

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Tularémie

Bakalářská práce

Zuzana Nerudová

Chov hospodářských zvířat

MVDr. Romana Krejčířová, Ph.D.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Tularémie“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21.4.2023

Zuzana Nerudová

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí bakalářské práce MVDr. Romaně Krejčířové, Ph.D. za odborné vedení a rady, trpělivost a čas, který mi při psaní bakalářské práce věnovala. Také bych ráda poděkovala své milované rodině za trpělivost a nesmírnou podporu během mého studia.

Tularémie

Souhrn

Tularémie je celosvětově rozšířené onemocnění mnoha druhů zvířat se zoonotickým potenciálem. Původcem je gramnegativní aerobní bakterie *Francisella tularensis*. Jedná se o nepohyblivý pleoformní opouzdřený nespořulující kokobacil. Tularémie patří mezi nákazy s přírodní ohniskovostí, kdy se původce, přenašeči i rezervoárové druhy zvířat vyskytují v přírodních podmínkách současně a nezávisle na člověku. Podle virulence, patogenity a geografického původu jsou rozlišovány čtyři poddruhy *Francisella tularensis*. Kmeny, které byly izolovány na severní polokouli především v USA jsou virulentnější, než kmeny izolované v Evropě a Asii.

K onemocnění jsou vnímavá volně žijící zvířata, především zajíci. Velmi důležitým článkem pro šíření onemocnění jsou vektorů, členovci, kteří se infikují sáním na nemocných zvířatech a nákazu tak šíří. Člověk se nejčastěji nakazí přímým kontaktem při manipulaci s nakaženými či uhynulými zvířaty, prostřednictvím vektorů, nebo nepřímou konzumací nedostatečně tepelně upraveného masa z nakaženého zvířete, kontaminovanou potravou či vodou, vdechnutím infikovaného aerosolu nebo prachu nebo z jiných kontaminovaných předmětů. Podle cesty přenosu infikovaného patogenu do organismu se onemocnění projevuje v několika formách, a to ulceroglandulární, glandulární, okuloglandulární, orofaryngeální pneumonické, tyfoidní a septické. Inkubační doba se v závislosti na formě onemocnění pohybuje v rozmezí 4-12 dnů, někdy může být delší.

U zvířat má onemocnění akutní nebo chronický průběh. Akutní průběh je většinou fatální a končí úhynem do několika dnů. Při chronickém průběhu u zvířete je typickým příznakem malátnost, ztráta plachosti a zvětšení lymfatických mízních uzlin. Klinické projevy onemocnění závisí na vnímavosti živočišných druhů.

Diagnostika tularémie je založena na provedení laboratorních vyšetření. Jedná se o bakteriologické vyšetření, kultivaci na speciálních půdách, základem jsou však sérologické metody.

Terapie zejména u člověka spočívá v aplikaci antibiotik, někdy je nutný i chirurgický zákrok, kdy jsou odstraněny postižené mízní uzliny.

Z hlediska prevence Státní veterinární správa ČR každoročně uskutečňuje systematické celoplošné vyšetřování ulovených či uhynulých zajíců v oblastech s výskytem tohoto onemocnění v období podzimních mysliveckých honů. V České republice monitoring probíhá zejména v rizikových oblastech jižní Moravy (Znojmo, Břeclav), v Třebíči a v Polabí.

Klíčová slova: *Francisella tularensis*, zajíc, ohnisko, zoonóza, prevence

Tularemia

Summary

Tularemia is a worldwide widespread disease of many animal species with zoonotic potential. The causative agent is the gram-negative aerobic bacterium *Francisella tularensis*. It is a non-motile pleoform encapsulated non-sporulating coccobacillus. Tularemia is one of the diseases with a natural focus, when the causative agent, carriers and reservoir species of animals occur in natural conditions at the same time and independently of humans. Four subspecies of *Francisella tularensis* are distinguished according to virulence, pathogenicity and geographical origin. Strains that were isolated in the northern hemisphere, mainly in the USA, are more virulent than strains isolated in Europe and Asia.

Wild animals, especially hares, are susceptible to the disease. A very important link for the spread of the disease are vectors, arthropods that become infected by sucking on sick animals and thus spread the disease. Humans are most often infected by direct contact when handling infected or dead animals, via vectors, or indirectly by consuming insufficiently heat-treated meat from an infected animal, contaminated food or water, inhaling infected aerosol or dust, or from other contaminated objects. Depending on the route of transmission of the infected pathogen into the body, the disease manifests itself in several forms, namely ulceroglandular, glandular, oculoglandular, oropharyngeal pneumonic, typhoid and septic. The incubation period, depending on the form of the disease, varies between 4-12 days, sometimes it can be longer.

In animals, the disease has an acute or chronic course. The acute course is usually fatal and ends in death within a few days. In the chronic course of the animal, the typical symptom is malaise, loss of shyness and enlargement of the lymph nodes. The clinical manifestations of the disease depend on the susceptibility of the animal species.

Diagnosis of tularemia is based on laboratory tests. It is a bacteriological examination, cultivation on special soils, but serological methods are the basis.

Therapy, especially in humans, consists in the application of antibiotics, sometimes surgery is also necessary, when the affected lymph nodes are removed.

From the point of view of prevention, the State Veterinary Administration of the Czech Republic annually carries out a systematic nationwide investigation of caught or dead hares in areas with the occurrence of this disease during the autumn hunting season. In the Czech Republic, monitoring takes place mainly in the risk areas of South Moravia (Znojmo, Břeclav), in Třebíč and Polabí.

Keywords: *Francisella tularensis*, hare, focus, zoonosis, prevention

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíl práce	2
3	Literární rešerše	3
3.1	Charakteristika onemocnění	3
	Původce onemocnění.....	3
	Typy původce onemocnění	4
3.2	Přenos onemocnění	6
	3.2.1 Biologické vektory.....	7
	3.2.2 Vnímavé druhy	7
3.3	Epidemiologie	9
	3.3.1 Tularémie v evropských zemích.....	9
3.4	Tularémie u člověka	13
	Ulceroglandulární a glandulární forma	14
	Okuloglandulární forma	14
	Orofaryngeální forma	14
	Pneumonická forma.....	15
	Tyfoidní a septická forma.....	15
3.5	Tularémie u zvířat	15
3.6	Diagnostika	17
3.7	Terapie	18
3.8	Prevence	19
	3.8.1 Monitoring onemocnění.....	22
3.9	Francisella tularensis jako biologická zbraň	26
4	Závěr	27
5	Literatura	28

1 Úvod

Tularémie neboli zaječí nemoc, je závažné zoonotické onemocnění způsobené aerobní a rychle se množící gramnegativní bakterií *Francisella tularensis*. Tularémie byla poprvé popsána v roce 1911 v městě Tulare v Kalifornii, od kterého je název odvozen. Do České republiky se rozšířila během druhé světové války z Rakouska. Ročně je v České republice evidováno okolo 100 případů onemocnění lidí (Foley et al. 2010).

Původce nákazy se řadí do několika poddruhů dle jeho virulence a oblasti výskytu. Je rozšířen po celém světě a je neobyčejně odolný. Přežívá řadu měsíců v půdě či uhynulém zvířeti. Jedná se o vysoce virulentního patogena, pro nákazu vdechnutím stačí jen několik desítek buněk. Oprávněně je proto řazen mezi vysoce rizikové biologické agens, které by mohlo být zneužito pro výrobu biologických zbraní pro šíření vzdušnou cestou (Petersen et al. 2005).

Existují čtyři poddruhy bakterie *Francisella tularensis*. Pro člověka i pro zvířata je nejpatogennější *Francisella tularensis tularensis*, též typ A. Oblastí rozšíření tohoto poddruhu je Severní Amerika. V Evropě, rovněž i v České republice, se v přírodních ohniscích udržuje *Francisella tularensis holarctica*, neboli typ B. Ostatní dva poddruhy *Francisella mediasiatica* a *Francisella novicida* infekci lidí obvykle nezpůsobují, ale napadají některé druhy zvířat.

Tularémie je onemocnění patřící mezi přírodně ohniskové nákazy, udržuje se v prostředí mezi volně žijícími obratlovci a členovci nezávisle na člověku. (Voglet et al. 2009).

Státní veterinární správa ČR pravidelně sleduje nákazovou situaci, provádí monitoring s cílem určit rizikové oblasti výskytu onemocnění. Při potvrzení nákazy jsou v těchto lokalitách vyhlášena na určité období mimořádná veterinární opatření. Součástí opatření jsou vyšetření ulovených a uhynulých zajíců. Vzhledem k závažnosti onemocnění u člověka existují preventivní doporučení. Je doporučeno vyhýbat se kontaktu s uhynulými zvířaty, zejména u lovců pak při manipulaci s ulovenými zvířaty dodržovat hygienická pravidla (SVS 2022).

2 Cíl práce

Cílem bakalářské práce je na základě studia aktuální vědecké literatury zpracovat literární rešerši na téma tularémie, se zaměřením na aktuální nálezovou situaci v České republice.

3 Literární rešerše

3.1 Charakteristika onemocnění

Tularémie neboli zaječí nemoc je zoonotické celosvětově rozšířené onemocnění způsobené intracelulární gramnegativní bakterií *Francisella tularensis*.

V roce 1911 Gregor McCoy ve městě Tulare County v Kalifornii popsal toto onemocnění jako mor hlodavců. O rok později kultivoval bakterii *Francisella tularensis* z veverek, které se nacházely v této oblasti a zjistil, že se nejedná o mor hlodavců, ale zcela o nové onemocnění (Feldman et al. 2003). V roce 1911 Edward Francis zjistil, že infekce zvaná „horečka jelenovitých“ má totožné příznaky onemocnění jako mor hlodavců. Na základě sesbíraných informací onemocnění pojmenoval pod názvem tularémie. Edward Francis prokázal, že se tato infekce nevyskytuje jen u divokých zajíců a králíků ale je vysoce infekční i pro člověka. Tularémii je řazena do onemocnění přenášející se ze zvířat na člověka. Jedná se tedy o zoonózu (Ellasson et al. 2006).

Později se prokázalo, že tularémie je velmi virulentní onemocnění, které postihuje více než 250 druhů zvířat. Jedná se především o onemocnění zajíců, králíků a hlodavců a je přenosná na další druhy volně žijících i domestikovaných zvířat (Decors et al. 2011).

