutí komárem WNV infikuje keratinocyty a Langerhansovy buňky, které migrují do regionálních lymfatických uzlin, kde dochází k počáteční replikaci. WNV se po replikaci šíří systémově viscerálními orgány, jako jsou ledviny a slezina, kde probíhá druhé kolo replikace²⁴.

Po určité době, přibližně po jednom týdnu, virus vstupuje do CNS¹⁷. Neuropatogeneze WNV závisí na schopnosti viru vstoupit do CNS a účinně se šířit v cílových buňkách, včetně neuronů a myelinních buněk¹⁷. V závislosti na úrovni virémie může WNV procházet hematoencefalickou bariérou (BBB) do mozku³⁴. Mechanismus, kterým encefalitické flaviviry prochází přes BBB a vnikají do CNS dosud nebyl zcela objasněn². Některé studie³⁴ uvádějí jako systém vstupu do CNS narušení BBB. Jedna z prací předkládá několik mechanismů vstupu přes BBB do CNS:

- 1) infekce nebo pasivní transport přes endotel nebo chorioideální plexus epiteliálních buněk,
- 2) infekce čichových neuronů, které nejsou chráněné BBB, a šíření prostřednictvím čichového bulbu,
- 3) mechanismus "trojského koně", kterým je virus transportován infikovanými buňkami imunitního systému a přenesen do CNS,
- 4) přímý axonální retrográdní transport z infikovaných periferních neuronů.

U lidí je WNV nejčastěji detekována v neuronech mozkové kůry, thalamu, mozkového kmene, bazálních ganglií, mozečku a míše (hlavně v předních rozích), v některých případech byla infekce zjištěna v čichových buňkách a hippocampu. Synchronní výskyt viru na mnoha místech v mozku a míše naznačuje, že způsob vstupu do CNS je zřejmě krevní cestou³⁴.

Vrozená antivirová obrana je nezbytná pro kontrolu infekce WNV. Tato obrana zahrnuje produkci interferonu (IFN) typu I a prozánětlivých cytokinů, expresi antivirových genů a následnou aktivaci adaptivní imunitní odpovědi. Byly identifikovány hostitelské interakce WNV v rámci vrozené imunitní signalizační sítě, stejně jako antivirové efektorové geny, které řídí WNV infekci a protiopatření používané WNV k vyhnutí se vrozené imunitní obraně³³.

Jakmile je virus v CNS, encefalické flaviviry infikují neurony a způsobí vážné imunopatologie a apoptózu. Imunitní odpověď na periférii a v mozku je nezbytná pro kontrolu infekce WNV, stejně jako konkrétní reakce, které mohou být zapojeny do rozvoje encefalitidy. I přes normální reakce kvantitativních protilátek je WNV schopný vstoupit do mozku. Společné specifické protilátky WNV jsou odpovědné za snížení virózy a prevenci rozvoje závažného onemocnění. CD8 + T buňky mají významnou funkci při odstraňování infekce z tkání a předcházení virové perzistenci. Zánět je funkčně definován jako reakce na poranění a slouží k odstranění příčiny poškození a podpoře hojení tkání. Omezená regenerační schopnost neuronů CNS je zvláště náchylná k poškození zprostředkované zánětem. Dlouho se předpokládalo, že CNS je chráněn před rozsáhlou imunologickou odpovědí vzhledem k nevelkému počtu leukocytů. Nicméně, tento názor byl upraven na základě údajů, které ukazují, že periferní imunitní buňky mohou přejít neporušenou BBB. Infekce neuronů WNV vede k indukci několika cytokinů a chemokinů, které podporují leukocytární invazi do CNS a zánět neuronů. Nicméně, do jaké míry toto zanícení přispěje k patologii onemocnění, zůstává nejasné. Jak konkrétně je regulováno získávání leukocytů z krve do mozkového parenchymu, není zcela známo³⁴.

7 Epidemiologické charakteristiky

WNV je typický arbovirus. Arboviry jsou nejčastěji se vyskytující RNA virovou zoonózou. Název arbovirus je odvozen z anglického názvu ARthropodBORne VIRUS, virus přenášený z členovce. Tento název byl roku 1960 navržen W. C. Reevesem, lékařským entomologem z Kalifornie, a Světová zdravotnická organizace (WHO) ho doporučila k užívání.

7.1 Zdroj

Zdrojem nákazy jsou různí ptáci a zvířata. U ptáků probíhá virová replikace a dlouhodobá, bezpříznaková virémie. Předpokládá se, že zdrojem infekce pro člověka jsou velmi často vrabci. Jako další zdroje jsou uváděni vodní ptáci, havranovití, další méně častí jsou hlodavci, lichokopytníci, přežvýkavci (velbloudi) a netopýři.

7.2 Vektor

Primárními enzootickými vektory WNV jsou nejčastěji komáři. WNV byl izolován z více než 60 druhů komárů³⁵. Hlavním vektorem WNV, a to jak ve Starém světě, tak i v Americe, je považován komár rodu *Culex*³². Virus může být přenášen i komáry jiných rodů např. *Aedes* či *Anopheles* a také některými druhy klíšťat např. rodů *Hyalomma*, *Amblyomma*, *Ermacentor*¹.

V Africe je hlavním vektorem přenosu *Cx. univittatus*, v evropských oblastech se jedná zejména o *Cx. pipiens* a *Cx. modestus* a v Asii dominují *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. tritaeniorhynchus* a *Cx. vishui*. Při epidemiích v USA byly viry detekovány v komárech *Cx. pipiens* a *Aedes vexans*³⁶.

Hlavním WNV vektorem v Evropě je *Cx. pipiens complex*, pravděpodobným vektorem je *Cx. modestus* a *Cx. perexiguus*¹⁹. *Cx. modestus* je vektorem ve Francouzské Camargue. *Cx. pipiens* byl zdrojem nákaz zvířat a enzootický vektor v Rumunsku a v České republice, Itálii. Taktéž byl hlavním vektorem posledních ohnisek výskytu WNV v severní Itálii^{37,38}. Populace hlavních ruských vektorů WNV, *Cx. pipiens*

pipiens, *Cx. pipiens molestus*, a *Cx. modestus* mají některé genetické a ekologické odlišnosti od evropských a amerických populací^{6,32}.

V západních oblastech Spojených států při přenosu převládá *Cx. tarsalis*, *Cx. s. pipiens* a *Cx. s. quinquefasciatus* jsou uznávány jako sekundární vektor³⁶. V New Jersey a New Yorku jsou *Cx. s. pipiens* a *Cx. restuans* zodpovědní až za 80 % lidských nákaz. Na severovýchodě Spojených států je zdrojem nákaz *Cx. salinarius*³⁶. V okolí údolí Tennessee byly nejběžněji infikované druhy *Cx. erraticus* a *Cx. salinarius*. *Cx. salinarius* pravděpodobně hrál roli jako důležitý mostní vektor na severovýchodě Spojených států. *Cx. nigripalpus Theobald* je potenciálně významný vektor na jihu Spojených států. Středozápad Spojených států je spojen s *Cx. tarsalis Coquillett*³⁶. V oblasti severní Louisiany byl WNV detekován u *Cx. nigripalpus*, *Cx. salinarius*, *Cx. melanura*, *Cx. erraticus*³⁹.

Cx. bitaeniorhynchus, *Cx. vishnui*, *Cx. pseudovishnui*, *Cx. tritaeniorhynchus* a *Cx. quinquefasciatus* byly WNV pozitivní detekovány v Indii a Pákistánu¹⁹. *Cx. pipiens* přenáší WNV v několika místech na Jeju Island⁴⁰.

V České republice byl WNV (RabV) izolován z *Cx. pipiens* a *Aedes rossicus*⁴¹. Potenciální vektor WNV jihomoravských rybníků je *Cx. modestus*. Nedávné studie v ČR ukázaly, že *Cx. modestus* se v posledních letech rozšířil po celé ČR. *Cq. richiardii*, který byl považován za vektor během několika evropských epidemií WNV, je v České republice vzácný⁴². Relativně nízká hustota *Cq. richiardii* v ČR zabraňuje tomuto vektoru se stát významným pro přenos WNV ve střední Evropě⁴³.

7.2.1 Ekologické aspekty vektora

Každý druh členovce zabírá zvláštní ekologické niky v konkrétních podmínkách prostředí, jeho distribuce může být výrazně ovlivněna změnami teplot, srážek, vlhkosti, dostupností vody, pokrytí rostlinami atd¹. Změnou ekologických podmínek vlivem člověka nebo změnou klimatu, může docházet ke geografickému šíření vektorů.

Klimatické podmínky

Životní cyklus a biogeografie komárů, kteří jsou hlavními přenašeči po celém světě, jsou silně zprostředkovány klimatem^{44,40}. Vektor je velmi citlivý na změny teploty v obou vývojových stádiích⁴⁰. Na rozdíl od teploty, srážky mají u různých druhů rozdílné působení.

Zahraniční studie³⁷ prováděná v Itálii rovněž odhalila pozitivní korelaci množství *Cx. pipiens* samic s průměrnou teplotou a negativní se srážkami. Konkrétně průměrná týdenní teplota byla pozitivně korelována s četností *Cx. pipiens* samic. Zatímco kumulované srážky měly na četnost negativní dopad. Dále bylo zjištěno, že populace *Cx. pipiens* byla více ovlivněna nadměrným deštěm než *Aedes aegypti*. *Cx. pipiens* používá k rozmnožování dočasné vodní zdroje, to by mohlo vysvětlovat jeho větší závislost na množství srážek.

Práce¹¹ provedená v severní Americe potvrdila závislost zvýšené teploty životního prostředí na zkrácení času potřebného pro vývoj *Cx. tarsalis*. Zvýšená teplota urychluje komáří gonadotropní cyklus a ovlivňuje přežívání komárů. Práh teploty pro přežití *Cx. tarsalis* je obvykle mezi 14 a 35 °C^{11,45}. V tomto teplotním rozmezí je teplota v pozitivní korelaci s rychlostí vývoje vektora.

Dle závěrů studie⁴⁶ provedené v severovýchodní Americe je základní minimální hranice pro vývoj *Cx. pipiens* a *Cx. restuans* z vajec na dospělce 10 °C. Dále popisuje denní míru přežívání, která přibližně připomíná Gaussovu křivku. Míra přežívání byla závislá na průměrné teplotě během vývoje.

Vícenásobná regresní analýza⁴⁷ pro *Ae. albopictus* a *Cx. spp.*, předložila důkazy, že teplota ve srovnání se srážkami je silnější prediktor komářího výskytu. Dále práce popsala částečnou korelaci mezi teplotou a množstvím *Cx. spp.*. Zatímco teploty významně nekorelovaly s výskytem *Ae. Albopictu*.

Sezónní načasování srážek a jejich intenzita je také důležitým faktorem pro populaci vektorů. Déšť může snížit přežití larev pomocí proplachovacího efektu.

Dešťové srážky mohou mít dva hlavní dopady na dynamiku komáří populace: 1) zvýšení podpovrchové vlhkosti může zvýšit komáří letovou aktivitu a vyhledávání hostitele, 2) déšť může změnit četnost a typ vodních biotopů, které jsou k dispozici pro kladení vajec a následný vývoj. Rychlost vývoje závisí nejen na množství, ale také na teplotě vody, jak dokazuje jedna z prací. Larvy dospívají rychleji, pokud je dostatečná teplota vody⁴⁰.

Cx. pipiens se rozmnožuje ve znečištěných, eutrofních vodách. Silné srážky mohou propláchnout příkopy a odvodňovací kanály používané larvami. Experimentálně bylo prokázáno, že larvy *Cx. pipiens* byly po vystavení delším deštům ze svých stanovišť vyplaveny⁷. Vytrvalé srážky, které v průběhu sezóny propláchnou existující stanoviště, sníží populaci komárů v daném roce. V roce následujícím je počet komářích populací vyšší než v letech následujících po sezonách s průměrnými srážkami. Pozitivní korelace výskytu komárů se srážkami předešlého roku souvisí pravděpodobně s přetrvávajícími larválními stanovišti, které setrvají z předchozího vegetačního období⁴⁷. Úspěšnost přežití *Cx. pipiens* za suchých podmínek je dána tím, že pro larvální stanoviště využívá místa s vysokým obsahem organických látek a také umělých stanovišť, které nejsou závislé na srážkách⁴⁸.

Dle práce⁴⁶ provedené v severovýchodní Americe bylo závislé kladení vajec *Cx. pipiens* a *Cx. restuans* na indexu vlhkost.

Další zahraniční práce⁴⁴ popisuje závislost vývoje *Cx. quinquefasciatus* na vodě. Během larvální a pupální fáze vyžadují organismy pro přežití vodu. Larva se přesune do další fáze vývoje pouze za předpokladu, že je k dispozici dostatek vody.

Výskyt vektora v průběhu roku

Nezbytné pro šíření viru je sezónní dynamika vektora, která, jak dokazují mnohé studie, je ovlivněna globálními i místními klimatickými podmínkami.

Dospělí jedinci *Cx. spp.* jsou na východě Spojených států obvykle poprvé pozorováni v polovině července, distribuce výskytu komárů vrcholí na přelomu

července a srpna a pak opět v polovině září. Dospělci *Ae. albopictus* jsou na východě Spojených států zpravidla poprvé pozorováni na přelomu července a srpna a výskyt vyvrcholí v polovině září⁴⁷. Sedm let larvální surveillance uvádí, že *Cx. restuans* je v centru New Yorku hojný od června do července, zatímco *Cx. pipiens* je četný od července do srpna⁴⁶. K početnému výskytu *Cx. tarsalis* v Kanadských préríjních provinciích dochází v období od června do srpna, kulminuje v červenci a srpnu¹¹. Vrcholy v hojnosti *Cx. tarsalis* v Britské Kolumbii byly pozorovány již na konci června⁴⁵. Sezónní nejvyšší aktivita populace *Cx. modestus* ve střední Evropě je od začátku července do konce září⁴¹. Dynamika výskytu *Cx. pipiens* a *Cx. hortensis* v severní Itálii vykazovala podobný průběh³⁷. V oblasti Jeju Island se *Cx. pipiens* poprvé objevil v dubnu a jeho četnost kolísala od května do listopadu, s vrcholem v červenci⁴⁰.

Biotop vektora

Ve výskytu druhů komárů jsou známé rozdíly. Měštští vektorů jsou velmi přizpůsobiví a jsou schopni využívat celou řadu vodních biotopů, vytvořených v reakci na období sucha (skladování vody apod.)⁴⁸. Tyto umělá stanoviště přispívají k zachování druhů přenašečů. Ve vysoce urbanizovaném prostředí může rozmnožování v umělých stanovištích tvořit až 93 %⁴⁷. Ve venkovských ekosystémech probíhá množení komárů převážně v ekologicky bohatých vodách umělých stanovišť⁷. Mnoho vhodných prostředí pro komáří druhy, které nejsou běžné v zemědělských oblastech ani v městském prostředí, se pravděpodobně vyskytuje podél potoků a řek, hraničních lesů, niv a mokřadů⁴⁹.

Zvýšené množství *Cx. spp.* bývá silně spojeno s městskými biotopy. Byla prokázána výrazná pozitivní korelace výskytu *Cx. spp.* s frekvencí staveb, zadržujících dešťovou vodu a taktéž s konstrukcemi na odvod dešťové vody. Systém odvodu dešťových vod kombinovaný s kanalizačním systémem je pro *Cx. spp.* velmi atraktivní, zejména vzhledem k periodickému přílivu organického materiálu⁴⁷. Zvláště nízko položená špatně odvodněná místa, městské bazény, příkopy, čističky odpadních vod a umělé nádrže kolem domů poskytují dobrá místa pro vývoj larev *Cx. spp.*⁷.

Cx. pipiens je považován za městský druh, většina stanovišť je uvnitř nebo v blízkosti obytných a komerčních ploch⁴⁹. *Cx. pipiens* se rozmnožuje ve znečištěných, eutrofních vodách a je úspěšný zejména v organicky bohatých vodách umělých nádrží⁶.

Aedes albopictus nebývá spojován ve zvýšeném množství s městskými a příměstskými oblastmi. Výskyt *Aedes albopictus* nebyl spojen s frekvencí staveb zadržující dešťovou vodu nebo s procentem pokrytí plochy stavbami či zelení⁴⁷.

Cx. tarsalis je zřídka spojena s obývanými nebo městskými oblastmi¹⁰. *Cx. tarsalis* dává přednost travním porostům a zemědělským oblastem⁷. Hojnost *Cx. tarsalis* se signifikantně neliší mezi mokřady a zemědělsky využívanou půdou⁵⁰, přesto je často spojován se zavlažovanými zemědělskými půdami⁴⁹. Stojaté vody s vysokým obsahem organických látek jsou velmi oblíbená pro kladení vajíček³⁶.

Cx. quinquefasciatus preferuje vodní stanoviště s vysokým obsahem organických látek, ta se často vyskytují v městských stanovištích či v okolí lidských obydlí^{1,10}.

Cx. modestus je významně spojen s rákosy mokřadů a okolními biotopy. Při kladení vajíček dává přednost rybníkům⁴².

Cx. erythrorhax se vyvíjí v trvalých a polotrvalých močálech s hustými porosty orobince³⁶.

Cx. hortensis pro rozmnožování používá trvalých a dočasných vodních zdrojů³⁷. Larvy se vyskytují v čerstvých, slunných i stojatých vodách, včetně lomů, kaluží, v říčních korytech, v březích rybníků, v odpadních trubkách, v rýžových polích, studních, ve vodách zaplavených luk nebo bažin.

Cx. nigripalpus využívají zavlažované zemědělské krajiny, mokřady a některé městské lokality⁵¹.

Cx. restuans využívá širokou škálu stanovišť. Pozitivně koreluje s městskou infrastrukturou⁷. Larvy se nacházejí v široké řadě vodního prostředí, jako jsou příkopy, kaluže při tocích, lesní tůně i umělé nádrže.

7.3 Zvířecí hostitelé

7.3.1 Rezervoár

Komáři šíří virus mezi ptáky, u nichž se virus amplifikuje, a savci, kteří jsou zpravidla koncovými hostiteli. Přírodním rezervoárem jsou volně žijící ptáci¹. Je známo více než 150 ptačích druhů, které jsou nositeli WNV⁵. Nedávné studie ve Spojených státech našli infekci u více než 1300 druhů ptáků⁶. Z ptačích druhů Starého světa byl virus izolován hlavně u vran, holubů, kachen, čírek, racků, špačků, vodoušů, lysek, volavek, ibisů, čápů a hus. Ptačí druhy a populace se mohou lišit v náchylnosti k infekci⁷ a u mnoho z nich se objeví vysoké virové titry v séru během akutní fáze nákazy, hlavně u pěvců (vrabci, vrány)¹⁷. Mnoho členů z řádu pěvců jsou synantropní, čímž přispívají k městskému cyklu infekce⁶. Volně žijící vodní ptáci, zejména kormoránovití a čápoovití, jsou elementy enzootického cyklu⁶. Ostatní domácí ptáci např. kur a houbovití, přestože jsou náchylní k infekci, neonemocní, a proto jsou často používány jako sentinelový organismus pro dozor nad onemocněním. Předpokládá se existence enzootického cyklu u obojživelníků, protože komáři infikují i žáby (*Rana ridibunda*)¹.

