Streptococcus pneumoniae sérotypu 8 a 22F působící invazivní pneumokokové onemocnění v České republice v letech 2014–2020: analýza metodou sekvenace celého genomu (WGS)

Kozáková J.[1], **Vohrnová S.**[1,2], **Honskus M.**[1,2], **Křížová P.**[1]

[1]Národní referenční laboratoř pro streptokokové nákazy, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha
[2]3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

SOUHRN

Cíl: Předkládáme analýzu celogenomových dat izolátů *Streptococcus pneumoniae* sérotypů 8 a 22F izolovaných v České republice z invazivního pneumokokového onemocnění (IPO) v období 2014–2020. Proti těmto sérotypům působí nové vícevalentní pneumokokové konjugované vakcíny (PCV). Sérotypy 8 a 22F jsou co do četnosti na předních pozicích v působení IPO v České republice v recentním období. České izoláty *S. pneumoniae* byly porovnány se zahraničními izoláty ze stejného období a stejných sérotypů, které byly dostupné v mezinárodní databázi PubMLST.

Materiál a metody: Pro studii byly vybrány izoláty z IPO v České republice z období 2014–2020 sérotypu 8 (22 izolátů) a sérotypu 22F (21 izolátů). Byla zvolena metoda celogenomová sekvenace (WGS), analýzy a vzájemné porovnání genomů proběhlo s využitím mezinárodní databáze PubMLST.

Výsledky: Většina studovaných českých izolátů sérotypu 8 patří do dvou hlavních subpopulací. První subpopulace, ve které dominují izoláty ST-53, je součástí vysoce početné skupiny geneticky blízkých evropských i neevropských izolátů, které jsou na fylogenetické síti zřetelně odděleny. Druhá subpopulace českých izolátů sérotypu 8 (s dominancí ST-404) je geneticky variabilnější a na celosvětové fylogenetické síti tvoří samostatnou linii, v níž se nevyskytují žádné jiné evropské izoláty. České izoláty sérotypu 22F představují homogenní populaci s naprostou převahou ST-433, která patří do geneticky blízké evropské populace.

Závěr: Analýza WGS dat izolátů z IPO sérotypů 8 a 22F poskytla detailní pohled na vzájemné genetické vztahy českých populací těchto sérotypů. Zároveň také umožnila porovnání českých populací s odpovídajícími populacemi z ostatních evropských i neevropských zemí. Získané výsledky prohlubují znalosti o šíření genetických linií působících IPO v České republice v postvakcinačním období a jsou podkladem ke zhodnocení vhodnosti zavedení nových vícevalentních PCV v České republice.

KLÍČOVÁ SLOVA

Streptococcus pneumoniae – surveillance – celogenomová sekvenace – sérotyp

ABSTRACT

Kozáková J., Vohrnová S., Honskus M., Křížová P.: *Streptococcus pneumoniae* serotypes 8 and 22F causing invasive pneumococcal disease in the Czech Republic in 2014–2020: whole genome sequencing (WGS) analysis

Aim: An analysis is presented of whole genome data of *Streptococcus pneumoniae* serotypes 8 and 22F isolated in the Czech Republic from invasive pneumococcal disease (IPD) in 2014–2020. New multivalent pneumococcal conjugate vaccines (PCVs) are effective against these serotypes. Recently, serotypes 8 and 22F have been among the leading causes of IPD in the Czech Republic. *S. pneumoniae* isolates from the Czech Republic were compared with those of the same serotypes recovered in other countries in the same period and available in the international database PubMLST.

Material and methods: Isolates from IPD of serotypes 8 (22 isolates) and 22F (21 isolates) recovered in the Czech Republic in 2014–2020 were subjected to whole genome sequencing (WGS). The genomes were analysed and compared using the international database PubMLST.

Results: Most of the studied Czech serotype 8 isolates belong to two main subpopulations. The first subpopulation, dominated by ST-53 isolates, is part of a highly abundant group of genetically close European and non-European isolates that are clearly separated on the phylogenetic network. The second subpopulation of Czech serotype 8 isolates (dominated by ST-404) is more genetically variable and forms a separate lineage on the global phylogenetic network, with no other European isolates. Czech isolates of serotype 22F are a homogeneous population with a clear predominance of ST-433, which belongs to a genetically close European population.

Conclusion: The analysis of WGS data of IPD isolates of serotypes 8 and 22F provided a detailed insight into the genetic relationships between the Czech populations of these serotypes. It also allowed comparison of the Czech populations with the matched populations from other European and non-European countries. The obtained results add to the body of knowledge about the spread of genetic lineages causing IPD in the Czech Republic in the post-vaccination period and provide a basis for considering whether the use of the new multivalent PCVs in the Czech Republic would be beneficial.

proLékaře.cz | 10.11.2026

KEYWORDS
Streptococcus pneumoniae – surveillance – whole genome sequencing – serotype

Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2024; 73(2): 84–97
https://doi.org/10.61568/emi/11-6306/20240424/137081

ÚVOD

Invazivní pneumokokové onemocnění (IPO) bylo před zavedením vakcinace jednou z nejčastějších příčin úmrtí na infekční onemocnění. Podle údajů Světové zdravotnické organizace bylo IPO v roce 2008 příčinou 476 000 úmrtí dětí do 5 let věku [1]. Významný pokrok v prevenci IPO znamenaly pneumokokové vakcíny, z nichž jako první byla vyvinuta 23valentní polysacharidová očkovací látka PPV23 (proti sérotypům 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, 1, 5, 7F, 3, 19A, 22F, 33F, 8, 10A, 11A, 12F, 15B, 2, 9N, 17F a 20). Vzhledem k tomu, že polysacharidová pneumokoková vakcína není imunogenní u malých dětí a nevyvolává dlouhodobou protilátkovou odpověď, nebyla tato vakcína zařazena do národních imunizačních programů (NIP). Pozitivní změna nastala s vývojem pneumokokových konjugovaných vakcín (PCV), které jsou imunogenní i u malých dětí a v řadě zemí byly implementovány do NIP. První registrovanou a používanou PCV byla 7valentní očkovací látka PCV7 (proti sérotypům 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F a 23F). V současné době jsou celosvětově registrovány tyto PCV: 10valentní vakcína PCV10 (proti sérotypům 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, 1, 5 a 7F), 13valentní očkovací látka PCV13 (proti sérotypům 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, 1, 5, 7F, 3, 6A a 19A), 15valentní očkovací látka PCV15 (proti sérotypům 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, 1, 5, 7F, 3, 6A, 19A, 22F a 33F) a 20valentní PCV20 (proti sérotypům 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, 1, 5, 7F, 3, 6A, 19A, 22F, 33F, 8, 10A, 11A, 12F a 15B).

V České republice je od roku 2010 doporučeno a hrazeno očkování malých dětí ve věku od 2 měsíců do 5 let očkovacími látkami PCV10 a PCV13. Od roku 2018 je očkování vakcínou PCV13 bez poplatku rozšířeno pro pacienty se zdravotní indikací a pro věkovou skupinu seniorů 65 roků a starších. V prosinci roku 2022 byla do očkovacího kalendáře doplněna očkovací látka PCV15 pro děti od 6 měsíců věku. Dospělým nad 65 let a pacientům se zdravotní indikací je od prosince 2022 možné aplikovat PCV15 v kombinaci s PPV23 nebo samostatně PCV20.

V řadě zemí včetně České republiky byla prokázána vysoká účinnost vakcinačních programů, což vedlo ke snížení nemocnosti a smrtnosti IPO zejména ve věkové skupině dětí do 5 let věku [2, 3, 4, 5, 6]. Přesto v současném postvakcinačním období přetrvávají ve zvýšené frekvenci některé sérotypy *Streptococcus pneumoniae* i přes jejich přítomnost v soudobě používaných vakcínách PCV. V mnoha zemích včetně České republiky byl zaznamenán také vzestup IPO způsobených sérotypy, které v současných PCV zahrnuty nejsou (non-vaccine serotypes). Proces, při kterém dochází ke změnám četností sérotypů v populaci, se označuje jako serotype replacement [6, 7, 8, 9, 10]. Je proto nezbytné řešit otázku, nakolik expanzivní jsou populace jednotlivých sérotypů *S. pneumoniae*, zhodnotit účinnost stávajících PCV a případně nutnost zavedení nových vakcín. Metoda sekvenace celého genomu (Whole genome sequencing, WGS) je v současné době nejcitlivější a nejúčinnější metodou pro studium populací infekčních agens [11, 12, 13]. Tato metoda poskytuje detailní informace o šíření genetických linií, které mohou působit IPO v postvakcinačním období.

Předkládáme analýzu WGS dat *S. pneumoniae* sérotypů 8 a 22F izolovaných v České republice z IPO v období 2014–2020, proti nimž působí nové vícevalentní PCV. Tyto sérotypy jsou co do četnosti na předních pozicích mezi sérotypy, které v České republice IPO vyvolávají. Celogenomová data českých izolátů *S. pneumoniae* byla srovnána se zahraničními izoláty ze stejného období a stejných sérotypů, které byly dostupné v mezinárodní databázi PubMLST.

