

PŮVODNÍ ČLÁNEK / ORIGINAL ARTICLE

EVIDENCE CELOROČNÍHO VÝSKYTU GENOTYPIZOVANÝCH DIVOKÝCH KMENŮ VARICELLA ZOSTER VIRU (VZV) U DĚTÍ A DOSPĚLÝCH V KLIMATICKÝCH PODMÍNKÁCH MÍRNÉHO PÁSU ČESKÉ REPUBLIKY

THE EVIDENCE OF ANNUAL OCCURRENCE OF VARICELLA ZOSTER VIRUS (VZV) IN TEMPER CLIMATE OF CZECH REPUBLIC

Vanda Boštíková^{1,4}✉, Miloslav Salavec², Radek Sleha¹, Pavel Blažek^{5,6}, Sylva Janovská¹, Petr Prášil³, Stanislav Plíšek³, Pavel Kosina³, Pavel Boštík^{1,3}

¹ Katedra epidemiologie, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Hradec Králové

² Klinika nemocí kožních a pohlavních, Fakultní nemocnice Hradec Králové

³ Klinika infekčních nemocí, Lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové

⁴ Přírodovědecká fakulta, Univerzita Hradec Králové

⁵ Centrum pro základní a aplikovaný výzkum, Fakulta informatiky a managementu, Univerzita Hradec Králové

⁶ Katedra organizace vojenského zdravotnictví a managementu, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Hradec Králové

Přijato 15. září 2017.

Zrevidováno 12. února 2018.

Zveřejněno 8. června 2018.

Souhrn

Cíl práce: Plané neštovice jsou vysoce infekčním nicméně preventabilním onemocněním, proti kterému lze očkovat. Přesto v České republice patří mezi nejčastější infekční onemocnění vůbec, podléhající povinnému hlášení. Během let 2009 – 2016 jsme v rámci molekulárně genetické studie varicella zoster viru (VZV) analyzovali soubor ambulantních a hospitalizovaných pacientů s diagnózou varicella nebo herpes zoster z Fakultní nemocnice Hradec Králové, Česká republika (FN HK).

Materiál a metody: Celkem 463 osob onemocnělo varicellou do 18 let svého věku, 160 osob tj. 25,7 % bylo starších 18 let. Ve skupině bylo 18 imunokompromitovaných pacientů, tj. 2,9 %. Padesát pacientů udalo druhý výskyt varicelly v životě, v jednom případě šlo o třetí výskyt.

Výsledky: Rozložení nemocnosti pacientů s planými neštovicemi pokrylo celý kalendářní rok se dvěma vrcholy – leden – únor a květen – červen, ačkoli literatura opakovaně zmiňuje pro země mírného klimatického pásu (kam Česká republika patří) typický sezónní charakter výskytu onemocnění s převahou v zimních měsících. V těchto klimatických podmínkách je varicella převážně onemocněním dětí předškolního věku či dětí navštěvujících základní školy - náš soubor pacientů nicméně zahrnuje 160 dospělých pacientů.

Genotypová analýza potvrdila naše dosavadní nálezy ukazující převahu divokých kmenů evropského typu 2 (E2 – 65,6 %) nad divokými kmeny evropského typu jedna (E1-33,7 %).

Závěry: V uplynulých osmi letech se nám podařilo shromáždit a vyšetřit svým rozsahem unikátní soubor klinických vzorků ambulantních nebo hospitalizovaných pacientů fakultní nemocnice Hradec Králové. Velikost vyšetřovaného souboru, zastoupení pacientů z různých věkových skupin, dostupnost klinických dat a možnost jejich porovnání s laboratorními výsledky od klinických izolátů mají velkou výpovědní hodnotu a otevírají nové otázky do budoucna.

Klíčová slova: varicella zoster virus; herpes zoster; sezónní charakter onemocnění; komplikace-komorbidity; gravidita; genotypizace.

Summary

Study objectives: Varicella is a highly infectious disease, which is, however, preventable and an effective vaccine is available. Samples from a cohort of ambulatory and hospitalized patients (Faculty Hospital Hradec Králové) were analyzed as part of our molecular genetic study of varicella-zoster virus during years 2009 – 2016.

Materials and methods: Altogether, 463 persons with varicella were younger than 18 years and 160 persons (25,7 %) were older. A total of 18 patients (2,9 %) were immunocompromised. Fifty patients reported the second incidence and 1 patient even third incidence of varicella.

Results: Patients reported with varicella during the entire calendar year with two peaks in incidence - in winter (January, February) and late spring (May and June). This is contrary to the previous reports in literature, which describe this disease being seasonal in the temperate climate countries with a peak during winter months. While chickenpox is typically childhood disease in our country, we also report a detailed analysis of 160 adults.

Genotypic analysis confirmed our previous findings and showed a higher prevalence of the European VZV wild type strains 2 (E2 - 65,6 %) compared to European VZV wild type strains 1 (E1 - 33,7 %).

Conclusion: During the past eight years we have analyzed samples from a uniquely large cohort of patients treated on both the inpatient and outpatient bases in the Faculty Hospital Hradec Kralove. The size of the cohort, presence of patients from varying age groups and the availability of the clinical data, which can be correlated with the laboratory findings, all contribute to the validity of the results and bring additional questions for future studies.

Key words: varicella zoster virus; herpes zoster; seasonal character of disease; complications; comorbidity – pregnancy; genotyping.

Úvod

Primoinfekce virem varicella zoster se manifestuje jako varicella, onemocnění herpes zoster je známkou reaktivace viru. Přenos se děje hlavně vzdušnou cestou nebo přímým kontaktem s kožními eflorescencemi, kde jsou vstupní branou zejména orofarynx a spojivky, ale možný je i transplacentární přenos (1,7).

