

## Doplnenie histórie OLM RUVZ BB po roku 2016

### „Kauza cícerová nátierka“

V roku 2015 bolo vtedajšie vedenie RÚVZ so sídlom v Banskej Bystrici, na čele ktorého stál prof. MUDr. Cyril Klement, CSc., postavené pred neľahkú úlohu odolať mediálnemu tlaku v súvislosti s tzv. kauzou „cícerová nátierka“.

V polovici augusta 2015 sa na Slovensku objavil prípad alimentárneho botulizmu. Predtým inak zdravý dospelý človek vo veku približne 40 rokov konzumoval na večeru tri balenia komerčne pripravenej cícerovej nátierky. Nátierka, ktorá bola predávaná na Slovensku a v Českej republike, bola 9 dní pred dátumom spotreby. Nasledujúce ráno, 9-11 hodín po konzumácii cícerovej nátierky, sa u pacienta objavili nevoľnosť, vracanie, dvojité videnie, nestabilná chôdza, závrat, všeobecná slabosť a ťažkosti s prehĺtaním. Následne bol hospitalizovaný. Napriek tomu, že pacient dostal tri dávky trivalentného anti-A, B a E antitoxínu musel byť uvedený do umelého spánku a napojený na umelú pľúcnu ventiláciu. Bol prevezený na jednotku intenzívnej starostlivosti. Vzhľadom na fakt, že botulizmus patrí medzi ochorenia, ktoré na Slovensku podliehajú povinnému hláseniu, klinika hlásila prípad podozrenia na botulizmus Regionálnemu úradu verejného zdravotníctva so sídlom v Banskej Bystrici (RÚVZ BB). Zvratky, sérum ani stolica bohužiaľ neboli odobraté. Na RÚVZ BB boli však analyzované obaly z cícerovej nátierky. V zbytkoch nátierky v obaloch sa kombináciou kultivačných metód potvrdila prítomnosť *Clostridium* spp.. S prihliadnutím na klinické príznaky ochorenia, ktoré sú jedným z najdôležitejších ukazovateľov v tak ojedinelých prípadoch akým alimentárny botulizmus bezpochyby je, bol vyslovený záver suspektné *Clostridium botulinum*.

Vzhľadom na obrovský tlak médií a výrobcu ako aj na nedostupnosť nadstavbovej diagnostiky tohto ojedinelého agens na Slovensku bolo RÚVZ BB nútené obrátiť sa s požiadavkou o pomoc na renomované a celosvetovo uznávané pracovisko Robert Koch Institute Centre for Biological Threats and Special Pathogens (Berlín, Nemecko). Toto pracovisko a jeho vedúci pracovníci Brigitte Dörner a Martin Dörner okamžite prejavili záujem o spoluprácu na tomto zaujímavom prípade. Medzi tým ako boli materiály zaslané do Robert Koch Institute v Berlíne laboratórium molekulárnej biológie oddelenia lekárskej mikrobiológie RÚVZ BB, pod vedením RNDr. Lucie Maďarovej, PhD., zaviedlo do diagnostiky multiplex PCR metódu založenú na dôkaze prítomnosti génov zodpovedných za produkciu toxínov A, B, E a F u *Clostridium botulinum*. Pomocou tejto metódy bola u vykultivovaných kmeňov potvrdená prítomnosť génu zodpovedného za produkciu toxínu A. Kmene boli následne odoslané do RKI na ďalšie analýzy. Ďalšie vyšetrenia odhalili prítomnosť produkcie botulínového neurotoxínu (BoNT) subtypu BoNT/A3, veľmi zriedkavého subtypu, ktorý sa podieľal iba na jednom predchádzajúcom ochorení (Loch Maree Škótsko, 1922). Sekvencia týchto toxigénnych izolátov, ktorá bola nazvaná „Banská Bystrica“, bola vložená do databázy GenBank pod prístupovým číslom KU376389. Ukázala najvyššiu identitu ( $\geq 99,9\%$ ) s neobvyklým subtypom BoNT/A3. *Clostridium botulinum* subtyp A3 sa v Európe nevyskytuje, jeho výskyt je spájaný s krajinami Južnej Ameriky. Žiadny iný kmeň patriaci k tomuto špecifickému podtypu A3 nebol izolovaný ani subtypovaný takmer sto rokov, kým Lúquez a jeho kolegovia v roku 2012 neizolovali tri kmene z Argentíny (v pôde a šaláte) [Lúquez a kol. 2012]. Zaujímavé je, že oba BoNT/A pozitívne kmene izolované z cícerovej nátierky majú identickú sekvenciu BoNT/A na úrovni aminokyselín ako jeden z kmeňov (CDC54054) izolovaných z argentínskej pôdy [Lúquez a kol. 2012]. V spolupráci so Štátnou veterinárnou a potravinovou správou (ŠVPS) sa u výrobcu uskutočnilo vyšetrovanie zloženia a pôvodu zložiek používaných na výrobu cícerovej nátierky. Šetrením

bolo dokázané, že cícér použitý na výrobu nátierky bol dovezený z Českej republiky avšak jeho pôvod bol z Južnej Ameriky (Argentína, Brazília).

Napriek neutíchajúcejmu tlaku zo strany médií cestou výrobcu, ktoré verejnosť informovali jednostranným spôsobom o celom prípade sa RÚVZ BB podarilo situáciu ustáť a celý prípad bol publikovaný v prestížnom časopise *Eurosurveillance* v spoluautorstve s Robert Koch Institute (Maďarová a kol., 2017). Čerešničkou na torte pre pracovníkov RÚVZ bola ponuka Robert Koch Institute na spoluprácu na medzinárodnom projekte zameranom na diagnostiku toxínov v rámci Európskych krajín. A tak sa Slovensko cez Informačné centrum pre bakteriologické (biologické) a toxínové zbrane (RÚVZ BB) zapojilo do projektu EuroBioTox („*European Programme for the establishment of validated procedures for the detection and identification of biological toxins*“).