MATERIÁL A METODY

Surveillance IPO v České republice

Od roku 2008 je v České republice zaveden program surveillance IPO. Všechny případy IPO odpovídají platné evropské i české definici případu IPO: závažné onemocnění s laboratorním průkazem pneumokoka z klinického materiálu, který je za normálních podmínek sterilní [14]. Analýzy dat surveillance IPO v České republice jsou každoročně publikovány ve Zprávách Centra epidemiologie a mikrobiologie [15].

Izoláty *Streptococcus pneumoniae*

Národní referenční laboratoř pro streptokokové nákazy (NRL) získává izoláty z IPO z mikrobiologických laboratoří celé České republiky k ověření a další charakterizaci. Izoláty jsou uchovány ve sbírce kultur NRL. U izolátů *S. pneumoniae* jsou rutinně prováděny klasické i molekulární metody: sérotypizace, typizace metodou RT-PCR, klasická multilokusová sekvenace (MLST) a izoláty jsou dostupné i pro WGS analýzu. Pro prezentovanou studii byly vybrány izoláty z IPO v České republice z období 2014–2020: sérotyp 8 (22 izolátů) a sérotyp 22F (21 izolátů).

proLékaře.cz | 10.11.2026

Metoda WGS, analýza dat a hlášení do mezinárodních databází

Metoda WGS v NRL byla u izolátů *S. pneumoniae* zavedena v roce 2020 [16] nejdříve s využitím sekvenační platformy na externím pracovišti EMBL (European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg, Německo). V současné době je metoda realizována na platformě Illumina ve Státním zdravotním ústavu díky recentnímu vybavení Centra epidemiologie a mikrobiologie novým přístrojovým vybavením.

K základnímu zpracování WGS dat principem *de novo* assembly je využíván software Velvet *de novo* Assembler. Tento proces je optimalizován skriptem Velvet-Optimiser [17]. Výsledné genomy bakteriálních izolátů jsou následně odeslány do mezinárodní databáze PubMLST, která využívá platformy BIGSdb (Bacterial Isolate Genome Sequence database) [18]. Nahraná celogenomová data českých izolátů *S. pneumoniae* jsou v databázi PubMLST veřejně dostupná pod ID, která jsou uvedena v tabulkách s molekulárními charakteristikami – tabulka 1 a tabulka 2. Díky systému automatického skenování databáze PubMLST jsou u každého genomu označeny známé alelové varianty všech druhově specifických genů, včetně genů multilokusové sekvenační typizace (MLST) [19, 20, 21] a ribozomálních genů (rMLST) [22]. Kombinace alelových variant MLST genů následně stanoví sekvenační typ (ST) a kombinace ribozomálních genů ribozomální sekvenační typ (rST) izolátu. Neznámé alelové varianty jsou skenovány manuálně a následně předloženy kurátorům ke schválení. Po anotaci je těmto alelám přiděleno nové číselné označení a stávají se součástí databáze PubMLST.

Databáze PubMLST zprostředkovává také základní analýzu a vzájemné porovnání genomů pomocí softwaru Genome Comparator [23]. Tato analýza může probíhat na širokém spektru rozlišení a umožňuje i srovnávání vlastních izolátů s izoláty *S. pneumoniae* z celého světa, které jsou na databázi PubMLST dostupné. Pro komplexnější pohled na strukturu české populace *S. pneumoniae* sérotypu 8 byly s využitím databáze PubMLST studované izoláty srovnány se všemi dostupnými zahraničními izoláty, které ke dni 8. 8. 2023 splňovaly následující podmínky: sérotyp 8, kompletní MLST profil, WGS data a rok izolace 2014–2020. Jednalo se celkem o 194 izolátů ze zemí evropských: Velká Británie (n = 69), Skotsko (n = 4), Španělsko (n = 2), Bělorusko (n = 2), Norsko (n = 1), Slovinsko (n = 1) a neevropských: Jihoafrická republika (n = 82), Keňa (n = 13), Indie (n = 4), Nepál (n = 4), Rusko (n = 4), Nový Zéland (n = 3), Malawi (n = 2), Izrael (n = 1), Nigérie (n = 1), Gambie (n = 1). České izoláty sérotypu 22F byly rovněž srovnány s dostupnými zahraničními izoláty v databázi PubMLST. Podmínky: sérotyp 22F, kompletní MLST profil, WGS data a rok izolace 2014-2020 ke dni 8. 8. 2023 splňovalo 104 izolátů z evropských: Velká Británie (n = 37), Island (n = 26), Norsko (n = 2), Bělorusko (n = 1) a neevropských zemí: Jihoafrická republika (n = 9), Keňa (n = 8), Indie (n = 7), Rusko (n = 4), Kanada (n = 2), Austrálie (n = 1), Kambodža (n = 1), Kamerun (n = 1), Nepál (n = 1), Katar (n = 1), Gambie (n = 1), Togo (n = 1), USA (n = 1). Genome Comparator produkuje distanční matice, které jsou založené na počtu a alelické variabilitě všech analyzovaných lokusů u každého z analyzovaných izolátů. Na základně těchto matic jsou poté generovány vlastní fylogenetické sítě softwarem SplitsTree4, který využívá algoritmus NeighborNet [24].

VÝSLEDKY

1. Četnost sérotypů 8 a 22F u IPO v ČR

Sérotyp 8

Sérotyp 8 je zahrnutý v nově doporučené konjugované vakcíně PCV20. Předchozí vakcíny PCV7, PCV10 a PCV13 sérotyp 8 neobsahovaly. Po zavedení doporučeného a hrazeného očkování PCV10 a PCV13 u dětí v roce 2010 došlo ke zvýšení výskytu IPO vyvolaného sérotypem 8. V letech 2014–2020 se sérotyp 8 vyskytoval průměrně u 7,2 % případů IPO – nejméně v roce 2014, kdy vyvolal 2,4 % IPO, a nejvíce v roce 2020, kdy byl zjištěn u 13,4 % případů IPO – obrázek 1. V roce 2020 byl sérotyp 8 v pořadí druhý nejčastější sérotyp způsobující IPO. Smrtnost IPO způsobených *S. pneumoniae* sérotypu 8 byla v letech 2014–2020 průměrně 9,1 %.

Sérotyp 22F

Sérotyp 22F je zahrnutý v nově doporučených vakcínách PCV15 a PCV20. V předchozích vakcínách PCV7, PCV10 a PCV13 sérotyp 22F nebyl obsažen. Po zavedení doporučeného a hrazeného očkování PCV10 a PCV13 u dětí v roce 2010 byl výskyt sérotypu 22F mírně navýšen, nejvíce v letech 2014–2020, kdy byl zjištěn v průměru u 6,4 % případů IPO (viz obr. 1). Smrtnost IPO způsobených sérotypem 22F v letech 2014–2020 byla průměrně 19,4 %.

2. Analýza WGS dat

Sérotyp 8

U 22 izolátů *S. pneumoniae* sérotypu 8 bylo zjištěno 10 různých sekvenačních typů: ST-53 (n = 8), ST-404 (n = 4), ST-1480 (n = 3) a ST-944, ST-1110, ST-2824, ST-3500, ST-14722, ST-14732, ST-15126 (n = 1) a 11 různých ribozomálních sekvenačních typů: rST-12468 (n = 7), rST-12115 (n = 5), rST-137794 (n = 2) a rST-104688, rST-137793, rST-137797, rST-137802, rST-151102, rST-192521, rST-192524, rST-240124 (n = 1) (viz tab. 1).

Fylogenetická síť, která znázorňuje genetické vztahy studovaných českých izolátů sérotypu 8, zřetelně rozděluje většinu z těchto izolátů (n = 19) do dvou geneticky značně odlišných subpopulací – obrázek 2. V první, geneticky homogenní subpopulaci (n = 10) formují izoláty, u kterých dominuje ST-53 a rST-12468, dva klastry. Klastr 1 je tvořen pěti vysoce příbuznými izoláty (682/2017, 692/2017, 732/2017, 139/2018 a 182/2019)

Tabulka 1. Molekulární charakterizace 22 izolátů *S. pneumoniae* sérotypu 8 z invazivního pneumokokového onemocnění (2014–2020, Česká republika)
Table 1. Molecular characteristics of 22 *S. pneumoniae* isolates of serotype 8 from invasive pneumococcal disease (2014–2020, Czech Republic)