Původce onemocnění

Systematické zařazení původce:

Doména: *Bacteria*

Kmen: *Proteobacteria*

Třída: *Gammaproteobacteria*

Řád: *Thiotrichales*

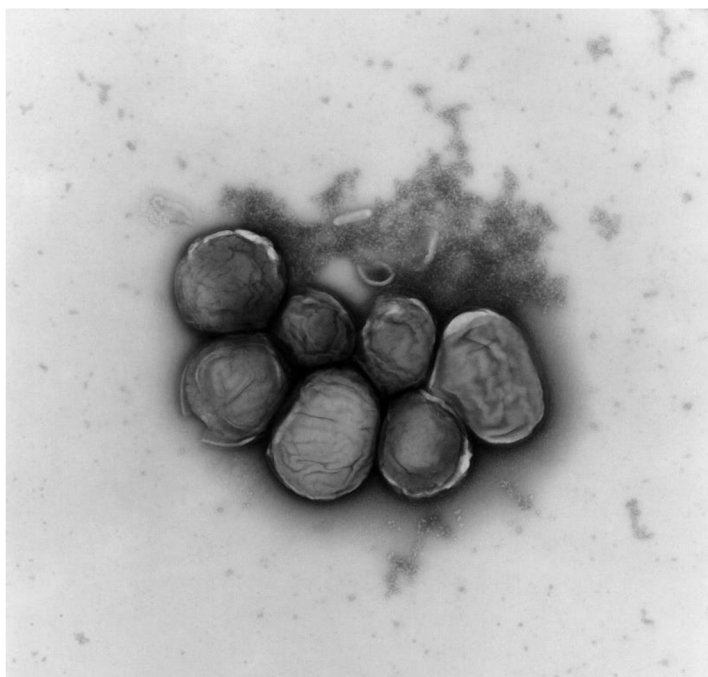
Čeleď: *Francisellaceae*

Rod: *Francisella*

Druh: *Francisella tularensis* (Sjosted 2007)

Původcem onemocnění je gramnegativní aerobní bakterie *Francisella tularensis*. Jedná se o nepohyblivý pleoformní opouzdrěný nesporulující kokobacil (obrázek 1). Optimální prostředí pro růst je 37,8 °C a pH 6,9. Tyto bakterie jsou vysoce odolné v podmínkách vnějšího prostředí i za nízkých teplot (Petersen 2005).

Pro bakterie přežívající v přírodě jsou důležité zejména améby (*Acanthamoeba Castellani*) žijící ve vodě. Améby vytvářejí cysty, které slouží k přenosu patogenu přes vnější prostředí do hostitele. V hostiteli se cysty přemění na trofozoity, kteří nakazí svého hostitele. Bakterie mohou přežít 6–12 měsíců ve vodě, půdě, bahně, bažinách, uhynulém zvířeti, v živočišných odpadech a mraženém masu (Decors et al. 2011). Tento původce se řadí do několika poddruhů dle jeho virulence a oblasti výskytu (obrázek 2) (Gyuranecz et al. 2010).



Obrázek 1- Shluk bakterií *Francisella tularensis* pod mikroskopem

(převzato z https://www.rki.de/EN/Content/infections/Diagnostics/NatRefCentresConsultantLab/CONSULAB/EM-images/EM_Tab_Tularaemie_en.html)

Typy původce onemocnění

Francisella tularensis tularensis (typ A)

Bakterie *Francisella tularensis tularensis* nazývaná jako typ A se vyskytuje především v Severní Americe. Jedná se o jeden z nejinfekčnějších patogenů, který má výrazně zoonotický charakter. Patogen se mezi zvířaty a ze zvířat na člověka přenáší klíšťaty, méně často krev sajícím hmyzem anebo aerogenně prostřednictvím aerosolu. Člověk se může nejčastěji nakazit manipulací s infekčními zvířaty (Vogler et al. 2009).

Tento poddruh původce může způsobit závažné klinické příznaky onemocnění a pokud se nezačne léčit včas, onemocnění často končí letálně (Dennis et al. 2001).

U nejzávažnějších forem tularémie u člověka docházelo k mortalitě až 30-60 %. V současné době je to méně než 2 %. Kmeny typu A lze dále rozdělit do tří subpopulací a to A1a, A1b a A2, přičemž A1 způsobuje nejzávažnější infekci (Hansen et al. 2011).

Francisella tularensis holarctica (typ B)

Bakterie *Francisella tularensis holarctica* nazývaná jako typ B se vyskytuje v Eurasii a v Severní Americe. Typ B se vyskytuje v oblasti potoků, rybníků, jezer, řek, nakaženi jsou zejména živočichové, kteří žijí u vody. Tularémie typu B je považována za onemocnění, které se přenáší především vodou. Ukázalo se, že tento poddruh přežívá a dokáže se replikovat v prvocích (Sjosted 2007).

Ten to typ byl nalezen u zajíců a dalších druhů zvířat. Patogen se na člověka přenáší přímým kontaktem s infekčními zvířaty, kousnutím členovcem, aerosoly nebo požitím

kontaminované potraviny či vody. Tularémie typu B má méně závažný průběh než tularémie typu A (Kingry et al. 2014).

Francisella mediasiatica

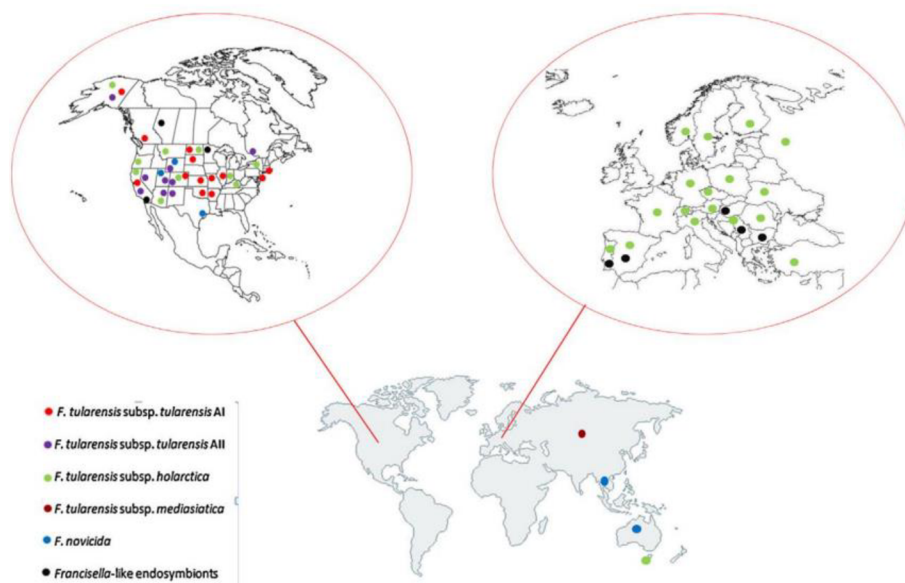
Bakterie *Francisella mediasiatica* je poddruh, který je nejméně prozkoumaný. Dlouho se uvádělo, že se vyskytuje pouze v některých oblastech Střední Asie. Dříve bylo o virulenci tohoto poddruhu známo jen velmi málo. Nebyly hlášeny žádné registrované případy nákazy u lidí. Některá data ukazují, že jeho virulence u zajíců je podobná jako u poddruhu *Francisella holarctica* (Keim et al. 2007). V roce 2011 byl však na altajském území Ruské federace nalezen přirozený zdroj tularémie, ve kterém byly nalezeny cirkulující kmeny tohoto poddruhu (Foley et al 2010).

Francisella novicida

Bakterie *Francisella novicida* je endemický typ, který se nachází po celé severní polokouli a Eurasii. Některé kmeny byly izolovány v tropické Austrálii a jihovýchodní Asii (Leelaporn et al. 2008). U lidí je téměř avirulentní, byl izolován pouze u několika pacientů, kteří měli poškozenou či oslabenou imunitu (Davis et al. 2009). Infekce u lidí je mimořádně vzácná, a proto je často obtížné ji přesně diagnostikovat (Brett et al. 2012). Neexistují žádné důkazy, které by naznačovaly, že *Francisella novicida* je přenášena zvířaty nebo členovci (Koene et al. 2019). Jediným zdrojem izolátů tohoto patogenu byla doposud slaná voda (Whitehouse et al. 2012).

Francisella philomiragia

Bakterie *Francisella philomiragia* je typ s nízkou virulencí a způsobuje onemocnění u jedinců s poškozeným či oslabeným imunitním systémem. Takoví jedinci mají nejčastěji zápal plic a meningitidu. Zdroj infekce je spojen se slanou vodou (Feldman 2003)).



Obrázek 2- Výskyt poddruhů *Francisella tularensis*

(převzato z <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7124367/figure/fig0005/>)

3.2 Přenos onemocnění

DNA *Francisella tularensis* byla izolována ve vodě a sedimentu, což ukazuje, že původce je perzistentní v prostředí. Experimentálně bylo prokázáno, že kontaminovaný kal může zůstat infekční až dva měsíce (Maurin&Gyuranecz 2016).

Tularémie je nákaza s přírodní ohniskovostí, kdy původce onemocnění cirkuluje v prostředí mezi volně žijícími členovci a obratlovci nezávisle na člověku. Její výskyt v přírodě je dán především existencí infikovaných hlodavců, (ondatry, hraboši a myši), kteří jsou zdrojem nákazy a členovců sajících krev (komáři, mouchy, blechy, klíšťata, ovádi), kteří působí jako přenašeči původce onemocnění (SVS 2009).

K infekci *Francisella tularensis* u zvířat dochází přes dýchací a trávicí ústrojí, přes spojivky a kůži. U zvířat k nakažení dochází převážně alimentárním způsobem po pozření infikovaného krmiva. Nejčastější kontaminace krmiva je způsobena výkaly nebo výměšky nemocných zvířat. Přenos mezi jednotlivými druhy zvířat zprostředkovávají členovci sající krev, především klíšťata. Masožravci se nakazí především pozřením nemocného či uhynulého jedince, který je již infikovaný. K přenosu klíšťaty a bodavým hmyzem dochází u masožravců zřídka (Thelaus et al. 2014).

U onemocnění člověka existují tři hlavní způsoby přenosu *Francisella tularensis*. Jedná se o přímý přenos ze zvířecího rezervoáru neboli z nakaženého zvířete, přenos členovci a přenos prostřednictvím kontaminované vody a půdního prostředí (Eliasson et al. 2006).

K přímému přenosu může dojít manipulací s infikovaným zvířetem (zejména zajícem), požitím nedostatečně tepelně upraveného masa připraveného z infikovaného zvířete nebo zvířecím kousnutím (zejména malými hlodavci, kočkami a psy) klíštětem, komárem nebo jiným krev sajícím členovcem. Tyto případy představují až 90 % infekcí lidí. Další přenos je po požití

kontaminované vody nebo vdechováním kontaminovaný částic půdy, jak tomu může být při zemědělských pracích (Willke et al. 2009).

Tularémie u lidí byla hlášena ve všech věkových kategoriích. Muži mají tendenci vykazovat vyšší prevalenci než ženy. S vyšším rizikem infekce jsou spojována zaměstnání, která jsou predispoziční z hlediska častějšího kontaktu s rezervoáry nebo členovci. Mezi taková zaměstnání patří nejčastěji laboratorní technici, lovci, farmáři, veterinární chirurgové a kdokoli, kdo manipuluje s masem infikovaných zvířat (Hotzel et al. 2013).

3.2.1 Biologické vektory

Rezervoárem, ale i vektorem nákazy v přírodních biotopech mohou být různé druhy zvířat.

Klíšťata se infikují již v larválním stádiu sáním z drobných savců v době, kdy je u nich plně rozvinuta infekce. Infekce přechází i na další vývojová stádia jako jsou nymfy a imaga, které mohou být tudíž infekční, aniž by sály na nemocných zvířatech. Tato stádia se mohou infikovat prostřednictvím vody a půdy. Pro udržování původce tularémie v přírodních zdrojích mají proto větší význam klíšťata s víceletým vývojovým cyklem jako jsou například zástupci s čeledi *Ixodidae* (Hestvik et al. 2015).