U rezervoárových hostitelů trvá viremická fáze obvykle více než 5-7 dnů. Během časového okna, 3-7 dnů po infekci WNV, jsou tyto titry dostatečně vysoké pro přenos viru do krev sajícího komára¹⁷. Doba trvání a úroveň virémie závisí na infikovaném druhu. Inkubační doba je u ptáků, do projevu prvních příznaků, zhruba 10-14 dnů. Náchylnost k onemocnění byla u ptáků považována za nedůležitou do nedávné epidemie onemocnění způsobené WNV v Severní Americe¹. Ptáci v Africe, Evropě a na Středním východě hynou jen zřídka²². V severní Americe je mnohem větší pravděpodobnost, že ptactvo po nakažení onemocní a uhynie. Byla zde pozorována hromadná mortalita místních ptáků², především vran amerických a v menší míře drozda stěhovavého a vrabce domácího³⁵. Náhlý výskyt WNV v New Yorku byl odhalen

na základě úhynu tisíců ptáků, a to jak volně žijících, tak i exotických v zoologických zahradách v Bronxu a Queens, jejichž pitva potvrdila hemoragickou encefalitidu s myokarditidou⁴⁷.

Populace ptáků jsou schopny vytvořit kolektivní imunitu. Kromě toho, imunní dospělí jedinci přenášejí přes vajíčka imunitu na mláďata, čímž zabrání dalšímu přenosu nebo alespoň vyvolají zpoždění přenosu viru¹⁹.

7.3.2 Možní zesilující hostitelé

Existuje stále více důkazů, že savci a plazi mohou sloužit jako příslušní zesilující hostitelé WNV. Sérologické důkazy naznačují existenci mnoha druhů obratlovců, kteří se mohou potenciálně podílet na udržování nebo zesilování viru. U velkých divokých šelem a všežravců byly nalezeny pozitivní protilátky proti infekci WNV⁵². Jak ukázaly studie, dostatečnou virémii k nákaze komárů může vyvinout řada drobných savců.

Virémii v úrovni, při které je možné nakažení komárů mohou vyvinout některé druhy hlodavců včetně veverky liščí, veverky popelavé a čipmanka východního. Zejména veverky mohou být důležité při přenosu WNV v městském prostředí⁵¹. V severní Austrálii byla prokázána dostatečně vyvinutá virémie k nákaze komárů u prasat a kaloně vábivého⁵¹. Mírně zvýšená virémie byla prokázána do 10 dní po infekci u experimentálně infikovaného mývala severního⁵¹. Reiter et al. (2010, s 3) uvádí, že virémie u savců, která je nedostatečná k infikování komárů, může přispět k nakažení mrchožroutů a dravců³².

Studie⁵³ provedená na krokodýlech a aligátorech, odhalila jako zdroj nákazy WNV těchto zvířat zkrmované koňské maso, které bylo infikováno. Studie potvrdila hypotézu, že několik druhů plazů je náchylných k infekci WNV. Virus byl zodpovědný za významnou úmrtnost aligátorů (*Alligator mississippiensis*), kteří byli chováni v zajetí v Gruzii v průběhu jednotlivých epidemií v letech 2001 a 2002. Surveillance WNV, provedená u krokodýla Moreletova v Campeche (Mexiko) v roce 2007, testovala přítomnost protilátek proti WNV u 62 krokodýlů. Protilátky proti WNV byly detekovány u 41 % krokodýlů volně žijících a u 30 % chovaných v zajetí; celková

prevalence protilátek byla 35 %³². Vysoká prevalence WNV protilátek (70 %) byla také zjištěna v Izraeli v roce 2002 u zdravých krokodýlů nilských chovaných v zajetí⁵³.

Detekce WNV u různých živočišných druhů upozorňuje, že rozmanitost hostitelů infikovaných WNV je vysoká. Bude třeba vyšetřováním nových hostitelů plně zhodnotit potenciál alternativních přenosových cyklů, které by mohly sloužit k udržení cirkulace viru v průběhu klimatických anomálií⁵².

7.3.3 Slepí hostitelé

Savci a plazy, kteří jsou nakaženi WNV, jsou na vznik onemocnění citliví v různé míře¹. WNV postihuje volně žijících živočichy, domácí zvířata a lidi. Člověk a další savci, kteří vyvíjejí krátkodobou virémii pouze v nízkém titru, nejsou zdrojem nákazy.

Koně nejsou vzhledem k nízké a přechodné virémii považovány za důležitý článek v přirozeném cyklu přenosu⁶. Koně jsou považováni za slepé hostitele, přesto jsou citliví na meningoencefalitidu vyvolanou WNV² a manifestní průběh je u nich podobný lidskému. U koní je pravděpodobnost vzniku závažných příznaků větší než u lidí a smrtnost dosahuje 40 %. Hlavní klinické příznaky u infikovaných koní jsou vysoká horečka, ataxie a encefalitida¹⁷. Míra klinického propuknutí u koní experimentální nebo přirozenou infekcí je asi 10%, zatímco asi 90 % případů je asymptomatických. Těžké případy onemocnění způsobené WNV u koní nepřevládají u starších jedinců, podobně jako je tomu u lidí¹. Pozorování koňských populací je proto užitečné pro předvídaní infekcí WNV v lidských populacích¹⁷.

7.4 Cesta přenosu

Přenos WNV je určen řadou faktorů: přítomností vnímavých ptačích hostitelů, infikovaných (viremických) ptáků a místních (zesilovacích) ptáků; početností vhodných vektorů, kteří sají na ptačích a mostních vektorů, které se živí jak na ptačích, tak na lidech⁵⁴.

K přežití viru v přírodě je nezbytná interakce mezi členovci a obratlovci⁷. Přenos z členovce na obratlovce je biologický. K nákaze členovců dochází sáním krve

infikovaných zvířat v průběhu virémie. Původce onemocnění využívá tělo členovce k aktivnímu pomnožení, které je pro další přežití nezbytné, vektor se stává celoživotně infekčním. Vertikální přenos nákazy u členovců je klíčovým momentem; v mírném pásmu způsobuje přetrvání infekce a vede k obnovení cirkulace na jaře¹⁷.

Životní cyklus virů je vázán na existenci přírodních ohnisek⁵⁵. Přírodní ohnisko je přírodní celek s určitým složením fauny a flóry, umožňující život a přítomnost původce, rezervoárových zvířat a přenašečů. Virus zde cirkuluje bez závislosti na člověku, kterého může příležitostně infikovat.

K nákaze u lidí dochází nejčastěji po bodnutí infikovaným hmyzem. Prokázán byl i přenos infekce transplacentárně z matky na plod a na novorozence mateřským mlékem. Popsány jsou i profesionální nákazy, ke kterým dochází v laboratořích, většinou přes řezy nebo vpichy s kontaminovaným materiálem¹. Je doložen i přenos infekce iatrogenně (transfuze, transplantace)¹.

Virus Západonilské horečky není přenášen z člověka na člověka nebo ze zvířete na člověka běžným kontaktem. Je třeba dodržovat bezpečnostní opatření při péči o koně podezřelého z nákazy tímto virem⁵⁶.

Virus není přenášen manipulací s živými či mrtvými infikovanými ptáky. Při manipulaci s uhynulým ptákem by se člověk měl vyhnout kontaktu holou rukou⁵⁶.

7.5 Nakažlivost

Nakažlivost u komárů trvá od nakažení se od infikovaného obratlovce, který vyvolal dostatečně vysokou viremii k nakažení daného komára.

7.6 Vnímavost

Vnímavost k nákaze je všeobecná, zvyšuje se u osob nad 50 let, u mužů a při poruchách imunity.

7.7 Trendy výskytu

Od poloviny 1990 se objevily tři epidemiologické trendy, pokud jde o WNV:

1. zvýšená frekvence ohnisek u lidí a koní,
2. nárůst hlášených případů neuroinvasivních onemocnění u lidí,
3. vysoké míry usmrčených ptáků shodné s lidskými epidemiemi, zejména v USA a Izraeli².

Od roku 1996 byla hlášena závažná ohniska s vysokým výskytem neurologických onemocnění a úmrtí v Maroku, Tunisku, Itálii, Rusku, Izraeli a ve Francii. V roce 1998 byl neuroinvasivní kmen WNV linie 1 izolován v Izraeli, a v roce 1999 došlo k introdukci tohoto kmene do USA. Za posledních 15 let stále více ohnisek WNV bývá spojeno s výskytem neuroinvasivnějších kmenů a vyšším počtem lidských úmrtí³.

V některých případech již nejsou detekovány staré kmeny WNV poté, co způsobily výskyt infekce, a bývají nahrazeny novými kmeny. To by mohlo být způsobeno vhodnými ekologickými podmínkami, které zvýhodňují určitý virový kmen v konkrétní níže³⁵. V USA se virus po introdukci přizpůsobil rychleji a efektivněji, než původní kmen infikující místní vektory. Očekává se rychlá koevoluce mezi WNV a jeho hostiteli, vektory a jinými patogeny, a to na základě vzájemných fitness dopadů a v mnoha případech na nedostatku sdílené evoluční historie²⁵.

7.7.1 Výskyt viru v souvislosti se změnou klimatu

Nižší počet WNF případů u lidí v severní Evropě, v porovnání s jižní Evropou, může být pravděpodobně přičítán vlivu klimatu⁷. Potenciál pro přenos WNV pomocí vektorů na východě Spojených států se taktéž vztahuje ke klimatickým faktorům⁴⁷. Přenos WNV se reguluje především srážkami a teplotou. Klima ovlivňuje mnoho aspektů přenosu WNV, včetně vektorové hojnosti, četnosti sání krve a přežívání vektorů, stejně tak ovlivňuje virovou replikaci v komárech²⁵. Incidence WNF v mírném podnebí souvisí především s průběhem počasí⁶.

Klíčovými klimatickými faktory jsou zvýšená okolní teplota a rozsáhlejší změny klimatu⁷. Teplota hraje důležitou roli v tempu růstu populací vektorů, intervalem mezi sáním krve, míře virové replikace a přenosu WNV. Teplota prostředí ovlivňuje délku

vnější inkubace, sezónní fenologii komárů, hostitelských populací a geografické rozdíly v incidenci lidských případů. Teplota byla významně spojena s počtem infekcí u lidí, koní nebo ptáků⁵⁵. Byly pozorovány významné pozitivní korelace mezi počtem případů WNF a teplotním gradientem zeměpisné šířky. Pokles incidence WNF následujícího roku je spojen se studenými zimami⁶.

Vliv srážek na přenos WNV a šíření WNF je složitější a méně dobře prostudován^{7,6}. Počet infekcí u lidí, koní a ptáků byl dle studií se srážkami výrazně negativně spojen⁵⁵. Zkoumání úlohy proměnných klimatu dospělo k tomu, že WNV může proliferovat při nízkých hodnotách srážek. WNV se tedy šíří především za sucha⁴⁷. Podobné výsledky byly získány v jiných studiích, které potvrdily pozitivní vliv období sucha na cirkulaci WNV³⁸. Sucha pravděpodobně snižují počet predátorů komárů, což vede ke zvýšení jejich počtu. Suchem indukované zvýšené počty komárů v konečném důsledku zvyšují riziko přenosu WNV z ptáků na člověka⁵⁷. Rekolonizace stanovišť, následující po suchém období a rozptýlení infikovaných komárů a ptáků, mohou částečně způsobit pozorované časové prodlevy mezi suchem a epidemiemi WNV⁴⁸.

Přenos WNV se prudce zrychluje s rostoucí teplotou. Zvýšené sezónní a roční teploty vedou ke zvýšení účinnosti enzootického přenosu a v konečném důsledku vedou ke zvýšení rizika onemocnění. Studie⁷ provedená v Evropě a západní Asii popisuje, že virus je schopen replikace v širokém rozsahu teplot, od 14 °C do 45 °C. Replikační cyklus je dokončen rychleji v komárech při vyšších teplotách. Při 30 °C byl virus získán již za čtyři dny po podání infikované krve, zatímco při teplotě 18 °C nebyla infekce zjištěna ani po 25 dnech. Práce provedená na území Ruska podporuje danou teorii, že vyšší teplota vede k zintenzivnění i rozšíření infekce WNV. Autory⁶ zkoumaná vnější inkubační doba WNV se snížila z 30 dnů při teplotě 18 °C na 10 dnů při 26 °C. Studie WNF případů ve Spojených státech ukázaly, že nárůstem průměrné maximální týdenní teploty o 5 °C souvisí s 32% až 50% zvýšením výskytu WNV⁶. Prací byla prokázána jasná souvislost mezi extrémním horkem a intenzitou ohniska nákazy u lidí⁷.

Neobvykle mírná zima, časné jaro a horké léto bylo na mnoha místech dáno do souvislosti s urychleným šířením WNV na lidi²². Byl také prokázán vztah vysokého výskytu WNF s následujícími rizikovými faktory: malé množství srážek v červnu a červenci a vysokými teplotami v červenci a srpnu. Suché jaro následováno vlhkým létem také přispívá k šíření infekce, i když v menší míře⁶. V Rusku, stejně jako Rumunsku jsou první lidské případy WNF ovlivněny vyššími teplotami v květnu až červnu⁶. První pozitivní komáří populace v jižním Okanagan údolí byly zjištěny týden po vydatných deštích, bezprostředně po období extrémního tepla, během kterého noční teploty byly výrazně nad hranicí 14,3 °C⁴⁵.

Studie⁶ zkoumající případy výskytu WNF v Rusku uvádí, že v roce 1999 v jižním Rusku (Volgograd) došlo k velkému propuknutí WNF (> 500 případů). V roce 2000-2004 se výskyt WNF postupně snížil až na nulu a k novému výskytu došlo v roce 2007. Analýzou historických klimatických dat ve Volgogradě od roku 1900 do současnosti bylo prokázáno, že celkově byly roky 1999 a 2007, vzhledem k velmi mírné zimě a horkému létu, nejteplejší. K propuknutí WNF došlo v letech, kdy průměrná teplota v květnu až červnu překročila 21 °C. Teplota v zimě působila jako limitující faktor. Zvýšená incidence byla spojena s vyššími teplotami v prosinci předchozího roku. Při poklesu pod -5 °C byla incidence WNF nižší. Ze závěrů studie vyplývá, že nárůst incidence většinou souvisí s vyššími průměrnými teplotami v květnu nebo červnu (nad 16,5°C) a v menší míře s vysokými teplotami v srpnu až září.

Práce⁵⁰ zabývající se modelováním závislosti míry infekce WNV na početnosti *Cx. tarsalis* na území kanadských prérií, potvrzuje výše zmíněné. Vyšší střední teplota a zvýšený čas zpoždění průměrné teploty byly spojeny se zvýšeným počtem *Cx. tarsalis* a vyšší mírou infekce WNV. Zvýšení srážek bylo spojeno s vyšším množstvím *Cx. tarsalis* a nižší mírou WNV infekce. Nejrizikovější oblasti měly, s ohledem na výskyt WNF, nejnižší hodnoty srážek.

Studie⁵⁸ probíhající v New Jersey se zaměřila na vliv meziročního kolísání teplot a srážek na sezónní hojnost komárů, výskyt WNV na severovýchodě Spojených států a na schopnost místní komáří populace udržovat a přenášet WNV. Byl

potvrzen pozitivní vliv sucha na princip amplifikace WNV; časné zvýšení sezónní teploty a úbytek srážek byly silně korelovány s nárůstem roční míry infekce WNV. Brzké zvýšení teploty v červnu až červenci a snížení srážek, spojených se vznikem sucha, podporuje přenos na epizootické úrovni v rámci *Cx. spp.* prostřednictvím dichotomického procesu. Tento proces se točí kolem pozitivních dopadů zvýšené teploty a snížení srážek během primárního zesílení a přenosu fází WNV.

Dle práce⁵⁹, studující prevalenci WNV u *Culex* v New Yorku, jsou vlhké zimní, teplé a vlhké jarní a suché letní podmínky spojeny se zvýšenou lokální prevalencí WNV u *Culex* v létě a na podzim. Tyto podmínky podporují i enzootický přenos WNV mezi *Culex* vektory a rezervoárovými hostiteli.

8 Charakteristika surveillance

Pojem surveillance byl definován prof. MUDr. K. Raškou, DrSc: „*Surveillance znamená epidemiologické studium nemoci jako dynamického procesu, včetně ekologie původce nákazy, hostitele, rezervoárů a vektorů nákazy, jakož i studium zevních podmínek prostředí a všech mechanismů, které se uplatňují v procesu šíření nákazy v rozsahu, ve kterém se daná nákaza vyskytuje*“

Pod pojmem epidemiologická surveillance se rozumí získávání všech dostupných informací o procesu šíření nemoci, sledování všech podmínek, které tento proces ovlivňují. Surveillance by měla zahrnovat komplexní přístup a soustavnost v získávání dat. Cílem surveillance je vytvoření systému funkčních opatření k omezení nebo likvidaci této nákazy⁶⁰.

Prvky epidemiologické surveillance :

- Zdroje informací
- Hlášení nemocnosti a úmrtnosti
- Shromažďování klinických poznatků
- Epidemiologické šetření
- Laboratorní vyšetření
- Epidemiologické studie
- Ekologické studie a spolupráce s veterinární službou
- Znalost životního a pracovního prostředí, sledování podmínek zevního prostředí
- Sledování demografických údajů (přehled o charakteru a složení obyvatelstva)

Surveillance se dělí na:

- Rutinní: obvyklý systematický sběr specifikovaných dat k monitorování nemoci
- Aktivní: pátrání po případech zúčastněných v systému
- Pasivní: vyčkávání hlášení od účastníků systému
- Case-based: sběr specifických dat každého případu
- Community: během epidemií, definice případu založena na syndromu
- Vystupňovaná: sběr dalších specifických dat k rutinní surveillance
- Zesílená: přechod od pasivního systému k aktivnímu systému na omezenou dobu, např. během epidemie
- Nemocniční: notifikační proces, identifikace pacienta v nemocnici
- Laboratorní: identifikace, izolace agens v laboratoři
- Sentinelová: indikátory dat pro zbytek populace (nemoc, trend)

Účinnost surveillance závisí na její senzitivitě, na schopnosti systému detekovat každého nemocného a na specifitě. Dále na způsobilosti systému detekovat každého „neonemocnělého“ a odhalit falešně pozitivní nemocné.

Legislativní rámec surveillance v EU

- Rozhodnutí EP a Rady 2119/1998 o zavedení evropské surveillance infekčních nemocí
- Rozhodnutí Komise č. 542/2003 – seznam sledovaných nemocí
- Rozhodnutí Komise č. 534/2003 – definice případů nemocí („case definice“)

Legislativní rámec surveillance v ČR

- Zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví
- Vyhláška MZ č. 473/2008 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce
- Vyhláška MZ č. 275/2010 Sb., kterou se mění vyhláška 473/2008 Sb.
- Vyhláška MZ č. 233/2011 Sb., kterou se mění vyhláška č. 473/2008 Sb., ve znění vyhlášky č. 275/2010 Sb.

