

# OBSAH

Seznam zkratk	2
Souhrn	3
Summary	4
1. Úvod do problematiky	5
1.1. Přehled morbovirů vyskytujících se v Evropě	7
1.1.1. Čeleď <i>Flaviviridae</i>	11
Virus Západonilské horečky (WNV)	11
Virus Usutu (USUV)	13
1.1.2. Čeleď: <i>Togaviridae</i>	15
Virus Sindbis (SINV)	15
1.1.3. Čeleď <i>Bunyaviridae</i>	17
Virus Batai (BATV)	17
Virus Lednice (LEDV)	18
Virus Ťahyňa (TAHV)	18
Virus Inkoo INKV	20
Virus Snowshoe hare SSHV	21
2. Cíl rigorózní práce:	22
3. Komentář k předloženým pracem	23
3.1. Impaktovaná publikace: Mosquito ( <i>Diptera: Culicidae</i> ) surveillance for arboviruses in an area endemic for West Nile (lineage: Rabensburg) and Ťahyňa viruses in central Europe (Příloha 1).	23
3.2. Recenzovaná publikace: Vyšetření komárů na přítomnost arbovirů na jižní Moravě v letech 2006-2008 (Příloha 2.)	27
4. DISKUZE	29
5. ZÁVĚR	36
6. Použitá literatura	37
7. Přílohy	44
7.1. Příloha 1	44
7.2. Příloha 2:	44

## SEZNAM ZKRATEK

BATV	virus Batai
BK	buněčná kultura
CDC	Centers for Disease Control and Prevention, U.S.A.
CPE	cytopatický efekt
DENV	virus Dengue
DHS	krvácivý syndrom horečky Dengue
CHIKV	virus Chikungunya
INKV	virus Inkoo
LAMV	Lammi virus
LEDV	virus Lednice
MIR	minimal infection rate (minimální infikovanost)
RT-PCR	reverzně transkripční PCR
RVF	virus horečky Rift Valley
SEDV	virus Sedlec
SINV	virus Sindbis
s.l.	sensu lato
spp.	species blíže neurčen
SSHV	virus Snowshoe hare
TAHV	virus Ťahyňa
USUV	virus Usutu
YFV	virus žluté zimnice
WHO	Světová zdravotnická organizace
WNF	západonilská horečka (West Nile fever)
WNV	virus západonilské horečky (West Nile virus)
WNV-Eg101	Egyptský topotyp Eg101 WNV, linie Ia
WNV-Rab	WNV-Rabensburg, linie III

### Komáři – zkratky rodů:

<i>Ae.</i>	rod <i>Aedes</i>
<i>Oc.</i>	rod <i>Ochlerotatus</i>
<i>An.</i>	rod <i>Anopheles</i>
<i>Cs.</i>	rod <i>Culiseta</i>
<i>Cx.</i>	rod <i>Culex</i>
<i>Cq.</i>	rod <i>Coquillettidia</i>

## SOUHRN

### **Surveillance mobovirů na jižní Moravě v letech 2006-2008 s přihlédnutím k situaci v okolních státech**

Předkládaná rigorózní práce se skládá z jedné impaktované a jedné recenzované publikace. Obě práce přináší výsledky vyšetření komárů odchycených na jižní Moravě v letech 2006-2008.

Impaktovaná práce popisuje získání šesti virových izolátů z 23 243 komářích samiček šestnácti druhů, inokulací 513 suspenzí komárů sajícím myším. K identifikaci jednotlivých izolátů byl použit virus neutralizační mikrotest, následně potvrzený reverzně transkripční polymerázovou řetězovou reakcí. Recenzovaná práce popisuje získání tří virových izolátů, očkováním 202 suspenzí z 9 742 komářích samiček třinácti druhů na kultury Vero buněk. Tyto izoláty byly identifikovány virus neutralizačním mikrotestem.

Sající myši se ukázaly být mnohem citlivějším modelem pro izolaci arbovirů, než kultury Vero buněk. Na kulturách Vero buněk se podařilo zachytit jen tři ze šesti virových izolátů, které byly izolovány na sajících myších.

Celkem se na jižní Moravě během let 2006-2008 podařilo detekovat pět izolátů orthobunyaviru Ťahyňa (tři z *Aedes vexans*, jeden z *Aedes sticticus* a jeden z *Culex modestus*) a jeden izolát flaviviru West Nile - jeho méně patogenní kmen Rabensburg. Tento izolát se podařilo vůbec poprvé získat z komára *Aedes rossicus*, který by mohl být novým vektorem tohoto viru.

Práce je rozšířena o přehled virů přenášených komáry v Evropě, zejména ve státech sousedících s Českou republikou.

## SUMMARY

### **South Moravian mobovirus surveillance during 2006-2008 with respect to the situation in the neighbouring countries**

Presented thesis consists of two peer-reviewed papers, one of them published in a journal with impact factor. Both papers present results of virological investigation of the mosquitoes captured during 2006-2008 in South Moravia, Czech Republic.

The impacted paper describes recovery of six virus isolates from 23,423 mosquito females (in 513 pools) of sixteen species using suckling mice. The isolates were also identified with virus neutralization microtest and confirmed by RT-PCR. The second paper describes recovery of three virus isolates from 9,742 mosquito females (prepared in 202 pools) of thirteen species using Vero cell cultures. The isolates were identified with virus neutralization microtest.

It was shown, that mouse is much more suitable model for mobovirus isolations than is the Vero cell line, because only three virus isolated were successfully recovered using Vero cell lines out of six isolated on mice.

Altogether five orbobunyavirus Ťahyňa isolates (three from *Aedes vexans*, one from *Aedes sticticus* and one from *Culex modestus*) and a flavivirus West Nile-Rabensburg isolate were recovered from mosquitoes in South Moravia during 2006-2008. The Rabensburg isolate was detected in *Aedes rossicus* mosquito, that might present an previously unknown vector of West Nile virus.

Our results were setted into the European context with special emphasis to the neighbouring countries.

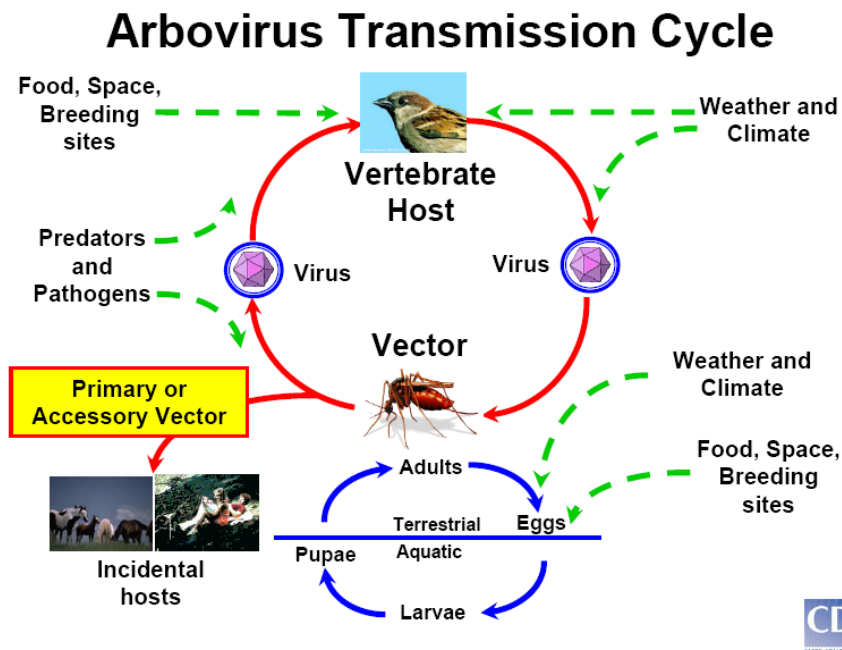
# 1. ÚVOD DO PROBLEMATIKY

Viry přenášené komáry neboli **moboviry**, z anglického **mosquito-borne viruses** (Hubálek 2008), řadíme do větší ekologické skupiny tzv. **arbovirů** (z angl. **arthropod-borne viruses**). Tyto viry, jsou udržované v přírodě tzv. **biologickým přenosem** probíhajícím mezi vnímavými obratlovci (**hostiteli**) a hematofágními členovci (**vektory**). Virové agens se ve vektorovi, na rozdíl od přenosu mechanického, aktivně množí. V některých případech je virus schopen transovariálního a transstadiálního přenosu v populaci vektorů (Rosický a Málková 1980). Byl popsán také sexuální přenos mezi transovariálně infikovanými samci a neinfikovanou samicí (Weaver a Reisen 2010). Neinfikovaný vektor se vzácně může nakazit od infikovaného vektora prostřednictvím simultánního sání krve na stejném hostiteli a to i bez virémie hostitele tzv. přenos sousáním (co-feeding) (Kuno a Chang 2005).

Životní cyklus arbovirů probíhá v přírodních ohniscích (Obr.1). Tak nazýváme část krajiny ohraničenou geograficky i sezónně, kde arbovirus cirkuluje bez závislosti na člověku, kterého může příležitostně infikovat (Rosický 1976).

Do životního cyklu arbovirů občasně vstupují tzv. **náhodní hostitelé** (incidental hosts) např. člověk. Často, na rozdíl od přirozených hostitelů, propuká u náhodných hostitelů onemocnění. Pro virus bývají hostitelé konečnými, protože nedokáží vyvinout dostatečnou virémii potřebnou pro infekci vektora. Jednými výjimkami z tohoto pravidla, z virů o kterých tato práce pojednává, jsou viry Chikungunya a Dengue. Kromě svého přírodně-ohniskového cyklu mohou mít i cyklus urbánní, ve kterém jako hostitel figuruje člověk s dostatečnou virémií pro nakažení vektora (Weaver a Reisen 2010).

Obr. 1. Životní cyklus arbovirů



<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/arbor/schemat.pdf>

Termínem epidemiologická surveillance rozumíme monitorování nákazy a všech vnějších podmínek, které mohou mít význam pro její dynamiku. Konečným cílem je potlačení nákazy (Hubálek 2000). Jako příklad lze uvést surveillance WNV v U.S.A, kde systém zahrnuje několik pater: surveillance lidí (případy onemocnění, séroprevalence populace, screening dárců krve), ptáků, koní (sentinelová zvířata-indikátory výskytu viru) a komárů (měřítko intenzity infekce) (Tabor 2007, Roehrig a kol. 2002).

## 1.1. Přehled mobovirů vyskytujících se v Evropě

V současné době se v Evropě vyskytuje deset mobovirů viz Tab. 1 a 3.

Tab. 1.: Taxonomické zařazení mobovirů vyskytujících se v Evropě podle (Hubálek 2008)

Čeleď	Rod	Sérologická skupina	Druh	Výskyt v ČR
<i>Flaviviridae</i>	<i>Flavivirus</i>	Japonské encefalitidy	Virus West Nile	Ano
			Virus Usutu	Ne
		Antigenní komplex Dengue	Virus Dengue	Ne
<i>Togaviridae</i>	<i>Alphavirus</i>	Západoamerická koňská encefalitida	Virus Sindbis	Ne
		Semliki forest	Virus Chikungunya	Ne
<i>Bunyaviridae</i>	<i>Orthobunyavirus</i>	Bunyamwera	Virus Batai	Ano
		Kalifornská encefalitida	Virus Ťahyňa	Ano
			Virus Snowshoe hare	Ne
			Virus Inkoo	Ne
		Turlock	Virus Lednice	Ano

Na území ČR žije 43 druhů komárů (Minář a Halgoš 1997). Z toho na území jižní Moravy se jich vyskytuje přes třicet viz Tab.2.

Tab.2.: Přehled komárů vyskytujících se na jižní Moravě a virových agens z nich izolovaných podle Šebesty a Hubálka (2004) a Šebesty a kol. (2009).