Definitívnou bodkou za celou kauzou bolo pre RÚVZ BB a jej pracovníkov zriadenie špecializovaného pracoviska pre diagnostiku *Clostridium botulinum* v potravinách a klinickom materiáli. Metóda dôkazu génov zodpovedných za tvorbu toxínov A, B, E a F u *Clostridium botulinum* pomocou multiplex PCR bola následne akreditovaná SNAS. RÚVZ BB bolo prvým pracoviskom na SK, ktoré má túto metódu dôkazu akreditovanú. Vedúcim špecializovaného pracoviska je Mgr. RNDr. Jozef Strhársky, PhD., MPH.

LÚQUEZ C, RAPHAEL BH, JOSEPH LA, MENO SR, FERNÁNDEZ RA, MASLANKA SE. Genetic diversity among *Clostridium botulinum* strains harboring bont/A2 and bont/A3 genes. *Appl Environ Microbiol.* 2012;78(24):8712-8. DOI: 10.1128/AEM.02428-12 PMID: 23042179

LUCIA MAĎAROVÁ, BRIGITTE G DORNER, LARS SCHAADÉ, VLADIMÍR DONÁTH, MÁRIA AVDIČOVÁ, MILOTA FATKULINOVÁ, JOZEF STRHÁRSKY, IVANA SEDLIAČIKOVÁ, CYRIL KLEMENT, MARTIN B DORNER. Reoccurrence of botulinum neurotoxin subtype A3 inducing food-borne botulism, Slovakia, 2015. *Eurosurveillance*, 2017;22(32):pii=30591. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.32.30591>.

## Projekt EuroBioTox

V nadväznosti na vyššie popísanú kauzu sa dňa 01.06. 2017 Slovensko prostredníctvom Informačného centra pre bakteriologické (biologické) a toxínové zbrane zriadeného na Regionálnom úrade verejného zdravotníctva so sídlom v Banskej Bystrici stalo jednou z 23 krajín, ktoré participujú na projekte „*European Programme for the establishment of validated procedures for the detection and identification of biological toxins*“ (EuroBioTox). Do projektu sa zapojilo viac ako 50 európskych organizácií. Zvýšiť schopnosť diagnostiky vybraných toxínov, vytvoriť sieť laboratórií schopných diagnostikovať toxíny a tým čeliť bioterorizmu sú niektoré z cieľov projektu. Dôležitým cieľom projektu je taktiež vyprodukovanie certifikovaných referenčných materiálov slúžiacich na vyhodnotenie diagnostiky prítomnosti toxínov ako aj vypracovanie štandardných pracovných postupov na jednotlivé metódy dôkazu toxínov. Projekt je rozdelený do celkovo 10 pracovných balíkov a vytvorila možnosť zúčastniť sa tréningových programov a workshopov v zahraničných laboratóriách. Koordinátorom projektu je Robert Koch Inštitút (Berlín, Nemecko). Projekt je financovaný z Programu Horizon 2020. Mnohé nedávne udalosti vo svete ako aj v rámci Európy spôsobili ohrozenie spoločnosti rôznymi teroristickými atakmi vrátane možnosti použitia rôznych biologických toxínov. Stále viac z tohto dôvodu narastá potreba pripravenosti, ktorá vytvára predpoklad možnosti čeliť hrozbám podobného charakteru. Tento projekt má veľký význam pri vytvorení paneurópskej siete laboratórií schopných diagnostikovať biologické hrozby.

## Ďalšie medzinárodné projekty na OLM RÚVZ BB

### ERLNPert-Net

V rokoch 2010-2014 bolo RÚVZ BB cez NRC pre pertussis a parapertussis zapojené do projektu "Coordination of activities for laboratory surveillance of whooping cough in Member States and European Economic Area (EEA) countries". Projekt bol financovaný ECDC. V nadväznosti naň bol schválený ďalší projekt v oblasti diagnostiky a surveillance pertussis v trvaní od roku 2015 do roku 2019 s názvom „European Pertussis Laboratory Network“ (EU.PertLabNET). V roku 2020 bolo Slovensko cez NRC pre pertussis a parapertussis zapojené do projektu organizovaného ECDC pod názvom „ERLNPert-Net European Reference Laboratory Network for Pertussis experts funded by ECDC.“ Hlavným cieľom vytvorenej siete a projektu je zabezpečiť integrovaný dohľad nad pertussis v Európe. Koordinujúcim pracoviskom je inštitút THL vo Fínsku, Turku, s ktorým má NRC dlhodobú dobrú spoluprácu.

BERBERS, G., GAGELDONK, van P., KASSTEELE, van de J., WIEDERMANN, U., DESOMBERE, I., DALBY, T., TOUBIANA, J., TSIODRAS, S., FERENCZ, I. P., MULLAN, K., GRISKEVICIUS, A., KOLUPAJEVA, T., VESTRHEIM, D. F., PALMINHA, P., POPOVICI, O., WEHLIN, L., KASTRIN, T., **MAĎAROVÁ L.**, CAMPBELL, H., KODMON, C., BACCI, S., BARKOFF, A.-M. HE, Q., SEROSURVEILLANCE STUDY TEAM [VLIET, van J., ... , AVDIČOVÁ, M.,..., MERTSOLA, J.]: Circulation of pertussis and poor protection against diphtheria among middle-aged adults in 18 European countries. In: *Nature communications* [(IF 14.919)]. - ISSN 2041-1723. - Vol. 12, no. 1 (2021), 2871.

### PSERENADE

Cez NRC pre pneumokokové a hemofilové nákazy sa RÚVZ BB zapojilo do medzinárodného projektu s názvom Pneumococcal Serotype Replacement and Distribution Estimation (PSERENADE) Project, slúžiaceho na vyhodnotenie vplyvu plošnej vakcinácie konjugovanými vakcínami PCV10 a PCV13, projekt je koordinovaný WHO, John Hopkins Hospital a International Vaccine Center.