- Vyhláška MZ č. 306/2012 Sb. o podmínkách předcházení vzniku a šíření inf. onemocnění a o hyg. požadavcích na provoz zdr. zařízení a ústavů sociální péče
- Vyhláška MZ č. 537/2006 Sb., o očkování proti infekčním nemocem
- Vyhláška MZ č. 65/2009 Sb., kterou se mění vyhláška č. 537/2006 Sb.
- Vyhláška MZ č. 443/2009 Sb., kterou se mění vyhláška č. 537/2006 Sb., ve znění vyhlášky č. 65/2009 Sb.
- Vyhláška č. 299/2010 Sb., kterou se mění vyhláška č. 537/2006 Sb., ve znění pozdějších předpisů

Surveillance infekčních onemocnění v ČR

Obecné principy:

- Pravidelné hlášení – sporadické výskyty, hromadné výskyty
- Epidemiologické šetření
- Kontroly proočkovanosti
- Izolace na infekčních odděleních, povinná léčba
- Nepovinné součásti – např. sérologické studie

Národní programy surveillance pro vybraná onemocnění:

- Definice – možný, pravděpodobný, potvrzený případ
- Importovaný nebo domácí (nezavlečený) případ
- Laboratorní testy
- Opatření u sporadických případů
- Opatření při epidemiích

8.1 Surveillance Západonilské horečky

Surveillance WNF by měla zahrnovat:

1. sledování populace vektorů a její promořenost WNV
2. testování volně žijících obratlovců na protilátky k WNV
3. sentinelové metody vyšetřování domácích ptáků (např. kuřata)
4. vyšetřování koní na onemocnění WNF
5. vyšetřování lidské populace na WNF

Surveillance WNV v USA zahrnuje několik úrovní:

- lidé: případy onemocnění, séroprevalence populace, screening dárců krve
- ptáci
- koně: sentinelová zvířata – indikátory výskytu viru
- komáři: měřítko intenzity infekce⁴⁷

Surveillance, která je cílená na WNV, by měla především zahrnovat testování bezobratlých vektorů a hostitelských obratlovců³⁸ v rizikových oblastech. Zjišťování virů u komárů rodu *Culex* a volně žijících ptáků; je důležitou součástí veřejných systémů zdravotní surveillance, které umožňují analýzu intenzity a sezónnosti virové cirkulace v životním prostředí³⁸. Ostatní ptáci, jako jsou kuřata a holuby, kteří jsou náchylní k infekci, ale nepřenášejí virus, jsou často používány jako sentinelová zvířata pro dozor nad nemocí¹. Pro lepší analýzu je surveillance posílena v oblastech, kde se vyskytly případy onemocnění koní. Pozorování koňských populací je užitečné pro předvídání infekcí WNV v lidských populacích¹⁷. Aktivní surveillance WNV infekcí u koní zahrnuje testování koňských odebraných vzorků na WNV. Surveillance by dále měla zahrnovat pasivní sledování podezřelých lidských případů, zejm. aseptické encefalitidy a / nebo meningitidy nejasné etiologie a aktivní dohled nad infekcemi WNV u pacientů s potenciálním rizikem kontaktu s vektorem³⁵.

Surveillance na začátku sezóny může pomoci zaměřit následné surveillance ve vysoce rizikových oblastech, které by mohly být ložisky přenosu později v sezóně. Data surveillance předčasné komáří sezóny mohou být použity ke stanovení hladin aktivity WNV v pozdním létě, kdy dochází k většině lidských infekcí WNV. Brzký výskyt zvýšeného počtu úmrtí ptáků nebo WNV infekčních komárů může předpovídat riziko vzniku onemocnění lidí WNV⁶¹. Analýza intenzity a sezónnosti virové cirkulace v životním prostředí poskytuje data pro včasné plánování opatření. V ideálním případě by kroky ke snižování komárů měly být zahájeny dříve, než dojde k přenosu nemoci na člověka a domácí zvířata¹. K preventivním opatřením náleží např. screening dárců krve.

V oblasti, kde je prováděna surveillance, je darování krve a orgánů podmíněno kontrolou danou legislativou³⁵. V postižených oblastech se provádí screening krve a krvetvorných kmenových buněk dárců amplifikačním testem na přítomnost WNV nukleových kyselin. Darování krve, tkání a orgánů, cestujícími z postižených oblastí musí být odloženo o 28 dnů, a to počínaje dnem, kterým opustili postiženou oblast³⁵. V Austrálii jsou, vzhledem k absenci schváleného screeningového testu krve pro WNV, dárči vyloučeny z darování čerstvých krevních složek po dobu čtyř týdnů po opuštění endemické země (včetně USA a Kanady); plazma však může být odebrána i během této doby⁵¹. Krevní banky testují krev dárců na přítomnost WNV, což umožňuje přesné sledování WNV aktivity v populaci⁵¹.

Snížení WNV onemocnění vedlo ke snížení výzkumu a snížení finančních prostředků z agentur veřejného zdraví pro WNV, dále vedlo i ke snížení testování na WNV u poskytovatelů zdravotní péče. V méně rozvinutých zemích se surveillance provádí méně²⁵.

8.1.1 Historie surveillance Západonilské horečky

První entomologická, veterinární a lidská surveillance infekce WNV byly provedeny v Itálii v roce 1998 po prvním zjištění viru³⁵. Systém národní surveillance pro WNV byl v Itálii zaveden roku 2001. Byl založen na pravidelném testování ověřovacích kuřat, na sérologickém testování koní a entomologickém dozoru v dané řadě "rizikových oblastí", tj. v mokřadech, které byly považovány za velmi rizikové z důvodu výskytu významného počtu druhů vodních stěhovavých ptáků⁴¹. V roce 2002 byla zahájena surveillance v západní části Spojených států detekcí WNV u osmi druhů *Culex*³⁶. V roce 2004 byla v Britské Kolumbii zahájena pasivní surveillance mrtvých krkavcovitých ptáků. Zde zahrnuje 1) přímé hlášení veřejnosti o výskytu uhynulých ptáků a/ nebo 2) sběr uhynulých krkavcovitých, které jsou poté předloženy k testování⁴⁵. V roce 2007 byl plán surveillance v Itálii obohacen o ministerskou vyhlášku, která stanovila systém rychlého varování³⁵. Národní plán pro lidskou surveillance v Itálii definuje „oblast výskytu viru“, tj. místo, kde v minulých letech nebo v období surveillance byla infekce WNV laboratorně potvrzená u koní nebo lidí. Dále

toto sdělení definuje "oblasti Surveillance mimo oblasti výskytu viru", tj. území rozšířené na okruh 20 km kolem případů vyskytujících se v nejbližších částech³⁵.

8.1.2 Identifikace rizikových oblastí v Evropě

Kvalita údajů v rámci Evropy týkajících se cirkulace WNV mezi vektorovými ptáky a lidmi se liší napříč zeměmi. V současné době neexistuje žádná společná kontrolní a zdravotní politika pro uplatňování kontrolních opatření v případě vypuknutí nákazy. Přesné definice cirkulace viru u vektorů a hostitelských obratlovců, včetně člověka, v určitých zeměpisných oblastech jsou zásadní pro definici rizika přenosu WNV prostřednictvím komárů, krevní transfuze a dárcovstvím orgánů.

Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC) v roce 2010 představilo seznam oblastí postižených WNV. Koncem každého roku vydává aktualizovanou mapu daného roku. Mapy jsou na základě dat neustále zpětně aktualizovány (k dispozici na http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west_nile_fever/west-nile-fever-maps/pages/index.aspx). Na základě těchto rizikových map a dat shromážděných při místním dozoru by měla být nyní každá evropská země schopna definovat oblasti a období pro realizaci kontrolních opatření vektoru a laboratorního screeningu dárcovství krve a orgánů, aby se snížilo riziko přenosu WNV na člověka.

Pomocí geografických informačních systémů je možno modelovat různé proměnné a pomocí rozdílných scénářů předpovídat početnost primárního vektoru, hostitelských organismů a ve výsledku výskyt WNV a pravděpodobnost epidemií jím způsobených. Modelování se zabývá dopady klimatických parametrů (teplota, relativní vlhkost, srážky) a ostatních environmentálních vlivů (migrace ptáků, využití půdy) na přenos WNV. Výsledky modelování se v některých zemích, které toto modelování používají, berou v úvahu při hodnocení rizika šíření choroby v následujících letech. Sledování prekurzorů epidemie WNF, jako například větší teplotní odchylky ve vysoce rizikových oblastech, může být použito pro spuštění včasných protivektorových opatření, vzdělávacích kampaní a osvět⁷. Studie, které používají prediktivní modely na základě zaznamenaných údajů, známých biologických prahových hodnot a nejlepších dostupných klimatických scénářů pokrývající celou řadu výsledků,

poskytnou důležité informace pro profesionály v oblasti veřejného zdraví za účelem stanovení priorit pro zmírnění dopadů a rozšíření WNF v blízké budoucnosti¹¹. Modelovací programy, které se opírají o výsledky odchyty komárů, mají výsledná data ovlivněna účinností odchyty a jsou v prostoru velmi variabilní, tudíž poskytují pouze snímek relativního výskytu komárů na určitých místech⁴⁶. Na základě modelových programů, využívající ekologicky relevantní údaje, lze vytváření statické mapy WNV rizik pro lidské zdraví. Tyto mapy mohou naznačit např. kam umístit další zařízení na sledování komárů⁴⁹. Úspěšná introdukce a endemický přenos WNV v USA podporuje rozvoj modelů, které by mohly být přizpůsobeny i pro jiná území a schopny sledovat a předvídat introdukci WNV v těchto zemích⁴⁶.

8.2 Surveillance nákaz virem Západonilské horečky v ČR

Vzhledem k tomu, že od roku 1999 došlo k překvapivě rychlému a masivnímu rozšíření WNV po celých Spojených státech a Kanadě, což je území s místy podobnými klimatickými podmínkami jako má ČR, je potřeba mít tuto infekci na paměti a nepodceňovat ji. K rozšíření lidských nákaz na našem území by mohlo dojít, jestliže se budou v obydlených oblastech vyskytovat ptáci s vysokou hladinou virémie WNV, současně při větším množství druhů komárů šířících nákazu a nastanou-li příhodné klimatické podmínky pro replikaci viru v komárech, což je nekolikadenní teplota vzduchu přesahující 30°C.

Surveillance WNF v České republice je v české legislativě zakotvena ve vyhlášce 233/2011 Sb., kterou se mění vyhláška č. 473/2008 Sb., ve znění vyhlášky č. 275/2010 Sb., o systému epidemiologické bělosti. Tato vyhláška upravuje rozsah infekcí, pro které je zaveden systém surveillance. Příloha č. 15 této vyhlášky udává rozsah shromažďovaných údajů o WNF, způsob a lhůty hlášení, laboratorní diagnostiku, epidemiologické šetření a stanovení druhu způsobu provedení protiepidemiologických opatření infekčních onemocnění; dále základní charakteristiku, klinickou definici a klasifikaci infekčních onemocnění. Vyhláška dále ukládá osobě poskytující péči povinnost nahlášení orgánu ochrany veřejného zdraví údaje shromažďované o infekcích. Při podezření a zjištění každého jednotlivého případu

infekčního onemocnění se postupuje v rozsahu uvedeném v přílohách této vyhlášky. Hlášení se podává ve lhůtách a způsobem stanovených vyhláškou 306/2012 Sb., o podmínkách předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a o hygienických požadavcích na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče.

V příloze č. 15 vyhlášky 233/2011 Sb., je v článku **1** uvedena klinická definice onemocnění WNF. Článkem číslo **2** je stanovena laboratorní diagnostika onemocnění (průkaz specifické protilátkové odpovědi, detekce nukleové kyseliny v krvi nebo likvoru). Udává, jaká jsou kritéria pro pravděpodobný případ (stanovení IgM, IgG protilátek proti WNV v séru ELISA testem, stanovení protilátek proti WNV v séru HIT) a laboratorní kritéria pro potvrzený případ (průkaz přítomnosti specifických protilátek IgM proti WNV, izolace WNV, detekce nukleové kyseliny WNV v krvi nebo mozkomíšním moku, pozitivní virus neutralizační test). Odebraný biologický materiál zasílá příslušné zdravotnické zařízení do NRL pro arboviry. Interpretace laboratorních výsledků se provádí s ohledem na případné očkování proti některým jiným flavivirům. Článek číslo **3** udává epidemiologická kritéria, kdy musí být prokázána alespoň jedna z epidemiologických souvislostí, kterými jsou: přenos ze zvířete na člověka (pobyt v endemické oblasti), nebo přenos z člověka na člověka (transplantace). Článkem **4** jsou klasifikovány případy onemocnění. Pravděpodobný případ je u osoby splňující epidemiologickou souvislost nebo přinejmenším jedno z laboratorních kritérií. Potvrzený případ se použije u osoby, která splňuje klinická kritéria a nejméně jedno z laboratorních kritérií. Článek č. **5** uvádí, jak probíhá shromažďování údajů a jejich hlášení. Osoba, poskytující péči při diagnostice nákazy WNV, hlásí orgánu ochrany veřejného zdraví (OOVZ) potvrzené a pravděpodobné případy onemocnění nebo úmrtí. Dále navrhuje pečlivé zjišťování a hlášení cestovatelské anamnézy. Udává potřebu hlásit údaje, které se vztahují k případnému mezilidskému přenosu (transplantace, transfuze, transplacentární přenos). Po předaném hlášení zajistí místně příslušný OOVZ bezodkladné předání informací o potvrzeném případě nákazy WNV všem spádovým pracovištím transfuzní služby předem dohodnutým způsobem a zároveň informuje Ministerstvo zdravotnictví. Ministerstvo zdravotnictví zajišťuje předávání informací o aktuální epidemiologické situaci ve výskytu humánních případů nákazy WNV

v zahraničí všem pracovištím transfuzní služby a OOVZ. Informace Ministerstvu zdravotnictví jsou distribuovány pomocí systému rychlého varování Evropské komise (Early Warning and Response System, EWRS) a prostřednictvím dalších obdobných systémů. Článek 6 upravuje činnost zařízení transfuzní služby, které je povinná zajistit vyloučení z dárcovství plné krve a krevních složek osoby pobývající před 28 dny v oblasti s probíhajícím přenosem WNV na lidi. Dále je povinná zajistit, v předem daných případech, vyšetření vytipovaných vzorků krve a krevních složek na přítomnost nukleových kyselin WNV. Článkem 7 je řešeno epidemiologické šetření při podezření na výskyt nákazy WNV. Když osoba poskytující péči vysloví podezření na nákazu WNV, odebere biologický materiál a odešle ho k laboratornímu průkazu etiologického agens do NRL pro arboviry. NRL oznámí výsledky podle dohody písemně nebo telefonicky osobě poskytující péči a zároveň příslušnému protiepidemickému oddělení OOVZ. Článek 8 řeší průběh protiepidemických opatření v ohnisku nákazy WNV. Hlášení onemocnění WNV probíhá podle článku 5. Dále je nutno zajištění odběru biologického materiálu k potvrzení diagnózy a jeho odeslání do NRL pro arboviry. Protiepidemická opatření se provádějí při výskytu nebo na základě podezření u všech případů nákazy WNV.

Veterinární surveillance WNF v ČR

K základním prvkům veterinární surveillance WNF na území ČR se řadí sledování titru protilátek proti WNV v séru koní, které provádí od roku 2011 Státní veterinární ústav v Praze. Studie, prováděná v roce 2011 na 783 vzorcích sér zdravých dospělých koní, prokázala protilátky proti flavivirům v 98 případech. Z těchto pozitivních vzorků bylo virus neutralizačním testem prokázáno u 5 sér koní, z různých částí republiky, zvýšení titru protilátek proti viru Západonilské horečky. U třech koní se pravděpodobně jednalo o autochtonní nákazu, necestovali nikdy mimo ČR. Další dva koně byli dovezeni z USA a ze Slovenska. Různá geografická distribuce koní a vysoké měrné titry protilátek dle veterinářů nasvědčují rostoucí virové aktivitě v ČR a možné rozšíření WNF. Klinické onemocnění koní nebylo prozatím na území ČR zaznamenáno⁶².

Tématem surveillance na území České republiky se zabývá několik prací.

Na území ČR žije 43 druhů komárů⁶³. WNV izolovaný z vektorů a hojnost izolace WNV:

- *Anopheles maculipennis*: nehojný
- *Ochlerotatus cantans*: hojný
- *Culec modestus*: nehojný, rákosiny
- *Culex pipiens*: velmi hojný
- *Coquillettidia richardii*: vzácný, rákosiny

Přírodní ohnisko se v ČR vyskytuje u Lanžhotu, situováno na levém břehu Dyje naproti rakouské obci Rabensburg a u rybníka Nesyt u Valtic blízko Břeclavi.

Impaktovaná práce⁶⁴ popisuje získání šesti virových izolátů z 23 243 komářích samiček náležící k šestnácti druhům. Recenzovaná práce⁶⁵ popisuje získání tří virových izolátů z 9 742 komářích samiček patřící k třinácti druhům.

Autorům práce⁶⁴ se podařilo na Jižní Moravě podél toku Dyje detekovat jeden izolát WNV, a to jeho méně patogenní kmen RabV. Tento izolát se podařilo vůbec poprvé získat z komára *Aedes rossicus*. Dle autorů se jedná o třetí izolaci WNV na našem území a jde pravděpodobně o zcela nového vektora tohoto viru. Autorům se nepodařilo izolovat WNV z jeho hlavního vektora *Cx. pipiens*, kterých bylo vyšetřeno celkem 2074 jedinců, ani z častého vektora *Cx. modestus*. *Ae. rossicus* se řadí mezi komáry mammaliofilní. Všechny získané izoláty pocházely z komárů odchycených v roce 2006. Překvapivě se nepodařilo izolovat žádný virus z let 2007 a 2008. Tento fakt je zdůvodňován nižší hustotou komářích populace způsobenou teplými a suchými léty v letech 2007 a 2008 oproti roku 2006, kdy byly podmínky pro rozmnožení komářích populace mnohem příhodnější.

Autoři práce⁶⁶ zkoumali komáry na Jižní Moravě a jejich zdravotní význam. Jižní Morava patří dlouhodobě k oblastem s velmi vysokým výskytem komárů. Během výzkumu bylo na jihovýchodní Moravě prokázáno 32 druhů komárů, které náleželi k 7 rodům. V rámci výzkumu byly nejčastěji chytány kalamitní druhy (*Aedes vexans*,

Ochlerotatus sticticus) a povodňové druhy komárů (*Ae. rossicus* a *Ae. cinereus* s. l.). V jarním období jsou značně rozšířeny druhy *Oc. cantans*, *Oc. annulipes* a *Oc. cataphylla*. Velmi hojný byl rovněž druh *Cx. pipiens* a *Cx. modestus*.

Cx. pipiens, který je prokázaným vektorem WNV, tvořil v letech 2009–2010 přibližně 7 % z chycených komárů. Jedná se o druh převážně ornitofilní a na člověku sají v našich podmínkách patrně jen zřídka. *Cx. pipiens* byl prokázán po celou sezónu, nejvyšší nález byl zaznamenán v červenci. Má výrazně noční aktivitu s vrcholem kolem půlnoci. Ve dne byl aktivní jen výjimečně.

Dalším prokázaným vektorem WNV je *Cx. modestus*. Člověka sice rád napadá, málokdy se ale vyskytoval mimo vysokou vegetaci. Velmi hojný je především v blízkosti Lednických rybníků, s vrcholem výskytu v červenci. Aktivní je před západem slunce, v noci jeho aktivita prudce klesala.

Problémy s nadměrným výskytem komárů jsou na jižní Moravě. Příčinou je přítomnost rozlehlých líhnišť, hlavně v zaplavovaných lužních lesích a nivách podél dolních toků řek Moravy, Dyje a jejich přítoků. K přemnožení komárů zde dochází zhusta již v jarních měsících. Vývoj larev je zdlouhavější, proto je více času na preventivní opatření. Letní povodně v této oblasti představují z hlediska výskytu komárů vážný problém. Komáří přemnožení může nastat do 14 dní od zaplavení líhnišť. Vhodné období pro preventivní opatření proto trvá jen velmi krátce (dny). Účinnost není pokaždé vždy dostatečná a je omezena mimo jiné i mírou připravenosti.

Dle studie je v posledních letech patrná změna v rozložení některých druhů komárů a mnohdy i v jejich chování. Rozšiřují se některé dříve vzácné druhy. V jarních měsících dochází ke stírání rozdílů v době výskytu tzv. jarních druhů komárů a druhů letních. V obytné zóně se stále častěji vyskytují i druhy více vázané na blízkost líhnišť.