Druh komára	Četnost výskytu	Izolované viry
<i>Anophelinae</i>		
<i>Anopheles atroparvus</i>	Velmi vzácný	-
<i>An. claviger</i>	Vzácný	Batai*
<i>An. maculipennis</i>	Nehojný	Batai, West Nile*
<i>An. messeae</i>	Nehojný	-
<i>An. plumbeus</i>	Velmi vzácný	-
<i>An. hyrcanus</i>	Vzácný	West Nile*
<i>Culicinae</i>		
<i>Ae. cinereus</i>	Dosti hojný	Ťahyňa, Sindbis*
<i>Ae. rossicus</i>	Nehojný	-
<i>Ae. vexans</i>	Velmi hojný	Ťahyňa
<i>Ochlerotatus cantans</i>	Hojný	Ťahyňa, West Nile*
<i>Oc. caspius</i>	Nehojný	Ťahyňa
<i>Oc. cataphylla</i>	Nehojný	-
<i>Oc. annulipes</i>	dosti hojný	-
<i>Oc. communis</i>	Nehojný	Ťahyňa*, Sindbis*
<i>Oc. dorsalis</i>	Nehojný	Ťahyňa
<i>Oc. excrucians</i>	Dosti hojný	Ťahyňa*
<i>Oc. flavescens</i>	Nehojný	Ťahyňa*
<i>Oc. geniculatus</i>	Nehojný	-
<i>Oc. intrudens</i>	Vzácný	-
<i>Oc. leucomelas</i>	Velmi vzácný	-
<i>Oc. nigrinus</i>	Velmi vzácný	-
<i>Oc. punctor</i>	Vzácný	-
<i>Oc. refiki</i>	Vzácný	-
<i>Oc. sticticus</i>	Velmi hojný	Ťahyňa
<i>Culex martinii</i>	Velmi vzácný	-
<i>Cx. modestus</i>	Nehojný (rákosiny)	Ťahyňa, West Nile*, Lednice
<i>Cx. territans</i>	Nehojný	-
<i>Cx. pipiens</i>	Velmi hojný	West Nile, Sindbis*
<i>Culiseta annulata</i>	Nehojný	Ťahyňa
<i>Cs. alaskaensis</i>	Vzácný	-
<i>Cs. morsitans</i>	Velmi vzácný	-
<i>Coquillettidia richardii</i>	Vzácný (rákosiny)	Batai*, West Nile*, Sindbis*
<i>Uranotaenia unguiculata</i>	Velmi vzácný	-

\*virus byl z daného komára izolován v Evropě mimo území Česka



Tab. 3.: Geografické rozšíření evropských mobovirů

<b>Státy Evropy</b>	<b>Izolované moboviry</b>
Albánie	WNV(15)
Andorra	Žádné dostupné informace nenalezeny
Belgie	Žádné dostupné informace nenalezeny
Bělorusko	WNV(1)
Bosna a Hercegovina	Žádné dostupné informace nenalezeny
Bulharsko	WNV(1)
Černá Hora	Žádné dostupné informace nenalezeny
Česko	WNV(18), TAHV(19), BATV(21), LEDV(20)
Dánsko	Žádné dostupné informace nenalezeny
Estonsko	INKV(1), SINV(17)
Finsko	BATV(1), SINDV(1), INKV(1), LAMV(11)
Francie	WNV(1), TAHV(1), DENV (2)
Chorvatsko	TAHV(1), BATV(17)
Irsko	WNV(1)
Island	Žádné dostupné informace nenalezeny
Itálie	TAHV(1), USUV(3), CHIKV(10), WNV(12), SINV-Sicílie(17)
Kazachstán (5,4%)	Žádné dostupné informace nenalezeny
Kosovo	Žádné dostupné informace nenalezeny
Lichtenštejnsko	Žádné dostupné informace nenalezeny
Litva	TAHV(17)
Lotyšsko	Žádné dostupné informace nenalezeny
Lucembursko	Žádné dostupné informace nenalezeny
Maďarsko	TAHV(1), BATV(1), USUV(4), WNV(14), SINV(17)
Makedonie	Žádné dostupné informace nenalezeny
Malta	Žádné dostupné informace nenalezeny
Moldavsko	WNV(1), TAHV(16), BATV(17)
Monako	Žádné dostupné informace nenalezeny
Německo	TAHV(1), SINV(9)
Nizozemsko	Žádné dostupné informace nenalezeny
Norsko	BATV(1), INKV(1), TAHV(17), SINV(17)
Polsko	TAHV(1), SINV(17)
Portugalsko	WNV(1), TAHV(1), BATV(1), WNV(8)
Rakousko	TAHV(1), BATV(1), USUV(6), WNV(22)
Rumunsko	WNV(13), BATV(1), TAHV(16)
Rusko (23,16%)	WNV(1), TAHV(1), BATV(1), SINDV(1), INKV(1), SSHV(17)
Řecko	WNV(15)
San Marino	Žádné dostupné informace nenalezeny

<b>Státy Evropy</b>	<b>Izolované moboviry</b>
Slovensko	WNV(1), TAHV(1), BATV(1), SINV(17)
Slovinsko	TAHV(17)
Spojené království VB a Irska	Žádné moboviry zde dosud nebyly izolovány (16)
Srbsko	TAHV(1), BATV(17)
Španělsko	TAHV(1), USUV(7), WNV(8)
Švédsko	BATV(1), SINV(1), INKV(1)
Švýcarsko	USUV(5)
Turecko (3%)	Žádné dostupné informace nenalezeny
Ukrajina	WNV(1), BATV(1), TAHV(16), SINV(17)
Vatikán	Žádné dostupné informace nenalezeny

(1) Zgomba a Petric 2008; (2) Ruche a kol. 2010; (3) Savini a kol. 2011; (4) Bakonyi a kol. 2007; (5) Steinmetz a kol. 2010; (6) Weissenböck a kol. 2002; (7) Busquets a kol. 2008; (8) Sotelo a kol. 2009; (9) Jöst a kol. 2010; (10) Rezza a kol. 2007; (11) Huhtamo a kol. 2009; (12) Cantile a kol. 2000; (13) Tsai a kol. 1998; (14) Hubálek a Halouzka 1999; (15) [http://www.who.int/csr/don/2011\\_08\\_16/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2011_08_16/en/index.html); (16) Medlock a kol. 2006; (17) Hubálek 2008; (18) Hubálek a kol. 1999; (19) Bárdoš a Danielová 1959; (20) Málková a kol. 1972; (21) Bárdoš a Čupková 1962; (22) Wodak a kol. 2010

### 1.1.1. Čeľad' Flaviviridae

Jedná se o malé, obalené +ssRNA viry (Weissenböck a kol. 2010).

#### **Virus Západonilské horečky (WNV)**

WNV je flavivirus ze skupiny virů Japonské encefalitidy. Pochází z centrální Afriky (Weaver a Reisen 2010). Poprvé byl izolován roku 1937 z krve ženy s horečkou v Ugandě (Smithburn a kol. 1940). První evropský izolát pocházel z pacientů a z komárů v deltě Rhóny (Hannoun a kol. 1964). Ve střední Evropě byl poprvé izolován roku 1972 blízko Malacek (SR) Labudou a kol. (1974) z komára *Oc. cantans*.

Momentálně rozeznáváme 5 genomických linií, z čehož pouze linie 1a je celosvětově rozšířená, ostatní mají svůj výskyt geograficky omezený (Weaver a Reisen 2010). Všechny izoláty z It, Šp, Rumunska, Francie, patří do linie Ia (Sotelo a kol. 2009). V Řecku, Maďarsku, Rakousku a Rusku se vyskytuje i linie II (Reusken a kol. 2011, Wodak a kol. 2011, Papa a kol. 2011).

Virus způsobuje onemocnění koní, které se projevuje jako encefalomyelitida s horečkou a úmrtností přibližně 25 %. A fatální systémové onemocnění ptáků (Hubálek 2008). Méně často dochází k onemocnění dobytka a psů (Hubálek 2000a, Hubálek a Halouzka 1996). Lidské onemocnění po nákaze WNV je nazýváno západonilská horečka (WNF) nastupující po 3-6 dnech inkubační doby. Charakteristický je prudký nástup horečky trvající 3-5 dní spojený s bolestmi hlavy, v krku, pohybového aparátu, makulopapulózní vyrážkou na trupu a končetinách, únavou, nechutenstvím, nutkání ke zvracení, bolestmi břicha a průjmem. U 15 % případů se objevuje meningismus, encefalitida, zánět jater, slinivky břišní a srdečního svalu. Rekonvalescence bývá u dětí rychlá, zatímco u dospělých je často provázena dlouhodobou bolestí svalů a slabostí. Mortalita bývá 5-10 % a ohrožuje spíše pacienty starší šedesáti let (Hubálek a Kříž 2003). Kramer a kol. (2007) dokonce popisuje průběh WNF u některých pacientů jako akutní paralýzu s trvalými následky

způsobenou množením viru v míšních rozích, která nastoupí po stádiu mírných chřipkovitých příznaků často bez afekce mozku.

Kromě přenosu bodnutím komára se virus může přenášet transplantacemi, transfúzemi, a z matky na plod intrauterinně (Julander a kol. 2006).

Nejdůležitější evropskou epidemií zůstává rumunská z roku 1996. Laboratorně potvrzenou infekci WNV mělo 393 osob, z nichž 352 mělo akutní infekci centrálního nervového systému. 17 pacientů zemřelo, všichni starší padesáti let (Tsai a kol. 1998).

Největší koňská epidemie v Evropě proběhla ve Francii roku 2000 (76 koní, 21 zemřelo, žádné případy onemocnění člověka nebyly laboratorně potvrzeny, ačkoliv 33 lidí bylo hospitalizováno s horečkou a meningoencefalitidou (Mailles a kol. 2003). K 16.8. 2011 hlásila WHO řadu laboratorně potvrzených WNF z Evropských zemí: Albánie (2 případy), Řecko (22 případů), Rumunsko (1 případ) a Rusko (11 případů).

[http://www.who.int/csr/don/2011\\_08\\_16/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2011_08_16/en/index.html)

V USA jsou k dispozici dvě vakcíny pro koně. Lidská vakcína už prošla I. fází klinických testů (Dauphin a Zientara 2007).

V České republice byl virus poprvé izolován Hubálkem a kol. (1998) po povodních 17. září 1997 izolát 97-103 z komárů *Cx. pipiens* (11 334 komárů, 5 druhů) blízko Lanžhota. O dva roky později opět z *Cx. pipiens* (14 354 jedinců) (Hubálek a kol. 2000). Izolace z *Ae. rossicus* popsaná v této práci, je třetí izolací WNV na našem území. Zatím se vždy jednalo o linii WNV-Rabensburg, která s liniemi WNV I a II sdílí 75-77% nukleotidové a 89-90% aminokyselinové homologie (Bakonyi a kol. 2005).

V České republice se vyskytuje přírodní ohnisko u Lanžhota, situováno na levém břehu Dyje naproti rakouské obci Rabensburg a u rybníka Nesyt u Valtic blízko Břeclavi. Celkem bylo na našem území zaznamenáno 5 lidských případů WNF po povodni v roce 1997 (Hubálek a kol. 1999).

Přírodně ohniskový životní cyklus viru zahrnuje divoké, převážně mokřadní a vodní ptáky jako hostitele a amplifikátory viru a ornitofilní komáry (*Cx. pipiens*, *Cx. modestus*) jako vektory (Hubálek a Kříž 2003). Ptáci vyvinou virémii 3-4 dny po expozici, po které nastává doživotní imunita (Dauphin a Zientara 2007). Hubálek (2000a) zmiňuje 3 izoláty WNV pocházející z *Rana*

*ridibunda* (Tádžikistán) a experimentální ověření schopnosti tohoto obojživelníka vyvinout dostatečnou virémii pro přenos viru. Role obojživelníků a plazů v cirkulaci WNV v mírném pásu zůstává nejasná stejně jako otázka, zda u nás virus přezimuje.

Teoreticky by se tak mohlo dít díky přezimujícím samicím *Culex spp.*, transovariálním přenosem do potomstva, nebo chronicky infikovanými obratlovci. Alternativní hypotézou je, že virus v mírném pásu nepřezimuje a je občas reintrodukován tažnými ptáky ze subtropických ohnisek (Hubálek a Kříž 2003). Lidé, koně a většina savců jsou pro virus koncovými hostiteli, protože nedokážou vyvinout virémii dostatečnou k infekci vektora (Dauphin a kol. 2004). Hlavní sezóna WNF se v mírném pásu omezuje na období červenec-říjen, s maximem v srpnu a v září (Hubálek a Kříž 2003).