Primární infekce se projevuje jako akutní exantémové onemocnění, převážně u dětí do 10 let. Relativně nepříliš závažné onemocnění u zdravého jedince může progredovat až v život ohrožující onemocnění. Komplikace jsou častější u novorozenců a kojenců, těhotných žen, nebo u pacientů s primárními či sekundárními defekty buněčné imunity (HIV infekce, hematologické nemoci, pacienti po transplantacích solidních orgánů, osoby užívající imunosupresivní terapii či na biologické léčbě, nemocní s primárním či sekundárním imunodeficitem apod.) (1-3). Lokální bakteriální superinfekce, která je nejčastěji vyvolaná streptokoky nebo stafylokoky může generalizovat a způsobit septické stavy, bakteriální pneumonii, *otitis media* či nekrotické změny tkání. Nákaza varicellou v prvních dvou trimestrech těhotenství (s nejvyšším rizikem pro plod mezi 13. – 20. týdnem) může vzácně vést k vrozeným vadám končetin, lebky, mozku a rozsáhlým jizevnatým změnám na kůži plodu (tzv. kongenitální varicellový syndrom). Naopak při infekci matky v posledních 2 - 3 týdnech těhotenství se dítě může narodit s klinickými

projevy varicelly nebo se u něj varicella projeví hned v prvních dnech života. Infekce u těchto dětí je mírněna mateřskými protilátkami a probíhá zpravidla lehce (2). Vysoce rizikové je období od pěti dnů před porodem do dvou dnů po porodu. Pokud se varicella u matky manifestuje v této době, nedojde k významnější tvorbě a transplacentárnímu přenosu mateřských VZV protilátek. Průběh onemocnění u novorozence pak bývá těžký a často dochází k viscerální varicelle, kdy jsou postiženy parenchymatózní orgány (2,3).

Herpes zoster (HZ) se projevuje opět makulopapulózním exantémem, který se hojí krustami s typickou lokalizací v dermatomu postiženého periferního nervu. Incidence HZ se zvyšuje s narůstajícím věkem pacienta (od 50 let výše) (4,5). Pravděpodobnost komplikací narůstá s věkem. Relativně benigní, ale častou komplikací je bolestivá neuralgie. V těchto případech může dojít k sekundární bakteriální superinfekci, ale i k sekundární generalizaci a diseminaci viru. Nejzávažnější komplikací je postižení centrálního nervového systému (CNS) pod obrazem meningoencefalitidy i s odstupem několika týdnů od výsevu HZ (6). U imunokompromitovaných pacientů se zvyšuje riziko zosterového onemocnění i ve věkově mladších skupinách, s možností opakovaných a diseminovaných průběhů infekce.

Byla pozorována vyšší incidence herpes zoster u malých dětí, které se setkaly s varicellou *in utero*, a nebo onemocněly varicellou před dovršením druhého roku života. Je známo, že onemocnění planými neštovicemi během prvních dvanácti měsíců života zvyšuje významně možnost onemocnění HZ, pravděpodobně v důsledku nezvyklé imunitní odpovědi k VZV. Až 20 % dětí onemocní HZ v případě, že byly postiženy kongenitálním varicellovým syndromem (7).

Dvoušroubovicová lineární deoxyribonukleová kyselina (DNA) umístěná v jádře viru VZV se skládá z 124 884 bazických párů obklopených nukleokapsidou vytvořenou ze 162 hexagonálních kapsomer. Kapsida je obklopena tegumentem a chráněna lipidovým obalem (8,9).

Celá sekvence VZV DNA byla poprvé přečtena a zveřejněna v roce 1986 Davidsonem a Scottem (10). Stabilita VZV genomu je extrémně vysoká (11). Genom je organizován do celkem 70 unikátních ORF (open reading frame) oblastí. V rámci celého VZV genomu je popsáno pouhých 0,1 % změn, projevujících se záměnou jednotlivých nukleotidových bází (SNP-single nucleotide polymorphism) (9). Pro srovnání, diversita genomu HSV-1 je oproti VZV genomu 6x vyšší (8).

Z hlediska epidemiologa či mikrobiologa je velmi zajímavá možnost molekulárně genetické analýzy viru za účelem stanovení, které kmeny VZV jsou zodpovědné za varicellové či zosterové onemocnění (12,13).

Evoluční vývoj VZV virů trvá více než 400 milionů let. Virovémi rezervoáry byli původně primáti, poté člověk. Výhradně v lidské populaci virus existuje více než 45 tisíc let. Výskyt VZV kmenů je ovlivněn jak historickou tak současnou migrací populace, spolu s podnebními podmínkami různých geografických oblastí (13,14).

Rozlišení jednotlivých kmenů VZV do těchto skupin je založeno na analýze SNP v jednotlivých ORF VZV oblastech. Pomyslnou hranici v rámci distribuce VZV kmenů, pokud vyloučíme migrační faktory, tvoří obratník Raka a Kozoroha. V subtropických a tropických oblastech převažují tzv. mozaikové (M) kmeny, vzniklé pravděpodobně rekombinacemi a selekcí tlaky z kmenů evropských (E1, E2) a japonského kmene (J). Evropské kmeny jsou typické pro oblasti mírných pásů a část Austrálie, vyznačující se mírným klimatem. Japonský kmen (J) je pak typický pro Japonsko a některé asijské země (Jižní Korea, Tchaj-wan, Mongolsko). Kmeny M1 a M2 jsou plně evaluované na základě podrobných SNP analýz. Byly detekovány i další kmeny M3 a M4, nicméně jsou označovány jako „provizorní“, protože nedostatek DNA materiálu neumožnil podrobnou genotypovou analýzu celého VZV genomu (12,13,15,16).

Základním mechanismem ovlivňujícím vznik VZV kmenů v průběhu evoluce je rekombinace. Ta umožňuje herpetickým virům získat „výhodné“ mutace z rodičovských genomů, a tím funkčně profitovat. Rekombinace zároveň ovlivňuje hladinu virulence VZV (8,16).

Využití molekulárně-biologických metod (PCR, sekvenování, genotypizace, mikroerajové čipy, celogenomové sekvenování) v diagnostice a charakterizaci izolátů VZV z různých částí světa otevírá nové možnosti jak pro studium

viru jako takového, tak potenciálně i pro studium korelací mezi genotypickými charakteristikami viru a závažností průběhu onemocnění či vzniku lékových rezistencí. Spolu s epidemiologickými daty a klinickými popisy je možné vztáhnout data z těchto analýz ke klinickým nálezům. Molekulární typizace kmenů VZV umožňuje snadnější sledování epidemiologických ukazatelů, sledování geografické distribuce kmenů a k tomu se vážící možné posuny díky migraci obyvatel, vyhledávání tzv. „index cases“ (primárních šířitelů onemocnění), detekci a sledování možných rekombinant mezi kmeny nebo mezi divokými a vakcinačními kmeny (důležité pro potenciální vývoj více patogenních nebo rezistentních mutant) a potenciální predikci závažnosti onemocnění či vzniku rezistence podle daného virového genomu (13,17,18).