Izolát	PubMLST ID	Sérotyp	Pohlaví	Věk (roky)	Věk (měsíce)	Věková skupina	Region	Onemocnění	Materiál	ST	*aroE*	*gdh*	*gki*	*recP*	*spi*	*xpt*	*ddl*	rST
424/2014	182106	**8**	F	3	-	1–4	CZ031	meningitida	likvor	**404**	7	9	15	11	42	1	70	**12115**
428/2016	212599	**8**	M	67	-	65+	CZ080	meningitida	jiný	**53**	2	5	1	11	16	3	14	**240124**
78/2017	51322	**8**	M	61	-	40–64	CZ052	sepse	krev	**404**	7	9	15	11	42	1	70	**137793**
134/2017	51323	**8**	F	66	-	65+	CZ052	pneumonie	krev	**404**	7	9	15	11	42	1	70	**12115**
207/2017	51326	**8**	F	39	-	20–39	CZ072	pneumonie	krev	**1480**	7	9	15	11	93	1	70	**137794**
429/2017	51330	**8**	F	25	-	20–39	CZ032	pneumonie	krev	**53**	2	5	1	11	16	3	14	**12468**
464/2017	51332	**8**	F	70	-	65+	CZ020	pneumonie	krev	**53**	2	5	1	11	16	3	14	**12468**
682/2017	51334	**8**	M	61	-	40–64	CZ032	sepse	krev	**1110**	2	5	1	11	16	135	14	**12468**
692/2017	51335	**8**	F	77	-	65+	CZ031	pneumonie	krev	**53**	2	5	1	11	16	3	14	**12468**
732/2017	51338	**8**	M	49	-	40–64	CZ052	pneumonie	krev	**53**	2	5	1	11	16	3	14	**137797**
139/2018	129773	**8**	F	18	-	15–19	CZ010	pneumonie	krev	**53**	2	5	1	11	16	3	14	**12468**
473/2018	100944	**8**	F	-	7	0	CZ010	pneumonie	krev	**15126**	2	5	1	11	16	891	14	**12468**
642/2018	51349	**8**	M	32	-	20–39	CZ010	meningitida	likvor	**1480**	7	9	15	11	93	1	70	**137794**
32/2019	129789	**8**	M	67	-	65+	CZ032	pneumonie	krev	**53**	2	5	1	11	16	3	14	**12468**
49/2019	51352	**8**	M	32	-	20–39	CZ032	sepse	krev	**944**	2	5	14	1	6	1	29	**137802**
82/2019	129794	**8**	M	7	-	5–9	CZ020	pneumonie	krev	**14732**	7	9	15	11	42	24	70	**12115**
182/2019	129810	**8**	F	73	-	65+	CZ020	meningitida	krev	**53**	2	5	1	11	16	3	14	**104688**
279/2019	129817	**8**	M	67	-	65+	CZ080	pneumonie	krev	**404**	7	9	15	11	42	1	70	**12115**
287/2019	129818	**8**	M	68	-	65+	CZ032	pneumonie	krev	**14722**	7	9	686	11	42	1	70	**12115**
20/2020	64299	**8**	M	69	-	65+	CZ031	pneumonie	krev	**2824**	10	16	150	1	10	1	6	**192521**
192/2020	64396	**8**	M	72	-	65+	CZ010	pneumonie	krev	**1480**	7	9	15	11	93	1	70	**151102**
221/2020	64418	**8**	M	52	-	40–64	CZ071	sepse	krev	**3500**	15	15	34	16	6	12	262	**192524**

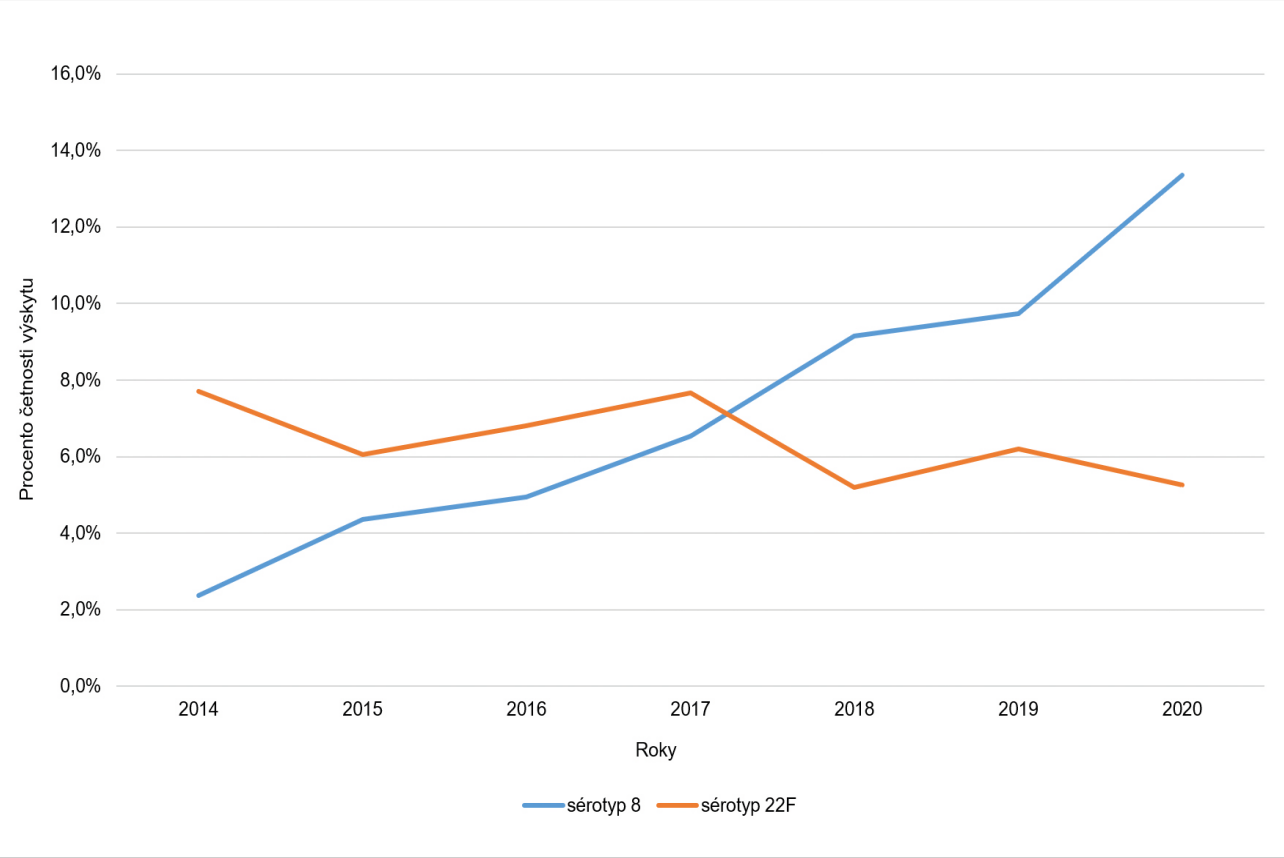
Tabulka 2. Molekulární charakterizace 21 izolátů *S. pneumoniae* sérotypu 22F z invazivního pneumokokového onemocnění (2014–2020, Česká republika)
Table 2. Molecular characteristics of 21 *S. pneumoniae* isolates of serotype 22F from invasive pneumococcal disease (2014–2020, Czech Republic)

Izolát	PubMLST ID	Sérotyp	Pohlaví	Věk (roky)	Věk (měsíce)	Věková skupina	Region	Onemocnění	Materiál	ST	*aroE*	*gdh*	*gki*	*recP*	*spi*	*xpt*	*ddl*	rST
528/2015	212587	**22F**	M	4	-	1–4	CZ080	meningitida	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13404**
24/2016	212588	**22F**	M	61	-	40–64	CZ072	meningitida	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13404**
308/2016	212597	**22F**	F	78	-	65+	CZ064	meningitida	krev	**2025**	88	11	10	1	6	8	1	**240122**
12/2017	51320	**22F**	F	89	-	65+	CZ031	pneumonie	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**137792**
25/2017	51321	**22F**	F	66	-	65+	CZ052	meningitida	likvor	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13413**
161/2017	51325	**22F**	M	43	-	40–64	CZ031	meningitida	likvor	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13420**
451/2017	51331	**22F**	M	70	-	65+	CZ052	sepse	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13420**
695/2017	51336	**22F**	M	86	-	65+	CZ031	pneumonie	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13420**
194/2018	51342	**22F**	M	31	-	20–39	CZ031	pneumonie	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13404**
698/2018	100661	**22F**	F	2	-	1–4	CZ010	meningitida	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13413**
706/2018	51350	**22F**	F	37	-	20–39	CZ020	pneumonie	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**137800**
51/2019	129791	**22F**	F	74	-	65+	CZ032	meningitida	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**137803**
59/2019	129792	**22F**	M	71	-	65+	CZ063	jiné	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13420**
157/2019	129805	**22F**	F	91	-	65+	CZ032	pneumonie	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13420**
170/2019	129808	**22F**	F	73	-	65+	CZ080	jiné	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13404**
255/2019	129815	**22F**	F	86	-	65+	CZ064	pneumonie	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13404**
334/2019	129821	**22F**	F	93	-	65+	CZ031	pneumonie	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13420**
377/2019	63917	**22F**	M	3	-	1–4	CZ063	sepse	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**149769**
83/2020	64328	**22F**	F	79	-	65+	CZ032	sepse	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13413**
121/2020	64349	**22F**	M	88	-	65+	CZ032	pneumonie	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13413**
13/2021	142966	**22F**	M	78	-	65+	CZ080	pneumonie	krev	**433**	1	1	4	1	18	58	17	**13404**