Práce⁴² popisuje výskyt vhodných přenašečů WNV v ČR a jejich potravní preferenci. *Cx. pipiens* a *Cx. modestus* - při analýze preference sání byla většina (93,7 %) ornitofilní. *Cx. pipiens* byly více ornitofilní než *Cx. modestus*. Oba druhy sály převážně na vrubozobých a pěvcích. *Cx. pipiens* se nacházel ve všech zkoumaných

biotopech, *Cx. modestus* byl hojnější v rákosí mokřadů a okolních biotopech. Oba druhy byly přítomny i ve vzdálenějších biotopech.

Sedm WNV pozitivní *Cx. pipiens* bylo detekováno na jižní Moravě (Nesyt, Mušlov, Nový) ve dvou sezónách (2006 a 2007). Na jihu Čech byli nalezeni čtyři WNV pozitivní komáři z rodu *Cx. modestus* (Řežabinec, 2006) a představují tak první detekci WNV v Čechách. Ve všech případech byl virus identifikován jako RabV.

Studie oznámila, že se *Cx. modestus* v posledních letech rozšířil po celé ČR. *Cx. modestus* saje na ptácích i savcích, včetně člověka. V této studii, *Cx. modestus* nevykazoval preferenci mezi savci nebo ptáky. Je možné, že *Cx. modestus* je v ČR mostním vektorem WNV.

Cq. richiardii, který byl považován za vektora během několika evropských WNV ohnisek, je v ČR vzácný. Relativně nízká hustota *Cq. richiardii* po celé ČR mu brání, jako významnému vektoru, v přenosu WNV ve střední Evropě.

Dle autorů⁴², vzhledem k výskytu *Cx. pipiens* a *Cx. modestus* i ve vzdálených biotopech, je nutné uvažovat o poměrně vysokém riziku infekce WNV pro myslivce, zemědělce a lidi, kteří mají bydliště v okolí rybníků. Riziko infekce zde nastává pro hospodářská zvířata, především koně.

8.3 Hlášení Západonilské horečky v ČR

K zajištění povinného hlášení, evidence a analýzy výskytu infekčních nemocí v ČR slouží program EPIDAT. Z hlediska národní surveillance je EPIDAT hlavním podkladem pro plnění Rozhodnutí Rady EU č. 2119/98/EC, o zřízení sítě epidemiologického dozoru a kontroly přenosných nemocí ve Společenství a Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 581/2004, o zřízení Evropského střediska pro prevenci a kontrolu nemocí, podle kterých musí být členskými státy prováděna celoevropská surveillance vybraných infekčních onemocnění. Registr EPIDAT je užíván od roku 1993 na všech odděleních epidemiologie a protiepidemiologických odborech OOVZ v ČR. Hlášení a sledování infekčních nemocí slouží k posouzení

vývoje epidemiologické situace, ke sledování zdravotního stavu obyvatel, k řízení poskytování zdravotní péče a k přijímání efektivních protiepidemiologických opatření.

Hlášená data v registru jsou od osob poskytujících péči dle zákona č. 258/2001 sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů v platném znění a vyhlášky č. 306/2012 sb., v platném znění, kterou se upravují podmínky předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a hygienické požadavky na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče. Konkrétní postup hlášení vybraných infekčních onemocnění je zakotven ve vyhlášce č. 233/2011 sb., v platném znění, o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce. Problematiku WNF zajišťuje příloha č. 15 „systém epidemiologické bdělosti nálezů vyvolaných virem Západonilské horečky“.

Celorepublikovým zpracovatelem údajů z EPIDATu je Státní zdravotní ústav (SZÚ), správcem Ministerstvo zdravotnictví České republiky (MZČR). Místně příslušné OOVZ, pracovníci hygienických stanic vkládají údaje hlášené praktickými lékaři písemnou formou (tiskopis „Hlášení infekčních nemocí“) do EPIDATu. Jsou zadávány případy potvrzené, dále podezření z infekce, nosičství a zjištěné infekční onemocnění při úmrtí.

Na celorepublikové úrovni jsou zadávána data průběžně sledovaná Národním referenčním centrem pro analýzu epidemiologických dat Oddělení biostatiky a informatiky SZÚ a Oddělením epidemiologie infekčních nemocí centra epidemiologie a mikrobiologie SZÚ. V rámci jednotlivých krajů sledují situaci krajské hygienické stanice. Základ databáze je předáván do Ústavu zdravotnických informací a statistiky (ÚZIS); výsledky analýzy jsou publikovány jako ročenky „Infekční nemoci ČR“.

9 Epidemiologická opatření

9.1 Preventivní opatření

Jelikož není doposud pro lidi k dispozici žádná aktivní imunizace, je nutné provádět preventivní opatření zahrnující ochranu proti komárům. Tato ochrana se skládá z vhodného oděvu, který má dlouhé rukávy a nohavice a je doplněn vhodnou impregnací a repelenty. Repelentní přípravky by měli obsahovat DEET (N,N-diethyl-m-toluamide), Pocaridin (KBR 3023) nebo perimethrin. Místo pobytu je nutno dostatečně chránit, to lze většinou řešit sítěmi na oknech, dveřích či různými moskytiéry nad postelemi; vhodné může být i použití elektrických odpařovačů s tekutým insekticidním přípravkem. K ochraně proti komárům patří rovněž opatření k zajištění snížení počtu komárů, zejména metody vedoucí k zabránění možnosti líhnutí komárů. Doporučuje se pravidelná výměna vody v nádobách na květiny a pro domácí zvířata, vyprazdňování nádob zadržujících vodu, provrtávání nepotřebných pneumatik, vyprazdňování bazénů v době, kdy nejsou používány; nevylévat vodu z déle naplněných nádob v okolí obydlí⁶⁷.

K preventivním opatřením se řadí osvěta turistů, kteří cestují do endemických zemí. Virus je endemický v tropických oblastech Afriky, jižní Asie, v severní Austrálii, v severní Americe a v jihovýchodní Evropě.

Byl zkoumán rozsah křížové ochranné imunity, která může být vytvořena proti onemocnění WNV očkováním proti jiným flavivirům²⁴. Studium neutralizačních protilátek v séru jedinců očkovaných vakcínami proti viru japonské encefalitidy (JEV), viru denque (DENV) nebo viru žluté zimnice (YFV), nebo přirozeně infikovaných JEV, ukázalo malé nebo žádné zjizitelné křížově neutralizační protilátky proti WNV²⁴.

Vývoj vakcíny

Přítomnost WNV v Severní Americe od roku 1999 podpořila vývoj vakcín pro humánní a veterinární použití²⁴. Vakcína by měla chránit proti všem WNV genotypům, a to zejména proti neuroinvasivním kmenům linie 2. V současné době je

v různých fázích vývoje a schvalování široké spektrum lidských očkovacích látek. Vysoký výskyt závažného onemocnění WNV u určitých skupin obyvatelstva naznačuje, že bezpečnost a účinnost u těchto skupin bude významným hlediskem pro schválení a použití vakcín proti WNV. Nyní v USA dokončili počáteční bezpečnostní a imunitní zkoušky čtyři kandidáti lidské vakcíny proti WNV. Patří mezi ně: chimérická živá oslabená vakcína WNV PRM-E/YFV 17D; chimérická živá oslabená WNV PRM-E/DENV vakcína; vakcína CDC WNV PRM-E DNA; a vakcína s podjednotkou zkráceného E proteinu²⁴.

Možný hlavní důvod, proč zatím není žádná licencovaná humánní WNV vakcína k dispozici, je to, že farmaceutické firmy tvrdí, že trh pro lidské vakcíny je omezený. Dále se zřejmě podílí sezónnost a nepředvídatelná povaha infekce³.

Koňské vakcíny

V současné době jsou na trhu jen veterinární WNV vakcíny. V USA jsou licencovány již čtyři vakcíny pro použití u koní a každá z nich je založena na jiné bázi: inaktivovaná celovirová vakcína (WN-Innovator®); rekombinantní canarypox vektorová vakcína (Recombitek® horse rWNV); živá oslabená chimérická rekombinantní vakcína založená na viru žluté zimnice (ChimeriVax-WN01, PreveNile®); a DNA plazmidová vakcína (West Nile-Innovator® DNA). V roce 2003 došlo po zavedení vakcíny WN-Innovator k velké redukci početních stavů koňských neuroinvasivních případů nemoci²⁴.

9.2 Represivní opatření

Včasná a správná diagnostika onemocnění je zásadní podmínkou pro zahájení rychlých a účinných represivních opatření. Řadí se sem epidemiologická anamnéza, klinické vyšetření a laboratorní vyšetření (viz diagnostika).

Hlášení nemocných a podezřelých z nákazy WNV podléhá v ČR povinnému hlášení o výskytu, které je popsáno v kapitole „hlášení Západonilské horečky v ČR“.

K represivnímu opatření šíření nákazy WNV v ČR patří vyloučení fyzické osoby z darování krve. Toto opatření je dáno vyhláškou č. 143/2008 Sb. o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek. Příloha 3, část B, bod 2.1 vyhláška č. 143/2008 Sb. dočasně vyřazuje osoby vystavené riziku získání infekce WNV, a to na období 28 dní po opuštění oblasti, kde dochází k přenosu WNV na člověka. Na 120 dní vyřazuje potencionálního dárce, kterému bylo diagnostikováno onemocnění vyvolané WNV.

V současné době je v připomínkovém řízení návrh metodického pokynu, kterým se stanoví postup při posuzování rizika nákazy virem Západonilské horečky a postup ke snížení rizika přenosu tohoto viru krevní transfuzí. K zamezení importu nákazy WNV ze zahraničí vyloučí zařízení transfuzní služby (dále jen „ZTS“) z darování krve, dle aktuálního seznamu zemí s potvrzeným přenosem WNV na člověka, fyzické osoby, zdržující se v dané oblasti alespoň jednu noc v období od 1. června do 30. října daného roku. K zabránění autochtonního přenosu WNV v České republice ZTS vyřadí z darování krve fyzické osoby, pobývající v oblasti prokázaného autochtonního onemocnění alespoň jednu noc.

10 Cíle práce a výzkumné otázky

10.1 Cíle práce

Cíl 1: Prozkoumat měnící se globální epidemiologickou situaci, měnící se v závislosti na změně klimatu a zmapování trendů změn epidemiologické situace.

Cíl 2: Zjistit, zda existují rozdíly v geografické distribuci výskytu WNV pro svět, Evropu a ČR v období let 2004-2014.

Cíl 3: Navrhnout možnosti zlepšení prevence při měnící se geografické distribuci.

Cíl 4: Zjistit, zda se v plzeňských a českobudějovických zdravotnických zařízeních rutinně vyšetřuje i na záchyt nákazy WNV.

Cíl 5: Zjistit promořenost koňských chovů WNV a její příčiny.

10.2 Výzkumné otázky

Výzkumná otázka 1: Dochází vzhledem k měnícímu se klimatu k šíření výskytu onemocnění vyvolaného WNV na nová území, která mají původně nepříznivé klima pro vektor?

Výzkumná otázka 2: Je významná většina notifikovaných případů nákazy WNV v ČR evidována u cestovatelů?

Výzkumná otázka 3: Souvisí většina notifikovaných případů nákazy WNV v ČR s návštěvou rizikové oblasti?

Výzkumná otázka 4: Je prováděno alespoň v jednom plzeňském a alespoň v jednom českobudějovickém zdravotnickém zařízení vyšetření na záchyt nákazy WNV?

Výzkumná otázka 5: Bylo v roce 2014 v koňských chovech zjištěno více pozitivních výsledků při testování přítomnosti protilátek proti WNV než v roce 2013?

11 Metodika

11.1 Metodika práce

Pro zjištění údajů o výskytu Západonilské horečky v ČR byla zvolena kvantitativní metoda výzkumu, technika sekundární analýzy dat. Analyzovaná data jsem získala od Státního zdravotnického ústavu Praha a Krajské hygienické stanice Moravskoslezského kraje se sídlem v Ostravě územního pracoviště v Karviné. Zdrojem dat byl informační systém EPIDAT, který slouží k zajištění povinného hlášení, k evidenci a analýze výskytu infekčních onemocnění v ČR. Údaje o prováděném vyšetření záchytu viru Západonilské horečky byly získány kvalitativní metodou prostřednictvím přímého dotazu. K zjištění údajů potřebných k zmapování promořenosti koňských chovů virem Západonilské horečky byla zvolena kvantitativní metoda výzkumu, byla použita technika sekundární analýzy dat. Data pochází z dat publikovaných Státní veterinární správou.

11.2 Charakteristika výzkumného souboru

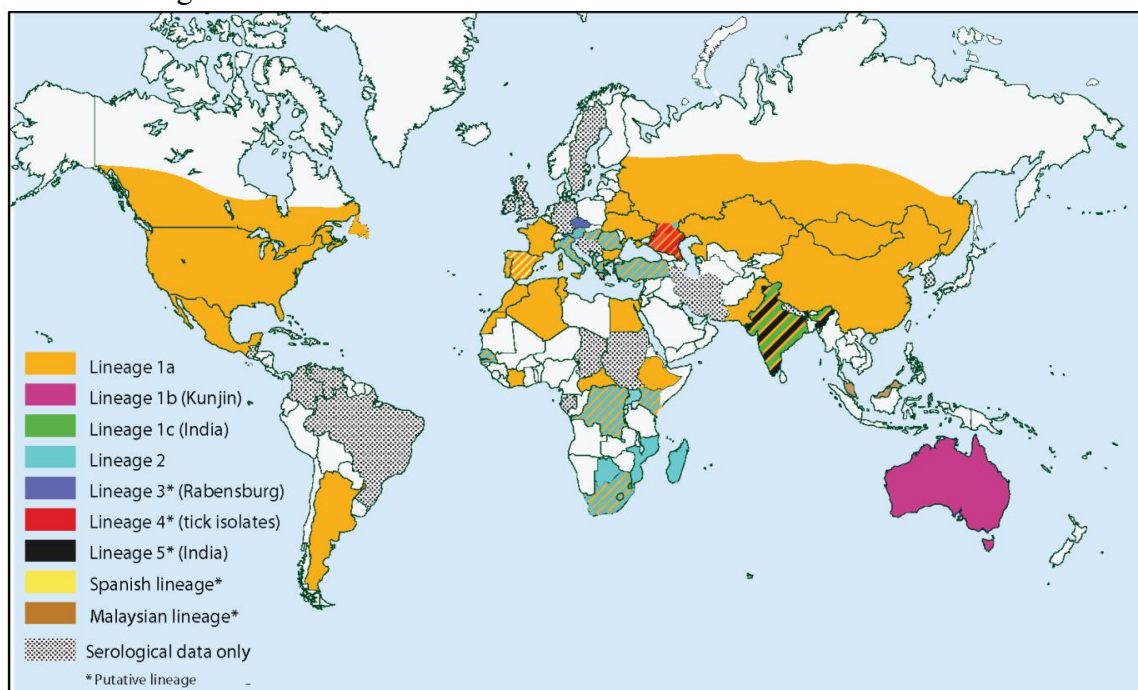
Výzkumný soubor v této práci tvoří hlášené případy onemocnění virem Západonilské horečky v ČR. Vzhledem k naléhavosti tohoto onemocnění a šíření viru na nová území jsem si ke sledování hlášených případů vybrala časové období od roku 2002 do současnosti.

12 Výsledky

12.1 Geografická distribuce a trendy rozšíření viru Západonilské horečky

WNV je nejrozšířenější arbovirus na světě a vyskytuje se na všech kontinentech kromě Antarktidy³⁷. Za posledních 15 let se nemoci způsobené WNV šíří po celém světě, zejména v Americe. WNV je široce rozšířen v tropických a mírných oblastech světa⁷. K rozšíření došlo zároveň se zvýšeným výskytem onemocnění u vnímavých hostitelů¹. Na mnoha místech je šířen epizooticky vektory³⁷. Studie ukázaly, že přenos WNV byl endemicky rozšířen napříč tropickými oblastmi Afriky, jižní Asie a severní Austrálie a epizodicky v mírných oblastech Evropy⁴⁹. Nyní je endemický výskyt v Africe, Americe, Asii, Austrálii, Eurasii, a na Středním východě⁷. WNV je enzootický v celé Africe, Austrálii, západní a střední Asii, na Středním východě a ve Středomoří, s občasnými ložisky v severní Evropě a na Sibiři až do 55 °N⁶. Na obrázku č.1 je znázorněna geografická distribuce WNV včetně rozložení linií WNV, vyobrazená data jsou z roku 2013.

Obr. č.1: Geografická distribuce WNV



Zdroj: (REISEN, 2013)

12.1.1 Zdroje geografického šíření a změny rozložení viru Západonilské horečky

Nové studie přinášejí zprávy o rozšíření viru do míst, o nichž se dosud nevědělo. Poukazují na nutnost počítat i se vznikem kombinací virů s novými vlastnostmi. Viry mohou měnit svá působiště, hostitele i přenašeče. Přírodní ohniska se velmi pomalu mění a vyvíjejí. Import z tropických oblastí pravděpodobně poroste v důsledku migrace obyvatel a zvířat a s již zmiňovaným posunem vektorů do vyšších zeměpisných výšek v důsledku změn klimatu.

Dramatická introdukce a šíření WNV v severní Americe je zneklidňujícím obrazem schopnosti viru k devastaci veřejného zdraví a veterinárních dopadů v místech sérologicky nechráněných obyvatel. Introdukce viru v nových oblastech je možná, pokud jsou k dispozici efektivní vektorů, vhodní zesilující hostitelští obratlovci a v neposlední řadě i vhodný přezimovací mechanismus. Existuje řada dalších faktorů, které mohou ovlivnit možný přenos WNV a způsob introdukce. Jedná se o úlohu původní fauny v přenosu, vhodnost místního klimatu a virologické faktory. Interakcí faktorů by mohlo dojít k případné introdukci exotického kmene WNV.

Určení druhů komárů je základním prvkem při určování vnímavosti daného místa k introdukci kmene WNV. Zásadní jsou komáří druhy, které se s největší pravděpodobností budou podílet na městském přenosu WNV. Interakce entomologických, virologických a hostitelských faktorů může mít vliv na možnost zavedení, usazení a udržení exotického kmene WNV v městských přenosových cyklech⁵¹.

Dalším významným rysem prostorového šíření WNV je vysoká rychlost geografické invaze a kolonizace v důsledku migrace ptáků na dlouhé vzdálenosti a všudypřítomnost komárů. Prostorové šíření WNV je do značné míry určeno velkým rozptýlením ptáků⁷. Virus se může šířit na velké vzdálenosti prostřednictvím migrací divokých ptáků¹. Šíření viru na střední vzdálenost a na sousedící území dochází s největší pravděpodobností díky ptactvu, v tomto případě ne nutně stěhovavým. Na krátké vzdálenosti se WNV šíří prostřednictvím komárů. Nespojité prostorové rozšíření vzniká přirozeně, jako důsledek lokální interakce mezi ptáky a komáry⁷.

Růst lidské populace a rychlý rozvoj dopravních systémů způsobil, že svět je propojenější biotop než kdykoli v historii²⁵. Mezikontinentální doprava vzduchem umožňuje přepravu osob a zboží na tisíce kilometrů daleko¹ a hraje tak důležitou roli v celosvětové disperzi patogenů a invazivních přenašečů⁷. Zvýšený turistický ruch, umožněný leteckou dopravou, způsobil častější zavlečení infekcí do zemí mírného zeměpisného pásma, kde tyto nákazy byly neznámé. Zdrojem onemocnění jsou nemocní nebo i bezpříznakoví živočichové. Přenašeči jsou různé druhy komárů, kteří infikují cestovatele v místě pobytu. Choroba se většinou projeví až při návratu domů. Někdy jsou prostřednictvím letecké dopravy přepraveni i vektorů. V cílové destinaci pak můžou způsobit jednotlivá onemocnění, ale někdy i lokální epidemii.

