Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. 58, 2009, č. 1, s. 31–35

Výskyt a charakteristika salmonel ve vybraných lokalitách České republiky – porovnání epidemiologických a laboratorních dat

Karpíšková R., Dědičová D.

Státní zdravotní ústav Praha

Souhrn

Cílem studie bylo získat podrobnější informace o charakteristice humánních izolátů salmonel ve vybraných lokalitách ČR a porovnáním s hlášenými případy onemocnění (zdroj EPIDAT) naznačit reálnou epidemiologickou situaci na našem území.

Metodika: Zdrojem epidemiologických dat byl EPIDAT (národní informační systém pro hlášení přenosných onemocnění). Laboratorní data byla získána sběrem izolátů salmonel pocházejících z 5 klinických laboratoří v Čechách a na Moravě. Sběr byl prováděn v pravidelných intervalech od ledna do srpna a počty izolátů salmonel zařazených do studie odrážely lokální epidemiologickou situaci. U kmenů byl specifikován sérotyp, u sérotypů *Salmonella* Enteritidis a *Salmonella* Typhimurium byl určen fágový typ.

Výsledky: Analýza epidemiologických dat potvrdila, že dominantním původcem onemocnění byl ve sledovaném období sérotyp S. Enteritidis zodpovědný za 5 329 z 5 934 hlášených případů (89,8 %) následován S. Typhimurium (302 případů, tj. 5,1 %). Analýza laboratorních dat odhalila nižší frekvenci výskytu sérotypu S. Enteritidis (231 z 273 vyšetřovaných kmenů, tj. 84,6 %) a shodné zastoupení sérotypu S. Typhimurium (14 kmenů, tj. 5,1 %). U sérotypu S. Enteritidis patřil k dominantním fagotypům PT8, následován PT4, PT13a a PT6, u sérotypu S. Typhimurium byl nejčetněji detekován fágový typ DT104.

Studie dále odhalila rozdíly v počtech hlášených případů (EPIDAT) a laboratorně diagnostikovaných onemocnění salmonelózou v lokálních laboratořích. Ve sledovaném období a lokalitách nebylo nahlášeno 111 případů (40 %) .

Závěr: Z výsledků studie vyplývá, že informace o charakteristice izolátů salmonel (frekvence výskytu jednotlivých sérotypů, fagotypů, rezistence k antimikrobiálním látkám) nejsou při epidemiologickém sběru dat přesné nebo dostupné. Proto je nutné vytvořit národní systém sběru klinických izolátů salmonel, které budou typizovány a získané výsledky vyhodnocovány na národní a mezinárodní úrovni.

Klíčová slova: salmonelóza, sérotypy, fágové typy, laboratorní a epidemiologická data.

Summary

Karpíšková R., Dědičová D.: Prevalence and Characteristics of *Salmonella* in Selected Localities of the Czech Republic – Comparison of Epidemiological and Laboratory Data

The study objectives were to characterize in detail human isolates of *Salmonella* in selected localities of the Czech Republic and to consider the actual epidemiological situation in the country based on the comparison with the reported cases of salmonellosis (source EPIDAT).

Methods: The source of the national epidemiological data was EPIDAT (communicable disease notification system). Laboratory data was obtained by analysis of *Salmonella* isolates from five clinical laboratories in Bohemia and Moravia. The isolates were collected at regular intervals from January to August and their numbers were indicative of the local epidemiological situation. The *Salmonella* strains were serotyped and those of serotypes Enteritidis and Typhimurium were phage typed.

Results: Epidemiological data analysis confirmed that the predominant causative serotype in the study period was Enteritidis, implicated in 5 329 (89.8 %) of 5 934 reported cases of salmonellosis, followed by Typhimurium (302 cases, i.e. 5.1 %). Laboratory data analysis revealed a lower incidence of the serotype Enteritidis (found in 231, i.e. in 84.6 %, of 273 tested strains) and the same incidence of the serotype S. Typhimurium (14 strains, i.e. 5.1 %). The most common phage types among strains of serotype Enteritidis were PT8, PT4, PT13a and PT6 while phage type DT104 was most often detected among strains of serotype Typhimurium.

Moreover, the study revealed differences between the numbers of reported (EPIDAT) and laboratory diagnosed cases of salmonellosis. Within the study period, 111 (40 %) cases of salmonellosis remained unreported in the study localities.

Conclusion: The study has shown that the characteristics of *Salmonella* isolates (serotyping, phage typing and antimicrobial resistance data) relevant to the epidemiological data collection are either inaccurate or unavailable. Therefore, a national system needs to be created for the collection of *Salmonella* clinical isolates that should be further typed to obtain data for the monitoring at both the national and international levels.