proLékaře.cz | 10.11.2026

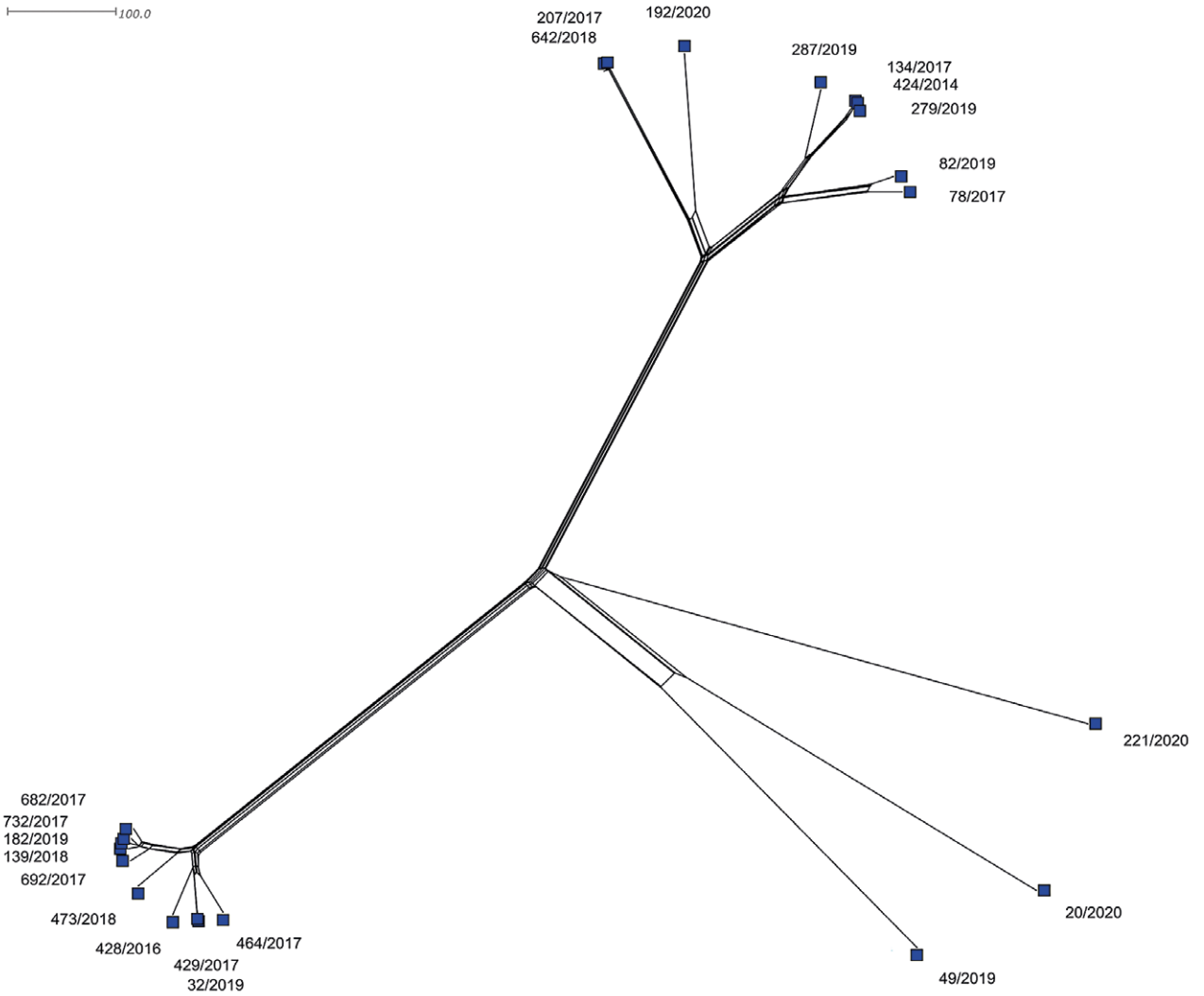
a geneticky vzdálenějším izolátem 473/2018, u kterého byl popsán nový ST-15126 vzniklý jedno-nukleotidovou mutací alely MLST genu *xpt* (nová alelová varianta 891). Odlišný ST byl stanoven také u izolátu 682/2017 (ST-1110) a odlišné ribozomální profily nesly izoláty 182/2019 (rST-104688) a 732/2017 (nově popsaný rST-137797). Klastr 2 tvoří čtyři izoláty ST-53 (428/2016, 429/2017, 464/2017 a 32/2019). U izolátu 428/2016 byla popsána nová alelová varianta 89100 ribozomálního genu *rpmF* a následně nový rST-240124. Druhá subpopulace (n = 9) je geneticky variabilnější a tvoří ji izoláty ST-404 a dalších ST, které jsou od původního ST-404 odvozené. V rámci této subpopulace lze odlišit tři klastry. První odstupuje klastr ST-1480, který je tvořen izolátem 192/2020 (rST-151102) a dvěma téměř identickými izoláty 207/2017 a 642/2018, u kterých byl popsán nový rST-137794. Druhý klastr formují tři vysoce příbuzné izoláty ST-404, rST-12115 (424/2014, 134/2017 a 279/2019) a geneticky vzdálenější izolát 287/2019, u kterého vznikla jedno-nukleotidovou mutací nová alela MLST genu *gki* 686 a v důsledku toho byl popsán i nový ST-14722. Třetí klastr obsahuje pouze dva izoláty – 78/2017 (ST-404), u kterého byl popsán nový rST-137793, a 82/2019, který nesl novou kombinaci popsaných alel MLST genů a definoval tak nový ST-14732. Zbylé 3 izoláty sérotypu 8 nevykazují příbuznost k ani jedné z výše popsaných subpopulací a nízká je i míra jejich příbuznosti vzájemné, což se ukazuje i v molekulárních charakteristikách: 49/2019 (ST-944, rST-137802), 20/2020 (ST-2824, rST-192521), 221/2020 (ST-3500, rST-192524). Všechny tři ribozomální profily byly v databázi PubMLST nově definovány právě podle těchto izolátů.

Z fylogenetické sítě, která srovnává české a zahraniční izoláty je patrné, že subpopulace českých izolátů, ve které dominuje ST-53, je součástí vysoce početné skupiny geneticky blízkých izolátů, která obsahuje linie evropských i neevropských izolátů – obrázek 3. Izoláty 682/2017, 692/2017, 732/2017, 139/2018, 473/2018 a 182/2019 (klastr 1) jsou součástí početné linie, ve které dominují izoláty z Velké Británie – obrázek 4, zatímco české izoláty klastru 2 (428/2016, 429/2017, 464/2017 a 32/2019) tvoří oddělenou linii spolu se třemi izoláty z kontinentální Evropy (Bělorusko, Slovinsko, Španělsko). Izoláty druhé české subpopulace (ST-404) jsou oproti očekávání součástí vzdálené genetické linie, ve které se nevyskytují žádné jiné evropské izoláty (viz obr. 2). Český izolát 20/2020, ST-2824 vykazuje blízkou příbuznost s izolátem z Ruska (ST-2824) a 221/2020, ST-3500 s izolátem z Jihoafrické republiky (ST-3500). Izolát 49/2019 nadále nevykazuje vyšší příbuznost s žádným studovaným izolátem.



Obr. 1. Četnost IPO způsobeného sérotypy 8 a 22F (2014–2020, Česká republika, surveillance data)
Figure 1. Frequency of IPD caused by serotypes 8 and 22F (2014–2020, Czech Republic, surveillance data)

proLékaře.cz | 10.11.2026



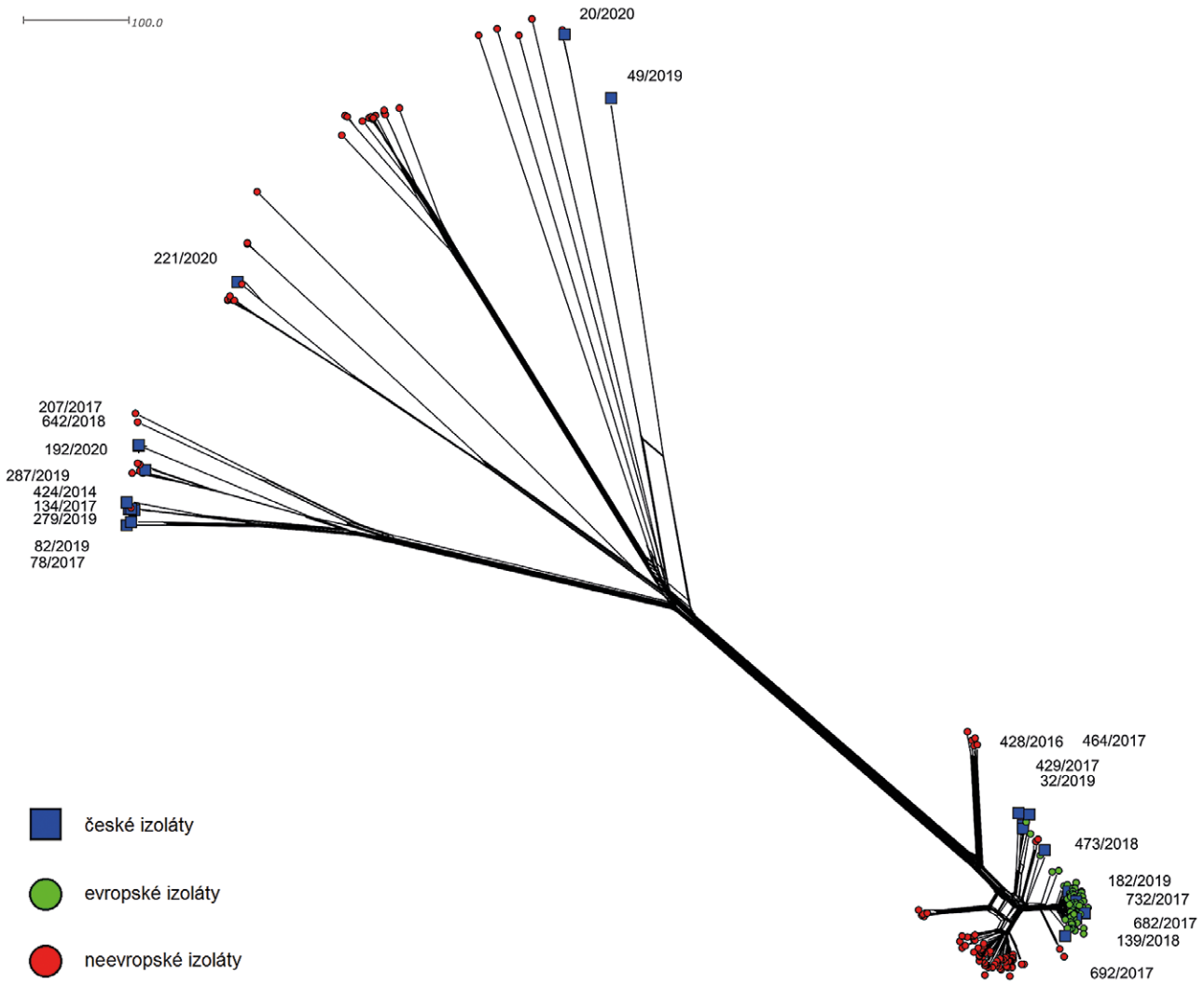
Obr. 2. Vizualizace genetické diverzity 22 izolátů *S. pneumoniae* sérotypu 8 z invazivního pneumokokového onemocnění (2014–2020, Česká republika)
Figure 2. Visualization of genetic diversity of 22 *S. pneumoniae* isolates of serotype 8 from invasive pneumococcal disease (2014–2020, Czech Republic)