### **Virus Usutu (USUV)**

USUV byl poprvé izolován roku 1959 z *Culex naevei* v jižní Africe (Williams a kol. 1964). Po mnoho let byl považován za relativně neškodný exotický virus, až do roku 2001 nebyl asociovaný s žádným onemocněním obratlovců.

Do Evropy, konkrétně do Vídně, byl pravděpodobně zanesen tažným ptactvem roku 2001. Způsobil zde epidemii několik stovek kosů (*Turdus merula*). Tento kmen se stal v Evropě endemickým a vyskytuje se v Rakousku, Maďarsku, Švýcarsku a Itálii. V letech 2005-2006 způsobil epidemii kosů o stovkách případů v Maďarsku a epidemii vrabců (*Passer domesticus*) ve Švýcarsku. Mezi lety 2008 a 2009 virus usmrtil minimálně tisíc kosů v Itálii. Sérologická data z ptáků naznačují jeho cirkulaci z UK, Německa, Polska a ČR. Do Španělska byl virus pravděpodobně zavlečen samostatně, protože se geneticky liší. Byl zde izolován z komárů *Culex spp.* a zatím nebyl spjat s úmrtností ptáků.

V roce 2009 byly zaznamenány dva případy lidské encefalitidy způsobené USUV u imunokompromitovaných pacientů. USUV byl také izolován v Africe z pacienta s horečkou a vyrážkou. Onemocnění ptáků je charakteristické encefalitidou, degenerací srdečního svalstva, nekrózami

orgánů včetně mozku. Ohrožení jsou zejména ptáci řádů pěvci (*Passeriformes*) a sovy (*Strigiformes*).

Hlavním přenašečem viru v Evropě je *Cx. pipiens*, velmi dobře virus přenáší i *Ae. albopictus*. V oblastech Evropy, kde je USUV aktivní, se ptačí mortalita rok od roku snižuje, klinické případy se stávají inaparentními a u jedinců viru již exponovaným, nedochází k patologickým změnám. (Savini a kol. 2011, Steinmetz a kol. 2010, Weissenböck a kol. 2002, Weissenböck a kol. 2010, Cavrini a kol. 2009a, Pecorari a kol. 2009, Bakonyi a kol. 2007, Digoutte a Adam 2007).

Hubálkovi a spolupracovníkům (2008) se v letech 2004-2006 podařilo detekovat specifické protilátky proti USUV u ptáků na jižní Moravě.

### 1.1.2. Čeľad': *Togaviridae*

Viriony jsou sférické, obalené, 70 nm velké, +ssRNA.

<http://ictvdb.cumc.columbia.edu/>

#### **Virus Sindbis (SINV)**

Izolace prototypového kmene EgAr-339 se podařila Taylorovi a spolupracovníkům v roce 1952 ve vesnici Sindbis v Egyptě z *Culex univitattus* (Theiler a Downs 1970). Navzdory svému kosmopolitnímu rozšíření vyjma obou Amerik, způsobuje klinické onemocnění jen v několika geograficky ohraničených oblastech v severní Evropě, jižní Africe, Austrálii a Číně. Jihoafrické a severoevropské kmeny jsou si blízce příbuzné, proto se všeobecně uznává hypotéza, že byl virus do Evropy zanesen tažnými ptáky z Afriky. Stále si nejsme jisti, zda je virus v Evropě endemický, nebo je sem pouze pravidelně zanášen tažným ptactvem.

V severní Evropě se klinicky projevuje zejména ve Finsku (onemocnění Pogosta), Švédsku (onemocnění Ockelbo) a Rusku (Karelská horečka). První evropská izolace pochází ze Švédska z roku 1967. Epidemie propukají ve Finsku od roku 1974 mezi červnem a říjnem každých 7 let. Epidemické roky byly: 1974, 1981, 1988, 1995, 2002, 2009. Ve Finsku čítají stovky, vzácně přes tisíc případů. Fenomén sedmiletých intervalů dosud nebyl dosud uspokojivě vysvětlen, ale koreluje se zhroucením populace tetřeva, které při každé epidemii nastane. Izolace SINV v Německu v roce 2009 dobře zapadá do epidemického schématu.

V přírodě virus cirkuluje mezi tetřevovitými ptáky (*Tetraonidae*) nebo pěvci (*Passeriformes*, zejména drozdovití *Turdidae*) a komáry rodů *Culex* zejména *Cx. torrentium* a *Culiseta* (Kurkela a kol. 2008, Sane a kol. 2010, Pfeffer a kol. 2010, Jöst a kol. 2010). Příležitostnými hostiteli mohou být žáby a křečci (Grešíková a Nosek 1981).

Evropský topotyp R-33 byl izolován z CNS a jater rákosníka obecného (*Acrocephalus scirpaceus*) chyceného roku 1971 blízko Malacek na Slovensku (Ernek a kol. 1973). Ve snaze najít vektora viru bylo na Slovensku vyšetřeno v letech 1971-1978 73 361 komárů, žádný SINV se z nich ale nepodařilo vyizolovat (Málková a kol. 1986). U holubů způsobuje onemocnění s příznaky podobnými encefalitidě (Hubálek 2000a). U lidí vyvolává horečku Sindbis, projevující se 3-4 denní horečkou, vyrážkou, bolestmi hlavy a pohybového ústrojí (Grešíková a Nosek 1981). U některých pacientů se může rozvinout chronická artritida (Hubálek a Halouzka 1996).

V České republice ani ve střední Evropě zatím nebyl zdokumentován žádný případ onemocnění (Málková a kol. 1986, Januška a kol. 1990). Na našem území nebyl SINV dosud izolován, ačkoliv protilátky u obratlovců zde bývají v nízké frekvenci nacházeny (Šebesta a Hubálek 2004).



### 1.1.3. Čeďed' *Bunyaviridae*

Obalené viriony, velké 80-120 nm, se segmentovaný genomem do zpravidla 3 segmentů, nesoucích -ssRNA.

<http://ictvdb.cumc.columbia.edu/>

#### **Virus Batai (BATV)**

Vyskytuje se v agroekosystémech v cyklu mezi domácími přežvýkavci a komáry v Evropě, Asii a střední Africe (Hubálek a Halouzka 1996). Antigenně identický Čalovo virus byl izolován roku 1960 Bárdošem a Čupkovou z komárů *Anopheles maculipennis* s. l. chycených blízko Čalova na jižním Slovensku (Bárdoš a Čupková 1962). Na jižní Moravě byl virus Batai zachycen roku 1963 z komárů *Anopheles maculipennis* s. l. (2 izoláty) (Smetana a kol. 1967).

Hlavního vektora BATV na našem území představuje komár *An. maculipennis* s.l., typický obyvatel hospodářských budov. Dalším vektorem je *An. messeae* (Hubálek a Halouzka 1996). Kmen Chittoor (indický kmen izolovaný z *An. barbirostris*), způsobuje mírné onemocnění ovcí a koz, potraty a poporodní anomálie u dobytka (Hubálek 2008). Přestože je u nás dobytek napadán komáry poměrně často, nebyla dosud popsána žádná jeho onemocnění virem Batai (Málková a kol. 1986). Symptomy lidské infekce jsou podobné „valtické horečce“ (nákaze virem Ťahyňa). Nástupu předchází celková slabost, pocení, ztráta chuti k jídlu. Následuje prudký vzestup teploty (39-40°C), někdy spojený s bolestmi hlavy, dýchacími obtížemi, suchým kašlem, bolestmi kloubů a svalů, příležitostně zvracením a průjmem (Sluka 1969).

Mezi lety 1960-1964 byla ve valtické nemocnici hospitalizována řada pacientů s horečnatým onemocněním; u 17 z nich prokázali signifikantní vzestup protilátek k viru Batai (Bárdoš a kol. 1969). V roce 2008 byl virus izolován z krve osob s horečnatým onemocněním v Thajsku a Súdánu (Hubálek 2008).

## **Virus Lednice (LEDV)**

Virus byl poprvé izolován na jižní Moravě v roce 1963 Málkovou a spolupracovníky. (1972). Jeho existence byla potvrzena roku 1972 ve stejné oblasti šesti dalšími izoláty. Na světě se jej podařilo izolovat pouze v České republice a v Rumunsku, v deltě Dunaje. Nebyl nikdy izolován z jiného druhu komára než z *Cx. modestus* (Málková a kol. 1986; Lundström 1999).

V České republice se vyskytuje jen na jižní Moravě v přírodním ohnisku v oblasti Pohořelických a Lednických rybníků v cyklu mezi *Cx. modestus* a vodními ptáky (Málková a kol. 1986).

Během několika studií bylo potvrzeno, že se u lidí protilátky proti viru Lednice nevyskytují, a proto je považován za nepatogenní pro člověka (Kolman a kol. 1979). Patogenní je pro mladá housata, u nichž projevuje sníženou pohyblivostí, nekoordinovanými pohyby, ztuhlým svalstvem zejména na krku (ve tvaru S) a ztíženým dýcháním a bradykardií (Danielová a Málková 1976).

## **Virus Ťahyňa (TAHV)**

Virus je rozšířen v Evropě, Asii a Africe (Lumbo) (Hubálek a Halouzka 1996). V Česku se přírodní ohniska TAHV nacházejí na jižní Moravě, Ostravsku, v povodí Vltavy a Ohře, podél Labe (v okolí města Neratovice), na Mostecku (Hubálek a kol. 2004, Málková a kol. 1984). Na jižní Moravě se jedná zejména o oblast Dyjsko-Svratecké pánve (Rosický a Málková 1980).

Jedná se o první virus izolovaný z komárů v Evropě, Bárdošem a Danielovou roku 1958. Izolovali celkem 5 kmenů z komárů *Oc. caspius* (2) a *Ae. vexans* (3) na slovenské lokalitě Ťahyňa (Bárdoš a Danielová 1959). Na jižní Moravě byl poprvé izolován roku 1962 z komárů *Aedes vexans* Kolmanem a spolupracovníky (1964). Dále v 60. a 70. letech minulého století zachytili mnoho kmenů TAHV z komárů na jižní Moravě Danielová a kol. (1966, 1969, 1970, 1972, 1978). V letech 1962-1964 bylo izolováno 16 kmenů viru TAH na

lokality Drnholec z *Ae. vexans* a 1 na lokalitě Nejdek z *Oc. cantans* (Danielová a kol. 1966).

Z krve nemocného člověka byl poprvé izolován Šimkovou a Slukou v roce 1972 na jižní Moravě (Šimková a Sluka 1972) a Bárdošem a spolupracovníky (1975). V roce 1997 bylo na jižní Moravě u Lanžhota izolováno 6 kmenů Hubálkem a spolupracovníky (2000) z *Ae. vexans* a *Ae. cinereus*, poté roku 1999 jeden kmen z *Ae. vexans*. Hlavním vektorem tohoto viru je *Ae. vexans*, byl u něj prokázán transovariální přenos (Danielová a Ryba 1979). Dalšími vektory jsou: *Ae. cinereus* (Málková a Marhoul 1976), *Oc. cantans*, příležitostnými vektory jsou ornitofilní *Cx. modestus* a málo početná *Cs. annulata*. Oba hibernují jako imaga, což je důležité epidemiologicky (Danielová a Holubová 1977, Danielová 1992).

Hostiteli viru jsou zejména zajíci, méně často divocí i domácí králíci. Příležitostně mohou přispívat k udržení viru v přírodě mladé lišky (Danielová a kol. 1969). U divokých zvířat není onemocnění známé (Hubálek 2000a).

