Epidemiologie 4-09 13.11.2009 10:15 Str. 188
proLékaře.cz | 17.12.2026

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. 58, 2009, č. 4, s. 188–196

Studium hypervirulentních komplexů *Neisseria meningitidis* metodami molekulární biologie a možnosti prevence jejich výskytu v České republice vakcinací

Křížová P., Kalmusová J., Musílek M.

Národní referenční laboratoř pro meningokokové nákazy, Stání zdravotní ústav, Praha

Souhrn

Je prezentována stručná zpráva o výsledcích řešení projektu IGA MZ ČR, kterému byla udělena Cena ministra zdravotnictví České republiky za lékařský výzkum za rok 2008 (http://www.mzcr.cz/Odbornik/Pages/816-udeleni-ceny-ministra-zdravotnictvi-pro-rok-2008 html). Oborovými komisemi Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví České republiky bylo doporučeno 16 kandidátů k udělení této ceny, vědecká rada IGA MZ ČR vybrala k jejímu udělení 5 projektů. Na prvním místě se umístil projekt řešený ve Státním zdravotním ústavu: Studium hypervirulentních komplexů *Neisseria meningitidis* metodami molekulární biologie a možnosti prevence jejich výskytu v České republice vakcinací. Řešitel projektu: MUDr. Pavla Křížová, CSc., odborní spolupracovníci: MUDr. Jitka Kalmusová, RNDr. Martin Musílek, Ph.D. Registrační číslo: 1A/8688-3, doba řešení: 2005 – 2007. Ceny udělil ministr zdravotnictví MUDr. Tomáš Julínek, MBA dne 15.12.2008 u příležitosti výročí narození J.E.Purkyně.

Summary

Study of Hypervirulent Complexes of *Neisseria meningitidis* by Methods of Molecular Biology and Possibility of their Prevention in the Czech Republic by Vaccination

A brief report is presented of the results of the Project of the Internal Grant Agency of the Ministry of Health of the Czech Republic that received the Medical Research Award 2008 from the Minister of Health of the Czech Republic (http://www.mzcr.cz/Odbornik/Pages/816-udeleni-ceny-ministra-zdravotnictvi-pro-rok-2008.html). The Science Council of the Internal Grant Agency of the Ministry of Health of the Czech Republic selected 5 award winners of 16 candidate projects recommended by the Specialty Commissions of the Internal Grant Agency. The winning project: Study of hypervirulent complexes of *Neisseria meningitidis* by molecular biological methods and preventive potential of vaccination against these complexes in the Czech Republic. Principal investigator: Pavla Křížová, MD, PhD, co-investigators: Jitka Kalmusová, MD, Martin Musílek, MSc, PhD, registration No: 1A/8688-3 and completion period: 2005 – 2007. The award was received from Tomáš Julínek, MD, MBA, Minister of Health, on December 15, 2008 on the occasion of the anniversary of J.E.Purkyně's birth.

Anotované cíle projektu

1. Studium aktuálních hypervirulentních komplexů *N. meningitidis* v České republice metodami molekulární biologie.

2. Analýza dlouhodobých trendů výskytu hypervirulentních komplexů *N. meningitidis* v České republice.

3. Doporučení vakcinační strategie odpovídající aktuálnímu výskytu hypervirulentních komplexů v České republice.

4. Srovnání výskytu hypervirulentních komplexů *N. meningitidis* v České republice a ve světě.

5. Poskytování MLST dat do celosvětové MLST databáze.

Materiál a metodika

Metodiky

Hlavní metodou použitou pro řešení projektu byla v souladu s plánem multilokusová sekvenční typizace (MLST), která je používána

proLékaře.cz | 17.12.2026

v řešitelské laboratoři a je mezinárodně standardizovaná [http://pubmlst.org/neisseria/]. Určení sekvenčních typů (ST) metodou MLST užívá fragmenty následujících sedmi genů: *abcZ*, *adk*, *aroE*, *fumC*, *gdh*, *pdhC*, *pgm*. Pro PCR amplifikaci fragmentů těchto genů byly použity primery prezentované na MLST webové stránce [http://pubmlst.org/ neisseria/]. Primery byly připraveny v GENERI BIOTECH, ČR. Všechny PCR fragmenty byly sekvenovány ABI PRISM BigDye terminatorem v3.1 (Applied Biosystems, Warrington, UK). Terminační reakce byla provedena sekvenační technikou v souladu s protokolem výrobce. Sekvenční reakce byly analyzovány na automatickém DNA sekvenátoru ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems, Warrington, UK). Sekvenční data byla určena pomocí LASERGENE software (DNASTAR, Madison, Wisconsin). Porovnáním sekvenčních dat s celosvětovou MLST databází [http://pubmlst.org/neisseria/] byly určeny jednotlivé genetické lokusy (alely) a jejich kombinací sekvenční typy (ST). Klonální analýza sekvenčních dat metodou BURST umožnila určit, zda zjištěný ST náleží do sekvenčního klonálního komplexu. Centrální MLST databáze rovněž umožňuje zjištění příslušnosti do hypervirulentního klonálního komplexu.

Dále byla k molekulární charakterizaci izolátů použita metoda sekvenace porinů A (PorA sequencing), která je rovněž mezinárodně standardizovaná [http://neisseria.org/nm/typing/]. Tato metoda umožňuje 100% určení subtypů, které byly u českých izolátů klasickou metodou (celobuněčná ELISA s použitím monoklonálních protilátek) v 30 – 40 % netypovatelné.

Obě metody (MLST a PorA sekvenace) poskytují mezinárodně srovnatelné výsledky a umožňují provádění globální celosvětové epidemiologie. Řešitelské pracoviště se úspěšně účastní mezinárodní kontroly kvality (External Quality Assessment, EQA) kterou pravidelně organizuje EMGM (European Monitoring Group on Meningococci). Obě metody má řešitelské pracoviště akreditované Českým institutem pro akreditaci (ČIA).