Zajíc polní (*Lepus europaeus*), také známý jako zajíc hnědý, je považován za důležitého hostitele *Francisella tularensis*. Také je považován za běžný vektor přenosu patogenu na člověka v Evropě a jiných zemích (Jourdain et al. 2011). U zajíce polního při akutním průběhu dochází k infekci celého organismu, při kterém dochází k sepsi a k úhynu. V případě chronického průběhu infekce slouží zajíci jako dlouhodobé rezervoáry *Francisella tularensis*, a nesou trvalé riziko přenosu na člověka, ať už přímo nebo prostřednictvím vektorů (Origgi et al. 2016).

Hlodavci jsou velmi vnímaví k *Francisella tularensis* a běžně se u nich vyskytuje závažná infekce, která způsobí předčasný úhyn. Experimentální studie ukázaly, že infikovaní hraboši mohou vykazovat také vleklý průběh onemocnění s chronickou nefritidou a bakteriurií a mohou tedy sloužit také jako dlouhodobý zdroj kontaminace životního prostředí (Berdal et al. 2000).

3.2.2 Vnímavé druhy

Tularémie je nákaza s přírodní ohniskovostí postihující neobyčejně široký okruh hostitelů. Vnímavost a citlivost však kolísá v širokém rozmezí od absolutně vnímavých a citlivých druhů až po druhy velmi málo či prakticky nevnímavé.

1) Zvířata vysoce vnímavá a citlivá

- Zajíc polní (*Lepus europaeus*)
- Králík divoký (*Oryctolagus suniculus*)
- Hraboši (*Arvicolinae*)
- Myšice (*Apodemus*)
- Rejsci (*Sorex*)
- Myš domácí (*Mus musculus*)

- Hryzec vodní (*Arvicola amphibius*)
- Ondatra pižmová (*Ondatra zibethicus*)

Infekční a letální dávka pro tyto druhy je extrémně nízká. Onemocnění probíhá akutně za příznaků hemoragické septikémie což je masivní napadení celého organismu bakteriální infekcí a končí převážně úhynem maximálně do 10 dnů. Vzhledem k přítomnosti bakterií v krvi jsou tyto druhy zvířat považovány za nejzávažnější zdroj původce onemocnění pro další zvířata. Pro člověka má největší význam zajíc polní (Pikula et al. 2004).

2) Zvířata málo vnímavá a citlivá

- Krysa obecná (*Rattus rattus*)
- Potkan obecný (*Rattus norvegicus*)
- Sysel obecný (*Spermophilus citellus*)
- Ježci (*Erinaceinae*)
- Nutrie říční (*Myocastor coypus*)

U těchto druhů zvířat dochází k nákaze poměrně často, letální dávka je však podstatně vyšší. Množství mikrobů potřebných ke vzniku onemocnění a rovněž úhynu musí být značně velké. Jen při působení dalších stresových a jiných vlivů, které oslabují obranyschopnost zvířete, může dojít k rozvoji onemocnění a dalšímu šíření nákazy. U těchto zvířat je častý chronický průběh onemocnění mezi příznaky patří postupné chřadnutí, hubnutí, ztráta plachosti, malátnost, potácivá chůze, zježená srst a zvětšené, hnisavé mízní uzliny na hlavě a krku (Rahman et al. 2020).

3) Zvířata málo vnímavá a prakticky necitlivá

- Lasice kolčava (*Musstela nivalis*)
- Lasice hranostaj (*Musstela erminea*)
- Liška obecná (*Vulpes vulpes*)
- Kočka domácí (*Felis catus*)
- Pes domácí (*Canis lupus*)
- Přežvýkavci (*Ruminantia*)
- Prase domácí (*Sus domesticus*)

Tato zvířata při velmi vysoké dávce reagují jen přechodným, zpravidla asymptomatickým průběhem onemocněním. Příznaky onemocnění jsou nevýrazné, často se stávají přenašeči (Pospíšil et al. 2000).

3.3 Epidemiologie

Tularémie je onemocnění, které se vyskytuje v mnoha oblastech světa. První případy tularémie byly zjištěny ve Spojených státech. Zejména Severní Amerika a severské země jsou pro tularémii endemickými oblastmi. Další ohniska se vyskytují ve východní Evropě a Rusku. Incidence tularémie je ve Spojených státech 0,5 až 5,1 milion případů ročně. K velké epidemii došlo v roce 1939 ve Spojených státech, bylo postiženo 2 291 lidí. Zatímco v roce 1950 byl roční počet případů ve Spojených státech asi 900, v následujících letech postupně klesal. Celosvětově výskyt případů tularémie v současné době klesá, a to z důvodu sníženého výskytu infikovaných zvířat (Titball&Sjostedt, 2003).

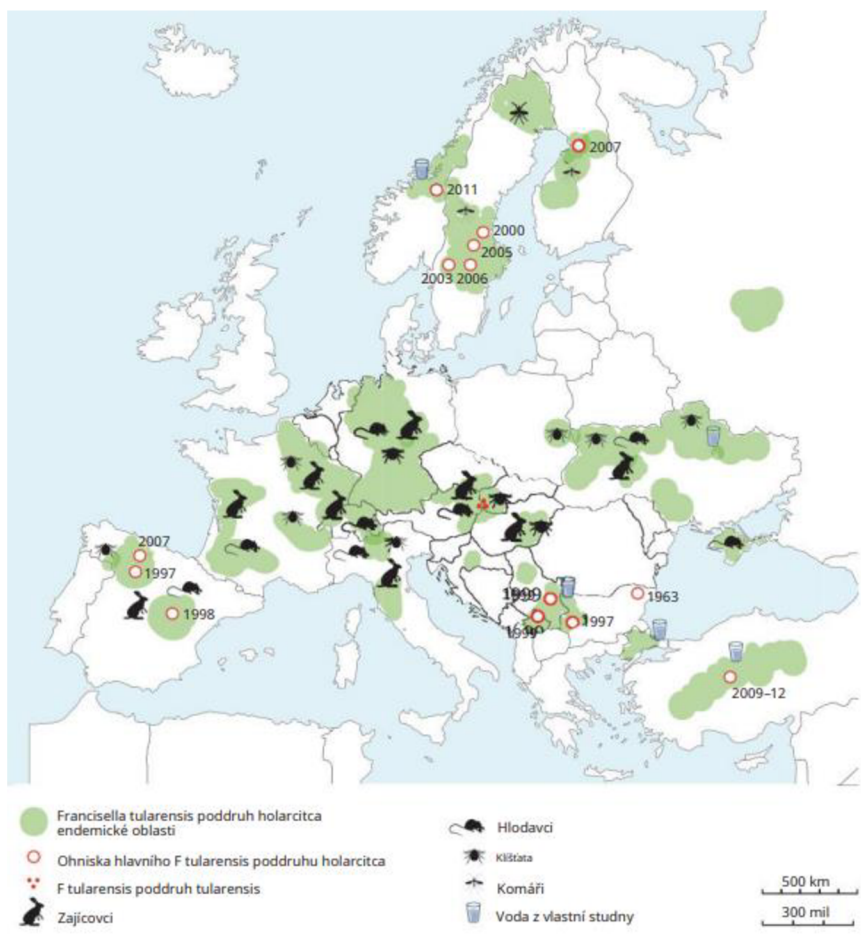
Případy tularémie u lidí jsou převážně spojené s inokulací členovců. V jižní Evropě je infekce poměrně neobvyklá, ale onemocnění lidí bylo hlášeno v Itálii a ve Francii (Mignani et al. 1988). Případy onemocnění se vyskytly v zemích bývalého Sovětského svazu, Japonsku, Kanadě a Mexiku. Ve Španělsku došlo ke vzniku velkého ohniska, kdy bylo zjištěno onemocnění u 585 lidí v souvislosti s výskytem infikovaných zajíců. Velká ohniska se také vyskytla v Turecku a Bulharsku, která souvisela s infekcí v pitné vodě (Sjosted 2007).

V endemických oblastech je tularémie sezónní onemocnění s vyšším výskytem na konci jara, léta a podzimu. Často se počet případů každým rokem značně liší, což je považováno za důsledek proměnlivosti teplot nebo srážek. Souvislost mezi klimatickými podmínkami a propuknutím tularémie však dosud nebyla prokázána (Forsman et al. 2003).

3.3.1 Tularémie v evropských zemích

V Evropě je tularémie lokálně vznikající nebo znovu se objevující zoonóza. Většina případů onemocnění lidí je hlášena ze Švédska, Finska a Turecka. Epidemiologické údaje o tularémii v Evropě ukázaly, že tularémie je ve většině evropských zemí onemocněním, které je potřeba hlásit z důvodu nebezpečí. Ačkoli se toto onemocnění považuje za nedostatečně diagnostikované a nedostatečně hlášené, údaje o incidenci lze získat z Evropského střediska pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC), z Ředitelství pro zdraví a spotřebitele a z Evropské komise (ECDC 2018).

Přímý přenos tularémie z domácích zvířat na člověka nebyl v Evropě dosud zdokumentován, avšak ve Spojených státech existují zprávy o přenosu tularémie na člověka z koček a psů.



Obrázek 3- Endemické oblasti a hlavní ohniska v Evropě s hlavními zdroji lidských infekcí v dané Zemi

(převzato z <https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099%2815%2900355-2/fulltext>)

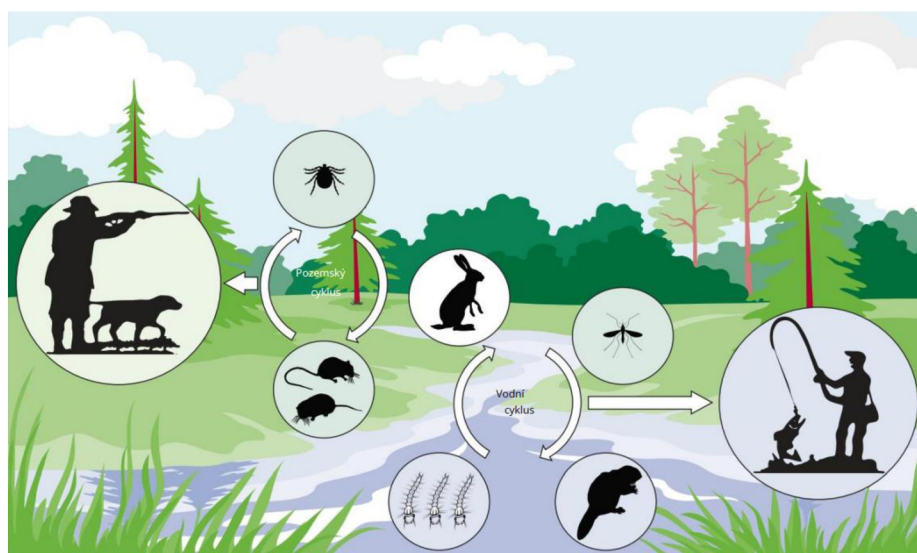
Podezřelou příčinou vzniku evropských ohnisek (obrázek 3) byl silný nárůst populace malých hlodavců v důsledku nedokonalé sklizně plodin. V chladných obdobích roku se infikovaná zvířata dostávala do těsného kontaktu s lidskými obydlími a kontaminovala sklady potravin a nechráněné zdroje pitné vody (WHO 2007).