Virus Ťahyňa je nejvýznamnější lidský patogen mezi komáry přenášenými virem u nás (Januška 1990). Způsobuje „valtickou horečku“ s příznaky podobnými chřipce a inkubační dobou 1-2 dny. Onemocnění je provázeno celkovou slabostí, bolestmi hlavy, svalů a kloubů, faryngitidou, příznaky meningeálního dráždění, gastrointestinálními obtížemi a ztrátou chuti k jídlu. Má sezónní charakter související s aktivitou přenašeče (květen-září) a trvá většinou 3-8 dní. Lidé jsou infikováni TAHV často, ale většina nálezů probíhá inaparentně nebo s nevýraznou klinickou odezvou. Nejvyšší procento séropozitivních osob je nalézáno v oblastech výskytu komářích kalamit. Na jižní Moravě se jedná 30-60% mezi dospělým obyvatelstvem. Prevalence je závislá na věku, u starších osob je vyšší procento promořenosti. Rozdílů jsou i mezi profesemi, u pracovníků v zemědělství, lesnictví, rybářství dochází k nákaze častěji (Januška a kol. 1990, Sluka 1969). První případ „valtické horečky“ byl zdokumentován roku 1960 ve valtické nemocnici, odtud název onemocnění (Sluka 1969). Přinejmenším 100 případů bylo zdokumentováno na Slovensku a na Moravě od roku 1960 viz Tabulka 4.

Tab.4. Přehled případů valtické horečky v Česku a na Slovensku.

Rok	Místo	Počet nemocných + příznaky	Zdroj
1960	ČR, Valtice	8; chřipkovitá forma	(Bárdoš a Sluka 1963)
1960- 1964	ČR, Valtice	58; 23 chřipkovitá forma, 17 plicní forma, 6 revmatická forma, 6 abdominální forma, 2 forma napadající CNS	(Sluka 1969)
1969- 1972	ČR jižní Morava	35; 25 chřipkovitá forma, 8 bronchopneumonie, 2 meningitida	(Rosický a Málková 1980).
1970	ČR, Ostrava	6; případů aseptické meningitidy	(Heinz a kol. 1972)
1974 - 1975	ČR,	9; chřipkovité + zasažení CNS, 2 izolace z krve	(Bárdoš a kol. 1980), (Bárdoš a kol. 1975)
1976	ČR	TAHV způsobil 15 % letních horečnatých onemocnění dětí	(Hubálek a kol. 1979)
2002	ČR, jižní Morava	1; protilátky nalezeny u 16 % ze 497 osob	(Hubálek a kol. 2005)
1961- 1962	SR	12; chřipkovitá forma, případně myalgie a konjunktivitida	(Mittermayer a kol. 1964)
1962- 1963	SR	8; chřipkovitá forma	(Mayerová a kol. 1966)

## Virus Inkoo INKV

Je přenášen především komáry *Ae. communis* a *Ae. punctor* a široce rozšířen v severní Evropě. Navzdory vysoké prevalenci protilátek v populaci severovýchodních států, nebylo s virem dosud asociováno žádné onemocnění (Zgomba a Petric, 2008). Demnikov (1995) popisuje chronické neurologické obtíže u pacientů s protilátkami proti INKV. Virus se vyskytuje na otevřených obdělávaných zemědělských plochách s nádržemi, hostitelé viru jsou neznámí (Hubálek a Halouzka 1996).

## **Virus Snowshoe hare SSHV**

Je endemický v Severní Americe a asijském Rusku. První evropská izolace pochází z Ruska z komárů *Oc. communis* v roce 1986 (Lvov a kol. 1989). Je blízce příbuzný viru TAH. Typickým hostitelem je sněžný zajíc (*Lepus americanus*). Virus napadá koně a způsobuje u nich encefalomyelitidu s ataxií. U lidí vyvolává horečku s bolestmi hlavy a zvracením, občas provázenou příznaky napadení centrálního nervového systému (Hubálek 2008).

O dalších morbovirech, které v Evropě působí epidemie způsobené spíše jednorázovou introdukcí viru viremickým cestovatelem a následným lokálním rozšířením díky komára *Ae. albopictus* pojednávám v kapitole Diskuze.

## **2. CÍL RIGORÓZNÍ PRÁCE:**

Cílem této rigorózní práce je poskytnout aktuální pohled na problematiku virů přenášených komáry na jižní Moravě a stručný přehled morbovirů v Evropě, zejména v sousedních státech. S přihlédnutím na rizika introdukce těchto virů na naše území.

### **3. KOMENTÁŘ K PŘEDLOŽENÝM PRACEM**

#### **3.1. Impaktovaná publikace: Mosquito (*Diptera: Culicidae*) surveillance for arboviruses in an area endemic for West Nile (lineage: Rabensburg) and Ťahyňa viruses in central Europe (Příloha 1).**

Práce popisuje vyšetření 23 243 komářích samic šestnácti druhů odchytených v letech 2006-2008 podél dolního toku Dyje. Z těchto samic se podařilo izolovat pět izolátů orthobunyaviru Ťahyňa. Tři izoláty pocházely z *Aedes vexans*, jeden z *Aedes sticticus* a jeden z *Culex modestus*. Dále byl zachycen virus West Nile, konkrétně jeho méně patogenní kmen Rabensburg, z *Aedes rossicus*. Jedná se o třetí izolaci WNV na našem území a o pravděpodobně zcela nového vektora tohoto viru.

Komáři byli odchyťováni na dvou lokalitách v okolí Břeclavi. První lokalitou byl rybník Nesyt v obci Sedlec blízko Mikulova. Jedná se o chovný rybník s břehy porostlými rákosím, situovaný do hospodářské krajiny v blízkém sousedství pastvin a polí. Druhá oblast sběru - Soutok (Dyje s Moravou) byla pracovní rozdělena na dvě konkrétní lokality: Hvězda a Štrosflek. Obě jsou situovány do pravidelně zaplavovaného lužního lesa obklopeného loukami. Lokalita je proslulá vysokým výskytem divoké zvěře. Na protějším břehu řeky leží rakouské městečko Rabensburg, podle něhož byl virus nazván (Bakonyi a kol. 2005).

Odchyt komárů probíhal přibližně jednou měsíčně v průběhu celé vegetační sezóny (březen-říjen). K odchytu v roce 2006 byly použity entomologické sítky, v dalších letech speciální CDC pasti. Na každé lokalitě po čtyřech. Dvě s živým holubem nastraženým uvnitř za hustou sítkou a dvě se

suchým ledem a miniaturním světýlkem. Vždy od každého druhu pasti jedna ve výšce 1m a druhá ve výšce 5m. Pasti byly exponovány přes noc, vždy dvě noci po sobě. Poté byli komáři odsáti a až do determinace uchovávaní při -65 °C. Dále zpracovávání do suspenzí dle metodiky popsané v práci Kazdová a Hubálek (2010).

Všechny izoláty byly získány intracerebrální inokulací komářích suspenzí sajícím myšatům, které byly po zásahu pozorovány 20 dní.

Virové izoláty byly identifikovány virus neutralizačním testem (Madrid a Portefield 1969) upraveným do podoby mikrotestu (Hubálek a kol. 1979). Bylo použito konstatní ředění séra, sériové ředění viru. Imunní séra použitá pro identifikaci zahrnovala: TAHV, BATV, SEDV, WNV-Eg101, WNV-Rab, USUV, klíšťovou encefalitidu, orbivirus Tribeč, alfavirus Sidbis, DENV-1, Tyuleniy, japonskou encefalitidu. Pro každý virový izolát byl stanoven neutralizační index NI tzn. titr imunního séra ku titru normálního myšícího séra a  $NI \geq 2,0$  byl použit jako hraniční hodnota pro virovou identifikaci (Lennette a Schmidt 1974)

Pooly komárů, které byly pozitivní ve virus neutralizačním mikrotestu a ty, které byly v dalších pasážích negativní, ale přesto způsobily úmrtí myšat, byly dále ověřeny pomocí reverzně transkripční polymerázové řetězové reakce. Výsledky jsou shrnuty v Tab.5, 6.



Tab. 5.: Virologické vyšetření komářích samic inokulací na novorozené myši v letech 2006-2008.

Druh komára	Počet vyšetřených jedinců	Podíl z celkového počtu vyšetřených jedinců
<i>Ae. vexans</i>	9 541	41,05%
<i>Ae. cantans</i>	3 378	14,53%
<i>Ae. rossicus</i>	3 167	13,63%
<i>Cx. pipiens</i>	2 074	8,92%
<i>Ae. sticticus</i>	1 719	7,40%
<i>Cx. modestus</i>	1 601	6,88%
<i>Ae. cinereus</i>	847	3,64%
<i>Ae. cataphylla</i>	475	2,04%
<i>Cs. annulata</i>	103	0,44%
<i>An. maculipennis</i>	97	0,42%
<i>Ae. flavescens</i>	50	0,21%
<i>An. hyrcanus</i>	49	0,21%
<i>An. plumbeus</i>	49	0,21%
<i>An. claviger</i>	38	0,16%
<i>Ae. caspius</i>	28	0,12%
<i>Cq. richardii</i>	27	0,12%
Celkem	23 243	100%

Tab. 6.: Přehled virových izolátů z myší a z buněčných kultur

Číslo suspenze	Druh komára	Pool	Místo sběru	Datum sběru	Identifikovaný virus
06-122*	<i>Cx. modestus</i>	32	Nesyt	1.9. 2006	TAHV
06-135	<i>Ae. vexans</i>	50	Soutok-Štrosflek	25.7. 2006	TAHV
06-154*	<i>Ae. sticticus</i>	50	Soutok-Hvězda	25.7. 2006	TAHV
06-157	<i>Ae. vexans</i>	50	Soutok-Hvězda	25.7. 2006	TAHV
06-222	<i>Ae. rossicus</i>	50	Soutok-Hvězda	30.6. 2006	WNV
06-250*	<i>Ae. vexans</i>	50	Soutok-Hvězda	26.9. 2006	TAHV

\* Negativní na buněčné kultuře Vero.

Izoláty 06-122, 06-135, 06-154, 06-157 a 06-250 měly  $\log_{10}$  NI  $\geq 2$  pro TAHV a  $< 0,8$  u ostatních imuních sér a imuních ascitických tekutin proti všem testovaným arbovirům a byly bez problémů identifikovány jako TAHV. Ale izolát 06-222 reagoval s imuními séry následujícím způsobem: WNV-Rabensburg 3,5, WNV-Eg 3,0, USUV 1,5, DENV-1 1,0 a zbytek testovaných sér a IAF měl  $\log_{10}$  NI  $\leq 0,8$ . Na základě nejvyššího  $\log_{10}$  NI proti WN-Rabensburg, výsledků sekvenace genomu a nízké patogenity pro sajcí myši, byl tento virus identifikován jako WNV-Rabensburg.

Celkem 27 komářích suspenzí identifikovaných virus neutralizačním mikrottestem nebo podezřelých z positivity, bylo testováno pomocí RT-PCR. Virová RNA byla nalezena jen ve výše popsaných šesti izolátech.

### **3.2. Recenzovaná publikace: Vyšetření komárů na přítomnost arbovirů na jižní Moravě v letech 2006-2008 (Příloha 2.)**

Tato práce popisuje výsledky vyšetření 9 742 komářích samiček třinácti druhů odchytených na jižní Moravě v letech 2006-2008 metodou očkování na kultury Vero buněk a následnou identifikaci virových izolátů pomocí plak redukčního virus neutralizačního mikrotestu.

Na kulturách Vero buněk se podařilo zachytit a identifikovat dva izoláty orthobunyaviru Ťahyňa z komára *Aedes vexans* a jeden izolát flaviviru West Nile z komára *Aedes rossicus*.

Kromě standartních lokalit odchyty Soutok a Nesyt, došlo k rozšíření o lokalitu Lednické sklepy. V Lednických sklepích byli komáři sbíráni pouze v letech 2007a 2008, vždy jednorázově v březnu. Jednalo se především o přezimující samice druhů *Culex pipiens* a *Culiseta annulata*. Celkem zde bylo odchyteno 1 134 jedinců, ze kterých se nepodařilo vyizolovat žádný virus a kvůli udržení ekologické uniformity vzorku nebyly tyto samice zahrnuty do hodnot celkových MIR. Sající myši se ukázaly být mnohem lepším modelem studia než kultury Vero buněk, na kterých se podařilo zachytit pouze tři ze šesti virových izolátů. Druhové zastoupení vyšetřených komárů viz Tab.7.