Sérotyp 22F

U 21 izolátů *S. pneumoniae* sérotypu 22F byly zjištěny pouze dva sekvenační typy: ST-433 (n = 20) a ST-2025 (n = 1). Vyšší variabilita byla zjištěna u ribozomálních profilů, kterých bylo zjištěno celkem 8 různých: rST-13404 (n = 6), rST-13420 (n = 6), rST-13413 (n = 4) a rST-137792, rST-137800, rST-137803, rST-149769, rST-240122 (n = 1) – viz tabulka 2.

Fylogenetická síť českých izolátů sérotypu 22F rozděluje izoláty ST-433 do dvou oddělených subpopulací, které jsou nerozlišitelné metodou MLST – obrázek 5. Početnější subpopulace (n = 12) obsahuje dva klastry izolátů. V prvním klastru (izoláty 528/2015, 24/2016, 12/2017, 194/2018, 170/2019, 255/2019 a 13/2021) dominuje rST-13404 s výjimkou izolátu 12/2017 (nově popsaný rST-137792), zatímco izoláty druhého klastru (25/2017, 698/2018, 51/2019, 83/2020 a 121/2020) jsou, opět s jednou výjimkou, specifické ribozomálním profilem rST-13413. Zmíněnou výjimkou je izolát 51/2019, u kterého byl popsán nový rST-137803, a který stojí v rámci svého klastru výrazně vzdálen ostatním, což je známkou jeho větších genetických rozdílů. Méně početná subpopulace (n = 8) zahrnuje vysoce příbuzné izoláty (161/2017, 451/2017, 695/2017, 706/2018, 59/2019, 157/2019, 334/2019, 377/2019) s dominantním genotypem ST-433, rST-13420. V rámci izolátů této subpopulace byly zjištěny a v databázi PubMLST registrovány 2 nové ribozomální profily rST-137800 a rST-149769. Izolát 308/2016 (ST-2025) stojí na fylogenetické síti zcela samostatně a nevykazuje ani vzdálenou příbuznost k ostatním izolátům sérotypu 22F. Jeho MLST profil ST-2025 nesdílí s ST-433 ani jednu shodnou alelu a rovněž byl u něj popsán nový rST-240122.

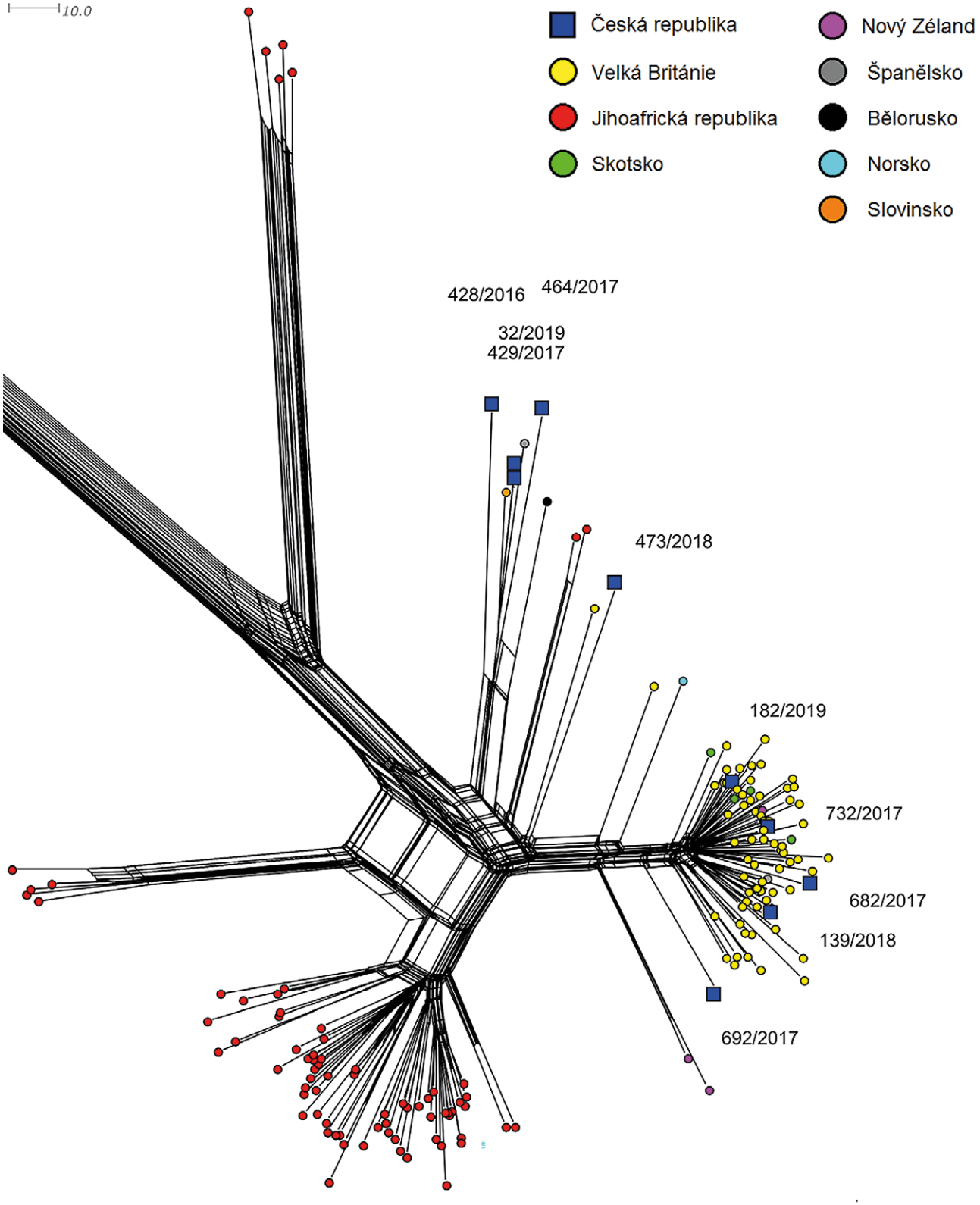
proLékaře.cz | 10.11.2026



Obr. 3. Vizualizace genetické diverzity českých a zahraničních izolátů *S. pneumoniae* sérotypu 8 dostupných v PubMLST databázi za období 2014–2020
Figure 3. Visualization of genetic diversity of *S. pneumoniae* isolates of serotype 8 from the Czech Republic and other countries available in the PubMLST database from 2014–2020