Naše studie, která probíhá od roku 2009 si klade za cíl detekovat a monitorovat přítomnost divokých, eventuelně vakcinačních kmenů VZV v české populaci a pomocí genotypizačních metod jednotlivé kmeny určit, stejně jako sledovat potenciační vztahy mezi odlišnostmi ve stavbě virového genomu a virulencí jednotlivých zachycených kmenů. Další výstupy, které jsou výsledkem snahy postihnout a porovnat informace z experimentálního výzkumu spolu s daty klinickými jsou pak diskutovány v tomto článku. Z tohoto důvodu jsme se zaměřili na podrobnou analýzu pacientů s varicellou a problematiky jejího celoročního výskytu.

Materiál a metody

Fakultní nemocnice Hradec Králové patří mezi největší nemocnice v České republice. Disponuje 1 500 lůžky, ročně je zde hospitalizováno okolo 40 000 pacientů a ambulantně projde okolo půl miliónu lidí.

Pacienti zahrnutí do naší studie byli diagnostikováni s varicelou nebo herpes zoster výhradně buď na dermatovenerologické klinice a nebo pocházejí z kliniky infekčních nemocí. Na těchto klinikách proběhly všechny odběry vzorků pro naši studii. Jednalo se o pacienty jak ambulantní, tak hospitalizované s diagnostickými kódy (dle MKN – 10): B019 plané neštovice-varicella bez komplikace, B010+ G021* varicellová meningitida, B020+ G051* varicellová encefalitida, B012+ J171* varicellová pneumonie, B018 varicella s jinými komplikacemi.

V nejasných případech (z hlediska klinika) a nebo v případech, kdy pacient uvedl, že se domnívá, že varicellou prodělal již dříve, byla diagnóza potvrzena serologicky (IgG VZV ELISA) a nebo pomocí VZV PCR v laboratořích FN HK.

Kromě diagnózy určené dermatologem či infektologem byl dalším kritériem pro zahrnutí pacienta do studie podpis informovaného souhlasu (odmítly 3 % oslovených). Vzhledem k tomu, že vzorky pro molekulárně genetickou diagnostiku (sterilní stěry) mohou být zpracovány kdykoli po odběru, nehrál při výběru pacientů čas (pracovní den versus víkend) žádnou roli.

Data pro soubor celkem 1 074 pacientů (plané neštovice nebo pásový opar) ošetřených ve FN HK v letech 2009–2016, byla retrospektivně zpracována pomocí IBM SPSS Statistic programu. Nejprve jsme vytvořili specifickou zdrojovou databázi zahrnující demografické, klinické a epidemiologické informace. Ty se týkaly pohlaví, gravidity, národnosti, věku, počtu eventuálních rekurencí onemocnění, typu komplikací a komorbidit, typu návštěvy ve FN, délky hospitalizace, typu podávané medikace, epidemiologická data zahrnovala dotazy na cestovatelskou anamnézu a na možné kontakty s virem. Závěrečný dotaz sledoval historii očkování, jak proti varicelle, tak proti herpes zoster. Posléze byla zahrnuta data týkající se výsledku genotypizace pro 716 z 1 074 pacientů. Vzhledem k tomu, že jsme zpracovávali citlivá data, byla při jejich zadávání provedena deidentifikace. Data byla do tabulky zapisována prostřednictvím formuláře, který bránil operátorovi vkládat údaje mimo rozsah měřitelných hodnot a vynechat povinné údaje. Kolekce dat vznikla sloučením výběru záznamů z několika různých zdrojů, proto je bylo nutné po naplnění tabulky zkontrolovat. U některých případů nebylo možné vyplnit všechny sledované položky, případně mohlo dojít k vynechání údaje při zadávání, bylo proto třeba nalézt a zhodnotit případy s nízkým počtem údajů, aby nedeformovaly výsledek. Data byla shledána konsistentní. Data z takto připravené databáze byla načtena do IBM SPSS programu a zpracována deskriptivní statistikou. Výsledky byly filtrovány a do tabulek se uváděla data – souhrny, výstupy se zpracovávaly ve formě grafů. Byly prováděny testy normality a ANOVA test.

Prospektivně byly od pacientů odebrány stěry vezikulárních lézí pro následnou izolaci virové nukleové kyseliny a genotypovou analýzu. Celkem 716 izolací VZV DNA ze stěrů vezikulárních lézí bylo úspěšných. VZV DNA

byla purifikována pomocí izolační plně automatické stanice MagnaPure LC (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany) s použitím „high-performance external lysis“ protokolu. Z každého vzorku byly získány dva sterilní izoláty DNA. První byl použit pro laboratorní analýzy, druhý se stal součástí VZV DNA knihovny.

Námi standardně používané rozlišení jednotlivých kmenů VZV je založeno na analýze SNP v jednotlivých ORF VZV oblastech. Pro odlišení VZV vakcinačních virových kmenů od divokých VZV virových kmenů jsme provedli analýzu VZV virového genomu v oblastech ORF 38, 54 a 62. K detekci jsou používány real-time PCR, využívající vysoce specifické hybridizační fluorescenční próby. Přítomnost či nepřítomnost příslušných markerů z výše jmenovaných ORF oblastí pak určí daný virový kmen. Metoda byla podrobně popsána dříve (13,19). Na základě této prvotní analýzy jsme izoláty podrobili genotypizační analýze pomocí sekvenčního čtení krátkých úseků DNA, které obsahují ORF ve kterých dochází k charakteristickým SNP změnám, především ORF 22. V případě nálezu evropského kmene E jsme provedli další sekvenace pro oblast ORF 21 a ORF 50. SNP v těchto segmentech diferencují mezi evropským kmenem E1 a E2. Metoda byla opět popsána a publikována dříve (8). Všechna sekvenování probíhala na ABI Prism 3100 DNA sekvenátoru (Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA) za použití BigDye Terminator v3.1. Sequencing kitu (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Detekované SNP u klinických izolátů jsme porovnali pomocí DNASTar programu (DNASTAR Incorporated) jak mezi sebou, tak vůči referenčnímu kmeni VZV Dumas (Accession Number X_04370). Nalezené změny ve SNP určily o jaký kmen VZV se jedná (12,13,15,16,19).