Tularémie je onemocnění podléhající hlášení ve většině evropských zemí, což znamená, že jak potvrzená infekce a úmrtí u lidí, tak i suspektní případy musí být hlášeny příslušným orgánům. Kypr, Řecko, Island, Irsko, Lucembursko, Malta a Spojené království jsou považovány za prosté tularémie, pozitivní případy se týkaly pouze importovaných zvířat. V ostatních evropských zemích se onemocnění vyskytuje s různou incidencí. Za rok 2018 hlásilo 18 evropských zemí 441 suspektních případů tularémie, z nichž 358 bylo potvrzeno (WHO 2020). Švédsko a Norsko v roce 2017-2018 zaznamenalo 40-45 % hlášených případů lidské tularémie napříč členskými státy Evropské unie a Evropského hospodářského prostoru (ECDC 2019).

V Evropě se lze setkat s dvěma životními cykly *Francisella tularensis*. Mezi ně patří suchozemský a vodní životní cyklus (obrázek 4). Suchozemský životní cyklus převládá ve většině evropských zemí, včetně Rakouska, Francie, Německa Maďarska, Švýcarska,

Slovenska, a České republiky. V tomto životním cyklu jsou hlavními vektory zajícovci, suchozemští hlodavci a klíšťata, kteří jsou hlavním zdrojem infekce u lidí. Případy onemocnění tularémie u lidí jsou ojedinělé a sporadické, i když po kontaktu s infikovanými zvířaty nebo konzumaci kontaminovaných potravin může dojít k familiárnímu propuknutí (Hestvik et al. 2015).

Vodní cyklus se vyskytuje v Bulharsku, Kosovu, Turecku, Švédsku a Finsku. V tomto životním cyklu je primárním zdrojem lidských infekcí vodní prostředí včetně řek, jezer, rybníků a studen. Vodní prostředí je kontaminováno exkrementy a zdechlinami infikovaných zvířat, zejména hlodavci vázané částečně na vodní prostředí. Případy tularémie u lidí z vodních zdrojů jsou častější než v suchozemském cyklu, a co je důležitější, často se jedná o výskyt velkých ohnisech. K infekcím člověka dochází prostřednictvím kontaminované vody, jedná se o převládající orofaryngeální formy tularémie. Tyto formy jsou časté v Bulharsku, Kosovu a Turecku. U infekcí přenášených komáry vzniká forma ulceroglandulární. V místě vpichu se objeví vřed, lokální mízní uzliny mají tendenci k tvorbě píštělí. Tato forma se často vyskytuje ve Švédsku a Finsku. V některých geografických oblastech je možné se setkat s oběma popsanými formami, příkladem mlže být Španělsko (Lundstrom et al. 2011).

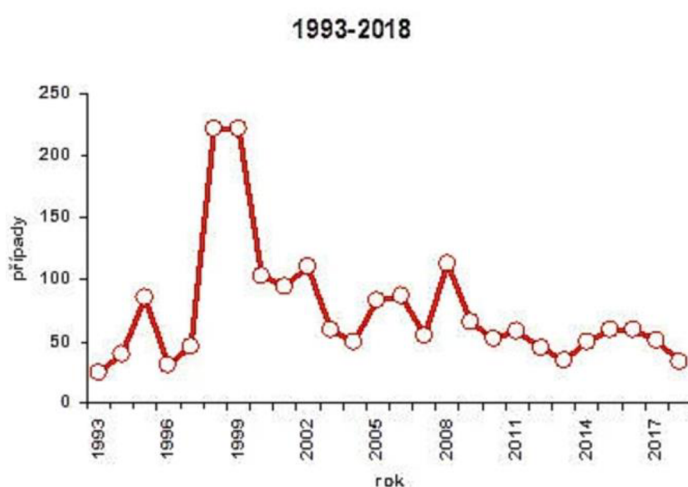


Obrázek 4- Suchozemský a vodní životní cyklus *F. tularensis*

(převzato z <https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099%2815%2900355-2/fulltext>)

Tularémie v České republice je méně rozšířeným onemocněním. Převládají ulceroglandulární formy, ale existují i orofaryngeální případy přenášené vodou. Hlodavci, zejména hraboš polní a klíšťata jsou považováni za klíčové rezervoáry *Francisella tularensis* (Schrol et al. 2018).

První epidemie tularémie na jižní Moravě se objevily na podzim roku 1936. Bylo zjištěno 290 nakažených osob s ulceroglandulární nebo glandulární formou onemocnění. Bylo prokázáno, že situace k nákaze došlo při manipulaci s nakaženými zajíci. V České republice dochází průměrně k nakažení 50-103 nakažených osob ročně (obrázek 5). Podle Státní veterinární správy ČR se ohniska tularémie na našem území trvale vyskytují v Jihomoravském kraji, občasná ohniska nákazy jsou hlášena z krajů Jihočeského, Královéhradeckého a Pardubického (SVS 2020).



Obrázek 5- Výskyt onemocnění tularémie v České republice v letech 1993-2018

(převzato z <http://szu.cz/>)

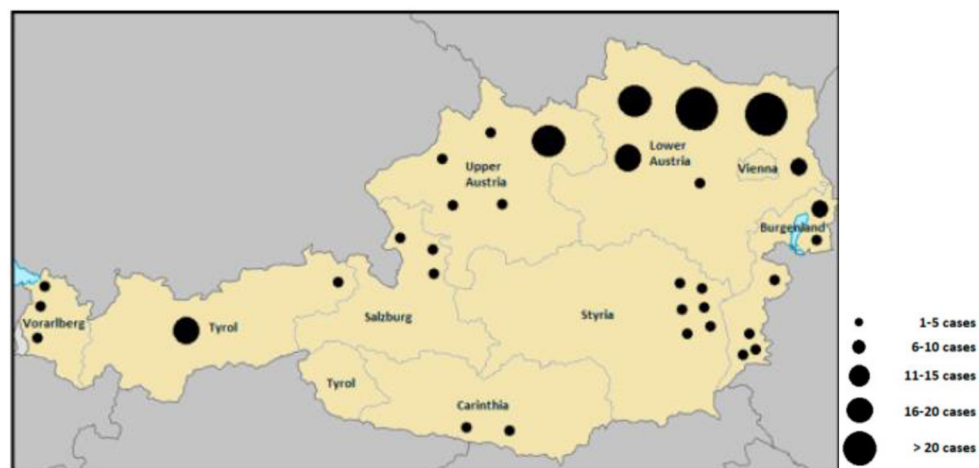
Na Slovensku první údaje o tularémii pocházejí z oblasti Záhorie nedaleko Bratislavy z let 1936-1937. Ohnisko nákazy zasáhlo některé okresy západního Slovenska sousedící s jižní Moravou a také území Dolního Rakouska. Zdrojem nákazy byli především divocí zajíci. Od roku 1956 došlo k nárůstu počtu případů onemocnění lidí. Nejvyšší incidence tularémie hlášena v roce 2015 s ohnisky v endemických oblastech západního Slovenska. Byly zaznamenány ulceroglandulární, glandulární, pneumonické a orofaryngeální formy onemocnění (Gurycova et al. 2020).

V Německu je tularémie jednoznačně sezónní onemocnění, u většiny případů se nákaza lidí objevuje od července do listopadu, kdy populace rezervoárových zvířat vrcholí a časté venkovní aktivity jako je lov, zemědělství, rybaření a, turistika usnadňují kontakt mezi divokou zvěří a lidmi (Schroll et al. 2018).

V Německu se ohniska tularémie vyskytují ojediněle. V letech 2002-2016 bylo hlášeno 10 ohnisek případů. V období od 1. ledna 2002 do 31. prosince 2019 to bylo 435 případů.

Nejvyšší průměrné roční výskyty v tomto období byly zaznamenány v částech Saska-Anhaltska, Bádenska-Württemberska Braniborska (Theurl et al. 2018).

V Rakousku je tularémie přenášena především přímým nebo nepřímým kontaktem s infikovanými zvířaty či kousnutím klíštětem. Mezi lety 1999 a 2013 bylo hlášeno méně než 10 případů ročně. V roce 2014 celostátní průřezová sérologická analýza zjistila 526 případů onemocnění lidí. Od roku 2015 byla většina případů hlášena z dolního a horního Rakouska, Vídně a Štýrska (obrázek 6). Výrazně nadprůměrný počet případů byl zaznamenán v letech 2017 (12 případů) a 2019 (20 případů) (Schroll et al. 2019).



Obrázek 6- Geografický výskyt tularémie od roku 1999-2019, velikost teček odpovídá počtu lidí infikovaných *F. tularensis*. Největší tečka > 20 případů a nejmenší tečka 1-5 případů

(převzato z <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7602993/>)

Ve Skandinávii je výskyt tularémie poměrně běžný, a to zejména ve Finsku a Švédsku. Jedná se o průměrně 3,4 případů na 100 000 osob (Keim et al. 2007). Ve Švédsku je infekce přenášena převážně komáry (Mathisen et al. 2009).

3.4 Tularémie u člověka

U lidí se po krátké inkubační době 3 až 5 dnů (maximálně 2 až 3 týdny) tularémie projeví nespecifickými příznaky podobnými chřipce včetně horečky. Poměrně typickým příznakem jsou zvětšené mízní uzliny, bolesti hlavy, zimnice a bolest svalů. Z těchto důvodů je onemocnění často obtížné diagnostikovatelné, zejména v oblastech s nízkou incidencí výskytu. Klinický obraz často souvisí s místem vstupu bakterií do těla (Ernst et al. 2015).

V místě inokulace se objeví typická papula nebo později vřed, který může přetrvávat několik měsíců. Tento vřed je často kultivačně pozitivní. Zvětšené často abscedující mízní uzliny se vyskytují zejména v podpaží a v tříslích. Onemocnění může vyústit v septikémii, septikemickou meningitidu nebo zápal plic. Úmrtnost neléčených případů se odhaduje na 5 % (Johansson et al. 2015). Výskyt tularémie u člověka je často vázán na vznik ohnisek onemocnění u zvířat, zejména u divokých zajíců a hlodavců. Klinické projevy tularémie závisí

na virulenci kmene, infekční dávce a způsobu infekce, rozsahu celkového postižení a imunitním stavu hostitele (Fodor et al. 2010).

Ulceroglandulární a glandulární forma

Ulceroglandulární a glandulární forma je nejrozšířenější formou onemocnění, které je přenášeno biologickými vektory, přímým kontaktem s infikovaným zvířetem nebo nepřímým kontaktem. Po inkubační době 3 až 6 dnů se objeví náhlý nástup příznaků podobný chřipce, zejména zimnice, horečka, bolest hlavy a celkové bolesti (Lopes et al. 2009). Dojde ke vzniku pustuly a posléze vředu. Bakterie se z tohoto místa šíří lymfatickým systémem do regionálních lymfatických uzlin, které se zvětšují. Uzliny jsou bolestivé, často doprovázené zarudnutím celé oblasti a edémem kůže a podkoží. Z tohoto místa se mohou bakterie šířit do jiných tkání, jako je slezina, játra, plíce, ledviny, střevo, centrální nervový systém a kosterní svaly (Maurin et al. 2015).

Glandulární forma má shodné příznaky jako ulceroglandulární, ale bez kožních vředů a bez pozorovatelné primární léze (Johannson et al. 2015).

I bez léčby jsou ulceroglandulární a glandulární tularémie zřídka fatální, ale jejich terapie může trvat značně dlouho (Petersen et al. 2009).

