proLékaře.cz | 26.7.2025



# West Nile virus (linie 2) poprvé detekován v komárech v jižních Čechách: nová endemická oblast?

**Rudolf I.[1], Rettich F.[2], Betášová L.[1], Imrichová K.[2], Mendel J.[1], Hubálek Z.[1], Šikutová S.[1]**

[1]Ústav biologie obratlovců AV ČR, v.v.i., Brno
[2]Státní zdravotní ústav, Praha

## SOUHRN

V roce 2018 jsme poprvé detekovali neuroinvazivní linii 2 viru West Nile (WNV-2) v komárech v oblasti třeboňských rybníků v jižních Čechách. Celkem bylo vyšetřeno 6 790 samic druhů *Culex modestus*, *Culex pipiens* a *Coquillettidia richiardii* ve 136 směsích a RNA viru West Nile byla detekována ve dvou směsích. Zachycený virus je geneticky shodný s kmeny WNV-2, které v současnosti cirkulují na jižní Moravě, a rovněž s kmeny tohoto viru způsobujícími epidemie ve střední a jižní Evropě. Výsledky naznačují nezbytnost entomologické surveillance patogenních arbovirů i v lokalitách, kde dosud nebyl WNV prokázán. Jihočeský region se tak po jižní Moravě stává další oblastí s rizikem autochtonního výskytu onemocnění západonilskou horečkou.

## KLÍČOVÁ SLOVA

**West Nile virus – arboviry – emergentní zoonózy – komáři – jižní Čechy – *Culex modestus* – *Culex pipiens* – *Coquillettidia richiardii***

## ABSTRACT

**Rudolf I., Rettich F., Betášová L., Imrichová K., Mendel J., Hubálek Z., Šikutová S.: West Nile virus (lineage 2) detected for the first time in mosquitoes in Southern Bohemia: new WNV endemic area?**
Here we report the first detection of lineage 2 of neuroinvasive West Nile virus (WNV-2) in mosquitoes collected in a fishpond area of the Trebon Basin in southern Bohemia during the 2018 mosquito season. A total of 6790 mosquito females belonging to the *Culex modestus, Culex pipiens,* and *Coquillettidia richiardii* species were investigated in 136 pools, and WNV RNA was detected in two of them. The WNV strain shares genetic homology with other WNV-2 strains isolated in southern Moravia as well as with those causing outbreaks in southern and central Europe. The results highlight the need for entomological surveillance of pathogenic arboviruses even in areas not yet affected (WNV-free areas). The South Bohemian Region (in addition to southern Moravia) is becoming another risk zone of autochthonous occurrence of West Nile fever in the Czech Republic.

## KEYWORDS

**West Nile virus – arboviruses – emerging zoonoses – mosquitoes – South Bohemia – *Culex modestus* – *Culex pipiens* – *Coquillettidia richiardii***

*Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 68, 2019, č. 3, s. 150–153*

## ÚVOD

West Nile virus (WNV; *Flavivirus*, *Flaviviridae*) je původně africký arbovirus, dnes již s kosmopolitním rozšířením, který v přírodě cirkuluje mezi ptáky (hostiteli-amplifikátory) a ornitofilními komáry, v Evropě především druhy *Culex pipiens* a *Cx. modestus*. Koně a lidé jsou tzv. konečnými (‚dead-end‘) hostiteli viru a WNV je u nich původcem tzv. západonilské horečky. Infekce tímto virem probíhá v 80 % případů asymptomaticky, asi ve 20 % případů je však charakterizována horečnatým onemocněním doprovázeným bolestmi hlavy, svalů, kloubů, nauzeou, faryngitidou, lymfadenitidou a někdy vyrážkou (10 % případů), a v 1–2 % případů se může vyvinout dokonce neuroinvazivní onemocnění provázené meningitidou, encefalitidou nebo paralýzami [1].