JULIA C BENNETT<sup>1</sup>, MARISSA K HETRICH<sup>1</sup>, MARIA GARCIA QUESADA<sup>1</sup>, JENNA N SINKEVITCH<sup>1</sup>, MARIA DELORIA KNOLL<sup>1</sup>, DANIEL R FEIKIN<sup>2</sup>, SCOTT L ZEGER<sup>1</sup>, EUNICE W KAGUCIA<sup>3</sup>, ADAM L COHEN<sup>4</sup>, KROW AMPOFO<sup>5</sup>, MARIA-CRISTINA C BRANDILEONE<sup>6</sup>, DANA BRUDEN<sup>7</sup>, ROMINA CAMILLI<sup>8</sup>, JESÚS CASTILLA<sup>9,10</sup>, GUANHAO CHAN<sup>11</sup>, HEATHER COOK<sup>12</sup>, JENNIFER E CORNICK<sup>13,14</sup>, RON DAGAN<sup>15</sup>, TINE DALBY<sup>16</sup>, KOSTAS DANIS<sup>17</sup>, SARA DE MIGUEL<sup>18</sup>, PHILIPPE DE WALS<sup>19</sup>, STEFANIE DESMET<sup>20,21</sup>, THEANO GEORGAKOPOULOU<sup>22</sup>, CHARLOTTE GILKISON<sup>23</sup>, MARTA GRGIC-VITEK<sup>24</sup>, LAURA L HAMMITT<sup>1,3</sup>, MARKUS HILTY<sup>25</sup>, PAK-LEUNG HO<sup>26</sup>, SANJAY JAYASINGHE<sup>27</sup>, JAMES D KELLNER<sup>28</sup>, JACKIE KLEYNHANS<sup>29,30</sup>, MIRJAM J KNOL<sup>31</sup>, JANA KOZAKOVA<sup>32</sup>, KARL G KRISTINSSON<sup>33</sup>, SHAMEZ N LADHANI<sup>34</sup>, LAURA MACDONALD<sup>35</sup>, GRANT A MACKENZIE<sup>36,37,38</sup>, **LUCIA MAD'AROVÁ**<sup>39</sup>, ALLISON MCGEER<sup>40</sup>, JOLITA MERECKIENE<sup>41</sup>, EVA MORFELDT<sup>42</sup>, TUYA MUNGUN<sup>43</sup>, CARMEN MUÑOZ-ALMAGRO<sup>9,44,45</sup>, J PEKKA NUORTI<sup>46,47</sup>, METKA PARAGI<sup>48</sup>, TAMARA PILISHVILI<sup>49</sup>, RODRIGO PUENTES<sup>50</sup>, SAMIR K SAHA<sup>51</sup>, AALISHA SAHU KHAN<sup>52</sup>, LARISA SAVRASOVA<sup>53,54</sup>, J ANTHONY SCOTT<sup>3</sup>, ANNA SKOCZYŃSKA<sup>55</sup>, SHIGERU SUGA<sup>56</sup>, MARK VAN DER LINDEN<sup>57</sup>, JENNIFER R VERANI<sup>49,58</sup>, ANNE VON GOTTBERG<sup>29,59</sup>, BRITA A WINJE<sup>60</sup>, INCI YILDIRIM<sup>61</sup>, KHALID ZEROALI<sup>62,63</sup>, KYLA HAYFORD<sup>1</sup>, THE PSERENADE TEAM [62 aut.]: Changes in Invasive Pneumococcal Disease Caused by *Streptococcus pneumoniae* Serotype 1 Following Introduction of PCV10 and PCV13: Findings from the PSERENADE Project. In: *Microorganisms* [(IF 4.128)]. - ISSN 2076-2607. - Vol. 9, no. 4 (2021), 696. - Doi: 10.3390/microorganisms9040696.

MARIA DELORIA KNOLL 1,\* , JULIA C. BENNETT 1 , MARIA GARCIA QUESADA 1 , EUNICE W. KAGUCIA 2 , MEAGAN E. PETERSON 1 , DANIEL R. FEIKIN 3 , ADAM L. COHEN 4,‡ , MARISSA K. HETRICH 1 , YANGYUPEI YANG 1 , JENNA N. SINKEVITCH 1 , KROW AMPOFO 5 , LAURIE AUKES 6 , SABRINA BACCI 7 , GODFREY BIGOGO 8 , MARIA-CRISTINA C. BRANDILEONE 9 , MICHAEL G. BRUCE 10 , ROMINA CAMILLI 11 , JESÚS CASTILLA 12,13 , GUANHAO CHAN 14 , GRETTEL CHANTO CHACÓN 15 , PILAR CIRUELA 12,16 , HEATHER COOK 17 , MARY CORCORAN 18 , RON DAGAN 19 , KOSTAS DANIS 20 , SARA DE MIGUEL 21 , PHILIPPE DE WALS 22 , STEFANIE DESMET 23,24 , YVONNE GALLOWAY 25 , THEANO GEORGAKOPOULOU 26 , LAURA L. HAMMITT 1,2 , MARKUS HILTY 27 , PAK-LEUNG HO 28 , SANJAY JAYASINGHE 29 , JAMES D. KELLNER 30 , JACKIE KLEYNHANS 31,32 , MIRJAM J. KNOL 33 , JANA KOZAKOVA 34 , KARL GÚSTAF KRISTINSSON 35 , SHAMEZ N. LADHANI 36 , CLAUDIA S. LARA 37 , MARIA EUGENIA LEÓN 38 , TIIA LEPP 39 , GRANT A. MACKENZIE 40,41,42 , **LUCIA MAD'AROVÁ 43** , ALLISON MCGEER 44 , TUYA MUNGUN 45 , JASON M. MWENDA 46 , J. PEKKA NUORTI 47,48 , NÉHÉMIE NZOYIKORERA 49,50 , KAZUNORI OISHI 51 , LUCIA HELENA DE OLIVEIRA 52 , METKA PARAGI 53 , TAMARA PILISHVILI 54 , RODRIGO PUENTES 55 , ERIC RAFAI 56 , SAMIR K. SAHA 57 , LARISA SAVRASOVA 58,59 , CAMELIA SAVULESCU 60 , J. ANTHONY SCOTT 2 , KEVIN J. SCOTT 61 , FATIMA SERHAN 4 , LENA PETROVA SETCHANOVA 62 , NADJA SINKOVEC ZORKO 63 , ANNA SKOCZY ŃSKA 64 , TODD D. SWARTHOUT 65,66 , PALLE VALENTINER-BRANTH 67 , MARK VAN DER LINDEN 68 , DIDRIK F. VESTRHEIM 69 , ANNE VON GOTTBERG 31,70 , INCI YILDIRIM 71 , KYLA HAYFORD 1,§ AND THE PSERENADE TEAM. Global Landscape Review of Serotype-Specific Invasive Pneumococcal Disease Surveillance among Countries Using PCV10/13: The Pneumococcal Serotype Replacement and Distribution Estimation (PSERENADE) Project. *Microorganisms* 2021, 9, 742. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040742>.