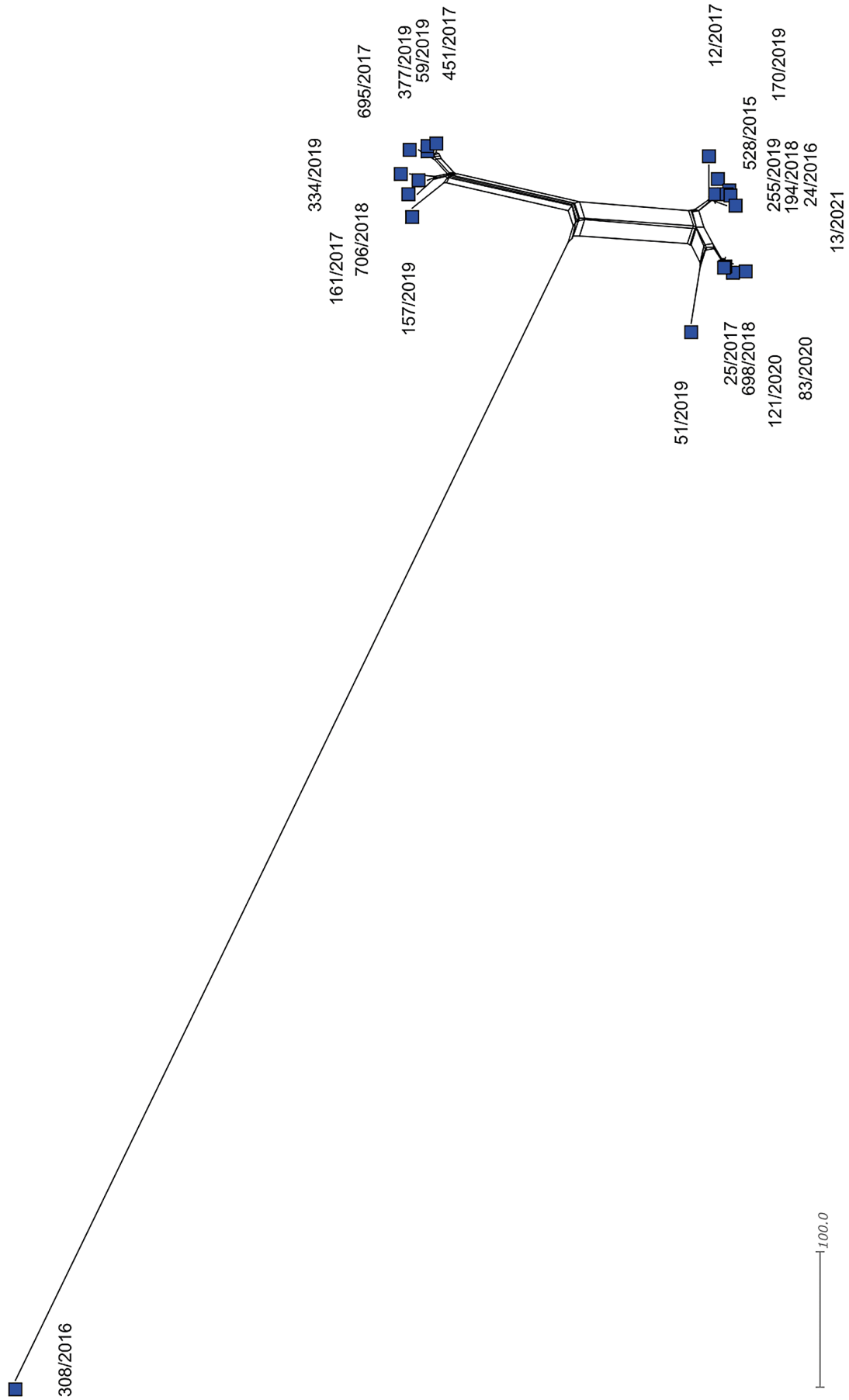
Fylogenetická síť izolátů sérotypu 22F, která srovnává české a zahraniční izoláty, nabízí pohled na početnou skupinu geneticky blízkých, převážně evropských izolátů, ve které se, na rozdíl od sérotypu 8, nevyskytují žádné početnější linie neevropských izolátů – obrázek 6. Ty jsou v tomto případě lokalizovány v několika geneticky značně různorodých liniích a nevykazují žádnou příbuznost k evropské skupině. Jedním z mála evropských izolátů, který se mezi neevropskými liniemi nachází, je český izolát 308/2016, ST-2025, který vykazuje příbuznost s izolátem z Kanady (ST-16352). Všechny ostatní české izoláty jsou součástí velké evropské skupiny. Izoláty početnější české subpopulace klastrují na celosvětové fylogenetické síti ještě výrazněji. Izoláty 25/2017, 698/2018, 83/2020 a 121/2020 (klastr 2) leží mezi izoláty z Velké Británie a Islandu – obrázek 7, zatímco izoláty 528/2015, 24/2016, 12/2017, 194/2018, 170/2019, 255/2019 a 13/2021 (klastr 1) formují spolu s dalšími evropskými i neevropskými izoláty geneticky rozmanitější sesterskou linii. Izolát 51/2019, který byl na české síti zařazen do druhého klastru, leží nyní zcela samostatně, což potvrzuje jeho genetickou specificitu. Méně početná česká subpopulace, která obsahuje 8 vysoce příbuzných izolátů, formuje na fylogenetické síti v rámci skupiny evropských izolátů poměrně geneticky vzdálenou linii, která obsahuje i izoláty z Norska (n = 2), Běloruska (n = 1) a Ruska (n = 1).

proLékaře.cz | 10.11.2026



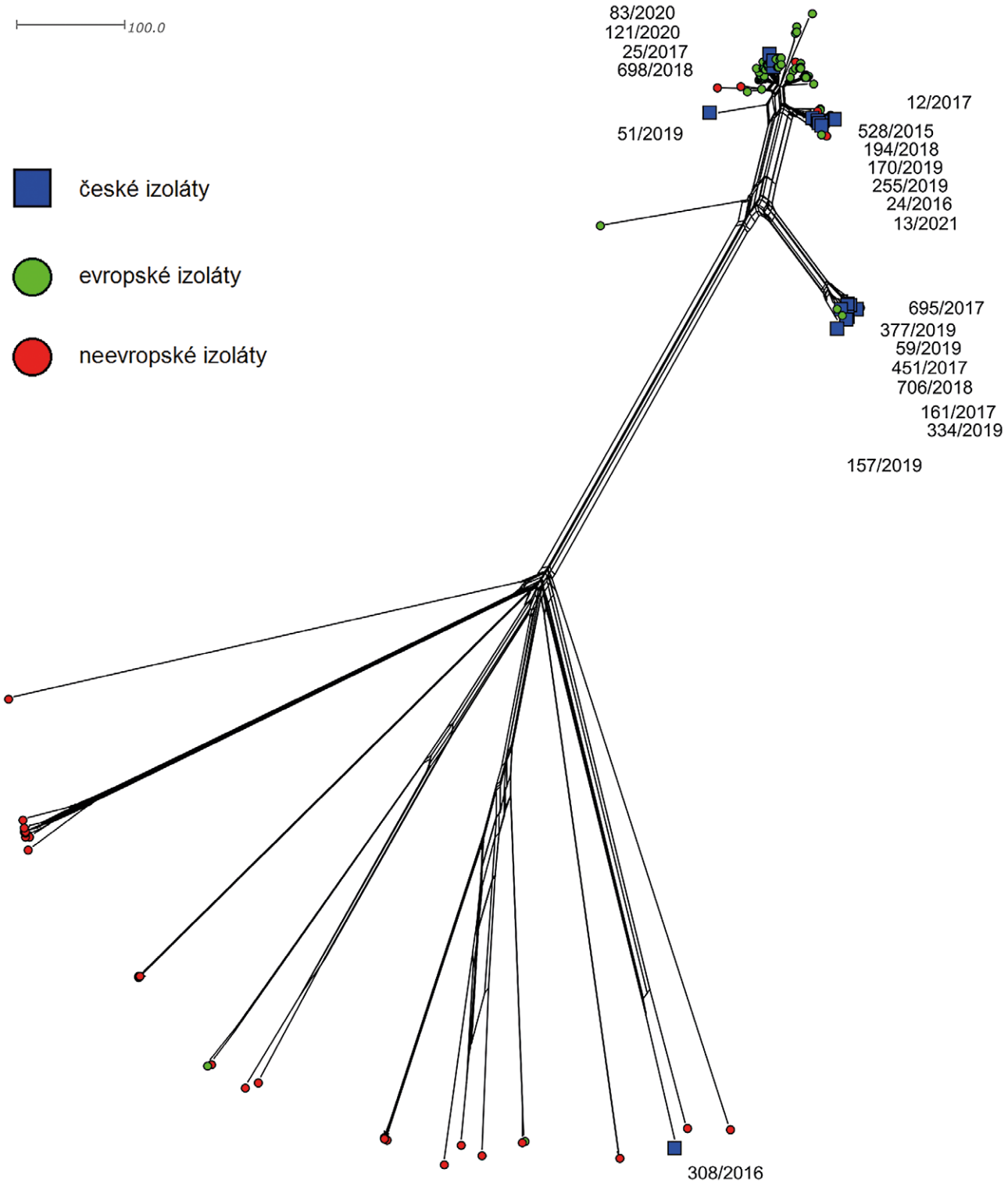
Obr. 4. Detail vizualizace genetické diverzity českých a zahraničních izolátů *S. pneumoniae* sérotypu 8 dostupných v PubMLST databázi za období 2014–2020
Figure 4. Detail of the visualization of genetic diversity of *S. pneumoniae* isolates of serotype 8 from the Czech Republic and other countries available in the PubMLST database from 2014–2020