Od roku 2004 jsme svědky šíření nebezpečné neuroinvazivní linie 2 (WNV-2) včetně epidemického výskytu především v jižní a střední Evropě: Maďarsko (poprvé dokumentováno v roce 2004), Rakousko (2008), Řecko (2010), Rumunsko (2010), Itálie (2011) nebo Srbsko (2012) [2]. V České republice byl WNV poprvé izolován, respektive jeho méně virulentní linie 3 (WNV-3; Rabensburg), po povodních v roce 1997 z komárů *Cx. pipiens* na Břeclavsku a současně zde bylo zaznamenáno několik autochtonních infekcí západonilské horečky u lidí, pravděpodobně způsobené linií 1 (WNV-1), která v tomto období cirkulovala v Evropě [3, 4]. Při několika rozsáhlých sérologických přehledech byly detekovány specifické WNV protilátky u divokého ptactva [5], ale také u koní [6] nebo divoké zvěře [7]. Přelomovým nálezem byl záchyt WNV-2 v roce 2013 u komárů *Cx. modestus* na rybnících Lednicko-valtického areálu [8] a také následný záchyt WNV u komárů *Cx. pipiens*, který z hlediska přenosu představuje vyšší riziko převážně v urbánním biotopu včetně rizika přezimování viru v dospělých samicích [9, 10]. V září a říjnu 2018 byly zaznamenány první autochtonní lidské případy západonilské horečky v jihomoravském regionu a Česká republika se tak plně přiřazuje k zemím s endemickým výskytem tohoto dříve exotického onemocnění (tzv. ‚affected area‘) [11].

proLékaře.cz | 26.7.2025



Protože jihočeský a jihomoravský region jsou si do jisté míry podobné svými geograficko-klimatickými podmínkami včetně nadměrného výskytu komárů, bylo cílem naší studie provést monitorování jako v předchozích letech v oblasti Lednicko-valtického areálu také v oblasti třeboňských rybníků a posoudit tak možné riziko přenosu WNV i v tomto regionu České republiky.

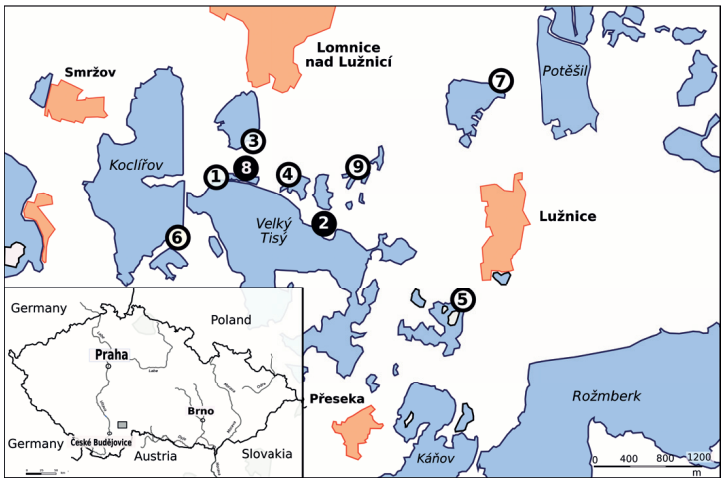
## MATERIÁL A METODY

### Studijní plochy

Komáři byli v roce 2018 odchytáváni v rákosinném biotopu rybníků Velký Tisý-západ [49.0672747N, 14.7057347E], Velký Tisý-východ [49.0630008N, 14.7248750E], Služebný [49.0746814N, 14.7116142E], Velký Dubovec [49.0673675N, 14.7212733E], Malý Tisý [49.0509867N, 14.7465914E], Koclířov [49.0673728N, 14.6922919E], Černičný [49.0763772N, 14.7502850E], Šaloun [49.0691664N, 14.7100839E], Velký Panenský [49.0686256N, 14.7312278E] (obr. 1). Oblast je významnou národní přírodní rezervací (NPR) Velký a Malý Tisý ležící na západním okraji CHKO Třeboňsko. NPR zahrnuje soustavu 11 rybníků ležících v nadmořské výšce 422–431 m s rozsáhlými litorálními porosty. Převažuje rákos (*Phragmites australis*) a hojné jsou i porosty orobinců (*Typha* spp.). Průměrná červencová teplota oblasti je 18 °C, což je více, než by odpovídalo uvedené nadmořské výšce. Jde o významnou ptačí rezervaci, která slouží jako hnízdiště mnoha druhů ptáků i shromaždiště migrujících druhů.