Další dvě metody molekulární charakterizace izolátů *N. meningitidis* byly zavedeny v průběhu řešení projektu navíc, ve srovnání s původním plánem:

- FetA sekvenace [http://neisseria.org/nm/typing/feta], umožňující charakterizaci meningokokového imunogenního proteinu zevní membrány FetA, který je složkou vakcín;
- PenA sekvenace [http://neisseria.org/nm/typing/penABlast], umožňující detekci alterace penA genu kódujícího penicilin binding protein 2 (PBP2) u meningokoků s redukovanou citlivostí vůči penicilinu.

Izoláty *Neisseria meningitidis*

Řešitelská laboratoř je Národní referenční laboratoří (NRL) pro meningokokové nákazy a získává z laboratoří klinické mikrobiologie i z laboratoří zdravotních ústavů izoláty *N. meningitidis* od pacientů s invazivním i neinvazivním meningokokovým onemocněním, od osob v kontaktu s pacienty i od zdravých nosičů. V souladu s plánem byly molekulárními metodami (MLST a PorA sekvenace) studovány všechny izoláty z invazivního meningokokového onemocnění a od jejich kontaktů zaslané do řešitelské laboratoře v období 2005-2007 (326). Dále byly metodou MLST retrospektivně dotypovány izoláty z invazivního meningokokového onemocnění od roku 1993, čímž byl dosažen unikátně vysoký počet izolátů z invazivního onemocnění určených touto metodou (1116).

Výsledky

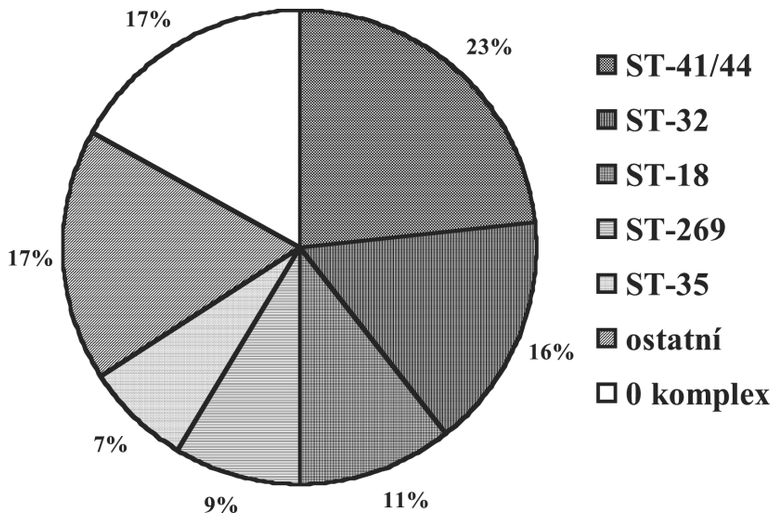
1. Studium aktuálních hypervirulentních komplexů *N. meningitidis* v České republice

Díky řešení tohoto projektu byly roky 2005 – 2007 první, kdy se podařilo metodami MLST a PenA sekvenace prospektivně studovat všechny izoláty z invazivního meningokokového onemocnění zaslané do NRL. Dále byly těmito metodami studovány izoláty od zdravých kontaktních osob invazivního meningokokového onemocnění, což umožnilo kontrolu správnosti opatření doporučených v ohnisku výskytu tohoto onemocnění. Výsledky analýzy výskytu aktuálních klonálních komplexů působících invazivní onemocnění v České republice byly publikovány v tuzemských časopisech, byly předloženy k publikaci v zahraničním časopisu a prezentovány na mezinárodních konferencích.

V souboru 142 izolátů z invazivního meningokokového onemocnění z let 2005-2007 byla zjištěna převaha séroskupiny B (66,9 %), na druhém místě byla séroskupina C (28,2 %). Šest izolátů (4,2 %) náleželo do séroskupiny Y a jeden (0,7 %) do séroskupiny X.

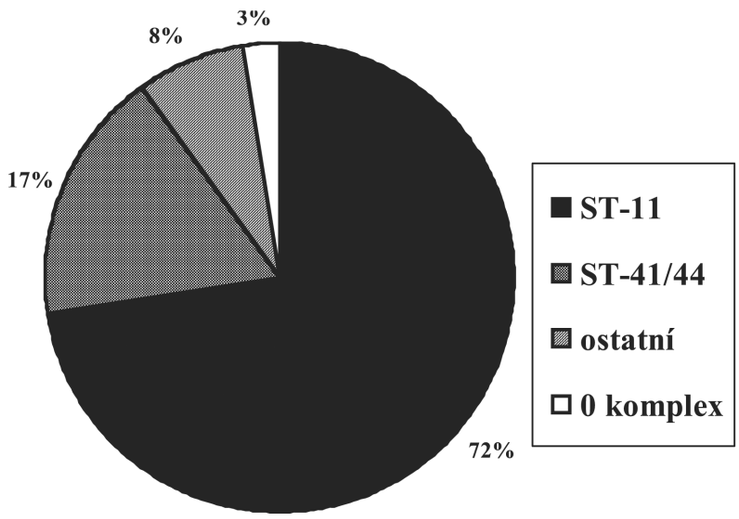
U 95 izolátů séroskupiny B bylo zjištěno 56 sekvenčních typů (ST), které náležely do 13 klonálních komplexů: ST-41/44, ST-32, ST-18, ST-

proLékaře.cz | 17.11.2026



Graf 1. Klonální komplexy *N. meningitidis* B působící invazivní onemocnění v ČR 2005-2007

Fig. 1. *N. meningitidis* B clonal complexes causing invasive disease in the Czech Republic in 2005-2007



Graf 2. Klonální komplexy *N. meningitidis* C působící invazivní onemocnění v ČR 2005-2007

Fig. 2. *N. meningitidis* C clonal complexes causing invasive disease in the Czech Republic in 2005-2007

269, ST-35, ST-213, ST-103, ST-162, ST-60, ST-11, ST-1157, ST-174, ST-865. Nejčetnější byly klonální komplexy typické pro séroskupinu B: ST-41/44 (23 %), ST-32 (16 %), ST-18 (11 %) – **graf 1**. Do hypervirulentních komplexů (ST-41/44, ST-32, ST-18, ST-269, ST-103, ST-11, ST-174) náleželo 62,1 % izolátů séroskupiny B.