proLékaře.cz | 10.11.2026



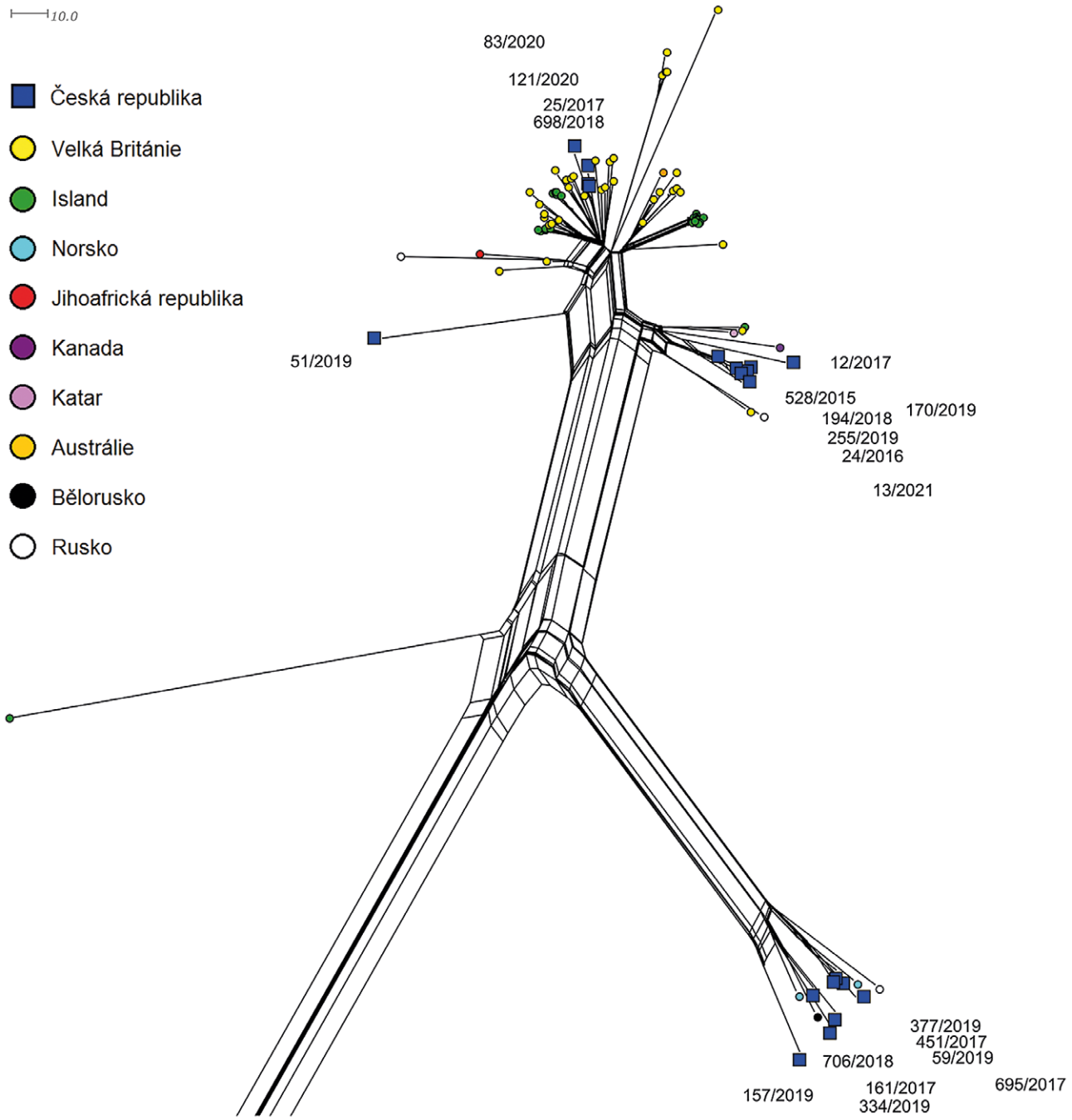
Obr. 5. Vizualizace genetické diverzity 21 izolátů *S. pneumoniae* sérotypu 22F z invazivního pneumokokového onemocnění (2014–2020, Česká republika)
Figure 5. Visualization of genetic diversity of 21 *S. pneumoniae* isolates of serotype 22F from invasive pneumococcal disease (2014–2020, Czech Republic)

proLékaře.cz | 10.11.2026



Obr. 6. Vizualizace genetické diverzity českých a zahraničních izolátů *S. pneumoniae* sérotypu 22F dostupných v PubMLST databázi za období 2014–2020
Figure 6. Visualization of genetic diversity of 21 *S. pneumoniae* isolates of serotype 22F from the Czech Republic and other countries available in the PubMLST database from 2014–2020

proLékaře.cz | 10.11.2026



Obr. 7. Detail vizualizace genetické diverzity českých a zahraničních izolátů *S. pneumoniae* sérotypu 22F dostupných v PubMLST databázi za období 2014–2020
Figure 7. Detail of the visualization of genetic diversity of *S. pneumoniae* isolates of serotype 22F from the Czech Republic and other countries available in the PubMLST database from 2014–2020

DISKUSE

Většina studovaných českých izolátů sérotypu 8 z let 2014–2020 patří do dvou hlavních subpopulací. První subpopulace, ve které dominují izoláty ST-53, je součástí vysoce početné skupiny geneticky blízkých evropských i neevropských izolátů, které jsou na fylogenetické síti zřetelně odděleny. ST-53 jakožto stabilně dominantní sekvenační typ sérotypu 8 byl zjištěn i ve Španělsku [25, 26] a Dánsku, kde byla stejně jako v České republice se zavedením PCV13 zaznamenána zvýšená incidence IPO způsobených sérotypem 8 [27]. V dánské studii nebyly prokázány žádné významné genetické změny, které by vysvětlovaly zvýšenou úspěšnost sérotypu 8 v konkurenci ostatních sérotypů. Druhá subpopulace českých izolátů sérotypu 8 (ST-404) je

proLékaře.cz | 10.11.2026

geneticky variabilnější a na celosvětové fylogenetické síti tvoří samostatnou linii. V této linii se nevyskytují žádné jiné evropské izoláty, přestože ST-404 je uváděn v publikacích ze zemí neevropských [28, 29, 30] i evropských [26, 27, 31, 32]. Důvodem je tedy fakt, že databáze PubMLST v současné době neobsahuje celogenomové izoláty ST-404 z evropských zemí k porovnání.

S výjimkou jednoho izolátu patří všechny studované české izoláty sérotypu 22F k ST-433. Dominanci ST-433 v rámci sérotypu 22F lze pozorovat v celé řadě dalších zemí: Španělsku [33], Portugalsku [34], Velké Británii [35], Japonsku [36], USA [37, 38] a Kanadě [39], kde byl po zavedení PCV13 zaznamenán pokles IPO způsobených vakcinačními sérotypy a zároveň vzestup IPO způsobených sérotypy, které vakcína nepokrývá (non-PCV13) s převahou sérotypu 22F. Na celosvětové fylogenetické síti jsou české izoláty součástí velké homogenní populace ST-433. Toto zjištění rovněž koresponduje s publikovanými výsledky [33, 39]. Dominance a homogenita sekvenačního typu ST-433 zřejmě souvisí s řadou specifik v jeho genomu, které výrazně ovlivňují jeho schopnost kolonizace i virulenci [40].

ZÁVĚR

V recentním období byl v České republice zaznamenán zvýšený výskyt IPO způsobených sérotypy 8 a 22F. Tyto sérotypy jsou zahrnuty v nově vyvinutých pneumokokových konjugovaných vakcínách (PCV15 a PCV20). Analýza dat WGS izolátů z IPO sérotypů 8 a 22F poskytuje detailní pohled na vzájemné genetické vztahy českých populací izolátů *S. pneumoniae* těchto sérotypů. Zároveň také umožňuje tyto české populace porovnat s odpovídajícími populacemi izolátů z jiných zemí. České izoláty sérotypu 8 jsou rozděleny do dvou subpopulací, z nichž první (s dominancí ST-53) je součástí vysoce početné skupiny geneticky blízkých evropských i neevropských izolátů, zatímco druhá subpopulace (s dominancí ST-404) je součástí vzdálené genetické linie, v níž se nevyskytují kromě českých žádné jiné evropské izoláty. České izoláty sérotypu 22F představují homogenní populaci s naprostou převahou ST-433, která patří do geneticky blízké evropské populace. Získané výsledky prohlubují znalosti o šíření genetických linií *S. pneumoniae* působících IPO v České republice v postvakcinačním období a jsou podkladem ke zhodnocení vhodnosti zavedení nových vícevalentních PCV v České republice.