Key words: salmonellosis, serotypes, phage types, laboratory and epidemiological data.

Ve vyspělých státech světa patří salmonelózy společně s kampylobakteriózami k nejčastěji hlášeným alimentárním infekcím bakteriálního původu. V 80. a 90. letech minulého století došlo k výraznému vzestupu počtu hlášených onemocnění salmonelózou a to zejména v USA, Kanadě, Jižní Americe a v Evropě [7]. Tento nárůst byl způsoben téměř výhradně sérotypem *S.* Enteritidis a následoval několik let poté, co vznikly rozsáhlé epidemie vyvolané tímto etiologickým agens ve Velké Británii, Španělsku, Itálii a Německu. V České republice byl prudký nárůst salmonelóz zaznamenán opožděně, a to v roce 1989, nejvýznamnějším etiologickým agens se stala *S.* Enteritidis [8].

V posledních letech je v zemích Evropské unie pozorován mírně klesající trend výskytu hlášených salmonelóz. Epidemiologická situace je ale v jednotlivých státech odlišná [8]. Zatímco v některých státech byl v období let 2002-2006 zaznamenán klesající trend (např. Rakousko, Česká republika, Slovensko, Polsko a Španělsko), v některých státech byl registrován vzestupný trend (např. Estonsko, Finsko, Norsko, Litva a Maďarsko). Nejvýznamnějším sérotypem v humánní populaci byla v EU v roce 2006 i nadále *S.* Enteritidis (62,5 %), následována *S.* Typhimurium (12,9 %). Z fágových typů *S.* Enteritidis byly v EU nejvíce zastoupeny PT4 (30,3 %), PT1 (19,5 %) a PT8 (14,4 %). U sérotypu *S.* Typhimurium byl nejvíce hlášen fágový typ DT104 (28,7 %), DT120 (10,2 %) a DT 193 (8,8 %) (zdroj TESSy), [9]. Zatímco v Evropě, USA a Kanadě stále dominuje sérotyp *S.* Enteritidis, v některých státech je to *S.* Typhimurium. Příkladem mohou být Austrálie (41,2 % *S.* Typhimurium a 4,9 % *S.* Enteritidis), Nový Zéland (51,9 % *S.* Typhimurium a 10,3 % *S.* Enteritidis) a Jihoafrická republika (47,1 % *S.* Typhimurium a 5,4 % *S.* Enteritidis) [3]. Salmonelóza patří mezi onemocnění s povinným hlášením, k evidenci a analýze výskytu infekčních nemocí v České republice slouží program EPIDAT, který je celostátně používán Hygienickou službou ČR.

Analýza databáze informačního systému EPIDAT za rok 2007 vykázala 18 205 případů salmonelóz, což je o 6 661 méně, než v roce 2006. Podobně jako v předchozích letech byl jako hlavní původce uváděn sérotyp *S.* Enteritidis (93,3 %). Tak dominantní zastoupení jediného sérotypu hlásí ze všech evropských států pouze Česká republika, druhým sérotypem v pořadí je *S.* Typhimurium (3,4 %).

Pro epidemiologické analýzy je při tak masivním rozšíření jednoho sérotypu nutné při šetření zdrojů a cest šíření tohoto onemocnění aplikovat další vhodné typizační metody. Pro tyto účely je využívána mezinárodně standardizovaná metoda fágové typizace. Každoročně je v naší laboratoři touto metodou vyšetřeno 700-1 000 izolátů salmonel. Necelá polovina kmenů pochází od lidí, zbytek tvoří izoláty od zvířat, z potravin a environmentálních zdrojů. U humánních izolátů *S.* Enteritidis převažuje zastoupení fagotypu PT8, který je obvykle citlivý k antimikrobiálním látkám. U sérotypu *S.* Typhimurium je nejčastěji registrován fágový typ DT104, část těchto izolátů vykazuje vícečetnou rezistenci (ampicilin, chloramfenikol, streptomycin, sulfonamidy a tetracyklin) .

Sběr kmenů pro typizační účely není v ČR prováděn systematicky. V posledních letech byl zaměřen zejména na kmeny rezistentní k antimikrobiálním látkám. V současnosti nejsou k dispozici laboratorně potvrzená data o prevalenci jednotlivých fagotypů salmonel (*S.* Enteritidis a *S.* Typhimurium) v humánní populaci.

Cílem této studie bylo získat podrobnější informace o charakteristice humánních izolátů salmonel ve vybraných lokalitách ČR a porovnáním s hlášenými případy onemocnění (zdroj EPIDAT) naznačit reálnou epidemiologickou situaci na našem území.