Další důležitý faktor šíření je kromě zvýšeného mezinárodního cestování i mezinárodní obchod. Prostřednictvím pohybu zboží může být vektor ve formě vajíček nebo larev rozšířen na nová území. Příkladem je expanze *Aedes albopictus*, v souvislosti s obchodováním s použitými pneumatikami nebo s dračinci. Tyto předměty obsahují vajíčka *Aedes albopictus*. Vlivem rostoucího mezinárodního obchodu, klimatických změn a adaptací na nižší teploty dosáhl tento komár celosvětové distribuce¹.

Dalším zdrojem šíření je převážení pitné vody pro dlouhé námořní plavby. Tímto dochází k neúmyslné dopravě a zavlečení několika druhů komárů včetně *Cx pipiens complex*, který je nyní již celosvětově distribuován. Je schopen přežít chladné severní zimy, stejně jako dokáže využít teplých jižních šířek.

Je zřejmé, že dovoz a introdukce vektorových patogenů, které mají relativně nízký profil v zemi jejich původního výskytu, je vážnou hrozbou pro země, ve kterých se doposud nevyskytovaly. Je to přímý důsledek revoluce dopravních technologií a zvyšujícího se světového obchodu, ke kterému došlo v posledních třech desetiletích. Globalizace je tedy potenciálně mnohem větší problém pro veřejné zdraví v Evropě než případné budoucí změny klimatu³².

Pro introdukci WNV do Evropy existuje hypotéza zprostředkování stěhovavými ptáky, kteří mohou být infikováni v Africe⁷. Evropské WNV kmeny pocházejí pravděpodobně z několika nezávislých reintrodukcí z Afriky. Dalšími možnými zdroji jsou dálková lodní a letecká doprava a globální cestovatelské přesuny lidí v rámci masového turismu. Všechny WNV kmeny cirkulující v Severní Americe jsou odvozeny z jediné introdukce, k níž došlo v roce 1999 pravděpodobně migrujícími ptáky z Izraele³⁵. V USA se na epidemickém rozšíření WNV podílí urbanizace a dalekosáhlé přírodní změny v krajině a v zemědělství.

Aviární aspekty šíření onemocnění Západonilskou horečkou

Díky amplifikaci v ptácích je virus schopen překonávat rychle velké vzdálenosti. Ve většině případů probíhá infekce ptačího organismu asymptomaticky a volně žijící ptáci tak slouží jako distributor onemocnění. Z hlediska časového i místního se zdá, že propuknutí onemocnění je podmíněno výskytem komárů i současnou migrací tažných ptáků. Tažní ptáci hrají klíčovou roli při šíření viru do nových oblastí⁶⁸. WNV byl izolován z některých ptačích jedinců, u několika ptačích druhů byla zaznamenána dostatečná virémie. Epidemie v New Yorku a následné šíření viru po Severní Americe bylo doprovázeno masivním úhynem ptáků, naopak při propuknutí onemocnění na východní polokouli byly dokumentovány případy postižení ptačích jedinců jen zřídka. Toto může být vysvětleno náhlou invazí patogena do ptačí populace Severní Ameriky bez předchozí expozice WNV, případně jiným flavivirům. Na druhé straně je zřejmá dlouhodobá adaptace ptačích druhů Starého světa. Náchylnost k onemocnění s fatálním průběhem se zdá být také větší u mladých ptačích jedinců. Vnímavost k WNV má také mezidruhovou variabilitu. Příkladem je zvýšený dopad infekce WNV na populaci vran amerických v severní Americe a vysoké procento séropozitivních vran černých v egyptské studii.

Jedna ze studií²⁵ byla zaměřena na vzory sání vektorů WNV a vedla k závěru, že neočekávané hostitelské druhy jsou pro přenos WNV poměrně důležité. Miliony ptáků uhynuly na infekci WNV, v regionálním měřítku byl pozorován pokles populace u některých druhů o více než 50 procent. Taxonů, které utrpěly propady je překvapivě

mnoho, zahrnují vrány, sýkory, titmice, střízlíky a drozdy. Některé populace se zotavily po počátečních poklesech, zatímco jiné nikoli. Pravděpodobnost introdukce nepůvodních druhů se zvyšuje s introdukčním úsilím či mírou, kterou jsou jednotlivé druhy introdukovány do nových oblastí. V Egyptě vykazuje vrána šedá a vrabec domácí vysoké míry protilátek a nakažlivosti. V Jižní Africe vykazují vodní ptáci a pěvci rodu snovačovití velkou infekčnost, velmi často mají také protilátky proti WNV. Krkavcovití tvoří malý zlomek všech zdrojů potravy pro komáry a vrabci jsou zřídka napadáni komáry vzhledem k jejich četnosti. Místo toho drozd stěhovavý se zdá být pro přenos WNV důležitější. Například ve Švédsku jsou více exponováni drozdovití než některé jiné skupiny.

Na základě surveillance³⁸ v Itálii bylo zjištěno, že infekci WNV byly vystaveny různé druhy ptáků. Nejvíce postižené druhy ptáků zahrnují: straku obecnou, vránu šedou, holuba skalního a sojku obecnou. Toto zjištění potvrzuje i práce, která dokládá WNV pozitivně testované straky obecné v provincii Bologna a sojky obecné v provincii Modena.

Zahraniční práce³² se zabývá průběhem viru v Evropě. Ve studii bylo WNV pozitivním komárům vystaveno 25 druhů ptáků, které představují 17 rodů a 10 skupin. Pouze čtyři jedinci z 87 nevyvíjeli zjištěnou virémií. Mezi druhy vyvíjející virémií o dostatečné síle a délce trvání byli pěvci a dlouhokřídlí. V přeživších přetrvávala infekce v některých orgánech u 16 ze 41 nakažených ptáků. Navíc 5 z 15 druhů bylo infikováno infikovaným komárem umístěným v zadní části ústní dutiny a vrány byly infikovány při zkrmování mrtvého infikovaného vrabce. Virus byl pozorován v exkrementech u 17 z 24 druhů po dobu 10 dnů po infekci. Kontaktní přenos mezi ptáky v kleci byl pozorován u čtyř druhů. Alternativní vysvětlení pro rozptýlení se opírá o orální nákazu (mrchožrouti). Kontrast patogenity mezi Starým a Novým světem svědčí o dlouhém spojení mezi virem a jeho ptačími hostiteli v původním rozsahu. Ve skutečnosti jsou druhy ptáků s nízkou úmrtností v Americe ty, které jsou podobně jako virus dovezené ze Starého světa. Introdukce viru, který není patogenní v původním

místě výskytu (pravděpodobně proto, že má dlouhou historii kontaktu se svými hostiteli), měla katastrofální vliv na místní faunu v novém prostředí.

Práce¹⁹ prováděná v severní Americe přezkoumávala rozptýlení a introdukci WNV v severní Americe, se zaměřením na faktory, které umožnily proces invaze. Díky urbanizaci došlo ke snížení druhové ptačí rozmanitosti a k rozšíření počtu symbiotických druhů, jako je drozd stěhovavý, hýl mexický a vrána americká, které dokázaly využít stanoviště v okolí lidských obydlí. Vrabec domácí, špaček obecný a holub skalní rychle obsazují rozšiřující se městské prostředí na celém americkém kontinentu. Snížení ptačí rozmanitosti způsobilo, že se vektor zaměřil na sání krve na několika příslušných druzích, což usnadňuje infekci, předávání a zvýšení účinnosti virové amplifikace. Bylo také prokázáno, že infekce WNV přetrvává v ptačích hostitelích, kteří přežijí akutní infekci. Je dokázáno, že WNV by mohl přetrvávat až 8 měsíců u infikovaných ptáků. Experimentální infikování holuba skalního WNV ukázalo, že někteří ptáci dokáží vyvinout přerušovanou virémii. Imunosuprese související s koinfekcí nebo stresem a hnízděním na jaře může umožnit zvýšení virémie a tak infikovat komáry.

Dle studie⁶⁹ došlo v roce 2007 k populační explozi hrdličky zahradní na území severní Ameriky. Hrdlička je často napadána WNV. Autory byla testována hypotéza, že hrdlička zahradní je kompetentní pro přenos WNV. Vyvolaná virémie měla nízkou úroveň, z čehož vyplývá, že hrdlička je schopna infikovat pouze malý zlomek vektorových komárů. Z toho důvodu hrdlička zahradní hraje poměrně zanedbatelnou roli jako zesilující hostitel pro WNV, ale může být důležitá tam, kde je místně hojná. Populační explozí se hrdlička zahradní v minulém století rozšířila z původní Indie, Srí Lanky a Myanmaru na západ. Osídlila prakticky celou Evropu až k polárnímu kruhu v Norsku a severní Afriku. V oblasti západní USA kde je hrdlička zahradní již velmi rozšířená, byla pozorována vysoká prevalence WNV specifických protilátek. Z toho vyplývá, že hrdlička zahradní může sloužit jako důležitý zesilující hostitel WNV usnadňující přenos a geografické šíření viru, všude tam, kde se její populace zvětšuje.

„Přezimování“ viru Západonilské horečky

Nejasná zůstává otázka, zda virus „přezimuje“. Teoreticky by se tak mohlo dít díky přezimujícím samicím *Cx. spp.*, transovariálním přenosem do potomstva nebo chronicky infikovanými obratlovci¹. Alternativní hypotézou je, že virus v mírném pásmu nepřezimuje a je reintrodukován tažnými ptáky ze subtropických ohnisek.

V prvních letech cirkulace WNV v Severní Americe byla perzistence v průběhu zimních měsíců připsána pokračování přenosu v zimním období, přezimování viru v komárech a vertikálnímu přenosu WNV z infikovaných samic na své potomstvo². Mimoto byla každoroční reintrodukce viru navrhována jako možná doplňková hnací síla WNV vývoje a diverzifikace na místní i celostátní úrovni¹².

V oblastech s mírným klimatem může mít význam pro výskyt epidemie v následujícím létě vertikální přenos a schopnost WNV „přezimovat“ pomocí diapauzujícího vektora¹⁷. Virová infekce primárních vektorů je mechanismus navržený k přetrvávání WNV v oblastech, kde bývá teplota příliš nízká pro replikaci viru a primární vektorů za těchto podmínek vstupují do období klidu. *Culex* jsou primární letní přenašeči WNV, kteří mohou sloužit také jako rezervoárový hostitel při přezimování. Teorie je podpořena zjištěním infikovaných komárů *Culex* v zimním období. V mírných zeměpisných šířkách *Culex* obvykle přezimují při nízkých teplotách. Dospělé samice se zastaveným reprodukčním cyklem mohou sloužit jako rezervoárový hostitel zajišťující replikaci viru. *Culex* samice, které vstupují do diapauzy, se neživí krví. Diapauzující samice se pravděpodobně nakazí WNV prostřednictvím vertikálního přenosu. Přirozeně infikované samice *Cx. pipiens L.* může přenášet WNV vertikálně k F1 generaci, která následně přezimuje a horizontálně přenáší virus po ukončení diapauzy. Stejný průběh vertikálního přenosu byl popsán v práci u *Cx. s. pipiens complex*³⁶. Tento druh nejspíše slouží jako přírodní hostitel umožňující přezimování a je zodpovědný za amplifikaci a přenos viru na jaře. Přezimovací strategie *Culex* se liší dle zeměpisných šířek, na nich závislých teplotách a fotoperiodou. Plasticita v ukončení diapauzy, která je popsána v práci^{70,19}, může dovolit *Culex* využívat příznivé klimatické podmínky⁷⁰.

Hypotézu o přezimování podporuje i jedna z prací, která dokládá, že teplejší jaro podporuje replikaci WNV. Infikování komáři se stanou infekčními, a tak dojde k obnovení přenosového cyklu. Hlavní důkaz byl poskytnut laboratorními experimenty. F1 potomstvo WNV infikovaných samic *Cx. pipiens* bylo nuceno vstoupit do diapauzy, po ukončení diapauzy tyto F1 samice experimentálně infikovali křečky¹⁹.

Analýza genomové sekvence prokázala vysokou podobnost viru izolovaného v Itálii v roce 2008 a v roce 2009, to rovněž podporuje hypotézu, že virus může přezimovat a stát se tak endemickým. Vysoká sekvenční podobnost mezi kmeny izolovanými v roce 2012 a virového genomu sekvenovaného v roce 2011 je v souladu s hypotézou přezimování viru. Dále byla sekvenováním genomu WNV v Itálii z infikovaných lidí, ptáků a komárů zdokumentována persistence stejných virových kmenů v po sobě následujících letech, což je také ve shodě s hypotézou o přezimování WNV³⁵. Taktéž ve Volgogradu byly všechny izoláty WNV od roku 1999 do roku 2003 velmi podobné. To vyžaduje perzistenci nebo přezimování WNV. Vícenásobné invaze stejného kmene se jeví jako nepravděpodobné. Mechanismy WNV přezimování ve Volgogradu nebyly řádně studovány⁶.

Transovariální přenos viru se vyskytuje u některých druhů *Culex*. Toto může podpořit zimující mechanismus v chladném podnebí¹. Hypotézu podporuje několik zahraničních prací. Byla prozkoumána role několika *Culex* v přezimování a dlouhodobém přetrvávání WNV. WNV byl zjištěn u hibernujících *Cx. s. pipiens*. Výskyt virové nákazy u přezimující populace byl poměrně nízký. K infekci diapauzujících samic dochází prostřednictvím vertikálního přenosu viru. Alternativní, ačkoli vzácný, je mechanismus starších samic, které před hibernací sají infekční krev a po přezimování na jaře iniciují infekci. I přes významnou úmrtnost v průběhu zimních měsíců vstupují do hibernace infikované samice *Cx. s. pipiens* ze severovýchodních Spojených států. Dalším vektorem schopným vertikálně a horizontálně přenášet WNV je dle autorů *Cx. salinarius*, který může mít významnou roli při udržování WNV v severovýchodní části USA. V jižních oblastech Spojených států může virus přetrvávat pomocí *Cx. s. quinquefasciatus*, který ovšem nevstupuje do skutečné diapauzy,

ale přezimuje v klidovém stavu. Dospělý jedinec se během chladného období stane neaktivní, během teplého období se stává opět aktivním a obnovuje sání krve. Tato přerušovaná aktivita po celé zimní období je hlavním mechanismem, kterým v tomto druhu virus přezimuje. WNV pozitivní populace byly identifikovány v zimně i na začátku sezóny u samice *Cx. erraticus* v Alabamě. WNV byl také detekován u přezimujících larev *Cx. Erythrothorax*, zachycených na konci října v Utahu. Toto dokazuje vertikální přenos i v tomto druhu³⁶.

V České republice byl zjištěn WMV v přezimujících *Cx. pipiens* pomocí PCR, ale nebyl potvrzen izolací. Průzkum potvrdil, že samice nesaje krev před přezimováním, z čehož vyplývá, že získává svůj infekci vertikálním přenosem³².

12.2 Výzkumná otázka 1

Dochází vzhledem k měnícímu se klimatu k šíření výskytu onemocnění vyvolaných WNV na nová území s původně nepříznivým klimatem pro vektor?

Zpracováním této otázky byl zkoumán vliv globálních změn na aktuální nárůst onemocnění ve světě.

Změny životního prostředí mají nesporný vliv na výskyt, distribuci a vývoj trendů výskytu infekčních onemocnění, a to zejména na ta, která jsou přenášena vektory. Dále může být změnou prostředí ovlivněno geografické rozšíření a riziko zavlečení arbovirových onemocnění. Podle programu OSN pro životní prostředí je změna klimatu hlavní, převažující environmentální problém naší doby. Dle různých studií se očekává, že změna klimatu bude mít obrovský dopad na lidské zdraví, zejména v důsledku chorob přenášených právě vektory. Změna klimatu a jeho variabilita může změnit umístění a sezónnost mnoha vektorů choroby, a tím zvýšit riziko přenosu nákazy na člověka⁴⁴. Změny vlivu klimatu na výskyt nemocí přenášených členovci působí následujícími hlavními způsoby: 1) reprodukcí, vývojem a přežitím vektorů, což řídí distribuci a hojnost vektorů; 2) změnou strategie vyhledání krve vektory; 3) mírou zesílení patogenů, vývojem, násobením a přežitím ve vektorech. Klimatické podmínky mohou mít také vliv na rozdělení, početnost, chování, časový průběh rozmnožování a migraci hostitelských obratlovců. Důsledky změny klimatu a oteplování jsou potenciálně podstatné pro vektorovou dynamiku. Předpokládané změny klimatu postižené lokality zaznamenají prodloužené období aktivity komárů, kteří se v důsledku zvýšených teplot vyvíjí dříve na jaře a přežívají do pozdního podzimu. Klimatická změna může v teplejších podmínkách usnadnit zvětšení rozsahu a sezónní četnosti druhů přenašečů, čímž dochází přímo ke zvýšení kompetence pro přenos. Naproti tomu letní populace vektorů mohou poklesnout v důsledku zvyšování již vysokých teplot a poklesu srážek v místě, které jsou již vodou nedostatečně zásobené. Změna klimatu může také vést k podstatným změnám v krajině, což ovlivňuje rozšíření a početnost hostitelů, vektorů a patogenů. Změny klimatu mohou vyvolat také posuny v distribuci přírodních stanovišť vhodné pro vektory. Zvýšení teplot a ekologické dopady změny

klimatu by měly být podle prognóz větší v mírných a v polárních oblastech než v tropických oblastech. Vyšší teploty během zimních měsíců jsou pravděpodobně odpovědné za větší jarní a letní populace komárů. Hrozbou je možnost přežití některých druhů během teplejších zimních měsíců, a tím podpora přenosu viru v zimních měsících.

Sezónní načasování srážek a jejich intenzita je také důležitým faktorem distribuce WNF⁷¹. Nadprůměrné srážky během určitých měsíců mohou vést k vyšší četnosti komárů, a tím ke zvýšení potenciálu propuknutí nemocí, jak bylo dokázáno Soverow et al., který našel pozitivní asociace mezi silnými srážkami (≥ 50 mm v jeden den) a vyšším výskytem WNF ve Spojených státech⁷. Podprůměrné srážky a sucho může také usnadnit vznik populace některých druhů komárů. Zbývající voda je více eutrofická ve prospěch např. *Cx. pipiens*. Citlivost populací komárů ke změně klimatu je závislá na místním klimatickém kontextu. Zatímco srážky ovlivní vznik populace komárů v mírném podnebném pásmu, zvýšení srážek ve vlhkém regionu má většinou malý vliv na populace komárů.

Obnovené příznivější klimatické podmínky způsobují znovuoobjevení WNV v oblastech, ve kterých již jednou k výskytu došlo¹. Díky změně klimatu se v posledních letech posouvají hranice rozšíření vektorů i samotného viru WNV.

Výsledky probíhající studie¹¹ na území severní Ameriky, která zkoumá míru infekce na základě několika počítačově modelovaných scénářů změn klimatu, ukazují, že předpokládaná míra WNV infekce bude v rámci středního klimatického scénáře v roce 2050 vyšší 17,91 krát. Rozšíření WNV v rámci středního scénáře představuje 1,6 násobný nárůst distribuční oblasti. Za předpokladu nejextrémnějšího oteplení, předpokládá studie vrchol nakažených komárů 30 krát vyšší než v současnosti, což je výrazný nárůst infekčního tlaku.

Vyšší teploty ovšem mohou vést ke zvýšené úmrtnosti komárů, a tak představují přirozenou kontrolu virového zesílení. Komáři se budou moci přesunout na chladnější mikrostaniště, pokud teplota překročí přípustné odchylky¹¹.