Okuloglandulární forma

Okuloglandulární tularémie je jednostranná léze projevující se jako intenzivní konjunktivitida. K této formě infekce dochází většinou přenosem ze znečištěných rukou. Spolu s horečkou a nespecifickými příznaky se obvykle projevuje jako intenzivní zarudnutí s granulomatózními lézemi na oční spojivce, otoky očních víček, nadměrným slzením, hnisavým výtokem, v těžkých případech může dojít až k poškození očního nervu (Gotheffors et al. 2000).

Orofaryngeální forma

Orofaryngeální forma se projevuje jako stomatitida a faryngitida. K přenosu může dojít z požití infikovaných potravin nebo z kontaminované vody. Toto může mít za následek orofaryngeální nebo gastrointestinální tularémii v závislosti na místě kolonizace hostitelských tkání (Mandell et al. 2005).

Orofaryngeální forma bývá popisována jako bolestivá angína se zvětšením krčních mandlí a tvorbou žlutobílé pseudomembrány, která je tvořena ztuhlým, koagulovaným sekretem, který přilne ke sliznici, ale je možné ji od sliznice oddělit. Dochází tedy k zarudnutí a pustulózním změnám v dutině ústní a hltanu spolu se zvětšením regionálních krčních lymfatických uzlin (Garnier et al. 2008). Pokud není podezření na tularémii, lze tyto příznaky zaměnit s jiným onemocněním. V závislosti na infekční dávce se může projevit gastrointestinální tularémie, která se projevuje od mírného, ale přetrvávajícího průjmu až po akutní fatální onemocnění s rozsáhlou ulcerací střeva (WHO 2007).

Pneumonická forma

Pneumonická neboli respirační tularémie se může projevovat příznaky jako jsou zápal plic s příznaky suchého kašle, dyspnoe a bolesti oblasti hrudníku. Běžně jsou také nespecifické příznaky jako je horečka, zimnice, nemusí se projevovat respirační příznaky. K nákaze dochází převážně při inhalaci aerosolu obsahujícího patogen při zemědělských pracích. Zdrojem bakteriálních aerosolů jsou zdechliny hlodavců nebo zajíců (Pavlovič et al. 2001). Pneumonie se může objevit jako primární projev respirační formy, ale může se také objevit jako komplikace jakékoli formy tularémie v důsledku bakteriémie (Matyas et al. 2007).

Tyfoidní a septická forma

Tyfoidní a septická tularémie se vyznačuje libovolnou kombinací celkových příznaků. Mezi tyto příznaky mohou patřit vysoká horečka, extrémní vyčerpání, zvracení a průjem, splenomegalie a hepatomegalie a zápal plic. Bakterie pronikají krevním oběhem do celého těla. Dochází tak k sepsi a selhávání orgánů. Tato forma onemocnění je velice vzácná a závažná (Sjostedt 2007).

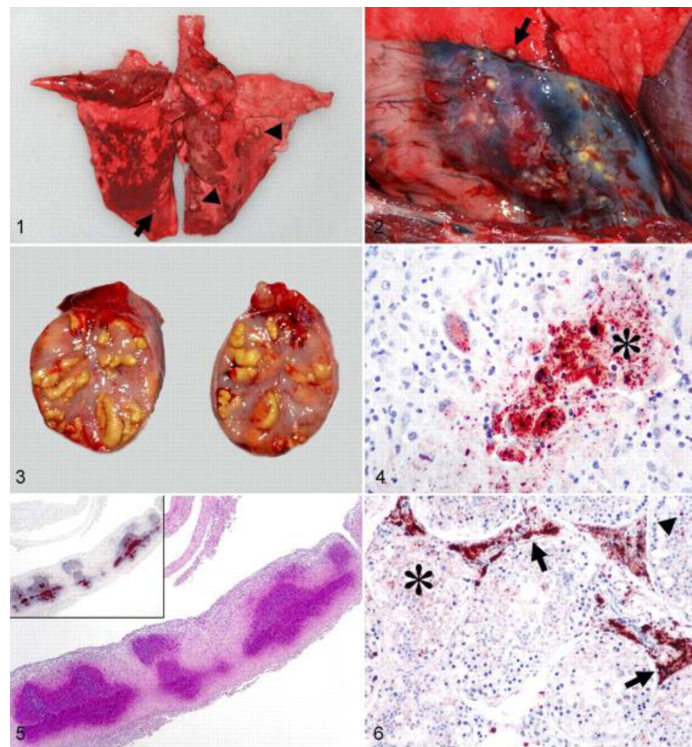
3.5 Tularémie u zvířat

Ačkoliv je tularémie popisována jako potenciální onemocnění postihující stovky druhů zvířat v přirozeném prostředí, jsou hlášeny především infekce u zajíců a hlodavců. Kromě toho jsou zdokumentovány ojedinělé případy či ohniska u primátů chovaných v zajetí a u domácích zvířat. U domácích zvířat se může tularémie vyskytnout u ovcí, koček, králíků, psů, prasat a koní. K dispozici je málo informací o klinických projevech u přirozeně infikovaných zvířat nebo o kompletním spektru postižených druhů zvířat (WHO 2007).

Klinické projevy onemocnění závisí na vnímavosti živočišných druhů k *Francisella tularensis*. U volně žijících zvířat nejsou klinické příznaky dobře zdokumentovány. Posmrtné nálezy jsou vysoce nespecifické a zahrnují splenomegalii včetně nekrotických lézí ve tkáni a rovněž nekrotické okrsky v játrech. Infikovaná zvířata jsou malátná, ztrácejí plachost, častý je zánět lymfatických uzlin (Fodor et al. 2010).

Tularémie u zvířat má akutní či chronický průběh. Při akutním průběhu dochází k lézím na plicích, osrdečníku a ledvinách a může dojít až k sepsi (obrázek 7) (Hestvik et al. 2017). U zajíců je častější chronický průběh onemocnění, kdy se nákaza zjistí až při preventivní prohlídce a na mysliveckých honech (Mörner et al. 2001).

K přenosu tularémie u domácích psů a koček dochází nejčastěji kousnutím infikovaného členovce, přímým kontaktem s infikovaným jedincem či jejich požitím nebo vdechnutím aerosolu. U koček se obvykle rozvine těžké onemocnění s nescifickými klinickými příznaky jako je horečka, letargie, vyčerpanost, zvracení a anorexie, dehydratace, regionální nebo generalizovaná lymfadenopatie, splenomegalie, ulcerace jazyka a hltanu a žloutenka. Patologické nálezy zahrnují mnohočetná nekrotická ložiska na lymfatických uzlinách, slezině, játrech a plicích. Psi jsou méně vnímaví a zřídka se u nich projeví klinické příznaky onemocnění. Přesto se mohou stát přenašeči. Mohou šířit původce na své srsti, po kontaktu s kontaminovanými mrtvými zvířaty nebo půdou. Ve většině případů infekce sama odezní a zvíře se zotaví spontánně (Petersen 2004).



Obrázek 7- Postmortální vyšetření zajíce evropského

(1) plíce s četnými šedobílými ložisky a uzliny (šipky) obklopené tmavými hyperemickými oblastmi, (2) perikard a plíce s četnými žlutými ložisky, (3) varle, na povrchu řezu četná žlutobílá ložiska, (4,5,6) mikroskopické vyšetření ložisek

(převzato z https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985810369902?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%20%20pubmed)

3.6 Diagnostika

Celosvětově je diagnostika tularémie primárně založena na kompatibilních klinických a epidemiologických datech a pozitivním sérologickém testu. Bakterie lze izolovat z hemokultur u pacientů s bakteriemií *Francisella tularensis* nebo z jiných klinických vzorků včetně vředů, konjunktivních či faryngálních exsudátů, biopsií hnisavých lymfatických uzlin, vzorků sputa a mozkomíšního moku (Splettstoesser et al. 2005).

Vzorky měly odebírat přednostně před zahájením antibiologické léčby a měly by záviset na klinické formě onemocnění. Vzorky mohou zahrnovat krev, sérum, sekrety dýchacího traktu, výplachy a výtěry z viditelných lézí, aspiráty či biopsie lymfatických uzlin, moč a pitevní materiál.

U zvířat je u všech forem onemocnění preferovaným vzorkem sérum, ale lze použít i plazmu a suchou krev na papírových filtrech. Vzorky krve by měly být odebrány alespoň 14 dní po nástupu příznaků. Lze využít i lymfatické uzliny nebo aspiráty kostní dřevě, orgány (plíce, játra, slezina) a mozkomíšní mok. V souvislosti s ohniskem nebo epidemiologickými studiemi by vzorky měly zahrnovat vektory členovců i vzorky z prostředí, jako je voda, půda a trus hlodavců. Vzhledem k omezením kultivace a metod PCR se diagnostika tularémie primárně opírá o sérologické testy (Hepburn&Simpson 2008).

Francisella tularensis je biologicky nebezpečný patogen proto jsou pro kultivaci a celkovou diagnostiku tularémie zapotřebí speciálně vybavené laboratoře a kvalifikovaný laboratorní personál. Izolace bakterií by měla být provedena v laboratořích na úrovni biologické bezpečnosti (Lopes de Carvalho et al. 2009).

Kultivace podle Centra pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC) zůstává kultivace referenční technikou pro laboratorní potvrzení infekce tularémie. Tato technika potvrzuje zejména *F.tularensis tularensis* a *F. tularensis holarctica*. *Francisella tularensis* lze kultivovat in vitro ve vhodném kapalném nebo pevném médiu. Jako kultivační médium se nejvíce doporučuje médium CHAB (cysteinový agar, který je obohacený krví), protože bakterie vykazuje na tomto médiu charakteristický růst. Vznikají opalescenční zelené, světlé kolonie po 24-48 hodinách (WHO 2007).

K potvrzení původce kultivačním vyšetřením se zasílají celá těla, čerstvě odebrané nebo zamražené orgány a kostní dřev, popřípadě stěry z orgánů. Stěry pro kultivační vyšetření se zasílají v transportním médiu s aktivním uhlím, naopak médium pro stěry určené pro vyšetření PCR metodou nesmí aktivní uhlí obsahovat. Kultivační vyšetření trvá 7 dní. V případě pozitivního nálezu následuje konfirmace narostlých kolonií metodou PCR. Jakmile je získán čistý izolát, používá se fermentace glycerolu k rozlišení typu A při němž dochází k fermentaci glycerolu a typu B, při kterém k fermentaci glycerolu nedochází (Splettstoesser et al. 2005).

Metody založené na PCR jsou užitečné u lokalizovaných forem tularémie, kdy lze získat exsudáty nebo vzorky tkání. Tyto testy jsou používány k detekci DNA a identifikaci poddruhu a genotypu *F. tularensis* (Splettstoesser et al. 2005).

Sérologické metody jsou běžným způsobem potvrzení diagnózy tularémie. Definitivní sérologické potvrzení infekce vyžaduje určení sérokonverze tj. detekce čtyřnásobného nebo vícenásobného zvýšení titru specifických protilátek přítomných ve dvou po sobě jdoucích vzorcích séra, odebraných v akutním a rekonvalescentním stádiu onemocnění. Klinicky

významné titry protilátek jsou obvykle detekovány pouze 1–2 týdny po nástupu příznaků, a proto obvykle chybí u pacientů s časnými klinickými příznaky (Tarvik et al. 2007).