Materiál a metody

Zdroj epidemiologických dat

Analýza vybraných epidemiologických charakteristik byla provedena na základě dat získaných v databázi informačního systému pro hlášení přenosných onemocnění [2] vykázaných v období 1. - 34. týdne roku 2008.

Původ izolátů salmonel

Ke spolupráci při sběru izolátů salmonel byly vybrány klinické laboratoře z lokalit Čechy (Praha, Plzeň, Kladno) a Morava (Brno, Brno-venkov). Sběr byl prováděn v pravidel-

Tab. 1. Analýza laboratorních a epidemiologických dat (zdroj EPIDAT) podle lokality a sérotypu

Table 1. Analysis of laboratory and epidemiological data (source EPIDAT) by locality and serotype

Zdroj	Laboratorní data (vybrané lokality)						EPIDAT (ČR)	
Lokalita	Čechy		Morava		Celkem		(1.-34. týden)	
Sérotyp	n	%	n	%	n	%	n	%
S. Enteritidis	129	84,3	102	85,0	231	84,6	5 329	89,8
S. Typhimurium	10	6,5	4	3,3	14	5,1	302	5,1
Ostatní	14	9,2	14	11,7	28	10,3	303	5,1
Celkem	153		120		273		5 934	

ných intervalech od ledna do srpna a počty izolátů salmonel zařazených do studie odrážely lokální epidemiologickou situaci.

Celkem bylo získáno 273 klinických izolátů salmonel, detailní přehled podle lokalit a sérotypů uvádí tabulka 1.

Sérotypizace

Sérotypizace byla prováděna příslušnými klinickými laboratořemi v místě vzniku onemocnění, v případě diagnostických obtíží byly problematické nebo neobvyklé kmeny salmonel odesílány do Národní referenční laboratoře při SZÚ v Praze k dotypování.

Sérologická diagnostika v NRL byla prováděna metodou skličkové aglutinace s komerčními hyperimunními králičími séry za použití antisér firem Bio-Rad (Francie), Denka-Seiken (Japonsko), Reagensia (Švédsko) a SSI (Dánsko). Vyhodnocení bylo provedeno podle Kaufmann – Whiteova schématu *antigenních formulí salmonel [6].*

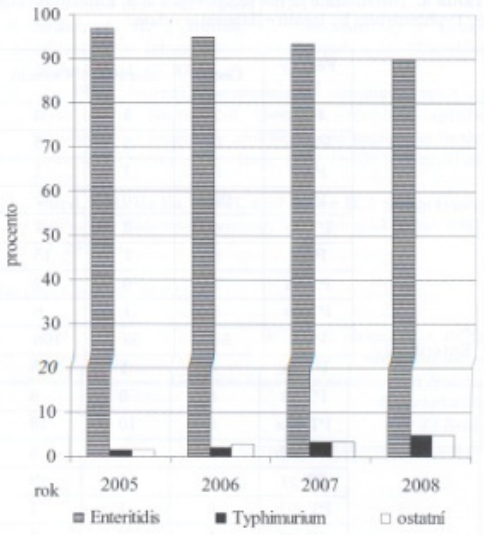
Fágová typizace

Fágová typizace byla prováděna soupravou obsahující pro *S.* Enteritidis 16 typizačních fágů a pro *S.* Typhimurium 30 základních a 6 přídatných fágů. Zpracování kmenů a vyhodnocení výsledků bylo prováděno podle pokynů poskytovatele fágů (Laboratory of Enteric Pathogens, HPA, Velká Británie) [1, 10].

Výsledky a diskuse

V období 1. až 34. týdne roku 2008 bylo v České republice hlášeno 5 934 případů onemocnění salmonelózou (EPIDAT). Analýza epidemiologických dat potvrdila, že dominantním původcem onemocnění byl ve sledovaném období sérotyp *S.* Enteritidis, zodpovědný za 5 329 z celkem 5 934 hlášených případů (89,8 %), což je o 3,5 % méně než v roce 2007. Druhým v pořadí byl sérotyp *S.* Typhimurium (5,1 %). Ostatní sérotypy salmonel se na vzniku hlášených případů salmonelóz podílely v 5,1 % případech, jednalo se o 54 sérotypů a u 67 izolátů nebyl sérotyp dourčen (tabulka 1). Graf 1, zobrazující zastoupení nejvýznamnějších sérotypů u hlášených onemocnění salmonelózou v letech 2005-2008 (srpen), naznačuje klesající trend výskytu *S.* Enteritidis a mírně rostoucí trend u *S.* Typhimurium a ostatních sérotypů.