### Sběr a determinace komárů

Komáři byli odchyceni pomocí speciálních EVS pastí (Bioquip, San Domingo, USA) doplněných suchým ledem jako atraktantem. Pasti byly exponovány zpravidla ve čtrnáctidenních (ke konci sezony v týdenních) intervalech od 12. června do 24. září 2018 a v našem screeningu zaměřeny především na rákosinný druh *Cx. modestus*, který je v evropských podmínkách ideálním vektorem WNV – saje na ptácích i lidech [8]. Dále byli vyšetřeni komáři druhů *Culex pipiens* (včetně *Cx. torrentium* – samice totiž nelze spolehlivě morfologicky rozlišit) a *Coquillettidia richiardii*, kteří se v rákosí hojně vyskytují společně s *Cx. modestus*. Pasti byly zavěšeny na 2metrových dřevěných trojnožkách ve výšce 50–70 cm nad hladinou vody. Samice sající krev jsou v rákosinách aktivní i ve dne [12], proto byly pasti do porostu rákosí pokládány v průběhu celého dne. Zachycené samice komárů byly odebírány po 4 hodinách při expozici pasti ve dne (od 8.00 do 20.00) a po 12 hodinách při expozici v noci (20.00–8.00). Odchycení komáři byli na místě zchlazeni a transportováni do laboratoře, kde byli uchováni v hlubokomrazicím boxu (-60 °C) do dalšího zpracování. Poté byli na chladicím stolku pomocí stereomikroskopu identifikováni do druhů [13], roztříděni do směsí obsahujících 1–50 jedinců (odpovídající datu, lokalitě a druhu komára), homogenizováni v PBS (pH 7,4) obohaceným o 0,4 % hovězího sérového albuminu a centrifugováni při 4 °C. Supernatant byl uchován při -60 °C a využit pro následné molekulární analýzy.




**Obr. 1.** Studijní plochy odchytu komárů v roce 2018 s vyznačením lokality se záchytem WNV (černě)
Vysvětlivky: rybníky (modře) 1-'Velký Tisý-západ', 2-'Velký Tisý-východ', 3-'Služebný', 4-'Velký Dubovec', 5-'Malý Tisý', 6-'Koclířov', 7-'Černičný', 8-'Šaloun', 9-'Velký Panenský'.
**Figure 1.** Mosquito collections, South Bohemia, 2018. The WNV positive site is highlighted in black.
Legend: fishponds (in blue) 1-'Velký Tisý-západ', 2-'Velký Tisý-východ', 3-'Služebný', 4-'Velký Dubovec', 5-'Malý Tisý', 6-'Koclířov', 7-'Černičný', 8-'Šaloun', 9-'Velký Panenský'.

**Tabulka 1.** Prevalence WNV v komárech *Culex modestus*, *Cx. pipiens* a *Coquillettidia richiardii* na studijních plochách (2018).
**Table 1.** Prevalence of WNV in *Culex modestus*, *Cx. pipiens* and *Coquillettidia richiardii* mosquitoes on study sites (2018).

| Číslo lokality | Název lokality (rybník) | *Cx. modestus* | *Cx. pipiens* | *Cq. richiardii* |
|---|---|---|---|---|
| 1 | ‚Velký Tisý-západ' | 2203/44/0* | 107/3/0 | 83/2/0 |
| 2 | ‚Velký Tisý-východ' | **1786/36/1** | - | - |
| 3 | ‚Služebný' | 790/16/0 | 344/6/0 | - |
| 4 | ‚Velký Dubovec' | 582/12/0 | 54/1/0 | - |
| 5 | ‚Malý Tisý' | 125/2/0 | 106/2/0 | - |
| 6 | ‚Koclířov' | 240/4/0 | 58/1/0 | - |
| 7 | ‚Černičný' | 90/2/0 | 42/1/0 | - |
| 8 | ‚Šaloun' | - | - | **90/2/1** |
| 9 | ‚Velký Panenský' | - | 70/1/0 | 20/1/0 |
| Total | | 5816/116/1 | 781/15/0 | 193/5/1 |

Pozitivní lokality jsou zvýrazněny tučně.
Positive study sites are highlighted in bold.
Vysvětlivky: *Počet vyšetřených komárů/počet vyšetřených směsí/počet pozitivních směsí
Explanations: *Number of examined mosquitoes/number of examined pools/number of positive pools

### Extrakce virové RNA a molekulární identifikace WNV

Extrakce virové RNA byla provedena pomocí QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Německo) podle přiloženého manuálu. Konvenční PCR byla provede-

proLékaře.cz | 26.7.2025



na s využitím One-step RT-PCR kitu (Qiagen, Hilden, Německo) a se specifickými primery zacílenými do oblasti genu pro obalový protein WNV. Pozitivní vzorky byly sekvenovány podle Sangera a sekvence poté upraveny a vyhodnoceny pomocí bioinformatického softwaru Lasergene 15 (DNASTAR, Madison, USA) a srovnávacího nástroje BLAST v rámci databázové platformy NCBI [8].