Výsledky

Ve skupině s varicellou (623 pacientů) máme 327 mužů (52,5 %), průměrný věk 14,2 roku, medián 11 let a 296 žen (47,5 %), průměrný věk 12,8 let, medián 9 let. Celkem 463 pacientů s varicellou onemocnělo do 18 let svého věku (74,3 %), 160 pacientů (25,7 %) bylo starších 18 let. V 50 případech šlo u onemocnění varicellou o druhý potvrzený výskyt onemocnění (7 pacientů bylo mladších 18 let, 43 bylo starších 18 let), v jednom případě šlo o třetí výskyt infekce u téhož pacienta mladšího 18 let. Celkem 128 pacientů – 73 žen a 55 mužů bylo hospitalizováno. Doba pobytu v nemocnici se pohybovala v rozmezí od 4 do 14 dnů.

Převaha pacientů byla české národnosti (572). Dále byly zastoupeny národnosti: vietnamská (15), ukrajinská (12), polská (9), mongolská (5), maďarská (4) nigerijská (1), holandská (2), čínská (1), arabská (1) a španělská (1).

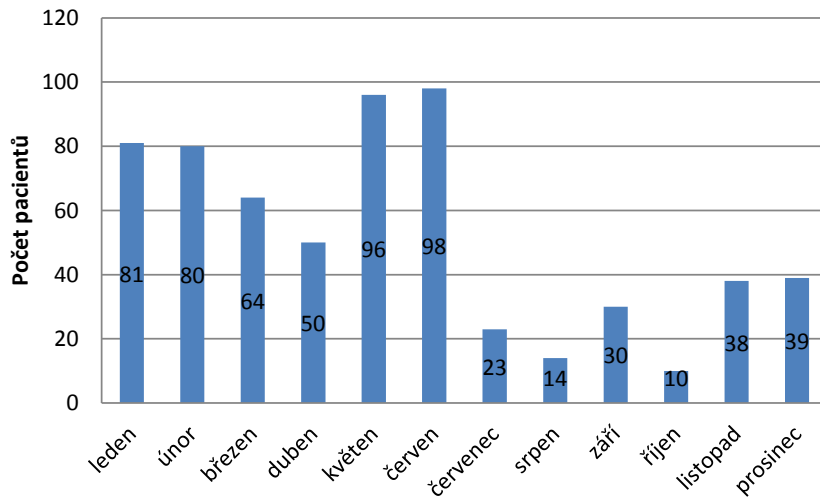
Tabulka č. 1. Rozložení komorbidit a komplikací ve sledované skupině pacientů nemocných varicellou.

		celkem		
		žena	muž	celkem
Komorbidity	Imunokompromitovaní (7,6 %)	9	9	18
	Alergie (59,7 %)	68	73	141
	Chronická onemocnění (20,3 %)	27	21	48
	Pacienti s jinou akutní infekcí (8,5 %)	7	13	20
	Abusus, drogová závislost (0,8 %)	1	1	2
	Pacienti s neurologickou symptomatikou (0,8 %)	2		2
	Jiné chronické stavy bez vztahu k akutnímu onemocnění (2,1%)	3	2	5
	Celkem	117	119	236
Komplikace	Bez komplikací	212	261	473
	Plicní komplikace (10 %)	10	5	15
	CNS (11,3 %)	12	5	17
	Bakteriální superinfekce (10,7 %)	6	10	16
	Neurolog.komplikace (7,3 %)	6	5	11
	Jiné bakter.či virové (5,3 %)	5	3	8
	Jiné (55,3 %)	45	38	83
	Celkem	296	327	623

Tabulka č. 1 ukazuje výskyt komorbidit a komplikací u varicellových pacientů s ohledem na pohlaví. Komorbidity jsme rozdělili do sedmi skupin - *imunokompromitovaní pacienti* (karcinomy, leukemie, léčba imunosupresiv, leukocytoklastická vaskulitida, Wilmsův tumor, chemoterapie, celiakie, JIA - juvenilní idiopatická artritida, mnohočetný myelom, těžká atopická dermatitida s imunosupresivní terapií), *alergici* (polinóza, intolerance bílkoviny kravského mléka), *pacienti s chronickými onemocněními* (hypertenze, diabetes, astma, cholecystolitíáza, oční forma sarkoidózy, diabetes I, II. typu, epilepsie, migrény, psoriáza, mikrocytární anemie, jaterní parenchymální léze, *otitis media chronica secretoria* 1. utr., hypothyreóza, Morbus Parkinson, kardiopulmonární obtíže, hypothyreóza, hepatopatie, ischemická choroba srdeční), *pacienti s akutní jinou infekcí* (TBC, mykoplasmata, plicní infekce, laryngitis acuta, nasopharyngitis acuta, streptokoková tonsilofaryngitida, skarlátina, lymfická borelióza), *abusus a drogová závislost*, *pacienti s neurologickou symptomatikou* (paroxysmus křečí), *jiné chronické stavy bez vztahu k akutnímu onemocnění* (katarakta, reaktivní artritida, pankreatitida, nefrektomie, reaktivní synovialitida). Dále tabulka ukazuje skupinu pacientů bez komplikací, celkem 473, s převahou osob mladších 18 let. To potvrzuje typickou incidenci planých neštovic u mladších ročníků, které jsou obvykle v dobrém zdravotním stavu.

Skupiny pacientů s komplikacemi byly rozděleny následovně: *plicní komplikace* - pneumonie, *CNS komplikace* – encefalitida, cerebellitida, aseptická meningitida, poruchy vědomí, *bakteriální superinfekce* – sepse, impetigizace, flegmóna, stafylokoková infekce, atopický ekzém, stafylokoková infekce, *neurologické komplikace bez průkazu neuroinfekce* – polykací obtíže, cefalea, vertigo, febrilní křeče, tonické či tonicko – klonické křeče, *skupina jiných bakteriálních či virových komplikací bez příčinné souvislosti s varicellou* - recidiva akutní pyelonefritidy při probíhající varicelle, rotavirové infekce a *skupina jiné komplikace* – teplota, hypohydratace, lymfadenopatie, purpura, celková alterace, trombocytopenická purpura při probíhající varicelle, varicella s přetrvávajícími febriliemi, bolesti břicha, zvracení, oční komplikace, relaps nefrotického syndromu, mezenterální lymfadenopatie.

Pouze čtyři pacienti nemocní varicellou v tomto souboru byli očkovaní proti VZV (žádný pacient v našem souboru nebyl očkovan vakcínou proti HZ (profylaktická vakcína Zostavax)) Všichni (2 muži, 2 ženy) byli alergici a tři byli imunokompromitovaní.