Titry protilátek vrcholí za 3–4 týdny po progresi klinických příznaků. Později titry progresivně klesají, ačkoli zbytkové titry mohou přetrvávat měsíce až roky (WHO 2007).

Sérologické techniky umožňují potvrzení infekce způsobené poddruhy *F. tularensis* a *F. holarctica*, ale jsou obecně negativní výsledky v případech spojených s poddruhy *F. novicida* a *F. philomiragia*. Standartní aglutinační testy jsou obvykle negativní během prvního týdne nemoci, pozitivní u mnoha pacientů do dvou týdnů s vrcholem po 4-5 týdnech infekce. Stejný postup lze použít i u zvířat. Sérologie má u vysoce vnímaných druhů zvířat omezené použití, protože úhyn obvykle předchází vývoji specifických protilátek (Bandouchová et al. 2011). V endemických oblastech jsou však protilátky proti *F. tularensis* často detekovány u divokých zvířat, která mají vyvinutou imunitu (WHO 2007).

3.7 Terapie

Postup léčby závisí na závažnosti infekce. Včasná diagnóza zpravidla umožňuje okamžitou léčbu antibiotiky. V některých případech může být nutný chirurgický zákrok k uvolnění zduřených lymfatických uzlin nebo k odstranění infikované tkáně od kožního vředu.

Jen málo antibiotik je terapeuticky účinných při léčbě pacientů. *Francisella tularensis* je přirozeně rezistentní vůči mnoha druhům antibiotik. (Mandel et al. 2005).

Potenciální nové terapeutické strategie pro tularémii zahrnují vývoj nových antibiotik, nových způsobů použití stávajících antibiotik, snížení virulence *F. tularensis*, posílení vrozené a adaptivní imunitní odpovědi hostitele (Boisset et al. 2014).

V současné době se používají k léčbě nejčastěji aminoglykosidy (streptomycin a gentamycin), protože mají baktericidní účinky proti *F. tularensis* (Origgi et al. 2014). Jako alternativa k léčbě streptomycinem se doporučuje použití gentamycinu nebo použití dalších léčiv, které obsahují tetracykliny a chloramfenikol. (Kaya et al. 2011).

Imunospecifická ochrana proti tularémii je zajištěna vakcinací živým atenuovaným kmenem *Francisella tularensis*. Vakcína LVS (Live Vaccine Strain) poskytuje vynikající ochranu proti respirační a ulceroglandulární formě, a to po dobu 10 let. V současné době není tato vakcína licencována z důvodu potíží se standardizací a nedostatečnou ochranou proti typu A. (Marohn et al. 2019).

Psy a kočky je možné léčit gentamycinem, v případě kontraindikací je možné použít doxycyklin nebo fluorochinolony. Pro hospodářská zvířata se používá doxycyklin. Jelikož je tularémie přenosná na člověka je nutné nemocná zvířata umístit do přísné izolace, a to minimálně na 72 hodin po zahájení antibiotické léčby (časopis veterinářství 2016).

3.8 Prevence

Státní veterinární správa ČR každoročně uskutečňuje systematické celoplošné vyšetřování v oblastech s výskytem tohoto onemocnění v období podzimních mysliveckých honů. V České republice se nejčastěji vyšetřuje na území jižní Moravy (Znojmo, Břeclav), v Třebíči a v Polabí. Občasná ohniska se nacházejí v Královehradeckém a Pardubickém kraji. Na každých 100 km² se vyšetřují uhynulí zajíci a odebírají se vzorky od 3-4 ulovených zajíců (SVS 2010).

Pokud je nákaza zjištěna během prováděného monitoringu u zajíců, musí být přijata veterinární opatření, která spočívají ve vymezení pásma, ze kterého se odlovení zajíci nesmí dostat do tržní sítě. Pokud se po dobu dvou let na území nevyskytne žádný pozitivní případ tularemie, je prohlášeno jako nákazy prosté. Přitom z ohniska, popřípadě ochranného pásma, smí ulovené zajíce využít pouze lovec ve své domácnosti, a to za podmínky, že je poučen o bezpečném zacházení s masem. Maso lze zpracovat po jeho tepelné úpravě, tj. min 70°C po dobu 10 minut (SZU 2019).

Po ukončení lovu veterinární lékař odebere vzorky krve z hrudní dutiny zajíce, kterou pak smíchá s antigenem. Vzorek kápne na zahřáté sklíčko a během několika minut se prokáže výsledek. Jestliže vyjde vzorek negativní, musí se postupovat stále opatrně, protože protilátky mohou nastoupit daleko později. Proto se test musí provést preventivně znovu (SVS 2010).

Pokud se prokáže pozitivní vzorek Státní veterinární správa nařídí opatření, které trvají tři měsíce. Uživatelé honiteb mají zakázaný odchyt živých zajíců a jejich přemísťování. Musí také zajistit, aby všechna nalezená padlá zaječí zvěř byla bakteriologicky vyšetřena v akreditované laboratoři SVS. Pokud se nalezne uhynulý zajíc či jiné zvíře, musí se provést mimořádné veterinární opatření. Aby se zabránilo nákaze, zvíře se musí bezpečně zabalit do igelitového pytle a předat k veterinárnímu vyšetření (SVS 2019). Na základě výsledků Státní veterinární správa vydá mimořádná veterinární opatření, které pošle na úřad či myslivecký sbor postiženého kraje a obeznámí veřejnost v podobě brožur či letáků (obrázek 8). Za nesplnění nebo porušení povinností vyplývajících z mimořádných veterinárních opatření může správní orgán uložit pokutu v rozmezí 100 000 – 2 000 000 Kč (ČMMJ 2020).



Č. j.: SVS/2015/015334-P

Nařízení Státní veterinární správy

Krajská veterinární správa Státní veterinární správy pro Plzeňský kraj, Družstevní 13, 301 00 Plzeň, IČO: 00018562 (dále jen „KVSP“ nebo „správní orgán“), jako místně a věcně příslušný správní orgán podle ustanovení § 47 odst. 4 a 7 a § 49 odst. 1 písm. c) zák. č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon), ve znění pozdějších předpisů (dále jen „veterinární zákon“), nařizuje podle ustanovení § 54 odst. 1 písm. b), f), i), § 54 odst. 2 písm. a) a § 54 odst. 3 veterinárního zákona t a t o

mimořádná veterinární opatření

při výskytu nebezpečné nákazy tularémie zajíců

Čl. 1

(1) Mimořádná veterinární opatření se nařizují vzhledem k tomu, že v okrese Tachov v katastrálním území obce Dlouhý Újezd, č. k.ú: 626694, byla zjištěna nebezpečná nákaza - tularémie zajíců.

(2) Tularémie zajíců je podle § 10 odst. 2 a přílohy č. 2 veterinárního zákona nebezpečná nákaza, jejímž původcem je zárodek *Francisella tularensis*. Nákaza byla prokázána kultivačně v laboratořích Státního veterinárního ústavu Praha u nalezeného uhynulého zajíce (číslo protokolu: PA-163/15).

Čl. 2

(1) Ohniskem nákazy se vymezuje kruh o poloměru 1 km se středem v místě nálezu uhynulého zajíce na souřadnicích GPS 49°45'33,462"N, 12°37'46,074"E. Okolo ohniska se vymezuje ochranné pásmo, které zahrnuje celá katastrální území obcí a částí obcí: **Dlouhý Újezd, Velký Rapotín a Maršovy Chody**.

Čl. 3

Všem uživatelům honiteb provozujícím právo myslivosti podle zákona č. 449/2001 Sb., o myslivosti, v platném znění, na honebních pozemcích katastrálních území uvedených v čl. 2 odst. 1 tohoto Nařízení a jejich mysliveckým hospodářům ustanovených místně příslušným orgánem státní správy myslivosti se nařizuje:

(1) Zákaz uvolňování zajíců odlovených v ohnisku a ochranném pásmu do oběhu. Z ohniska a z ochranného pásma je lze uvolnit odlovené zajíce ke spotřebě v domácnosti lovce i bez provedení sérologického vyšetření za podmínky, že je lovcí předáno písemné poučení o bezpečném zacházení se zvěřinou při jejím zpracování a po důkladné tepelné úpravě (70°C po dobu min. 10 minut).

(2) Zákaz odchyty zajíců v ohnisku a ochranném pásmu.

(3) Zajistit dostatečné a prokazatelné poučení všech osob manipulujících se zaječí zvěří a zvěřinou o možnostech přenosu nákaz na člověka a o základních zásadách prevence (např. formou informačního letáku).

str. 1 z 3

Obrazek 8- Mimořádné veterinární opatření nařízené SVS pro daný kraj (převzato z SVS)

Veterinární lékař, myslivec či běžný spotřebitel musí při zkoumání či zpracování těla dodržovat protinákazové opatření. Protože jsou krev, moč a další tělní tekutiny zvířete nakažlivé, nesmí mít pověřené osoby na těle žádná povrchová zranění a kvůli vysokému riziku nakažení musí použít jednorázové rukavice. Pokud se zjistí změny na slezině, játrech a dalších orgánech, ihned se musí přestat tělo zkoumat, zpracovávat (obrázek 9,10). Tělo zvířete se zabalí do 2-3 igelitových obalů a musí se zajistit vyšetření na SVS či KSS. (ČMMJ 2013).



Obrázek 9- Plíce zdravého zajíce



Obrázek 10- Plíce nakaženého zajíce – bílá hnisavá ložiska

(převzato z <https://www.myslivost.cz/O-myslivosti/ROZCESTNIK/Zajimave-odkazy/Tisic-let-ceske-myslivosti/Tularemie>)

Nástroje, které se použily při zpracování, zkoumání nebo při manipulaci tělem se musí několikrát umýt v teplé vodě a poté umýt dezinfekcí 3% chloraminem či saponátem. Po ukončení veškeré práce se musí vydezinfikovat veškerá pracovní plocha a je nutná dezinfekce rukou. V žádném případě se nesmí konzumovat syrové maso, protože patogen přežívá v zamraženém mase několik měsíců až rok. Maso se musí dostatečně tepelně upravit (KSS 2010).

Zásadní ochranou člověka před onemocněním je nesahat na uhynulá zvířata, dbát zásad obecné hygieny, nepít neprověřenou vodu, dávat pozor při stahování zajíců. V případě výskytu tularémie by člověk měl dbát pokynů orgánů státního veterinárního dozoru. Pokud se někdo při pobytu ve volné přírodě setká se zvěří, v tomto případě se zajíc, kteří se nepřírodně chovají, měl by na tuto skutečnost upozornit a upozornit místní mysliveckou organizaci, případně místě příslušnou krajskou veterinární správu (KVS 2009).