Práce⁶ publikovaná v Rusku vypracovala identifikaci nejdůležitějších klimatických a environmentálních faktorů, které mohou mít vliv na výskyt WND. Výsledky této analýzy ukazují, že nárůst výskytu lidského WND byl dosažen především při vyšších teplotách v květnu nebo v červnu, v menší míře vysokými teplotami během srpna až září. Klesající incidence byla spojena s nízkými teplotami v prosinci nebo v lednu.

Výsledky jiné z prací⁷¹ ukazují, že i přes předpokládané zvýšení teplot, sezónní reakce populací *Cx. quinquefasciatus* na jihu Spojených států nebude homogenní a bude záviset na specifických kombinacích místních a regionálních podmínek. Při simulaci budoucích klimatických poměrů klesá během léta populace komárů. To je důsledek menších srážkových úhrnů, sucha a úmrtnosti ve vývojových stádiích následkem vysokých teplot. Tento pokles ovšem nemusí snížit riziko přenosu WNV. Ptáci a komáři se mohou shlukovat kolem vzácných vodních stanovišť a tím se budou dostávat do většího vzájemného kontaktu.

Analýza⁵⁷ též poskytla údaje o výskytu WNV infekce člověka v 82 krajích Mississippi v roce 2002. Podle autorů má vztah mezi srážkami a přenosem WNV zásadní význam pro předpovídání rizika vypuknutí lidské WNV nákazy. Byl pozorován inverzní vztah mezi úrovní výskytu infekce WNV a celkovými ročními srážkami v průběhu předchozího roku. Roční srážky předchozího roku byly prediktorem prostorové variace rizika WNV. Nárůst ročních srážek o 10 cm vedlo k 10 % zvýšení předpokládaných relativních rizik. Dále bylo zjištěno, že odhad šíření WNV bez zahrnutí využití krajiny (tj. městské, venkovské a přírodní oblasti) může být potenciálně velmi rozdílný.

Změny klimatu v Evropě

Zvýšení průměrné roční teploty vzduchu se do roku 2070 předpokládá mezi 0,4 až 4,5 °C, a to v závislosti na oblasti (nejvyšší nárůst se očekává na Pyrenejském poloostrově)⁴⁰. Studie naznačují, že bude více sucha, více požárů, vlny veder budou častější, a to zejména v jižní Evropě. Mírnější zimy se budou stále častěji

vyskytovat v severních zeměpisných šířkách. Zejména ve střední Evropě se očekávají stoupající teploty, neobvykle horká léta a také větší meziroční variabilita počasí. Vlny extrémních teplot budou stále častější. Množství srážek bude vyšší v severní Evropě a nižší na jihu. Přívalové deště, zejména v létě, budou přicházet častěji v celé Evropě a povedou k záplavám. Sníh bude vzácnější. Říční průtok se na jihu sníží, ale zvýší se v severní Evropě. Extrémní bouře budou také častější¹.

Meteorologická situace a výskyt nákaz v Evropě v roce 2010

Mimořádná meteorologická situace v roce 2010 měla bezesporu vliv na výskyt nákaz přenášených členovci. V Evropě byl oznámen výskyt WNF⁵⁰.

Počasí v roce 2010 se vyznačovalo náhlými výkyvy. Jednalo se hlavně o teploty vzduchu a množství vodních srážek, které dosahovaly mnohdy vysokých absolutních hodnot, nezvyklých v daném regionu a měsíci. Tento atypický průběh se projevoval v globálním měřítku v rozsahu od katastrofálních úhrnů srážek s následujícími povodněmi až po dlouhá suchá období s rozlehlými požáry. Hodnocení v regionálním měřítku jsou v souladu s trendem vysoké proměnlivosti počasí v posledním desetiletí. Tyto prudké a mimořádné změny mají negativní vliv na přírodu.

Z hlediska problematiky importů nákaz je podstatné, jak se vyvíjela epidemiologická situace v Evropě. V roce 2010 bylo nejvíce autochtonních případů hlášeno v Řecku. Jednalo se o nejvyšší počet onemocnění v Evropě od propuknutí nemoci v letech 1996–97 v Rumunsku. K růstu výskytu onemocnění WNV došlo i v dalších zemích: Rumunsko, Maďarsko, Rusko a Turecko. V těchto oblastech byly letní teploty nad normálem a spadly i nadlimitní srážkové úhrny.

Tabulka č. 1 uvádí statistiku výskytu WNF v letech 2008 - 2012. Z tabulky je jasně patrné, že výskyt onemocnění velmi závisí na klimatickém průběhu daného roku. Toto je zřetelné z údajů z roku 2010, kdy počasí v Evropě dosahovalo extrémních podmínek. V zemích, kde se onemocnění v minulosti objevilo, se v tomto roce zvýšily počty nemocných a tam, kde nebylo do té doby hlášeno, se vyskytlo několik případů (např. v Nizozemí). Jelikož rok 2011 nevykazoval oproti roku 2010 extrémní klimatické

jevy, počty onemocnění výrazně klesly. Rok 2012 byl oproti roku 2011 pro přenos WNV klimaticky příznivější. Neproběhlo ovšem tolik teplotně nadstandardních dní a nocí jako v roce 2010. K navýšení počtu nemocných oproti roku 2011 dochází ve státech, jako je Rumunsko, Maďarsko a Francie. K novým případům dochází v tomto roce v Belgii a Švédsku. Z toho můžeme usuzovat, že se virus šíří do severněji položených zemí. Je patrné, že Itálie údaji o počtu onemocnění vybočuje.

Tab. č. 1: Počty případů WNF v EU v letech 2008-2012

Stát	2008	2009	2010	2011	2012	
	Případy	Případy	Případy	Případy	Případy	Potvrzené případy
Rakousko	0	0	0	0	0	0
Belgie	0	0	0	0	2	2
Bulharsko	0	-	-	-	4	4
Kypr	0	0	0	0	0	0
Česká republika	0	0	0	0	0	0
Dánsko	-	-	-	-	-	-
Estonsko	0	0	0	0	0	0
Finsko	0	0	0	0	0	0
Francie	0	1	3	1	3	3
Německo	-	-	-	-	-	-
Řecko	0	0	262	100	162	50
Maďarsko	19	7	19	4	17	17
Irsko	0	0	0	1	0	0
Itálie	3	18	5	14	28	28
Lotyšsko	0	0	0	0	0	0
Litva	0	0	0	0	0	0
Lucembursko	0	0	0	0	0	0
Malta	0	0	0	0	0	0
Nizozemí	0	0	1	1	0	0
Polsko	0	0	0	0	0	0
Portugalsko	-	-	-	-	-	-
Rumunsko	2	2	57	11	15	14
Slovenská republika	0	0	0	0	0	0
Slovinsko	0	0	0	0	0	0
Španělsko	0	0	2	0	0	0
Švédsko	0	0	0	0	1	1
Velká Británie	0	0	0	0	0	0
EU Celkově	24	28	349	132	232	119
Island	-	-	-	-	-	-
Norsko	0	0	0	0	0	0
EU/EEA Celkově	24	28	349	132	232	119

Zdroj: ECDC

12.3 Výzkumná otázka 2

Je významná většina notifikovaných případů nákazy virem Západonilské horečky v ČR evidována u cestovatelů?

V období let 2002-2015 byly v systému EPIDAT registrovány čtyři případy WNF. U tří případů se jednalo o import onemocnění do ČR. Jeden případ WNF v roce 2002 – import z USA a dva případy v roce 2007 -import z Kypru a Tanzanie. U jednoho případu se jednalo o neuroinvazivní formu onemocnění.

V roce 2002 onemocněl muž ve věku 69 let s místem trvalého bydliště v okrese Nový Jičín. Od 3. 7. do 31. 8. 2002 pobýval v Chicagu (USA) v rámci turistického poznávání země. Koncem pobytu se objevily horečky a únava. Po návratu do ČR byl 3. 9. 2002 hospitalizován v Ostravě s horečkou přes 39.5°C, únavou, anorexií, mírnou laryngotracheitidou, závratěmi, nespavostí, měl setřelou řeč a výrazný pokles psychiky. Na EEG byla zjištěna pomalá theta-delta aktivita v obou čelních lalocích a při vyšetření mozku pomocí počítačové tomografie byl zaznamenán mírný hydrocefalus (rozšíření mozkových komor) v rámci poruchy odtoku mozkomíšního moku. Laboratorně byl prokázán signifikantní vzestup neutralizačních protilátek proti WNV mezi prvním (1:16) a druhým (1:256) vzorkem séra. Stav pacienta se během hospitalizace postupně zlepšoval a z nemocnice byl propuštěn 16. 9. 2002. Onemocnění bylo vykázáno pod diagnózou A 92.9. tj. Jiná virová horečka přenášená komáry¹⁶.

V roce 2007 onemocněl muž ve věku 59 let s trvalým bydlištěm v Příbrami. Muž se před klinickým propuknutím nákazy zúčastnil turistického pobytu na Kypru. Onemocnění bylo při oslabení organismu komplikováno ještě herpetickou infekcí. Případ byl vykázáno pod diagnózou A 92.3. tj. Západonilská virová infekce.

V roce 2007 onemocněla 32letá žena z Uherského Hradiště při pobytu na Zanzibaru (Tanzanie). Případ byl vykázáno pod diagnózou A 92.3. tj. Západonilská virová infekce.

V roce 2013 bylo hlášeno autochtonní onemocnění z Českého Těšína. Jednalo se o ženu ve věku 36 let vietnamské národnosti, pracující jako prodavačka textilu. Žena

byla hospitalizována v srpnu 2013 pro vysoké teploty a zesilující prudké bolesti hlavy na Infekční oddělení nemocnice s poliklinikou v Havířově. Vyšetření mozkomíšního moku potvrdilo nepygenní meningitidu. Na základě virologického vyšetření pak byla stanovena diagnóza Západonilské horečky. Tato žena žije v ČR od února 2002 a v roce 2010 pobývala asi měsíc u příbuzných ve Vietnamu. Neudává poštípání komáry ani jiným hmyzem, nebyla v kontaktu s koňmi, ptactvem či jinými zvířaty. Proti klíšťové encefalitidě (KE) a japonské encefalitidě (JE) nebyla očkována.

V roce 2014 a 2015 nebyl do EPIDATu hlášen žádný případ WNF.

Z uvedených informací vyplývá, že v České republice je většina hlášených onemocnění importovaného charakteru. O import se jednalo ve třech případech ze čtyř.

12.4 Výzkumná otázka 3

Souvisí významná většina notifikovaných případů nákazy virem Západonilské horečky v ČR s návštěvou rizikové oblasti?

WNV byl rozšířen endemicky napříč tropickými oblastmi Afriky, jižní Asie a severní Austrálie, epizodicky v mírných oblastech Evropy. Nyní je endemický v Africe, Americe, Asii, Austrálii, Eurasii a na Středním východě. Mezi rizikové lokality s ohledem na rozšíření invazivních druhů komárů patří subtropické oblasti Středozemního moře, což je oblíbený cíl letních turistů.

Problematika cestovní medicíny s ohledem na WNF se netýká jen tropických zemí a zemí s nižším hygienickým standardem. Potvrzuje to i zpráva o onemocnění WNF u dvou Irů. Testy u nich prokázaly nákazu WNV po jejich návratu do Irska z portugalského Algarve.

V roce 2002 byla v USA zaznamenána první masivní epidemie WNF. V stejném roce se objevil i první případ importované WNF do České republiky. Druhý český import nákazy z roku 2007 pochází z Kypru, kde byl virus izolován v roce 1998 a o epidemii v roce 2007 není v této oblasti žádná zmínka. Dle⁷² není WNV na Kypru endemický, přesto je mnoho importovaných onemocnění spojeno s touto zemí. Další

import onemocnění proběhl v roce 2007 z Tanzanie. Ta může být považována za rizikovou oblast, jelikož leží v blízkosti Ugandy, kde byl virus poprvé izolován.

Z uvedených údajů vyplývá, že dva ze tří importovaných případů pochází z vysoce rizikové oblasti.

12.5 Výzkumná otázka 4

Je prováděno alespoň v jednom plzeňském a alespoň v jednom českobudějovickém zdravotnickém zařízení vyšetření na záchyt nákazy WNV?

Vyhláška č. 233/2011 Sb., kterou se mění vyhláška č. 473/2008 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce, ve znění vyhlášky č. 275/2010 Sb. uvádí, že osoba poskytující péči, která vyslovila podezření na nákazu WNV, provede odběr biologického materiálu k laboratornímu průkazu etiologického agens a zajistí transport odebraného materiálu do NRL pro arboviry Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě. Tato laboratoř ohlásí výsledky osobě poskytující péči a příslušnému protiepidemickému oddělení OOVZ.

Vyhláška č. 233/2011 Sb. udává, jak by se mělo postupovat v případě podezření na nákazu WNV. Jelikož vyhláška nepřikazuje využití NRL pro arboviry ani nezakazuje použití jiné laboratoře pro potvrzení infekce WNV, bylo zkoumáno, zda je prováděno alespoň v jednom plzeňském a alespoň v jednom českobudějovickém zdravotnickém zařízení vyšetření na záchyt nákazy WNV.

Bylo kontaktováno několik zdravotnických zařízení v Plzni a Českých Budějovicích s dotazem, zda je u nich prováděno vyšetření na záchyt infekce WNV. Od malých zdravotnických zařízení se nepodařilo získat k této problematice žádné vyjádření. Na dotaz odpověděla pouze dvě větší zdravotnická střediska a to Fakultní nemocnice v Plzni a Nemocnice České Budějovice, a.s.. Dle informací MUDr. A. Bebjaka z Fakultní nemocnice v Plzni postupují při podezření na nákazu WNV v souladu s vyhláškou č. 233/2011 Sb.. Při podezření na nákazu odeberou biologický materiál a odešlou ho do NRL pro arboviry. Dochází k tomu hlavně u cestovatelů pobývajících v rizikových oblastech. Vyšetření se dle informací

MUDr. A. Bebjaka automaticky provádí i při podezření na infekci jiným flavivirem, kvůli odlišení protilátkové křížové reakce, např. při podezření na dengue nebo japonskou encefalitidu. V souladu s vyhláškou č. 233/2011 Sb. postupují i v nemocnici v Českých Budějovicích, kde tuto informaci potvrdil MUDr. V. Chmelík. Vyšetření se zde provádí v případě nejasného horečnatého onemocnění s pozitivní cestovatelskou anamnézou a při podezření na nákazu jinými flaviviry.

Jelikož vyhláška č. 233/2011 Sb. nepřikazuje využití NRL pro arboviry, ani nezakazuje použití jiné laboratoře pro potvrzení infekce WNV, bylo dále zjišťováno, zda nějaká soukromá laboratoř v Plzni nebo Českých Budějovicích poskytuje laboratorní diagnostiku WNV. Pouze jedna oslovená mikrobiologická a sérologická laboratoř potvrdila, že toto vyšetření provádí. Jednalo se o soukromou laboratoř Synlab v Plzni. Dle vyjádření G. Kinclové, laboratoř Synlab vyšetření WNV provádí v centrální laboratoři v Praze. Pobočka laboratoře se nachází i v Českých Budějovicích.

12.6 Výzkumná otázka 5

Bylo v roce 2014 v koňských chovech v ČR zjištěno více pozitivních výsledků při testování na přítomnost protilátek proti WNV než v roce 2013?

Sledování promořenosti koňských chovů je důležité z několika aspektů. Jednak jsou koně na onemocnění způsobené WNV velmi citliví, za druhé je nutné zdůraznit, že propuknutí epidemií u koní probíhalo ve většině zemí v odstavu několika let před propuknutím epidemie u lidí. Sérologická surveillance koňských sér je součástí surveillance WNF v ČR. Bylo zkoumáno, zda došlo mezi roky 2013 a 2014 ke změně počtu pozitivních výsledků při testování na přítomnost látek proti WNV u koní.

Krevní vzorky koní se zasílají v období ledna až března daného roku do státních veterinárních ústavů na běžné sérologické vyšetření, poté jsou odstředěny a zamrazeny. V průměru se za uvedené období archivuje asi 7000 krevních sér koní z celé České republiky. Z nich Státní veterinární správa ČR vybere 783 vzorků (1 vzorek na 100 km²) k vyšetření na přítomnost protilátek proti WNV.

Každý rok je těchto 783 sér koní vyšetřeno komerčním testem cELISA na přítomnost protilátek proti WNV. Vzorky pozitivně reagující v ELISA testech jsou zaslány na konfirmační vyšetření virus neutralizačním testem (VNT) do NRL pro arboviry ve Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě. Vzorky reagující pozitivně ve VNT s virem WNV, jsou souběžně vyšetřeny na přítomnost protilátek proti viru klíšťové encefalitidy (TBEV), konfirmačním VNT. Konfirmační vyšetření je provedeno v NRL pro arboviry ve Zdravotním ústavě v Ostravě.

Výsledky vyšetření 2013

V roce 2013 reagovalo pozitivně v cELISA testu 11,8% (93/783) vyšetřených vzorků sér. Z celkem 93 vzorků sér vyšetřených VNT na přítomnost protilátek proti viru WNV reagovalo pozitivně 5 vzorků (v titru 16, 64, 128 a 1024 (2x)), jeden vzorek reagoval dubiózně (titr 4). Autochtonní infekce WNV proběhla u jediného koně, který nebyl přemísťován ani v rámci ČR (WNV titr 64, TBEV negativní). Tři koně s nejvyššími titry protilátek proti WNV (1024 (2x) a 128) byly TBEV sérologicky negativní, pocházeli

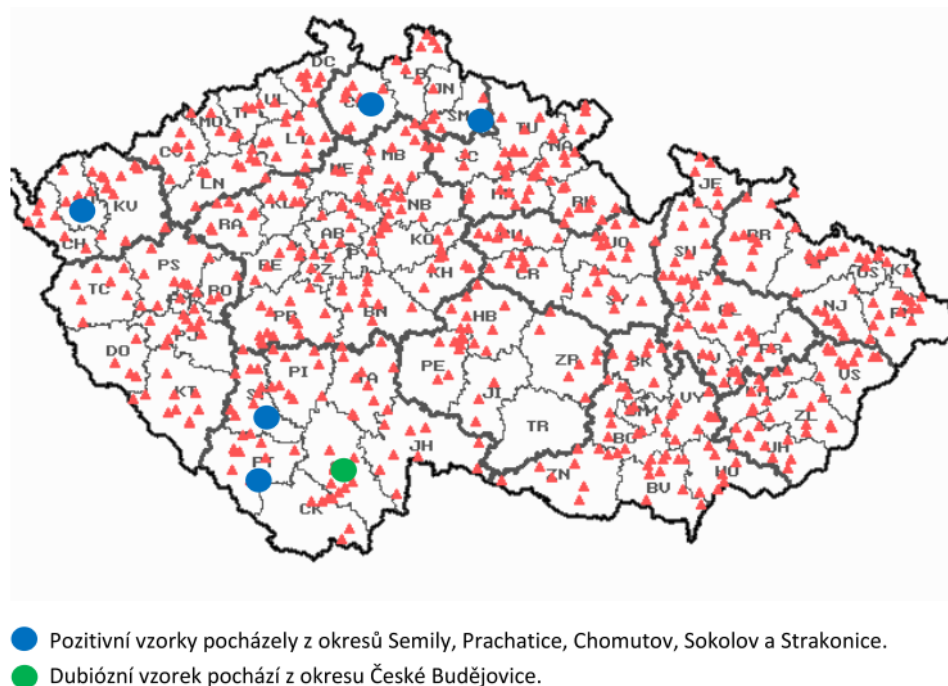
z USA, Německa a Nizozemí. Kůň reagující s WNV dubiálně byl do ČR dovezen z Německa. Jeden kůň s WNV titrem 16 reagoval souběžně s TBEV v titru 64⁶².