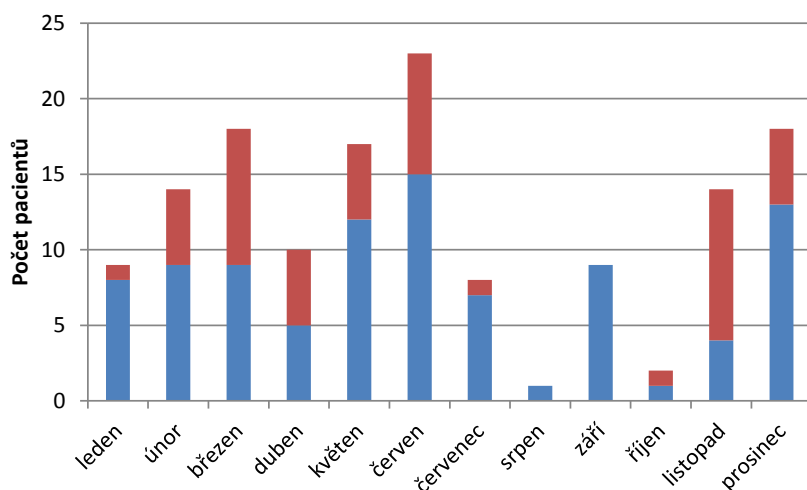
Graf č. 1. Výskyt jednotlivých případů onemocnění varicellou dle data onemocnění. Numerické vyjádření v jednotlivých sloupcích představuje absolutní počty onemocnění v daném kalendářním měsíci v naší sledované skupině pacientů.

Sledovali jsme výskyt onemocnění varicellou jak u ambulantních, tak hospitalizovaných pacientů v jednotlivých měsících kalendářního roku. Jak ukazuje graf č.1 onemocnění varicellou probíhá po celý kalendářní rok. Zaznamenali jsme dva vrcholy maximálního výskytu onemocnění – jeden v zimním období měsíců leden, únor, následovaný druhým vrcholem na přelomu jara a léta v měsících květen a červen. V rámci práce s daty vyhodnocovanými programem IBM SPSS jsme provedli testy normality dat pro specifické výběry postavené na parametru „věk v definovaném rozpětí“ a následně ANOVA test, který prokázal statisticky významný rozdíl onemocnění varicellou v průběhu roku po jednotlivých měsících.

Ačkoli v podmínkách mírného pásu je varicella typicky benigním onemocněním dětí předškolního věku či dětí navštěvujících první stupeň základních škol, bylo ve FN HK léčeno s diagnózou varicella 93 mužů ve věkovém rozpětí 19 – 62 let (průměrný věk 28,3 roku, medián 27 let). Celkem 16 pacientů udalo druhý výskyt varicelly v životě, první výsev se odehrál v raném dětství, tj. 17,2 %. Diagnózu varicella bez komplikací mělo 94,6 %, tj. 88 pacientů. Tito pacienti byli léčeni ambulantně. Zbytek, tj. 5 pacientů bylo hospitalizováno (od 2 do 29 dnů), s diagnózou varicella s jinými komplikacemi v kombinaci s chronickými onemocněními. Celkem 42 pacientů uvedlo, že si nejsou vědomi, že by varicellu prodělali v dětství.

Skupina dospělých žen nemocných varicellou byla zastoupena 67 pacientkami ve věku od 19 do 81 let (průměrný věk 29,3 roku, medián 26,2 let). U 18 patientek se jednalo o druhé opakování onemocnění varicellou, jedna pacientka byla imunokompromitovaná a ve třech případech byla u žen diagnostikována varicellová encefalitida. Sedm žen bylo hospitalizováno v rozmezí od jednoho dne po 16 dnů.

Všichni pacienti a pacientky uvedli shodně výskyt a kontakt s onemocněním v rodině (typicky jejich dětí nebo dětí partnerek ve společné domácnosti) nebo v blízkém okolí v době maximálně tři týdny před jejich vlastním onemocněním. V jednom případě uvedla žena narozená v roce 1981 výskyt pásového oparu u svého manžela. Rozložení nemoci zasahuje celý kalendářní rok, včetně letních měsíců.



Graf č. 2. Počty případů onemocnění varicellou v průběhu kalendářního roku ve skupině dospělých mužů (modře) a žen (červeně).

Graf č. 2 ukazuje četnost onemocnění planými neštovicemi u dospělých mužů a žen v průběhu kalendářního roku, opět vidíme celoroční výskyt onemocnění.

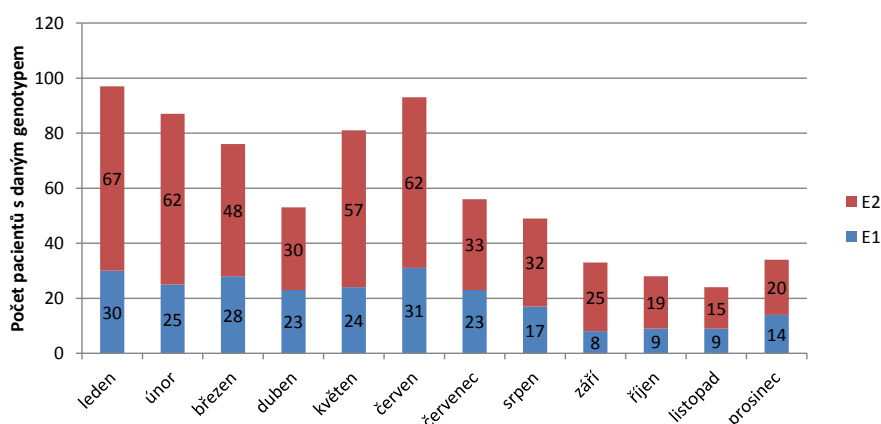
Molekulárně genetická analýza VZV DNA úspěšně izolovaných ze 716 pacientů ukázala, že náš soubor tvoří výhradně divoké kmeny VZV. Obraz rozložení kmenů E1 a E2 u pacientů s opakovaným výskytem varicelly není rozdílný od výsledku pro skupinu primárně infikovaných. Nebyly nalezeny ani žádné atypické kmeny či odlišnosti v námi sledovaných ORF. Nebyl detekován žádný vakcinační kmen VZV, žádný pacient jehož vzorek byl v tomto souboru genotypizován nebyl očkován proti varicelle ani proti herpes zoster. To je zcela v souladu s velmi nízkou proočkovaností proti VZV v české populaci, která se pohybuje zhruba na úrovni 3 %. Celkem 332 vyšetřených vzorků bylo od pacientů s varicellou, 384 vzorků pocházelo od nemocných herpes zoster.