Přehled detekovaných fágových typů nemohl být zpracován, protože výsledky těchto analýz nejsou zpětně do systému EPIDAT vkládány.



Graf 1. Trendy zastoupení vybraných sérotypů u hlášených onemocnění salmonelózou v letech 2005-2008 (1.-34. týden) (zdroj EPIDAT)

Fig. 1. Trends in the incidence of selected serotypes in reported cases of salmonellosis in 2005-2008 (weeks 1-34) (source EPIDAT)

V rámci prováděné laboratorní studie bylo zjištěno, že ve všech sledovaných lokalitách patřila *S.* Enteritidis k dominantním sérotypům, následována *S.* Typhimurium (tabulka 1). Zbytek izolátů představovalo 10 sérotypů, 5 sérotypů vykazovalo defektní antigenní strukturu. Zastoupení sérotypu *S.* Enteritidis na onemocnění se při porovnání laboratorních a epidemiologických dat lišilo o 5,2 %. Podíl dominantního sérotypu *S.* Enteritidis se u laboratorních dat mnohem více blížil údajům prezentovaným v zemích EU [9]. Porovnání epidemiologických a laboratorních dat dále ukázalo, že 111 ze 273 laboratorně diagnostikovaných případů salmonelóz (40,7 %) nebylo nahlášeno do národního registru (EPIDAT). Tento počet byl o něco vyšší v Čechách než na Moravě (tabulka 2). Pokud bychom tento poměr pro-

Tab. 2. Výsledky porovnání laboratorních a hlášených případů salmonelóz (zdroj EPIDAT) ve sledovaném období a lokalitách

Table 2. Comparison of laboratory diagnosed and reported cases of salmonellosis (source EPIDAT)

Lokalita	Čechy		Morava		Celkem	
	n	%	n	%	n	%
Hlášeno	74	48,4	88	73,3	162	59,3
Nehlášeno	79	51,6	32	26,7	111	40,7
Celkem	153		120		273	

Tab. 3. Zastoupení fágových typů *S.* Enteritidis a *S.* Typhimurium podle lokalit (laboratorní data)

Table 3. Distribution of the phage types of *S.* Enteritidis and *S.* Typhimurium by locality (laboratory data)

	Fágový typ	Čechy	Morava	Celkem
S. Enteritidis	PT1	2	1	3
	PT 1b	0	5	5
	PT 2	0	1	1
	PT 4	22	10	32
	PT 4b	4	3	7
	PT 6	8	7	15
	PT 6a	2	0	2
	PT 6b	5	1	6
	PT 8	55	53	108
	PT 8a	4	1	5
	PT 13	8	0	8
	PT 13a	8	10	18
	PT 14b	3	3	6
	PT 21	6	6	12
	PT 21b	0	1	1
	PT 23	1	0	1
	RDNC	1	0	1
S. Typhimurium	DT1	1	0	1
	DT104	4	1	5
	DT109	1	1	2
	DT116	0	1	1
	DT194	1	0	1
	U302	0	1	2
	U310	2	0	1
	U	1	0	1

mítli do dat hlášených za celou ČR, mohlo by to ve sledovaném období reprezentovat až 2 415 nenahlášených případů onemocnění.

Pomocí fágů bylo v rámci studie typizováno 231 izolátů *S.* Enteritidis a 14 izolátů *S.* Typhimurium, výsledky uvádí tabulka 3. Izoláty sérotypu *S.* Enteritidis byly rozděleny do 16 fágových typů a jeden kmen se nepodařilo zařadit podle typizačního schématu (RDNC). Nejvíce byl zastoupen fágový typ PT8, a to u 108 izolátů (46,8 %), s mírnou převahou výskytu v lokalitě Morava (52 %). Druhým v pořadí byl PT4 zodpovědný za 32 (13,9 %) případů onemocnění vyvolaných sérotypem *S.* Enteritidis, s převahou výskytu v Čechách. Zajímavý byl výskyt fágového typu PT13 u pacientů na Plzeňsku v dubnu a květnu roku 2008, zatímco na Moravě nebyl ve stejném období detekován vůbec. Pro tento fágový typ je typická rezistence k ampicilinu, kódovaná genem *bla*TEM ležícím na TnA transposonu. Tento klon byl poprvé popsán v České republice v roce 2004 [4] a má úzký vztah k chovům nosnic zejména v plzeňském regionu.

Mezi izoláty *S.* Typhimurium převažoval fágový typ DT104, který byl detekován u 5 kmenů (35,7 %) izolátů.