### **Projekty realizované s podporou Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky na Oddelení lekárskej mikrobiológie RÚVZ BB.**

V roku 2016 sa podarilo oddeleniu lekárskej mikrobiológie RÚVZ získať finančnú podporu Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky (MZ SR) pre dva projekty z oblasti lekárskej mikrobiológie. Projekty boli realizované v rokoch 2016-2019 a zodpovednými riešiteľmi boli prof. MUDR. Cyril Klement, CSc. a RNDr. Renáta Kissová, PhD..

#### **Projekt „Nosičstvo *Streptococcus pneumoniae* v detskej populácii na Slovensku“ NSPDP**

Slovami pána prof. MUDr. Svetozára Dluholuckého, CSc.: „*Pneumokoková „story“ je nepochybne jednou z najzaujímavejších kapitol vo vzťahu človek a mikrób na prelome tohto milénia. Ešte na konci 20. storočia sa *Streptococcus pneumoniae* svojim klinickým a epidemiologickým významom nijako nevyčleňoval zo skupiny G+ baktérií – so zlatým stafylokokom, či pyogénnym streptokokom. Skôr naopak. Sústredený výskum však prinášal čoraz viac poznatkov, ktoré hlavne v 90-tych rokoch bolo možné zhrnúť do jednej vety: *Streptococcus pneumoniae* je nepochybne jedným z najzávažnejších bakteriálnych patogénov podieľajúcich sa na chorobnosti a úmrtnosti človeka vo všetkých vekových skupinách.*“ Aj z tohto dôvodu je nevyhnutné venovať tomuto agens pozornosť nielen na vrchole pyramídy pneumokokových ochorení, ktorými sú invazívne pneumokokové ochorenia (IPO), ale aj na jej základni, kde široko kraľuje nosohtlanové nosičstvo, ktoré často predchádza vzniku samotného IPO. Cieľom realizovaného projektu bolo zistenie miery nosičstva *Streptococcus pneumoniae* u detskej populácie v rizikovej kategórii detí do 5 rokov veku, ktoré sú očkované buď čiastočne vzhľadom na vek (0 ročné deti) alebo sú očkované plne (1 - 4 ročné deti) konjugovanými pneumokokovými vakcínami (PCV) používanými v rámci Národného imunizačného programu. Vzorky nazofaryngeálnych výterov získané od zdravých detí na reprezentatívnych územiach Slovenska (západ, stred, východ) v celkovom počte 938 (do výstupov projektu bolo zaradených spolu 921 výterov) boli podrobené kvalitatívnym vyšetreniam klasickými kultivačnými metódami ako aj analýze molekulárno-biologickými metódami (real-time PCR). U kultivačne pozitívnych vzoriek bol

stanovený sérotyp *S. pneumoniae*, vďaka čomu bolo následne možné stanoviť zloženie nosičských sérotypov a hodnotiť vplyv plošného očkovania na zloženie nosičských sérotypov v podmienkach plošného očkovania dvoma vakcínami s rôznou valenciou. Slovensko bolo čo sa vakcinácie proti pneumokokom týka veľmi špecifickým prípadom, kedy boli do Národného imunizačného programu zaradené obe dostupné konjugované vakcíny, tak PCV10 ako aj PCV13, o to je pohľad na nosohltanové nosičstvo zaujímavejší. Projekt priniesol absolútne nové poznatky v oblasti diagnostiky pneumokokov na úrovni sérotypov. Poďakovanie za realizáciu tohto projektu určite patrí Ministerstvu zdravotníctva Slovenskej republiky, ktoré sa rozhodlo projekt „Nosičstvo *Streptococcus pneumoniae* v detskej populácii na Slovensku“ podporiť. Naša vďaka patrí aj všetkým lekárom špecialistom a všeobecným lekárom pre deti a dorast, ktorí odbery biologického materiálu spolu s pracovníčkami NRC (RNDr. Lucia Maďarová, PhD. a RNDr. Michaela Mancoš, PhD.) po celom Slovensku od východu na západ realizovali, ako aj rodičom detí, ktorí sa rozhodli na projekte participovať a poskytli potrebné údaje a súhlasili s odbermi biologického materiálu ich detí. Na projekte úzko spolupracovali aj pracovníci oddelení epidemiológie príslušných Regionálnych úradov verejného zdravotníctva, ktorí boli nápomocní pri výbere predškolských zariadení zaradených do projektu, veľmi si vážime naše vzájomné dlhodobé dobré pracovné vzťahy. Deti, ktoré boli po súhlase rodičov resp. zákonných zástupcov do projektu zaradené vniesli do neho neopakovateľnú atmosféru a zážitky. Výstupy projektu boli publikované formou monografie a letákov, ktoré boli distribuované do ambulancií všeobecných lekárov pre deti a dorast ako informačné materiály.

**MAĎAROVÁ, L., BOTTKOVÁ, E., MANCOŠ, M., LAPUNÍK, R., AVDIČOVÁ, M., KLEMENT, C.:** Nosičstvo *Streptococcus pneumoniae* v detskej populácii na Slovensku, 2019, ISBN 978-80-89057-83-2, p. 73.