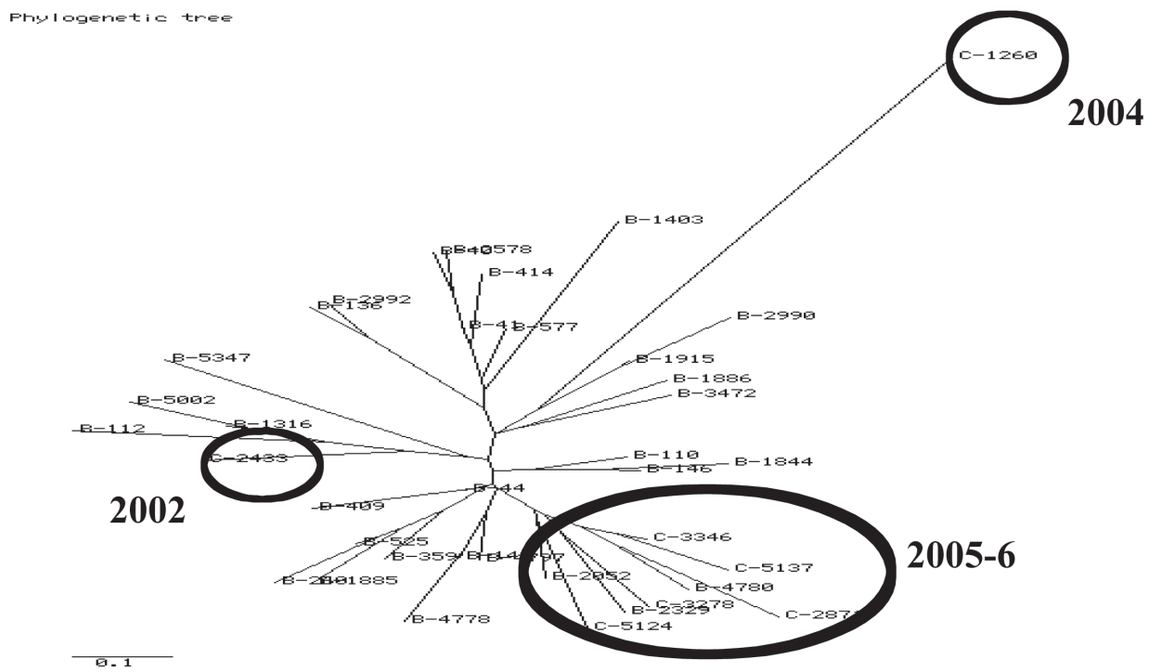
U 17 % izolátů séroskupiny B byly zjištěny ST, které nenáležely do žádného ze známých klonálních komplexů.

U 40 izolátů séroskupiny C bylo zjištěno pouze 12 ST, které náležely do 4 klonálních komplexů: ST-11, ST-41/44, ST-116, ST-254. Nejčetnější byl klonální komplex typický pro séroskupinu C ST-11 (72 %) – **graf 2**. Pozoruhodný je však zvýšený výskyt klonálního komplexu ST-41/44 (17 %), který je typický pro séroskupinu B. Do hypervirulentních komplexů (ST-11, ST-41/44) náleželo 90,0 % izolátů séroskupiny C. Pouze u 1 izolátu séroskupiny C byl zjištěn ST, který nenáležel do žádného ze známých klonálních komplexů.

Séroskupina B vykazovala vyšší heterogenitu ve srovnání se séroskupinou C.

Ze šesti izolátů séroskupiny Y dva náležely do hypervirulentního komplexu ST-23, jeden do komplexu ST-167 a u tří izolátů byly zjištěny ST, které nenáležely do žádného ze známých klonálních komplexů. Rovněž u 1 izolátu séroskupiny X byl zjištěn ST, který nenáležel do žádného ze známých klonálních komplexů.

proLékaře.cz | 17.11.2026



Graf 3. "Capsule switching" séroskupiny B do C u *N. meningitidis* komplexu ST-41/44 působící invazivní meningokokové onemocnění v České republice, 1993-2007

Fig. 3. Serogroup B to C capsular switch in *N. meningitidis* complex ST-41/44 causing invasive meningococcal disease in the Czech Republic, 1993-2007

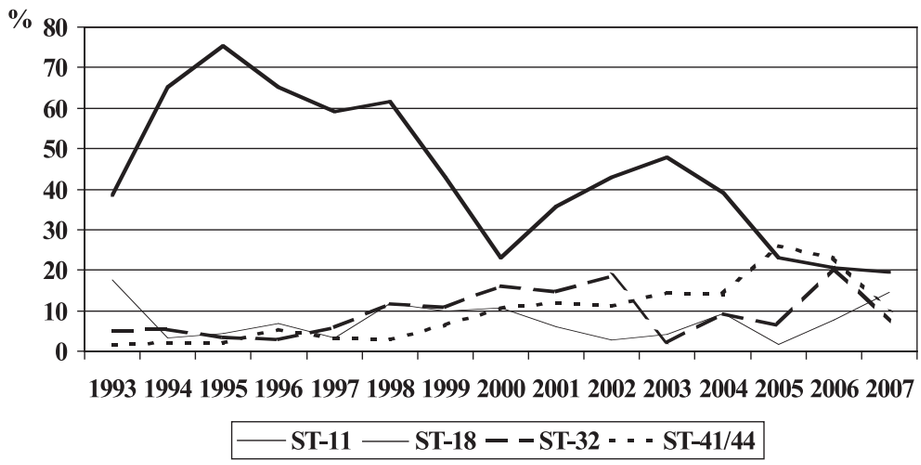
2. Analýza dlouhodobých trendů výskytu hypervirulentních komplexů *N. meningitidis* v České republice