Tab. 7.: Druhové zastoupení vyšetřených komárů

<b>Druh komára</b>	<b>Počet vyšetřených jedinců</b>	<b>Podíl z celkového počtu vyšetřených jedinců</b>
<i>Ae. vexans</i>	3 754	38,53 %
<i>Cx. pipiens</i>	2 800	28,74 %
<i>Ae. rossicus</i>	1 481	15,20 %
<i>Oc. cantans</i>	725	7,44 %
<i>Ae. cinereus</i>	312	3,20 %
<i>Oc. sticticus</i>	221	2,27 %
<i>Cx. modestus</i>	166	1,70 %
<i>Cs. annulata</i>	111	1,14 %
<i>An. maculipennis</i> s.l.	67	0,68 %
<i>An. hyrcanus</i>	49	0,50 %
<i>Oc. caspius</i>	28	0,29 %
<i>Oc. cataphylla</i>	24	0,26 %
<i>An. plumbeus</i>	4	0,041%
Celkem	9 742	100%

## 4. DISKUZE

*„As we anticipate changes in the physical environment of our planet...those most likely to be affected are the viruses spread by vectors whose ecology depends on physical factors such as temperature and rainfall, or biological factors such as availability of non-human host species or their contact with humans.“*

*(Griffiths 2008)*

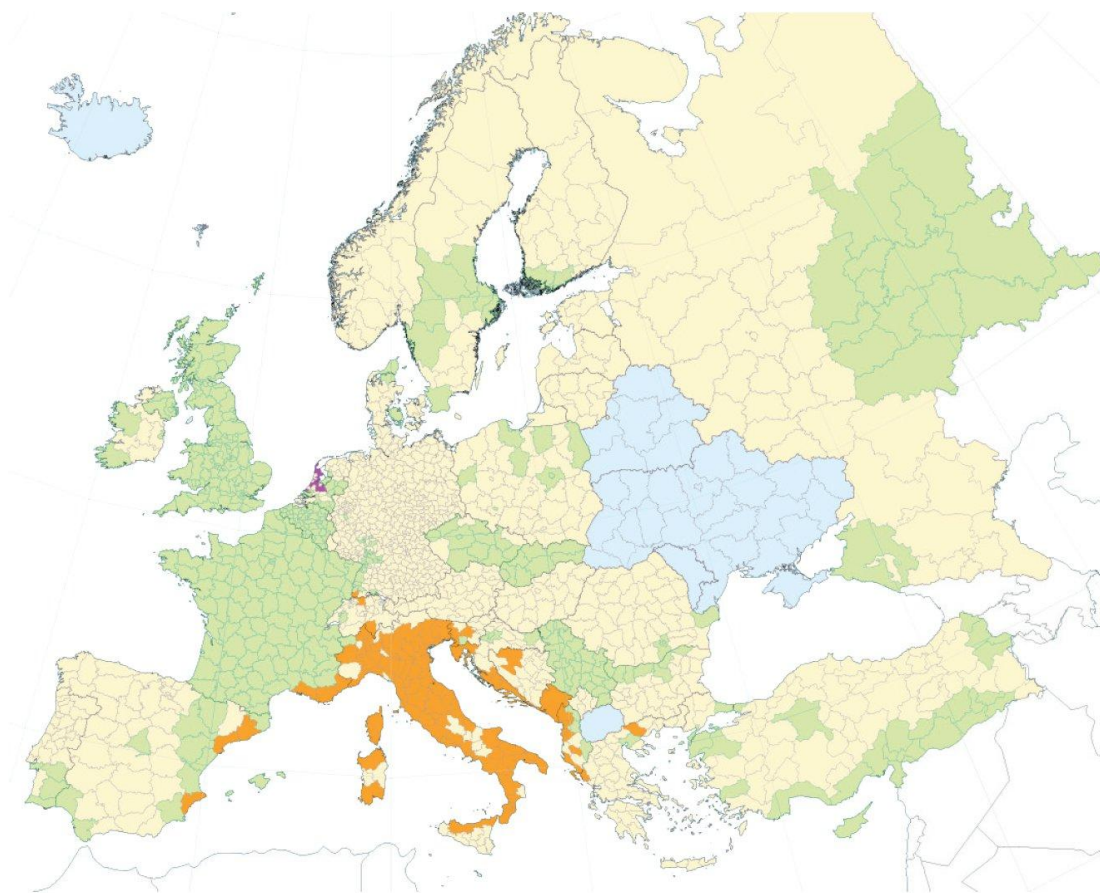
Během několika posledních desetiletí se utvořila nová kategorie patogenů. Nazýváme je nákazami nově se objevujícími nebo do nových prostředí se šířícími (emerging and re-emerging diseases). V této kategorii hrají arboviry a zejména morboviry, hlavní roli. Příkladem může být příchod Usutu viru do střední Evropy, Chikungunya viru do Itálie (Pfeffer a Doubler 2010), a zejména viru West Nile do Severní Ameriky (Weaver a Reisen 2010).

Základní faktory, kritické pro vznik morbovirové epidemie, jsou ekologie a chování hostitele, ekologie a chování vektora a úroveň imunity v populaci hostitele (Reiter 2010). Ke vzniku arbovirové epidemie dochází často díky genetické změně viru, která rozšíří počet jeho hostitelských druhů nebo vektorů, antropogenním změnám prostředí, nebo invazí spojenou s obchodem a cestováním, které zapříčiní kontakt imunologicky naivních hostitelů s virem, se kterým by se normálně nesetkal (Weaver a Reisen 2010).

Půdu, pro vypuknutí nově se objevujících morbovirových epidemií v Evropě, připravil svým příchodem invazivní druh komára *Aedes albopictus*. Pochází z lesů jihovýchodní Ásie, kde byl převážně zoofilní, nicméně se jedná o velmi ekologicky plastický druh, který se lehce přizpůsobil urbánnímu prostředí, a proto často působí jako tzv. „bridge vector“ přemostující přírodně ohniskový cyklus viru do cyklu urbánního.

První zpráva o jeho výskytu v Evropě pochází z Albánie roku 1979. Od té doby detekován v mnoha zemích Evropy viz Obr. 2.

Obr. 2.: Distribuce komára *Ae. albopictus* v Evropě v roce 2009 (podle Reiter 2010).



Vysvětlivky barev: oranžová (přezimující a expandující populace); fialová (populace vyskytující se jen v budovách-sklenících); zelená (nedetekován v posledních pěti letech); bledě žlutá (žádná recentní data); modrá (žádná data o komáří fauně); bílá (nezahrnuto do studie)

Má schopnost se adaptovat na zimy v mírném pásu a jeho vajíčka dobře snáší vyschnutí. V USA přežívají populace teploty pod  $-5^{\circ}\text{C}$ , vajíčka mají schopnost přezimovat díky vysokému množství tuků v žloutku, které komár v mírném pásmu produkuje.

Bodá velice agresivně, saje preferenčně na savcích, ale i na ptácích a studenokrevných obratlovcích. Byly z něj izolovány tyto viry: DENV-1,2,3,4, YFV, WNV, virus Japonské encefalitidy, virus encefalitidy St. Louis, CHIKV, virus východoamerické, západoamerické a venezuelské encefalomyelitidy, SINDV, Mayaro, Getah, Potosi, Cache valley virus, Tensaw virus, Keystone virus, San Angelo virus, virus encefalitidy La Crosse, virus Jamestone Canyon,

virus Trivittatus, virus Oropouche, RVF, virus Orungo a Nodamura. Je velmi dobře adaptovatelný na různé klima, proto mnohem víc než globální oteplování je globalizace hlavním rizikovým faktorem vedoucím k jeho diseminaci (Paupy a kol. 2009, Seyler a kol. 2009, Reiter 2010, Weaver a Reisen 2010).

Usídlení komára *Aedes albopictus* v Evropě umožňuje opětovný návrat dvou závažných lidských patogenů: viru horečky Dengue a žluté zimnice. Oba viry mají mnoho společného: náleží do stejné čeledi a rodu (*Flaviviridae*, *Flavivirus*), infikují pouze primáty včetně člověka, v přírodě cirkulují v enzoontickém ohnisku mezi opicemi a na nich sajícími komáry, obchodní a osobní přeprava je důvodem jejich celosvětového rozšíření. Obě nemoci mají historii přenosu v mírném pásmu Evropy (Reiter 2010).

Epidemie žluté zimnice probíhali například v letech 1741, 1802-1803 v Portugalsku a Španělsku, celkem 80 000 obětí (Sanders a kol. 1996). *Aedes aegypti*, primární vektor obou virů ve městech se dříve vyskytoval v Evropě i na tak sever položených místech jako je Brest a Oděsa. (Reiter 2010).

První epidemie se symptomy podobnými DENV v Evropě byla zaznamenána ve Španělsku roku 1778. Mezi lety 1883-1886 byl virus přítomen v Řecku (Zgomba a Petric 2008). V letech 1927-1928 proběhla epidemie s 1 milionem nakažených, tisícem mrtvých v Athénách (Halstead a Papaevangelou 1980).

Horečka Dengue je dnes nejzávažnější arbovirózou světa. Virus je endemický v Africe, Asii, Karibiku a latinské Americe. Podle WHO je každoročně celosvětově nakaženo 50 miliónů lidí a z toho 22 000 jich nákaze podlehne.

<http://www.who.int/csr/disease/dengue/impact/en/index.html>.

Z Evropy zmizel v polovině 20. století spolu se svým přenašečem, komárem *Aedes aegypti*, jehož úbytek v Evropě koreluje se zavedením vodovodního potrubí vedoucího k úbytku nádrží vhodných k reprodukci.

V poslední době se po padesáti letech absence *Aedes aegypti* znovu vrací do Evropy. Objevil se v Portugalsku, u Černého moře a v roce 2010 dokonce v Nizozemí, v budovách a blízko budov firmy zabývající se importem ojetých pneumatik. Virus však velice ochotně přenáší i *Ae. albopictus* (Zgomba a Petric 2008, Enserink 2010).

V září 2010 byly ve francouzském Nice diagnostikovány první dva případy autochtonní nákazy DENV. Jednalo se o dva muže bydlící v sousedství třetího muže, který se vrátil s virémií z Martiniku. Jen v roce 2010 bylo ve Francii zaznamenáno 120 případů importované nákazy DENV (Ruche a kol. 2010).

DENV má 4 různé sérotypy DENV I-IV. Infekce se projevuje horečkou trvající 2-7 dní, intenzivní bolestí hlavy, svalů, kloubů, žaludečními nevolnostmi a vyrážkou. Inkubační doba je 4-7 dní. Opakovaná infekce různými sérotypy DENV může vyústit díky zkřížené antigenní reaktivitě v krvácivý syndrom horečky Dengue (DHS), který neléčený končí letálně až v 50% případů. (Weaver a Reisen 2010, Seyler a kol. 2009).

Nejexponovanější zemí Evropy, vzhledem na riziko importu DENV z pohledu ustanovené populace potencionálního přenašeče *Ae. albopictus* a nejvyššího počtu přilétajících viremických osob, je Itálie a Francie (Seyler a kol. 2009).

Dalším virem, velmi efektivně šířeným díky *Ae. albopictus*, je virus CHIK. Poprvé jej izoloval W. Ross v Tanzánii v roce 1956 (Theiler a Downs 1970). Nemoc dostala své jméno z nářečí jazyka Kimakonde typického pro Tanzánii a Mozambik. Znamená nemoc, co ohýbá a křiví těla (Tiboutot a kol. 2010). Pravděpodobně pochází ze střední nebo východní Afriky, kde cirkuluje mezi primáty a na nich sajícími komáry rodu *Aedes*. Inkubační doba je typicky 3-7 dní. 3-25% lidí vyvine pouze asymptomatickou infekci. Horečka trvá několik dní až dva týdny a je provázena vyrážkou a znehybnující bolestí kloubů, která může přetrvávat i několik let po nákaze. Během onemocnění může docházet k neurologickým komplikacím typu meningoencefalitidy nebo ke slabým hemoragiím. Úmrtí v důsledku CHIKV jsou poměrně vzácná (Staples a kol. 2009).