Tab. č. 2: WNV pozitivní koně v roce 2013

Rok	Titř WNV	Titř TBEV	Lokalita	Původ koně a historie přesunů
2013	1024	negativní	Turnov, okr. Semily	Narozen v Německu, do ČR přesunut v roce 2012, přesuny po ČR, účast na závodech v Rakousku a Německu
2013	1024	negativní	Tvrzice, okr. Prachatice	Narozen v USA (Texas), v letech 2006-2011 v Rakousku, od 2012 přesun do ČR
2013	128	negativní	Chomutov	Narozen v Nizozemí, od roku 2011 v ČR, přesuny po závodech v ČR
2013	64	negativní	Rudolec, okr. Sokolov	Narozen v ČR, bez přesunů
2013	16	64	Rovná, okr. Strakonice	ČR Narozen v ČR, přesuny po ČR
2013	4	negativní	České Budějovice	Narozen v Německu, 2013 dovoz do ČR

Zdroj: (SVS, 2013)

Obr. č. 2: Mapa odebraných vzorků a výsledků vyšetření na WNV v 2013

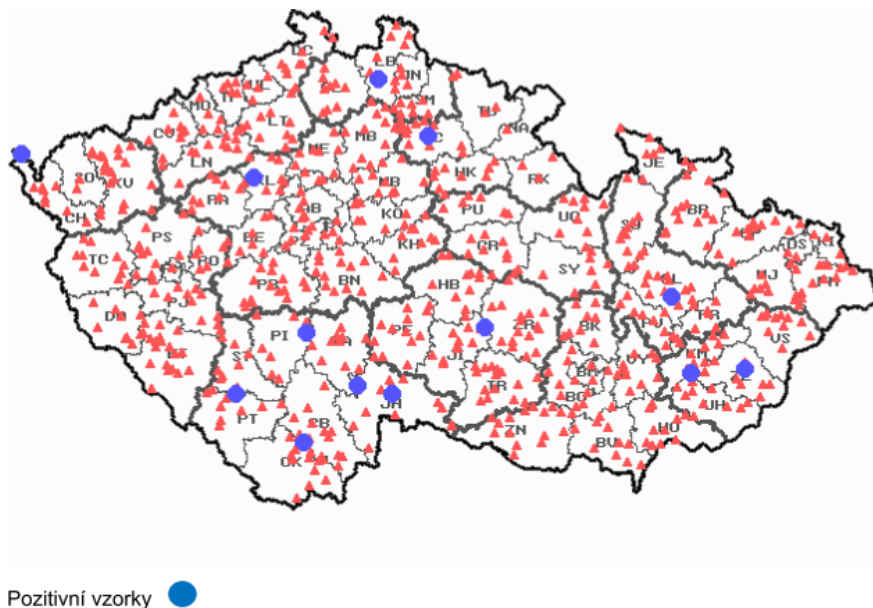


Zdroj: (SVS, 2013)

Výsledky vyšetření 2014

Celkem 93 sér ze 783 (11,9%) vyšetřených reagovalo pozitivně v cELISA s antigenem WNV. Z celkového počtu 93 vzorků sér vyšetřených VNT na přítomnost protilátek proti viru WNV reagovalo pozitivně 13 vzorků (v titru 4-1024). Většina WNV pozitivních vzorků reagovala pozitivně i v neutralizačním testu s TBEV. Osm vzorků vykazovalo vyšší titr protilátek proti TBEV než WNV, pravděpodobně se jedná pouze o křížovou reakci po infekci virem TBEV. Dalších pět vzorků vykazovalo titr protilátek proti WNV vyšší, než titr proti TBEV. Ve všech případech bylo dalším šetřením prokázáno, že se jedná o dovezené koně z USA, Slovenska a Itálie (u jednoho případu byla potvrzena opakovaná vakcinace proti WNV)⁷³.

Obr. č. 3: Mapa odebraných vzorků a výsledků vyšetření na WNV v 2014



Zdroj: (SVS, 2014)

S odkazem na interpretované informace bylo v roce 2014 v koňských chovech v ČR zjištěno více pozitivních výsledků při testování na přítomnost protilátek proti WNV, než v roce 2013.

V roce 2013 i 2014 z 783 testovaných koní celkem 93 sér (11,9%) vyšetřených reagovalo pozitivně v cELISA s antigenem WNV. V roce 2013 z 93 sér 5 vzorků vyšetřených VNT na přítomnost protilátek proti viru WNV reagovalo pozitivně, jeden vzorek reagoval dubiózně. V roce 2014 z 93 sér 13 vzorků vyšetřených VNT na přítomnost protilátek proti viru WNV reagovalo pozitivně. V roce 2013 proběhla autochtonní infekce WNV u jediného koně, který nebyl přemístěn ani v rámci ČR. Tři koně s nejvyššími titry protilátek proti WNV pocházeli z USA, Německa a Nizozemí. Kůň reagující s WNV dubiózně byl do ČR dovezen z Německa. V roce 2014 bylo ve všech případech dalším šetřením prokázáno, že se jedná o dovezené koně z USA, Slovenska a Itálie (u jednoho případu byla potvrzena opakovaná vakcinace proti WNV).

V tabulce č. 3 jsou znázorněny výsledky serologického vyšetření sér na WNV pozitivitu u koní od roku 2011, kdy se začalo sledování protilátek provádět, do roku

2014. Tabulka názorně ukazuje, že počet séropozitivních koní v roce 2014 se rapidně zvýšil.

Tab. č. 3: Výsledky serologického vyšetření na WNV pozitivitu u koní 2011-2014

rok	Počet vyšetřených sér	Reagovalo s antig. WNT	Počet pozitivních
2011	783	98	5
2012	783	80	4
2013	783	93	5
2014	783	93	13

13 Diskuze

Ve své diplomové práci jsem si stanovila pět cílů.

Prvním cílem bylo prozkoumat měnící se globální epidemiologickou situaci v závislosti na změně klimatu a zmapovat trendy změn epidemiologické situace. Změnu globální epidemiologické situace jsem zkoumala pomocí studia literatury a vědeckých článků.

Druhým cílem bylo zjistit, zda existují rozdíly v geografické distribuci výskytu WNV ve světě v období let 2004-2014 pro svět, Evropu a ČR.

Třetím cílem bylo navrhnout možnosti zlepšení prevence při měnící se geografické distribuci.

Čtvrtým cílem této práce bylo zjistit, zda se v plzeňských a českobudějovických zdravotnických zařízeních rutinně vyšetřuje záchyt nákazy WNV.

Pátým cílem bylo analyzovat promořenost koňských chovů WNV v ČR.

Na základě definovaných cílů jsem si stanovila pět výzkumných otázek.

První výzkumná otázka byla zaměřena na analýzu šíření výskytu onemocnění vyvolaného WNV vlivem měnícího se klimatu.

Dalším faktorem podporujícím introdukci na nová místa v závislosti na změnách klimatu je široké spektrum vektorů, které WNV používá ke svému přenosu. WNV byl izolován z více než 60 druhů komárů. Z toho velkého množství vyplývá, že virus je schopen se za příznivých klimatických podmínek rozšířit téměř kdekoliv.

Virus byl zjištěn až u 1300 druhů ptáků. Napadá místní, migrující i nepůvodní druhy. Každý z těchto druhů má jiné nároky na klima. Různé druhy ptáků vytváří taktéž různou hladinu virémie. Se změnou klimatu se mohou rozšířit na nová místa druhy, které vyvíjejí vyšší hladinu virémie, ve většině případů jde o druhy, které se v minulosti s virem nesetkaly a nemohly si tak vytvořit dostatečný obranný mechanismus.

Tyto druhy se mohou na nových územích objevovat, buď díky změně migračních tras způsobené změnou klimatu, nebo mohou být dovezeny na území legálním/nelegálním dovozem exotického ptactva. Tyto nové druhy se mohou na novém území vlivem změny klimatu stát endemickými. K rezervoárovým zvířatům mohou podle nových studií patřit i jiná zvířata než jsou ptáci. Jde například o různé druhy obojživelníků, plazů nebo drobných savců. I tyto druhy mohou být na nová území introdukována pomocí dovozu a působením změn klimatu se mohou na těchto místech stát endemickými.

Důležité pro vznik onemocnění u lidí je přítomnost vektora, který saje krev jak na ptačím rezervoárovém organismu, tak na člověku. Dle dostupných informací jsou vhodné druhy vektorů a rezervoárových organismů distribuovány téměř po celém světě. K distribuci vektorů dochází převážně díky rozvinuté letecké dopravě, která podporuje mezinárodní obchod s různými předměty. Tyto předměty mohou obsahovat vajíčka nebo larvy daných vektorů.

Změny klimatu podporují přežívání nemístních druhů komárů a prodlužují jejich sezónní přežívání. Díky tomuto se mění rozšíření onemocnění způsobené WNV v průběhu roku. Změny klimatu v mírném pásu způsobují rostoucí teploty během zimního období, což umožňuje přezimování vektorů a tím i k přežívání viru ve vektorech. Díky vyšším teplotám v jarním období se může virus začít dříve a rychleji replikovat a přecházet tak dříve na člověka.

Dalším pravděpodobným jevem, který může mít za následek šíření výskytu onemocnění je mutace viru. V důsledku mutace se objevují a šíří nové varianty, které se lépe přizpůsobují změnám klimatických podmínek. Například vysoce virulentní kmeny linie 1 obsahují mutaci pro zvýšení tepelné stability. Tato mutace je také přítomna ve většině nově identifikovaných vysoce virulentních kmenů linie 2. Virus se proto účinněji replikuje ve vektoru při vyšší teplotě a po infekci dříve napadá slinné žlázy vektora. Podíl komárů infikovaných virem s touto mutací se zvyšuje rychleji než infikovaných bez této mutace. Další mutace mohou zvýšit odolnost viru vůči teplotě, tím pádem se může účinněji replikovat. Virus, který získal a udržel si alespoň jednu

významnou mutaci, která byla příčinou zvýšené vektorové kompetence a lepší přenosové dynamiky v teple, se stal úspěšnějším z hlediska šíření na nová místa.

Tabulka č. 1 znázorňuje šíření onemocnění na nová území, která mohou být dána do souvislosti se změnou klimatu.

Dle více studií dochází díky změně klimatu k posunu všech článků epidemiologického přenosu do míst, kde se dříve nevyskytovaly. Z původních tropických míst se šíří dále na sever, v Evropě již dosáhly vektorů severního polárního kruhu, v Kanadě úroveň Velkých planin. Současné rozšíření viru je znázorněno na obrázku č. 1.

Druhá výzkumná otázka byla zaměřena na zjištění, zda hlášené případy WNF v ČR nesouvisí s pohybem nakažených osob v zahraničí.

Doposud byly v ČR hlášeny čtyři případy onemocnění WNF, z toho se u třech osob prokázala souvislost s cestovatelskou anamnézou. K importům došlo jednou v roce 2002 a dvakrát v roce 2007. V roce 2014 byl zjištěn jeden autochtonní případ onemocnění WNF.

Třetí výzkumná otázka zkoumala, zda hlášené importované případy onemocnění WNF měly cestovatelskou anamnézu zahrnující návštěvu rizikové země.

První import onemocnění do ČR proběhl v roce 2002, kdy cestovatelská anamnéza nemocné osoby zahrnovala turistický pobyt v USA. Další dva importy onemocnění v roce 2007 pocházely z Tanzanie a Kypru.

Čtvrtá výzkumná otázka se snažila zjistit, zda je alespoň v jednom plzeňském a českobudějovickém zdravotnickém zařízení prováděno vyšetření na záchyt nákazy WNV.

Výzkumná otázka byla definována, před započítáním studia WNV a WNF v tomto znění: „*Je prováděno alespoň v jednom plzeňském a alespoň v jednom českobudějovickém zdravotnickém zařízení vyšetření na záchyt nákazy WNV?*“. Bylo zjištěno, že vyšetření na záchyt nákazy WNV je ošetřen vyhláškou č. 233/2011 Sb., kterou se mění vyhláška č. 473/2008 Sb. o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce, ve znění vyhlášky č. 275/2010 Sb.. Tato vyhláška stanovuje, jak

by se mělo postupovat v případě podezření na nákazu WNV. Vyhláška nepřikazuje využití NRL pro arboviry ani nezakazuje použití jiné laboratoře pro potvrzení infekce WNV.

Bylo zjištěno, že nemocnice v Plzni a Českých Budějovicích respektují tuto vyhlášku. Zmíněná zařízení odeberou při podezření na nákazu biologický materiál a odešlou ho do Národní referenční laboratoře. Poté byl zadán druhý dotaz, který zjišťoval, za jakých podmínek pracoviště v obou nemocnicích zasílají vzorek k laboratornímu průkazu. Odpověděl pouze MUDr. A. Bebjak z Fakultní nemocnice v Plzni: *„dochází k tomu hlavně u cestovatelů pobývajících v rizikových oblastech. Vyšetření se automaticky dělá i při podezření na infekci jiným flavivirem na odlišení protilátkové křížové reakce, např. při dengue nebo japonské encefalitidě.“*

Výzkum byl rozšířen na soukromé laboratoře v Plzni a Českých Budějovicích. V oslovených mikrobiologických a sérologických soukromých laboratořích v těchto dvou městech diagnostiku WNV neprovádí. Jedna soukromá laboratoř s centrálou v Praze a pobočkami v různých městech ČR, včetně Plzně a Českých Budějovic diagnostiku WNV provádí, ale všechny vzorky na diagnostiku WNV z celé republiky se odesílají do centrální laboratoře v Praze.

Pátá výzkumná otázka zjišťovala promořenost koňských chovů WNV pomocí analýzy výsledků testování koňských sér v ČR v roce 2013 a 2014.

V roce 2013 bylo prokázáno 5 WNV pozitivních sér koní, zatímco v roce 2014 bylo těchto pozitivních sér 13, z celkového počtu 783 testovaných.

Tabulka č. 2 charakterizuje případy WNV pozitivních koní v roce 2013, titr WNV, titr TBEV lokalitu chovu, původ a historii přesunů koní. V roce 2013 byla autochtonní infekce WNV zjištěna u jediného koně. Tři koně s nejvyššími titry protilátek proti WNV byli dovezeni z USA, Německa a Nizozemí. Obrázek č. 2 znázorňuje geografické rozložení pozitivních vzorků vyšetření WNV v roce 2013. Pozitivní vzorky pocházely z okresů Semily, Prachatice, Chomutov, Strakonice a Semily. Dubiózní vzorek pocházel z okresu České Budějovice.

V roce 2014 nebyl hlášen žádný případ autochtonního onemocnění, všechny případy se týkaly koní dovezených ze zahraničí (USA, Slovenska a Itálie). Opakovaná vakcinace proti WNV byla potvrzena u jednoho případu. Obrázek č. 3 ilustruje místo výskytu vzorků pozitivních na WNV v roce 2014. Pozitivní případy byly zachyceny v kraji Královehradeckém, Libereckém, Karlovarském, Středočeském, Jihočeském, Olomouckém, Zlínském a Vysočina.

V tabulce č. 3 jsou znázorněny výsledky sérologického vyšetření na WNV pozitivitu u koní od roku 2011, kdy se začalo sledování protilátek provádět, do roku 2014. Mezi roky 2011 až 2013 se počet séropozitivních koní pohyboval v rozmezí 4-5 případů. V roce 2014 bylo těchto séropozitivních již 13.

Závěr

Tématem mé diplomové práce byla problematika globální změny epidemiologické situace Západonilské horečky a surveillance v ČR.

V práci byly využity informace o změnách globální epidemiologické situace, které jsem získala z odborných publikovaných článků, z dat uveřejněných Americkým střediskem pro kontrolu onemocnění (CDC) a Evropským střediskem pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC). Data o výskytu Západonilské horečky ve světě byly vyhledány v odborných publikovaných článcích, CDC a ECDC. Údaje o výskytu Západonilské horečky v ČR byly získány ze Státního zdravotního ústavu Praha a z Krajské hygienické stanice Moravskoslezského kraje se sídlem v Ostravě, územního pracoviště v Karviné. Počty vyšetřených pozitivních sér koní byly získány od Státní veterinární správy.

Zvyšující se nebezpečnost onemocnění vyvolané virem Západonilské horečky je způsobena změnou klinického obrazu. Dochází především k nárůstu počtu neuroinvasivní formy onemocnění. Tyto případy onemocnění mají komplikovanější průběh, často zanechávají následky a mohou končit smrtí.

Virus, šířící toto nebezpečné onemocnění, je díky změně klimatu a globalizaci distribuován na nová území. Pomocí kvalitní surveillance a vhodného epidemiologického opatření lze šíření viru zabránit, nebo ho alespoň zpomalit.

Výzkum potvrdil, že dochází ke globálním změnám epidemiologické situace Západonilské horečky. Rozšiřování viru je vyvoláno především změnou distribuce jak vektorů, tak rezervoárových hostitelů. Změna distribuce je ovlivněna především změnou klimatu a rostoucí globalizací.

Změny klinického obrazu jsou důsledkem infikování organismů a populací, které se historicky s virem dosud neseťkaly. Změna epidemiologické situace také může být způsobena nedostatečnou surveillance v zemích bez dosavadního výskytu viru Západonilské horečky.

Cílem této práce bylo analyzovat geografické změny distribuce výskytu WNV v období 2004-2014. Z uvedených dat vyplývá, že ke změnám distribuce WNV docházelo především vlivem meziroční změny počasí. Největší výskyt se objevil po mírných zimách následovaných vlhčím jarem a poté teplotně extrémním létem. Na změny distribuce WNV měl vliv i průběh výskytu WNV v předchozím roce.

Dalším cílem bylo navrhnout možnosti zlepšení prevence při měnící se geografické distribuci. Co se týče prevence, vzhledem k tomu, že účinná vakcína pro humánní použití zatím není k dispozici, je vhodné provádět epidemiologickou surveillance zahrnující kontrolu populace komářích vektorů, volně žijících obratlovců a jejich protilátek k WNV, dále uhynulých a nemocných divokých ptáků, monitoring domácích ptáků a také šetření lidských a koňských onemocnění WNV. Dále je nutné realizovat osvětu obyvatel endemických oblastí, která se zaměří na informace o způsobu přenosu nákazy a možnostem snížení rizika nákazy např. používáním repelentů, sítěmi proti komárům, případně zmenšení jejich populace pomocí larvicidních baktericidů. Na území ČR je především potřeba provádět dostatečnou osvětu osob cestujících do endemických zemí. Rizikovými zeměmi pro české turisty mohou být USA, Mexiko, Izrael, Řecko, Itálie nebo Španělsko. Vědomosti o onemocnění způsobeném WNV jsou u obyvatel ČR nedostatečné. Většina osob z mého okolí neměla o existenci viru Západonilské horečky žádné povědomí. Jen pár jedinců o viru někdy slyšelo, jednalo se většinou o pracovníky Krajských hygienických stanic. Někteří onemocnění znali jen díky spojení se známou osobou Pavlem Novým, který se tímto virem nakazil na Kypru v roce 2007. Jedná se o případ popsáný v části věnované importům, konkrétně import z Kypru v roce 2007. Na základě tohoto zjištění usuzuji, že informovanost obyvatel ČR je nedostatečná a měli by být o nemoci, způsobech přenosu nákazy a zemích s rizikem nákazy lépe informováni. Turistům by tyto informace ve srozumitelné formě měly podávat cestovní kanceláře. Dále by mohly turisty více informovat i očkovací centra. Osobně jsem několikrát navštívila očkovací centra v souvislosti s cestou do WNV rizikové oblasti. O možnosti této nákazy jsem nikdy informována nebyla. Podobné zkušenosti mají i moji známí, kteří cestovali např. do USA. Ostatní obyvatele by bylo

možné blíže seznámit s danou problematikou např. medializací případu Pavla Nového, doplněného o nová fakta týkající se šíření viru a možnostmi preventivní ochrany.