Byla provedena MLST z izolátů z invazivního meningokokového onemocnění z minulých let a díky tomu za období od roku 1993 byly metodou MLST analyzovány všechny izoláty (1116) z invazivního meningokokového onemocnění poslané do NRL. Výsledky analýzy dlouhodobých trendů výskytu klonálních komplexů působících invazivní onemocnění v České republice byly publikovány v tuzemských časopisech, byly předloženy k publikaci v zahraničním časopisu a prezentovány na mezinárodních konferencích.

Celkem bylo za období 1993 – 2007 zjištěno 26 klonálních komplexů, z nichž čtyři byly dominantní: ST-11, ST-32, ST-41/44 a ST-18. Komplex ST-11 byl nejčastější (50,2 %), ačkoli do roku 1993 se v České republice nevyskytoval. Vyskytoval se zejména u izolátů séroskupiny C. Další tři hlavní klonální komplexy se vyskytovaly zejména u izolátů séroskupiny B a byly výrazně méně frekventní: ST-32 (8,4 %), ST-41/44 (8,0 %) a ST-18 (6,9 %). Čtyři z 26 klonálních komplexů byly nové, poprvé popsané na českých izolátech: ST-106, ST-116, ST-226 a ST-292. Z celkového počtu 1116 izolátů byly u 148 (13,2 %) popsány ST, které nenáležely do žádného ze známých klonálních komplexů. Celkem bylo zjištěno 225 ST, z nichž 167 (74,2%) byly nové, poprvé popsané na českých izolátech. Proporce komplexu ST-11 vykazovala v období 1993-2007 statisticky významný sestupný trend ($p = 0,003$), zatímco proporce tří hlavních klonálních komplexů séroskupiny B dohromady (ST-18 + ST-32 + ST-41/44) vykazovala statisticky významný vzestupný trend ($p < 0,001$). Proporce jiných klonálních komplexů než ST-11, ST-18, ST-32 a ST-41/44 vykazovala rovněž statisticky významný vzestupný trend ($p < 0,001$), zatímco proporce ST nezařazených do žádného ze známých komplexů zůstávala na stabilní nízké úrovni. Izoláty séroskupiny B vykazovaly vyšší heterogenitu a variabilitu ve srovnání s izoláty séroskupiny C.

Hypervirulentní klonální komplex ST-11 prevaloval v letech 1993 – 2004, v roce 2005 byl poprvé zjištěn vyšší výskyt jiného klonálního komplexu: ST-41/44, který je typický pro séroskupinu B. V letech 2005-2006 byl u tohoto klonálního komplexu ST-41/44 zjištěn díky metodě MLST jev, popisovaný ve světové literatuře: změna kapsulárního polysacharidového antigenu, tj. „capsule switching", ke které dochází horizontální výměnou DNA mezi meningokoky. V letech 2005 – 2006 byla tímto způsobem detekována zvýšená změna kapsulárního polysacharidového antigenu izolátů komplexu ST-41/44 ze séroskupiny B na séroskupinu C – **graf 3.**

proLékaře.cz | 17.12.2026



Graf 4. Hlavní klonální komplexy *N. meningitidis* působící invazivní meningokokové onemocnění v České republice, 1993-2007

Fig. 4. Major *N. meningitidis* clonal complexes causing invasive meningococcal disease in the Czech Republic, 1993-2007

Od roku 2005 dochází k zásadní změně ve výskytu klonálních komplexů působících invazivní onemocnění v ČR oproti období 1993-2004: pokles klonálního komplexu ST-11 + vzestup klonálních komplexů ST-18, ST-32 a ST-41/44 – **graf 4**.

Projekt byl zaměřen rovněž na problematiku invazivních onemocnění působených *N. meningitidis* séroskupiny Y, která vykazují v České republice nejvyšší smrtnost (nad 20%). Byla provedena klonální analýza metodou MLST u meningokoků této séroskupiny izolovaných od pacientů s invazivním meningokokovým onemocněním a u meningokoků izolovaných od zdravých nosičů. Do hypervirulentního klonálního komplexu ST-23 náleželo 50,0 % *N. meningitidis* Y izolovaných od pacientů v České republice v letech 1993-2007, z nichž většina vykazovala typický fenotyp N.m.Y:2c:P1.2,5. Smrtnost způsobená tímto hypervirulentním komplexem ST-23 byla v České republice extrémně vysoká (55,5 %). Další klonální komplexy zjištěné u *N. meningitidis* Y izolovaných od pacientů v České republice byly komplexy ST-92 a ST-167. Ostatní ST zjištěné u kmenů *N. meningitidis* Y izolovaných od pacientů (ST-36, ST-130, ST-2993, ST-3015, ST-4743) nenáležely do žádného klonálního komplexu a byly zjištěny v nízkém procentu.