Z evropského pohledu byla nejvýznamnější epidemie CHIKV na ostrově La Réunion v letech 2005-2006. Celkem bylo nakaženo 38,2% populace, tj. asi 266 000 lidí. K rozsahu epidemie přispěla mutace viru E1 A226V, která zvyšuje jeho infektivitu pro komára *Ae. albopictus* oproti tradičnímu přenašeči, kterým je *Ae. aegypti*. Epidemie pokračovala v Indii po dobu delší tří let a vyústila v milion nakažených (Staikowský a kol. 2009). Indická epidemie byla zdrojem nákazy pro Itálii, kde mezi 4. 6. – 27. 9. 2007 onemocnělo 205 osob a jedna zemřela (Rezza a kol. 2007).



Riziko zavlečení viru do Evropy je obrovské. Mnoho cestovatelů si ze své dovolené přiváží virémii. Jen ve Francii se dosud jedná o 850 případů, UK 93. Mezi další evropské země, které reportovaly improtovanou nákazu CHIKV náleží ČR, Německo, Norsko, Švýcarsko, Itálie (Tiboutot a kol. 2010). V největším ohrožení se kvůli endemické populaci vektora *Ae. albopictus* (experimentálního přenosu jsou schopné i druhy *Ae. caspius* a *Ae. vittatus*) a masivními přílivu viremických cestovatelů, nachází Itálie a Francie. Dále se ve stejné zóně ohrožení nachází Portugalsko, Španělsko, Řecko, Chorvatsko a další. CHIKV žije „ve stínu horečky Dengue“, která je klinicky velmi podobná a často jsou zaměňovány. Reportované počty nakažených proto často neodpovídají realitě. Dokonce jsou známy i případy pacientů nakažených oběma viry zároveň (Tilston a kol. 2009).

Nejsme daleko od vývoje živé atenuované vakcíny. O obnovení toho projektu nedávno požádala francouzská vláda (Cavrini a kol. 2009). Mallilankaraman (2011) popisuje získání DNA vakcíny efektivně chránící myš.

Další obrovskou hrozbu pro Evropu představuje horečka Rift valley (RVF). Náleží do rodu *Phlebovirus*, čeledi *Bunyaviridae*. Způsobuje závažné a často fatální onemocnění ovcí a hovězího dobytka s náhodným přenosem na člověka. U 1-2% infikovaných lidí se vyvine závažné onemocnění zahrnující žloutenku, encefalitidu, retinitidu vedoucí až ke slepotě a krvácivou horečku s úmrtností 10-20%.

Historicky byl výskyt viru omezen na subsaharskou Afriku, Egypt a Arabský poloostrov. Epidemie korelují s ENSO (jižní oscilace El Niño), kterou provází vydatné deště zaplavující generace infikovaných komářích vajíček odolných proti vyschnutí (Weaver a Reisen 2010).

Virus se podařilo izolovat z *Cx. tritaeniorhynchus* a *Ae. vexans arabiensis*. První druh komára je široce rozšířený v Turecku a *Ae. vexans* je jedním z nejrozšířenějších komárů v Evropě. Riziko zavlečení viru do Evropy je proto značné (Zgomba a Petric 2008).

Kromě introdukce exotických virů, můžeme být v souladu s pokroky v diagnostických metodách svědky objevování nových virů na evropském území. Například Lammi virus, izolovaný z finských komárů v roce 2009. Nepodařilo se prokázat jeho infektivitu pro tkáňové kultury, kuřecí embrya ani novorozené myši, proto předpokládáme, že není patogenní ani pro člověka

(Huhtamo a kol. 2009). Další dosud neznámý flavivirus byl nedávno izolován z komárů ve Španělsku (Aranda a kol. 2009).

V této studii se podařilo zachytit pouze dva ze čtyř morbovirů prokazatelně se vyskytujících na našem území. Neúspěch v zachytu viru Batai a Lednice si vysvětlujeme nízkým počtem vyšetřených hlavních přenašečů těchto virů. Komára druhu *An. maculipennis* (97 jedinců) a *Cx. modestus* (1 601 jedinců), respektive. Neúspěšní jsme byli i v izolaci viru Sindbis, jehož protilátky bývají příležitostně na našem území detekovány (Juřicová a kol. 1987, Hubálek 1999). Nicméně ani jeden z let 2006, 2007 a 2008 nebyl epidemický (viz Úvod do problematiky). V sousedním Německu se SINDV podařilo zachytit až v epidemickém roce 2009. Z pouhých 16 057 komárů se podařilo izolovat tři kmeny (Jöst a kol. 2010). Zatímco v meziepidemických letech 1999-2000, kdy bylo vyšetřeno 84 440 komárů, se žádný SINDV zachytit nepodařilo (Pfeffer a kol. 2010). Z příkladu Německa lze vyvodit, že snaha o záchyt viru v epidemickém roce by mohla být mnohem úspěšnější.

V této práci se podařilo zachytit pět izolátů viru Ťahyňa. A to sice tři z komára *Ae. vexans*, jeden z *Cx. sticticus* a jeden z *Cx. modestus*. Jednalo se 9 541, 1 719 a 1 601 vyšetřených jedinců respektive. Promořenost komárů se uvádí v hodnotách MIR (minimal infection rate). Jedná se o množství pozitivních poolů na tisíc vyšetřených komářích jedinců. Předpokládáme, že v každém poolu je pouze jeden pozitivní komár. Hodnota minimální infikovanosti (MIR) pro hlavního přenašeče TAHV *Ae. vexans* byla v roce 2006 0,58 (1:1 734). Jedná se o velmi podobnou hodnotu, jaká byla získána během epidemiologické surveillance v roce 1997, kdy byl MIR pro *Ae. vexans* 0,6 (1:1 670) (Hubálek a kol. 1999). Hodnoty MIR pro komáry *Ae. sticticus* a *Cx. modestus* vycházely velice podobně, 0,6 (1:1 677) a 0,68 (1:1 472). Překvapivě se nepodařilo izolovat žádný TAHV z komárů *Ae. vexans* odchycených v roce 2007 (390 jedinců) a 2008 (3 988 jedinců).

Na lokalitě Soutok, řeky Dyje s Moravou, tvořící hranici České republiky s Rakouskem a Slovenskem, se v rámci této práce podařilo celkem potřetí izolovat WNV-Rabensburg. První dva kmeny byly na stejné lokalitě izolovány v letech 1997 a 1999 (Hubálek a kol. 1998, 2000). Vzhledem vysoké identitě izolátů lze předpokládat, že virus této lokalitě již devět let perzistuje.

Lokální výskyt WNV byl indikován nálezem specifických protilátek u ptáků na nedalekém rybníce Nesyt již v roce 1985 (Juřicová a kol. 1987). A definitivně potvrzen pěti lidskými případy horečky WN propuknuvšími po povodni v roce 1997 (Hubálek a kol. 1999). Vzhledem k nízké patogenitě a neuroinvasivitě kmene Rabensburg pro myš, by přicházelo do úvahy jeho využití jako kmene vakcinačního.

Virus se podařilo izolovat zřejmě poprvé z komára *Ae. rossicus*, který tak představuje dalšího možného vektora tohoto viru. Jeho MIR činil v roce 2006 0,32 (1:3 091). Rozhodně se nejedná o nízké nebo bezvýznamné číslo. Jak lze vidět na příkladu epidemie WNV v Rumunsku, kde bylo laboratorně potvrzeno 383 laboratorně případů WNF a MIR pro *Cx. pipiens* byl 0,3 pozitivních jedinců na 1000 vyšetřených komárů (Tsai a kol. 1998). V dalších letech jsme zachytili jen 46 jedinců komára *Ae. rossicus*, což značně ztěžovalo možnosti izolace.

Žádný WNV se nepodařilo izolovat z jeho hlavního vektora *Cx. pipiens*, kterého jsme vyšetřili celkem 2 074 jedinců, ani z častého vektora *Cx. modestus* (1 601 jedinců). V minulých letech byl MIR pro WNV-Rabensburg 4,31 (1:232) v roce 1997 a 0,28 (1:3 546) v roce 1999 (Hubálek a kol. 2000). Na rozdíl od typických ornitofilních vektorů WNV, se *Ae. rossicus* řadí mezi komáry mammaliofilní (Kramář 1958).

Všechny získané izoláty pocházely z komárů odchycených v roce 2006, kdy bylo vyšetřeno 15 882 komárů ve 339 poolech. Překvapivě se nepodařilo izolovat žádný virus z let 2007 a 2008, kdy bylo vyšetřeno 1 555 komárů ve 39 poolech a 5 806 ve 121 poolech respektive. Tento fakt si zdůvodňujeme 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. A také menším celkovým množstvím odchycených komárů v roce 2007 a 2008 oproti roku 2006.

## 5. ZÁVĚR

V posledních dvaceti letech se morbovirová situace v Evropě vyhrocuje. Ve Francii se objevily první případy autochtonní nákazy DENV, v Itálii zase epidemie CHIKV. V Rakousku a Maďarsku se usídlil virus Usutu s nejasnou patogenitou pro člověka a usmrtil zde stovky ptáků. WNV-2 byl v obou zemích detekován u hynoucích dravců (jestřábů, krahujců) a v Maďarsku i u koní a lidí (Wodak a kol. 2011, Papa a kol. 2011).

Vzhledem k usídlení komára *Ae. albopictus* čelí Evropa hrozbě opětovného návratu žluté zimnice, horečky Dengue, viru Chikungunya a dalších virů. Díky pokroku v diagnostických metodách se daří izolovat a identifikovat viry dosud neznámé.

Epidemie WNV probíhají s větší intenzitou a vyšší neurovirulencí. Od lidských případů WNF již není prostá ani Česká republika, kde se virus (jeho genomická linie Rabensburg) zřejmě usídlil. Zdá se být jen otázkou času, kdy se na našem území podaří izolovat virus Sindbis, tak jako v sousedním Německu. Z Rakouska k nám možná zamíří virus Usutu, proti kterému už se na našem území podařilo detekovat protilátky (Hubálek a kol. 2008).

## 6. POUŽITÁ LITERATURA

- Aranda C., Sanchez-Seco M.P., Caceres F., Escosa R., Galvez J.C., Masia M., Marques E., Ruiz S., Alba A., Busquets N., Vazquez A., Castella J., Tenorio A (2009): Detection and monitoring of mosquito flaviviruses in Spain between 2001 and 2005. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 9: 171-178.
- Bakonyi T., Hubálek Z., Rudolf I., Nowotny N. (2005): Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, Central Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 11: 225-231.
- Bakonyi T., Ederléyi K., Ursu K., Ferenczi E., Csörgo T., Lussy H., Chvala S., Bukovsky C., Meister T., Weissenböck H., Nowotny N. (2007): Emergence of Usutu virus in Hungary. *J.Clin. Microbiol.* 45: 3870-3874.
- Bárdoš V., Danielová V. (1959): The Ťahyňa virus – a virus isolated from mosquitoes in Czechoslovakia. *J. Hyg. Epidem.* 3: 264-276.
- Bárdoš V., Čupková E. (1962): The Čalovo virus – the second virus isolated from mosquitoes in Czechoslovakia. *J. Hyg. Epidem.* 6: 186-192.
- Bárdoš V., Sluka F. (1963): Akútne infekcie ľudí vyvolané vírusom Ťahyňa. *Čas. Lék. čes. CII:* 394-402.
- Bárdoš V., Sluka F., Čupková E. (1969): Serological study on the medical importance of Čalovo virus. In Bárdoš V. and co-workers (ed.), *Arboviruses of the California Complex and Bunyamwera Group*, 333-335. Vydav. SAV, Bratislava.
- Bárdoš V., Medek M., Kania V., Hubálek Z. (1975): Isolation of Ťahyňa virus from the blood of sick children. *Acta Virol.* 19: 447.
- Bárdoš V., Medek M., Kania V., Hubálek Z., Juřicová Z. (1980): Das klinische bild der Tahyna-virus (California-gruppe)-Infektionen bei kindern. *Pädiat. Grenzgeb.* 19: 11-23.
- Busquets N., Alba A., Allepuz A., Aranda C., Ignacio Nunez J. (2008): Usutu virus sequences in *Culex pipiens (Diptera: Culicidae)*, Spain. *Emerg. Infect. Dis.* 14: 861-863.
- Cantile C., Di Guardo G., Eleni C., Arispici M. (2000): Clinical and neuropathological features of West Nile equine encephalomyelitis in Italy. *Equine Vet. J.* 32:31-35.
- Cavrini F., Gaibani P., Pierro A.M., Rossini G., Lantini M.P., Sambri V. (2009): Chikungunya: an emerging and spreading arthropod-borne viral disease. *J. Infect. Dev. Ctries* 3(10): 744-752.
- Cavrini F., Gaibani P., Longo G., Pierro A.M., Rossini G., Bonilauri P., Gerundi G.E., Di Benedetto F., Pasetto A., Girardis M., Dottori M., Landini M.P., Sambrini V. (2009a): Usutu virus infection in a patient who underwent orthotopic liver transplantation, Italy, August-September 2009. *Euro. Surveill.* 17: 17-19.
- Danielová V. (1992): Relationship of mosquitoes to Ťahyňa virus as determinant factors of its circulation in nature. *Studie ČSAV (Academia, Praha) č.3:* 1-102.