Následovala SNP analýza založená na genotypizaci ORF 22, ORF 21 a ORF 50, které nesou rozlišovací znaky pro jednotlivé divoké kmeny VZV (Tabulka č. 2). Genotypová analýza zjistila u celkem 711 vzorků přítomnost evropských kmenů E1 a E2, s převahou E2 kmene (470 pacientů, tj. 65,6 %) oproti E1 (241 vyšetřených pacientů, tj. 33,7 %). (Zbýlých pět izolátů od českých pacientů bylo také VZV pozitivních, ale jednalo se o kmeny neevropského typu. Tyto nálezy byly publikovány dříve [20-22]).

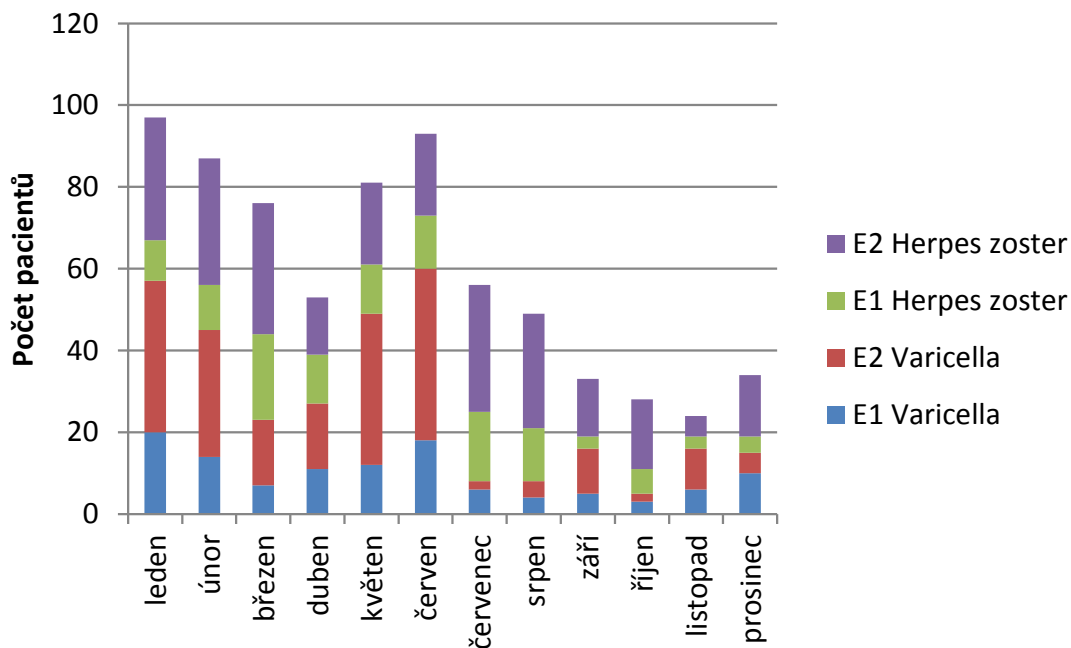
Tabulka č. 2. Výskyt E1 a E2 genotypů ve skupině pacientek a pacientů s varicellou a herpes zoster.

		Ženy	Muži
Genotyp	E1	Varicella	71
		Herpes zoster	36
	E2	Varicella	115
		Herpes zoster	114

Graf č. 3 ukazuje souhrnná data pro výskyt E1 a E2 kmenů VZV v jednotlivých měsících během kalendářního roku (vyšetřovanou skupinu tvoří 711 pacientů souhrnně, bez rozlišení dle diagnózy).



Graf č. 3. Výskyt kmenů E1 a E2 ve skupině pacientů s varicellou nebo herpes zoster v jednotlivých měsících.



Graf č.4. Zastoupení jednotlivých genotypů ve skupinách pacientů rozdělených s důrazem na diagnózu buď planých neštovic nebo pásového oparu.

Následující graf č. 4 pak ukazuje podrobnou analýzu zastoupení jednotlivých genotypů ve skupinách pacientů rozdělených s důrazem na diagnózu buď planých neštovic nebo pásového oparu.

U všech genotypizovaných izolátů jsme sledovali vztahy mezi výskytem genotypů a pohlavím pacientů. Tabulka č. 2 ukazuje výskyt jednotlivých genotypů u diagnóz varicella a herpes zoster. Zajímavé je, že zatímco u mužů je genotyp E1 dominantní při onemocnění varicellou v porovnání s výskytem u zosterových pacientů, u žen je tomu naopak. U genotypu E2 je zastoupení u obou diagnóz u mužů velmi podobné. U žen sice je jeho výskyt opět vyšší u pacientek se zosterem, nicméně rozdíl není tak markantní, jako u genotypu E1 a lze jej přičíst celkově vyššímu počtu pacientek se zosterem ve srovnání s těmi s varicellou.