Kmeny *N. meningitidis* Y izolované v České republice od zdravých nosičů v letech 1993-2007 náležely ponejvíce do dvou ST-komplexů: ST-22 a ST-92 (20,7 % a 18,9 %). Hypervirulentní komplex ST-23 byl zjištěn pouze u 1 nosičského kmene. Další klonální komplexy byly zjištěny u nosičských kmenů *N. meningitidis* Y v nízkém procentu: ST-32, ST-41/44, ST-116, ST-174, ST-226, ST-254, ST-549. Ostatní ST zjištěné u nosičských kmenů *N. meningitidis* Y (ST-130, ST-241, ST-251, ST-419, ST-442, ST-519, ST-674, ST-694, ST-980 a ST-1046) nenáležely do žádného klonálního komplexu a byly zjištěny u 41,4% kmenů. Populace nosičských meningokoků Y byla výrazně heterogenní ve srovnání s meningokoky od pacientů. MLST poskytla stoprocentní typovatelnost kmenů a prokázala genetickou odlišnost izolátů *N. meningitidis* Y od pacientů versus od zdravých nosičů. MLST rovněž prokázala, že ve zdravé populaci se hypervirulentní komplexy *N. meningitidis* Y vyskytují v nízkém procentu.

Metodou FetA sekvenace, která byla na řešitelském pracovišti zavedena v průběhu řešení projektu, bylo umožněno studium meningokokového imunogenního proteinu zevní membrány, FetA, který je složkou vakcín. Část výsledků tohoto studia byla ve spolupráci se zahraniční laboratoří publikována. Bylo prokázáno, že u patogenních i komensálních *Neisserií* se vyskytují identické sekvence variabilního regionu FetA proteinu, což indikuje společný genetický základ, odlišný od ostatních antigenů. Je tedy pravděpodobné, že nosičství komensálních *Neisserií* exprimujících protein FetA poskytuje ochranu proti invazivnímu meningokokovému onemocnění. Tyto poznatky budou využity při vývoji nových účinnějších meningokokových vakcín genetickými metodami (reverzní vakcinologie).

Metodou PenA sekvenace, která byla na řešitelském pracovišti zavedena v průběhu řešení projektu, bylo umožněno studium alterace *penA* genu kódujícího penicilin binding protein 2 (PBP2) u meningokoků s redukovanou citlivostí vůči penicilinu. Část výsledků tohoto studia byla ve spolupráci se zahraničními laboratořemi publikována. Bylo prokázáno, že izoláty *N. meningitidis* s redukovanou citlivostí k penicilinu G vykazují alteraci *penA* genu. EMGM navrhuje, aby metoda PenA sekvenace byla zařazena mezi doporučené metody molekulární charakterizace izolátů

proLékaře.cz | 17.12.2026

Tab. 1. Pokrytí fenotypů MenB vakcínami u 383 izolátů N. meningitidis B působících invazivní onemocnění v České republice v období 1997 – 2007

Tab. 1. MenB phenotype coverage by vaccines in 383 isolates of N. meningitidis B causing invasive disease in the Czech Republic in 1997 – 2007

Fenotyp	Země výroby	Procento pokrytí
B:15:P1.7,16	Norsko	3,9
B:4:P1.19,15	Kuba	0
B:15:P1.3	USA – Chile	0
B:P1.5-1,2-2; P1.5-2,10; P1.19,15-1; P1.12-1,13; P1.7-2,4; P1.7,16 (HEXAVAKCÍNA)	Holandsko	11,5
B:4:P1.7,4	Nový Zéland	0,3
B:P1.5-1,2-2; P1.5-2,10; P1.19,15-1; P1.12-1,13; P1.7-2,4; P1.7,16; P1.22,14;P1.7-1,1; P1.18-1,3,6 (NONAVAKCÍNA)	Holandsko	24,0

N. meningitidis ke zlepšení jejich typizace, jakož i k analýze výměny DNA mezi *Neisseria* species.

Molekulární charakterizace izolátů *N. meningitidis* umožňuje odlišení virulentních a nevirulentních izolátů. Další studium ve spolupráci s klinickým pracovištěm prokázalo, že virulentní izoláty indukují vyšší produkci cytokinů a koncentraci endotoxinů in vitro, než nevirulentní izoláty. Hladiny cytokinů a endotoxinů v sérech pacientů však ukazují opačný trend, což indikuje, že zánětlivá odpověď během invazivního meningokokového onemocnění je ovlivněna hlavně hostitelskými faktory. Tyto výsledky byly publikovány.

3. Doporučení vakcinační strategie odpovídající aktuálnímu výskytu hypervirulentních komplexů v České republice

Metoda *Por*A sekvenace, o niž bylo řešení projektu rozšířeno oproti původnímu plánu, umožnila 100% určení nekapsulárních antigenů – subtypů. Toto přesné určení je důležité zejména pro *N. meningitidis* séroskupiny B k posouzení vhodnosti použití zahraničních subtypově specifických vakcín proti meningokoku B v České republice. Pokrytí nekapsulárních antigenů izolátů *N. meningitidis* B působících invazivní onemocnění v České republice v letech 1997 - 2007 dosud vyvinutými zahraničními vakcínami je nízké (tabulka 1) a proto jejich použití u nás nedoporučujeme.

V průběhu řešení projektu byla řešitelským pracovištěm Ministerstvu zdravotnictví ČR průběžně poskytována následující doporučení:

- za současné epidemiologické situace není indikace k zavedení plošné vakcinace konjugovanou vakcínou proti meningokoku C;
- v případě epidemiologické indikace je nezbytné zajištění cílené vakcinace ohrožené části populace konjugovanou vakcínou proti meningokoku C;
- je doporučeno umožnit i bez epidemiologické indikace vakcinaci na žádost za úhradu konjugovanou vakcínou proti meningokoku C;
- vzhledem k výskytu hypervirulentního komplexu ST-23, který způsobuje extrémně vysokou smrtnost, je doporučeno zajistit v České republice dostupnost vakcíny obsahující složku proti séroskupině Y (tetravakcína A+C+Y+W135);
- je žádoucí zajistit dovoz polysacharidové tetravakcíny A+C+Y+W135 do České republiky a učinit ji dostupnou k vakcinaci cestovatelů i k vakcinaci na žádost za úhradu;
- po dosažení centrální evropské registrace konjugované tetravakcíny A+C+Y+W135 bude vhodné zařadit tuto vakcínu do rutinní vakcinace;
- je doporučeno zajistit vakcinaci osob v pracovním riziku, zejména pracovníků mikrobiologických laboratoří pracujících s *N. meningitidis*;
- je doporučeno zajistit vakcinaci pacientů s poruchami imunity;
- je doporučeno přejít na očkování zaměstnanců armády ČR konjugovanou vakcínou (nejprve proti meningokoku C, po dosažení centrální evropské registrace konjugovanou tetravakcínou A+C+Y+W135);
- žádná z dostupných zahraničních vakcín proti meningokoku B není vhodná k použití v České republice vzhledem k nízkému pokrytí nekapsulárních antigenů *N. meningitidis* B působících zde invazivní onemocnění.

Kromě doporučení adresovaných MZ ČR byla doporučená vakcinační strategie průběžně předkládána výboru Vakcinologické společnosti ČLS

Epidemiologie 4-09 13.11.2009 10:15 Str. 194
proLékaře.cz | 17.12.2026

JEP a prezentována v odborných časopisech a na konferencích.

4. Srovnání výskytu hypervirulentních komplexů *N. meningitidis* v České republice a ve světě

Invazivní meningokokové onemocnění v České republice v období 1993 – 2007 způsobovaly dominantně hypervirulentní klonální komplexy identické s komplexy zjištěnými ve světě: ST-11, ST-32, ST-41/44. Byl zjištěn výskyt hypervirulentního komplexu ST-23, který se objevil v 90. letech v USA a způsobuje vysokou smrtnost. Nicméně, MLST analýza ukázala odlišnost populace českých meningokoků od západoevropských a ostatních populací:

- čtyři z 26 zjištěných klonálních komplexů byly nové, poprvé popsané na českých izolátech;
- 167 z 225 zjištěných ST (74,2 %) byly nové, poprvé popsané na českých izolátech;
- hypervirulentní klonální komplex ST-18, který je dominantní u izolátů séroskupiny B a sérotypu 22 je typický pro Českou republiku a země východní Evropy.

Toto zjištění je významné pro vývoj nových meningokokových vakcín a proto bylo řešitelské pracoviště přizváno k účasti v mezinárodních projektech směřujících k vývoji nových meningokokových vakcín, zejména proti séroskupině B. Vývoj těchto nových vakcín je prováděn na základě genetického výzkumu *N. meningitidis* B (reverzní vakcinologie).

5. Poskytování MLST dat do celosvětové MLST databáze

Nově zjištěné ST byly v průběhu řešení projektu předkládány k ověření kurátorem celosvětové MLST datatabáze v Oxfordu [http://pubmlst.org/ neisseria/] a jsou v ní registrovány. V této celosvětové MLST databázi je k 21.1.2008 registrováno 9660 izolátů z 83 zemí. U těchto izolátů bylo detekováno 6549 ST a 37 klonálních komplexů. Česká republika zaujímá druhé místo v počtu registrovaných izolátů (951). V celosvětové MLST databázi jsou registrovány i publikace vycházející z analýz MLST dat. Díky poskytování MLST dat do celosvětové databáze bylo řešitelské pracoviště pozváno k účasti v nově zahajovaném projektu EMERT (European Meningococcal Epidemiology in Real Time) [http://emgm.eu/emert/], jehož cílem je poskytování aktuálních dat molekulární epidemiologie invazivních meningokoků cirkulujících v Evropě a rychlá informace o nově se objevujících meningokokových klonech v Evropě.

Závěry a přehled dosažených výsledků

- Studovaný soubor izolátů je unikátně rozsáhlý (1116) a pokrývá unikátně dlouhé období (1993 – 2007).
- Invazivní meningokokové onemocnění v České republice bylo způsobeno čtyřmi dominantními hypervirulentními komplexy: ST-11, ST-32, ST-41/44 a ST-18.
- Komplex ST-11 je typický pro izoláty séroskupiny C, komplexy ST-32, ST-41/44 a ST-18 pro izoláty séroskupiny B.
- Od roku 2005 dochází k významné změně v prevalenci hypervirulentních komplexů: pokles ST-11 a vzestup ST-32, ST-41/44, ST-18.
- Komplex ST-18 séroskupiny B je typický pro země východní Evropy.
- V České republice byl zjištěn výskyt vysoce hypervirulentního komplexu ST-23 séroskupiny Y působícího vysokou smrtnost invazivního meningokokového onemocnění.
- Byl potvrzen rozdíl populací meningokoků, které vyvolávají invazivní onemocnění oproti nosičským meningokokům.
- Studium meningokoků metodami molekulární biologie se stalo součástí surveillance invazivního meningokokového onemocnění v České republice, je v souladu s evropskými požadavky a umožňuje zapojení České republiky do mezinárodní molekulární epidemiologie tohoto onemocnění.
- Data získaná metodami molekulární biologie byla poskytnuta do mezinárodních databází k ověření a registraci. Byl potvrzen rozdíl populací českých meningokoků oproti západoevropským - zjištěno přes 75% nových ST. Řešitelské pracoviště bylo v průběhu řešení projektu vyzváno k účasti v mezinárodních projektech směřujících k vývoji nových meningokokových vakcín a k zapojení do mezinárodních komisí a pracovních skupin.
- Charakterizace meningokoků metodami molekulární biologie byla podkladem k aktualizaci metodiky Surveillance invazivních meningokokových onemocnění, která byla předána MZ ČR a je přílohou připravované Vyhlášky MZ ČR, kterou se stanoví systém bdělosti pro vybrané infekce. Charakterizace meningokoků metodami molekulární biologie byla podkladem k upřesňování vakcinační strategie v České republice. Doporučení vakcinační strategie byla průběžně předávána MZ ČR.