- Danielová V., Málková D. (1976): Studies on viremia and antibody formation in ducklings and goslings after experimental infection with Lednice (Yaba 1) virus. *Folia Parasitol.* 23: 367-372.
- Danielová V., Holubová J. (1977): Two more mosquito species proved as a vectors of Ťahyňa virus in Czechoslovakia. 24: 187-189.
- Danielová V., Ryba J. (1979): Laboratory demonstration of transovarial transmission of Ťahyňa virus in *Aedes vexans* and the role of this mechanism in overwintering of this arbovirus. *Folia Parasitol.* 26: 361-366.
- Danielová V., Hájková Z., Kolman J.M., Málková D., Minář J., Smetana A. (1966): Výsledky virologického šetření komárů na jižní Moravě v letech 1962-1964. *Čs. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 15: 178-183.
- Danielová V., Kolman J.M., Málková D., Marhoul Z., Smetana A. (1969): Natural focus of Ťahyňa virus in South Moravia. Results of virological investigation. In Bárdoš V. and co-workers (ed.), *Arboviruses of the California Complex and Bunyamwera Group*, 147-150. Vydav. SAV, Bratislava.
- Danielová V., Minář J., Ryba J. (1970): Isolation of Ťahyňa virus from mosquitoes *Culiseta annulata*. *Folia Parasitol.* 17: 281-284.
- Danielová V., Hájková Z., Minář J., Ryba J. (1972): Virological investigation of mosquitoes in different seasons of the year at the natural focus of the Ťahyňa virus in Southern Moravia. *Folia Parasitol.* 19: 25-31.
- Danielová V., Málková D., Minář J., Rehse-Küpper, Hájková Z., Halgoš J., Jedlička L. (1978): Arbovirus isolation from mosquitoes in South Slovakia. *Folia Parasitol.* 25: 187-191.
- Dauphin G., Zientara S. (2007): West Nile virus: Recent trends in diagnosis and vaccine development. *Vaccine.* 25: 5563-5576.
- Dauphin G., Zientara S., Zeller H., Murgue B. (2004): West Nile: worldwide current situation in animals and humans. *Comparative Immunology, Microbiology, Infectious Diseases* 27: 343-355.
- Demnikov V.G. (1995): Outcomes and prognosis of diseases caused by Inkoo and Ťahyňa viruses. *Voprosy Virusologii* 40: 72-74.
- Digoutte J.P., Adam F. (2007): Virus d'Afrique (base de données). Centre collaborateur OMS de référence et de recherche pour les arbovirus et les virus de fièvres hémorragiques (CRORA).  
<http://www.pasteur.fr/recherche/banques/CRORA/virus/v010050.htm>
- Enserink M. (2010): Yellow fever mosquito shows up in Northern Europe. *Science* 329: 736
- Ernek E., Kožuch O., Grešíková M., Nosek J., Sekeyová M. (1973): Isolation of Sindbis virus from the reed warbler (*Acrocephalus scirpaceus*) in Slovakia. *Acta Virol.* 17: 359-361.
- Grešíková M., Nosek J. (1981): *Arbovírusy v Československu*. Vydav. SAV, Bratislava. 140 s.
- Griffiths P.D. (2008): Viruses in the era of global warming. *Rev.Med.Virol.* 18:69-71.
- Halstead S.B, Papaevangelou G. (1980): Transmission of Dengue 1 and 2 viruses in Greece in 1928. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 29:635-637.
- Hannoun C., Panthier R., Mouchet J, Eouzan J.P. (1964): Isolement en France du virus West Nile à partir de malades et du vecteur *Culex molestus* Ficalbi. *Compte Rendu de l'Academie des Sciences.* 259: 4170-4172.
- Heinz F., Herzig P., Ašmera J., Gawlas W., Šeděnka B. (1972): Příspěvek k otázce epidemiologického a klinického významu viru Ťahyňa

- v podmínkách Severomoravského kraje. Čs. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. 21: 149-158.
- Hubálek Z. (1999): Viry přenášené komáry. Ohlédnutí za povodní roku 1997 na jižní Moravě. Vesmír. 78: 432-434.
- Hubálek Z. (2000): Mikrobiální zoonózy a sapronózy. Masarykova Univerzita. Brno. 153 stran.
- Hubálek Z. (2000a): European experience with the West Nile virus ecology and epidemiology: Could it be relevant for the New World? *Viral Immunol.* 11: 415-426.
- Hubálek Z. (2008): Mosquito-borne viruses in Europe. *Parasitol. Res.* 103: S29-S43.
- Hubálek Z., Halouzka J. (1996): Arthropod-borne viruses of vertebrates in Europe. *Acta Sc. Nat. Brno.* 30: 95 p.
- Hubálek Z., Halouzka J. (1999): West Nile fever – a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 643-650.
- Hubálek Z., Kříž B. (2003): Západonilská horečka. *Klin. mikrobiol. inf. lék.* 9: 59-68.
- Hubálek Z., Bárdoš V., Medek M., Kania V., Krychler L., Jelínek E. (1979): Ťahyňa virus-neutralizační protilátky pacientů na jižní Moravě. Čs. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. 28: 87-96.
- Hubálek Z., Halouzka J., Juřicová Z., Šebesta O. (1998): First isolation of mosquito-borne West Nile virus in the Czech Republic. *Acta Virol.* 42: 119-120.
- Hubálek Z., Halouzka J., Juřicová Z. (1999): West Nile fever in Czechland. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 594-595.
- Hubálek Z., Savage H.M., Halouzka J., Juřicová Z., Sanogo Y.O., Lusk S. (2000): West Nile virus investigations in South Moravia, Czechland. *Viral Immunol.* 13: 427-433.
- Hubálek Z., Zeman P., Halouzka J., Juřicová Z., Šťovíčková E., Bálková H., Šikutová S., Rudolf I. (2004): Protilátky k virům přenosným komáry u středočeské populace z oblasti zasažené povodní v roce 2002. *Epidem. Mikrobiol. Imunol.* 53: 112-120.
- Hubálek Z., Zeman P., Halouzka J., Juřicová Z., Šťovíčková E., Bálková H., Šikutová S., Rudolf I. (2005): Mosquitoborne viruses, Czech Republic, 2002. *Emerg. Infect. Dis.* 11: 116-118.
- Hubálek Z., Halouzka J., Juřicová Z., Šikutová S., Rudolf I., Honza M., Janková J., Chytil J., Marec F., Sitko J. (2008): Serologic survey of birds for West Nile flavivirus in southern Moravia (Czech Republic). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 8: 659-66.
- Huhtamo E., Putkuri N., Kurkela S., Manni T., Vaheri A., Vapalhti O., Uzcátegui N.Y. (2009): Characterization of a novel flavivirus from mosquitoes in northern Europe that is related to mosquito-borne flaviviruses of the tropics. *J. Virol.* 83: 9532-9540.
- Januška J., Daneš L., Heinz F. (1990): Laboratorní vyšetřovací metody arbovirových nákaz a virových nákaz šířených hlodavci, Avicenum, Praha. 143 s.
- Jöst H., Bialonski A., Storch V., Günther S., Becker N., Schmidt-Chanasit J. (2010): Isolation and phylogenetic analysis of Sindbis viruses from mosquitoes in Germany. *J. Clin. Microbiol.* 48: 1900-1903.

- Julander J.G., Winger Q.A., Rickords L.F., Shi P.Y., Tilgner M., Bidunga-Gajewska I., Sidwell R.W., Morrey J.D. (2006): West Nile virus infection of the placenta. *Virology*. 347: 175-182.
- Juřicová Z., Hubálek Z., Halouzka J., Pellantová J., Chytil J. (1987): Haemagglutination-inhibiting antibodies against arboviruses of the families *Togaviridae* and *Bunyaviridae* in birds caught in Southern Moravia, Czechoslovakia. *Folia Parasitol.* 34: 281-284.
- Kazdová K., Hubálek Z. (2010): Vyšetření komárů na přítomnost arbovirů na jižní Moravě v letech 2006-2008. *Epidemiol. Mikrobiol. Immunol.* 59: 107-111.
- Kolman J.M., Málková D., Němec A., Smetana A., Hájková Z., Minář J. (1964): The isolation of the Ťahyňa virus from the mosquito *Aedes vexans* in Southern Moravia. *J. Hyg. Epidem.* 12: 380-386.
- Kolman J.M., Kopecký K., Rác O. (1979): Serologic examination of human population in South Moravia (Czechoslovakia) on the presence of antibodies to arboviruses of the *Alfavirus*, *Flavivirus*, Turlock groups and Bunyamwera supergroup. *Folia Parasitol.* 26: 55-60.
- Kramář, J. 1958. Mosquitoes: *Culicidae* (in Czech). Fauna ČSR, vol. 13. Nakladatelství ČSAV, Praha.
- Kramer L.D., Li J., Shi P.Y. (2007): West Nile virus. *Lancet Neurol.* 6:171-181.
- Kuno G., Chang G.J.J. (2005): Biological transmission of arboviruses: reexamination of and new insights into components, mechanisms and unique traits as well as their evolutionary trends. *Clin. Microbiol. Rev.* 18: 608-637.
- Kurkela S., Rätti O., Huhtamo E., Uzcátegui N.Y., Nuorti P.J., Laakkonen J., Manni T., Helle P., Vaheri A., Vapalahti O. (2008): Sindbis virus infection in resident birds, migratory birds and humans, Finland. *Emerg. Infect. Dis.* 14: 41-47.
- Labuda M., Kožuch O., Grešíková M. (1974): Isolation of West Nile virus from *Aedes cantans* mosquitoes in West Slovakia. *Acta Virol.* 18: 429-433.
- Lennette E.H., Schmidt N.J. a kol. (1974): Laboratorní vyšetřovací metody virových a rickettsiálních nákaz. Avicenum. Praha. 592 s.
- Lundström J.O. (1999): Mosquito-borne viruses in Western Europe: A review. *J. Vector Ecol.* 24: 1-39.
- Lvov S.D., Gromashevsky V.L., Skvortsova T.M., Sokolova N.G., Andronova O.N., Semenov V.B., Makhlin P.I., Kondrashina N.G., Bystrova E.A., Gushchina E.A., Morozova T.N., Kuznetsov A.A., Galkina I.V., Yamnikova S.S., Aristova V.A., Avershin A.D., Berezin M.V. (1989): Circulation of California serogroup viruses in north-western Russian plateau. *Med. Parazitol.* 6:74-77.
- Madrid de, A.T., Portefield, J.S. 1969. A simple microculture method for the study of group B arboviruses. *Bull. W.H.O.* 40: 113-121.
- Mailles A., Dellamonica P., Zeller H. (2003): Human and equine West Nile virus infections in France, August-September 2003. *Eurosurveill.* 7: 2564.
- Málková D., Danielová V., Minář J., Rosický B., Casals J. (1972): Isolation of Yaba 1 arbovirus in Czechoslovakia. *Acta Virol.* 16: 93.
- Málková D., Holubová J., Marhoul Z., Černý V., Hájková Z., Rödl P. (1984): Průzkum arbovirů na Mostecku v letech 1981-1982. Izolace viru Ťahyňa. *Čs. Epidem. Mikrobiol. Immunol.* 33: 88-96.