Preventivní opatření k zabránění vzniku nemocnění tularémií:

- 1) Nedotýkat se zvířat, která ztratila plachost
- 2) Při jakékoliv manipulaci se zajíci a další divokou zvěří používat osobní ochranné pomůcky – rukavice, ochranné brýle
- 3) Nutné dostatečné tepelné opracování pokrmů ze zajíců a další zvěře
- 4) Nepít vodu z neznámých zdrojů
- 5) Opatrnost při práci v prostorech se zvýšenou prašností a předpokládaným výskytem hlodavců (manipulace se senem apod.) – používat ochranné prostředky
- 6) Předměty, které přijdou do styku s odlovenými, utracenými nebo uhynulými zajíci a hlodavci dezinfikovat 3% roztokem chloraminu

3.8.1 Monitoring onemocnění

Přírodní ohniska jsou stabilní s dlouhodobou aktivitou, které se mění pod vlivem klimatu, geografického a lidského vlivu (Keesing et al. 2010). Epidemiologický dohled nad endemickými přirozenými ohniskovými chorobami je základním úkolem pro zachování systému zdravotní péče. Účinnost ochrany obyvatelstva před přirozenými biologickými hrozbami v endemických oblastech závisí na včasnosti a úplnosti zjištěných rizik epidemických událostí a přiměřenosti opatření k jejich minimalizaci (Eliasson et al. 2010).

Základní složkou monitoringu je laboratorní systém zodpovědný za odběr vzorků, jejich zpracování, skladování a vyšetřování k potvrzení výskytu onemocnění.

Předběžné úsilí by mělo být zaměřeno na školení skupin laboratorních specialistů, epidemiologů a klinických lékařů k detekci těchto ohnisek, což dá příležitost správně určit nejpravděpodobnější oblast výskytu patogenů (ECDC 2018).

Dalším vhodným krokem by bylo provést průzkum těchto oblastí pomocí sérologických testů k definování séroreakivity populace. To umožní určit rozsah skutečných patogenů, úroveň nemocnosti a prevalenci onemocnění (Vynograd et al. 2012). Zjištění vysokého podílu séropozitivních jedinců je zásadní pro další fázi výzkumu identifikace rezervoárů a vektorů původců klíšťat a komárů přenášených přírodních ohniskových onemocnění. Přirozeně fungující ohniska poskytují zavedené druhy volně žijících zvířat a členovců (Vynograd a Komarek 2013).

Monitoring v České republice

V roce 2012 byl zahájen aktivní a pasivní monitoring tularémie na celém území ČR, jehož cílem bylo určení rizikových oblastí. Plošný aktivní monitoring zahrnoval vyšetření tří ulovených zajíců na 100 km² metodou pomalé aglutinace na výskyt protilátek. Od roku 2012 je situace u této nákazy ustálená bez výrazných změn, proto byl aktivní monitoring ukončen k 31.12.2018. Od roku 2019 pokračuje pouze pasivní monitoring. V rámci pasivního monitoringu jsou vyšetřeni všichni nalezení uhynulí a ulovení zajíci, u kterých bylo vysloveno podezření na nákazu (obrázek 11) (SVS 2018). Informace o míře rizika v konkrétních lokalitách (obrázek 12,13) byly nadále předávány mysliveckým sdružením krajským hygienickým stanicím (SVS 2021).

Rok	Počet ohnisek	Počet pozitivních
2012	5	27
2013	5	9
2014	3	19
2015	8	17
2016	30	51

Obrázek 11 - Tabulka znázorňující počet ohnisek a pozitivních případ v letech 2012-2016

(převzato z SVS 2021)



Obrázek 12 - Geografické znázornění ohnisek tularémie v roce 2012 (převzato z SVS)

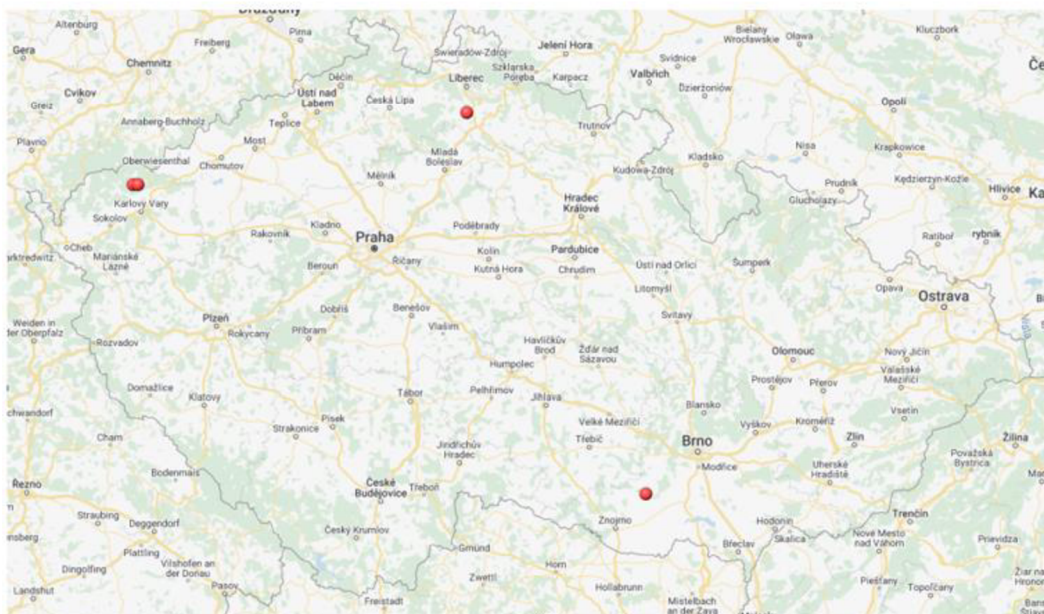


Obrázek 13- Ohniska výskytu tularémie zajíců v roce 2016 (převzato z SVS)

Nejaktuálnější data ukazují, že v roce 2021 bylo na tularémii vyšetřeno celkem 34 zajců z něhož byly 4 pozitivní nálezy (obrázek 14,15) (SVS 2022).

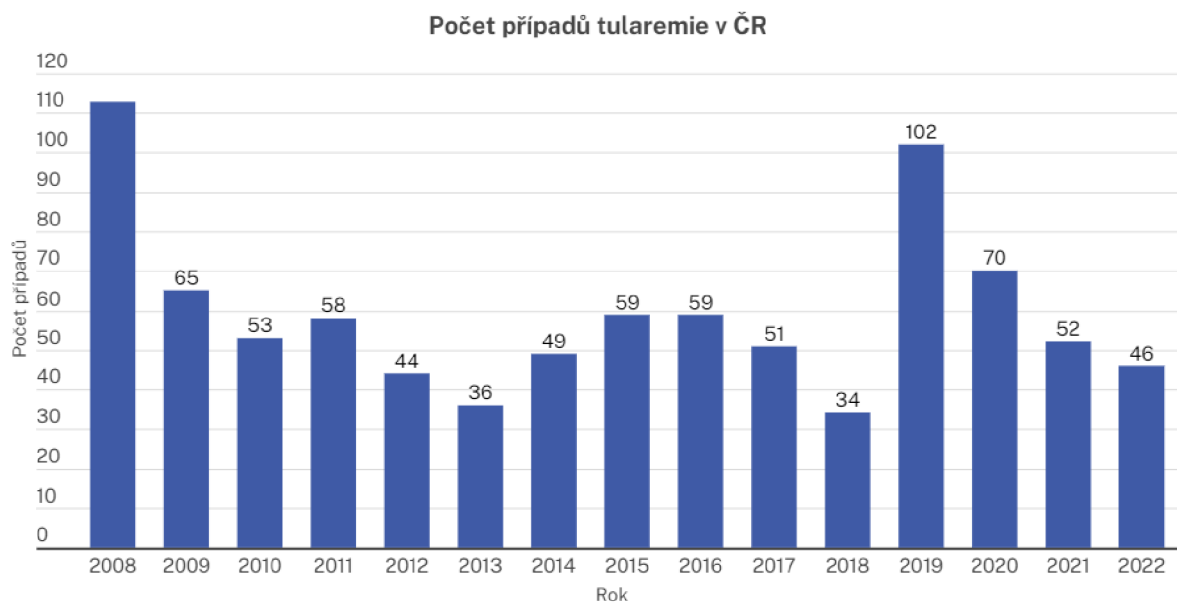
Kraj	2019		2020		2021	
	Uhynulí a podezřelí		Uhynulí a podezřelí		Uhynulí a podezřelí	
	Vyšetřeno	Pozitivních	Vyšetřeno	Pozitivních	Vyšetřeno	Pozitivních
Hlavní město Praha	0	0	6	1	1	0
Středočeský kraj	13	2	12	2	2	0
Jihočeský kraj	15	4	8	1	3	0
Plzeňský kraj	11	3	7	0	4	0
Karlovarský kraj	2	0	5	0	2	2
Ústecký kraj	3	1	16	2	4	0
Liberecký kraj	3	1	1	1	1	1
Královéhradecký kraj	2	1	3	0	0	0
Pardubický kraj	5	1	4	0	0	0
Vysočina	14	0	14	2	12	0
Jihomoravský kraj	20	1	9	1	1	1
Olomoucký kraj	3	0	1	0	1	0
Zlínský kraj	31	1	3	0	3	0
Moravskoslezský kraj	1	0	0	0	0	0
Celkem	123	15	89	10	34	4

Obrázek 14- Počet vyšetřených zajců na tularémii v letech 2019-2021 (převzato z SVS)



Obrázek 15- Nálezy pozitivních zajičů na tularémii v rámci pasivního monitoringu v roce 2021 (převzato z SVS)

V letech 2008 a 2019 byl zaznamenán nejvyšší nárůst počtu případů tularémie u lidí v České republice. V ostatních letech míra případů značně klesla (obrázek 16) (SZÚ 2022).



Obrázek 16- Onemocnění tularémie v České republice letech 2008-2022 (převzato z SZÚ)

3.9 *Francisella tularensis* jako biologická zbraň

Bakterie *Francisella tularensis* byla klasifikována jako potenciální biologická zbraň, díky své virulenci, snadnému rozptýlení aerosolu, perzistenci v prostředí a nespecifických klinických příznakům infekce. Světová zdravotnická organizace (WHO) odhaduje, že inhalace pouhých 10 jednotek tvořící kolonie je dostatečná k tomu, aby způsobila onemocnění u lidí a z toho 30-60 % neléčených infekcí může být smrtelných (CDC 2018).

Vysoce infekční povaha *Francisella tularensis* byla připisována již od poloviny 20. století kvůli ohniskům přenášených vodou v Evropě a Sovětském svazu, laboratorním nehodám a epizootickým případům ve Spojených státech (Petersen & Schriefer 2004). Toto vedlo ke studiím jejího potenciálu, jako biologické zbraně, včetně nedobrovolných experimentů na lidech. Tyto experimenty se prováděly mezi civilními, politickými a vojenskými zajatci během druhé světové války. Během studené války Sovětský svaz i Spojené státy připravovaly a skladovaly tuny infekčních látek pro potenciální využití, proti nepřátelům (Maurin et al. 2015).

4 Závěr

Tularémie je celosvětově se vyskytující závažné zoonotické onemocnění. Přetrvává v přírodních ohniscích, odkud dochází k jeho šíření. V České republice se nachází trvalá přírodní ohniska tularémie především v Jihomoravském kraji, občasná ohniska nákazy jsou hlášena z krajů Jihočeského, Královéhradeckého a Pardubického. V průběhu posledních deseti let v České republice má výskyt tularémie kolísavý charakter, v rámci monitoringu tularémie u zajíců je každým rokem zjištěn nižší počet nakažených zvířat. Počet hlášených případů onemocnění lidí ročně kolísá kolem 50-100 případů a každým rokem se snižuje.