Poděkování

Výsledky byly dosaženy při řešení projektu IGA MZ ČR reg. č. 1A/8688-3. Řešitelé projektu děkují všem mikrobiologům, kteří posílali izoláty

Epidemiologie 4-09 13.11.2009 10:15 Str. 195
proLékaře.cz | 17.12.2026

N. meningitidis do NRL pro meningokokové nákazy a bez jejichž aktivního přístupu by řešení projektu nebylo umožněno.

Publikace řešitelů projektu v meningokokové problematice v letech 2005 – 2008

Zahraniční časopisy s dedikací projektu

1. **Taha, M.K., Vázquez, J.A., Hong, E., Bennet, D.E., Bertrand, S., Bukovski, S., Cafferkey, M.T., Carion, F., Christensen, J.J., Diggle M., Edwards G., Enríques R., Fazio C., Frosch M., Heuberger S., Hoffmann S., Jolley K.A., Kadlubowski M., Kechrid A., Kesanopoulos K., Kriz P., Lambertsen L., Levenet I., Musilek M., Paragi M., Saguer A., Skoczynska A., Stefanelli P., Thulin S., Tzanakaki G., Unemo M., Vogel U., Zarantonelli M.L.** Target Gene Sequencing To Characterize the Penicillin G Susceptibility of *Neisseria meningitidis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007, 51(8), 2784-2792.
2. **Bennett J.S., Thompson E.A.L., Kriz P., Jolley K.A., Maiden M.C.J.** A common gene pool for the *Neisseria* FetA antigen. *Int J Med Microbiol* 2008, doi, 10.1016/j.ijmm.2008.06.010.
3. **Holub M., Scheinostová M., Fišerová A., Beran O., Kalmusová J., Musílek M., Křížová P.** *Neisseria meningitidis* strains from patients with invasive meningococcal disease differ in stimulation of cytokine production. *Folia Microbiol* 2007, 52, 525-528.
4. **Kalmusova, J., Musilek, M., Caugant, D., Jolley, K.A., Maiden, M.C.J., Maly, M., Kriz, P.** Clonal complexes of *Neisseria meningitidis* causing invasive meningococcal disease in the Czech Republic in 1993 – 2007. *Clin Microbiol Infect* 2009, v recenzním řízení.

Zahraniční časopisy bez dedikace projektu

5. **Taha M.K., Alonso J.M., Cafferkey M., Caugant D.C., Clarje S.C., Diggle M.A., Fox A., Frosch M., Gray S.J., Guiver M., Heuberger S., Kalmusova J., Kesanopoulos K., Klem A.M., Kriz P., Marsh J., Molling P., Murphy K., Olcén P., Sanou O., Tzanakaki G., Vogel U.** Interlaboratory comparison of PCR-based identification and genogrouping of *Neisseria meningitidis*. *J Clin Microbiol* 2005, 43(1), 144-149.
6. **Jolley K.A., Wilson D.J., Kriz P., McVean G., Maiden M.C.** The Influence of Mutation, Recombination, Population History, and Selection on Patterns of Genetic Diversity in *Neisseria meningitidis*. *Mol Biol Evol* 2005**,** 22(3), 562-569.
7. **Bille E., Zahar J.-R., Perrin A., Morelle S., Kriz P., Jolley K.A., Maiden M.C.J., Dervin C., Nassif X. and Tinsley C.R.** A chromosomally integrated bacteriophage in invasive meningococci. *J Exp Med* 2005, 201(12), 1905-1913.
8. **Bronska E., Dzupova O., Krizova P., Kalmusova J., Maresova V.** Invasive meningococcal disease and latex agglutination test - is it still beneficial for diagnosis? *Folia Microbiol* 2005, 50(5), 453-456.
9. **Bronska E., Kalmusova J., Dzupova O., Maresova V., Kriz P.** and Benes J.Dynamics of PCR-based diagnosis in patients with invasive meningococcal disease. *Clin Microbiol Infect* 2006, 12, 137-141.
10. **Caugant D.A., Tzanakaki G., Kriz P.** Lessons from meningococcal carriage studies. *FEMS Microbiol Rev* 2007, 31, 52-63.
11. **Callaghan M. J., Buckee C. O., Jolley K.A., Kriz P., Maiden M.C., Gupta S.** The effect of immune selection on the structure of the meningococcal opa protein repertoire. *PLoS Pathog* 2008 Mar 14, 4(3), e1000020. doi: 10.1371/journal.ppat.1000020.
12. **Buckee C.O., Jolley K.A., Recker M., Penman B., Kriz P., Gupta S., Maiden M.C.** Role of selection in the emergence of lineages and the evolution of virulence in *Neisseria meningitidis*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Sep 30, 105(39), 15082-7. Epub 2008 Sep 24.

Česká monografie

13. **Částková J., Křížová P.** Očkování dětí v České republice. Minimum pro pediatra. Příloha časopisu *Pediatrie pro praxi*, ročník 7, ISSN 1213-0494, 2006, 40 s.

České časopisy s dedikací projektu

14. **Křížová P., Kalmusová J., Musílek M.** Molekulární epidemiologie invazivního meningokokového onemocnění v České republice, *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2006, 55(4), 140-150.
15. **Křížová, P., J. Kalmusová, M. Musílek.** Invazivní meningokokové onemocnění v České republice v roce 2006. *Zprávy CEM (SZÚ Praha)* 2007, 16(3), 125-130.