S ohledem na vyhlášku č. 233/2011 Sb., kterou se mění vyhláška č. 473/2008 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce, ve znění vyhlášky č. 275/2010 Sb., je vyšetření na záchyt viru Západonilské horečky prováděno především Národní referenční laboratoří pro arboviry Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě. Vyhláška 233/2011 přímo nepřikazuje využití Národní referenční laboratoře pro arboviry. Vzhledem k možnému rozšíření viru na našem území v následujících letech by bylo vhodné rozšíření služeb soukromých mikrobiologických nebo sérologických laboratoří o toto vyšetření.

K základním prvkům veterinární surveillance Západonilské horečky na našem území se řadí sledování titru protilátek proti WNV v séru koní, které provádí od roku 2011 Státní veterinární ústav v Praze. Výsledky sérologických vyšetření v předchozích letech jednoznačně potvrdili přítomnost WNV na území několika krajů ČR. V letech 2011 až 2013 reagovalo pozitivně 4-5 vzorků z celkového počtu 783 vyšetřených. V roce 2014 byl již počet WNV pozitivních koní v neutralizačním testu 13 (ze 783). Jednoznačně WNV séropozitivní byly vždy importovaná nebo vakcinovaná zvířata. V roce 2014 nebyl potvrzen ani jeden případ autochtonní infekce u koní. Analýza provedená mezi lety 2011 a 2014 prokazuje WNV séropozitivní koně v sedmi krajích ČR. V pěti případech se jednalo o autochtonní infekci WNV. Čtyři koně z lokalit v okresech Břeclav, Český Krumlov, Mnichovo Hradiště a Sokolov nebyly vůbec přesouváni. Různá geografická distribuce koní a vysoké měrné titry protilátek dle veterinářů naznačují rostoucí aktivitu viru v ČR a možné rozšíření Západonilské horečky do nových oblastí.

Jelikož ve sledovaném období došlo k šíření viru Západonilské horečky na nová území, je nutné věnovat této problematice dostatečnou pozornost, především tam, kde doposud nedošlo k masivnímu výskytu onemocnění způsobené tímto virem. Tyto země by měly využít zkušenosti zemí se surveillance a provádění prevence od zemí, kde výskyt WNV trvá již delší dobu a ve větším měřítku.

K zabránění šíření onemocnění je třeba dodržovat preventivní i represivní opatření a rozšiřovat fungující vzor surveillance Západonilské horečky do ostatních zemí.

Vzhledem k extrémnímu počasí v roce 2015 se dá předpokládat dopad tohoto klimatu na rozšíření viru v následujících letech na nová území.

Onemocnění vyvolané virem Západonilské horečky se jeví jako aktuální hrozba, na kterou je nutné včas a efektivně zareagovat.

Seznam použité literatury

1. JIMÉNEZ-CLAVERO, Miguel Á. Animal viral diseases and global change: bluetongue and West Nile fever as paradigms. *Frontiers in genetics*, 2012, 3.
2. MURRAY, Kristy O.; MERTENS, Eva; DESPRÈS, Philippe. West Nile virus and its emergence in the United States of America. *Veterinary research*, 2010, 41.6: 67.
3. BRANDLER, Samantha; TANGY, Frederic. Vaccines in development against West Nile virus. *Viruses*, 2013, 5.10: 2384-2409.
4. LÁSIKOVÁ, Šárka — MORAVCOVÁ, L. — PÍCHA, Dušan — HOROVÁ, Blanka. Virus západonilské horečky (West Nile virus). *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie*, 2006, Roč. 55, č. 2, s. 59-62. ISSN: 1210-7913.
5. Chalupa P, Smith JW, Holub M. Klinická a epidemiologická problematika západonilské horečky. *Neurologie pro praxi*, 2008;9(2):109-111, ISSN 1213-1814.
6. PLATONOV, Alexander E., et al. The incidence of west nile disease in russia in relation to climatic and environmental factors. *International journal of environmental research and public health*, 2014, 11.2: 1211-1232.
7. PAZ, Shlomit; SEMENZA, Jan C. Environmental drivers of West Nile fever epidemiology in Europe and Western Asia—A review. *International journal of environmental research and public health*, 2013, 10.8: 3543-3562.
8. SAMBRI, V., et al. West Nile virus in Europe: emergence, epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Clinical Microbiology and Infection*, 2013, 19.8: 699-704.
9. MAŘAR, Rastislav. Západonilská horečka už i blízko nás. *Očkování a cestovní medicína*. Praha: Ambit Media, 2011, 2(1): 37-38. ISSN 1804-493x.
10. COLBORN, James M., et al. West Nile Virus Outbreak in Phoenix, Arizona-2010: Entomological Observations and Epidemiological Correlations. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 2013, 29.2: 123-132.

11. CHEN, Chen C., et al. Climate change and West Nile virus in a highly endemic region of North America. *International journal of environmental research and public health*, 2013, 10.7: 3052-3071.
12. MANN, Brian R., et al. Molecular epidemiology and evolution of West Nile virus in North America. *International journal of environmental research and public health*, 2013, 10.10: 5111-5129.
13. GREŠÍKOVÁ, M., et al. Haemagglutination-inhibiting antibodies to some arboviruses in human and animal sera from České Budějovice. *Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa. Hyg Inst Univ, Graz-Seggau*, 1979, 25-29.
14. JUŘICOVÁ, Z., et al. Virologické vyšetření kormoránů na arboviry. *Vet Med*, 1993, 38: 375-379.
15. HUBÁLEK, Zdeněk; KRÍZ, Bohumír; HALOUZKA, Jiří. Serologic survey of humans for Flavivirus West Nile in southern Moravia (Czech Republic). *Cent Eur J Public Health*, 2011, 19.3: 131-133.
16. Chalupa P. Diagnostikujeme správně infekci virem West Nile? *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie*. 2007;70/103(5):544-546.
17. ULBERT, Sebastian. West Nile virus: The complex biology of an emerging pathogen. *Intervirology*, 2011, 54.4: 171-184.
18. PAPA, Anna. West Nile virus infections in humans—Focus on Greece. *Journal of Clinical Virology*, 2013, 58.2: 351-353.
19. REISEN, William K. Ecology of West Nile virus in North America. *Viruses*, 2013, 5.9: 2079-2105.
20. CHRISTOFFERSON, Rebecca C.; ROY, Alma F.; MORES, Christopher N. Research Factors associated with mosquito pool positivity and the characterization of the West Nile viruses found within Louisiana during 2007. 2010.
21. LAPERRIERE, Vincent; BRUGGER, Katharina; RUBEL, Franz. Simulation of the seasonal cycles of bird, equine and human West Nile virus cases. *Preventive veterinary medicine*, 2011, 98.2: 99-110.
22. ARNOLD, Carrie. West Nile virus bites back. *The Lancet Neurology*, 2012, 11.12: 1023-1024.

23. PÍCHA, D., MORAVCOVÁ, L. Aktuality v oblasti neuroinfekcí. 2010. Příloha: Lékařské listy, roč, 60, č. 9, s. 30-32. ISSN 0044-1996
24. BEASLEY, David WC. Vaccines and immunotherapeutics for the prevention and treatment of infections with West Nile virus. *Immunotherapy*, 2011, 3.2: 269-285.
25. KILPATRICK, A. Marm. Globalization, land use, and the invasion of West Nile virus. *Science*, 2011, 334.6054: 323-327.
26. CARSON, Paul J., et al. Long-term clinical and neuropsychological outcomes of West Nile virus infection. *Clinical infectious diseases*, 2006, 43.6: 723-730.
27. ŠPLIŇO, Miroslav. Perzistující infekce West-Nile viru. *Vakcinologie*. Praha: Medakta, 2010, 4(2): 88. ISSN 1802-3150.
28. HOLEČKOVÁ, Daniela, Lenka MORAVCOVÁ a Dušan PÍCHA. Laboratorní diagnostika novějších neuroinfekcí. *Postgraduální medicína: odborný časopis pro lékaře*. Praha: Strategie, 2006, 8(3): 319-322. ISSN 1212-4184.
29. DRÁBKOVÁ, Jarmila. Západonilský virus a šířící se hrozba neuroinvazivní epidemie. *Referátový výběr z anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny*. 2012. Praha: Národní lékařská knihovna, 2011. ISSN 1212-3048.
30. HAVLÍK, Jiří. Může dojít k epidemii západonilské horečky i ve střední Evropě? *Interní medicína pro praxi*. Březsko: Solen, 2004, 6(12): 612-6013. ISSN 1212-7299.
31. MAĎAR, Rastislav. Západonilská horečka už i blízko nás. *Očkování a cestovní medicína*. Praha: Ambit Media, 2011, 2(1): 37-38. ISSN 1804-493x.
32. REITER, P. West Nile virus in Europe: understanding the present to gauge the future. *Euro Surveill*, 2010, 15.10: 19508.
33. SUTHAR, Mehul S.; DIAMOND, Michael S.; GALE JR, Michael. West Nile virus infection and immunity. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11.2: 115-128.
34. LIM, Stephanie M., et al. West Nile virus: immunity and pathogenesis. *Viruses*, 2011, 3.6: 811-828.
35. BARZON, Luisa, et al. The complex epidemiological scenario of West Nile virus in Italy. *International journal of environmental research and public health*, 2013, 10.10: 4669-4689.

36. ANDREADIS, Theodore G. The contribution of *Culex pipiens* complex mosquitoes to transmission and persistence of West Nile virus in North America. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 2012, 28.4s: 137-151.
37. ROIZ, David, et al. Blood meal analysis, flavivirus screening, and influence of meteorological variables on the dynamics of potential mosquito vectors of West Nile virus in northern Italy. *Journal of Vector Ecology*, 2012, 37.1: 20-28.
38. CALZOLARI, Mattia, et al. Mosquito, bird and human surveillance of West Nile and Usutu viruses in Emilia-Romagna Region (Italy) in 2010. *PLoS One*, 2012, 7.5: e38058.
39. GODSEY, Marvin S., et al. Ecology of potential West Nile virus vectors in Southeastern Louisiana: enzootic transmission in the relative absence of *Culex quinquefasciatus*. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 2013, 88.5: 986-996.
40. LEE, Su Hyun, et al. The effects of climate change and globalization on mosquito vectors: evidence from Jeju Island, South Korea on the potential for Asian Tiger Mosquito (*Aedes albopictus*) influxes and survival from Vietnam rather than Japan. *PloS one*, 2013, 8.7: e68512.
41. RUDOLF, Ivo, 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: 2-5.
42. RADROVA, Jana; SEBLOVA, Veronika; VOTYPKA, Jan. Feeding behavior and spatial distribution of *Culex* mosquitoes (Diptera: Culicidae) in wetland areas of the Czech Republic. *Journal of medical entomology*, 2013, 50.5: 1097-1104.
43. GOMES, Bruno, et al. The *Culex pipiens* complex in continental Portugal: distribution and genetic structure. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 2012, 28.4s: 75-80.
44. MORIN, Cory W.; COMRIE, Andrew C. Modeled response of the West Nile virus vector *Culex quinquefasciatus* to changing climate using the dynamic mosquito simulation model. *International journal of biometeorology*, 2010, 54.5: 517-529.

45. ROTH, David, et al. West Nile virus range expansion into British Columbia. *Emerging infectious diseases*, 2010, 16.8: 1251.
46. GONG, Hongfei; DEGAETANO, Arthur T.; HARRINGTON, Laura C. Climate-based models for West Nile Culex mosquito vectors in the Northeastern US. *International journal of biometeorology*, 2011, 55.3: 435-446.
47. DEICHMEISTER, Jayne M.; TELANG, Aparna. Abundance of West Nile virus mosquito vectors in relation to climate and landscape variables. *Journal of Vector Ecology*, 2011, 36.1: 75-85.
48. BROWN, L.; MEDLOCK, J.; MURRAY, V. Impact of drought on vector-borne diseases—how does one manage the risk?. *Public health*, 2014, 128.1: 29-37.
49. LARSON, Scott R., et al. Ecological niche modeling of potential West Nile virus vector mosquito species in Iowa. *Journal of Insect Science*, 2010, 10.1: 110.
50. CHEN, Chen-Chih, et al. Modeling monthly variation of Culex tarsalis (Diptera: Culicidae) abundance and West Nile Virus infection rate in the Canadian Prairies. *International journal of environmental research and public health*, 2013, 10.7: 3033-3051.
51. JANSEN, Cassie C.; RITCHIE, Scott A.; VAN DEN HURK, Andrew F. The role of Australian mosquito species in the transmission of endemic and exotic West Nile virus strains. *International journal of environmental research and public health*, 2013, 10.8: 3735-3752.
52. BOSCO-LAUTH, Angela, et al. West Nile Virus Isolated from a Virginia Opossum (*Didelphis virginiana*) in Northwestern Missouri, USA, 2012. *Journal of wildlife diseases*, 2014, 50.4: 976-978.
53. MACHAIN-WILLIAMS, Carlos, et al. Antibodies to West Nile virus in wild and farmed crocodiles in southeastern Mexico. *Journal of wildlife diseases*, 2013, 49.3.
54. MAĎAR, Rastislav. Epidemie ve světě. *Očkování a cestovní medicína*. Praha: Ambit Media, 2012, 3(2). ISSN 1804-493x.
55. CROWDER, David W., et al. West nile virus prevalence across landscapes is mediated by local effects of agriculture on vector and host communities. *PLoS One*, 2013, 8.1: e55006.

56. Transmission. *Centers for Disease Control and Prevention* [online]. 2015, 12.1.2015 [cit. 2015-08-02]. Dostupné z: <http://www.cdc.gov/westnile/transmission/index.html>
57. WANG, Guiming, et al. Dry weather induces outbreaks of human West Nile virus infections. *BMC infectious diseases*, 2010, 10.1: 38.
58. JOHNSON, B. J.; SUKHDEO, M. V. K. Drought-induced amplification of local and regional West Nile virus infection rates in New Jersey. *Journal of medical entomology*, 2013, 50.1: 195-204.
59. SHAMAN, Jeffrey; HARDING, Kerri; CAMPBELL, Scott R. Meteorological and hydrological influences on the spatial and temporal prevalence of West Nile virus in *Culex* mosquitoes, Suffolk County, New York. *Journal of medical entomology*, 2011, 48.4: 867-875.
60. Epidemiologická surveillance a její využití v ČR: (EPIDAT). FABIÁNOVÁ, Kateřina. *Slideplayer* [online]. 2011 [cit. 2015-08-04]. Dostupné z: <http://slideplayer.cz/slide/3175116/>
61. GINSBERG, Howard S.; ROCHLIN, Ilia; CAMPBELL, Scott R. The use of early summer mosquito surveillance to predict late summer West Nile virus activity. *Journal of Vector Ecology*, 2010, 35.1: 35-42.
62. STÁTNÍ VETERINÁRNÍ SPRÁVA,. Západonilská horečka. *Zpráva o činnosti v oblasti ochrany zdraví zvířat v roce 2013* [online]. 2014, (2): 60-62 [cit. 2015-08-03]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/302683/zprava_o_cinnosti_v_2013.pdf
63. MINÁŘ, J., HALGOŠ J.. Zoogeographically significant mosquitoes in the territory of Bohemia and Slovakia. *Dipterologica bohemoslovaca* 8 (1997): 129-132.
64. HUBÁLEK Z., RUDILF I., BAKONYI T., KAZDOVÁ K., HALOUZKA J., ŠEBESTA O., ŠIKUTOVÁ S., JUŘICOVÁ Z., NOWOTNÝ N.: Mosquito (Diptera: Culicidae) surveillance for arboviruses in an area endemic for West Nile (lineage: Rabensburg) and Ťahyňa viruses in central Europe. *J. Med. Entomol.* 2010, 47:46672

65. KAZDOVÁ K., HUBÁLEK Z.: Vyšetření komárů na přítomnost arbovirů na jižní Moravě v letech 2006-2008. *Epidemiologie, Mikrobiologie, Imunologie*. Roč. 59, č. 3 (2010), s. 107-111. ISSN 1210-7913
66. ŠEBESTA O., RETTICH F., PEŠKO J.: Výzkum komárů na jižní Moravě a jejich zdravotní význam, *Hygiena* 57, 2012, 4-9.
67. DLHÝ, Josef. *Arbovirové nákazy z pohledu rizika importu do ČR*. Rožnov pod Radhoštěm: Česká lékařská společnost J.E. Purkyně, 2007.
68. DUBSKÁ, Lenka. Aviární aspekty infekčních onemocnění: patogeny volně žijících ptáků a úloha ptáků v epidemiologii lidských onemocnění. 2008.
69. PANELLA, Nicholas A.; YOUNG, Ginger; KOMAR, Nicholas. Experimental infection of Eurasian collared-dove (*Streptopelia decaocto*) with West Nile virus. *Journal of Vector Ecology*, 2013, 38.2: 210-214.
70. NELMS, Brittany M., et al. Overwintering biology of *Culex* (Diptera: Culicidae) mosquitoes in the Sacramento valley of California. *Journal of medical entomology*, 2013, 50.4: 773-790.
71. MORIN, Cory W.; COMRIE, Andrew C. Regional and seasonal response of a West Nile virus vector to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110.39: 15620-15625.
72. BERGER, Stephen. GIDEON INFORMATICS INC. *Infectious Diseases of Cyprus: 2015 Edition*. United States: GIDEON Informatics Inc, 2015. ISBN 1498804861.
73. STÁTNÍ VETERINÁRNÍ SPRÁVA,. Západonilská horečka. *Zpráva o činnosti v oblasti ochrany zdraví zvířat v roce 2014* [online]. 2015, (2): 70-72 [cit. 2015-08-03]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/file/402859/ib1502cz.pdf>
74. CHUANG, Ting-Wu; WIMBERLY, Michael C. Remote sensing of climatic anomalies and West Nile virus incidence in the northern Great Plains of the United States. 2012.
75. DANIEL M.: Výskyt nákaz přenášených komáry v Evropě v roce 2010. *Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie*. Praha: Státní zdravotní ústav, 2011-, 20(2): 71-72. ISSN 1804-8668.

76. DLHÝ, Josef a B. KŘÍŽ. *Problém západonilské horečky v České republice*. Olomouc: Česká lékařská společnost J.E. Purkyně, 2009.
77. DLHÝ, Josef a Č. BENEŠ. *Aktuální epidemiologická situace ve výskytu Západonilské horečky*. Praha: Česká lékařská společnost J.E. Purkyně, 2013.
78. RUDOLF, Ivo, et al. Opomíjené virové infekce přenášené hematofágními členovci v České republice. 2008.
79. VYHLÁŠKA č. 233/2011 Sb., kterou se mění vyhláška č. 473/2008 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce, ve znění vyhlášky č. 275/2010 Sb., zdroj: SBÍRKA ZÁKONŮ ročník 2011, částka 85, ze dne 19.8.2011.
80. VYHLÁŠKA č. 143/2008 o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek (vyhláška o lidské krvi), Zdroj: SBÍRKA ZÁKONŮ ročník 2008, částka 45, ze dne 29.4.2008.
81. ZÁKON č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů, Zdroj: SBÍRKA ZÁKONŮ ročník 2000, částka 74, ze dne 11.8.2000.
82. VYHLÁŠKA č. 306/2012 Sb., o podmínkách předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a o hygienických požadavcích na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče, Zdroj: SBÍRKA ZÁKONŮ ročník 2012, částka 109, ze dne 24.9.2012.

Klíčová slova

Autochtoní

Importované

Surveillance

Virus Západonilské horečky

West Nile virus

Západonilská horečka

Změna epidemiologické situace

Změny klimatu