***Projekt „Enterovírusy cirkulujúce v Slovenskej republike, genotypové a fenotypové charakteristiky vybraných vírusov“ EVGAF***

V roku 2017 bol MZ SR schválený projekt Enterovírusy cirkulujúce v Slovenskej republike, genotypové a fenotypové charakteristiky vybraných vírusov (EVGAF), ktorý sa realizoval v rokoch 2017-2019. Vedúcou projektu bola RNDr. Renáta Kissová, PhD. Projekt bol realizovaný v spolupráci s Laboratóriom pre enterovírusy na SZU v Bratislave, pod vedením prof. RNDr. Shubhady Bopegamage, CSc. Projekt prispel k porozumeniu problému patogenézy coxsackievírusovej infekcie po viacnásobnej infekcii rôznymi, resp. rovnakými sérotypmi Coxsackievírusov B na experimentálnom modeli, s použitím izolátov z odpadových vôd v regióne Stredného Slovenska. Výsledky projektu boli prezentované na viacerých domácich a zahraničných konferenciách a publikované vo viacerých indexovaných časopisoch. V roku 2020 bola vypracovaná záverečná hodnotiacia správa k tomuto projektu. V roku 2022 vyšli v časopise *Viruses* dva články o histórii a súčasnosti surveillance enterálnych vírusov na Slovensku, ktoré mapujú túto surveillance od jej archívne dohľadateľných začiatkov zo začiatku 60-tych rokov 20 storočia do roku 2020.

**KISSOVÁ, R., PASTUCHOVÁ, K., LENGYELOVÁ, V., SVITOK, M.; MIKAS, J.; KLEMENT, C.; BOPEGAMEGE, S.:** History of the Wastewater Assessment of Polio and Non-Polio Enteroviruses in the Slovak Republic in 1963–2019. *Viruses* [IF 5.818]. - Basel, Switzerland: Multidisciplinary Digital Publishing Institute. - ISSN 1999-4915. - Roč. 14, č. 8 (2022), s. 1-10, art. no. 1599. - DOI: 10.3390/v14081599. - SCOPUS/WoS.

**KISSOVÁ, R., PASTUCHOVÁ, K., LENGYELOVÁ, V., SVITOK, M.; MIKAS, J.; KLEMENT, C.; BOPEGAMEGE, S.:** Surveillance Program of Clinical Samples for Polio and Non-Polio Enteroviruses in the Slovak

Republic during the 1958–2020 Period. Viruses [IF 5.818]. - Basel, Switzerland: Multidisciplinary Digital Publishing Institute. - ISSN 1999-4915. - Vol. 14, issue 9 (2022), p. 1-11, art. no. 1957. - DOI: 10.3390/v14091957. - SCOPUS/WoS.

## **SARS-CoV-2**

V roku 2019 ochorenie COVID-19 spôsobené vírusom SARS-CoV-2 zachvátilo celý svet, Slovensko nevyvímajúc, a postupne nadobudlo charakter pandémie. Prvý prípad bol na Slovensku potvrdený 06. marca 2020. Laboratórium molekulárnej biológie Oddelenia lekárskej mikrobiológie (v súčasnosti Odbor lekárskej mikrobiológie) Regionálneho úradu verejného zdravotníctva so sídlom v Banskej Bystrici bolo druhým pracoviskom na Slovensku, ktoré sa zapojilo do diagnostiky SARS-CoV-2 pomocou molekulárno-biologických metód dôkazu. S vyšetrovaním vzoriek sa na RÚVZ BB začalo v nedeľu dňa 15.03.2020. V priebehu prvých troch mesiacov bolo na RÚVZ BB so zapojením sa väčšiny zamestnancov aj z iných laboratórií (výpomoc a služby v laboratóriu) a oddelení či odborov (výpomoc v administratíve) vyšetrených viac vzoriek ako za uplynulých 5 rokov (ide o čisto matematické vyjadrenie). V priebehu roku 2020 bolo na RÚVZ vyšetrených viac ako 81 tisíc vzoriek na prítomnosť SARS-CoV-2 (20 tisíc vzoriek bolo vyšetrených v spolupráci so Štátnym veterinárnym a potravinovým ústavom vo Zvolene, pričom administratívne boli všetky vzorky spracované na RÚVZ BB). V roku 2021 sa potreba diagnostiky tohto agens rozrástla do gigantických rozmerov a bolo nevyhnutné zapojiť do vyšetrovania aj súkromné laboratóriá. V roku 2021 bola na RÚVZ BB vyšetrených viac ako 41 tisíc vzoriek. V roku 2022 počet vyšetrených vzoriek na prítomnosť SARS-COV-2 klesol v dôsledku utíchajúcej pandémie na viac ako 9700.

Tak obrovský nápor vzoriek si vyžiadala na jednej strane enormné nasadenie personálu na úkor akéhokoľvek iného času. Práca v laboratóriu prebiehala od skorých ranných hodín do neskorých večerných resp. nočných hodín. Bolo nevyhnutné zapojiť do diagnostiky tohto agens aj pracovníkov z iných laboratórií aby sa predišlo úplnému vyčerpaniu zamestnancov, pracovníkov oddelenia lekárskej mikrobiológie laboratória molekulárnej biológie. S postupujúcim náporom potreby zvýšiť počet vyšetrených vzoriek bolo nevyhnutné investovať do obnovy infraštruktúry laboratórií verejného zdravotníctva a dovybaviť ho novými technológiami a automatizovanými systémami, ktoré pomohli zvýšiť výkon laboratória aj personálu. Zároveň boli na pracovisko oddelenia lekárskej mikrobiológie ale aj iných oddelení (podieľajúcich sa na administratíve a legislatíve súvisiacej s pandemiou COVID-19) prijaté nové pracovné posily.

## **Inovácia existujúcej infraštruktúry OLM**

Laboratórium molekulárnej biológie bolo dovybavené aj novými najmodernejšími prístrojmi ako sú automatické izolátory, real-time PCR cykly ale aj Digital Droplet PCR (ddPCR, digitálna PCR), ktorá umožňuje absolútnu kvantifikáciu. Digitálna PCR slúži predovšetkým na diagnostiku SARS-CoV-2 v odpadových vodách. V neposlednom rade bol na toto pracovisko zakúpený sekvenátor, pomocou ktorého je možné vykonávať celogenómovú sekvenáciu (WGS) a bol využívaný na mapovanie kolujúcich typov a variantov SARS-CoV-2 na Slovensku.

S novou prístrojovou infraštruktúrou sa Odbor lekárskej mikrobiológie RÚVZ BB stal pracoviskom schopným participovať na projektoch medzinárodného charakteru v oblasti mikrobiológie.