## VÝSLEDKY A DISKUSE

V roce 2018 bylo odchyceno celkem 29 207 samic komárů. Celkem bylo molekulárně vyšetřeno 6 790 komárů (celkem 136 směsí) druhů *Cx. modestus* (5 816 kusů), *Cx. pipiens* (781 kusů) a *Cq. richiardii* (193 kusů) odchycených v období od 26. 6. 2018 do 24. 9. 2018 (tab. 1). Celkem dvě směsi (č. R-33; lokalita: ‚Velký Tisý-východ'; sběr: 12. 9. 2018; 50 samic *Cx. modestus* ve směsi a č. R-119; lokalita: ‚Šaloun'; sběr: 26. 7. 2018; 33 samic *Cq. richiardii* ve směsi) obsahovaly RNA WNV-2. Minimální prevalence WNV tedy byla 0,03 % v celém sběru ze všech lokalit. Sekvenací bylo potvrzeno, že se jedná o WNV-2 kmen totožný (shoda 100% v úseku o délce 306 bp) s kmeny cirkulujícími v jihomoravském regionu i s kmeny, které v současnosti způsobují epidemický výskyt WNV ve střední či jižní Evropě. Podle informace NRL pro arboviry nebyla v dané sezoně potvrzena humánní nákaza WNV v jižních Čechách (osobní sdělení). Západonilská horečka je dnes z pohledu veřejného zdraví nejdůležitějším komáry přenášeným onemocněním v Evropě. V roce 2018 byl Evropským centrem pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC) zaznamenán dosud nejvyšší počet případů západonilské horečky v Evropě, bylo hlášeno celkem 1 503 případů z 11 zemí EU: Itálie (576 případů), Řecko (311), Rumunsko (277), Maďarsko (215), Chorvatsko (53), Francie (27), Rakousko (20), Bulharsko (15), Česká republika (5), Slovinsko (3) a Kypr (1). Celková suma autochtonních infekcí v roce 2018 je vyšší než součet počtu infekcí zaznamenaných za posledních 7 let a statisticky jde až o 7násobný nárůst v počtu klinických případů ve srovnání s předchozí sezonou [11]. Navíc byly poprvé popsány klinické případy západonilské horečky způsobené WNV-2 linií u lidí na území ČR včetně hlášení jednoho úmrtí. Všechny autochtonní infekce u nás měly svůj původ v jihomoravském regionu.

Je třeba akceptovat fakt, že komáři v České republice nepředstavují pouze tzv. obtížný hmyz, který v období kalamitních stavů působí nadměrné napadání obyvatelstva a zvěře, ale i to, že kromě viru Ťahyňa způsobujícího valtickou horečku mohou přenášet vysoce virulentní linii WNV, proti které není v současnosti dostupné očkování ani cílená antivirová léčba. Současně je nezbytné upozorňovat infektology a praktické lékaře v oblastech možného výskytu WNV, aby při diferenciální diagnostice nejasných letních horečnatých stavů a meningitid brali v úvahu i možnou nákazu tímto pro nás dosud exotickým virem [14]. Například někteří praktičtí lékaři při diferenciální diagnostice vektory přenášených nákaz dosud opomíjejí možné poštípání komárem v souvislosti s možným přenosem WNV infekce.

Po hlášení prvních lidských případů WNV infekce v loňském roce byla hlavní hygieničkou ustavena pracovní skupina složená z epidemiologů, infektologů, entomologů, veterinářů i virologů, kteří mají za úkol definovat rizikové oblasti výskytu WNV, monitorovat aktuální stav i možný vývoj šíření WNV v České republice a také připravit metodické podklady pro infektology usnadňující diferenciální diagnostiku onemocnění. Navíc se podařilo iniciovat spolupráci mezi Jihomoravským krajem, Hygienickou stanicí Jihomoravského kraje a Akademií věd, která má za úkol podílet se na odhadu rizik (tzv. risk assessment) a plánování připravenosti (WNV preparedness), zahrnující především opatření směřující k surveillanci, prevenci a kontrole onemocnění přenášených komáry v souladu s kritérii ECDC [15]. Klíčovým prvkem v surveillanci WNV je také připravenost v oblasti bezpečnosti a kontroly nakládání s krví a krevními deriváty [16]. V naší studii jsme potvrdili výskyt WNV v komárech v oblasti jižních Čech, a tím i zvýšené riziko nákazy západonilskou horečkou v nadcházejících sezonách. Studie nabádá k prohloubení entomologické surveillance WNV i v dalších oblastech s nadměrným výskytem komárů v letních měsících (např. Polabí, Litovelské Pomoraví apod.) a také v oblastech velkých vodních rezervoárů, kde může docházet ke zvýšenému kontaktu komárů (přenašečů viru) a divokých vodních ptáků, rezervoárů WNV.