- Málková D., Danielová V., Holubová J., Marhoul Z. (1986): Less Known Arboviruses of Central Europe. *Rozpravy ČSAV, ř. mat. přír. věd* 96(5): 1-75.
- Málková D., Marhoul Z. (1976): Influence of temperatures corresponding to those of the host animals on Ťahyňa virus. *Acta Virol.* 20: 486-493.
- Mallilankaraman K., Shedlock D.J., Bao H., Omkar U. K., Fagone P., Ramanathan A.A., Ferraro B., Stabenow J., Vijayachari P., Sundaram S.G., Muruganandam N., Sarangan G., Srikanth P., Khan A.S., Lewis M.G., Kim J.J., Sardesai N.Y., Muthumani K., Weiner D.B. (2011): A DNA vaccine against Chikungunya virus is protective in mice and induces neutralizing antibodies in mice and nonhuman primates. *PLOS Negl. Trop. Dis.* 5: 1-13.
- Mayerová A., Hruzík J., Mayer V. (1966): Významný vzostup protilátok, neutralizujúcich vírus Ťahyňa u osôb s klinickou diagnózou „akútne horúčnaté ochorenie“. *Čs. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 15: 48-53.
- Medlock J.M., Snow K.R., Leach S. (2006): Possible ecology and epidemiology of medically important mosquito-borne arboviruses in Great Britain. *Epidemiol. Infect.* 135: 466-482.
- Minář J., Halgoš J. (1997): *Culicidae* (Komárovití). In Chvála M. (ed.), Checklist of Diptera (Insecta) of Czech and Slovak Republic, 34. Charles University Press, Praha.
- Mittermayer T., Bilčíková M., Jaš J., Tarabčák M. (1964): Klinické prejavy infekcií vyvolaných vírusom Ťahyňa u ambulantných pacientov na východnom Slovensku. *Bratis. Lek. Listy* 44: 636-639.
- Papa A, Xanthopolou K., Gewehr S., Mourelatos S. (2010): Detection of WNV lineage II in mosquitoes during a human outbreak in Greece. *Clin. Microbiol. Infect.* 17: 1170-1193.
- Paupy C., Delatte H., Bagny L., Corbel V., Fontenille D. (2009): *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: From the darkness to the light. *Microbes and Infection.* 11: 1177-1185.
- Pecorari M., Longo G., Gennari W., Grottola A., Sabbatini A.M.T., Tagliazuchi S., Savini G., Monaco F., Simone M.L., Lelli R., Rumpianesi F. (2009): First human case of Usutu virus (USUV) neuroinvasive infection. *Euro. Surveill.* 17:15-17.
- Pfeffer M., Dobler G. (2010): Emergence of zoonotic arboviruses by animal trade and migration. *Parasit.Vectors*, 3:1-15.
- Pfeffer M., Modlmaier M., Lundström J.O. (2010): Lack of evidence for the presence of mosquito-borne arboviruses in the upper rhine valley, Germany, in 1999 to 2000. *J. Clin. Microbiol.* 48 (9): 3457-3458.
- Reiter P. (2010): Yellow fever and dengue: a threat to Europe? *Eurosurveill.* 15:19509
- Reusken Ch., De Vries A., Ceelen E., Beeuwkes J., Scholte E.J. (2011): A study of the circulation of West Nile virus, Sindbis virus, Batai virus and Usutu virus in mosquitoes in a potential high-risk area for arbovirus circulation in the Netherlands, "De Oostvaardersplassen". *European Mosquito Bulletin.* 29: 66-81.
- Rezza G., Nicoletti L., Angelini R., Romi R., Finarelli A.C., Panning M., Cordioli P., Fortuna C., Boros S., Magurano F., Silvi G., Angelini P., Dottori M., Ciufolini M.G., Majori G.C. Cassone A. (2007): Infection with Chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *Lancet.* 370: 1840 – 1846.

- Roehrig JT, Layton M, Smith P, Campbell GL, Nasci R, Lanciotti RS.(2002): The emergence of West Nile virus in North America: ecology, epidemiology, and surveillance. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 267:223-240.
- Rosický B. (1976): National surveillance of vectors and animal reservoirs. *Folia Parasitol.* 23: 1-14.
- Rosický B., Málková D. (1980): Ťahyňa virus natural focus in Southern Moravia. *Rozpravy ČSAV, ř. mat. příř. věd* 90(7): 1-107.
- Ruche La G., Souarès Y., Armengaud A., Peloux-Petiot F., Delaunay P., Desprès P., Lenglet A., Jourdain F., Leparç-Goffart I., Charlet F., Ollier L., Mantey K., Mollet T., Fournier J.P., Torrents R., Leitmeyer K., Hilairat P., Zeller H., Van Bortel W., Dejour-Salamanca D., Grandadam M., Gastellu-Etchegorry M. (2010): First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan France, September 2010. *Eurosurveill.* 15: 19676.
- Sanders E.J., Borus P., Ademba G., Kuria G., Tukei P.M., LeDuc J.W. (1996): Sentinel surveillance for Yellow fever in Kenya, 1993 to 1995. *Emerg. Infect. Dis.* 2: 236-238.
- Sane J., Guedes S., Kurkela S., Lyytikäinen O., Vapalahti O. (2010): Epidemiological analysis of mosquito-borne Pogosta disease in Finland, 2009. *Eurosurveill.* 15: 19462.
- Savini G., Monaco F., Terregino C., Di Gennaro A., Bano L., Pinoni Ch., De Nardi R., Bonilauri P., Pecorari M., Di Gialleonardo L., Bonfanti L., Polci A., Calistri P., Lelli R. (2011): Usutu virus in Italy: An emergence or a silent infection? *Vet. Microb.* 151: 264-274.
- Seyler T., Grandesso F., Le Strat Y., Tarantola A., Depoortere E. (2009): Assessing the risk of importing dengue and chikungunya viruses to the European Union. *Epidemics* 1: 175-184.
- Sluka F. (1969): The clinical picture of the Ťahyňa virus infection. In Bárdoš V. and co-workers (ed.), *Arboviruses of the California Complex and Bunyamwera Group*, 311-314. Vydav. SAV, Bratislava.
- Smetana A., Danielová V., Kolman J.M., Málková D., Minář J. (1967): The isolation of the Čalovo virus from the mosquitoes of the group *Anopheles maculipennis* in Southern Moravia. *J. Hyg. Epidem.* 11: 55-59.
- Smithburn K.C., Hughes T.P., Burke A.W., Paul J.H. (1940): A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am.J. Trop. Med.* 20: 471-492.
- Sotelo E., Fernandez-Pinero J., Liorente F., Agüero M., Hoefle U., Blanco J.M., Jiménez-Clavero M.A. (2009): Characterization of West Nile virus isolates from Spain: New insights into the distinct West Nile virus eco-epidemiology in the Western Mediterranean. *Virology.* 395: 289-297.
- Staikowsky F., Talarmin F., Grivard P., Souab A., Schuffenecker I., Le Roux K., Lecuit M., Michault A. (2009): Prospective study of Chikungunya virus acute infection in the island of La Réunion during the 2005-2006 outbreak. *Plos One*, 4:1-9.
- Staples J.E., Breiman R.F., Powers A.M. (2009): Chikungunya fever: An epidemiological review of re-emerging infectious disease. *Clin. Infect. Dis.* 49: 942-948.
- Steinmetz W.H., Bakonyi T., Weissenböck H., Hatt J.M., Eulenberger U., Robert N., Hoop R., Nowotny N.(2010): Emergence and establishment of Usutu virus infection in wild and captive avian species in and around Zurich,

- Switzerland-Genomic and pathologic comparison to other central European outbreaks. *Vet. Med.* 148:207-212.
- Šebesta O., Hubálek Z. (2004): Komáři - fenomén lužního lesa. In Hrib (ed.) *Lužní les v Dyjsko-moravské nivě*, 335-343. Moraviapress, Břeclav.
- Šebesta O., Rettich F., Minár J., Halouzka J., Hubálek Z., Juřicová Z., Rudolf I., Šikutová S., Gelbič I., Reiter P. (2009): Presence of the mosquito *Anopheles hyrcanus* in South Moravia, Czech Republic. *Med. Vet. Entomol.* 23:284-286
- Šimková A., Sluka F. (1972): Demonstration of human infection in the natural focus of the Valtice fever. *Folia Parasitol.* 19: 358.
- Tabor E. 2007. *Emerging viruses in human populations, Perspectives in medical virology*, 16. Elsevier academic press, 368 p.
- Theiler M., Downs W.G. (1970): *The Arthropod-borne viruses of vertebrates*, Yale Univ. Press, New Haven and London. 578 p.
- Tiboutot M.M., Kannan S., Kawalekar O.U., Shedlock D.J., Khan A.S., Sarangan G., Srikanth P., Weiner D.B., Muthumani K. (2010): Chikungunya: a potentially emerging epidemics? *Plos Negl.Trop. Dis.* 4: 1-8.
- Tilston N., Skelly Ch., Weinstein P. (2009): Pan-European Chikungunya surveillance: designing risk stratified surveillance zones. *Int. J.Health Geogr.* 8:1-11.
- Tsai T.F., Popovici F., Cernescu C., Campbell G.L., Nedelcu N.I. (1998): West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet.* 352: 767-771.
- Weaver S.C., Reisen W.K. (2010): Present and future of arboviral threats. *Antiviral Res.* 85: 328-345.
- Weissenböck M.C., Kolodziejek J., Url A., Lussy H., Rebel-Bauder B., Nowotny N. (2002): Emergence of Usutu virus, an African mosquito-borne flavivirus of Japanese encephalitis virus group, central Europe. *Emerg. Infect.Dis.* 8: 652-656.
- Weissenböck H., Hubálek Z., Bakonyi T., Nowotny N. (2010): Zoonotic mosquito-borne flaviviruses: worldwide presence of agents with proven pathogenicity and potential candidates of future emerging diseases. *Vet. Microb.* 140: 271-280.
- Williams M.C., Simpson D.J., Haddow A.J., Knight E.M. (1964): The isolation of West Nile virus from man and of Usutu virus from the bird-biting mosquito *Mansonia aurites* (Theobald) in the Entebbe area of Uganda. *Ann.Trop.Med.Parasitol.* 58:367-374.
- Wodak E., Richter S., Bagó Z., Revilla-Fernández Z., Weissenböck H., Nowotny N., Winter P. (2011): Detection and molecular analysis in West Nile virus infections in birds of prey in the eastern part of Austria in 2008 and 2009. *Vet. Microbiol.* 149:358-366.
- Zgomba M., Petric D. (2008): Risk assesment and management of mosquito-born diseases in the European region. *Proc. 6th Internat. Conf. on Urban Pests* (Robinson W.H., Bajomi D., eds.)Budapest, 6-13.6. 2008: 29-39.

## **7. PŘÍLOHY**

### **7.1. Příloha 1**

Hubálek Z., Rudilf I., Bakonyi T., Kazdová K., Halouzka J., Šebesta O., Šikutová S., Juřicová Z., Nowotný N. (2010): Mosquito (*Diptera: Culicidae*) surveillance for arboviruses in an area endemic for West Nile (lineage: Rabensburg) and Třahyňa viruses in central Europe. *J. Med. Entomol.* 47:466-72.

### **7.2. Příloha 2:**

Kazdová K., Hubálek Z. (2010): Vyšetření komárů na přítomnost arbovirů na jižní Moravě v letech 2006-2008. *Epidemiol. Mikrobiol. Immunol.* 59:107-111.