V rámci prevence je stanoveno několik doporučení, se kterými by měli být seznámeni nejen lovci či lidé v rizikových zaměstnáních. Patří mezi ně tyto zásady: nedotýkat se zvířat se ztrátou plachosti, při manipulaci se zajíci i dalšími druhy zvěře používat ochranné pomůcky jako jsou například rukavice, maso z ulovených zvířat dostatečně tepelně zpracovat, nepít vodu z neznámých zdrojů, v místech s výskytem hlodavců, například při manipulaci se senem či slámou, používat ochranné prostředky zabraňující vdechnutí kontaminovaných částic. Významným preventivním doporučením pro zamezení onemocnění tularémií je i ochrana před hmyzími přenašeči, ať u domácích zvířat, tak u lidí.

5 Literatura

- Abraham A, Ostroff G, Levitz SM, Oyston PCF. 2019. A novel vaccine platform using glucan particles for induction of protective responses against *Francisella tularensis* and other pathogens. *Clinical and Experimental Immunology* **198**(e2) DOI: [10.1111/cei.13356](https://doi.org/10.1111/cei.13356).
- Birdsell DN, Stewart T, Vogler AJ, Lawaczech E, Dggs A, Sylvester TL. 2009. *Francisella tularensis* subsp. *novicida* isolated from a human in Arizona. *BMC Research Notes* **2**(e1) DOI: [10.1186/1756-0500-2-223](https://doi.org/10.1186/1756-0500-2-223).
- CDC. 2018. Key Facts About Tularemia. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases. Available from: <https://emergency.cdc.gov/agent/tularemia/facts.asp> (accessed April 2018)
- Cowley SC, Elkins KL. 2011. Immunity to *Francisella*. *Frontiers in microbiology* **2**:26.
- ČMMJ. 2022. Nařízení statátní veterinární správy – tularémie. Českomoravská myslivecká jednota. Available from: <https://www.cmmj.cz/> (accessed March 2020)
- Decors A, Lesage C, Jourdain E, Giraud P, Houbron P, Vanhem P, Madani N, Madani M. 2011. Outbreak of tularemia in brown hares (*Lepus europaeus*) in France, January to March 2011. *Euro Surveill* **16**(e28) DOI: [10.2807/ese.16.28.19913cs](https://doi.org/10.2807/ese.16.28.19913cs).
- Duben J. 2008. Tularémie je nemoc hlodavců, i zajícovců. SVS. Available from: https://www.svscr.cz/tularemie_je_nemoc_hlodavcu_i_zajicovcu/ (accessed February 2008)
- Duben J. 2011. Tularémie není jen nemoc zajíců. SVS. Available from: https://www.svscr.cz/tularemie_neni_jen_nemoc_zajicu/ (accessed May 2011)
- Eliasson H, Broman T, Forsman M, Back E. 2006. Tularemia: Current Epidemiology and Disease Management. *Infectious Disease Clinic of Nort America* **20**(e2) DOI: [10.1016/j.idc.2006.03.002](https://doi.org/10.1016/j.idc.2006.03.002).
- ECDC. 2018. An agency of the European Union. European Centre for Disease Prevention and Control. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en> (accessed March 2018)
- Feldman KA, Ensore RE, Lathrop SL, Matyas BT, McGuill M. 2001. An outbreak of primary pneumonic tularemia on Martha 's Vineyard. *New England journal of Medicine* **345**(e22) DOI: [10.1056/NEJMoa011374](https://doi.org/10.1056/NEJMoa011374).
- Feldman KA. 2003. Zoonosis Update. *Veterinary Medicine Today* **6**: 725-726.

- Foley JE, Nieto NC, Janet E. 2010, Tularemia. *Veterinary Mikrobiology* **140**(e3-4) DOI: 10.1016/j.vetmic.2009.07.017.
- Gyuranecz M, Szeredj L, Makrai L, Fodor L, Mészáros AR, Szépe B. 2010. Tularemia of Brown European Brown Hare (*Lepus europaeus*). *Veterinary Pathology* **47**(e5) DOI: 10.1177/0300985810369902.
- Hansen CM, Vogler AJ, Keim P, Wagner DM, Hueffer K. 2011. Tularemia in Alaska, 1938-2010. *Acta Veterinaria Scandinavica* **51**(e1) DOI:10.1186/1751-0147-53-61.
- Hestvik G, Warns – Petit E, Smith LA, Fox NJ, Uhlhorn H, Artois M, Hannant D, Hutchings MR, Mattsson R, Yon L. 2015. The status of tularemia in Europe in a one- health. *Epidemiology and Infection* **143**(e10) 10.1017/S0950268814002398
- Hubálek Z, Halouzka J. 1997. Mosquitoes, in Contrast to Ticks, Do not carry *Francisella tularensis* in natural focus of tularemia in the Czech republic. *Instituti of Landscape Ecology, Academy of Sciences* **34**: 660-663.
- Kugeler KJ, Gurfield N, Creek JG, Mahoney KS, Versage JL, Petersen JM. 2005. Discrimination between *Francisella tularensis* and *Francisella*-like endosymbionts when screening ticks by PCR. *Applied Environmental Microbiology* **71**(e11): DOI 10.1128/AEM.71.11.7594-7597.2005.
- Koene M, Rijks J, Maas M. 2019. Phylogeographic Distribution of Human and Hare *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* strains in the Netherlands and its Pathology in european brown hares (*Lepus Europaeus*). *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* **9**(e4) DOI:10.3389/fcimb.2019.00011.
- Keim P, Johansson A, Wagner DM. 2007. Molecular Epidemiology, Evolution and Ecology of *Francisella*. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1105**(e1) DOI: 10.1196/annals.1409.011.
- Kingry LC, Petersen JM. 2014. Comparative review of *Francisella tularensis* and *Francisella novicida*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* **4**(e4) DOI: 10.3389/fcimb.2014.00035.
- Lundstrom JO, Andersson AC, Backman S, Schaler ML, Forsman M, titbfaus J. 2011. Transstadial transmission of *Francisella tularensis holarctica* in mosquitoes, Sweden. *Emerging infection diseases* **17**(e5) 10.3201/eid1705.100426.
- Lopes de Carvalho L, Nuncio MS, David de Moralis J. 2009. Tularemia. *The Acta médica portuguesa* **3**:281-290.

- Marohn ME, Barry EM. 2013. Live attenuated tularemia vaccines: Recent developments and future goals. *Vaccine* **31**(e35) DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.05.096.
- Maurin M. 2015. Francisella tularensis as a potential agent of bioterrorism?. *Expert Review of Anti-infective Therapy* **13**(e2) DOI: 10.1586/14787210.2015.986463.
- Mörner T, Addison E. 2001. Tularemia. In. *Infectious Diseases of Wild Mammals*. State University Press **3**:303-312.
- Origi FC, Pilo P. 2016. Francisella tularensis clades B.FTN002 and B.13 are associated with distinct pathology in the european brown hare (*Lepus europaeus*). *Veterinary pathology* **53**(e6) DOI: 10.1177/0300985816629718.
- Petersen JM, Schriefer ME. 2005. Tularemia: emergence/re-emergence. *Veterinary Research* **36**:455-467.
- Petersen JM, Paul SM, Schriefer ME. 2009. Francisella tularensis: an arthropod-borne pathogen. *Veterinary Research* **40**(e2) DOI: 10.1051/vetres:2008045.
- Petersen JM, Schriefer ME, Carter LG, Zhou Y, Sealy T, Bawiec D. 2004. Laboratory analysis of tularemia in wild-trapped, commercially traded prairie dogs, Texas 2002. *Emerging infectious diseases* **10**(e3) 10.3201/eid1003.030504.
- Pejchal P. 2016. Nákazová situace u zvířat v České republice je nadále dobrá. SVS. Available from: https://www.svscr.cz/nakazova_situace_u_zvirat_v_ceske_1/ (accessed May 2016)
- Pikula J, Beklová M, Holešová Z, Tremel F. 2004. Ecology of European Brown Hare and Distribution of Natural Foci of Tularemia in the Czech Republic. *Department of infectious Diseases and Epizootiology* **73**:267-273.
- Rahman MD, Tarvin MD, Sobor A, Islam S, Ievy S, Hossain J, et al. 2020. Zoonotic Diseases: Etiology, Impact and control. *Microorganisms* **8**(e9) DOI: 10.3390/microorganisms8091405.
- Schroll A, Theurl I, Georgi E, Zange S, Rettenbacher T, Bellmann-Weiler R, Weiss G. 2018. Newly emerging ulceroglandular tularemia in western Austria. *Ticks and Tick-borne diseases* **9**(e5) DOI: 10.1016/j.ttbdis.2018.06.003.
- Splettstoesser WD, Tomaso H, Al Dahouk S, Neubauer H, Schuff-Werner P. 2005. Diagnostic procedures in tularemia with special focus on molecular and immunological techniques. *Journal of veterinary medicine series B* **52**(e6) DOI: 10.1111/j.1439-0450.2005.00863.x.
- Sjosted A. 2007. Francisella tularensis: Biology, Pathogenicity, Epidemiology and Biodefense. *Ann. N.Y.* **1105**: 378-404.

- SVS. 2016. Zpráva o činnosti v oblasti ochrany zvířat v roce 2015. Odbor ochrany zvířat a pohody zvířat **2**:70-72.
- SVS. 2022. Zpráva o činnosti v oblasti ochrany zvířat v roce 2021. Odbor ochrany zdraví a pohody zvířat **2**:73-74.
- SZÚ. 2019. Základní informace o onemocnění. Státní zdravotní ústav. Available from: <https://szu.cz/tema/a-z-infekce/t/tularemie/zakladni-informace/> (accessed July 2019)
- SZÚ. 2023. Tularémie. Státní zdravotní ústav. Available from: <https://szu.cz/tema/a-z-infekce/t/tularemie/tularemie-eu-case-definice/> (accessed March 2023)
- SZÚ. 2023. Nemoci přenášené členovci v České republice-klíšťata. Státní zdravotní ústav. Available from: <https://szu.cz/tema/prevence/infekcni-nemoci/nemoci-prenasene-hmyzem-a-roztoci/nemoci-prenas-klisat/> (accessed February 2023)
- Tarvik A, Chu MC. 2007. New Approaches to Diagnosis and Therapy of Tularemia. Annals of the New York Academy of Sciences 1105(e1) DOI: 10.1196/annals.1409.017
- Vogler AJ, Bridsell D, Price LB, Bowers JR, Beckstrom-Sternberg SM, Auebach RK. 2009. Phylogeography of Francisella tularensis: Global Expansion of a Highly Fit Clone. Journal of Bacteriology **191**(e8) DOI: 10.1128/JB.01786-08.
- Vorlíček P. 2022. Zpráva o činnosti v oblasti zdraví zvířat za rok 2021. SVS. Available from: <https://www.svs.cz/svs-zverejnila-zpravu-o-cinnosti-v-oblasti-zdravi-zvirat-za-rok-2021/> (accessed May 2022)
- Vinograd N. 2014. Natural foci diseases as a subtle biological treat. Archivum immunologiae et Therapiae experimentalis **62**(e6) DOI: 10.1007/s00005-014-0316-8
- WHO. 2007. WHO guidelines on tularemia. World Health Organization. Available from: <https://www.who.int/> (accessed February 2007)