## Využitie novej infraštruktúry v tzv. „post covidovom“ období

Na RÚVZ so sídlom v Banskej Bystrici sú zriadené aj Národné referenčné centrá pre pertussis a parapertussis ako aj NRC pre pneumokokové a hemofilové nákazy či NRC pre toxoplazmózu. Úlohou jednotlivých NRC je aj nadstavbová diagnostika na národnej úrovni s napojením sa na medzinárodné projekty a štruktúry. Zaradenie celogenómového sekvenovania (WGS) do diagnostiky jednotlivých agens je hlavným bodom stratégie na rozvoj verejného zdravotníctva v rámci ECDC (ECDC public health microbiology strategy (europa.eu)). Pričom *Bordetella pertussis* rovnako ako *Streptococcus pneumoniae* boli doplnené ako prioritné ukazovatele, ktoré majú byť diagnostikované pomocou WGS a dáta získané takouto formou budú zdieľané na medzinárodnej úrovni, čo zaistí ich dostatočnú komparabilitu a umožní lepšiu kontrolu nad ochoreniami, ktoré spôsobujú. Tak *Bordetella pertussis* ako aj *Streptococcus pneumoniae* či *Haemophilus influenzae* patria medzi pôvodcov ochorení, ktoré sú vakcínou preventabilné a sú súčasťou Národného imunizačného programu. Zavedenie sekvenácie do diagnostiky Invazívnych pneumokokových ochorení prispeje ku zefektívneniu sledovania účinnosti vakcín implementovaných v Národnom imunizačnom programe. Pričom táto problematika si vyžaduje osobitnú pozornosť vzhľadom na dve vakcíny dostupné v našom imunizačnom programe, ktoré majú rôznu valenciu. Pertussis patrí v súčasnosti medzi najhoršie kontrolované vakcínou preventabilné ochorenia. Napriek celosvetovo dobrej zaočkovanosti proti pertussis, Slovensko nevnímajúc, v posledných rokoch v takmer všetkých krajinách sveta narastá incidencia tohto ochorenia a to nielen v nezaočkovanej populácii ale aj vo vyšších vekových kategóriách. ECDC z tohto dôvodu zaradilo pertussis a analýzu kmeňov *Bordetella pertussis* izolovaných z jednotlivých ochorení pomocou WGS medzi priority rozvoja stratégie verejného zdravotníctva (ECDC public health microbiology strategy 2018–2022 (europa.eu)). Novovzniknutá infraštruktúra (ddPCR, WGS) bude v budúcnosti využívaná taktiež na intratypovú identifikáciu a diferenciaciu enterálnych vírusov, ktorých diagnostikou sa zaoberá laboratórium lekárskej virológie RÚVZ BB. Táto úloha je naviazaná na odporúčania Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO). V rámci programu stratégie rozvoja verejného zdravotníctva ECDC na roky 2018 – 2022 a ďalšie obdobie je jednou z priorit aj identifikácia a typizácia *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.*, *STEC* a *VTEC*. Sekvenácia kmeňov vyššie vymenovaných agens izolovaných z potravín posunie diagnostiku týchto agens na medzinárodne vyžadovanú úroveň, ktorú v súčasnosti a pri aktuálnom laboratórnom vybavení nie sme schopní dosiahnuť. Sekvenácia by v neposlednom rade bola využívaná taktiež na analýzy pri peľovom monitoringu ako súčasť veľmi podrobnej analýzy na celoslovenskej úrovni.

## Imunologické prehľady SR 2018

Na základe rozhodnutia MZ zdravotníctva SR a hlavného hygienika bol v roku 2018 realizovaný **Viacúčelový imunologický prehľad v SR**, ktorý bol zameraný na zisťovanie stavu imunity populácie pre vybrané infekčné ochorenia. Pozornosť bola zameraná na osýpky, mumps, ružienku, vírusové hepatitídy A, B a C. V tejto súvislosti pracovisko OLM RÚVZ BB zabezpečovalo v mesiacoch jún-október 2018 logistiku, spracovanie a vyšetrovanie všetkých vzoriek sér na protilátky proti vírusovým hepatitídám A, B a C. Vyšetrovali sme 7 ukazovateľov: anti-HAV, IgM HAV, HBsAg, anti-HBs, anti-HBc, anti-HCV a IgG HCV WB (konfirmačne). V rámci tejto mimoriadnej úlohy sme vyšetrili 4 232 vzoriek sér, čo predstavuje 35 894 analýz. Na realizácii imunoprehľadov sa podieľali všetci zamestnanci laboratória sérologie, konkrétne laborantky Oravcová, Hašková a Laštiaková. Vedúci OLM Dr. Strhársky bol členom koordinačného tímu pre imunologické prehľady, podieľal sa na príprave súvisiacich metodických

odborných usmernení pre odber vzoriek a vyšetrenie protilátok. Záverečná hodnotiacia správa bola publikovaná v roku 2019. Na splnenie úloh vyplývajúcich z imunoprehľadov laboratórium sérológie získalo nové prístrojové vybavenie potrebné na ich realizáciu: centrifúga, premývačka, reader, veľkokapacitná laboratórna mraznička a sada automatických pipiet.

Personálie OLM od roku 2015:

V období rokov 2016-2022 došlo na OLM k nasledovným personálnym zmenám:

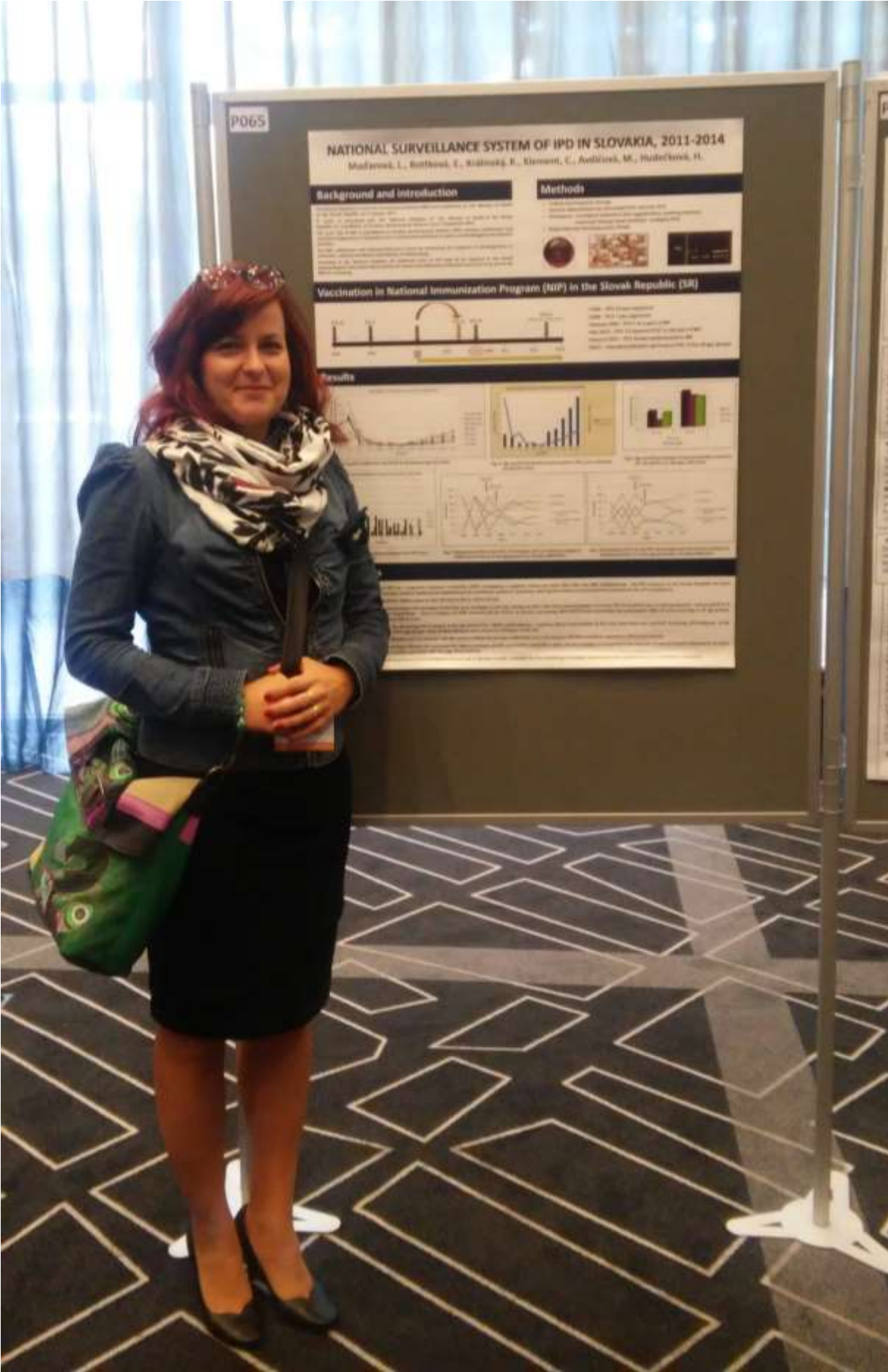
Zamestnanci, ktorí odišli:

Klementová Viera (2016) – vedúca laborantka OLM, dôchodok  
RNDr. Bottková Edita, PhD.- iné zamestnanie  
Hašková Daniela (2020) – lab. sérológie, dôchodok  
Jelínková Božena (2021) – lab. mikrobiológie potravín, zomrela  
Koreňová Anna (2022) – lab. mikrobiológie potravín, dôchodok  
Krišková Anna (2022) – lab. mikrobiológie vôd, dôchodok  
Bržuľová Viktória (2022) – lab. sérológie, štúdium VŠ  
Harineková Mária (2018) – sanitárka, dôchodok  
Matušková Elena (2019) – vrátnik/informátor, dôchodok  
Veljačiková Marta (2019) – sanitárka, zomrela

Noví zamestnanci:

Mgr. Ing. Mjartanová Ivana (2016) – BŽP  
RNDr. Mancoš Michaela, PhD. (2017) – lab. molekulárnej biológie  
Mgr. Hunáková Anna (2018) – MŽP  
Mgr. Sluková Veronika (2019) MŽP  
Ing. Tomajková Terézia (2021) – lab. molekulárnej biológie  
Mgr. Pristýáková Alžbeta (2021) – lab. molekulárnej biológie  
Mgr. Feiková Soňa, PhD. (2022) – lab. molekulárnej biológie  
Mgr. Veselovská Viktória (2022) – lab. sérológie  
Kriššáková Veronika (2018) – lab. mikrobiológie vôd  
Bržuľová Viktória (2020) – lab. sérológie  
Mrváňová Ľubica (2021) – lab. mikrobiológie potravín  
Targošová Andrea (2018) – sanitárka  
Švantnerová Andrea (2020) – vrátnik/informátor





P065

### NATIONAL SURVEILLANCE SYSTEM OF IPD IN SLOVAKIA, 2011-2014

Mačková, L., Rottková, E., Ráznok, B., Klement, C., Audíček, M., Hrubčík, H.

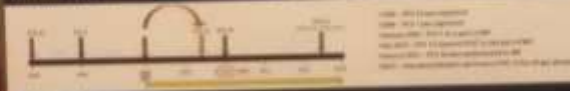
#### Background and Introduction

Background and Introduction text describing the surveillance system and its importance in Slovakia.

#### Methods

Methods text detailing the surveillance methods and data collection procedures.