## LITERATURA


1. Hubálek Z, Rudolf I. Microbial Zoonoses and Sapronoses. Dordrecht: Springer;2011.
2. Hernández-Triana LM, Jeffries CL, Mansfield KL, et al. Emergence of West Nile virus lineage 2 in Europe: a review on the introduction and spread of a mosquito-borne disease. Front Public Health, 2014;2:271.
3. Hubálek Z, Halouzka J, Juřicová Z. West Nile fever in Czechland. Emerg Infect Dis, 1999; 5:594-595.
4. Bakonyi T, Hubálek Z, Rudolf I, et al. Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, Central Europe. Emerg Infect Dis, 2005;1:225-231.
5. Hubálek Z, Halouzka J, Juřicová Z, et al. Serologic survey of birds for West Nile flavivirus in southern Moravia (Czech Republic). Vector-borne Zoonot Dis, 2008;8:659–666.
6. Sedlák K, Zelená H, Křivda V, et al. Surveillance západonilské horečky u koní v České republice v letech 2011-2013. Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2014;63:307-311.
7. Hubálek Z, Juřicová Z, Straková P, et al. Serological survey for West Nile virus in wild artiodactyls, Southern Moravia (Czech Republic). Vector-borne Zoonot Dis, 2017;17: 654-657.
8. Rudolf I, Bakonyi T, Šebesta O, et al. West Nile virus lineage 2 isolated from *Culex modestus* mosquitoes in the Czech Republic, 2013: expansion of the European WNV endemic area to the North? Euro Surveill, 2014;19 (31):pii=20867.
9. Rudolf I, Betášová L, Blažejová H, et al. West Nile virus in overwintering mosquitoes, Central Europe. Parasites & Vectors, 2017;10:452.
10. Rudolf I, Blažejová H, Šebesta O, et al. West Nile virus (lineage 2) in mosquitoes in southern Moravia - awaiting the first autochthonous human cases. Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2018; 647:44-46.
11. ECDC. Epidemiological update: West Nile virus transmission season in Europe. 2018. Dostupné na www: www.ecdc.europa.eu/en/west-nile-fever/surveillance-and-disease-data/disease-data-ecdc.
12. Šebesta O, Gelbič I, Peško J. Daily and seasonal variation in the activity of potential vector mosquitoes. Cent Eur J Biol, 2011;6:422-430.
13. Becker N, Petrič D, Zgomba M, et al. Mosquitoes and their control. Heidelberg: Springer; 2010.
14. Vlčková J, Rupeš V, Horáková D, et al. Rizika šíření viru západonilské horečky v České republice. Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2015;64:80-86.
15. ECDC. 2013. West Nile virus risk assesment tool. 2013. Dostupné na www: www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/west-nile-virus--risk-assessment-tool-0.

proLékaře.cz | 26.7.2025



16. European Commission. West Nile Virus and Blood Safety – Introduction to a preparedness plan in Europe 2012. Based on the EU Satellite Meeting of the Working Group on Blood Safety and WNV, Thessaloniki, 25-26 January 2011 – and on the teleconference, 18 January 2012. Final Working Document 2012 v.2.1. Prepared by: Greece, Italy, Romania and France – 6 June 2012. Dostupné na www: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/blood_tissues_organs/docs/wnv_preparedness_plan_2012.pdf.

**Poděkování**
Práce byla finančně podpořena interním grantem Státního zdravotního ústavu (RVO-SZÚ/2018) a také projektem Agentury pro zdravotnický výzkum (reg. číslo projektu NV19-09-00036). Autoři by rádi poděkovali RNDr. Oldřichu Šebestovi za přípravu mapy znázorňující lokality sběru komárů.

*Do redakce došlo dne 1. 3. 2019.*

*Adresa pro korespondenci:*

**doc. RNDr. Ivo Rudolf, Ph.D.**
Ústav biologie obratlovců AV ČR, v.v.i.
Klášterní 212
691 42 Valtice
e-mail: rudolf@ivb.cz