České časopisy bez dedikace projektu

16. **Křížová P**. Současné možnosti vakcinace proti meningokokům. *Klin Mikrobiol Infekč Lék* 2005, 11, 25-29.
17. **Křížová, P., J. Kalmusová, M. Musílek.** Invazivní meningokokové onemocnění v České republice v roce 2004. *Zprávy CEM (SZÚ Praha)* 2005, 14(3),129-139.
18. **Křížová P.** Meningokokové vakcíny. *Pediatrie pro praxi* 2005, 6(3), 142-146.
19. **Kasal E., Rožnovský L., Křížová P. et al.** Léčebný protokol invazivního meningokokového onemocnění (IMO). *Prakt Lék* 2005, 85(4), 196-199.
20. **Křížová, P., J. Kalmusová, M. Musílek.** Invazivní meningokokové onemocnění v České republice v roce 2005. *Zprávy CEM (SZÚ Praha)* 2006, 15(3-4), 45-51.
21. **Luňáčková J., Musílek M., Kalmusová J., Fryšová M., Filipová P., Křížová P.** Dva případy invazivního meningokokového onemocnění v epidemiologické souvislosti v jižních Čechách. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2006, 15(8), 343 – 346.
22. **Křížová P.** Prevence meningokokových onemocnění. Komentář. *Medicína po promoci* 2006, 7(3), 13-15.
23. **Křížová P.** Surveillance invazivních meningokokových onemocnění. *Acta Hyg Epidemiol Microbiol* 2006, 6, 57-62.
24. **Rožnovský L., Křížová P.** Meningokoková onemocnění – nezastupitelná úloha lékařů první linie. *Prakt Lék* 2007, 87(9), 540-545.
25. **Rožnovský L., Křížová P.** Meningokokové infekce. *REMEDIA* 2007, 17(6), 617-623.

Zahraniční abstrakta s dedikací projektu

26. **Kriz P., Kalmusova J., Musilek M., Felsberg J. et al.** Changes in the distribution of hypervirulent complexes of *Neisseria meningitidis* in the Czech Republic. Abstract

Epidemiologie 4-09 13.11.2009 10:15 Str. 196
proLékaře.cz | 17.12.2026

O168, 16th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Nice, France, 2006, *Clin Microbiol Infect* 2006, 12(Suppl.4).

27. **Kriz P., Kalmusova J., Musilek M., Felsberg J., Haugvicova R., Caugant D., Jolley K. and Maiden M.** Characterization of *Neisseria meningitidis* B causing invasive disease in the Czech Republic. Abstract O480, 17th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Munich, Germany, 2007, *Clin Microbiol Infect* 2007, 13(Suppl.1).
28. **Fiserova A., Beran O., Kalmusova J., Musilek M., Kriz P., Holub M.** Distinct *Neisseria meningitidis* isolates display different cytokine induction capacities in an ex vivo whole-blood model. Abstract P808, 17th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Munich, Germany, 2007, *Clin Microbiol Infect* 2007, 13(Suppl.1).
29. **Kalmusova J., Musilek M., Kriz P.** Epidemiology and surveillance of invasive meningococcal disease in the Czech Republic. 9th EMGM Meeting, Rome, Italy, 2007, p.107.
30. **Kriz P., Kalmusova J., Musilek M., Felsberg J., Haugvicova R., Caugant D., Jolley K. and Maiden M.** *Neisseria meningitidis* B causing invasive disease in the Czech Republic. 9th EMGM Meeting, Rome, Italy, 2007, p.55.
31. **Kalmusova J., Musilek M., Kriz P.** Clonal complexes causing invasive meningococcal disease in the Czech Republic in 2005-2007. 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, Spain, 2008 *Clin Microbiol Infect* 2008, 14(Suppl.7).

Zahraniční abstrakta bez dedikace projektu

32. **Kriz P., Musilek M., Kalmusova J.** ST-23 complex of *Neisseria meningitidis* Y emerging in the Czech Republic. Abstract Book, 8th Meeting of European Monitoring Group on Meningococci – EMGM, Dublin, Ireland, 2005, p. 1.7.
33. **Kalmusova J., Musilek M., Kriz P.** Strain characterisation: towards the routine use of molecular methods in the National Reference Laboratory. Abstract Book, 8th Meeting of European Monitoring Group on Meningococci – EMGM, Dublin, Ireland, 2005, p. 3.6.
34. **Kriz P., Kalmusova J., Musilek M.** Epidemiology of invasive meningococcal disease in the Czech Republic. Abstract Book, 8th Meeting of European Monitoring Group on Meningococci – EMGM, Dublin, Ireland, 2005, p. P6.
35. **Kriz P., Kalmusova J., Musilek M.** Molecular epidemiology of invasive meningococcal disease in the Czech Republic in 2004. Abstract Book, 8th Meeting of European Monitoring Group on Meningococci – EMGM, Dublin, Ireland, 2005, p. P35.
36. **Musilek M., Jolley K., Skoczynska A., Kalmusova J., Kriz P., Maiden M.** Analysis of the virulent serotype 22-related population of Serogroup B *Neisseria meningitidis* specific to Central/Eastern Europe. Abstract Book, 8th Meeting of European Monitoring Group on Meningococci – EMGM, Dublin, Ireland, 2005, p. P37.

Česká abstrakta bez dedikace projektu

37. **Křížová P., Kalmusová J., Musílek M.** Molekulární epidemiologie invazivního meningokokového onemocnění v České republice. Sborník abstrakt. Pečenkovy epidemiologické dny, 2005, Ústí n.L.
38. **Křížová P., Kalmusová J., Musílek M.** Meningokokové vakcíny. Sborník abstrakt. Hradecké vakcinologické dny, 2005, Hradec Králové, s. 9.

Do redakce došlo 21.1.2009

MUDr. Pavla Křížová, CSc
NRL pro meningokokové nákazy
Státní zdravotní ústav
Šrobárova 48
100 42 Praha 10
e-mail: pavla.krizova@szu.cz