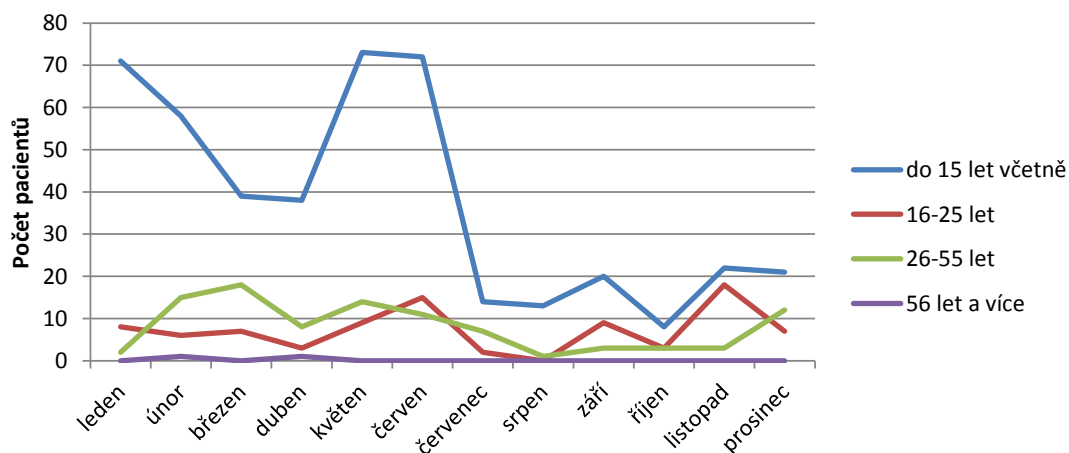
Diskuse

Infekční onemocnění planými neštovicemi je nejčastějším onemocněním skupiny vakcínami preventabilních infekčních nemocí v české populaci. Očkování proti tomuto onemocnění nemá v České republice mandatorní charakter a počet očkových je, jak již bylo zmíněno, velmi nízký. Výskyt planých neštovic (stejně jako pásového oparu) je prostřednictvím Státního zdravotního ústavu v Praze, v ČR dlouhodobě sledován. Systém Epidat (www.szu.cz) uvádí v absolutních číslech počty onemocnění varicellou (B01) u 40 413 lidí v roce 2013, 51 617 lidí v roce 2014 a 47 051 nemocných v roce 2015.

Vzhledem k minimální proočkovanosti populace cirkulují dle našich molekulárně genetických analýz klinických izolátů VZV a HZ v české populaci převážně divoké kmeny viru VZV (8). Dlouhodobé sledování (od roku 2009) ukazuje obdobně jako v sousedním Německu (15) na převahu evropského kmene typu E2 (65,6 %) nad evropským kmenem E1 (33,7%). Oba dva kmeny se typicky vyskytují v zemích mírného podnebného pásu (Evropa, severní Amerika, část australského kontinentu s tímto klimatem) (23,24).

Výskyt planých neštovic dle naší studie ukazuje na celoroční charakter se dvěma vrcholy – v období zimy a pozdního jara, počínajícího léta. Nepotvrzuje se tak běžně uváděný fakt o sezónním výskytu planých neštovic v zemích mírného pásu s distribucí převážně mezi dětmi předškolního a školního věku versus celoročním výskytem planých neštovic v tropických oblastech a posunem jejich výskytu do vyšších věkových kategorií (25,26). Data, která prezentujeme se týkají pacientů, kteří byli léčeni ve fakultní nemocnici Hradec Králové, nemocnici Královéhradeckého kraje – nemají tedy celorepublikový charakter. Na druhou stranu studie probíhá nyní osmým rokem a průběh sběru vzorků od nemocných pacientů je každoročně v jednotlivých měsících probíhá obdobně.

Graf č. 5 ukazuje výskyt varicelly v průběhu jednotlivých měsíců kalendářního roku pro naše pacienty rozdělené do čtyř věkových skupin: do 15 let věku, 16 – 25 let, 26 – 55 let a nad 56 let. Nejčetněji je zastoupena skupina osob



Graf č. 5. Výskyt jednotlivých případů onemocnění varicellou dle data onemocnění ve čtyřech dle věku rozlišených skupinách námi vyšetřených pacientů.

v nejnižší věkové kategorii, následovaná kategorií ve věku 26-55 let, tj. kategorií „rodičovskou.“ Následuje kategorie osob ve věku 16 až 25 let, a dva pacienti ve věku nad 56 let tvoří nejméně početně zastoupenou čtvrtou skupinu. Pokles počtu infekcí v létě – měsíce červenec a srpen poukazuje pravděpodobně na přerušení infekčního řetězce v období celostátních školních prázdnin a dovolených. Četnost nemocnosti stoupající od listopadu k lednu potvrzuje rozvoj nemoci v zimním období, podpořený pobytem dětí ve školních kolektivech, ale pravděpodobně přerušeným vánočními prázdninami, obdobně jako se zdá, že v období března až dubna přerušují šíření viru prázdniny jarní. Naopak měsíce květen a červen se vyznačují opět šířením nemoci na úrovni srovnatelné se zimními měsíci. Shrnutí, v podmínkách České republiky, probíhá infekce varicellou celoročně, přerušována ve chvílích, kdy nefungují školní dětské kolektivy.

Pozornost si zaslouží i fakt, týkající se množství dospělých pacientů, nemocných planými neštovicemi. V našem souboru, celkem 623 pacientů s planými neštovicemi, se jednalo o 160 osob starších 18 let, tj. o plnou čtvrtinu pacientů. Ve všech případech se podařilo dohledat epidemiologické informace, dospělí se nakazili ve svém nejbližším okolí, převážně od dětských rodinných příslušníků (pouze v jednom případě byl uveden přenos od manžela nemocného pásovým oparem). Jednalo se o tzv. přímý kontakt s virem varicelly, tj. bezprostřední styk s nakaženou osobou. Nejpravděpodobnější přenos se uskutečňuje u kontinuálně infikci vystavených osob ve společné domácnosti – k onemocnění dochází zhruba u 85 % vnímavých osob. Přenos divokých virů VZV je 5x vyšší než přenos virů vakcinačních (od osob, které mají po vakcinaci postvakcinační puchýřky). Zde je na místě zmínit, že v budoucnu bude velmi zajímavé vyhodnocení našich dat, které shromažďujeme k charakterizaci virulence u jednotlivých divokých kmenů VZV (studie pro kmeny E1 a E2 a kmeny s atypickými mutacemi pěstované na tkáňových kulturách probíhá). Vnímaví jedinci jako jsou imunokompromitovaní pacienti, těhotné ženy (obzvláště pokud neprodělaly plané neštovice nebo proti nim nebyly očkovány) a novorozenci matek bez prokazatelných protilátek proti VZV by se měli vyvarovat blízkého kontaktu s očkovanou osobou. Zrovna tak je velmi vhodné, aby dospělí vyššího věku, kteří varicellu neprodělali a přitom žijí v blízkém kontaktu s rodinami s malými dětmi, dospělí pracující v dětských kolektivech, zaměstnanci domovů důchodců a jejich klienti by měli být očkovaní proti varicelle (8).

Závěry

Do značné míry automaticky přejímaná charakterizace VZV jako viru s výrazným sezónním charakterem výskytu v mírném podnebném pásu a většině zemí s mírným klimatem, s vrcholem nemoci v chladnějších, sušších měsících během zimy by si zasloužila podrobnou analýzu dat z jednotlivých zemí světa. Miller a Kelly (27) hovoří o odlišných nálezech pro oblast Victoria – část jihovýchodní Austrálie s typicky mírným klimatem, kde nepozorovali konsistentní vrchol výskytu varicelly, tak jak literatura běžně zmiňuje.