Spektrum a zastoupení jednotlivých fágových typů se v různých zemích liší [5]. Také náš soubor analyzovaných kmenů salmonel zahrnoval izoláty od pacientů uvádějících v anamnéze návrat ze zahraničí. U izolátů *S.* Enteritidis se jednalo o návrat z Řecka (PT21), Německa (PT13a), Itálie (PT4), Chorvatska (PT4 a PT21b) a Bulharska (PT8 a PT6). U izolátů *S.* Typhimurium se jednalo o návrat ze Slovenska, detekovaný fágový typ DT116 je na našem území velmi vzácný. Z dalších zajímavých izolátů spojených s turismem jsme detekovali izoláty monofazické salmonely 4,12:i:- u dvou pacientů vracejících se ze Slovenska.

Závěr

Studie odhalila nepřesnosti v hlášení případů onemocnění salmonelóz v České republice. Zatímco v roce 2002 jsme v rámci projektu zaměřeného na sledování charakteristik *S.* Typhimurium při porovnání laboratorních dat a epidemiologických hlášení (EPIDAT) zjistili podhlášenost max. do 2 % případů, v této studii to bylo více než 40 %. Tento fakt by společně s dalšími faktory (např. změnou chování lékařů v primární péči) mohl vysvětlovat klesající trend výskytu salmonelóz v humánní populaci, který je pozorován již od roku 2005. Národní program pro tlumení výskytu salmonel v chovech nosnic, produkujících konzumní vejce a zahrnující také vakcinaci zvířat, je Státní veterinární správou realizován teprve od roku 2007 a nemohl tedy ovlivnit klesající trend výskytu salmonelóz u lidí v předchozích letech.

Výsledky fágové typizace salmonel přinesly zajímavé informace o pravděpodobných hromadných výskytech onemocnění (shodná lokalita, etiologické agens a doba výskytu), které nebyly při provádění standardního epidemiologického šetření odhaleny.

Z výsledků studie vyplývá, že je potřeba vytvořit národní systém sběru klinických izolátů salmonel, které budou průběžně typizovány a získané výsledky budou vyhodnocovány na národní a mezinárodní úrovni.

Poděkování

Práce vznikla díky velmi dobré spolupráci s klinickými laboratořemi IFCOR-99, s.r.o. v Brně, soukromou mikrobiologickou laboratoří RNDr. Zdeňka Čecháčka, s.r.o. v Brně, oddělením klinické mikrobiologie FN Bulovka v Praze, mikrobiologickou laboratoří Kladno (ZÚ se sídlem v Kolíně) a laboratoří Privamed a.s. MN Plzeň a byla financována z prostředků projektu Ministerstva zemědělství ČR NAZV 1B44019.

Literatura

1. **Anderson, E.S., Ward, L.R., De Saxe, M.J., De Sa, J.H.D.** Bacteriophage-typing designations of *Salmonella typhimurium*. J Hyg 1977, 78, 297-300.
2. EPIDAT 2008, SZÚ Praha, vykázaná data za 1.-34. týden, dosud nepublikováno
3. **Gill, N., Reilly, B., Threlfall, J.** Annual Report 2005. Surveillance of Enteric Pathogens in Europe and Beyond. EUROPIAN COMMISSION – DG SANCO.
4. **Hradecká, H., Koláčková, I., Karpíšková, R., Rychlík, I.** Epidemiol Infect 2006, 134, 4, 737-740.
5. **Nygård, K., de Jong, B., Guerin, P. J., Andersson, Y. et. al.** J. Emergence of new *Salmonella* Enteritidis phage types in Europe? Surveillance of infections in returning travellers. BMC Medicine 2004, 2, 32.
6. **Popoff, M.Y.** Antigenic formulas of the Salmonella serovars. WHO Collaborating for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur, 2001.
7. **Rodrigue, D.C., Tauxe, R.V., Rowe, B.** International increase in *Salmonella enteritidis*: a new pandemic? Epidemiol Infect 1990, 105, 1, 21-27.
8. **Šrámová, H. a Beneš, Č.** Salmonelózy v České republice v letech 1989-1993. Epidemiol Mikrobiol Imunol 1994, 43, 47-54.
9. The EFSA Journal. The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2006. Italy: 2007. ISBN: 978-92-9199-072-6.
10. **Ward, L.R., de Sa J.D.H. and Rowe B.** A phage typing scheme for *Salmonella enteritidis*. Epidemiol Infect 1987, 99, 291-294.

Do redakce došlo 18.9.2008

MVDr. R. Karpíšková, Ph.D.
Státní zdravotní ústav
Centrum hygieny potravinových řetězců
Palackého 3a
612 42 Brno
e-mail: karpiskova@chpr.szu.cz