LITERATURA

1. WHO. Pneumococcal vaccines WHO position paper – 2012. *Wkly Epidemiol Rec,* 2012;87(14):129–144.
2. De Wals P, Lefebvre B, Markowski F, et al. Impact of 2+1 pneumococcal conjugate vaccine program in the province of Quebec, Canada. *Vaccine,* 2014;32(13):1501–1506. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.11.028.
3. D'Ancona F, Caporali MG, Del Manso M, et al. Invasive pneumococcal disease in children and adults in seven Italian regions after the introduction of the conjugate vaccine, 2008–2014. *Epidemiol Prev,* 2015;39(4):134–138.
4. Waight PA, Andrews NJ, Ladhani S, et al. Effect of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on invasive pneumococcal disease in England and Wales 4 years after its introduction: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis,* 2015;15(5):535–543. DOI: 10.1016/S1473-3099(15)70044-7.
5. Savulescu C, Křížová P, Lepoutre A, et al. Effect of high-valency pneumococcal conjugate vaccines on invasive pneumococcal disease in children in SpIDnet countries: an observational multicentre study. *Lancet Respir Med,* 2017;5(8):648–656. DOI: 10.1016/S2213-2600(17)30110-8.
6. Kozáková J, Křížová P, Malý M. Impact of pneumococcal conjugate vaccine on invasive pneumococcal disease in children under 5 years of age in the Czech Republic. *PLoS One,* 2021;16(2):e0247862. DOI: 10.1371/journal.pone.0247862.
7. Feikin DR, Kagucia EW, Loo JD, et al. Serotype-Specific Changes in Invasive Pneumococcal Disease after Pneumococcal Conjugate Vaccine Introduction: A Pooled Analysis of Multiple Surveillance Sites. *PLoS Med,* 2013;10(9):e1001517. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001517.
8. Slotved HC, Dalby T, Harboe ZB, et al. The incidence of invasive pneumococcal serotype 3 disease in the Danish population is not reduced by PCV-13 vaccination. *Heliyon,* 2016;2(11):e00198. DOI: 10.1016/j.heliyon.2016.e00198.
9. Principi N, Di Cara G, Bizzarri I, et al. Prevention of invasive pneumococcal disease: Problems emerged after some years of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine use. *Curr Infect Dis Rep,* 2018;20(1):1. DOI: 10.1007/s11908-018-0607-z.
10. Andrews N, Kent A, Amin-Chowdhury Z, et al. Effectiveness of the seven-valent and thirteen-valent pneumococcal conjugate vaccines in England: The indirect cohort design, 2006-2018. *Vaccine,* 2019;37(32):4491–4498. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.06.071.
11. Didelot X, Walker AS, Peto TE, et al. Within-host evolution of bacterial pathogens. *Nat Rev Microbiol,* 2016;14(3):150–162. DOI: 10.1038/nrmicro.2015.13.
12. Gladstone RA, Lo SW, Lees JA, et al. International genomic definition of pneumococcal lineages, to contextualise disease, antibiotic resistance and vaccine impact. *EBioMedicine,* 2019;43:338–346. DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.04.021.
13. Bentley SD, Lo SW. Global genomic pathogen surveillance to inform vaccine strategies: a decade-long expedition in pneumococcal genomics. *Genome Medicine,* 2021;13(84). DOI: 10.1186/s13073-021-00901-2.
14. Vyhláška č. 275/2010 Sb., kterou se mění vyhláška č. 473/2008 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce. Příloha č. 21 invazivní pneumokoková onemocnění. Dostupné na www: https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2010-275.
15. Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie. Dostupné na www: https://szu.cz/publikace-szu/casopisy-v-szu/zpravy-centra-epidemiologie-a-mikrobiologie/.
16. Kozáková J, Honskus M, Okonji Z. Implementace a využití metody sekvenace celého genomu (WGS) v surveillance invazivního pneumokokového onemocnění, Česká republika, 2017–2019. *Epidemiol Mikrobiol Imunol,* 2020;69(3):134–141.
17. Zerbino DR. Using the Velvet *de novo* assembler for short-read sequencing technologies. *Curr Protoc Bioinformatics,* 2010;11(5):1–12. DOI: 10.1002/0471250953.bi1105s31.
18. Jolley KA, Bray JE, Maiden MCJ. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res,* 2018;3:124. DOI: 10.12688/wellcomeopenres.14826.1.
19. Maiden MCJ, Bygraves JA, Feil E, et al. Multilocus sequence typing: A portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 1998;95(6):3140–3145. DOI: 10.1073/pnas.95.6.3140.
20. Enright MC, Spratt BG. A multilocus sequence typing scheme for *Streptococcus pneumoniae*: identification of clones associated with serious invasive disease. *Microbiology,* 1998;144(11):3049–3060. DOI: 10.1099/00221287-144-11-3049.
21. Jolley KA, Chan MS, Maiden MC. MlstdbNet – distributed multi-locus sequence typing (MLST) databases. *BMC Bioinformatics,* 2004;5:86. DOI: 10.1186/1471-2105-5-86. PMID: 15230973.

proLékaře.cz | 10.11.2026

22. Jolley KA, Bliss CM, Bennett JS, et al. Ribosomal multilocus sequence typing: universal characterization of bacteria from domain to strain. *Microbiology*, 2012;158(4):1005–1015. DOI: 10.1099/mic.0.055459-0.
23. Jolley KA, Maiden MC. BIGSdb: Scalable analysis of bacterial genome variation at the population level. *BMC Bioinformatics,* 2010;11:595. DOI: 10.1186/1471-2105-11-595.
24. Huson DH. SplitsTree: analyzing and visualizing evolutionary data. *Bioinformatics,* 1998;14(1):68–73. DOI: 10.1093/bioinformatics/14.1.68.
25. Sanz JC, Rodríguez-Avial I, Ríos E, et al. Increase of serotype 8, ST53 clone, as the prevalent strain of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive disease in Madrid, Spain (2012–2015). *Enferm Infecc Microbiol Clin,* 2020;38(3):105–110. DOI: 10.1016/j.eimc.2019.05.006.
26. González-Díaz A, Berbel D, Ercibengoa M, et al. Genomic features of predominant non-PCV13 serotypes responsible for adult invasive pneumococcal disease in Spain. *J Antimicrob Chemother,* 2022;77(9):2389–2398. DOI: 10.1093/jac/dkac199.
27. Hansen CB, Fuursted K, Valentiner-Branth P, et al. Molecular characterization and epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* serotype 8 in Denmark. *BMC Infect Dis,* 2021;21(1):421. DOI: 10.1186/s12879-021-06103-w.
28. Caierão J, Hawkins P, Sant'anna FH, et al. Serotypes and genotypes of invasive *Streptococcus pneumoniae* before and after PCV10 implementation in southern Brazil. *PLoS One,* 2014;9(10):e111129. DOI: 10.1371/journal.pone.0111129.
29. Miernyk KM, Bulkow LR, Case SL, et al. Population structure of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates among Alaskan children in the conjugate vaccine era, 2001 to 2013. *Diagn Microbiol Infect Dis,* 2016;86(2):224–230. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2016.07.004.
30. Golden AR, Adam HJ, Karlowsky JA, et al. Molecular characterization of predominant *Streptococcus pneumoniae* serotypes causing invasive infections in Canada: the SAVE study, 2011–15. *J Antimicrob Chemother,* 2018;73(suppl_7):vii20–vii31. DOI: 10.1093/jac/dky157.
31. Serrano I, Melo-Cristino J, Carriço JA, et al. Characterization of the genetic lineages responsible for pneumococcal invasive disease in Portugal. *J Clin Microbiol,* 2005;43(4):1706–1715. DOI: 10.1128/JCM.43.4.1706-1715.2005.
32. Linkevicius M, Cristea V, Siira L, et al. Outbreak of invasive pneumococcal disease among shipyard workers, Turku, Finland, May to November 2019. *Euro Surveill,* 2019;24(49):1900681. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.49.1900681.
33. Sempere J, de Miguel S, González-Camacho F, et al. Clinical Relevance and Molecular Pathogenesis of the Emerging Serotypes 22F and 33F of *Streptococcus pneumoniae* in Spain. *Front Microbiol*, 2020;11:309. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00309.
34. Horácio AN, Silva-Costa C, Diamantino-Miranda J, et al. Population Structure of *Streptococcus pneumoniae* Causing Invasive Disease in Adults in Portugal before PCV13 Availability for Adults: 2008–2011. *PLoS One,* 2016;11(5):e0153602. DOI: 10.1371/journal.pone.0153602.
35. Pichon B, Ladhani SN, Slack MP, et al. Changes in molecular epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* causing meningitis following introduction of pneumococcal conjugate vaccination in England and Wales. *J Clin Microbiol,* 2013;51(3):820–827. DOI: 10.1128/JCM.01917-12.
36. Nakano S, Fujisawa T, Ito Y, et al. Serotypes, antimicrobial susceptibility, and molecular epidemiology of invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates in paediatric patients after the introduction of 13-valent conjugate vaccine in a nationwide surveillance study conducted in Japan in 2012–2014. *Vaccine,* 2016;34(1):67–76. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.11.015.
37. Chang Q, Stevenson AE, Croucher NJ, et al. Stability of the pneumococcal population structure in Massachusetts as PCV13 was introduced. *BMC Infect Dis,* 2015;15:68. DOI: 10.1186/s12879-015-0797-z.
38. Metcalf BJ, Gertz RE Jr, Gladstone RA, et al. Strain features and distributions in pneumococci from children with invasive disease before and after 13-valent conjugate vaccine implementation in the USA. *Clin Microbiol Infect,* 2016;22(1):60.e9–60.e29. DOI: 10.1016/j.cmi.2015.08.027.
39. Demczuk WHB, Martin I, Hoang L, et al. Phylogenetic analysis of emergent *Streptococcus pneumoniae* serotype 22F causing invasive pneumococcal disease using whole genome sequencing. *PLoS One,* 2017;12(5):e0178040. DOI: 10.1371/journal.pone.0178040.
40. Cleary DW, Devine VT, Jefferies JM, et al. Comparative Genomics of Carriage and Disease Isolates of *Streptococcus pneumoniae* Serotype 22F Reveals Lineage-Specific Divergence and Niche Adaptation. *Genome Biol Evol,* 2016;8(4):1243–1251. DOI: 10.1093/gbe/evw066.

Podpora projektu
Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU22-09-00433.

Do redakce došlo dne 2. 1. 2024.

Adresa pro korespondenci:
MUDr. Jana Kozáková
SZÚ Praha
Šrobárova 49/48
100 00 Praha 10
e-mail: jana.kozakova@szu.cz