Česká populace se nachází z hlediska přístupu k očkování proti VZV, v přechodovém období. Stále je pro nás typická velmi nízká proočkovanost proti VZV. Nicméně na příkladu Spojených států lze velmi dobře demonstrovat dramatické změny v epidemiologii varicelly po zavedení a masivním rozšíření očkování. V současné době bylo v USA dosaženo takřka stoprocentní proočkovanosti populace a došlo víceméně k vymizení onemocnění planými neštovicemi z ordinací dětských lékařů. Pokud pak jsou pacienti zaznamenáni, je průběh onemocnění u zdravého jedince velmi lehký, v současnosti se hovoří dokonce o obtížnosti rozeznání exanthému od komářího štípnutí. O to více je v USA nyní kladen důraz na správnou laboratorní diagnostiku onemocnění. Postupné zavádění vakcíny do očkovacích programů evropských zemí (jak varicella, tak herpes zoster) mění a bude měnit obraz tohoto onemocnění i na evropském kontinentu. Detailní informace o výskytu viru, charakteru jeho kmenů, incidenci, podrobné analýzy jednotlivých klinických případů včetně komplikací a komorbidit vztažené k datům získaných z molekulární typizace kmenů VZV mají proto své opodstatnění.

Prohlášení o střetu zájmu

Autoři v souvislosti s uvedeným příspěvkem prohlašují, že nemají žádný střet zájmů.

Disclosure statement

The authors proclaim that they have no competing interests.

Literatura

1. Arvin A. Varicella vaccine: genesis, efficacy, and attenuation. Virology, Elsevier, 2001.
2. Shields K, et al. Varicella vaccine exposure during pregnancy: data from the first 5 years of the pregnancy registry. Obstet Gynecol. 2001;98:14-19.
3. Cohen P, et al. Congenital varicella syndrome: the evidence for secondary prevention with varicella-zoster immune globulin. CMAJ. 2001;183:204-208.
4. Levin M, et al. Veterans Affairs Cooperative Studies Program Shingles Prevention Study Investigators. VZV specific immune response in elderly recipients of a herpes zoster vaccine. J. Infect. Dis. 2008;197:825-835.
5. Levin M. Use of varicella vaccine to prevent herpes zoster in older individuals. Arch. Virol. 2001;17:151-160.
6. Gildea D, et al. Varicella zoster virus vasculopathies: diverse clinical manifestations, laboratory features, pathogenesis, and treatment. Lancet Neurol. 2009;8:731-40.
7. Arvin A, et al. Varicella zoster virus. The Pitt Bldg., Cambridge, UK. 2007.
8. Norberg P, et al. Complete-genome phylogenetic approach to varicella-zoster virus evolution: genetic divergence and evidence for recombination. J. Virol. 2006;80:9569-9576.
9. Peters A, et al. A full-genome phylogenetic analysis of VZV reveals a novel origin of replication-based genotyping scheme and evidence of recombination between major circulating clades. J Virol. Elsevier. 2006;80:9850-9860.
10. Davison J, et al. The complete DNA sequence of varicella-zoster virus. J. Gen. Virol. 1986; 67:1759-1816.
11. Zhang Z, et al. Genome-wide mutagenesis reveals that ORF 7 is a novel VZV skin-tropic factor. PLOS Pathogens, Ambra. 2010;3:876 – 885.
12. Loparev V N, et al. Distribution of varicella-zoster virus (VZV) wild type genotypes in northern and southern Europe: evidence for high conservation of circulating genotypes. Virology. 2009;383:216-225.
13. Loparev, V N, et al. Global identification of three major genotypes of VZV: longitudinal clustering and strategies for genotyping. J. Virol. 2004;78:8349-8358.
14. Quinlivan M, et al. The molecular epidemiology of VZV: evidence for geographic segregation. J. Infect. Dis. 2002;186:888-894.
15. Loparev V N, et al. Identification of five major and two minor genotypes of varicella-zoster virus strains: a practical two-amplicon approach used to genotype clinical isolates in Australia and New Zealand. J. Virol. 2007;81:12758-12765.
16. Loparev V N, et al. Improved identification and differentiation of VZV wild-type strains and an attenuated varicella vaccine strain using a VZV ORF 62-based PCR. J. Clin. Microbiol. 2000;38:3156-160.
17. Gross G. Varicella-zoster Virus. In Plettenberg A., Meigel W. Dermatologische Infektiologie. 2003.
18. Breuer J. VZV molecular epidemiology. Curr Top Microbiol Immunol. 2003;342:15-42.
19. Loparev V N, et al. Rapid genotyping of varicella-zoster virus vaccine and wild-type strains with fluorophore-labeled hybridization probes. J. Clin. Microbiol. 2000;38:4315-4319.
20. Bostikova V, et al. Překvapivé výsledky molekulárně genetické analýzy klinických izolátů varicella-zoster viru (VZV). Vakcinologie. 2011;1:10-12.
21. Bostikova V, et al. Genotyping of varicella zoster virus (VZV) clinical isolates from Czech Republic. Central European Journal of Public Health. 2016;4:248-249.
22. Plisek S, et al. Fulminant hepatitis and death associated with disseminated varicella in an immunocompromised adult from the Czech Republic caused by a wild-type clade 4 varicella-zoster virus strain. J. Clin. Virology. 2011;50:72-75.
23. Sauerbrei A, et al. Varicella-zoster Virusinfektion während der Schwangerschaft, Dtsch. Atztbl. 1999;96(18):1198-1203.
24. Sauerbrei A, et al. Monitoring prevalence of varicella-zoster virus clades in Germany. Med Microbiol Immunol. 2011;200:99-107.
25. Warachit B, et al. Effect of climatic factors and population density on varicella zoster virus epidemiology within a tropical country. Am J Trop Med Hyg. 2001;64:131-136.
26. La Russa PS, et al. Biologic and geographic differences between vaccine and clinical varicella-zoster virus isolates. Arch. Virol. 2001;17:41-48.
27. Miller ER, et al. Varicella infection--evidence for peak activity in summer months. J Infect. 2008;56:360-365.
28. Schmid DS, et al. Impact of varicella vaccine on VZV dynamics. Clin. Microbiol. Rev. 2010;23:202-217.