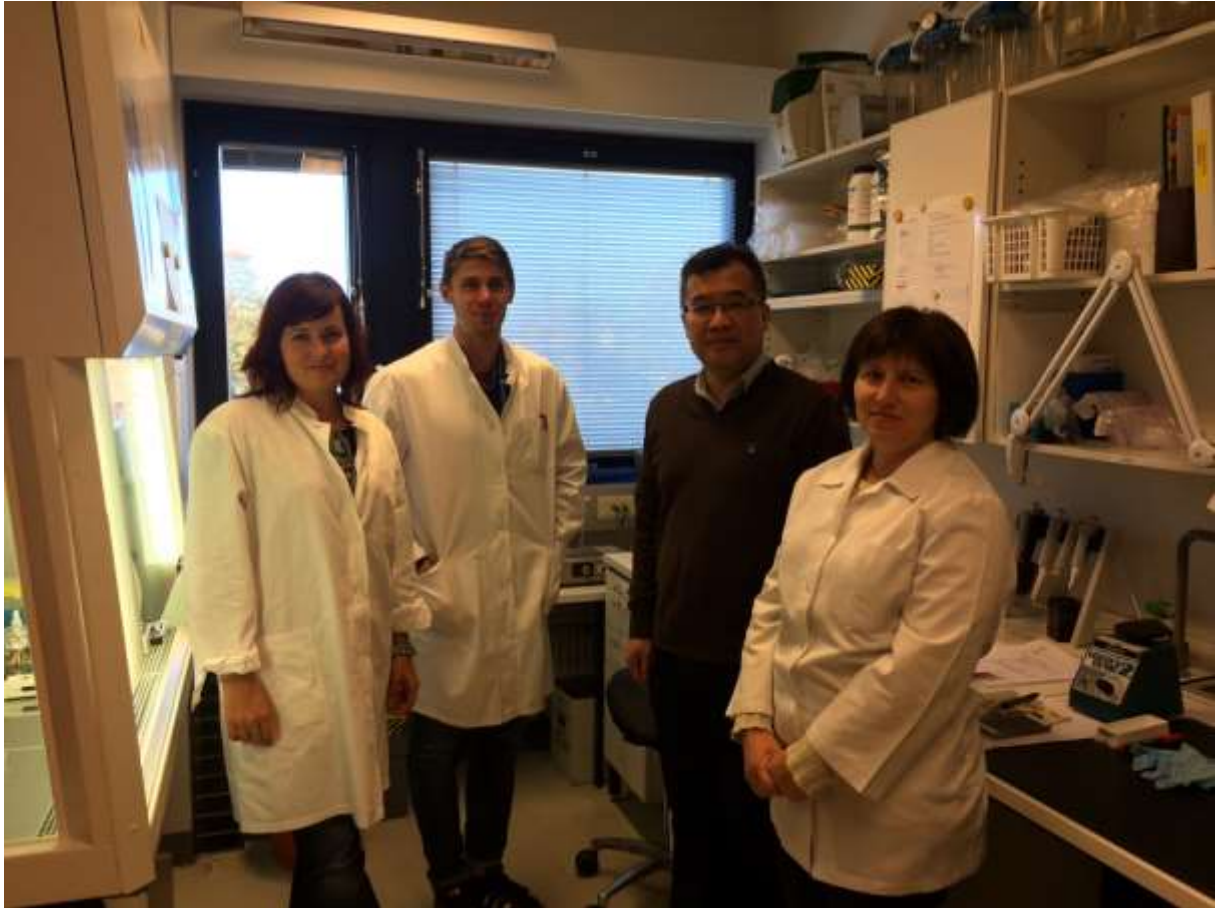
#### Vaccination in National Immunization Program (NIP) in the Slovak Republic (SR)



#### Results



Results text providing a summary of the findings and conclusions from the surveillance system.



**Fínsko, Turku 20, Lucia Maďarová**

### Z publikácie **80 rokov RÚVZ v Banskej Bystrici**

Na oddelenie virológie nastúpila v roku 1972 MVDr. Vierka Kohútová a pracovala vyše 30 rokov. Oddelenie bolo rozdelené na 2 úseky, úsek polio a enterálnych vírusov /prom. biol Magda Sedileková/ a úsek diagnostiky chrípky a respiračných vírusov. Vedúcou odboru mikrobiológie bola MUDr Štefánia Bolchová, súčasne vedúcou virologického oddelenia. V tomto období tu pracovali 4 laborantky Mária Bullová, Eleonóra Furdíková, Mária Novotná, Anna Šutovská, Eva Snopková a sanitárka Mária Košťalová. Zdravotnícke vzdelanie mala E. Furdíková, vynikajúca laborantka, JSS /terajšie gymnázium/ E. Snopková a tri mali tzv rodinnú školu. Boli to ženy veľmi učentlivé, pracovité a skromné, ktoré svoj neľahký životný osud znášali obdivuhodne a pre nás mladých, boli v mnohom príkladom.

Pre oddelenie bola vyhradená špeciálna umyváreň skla. Tu pracovali Anna Hríbiková, Emília Majerová, Anna Škropekova za ťažkých podmienok v suteréne budova OÚNZ/, s minimálnym vetraním, pričom sa používali komplikované pracovné postupy pri umývaní skla /kyseliny atď/ Nebolo jednorázových skúmaviek, pipiet, baniek, platničiek atď a tak sa každé sklo muselo čistiť manuálne. Nepamätám sa, že by došlo ku kontaminácii bunkových kultúr alebo k laboratórnej infekcii, pričom sa používali plátenné rúška, ktoré sa menili cca po týždni. Starali sa tiež o zverinec, cicajúce myšky. Náročná práca bola aj vo virologických boxoch, najmä v lete, keď naviac horel horák, pri kultivačných diagnostických metódach, či už na bunkových kultúrach alebo pri očkovaní do chorioallantois kuracích zárodokov, na ktorých sa diagnostikovali chrípkové vírusy. Boli aj služby cez víkendy /na očkovanie cicajúcich myšiek, starostlivosť o vyliahnuté kuriatka/.

Mali sme výbornú vrchnú sestru Eriku Klobušickú, ktorej organizačné schopnosti a komunikácia s laboratóriami v rámci Československa neraz pomohla prekonať problémy s diagnostikami, sklom, plastami a opravami prístrojov.

Rozsah práce virologického oddelenia zabezpečoval diagnostiku vírusových ochorení v rámci Stredoslovenského kraja a plnenie požiadaviek epidemiologického odboru /surveillance poliomyelitídy, sledovanie protilátok proti rubeole u gravidných a dievčat pred očkovaním, dôkaz chrípky a respiračných vírusov, neskôr *Mycoplasma pneumoniae* a tiež *Chlamydia trachomatis* atď. Odbery na dôkaz respiračných vírusov si virologičky robili sami vo všeobecných ambulanciách pre dospelých, ambulanciách pre deti a dorast, tiež u vojakov. Niekoľkokrát sa nám podarilo zachytiť vírus chrípky v tzv. predchrípkovom období ako prvým, v rámci Československa. Presnú typizáciu nám robilo pracovisko "Chrípková centrála v Prahe" na Státním zdravotnímskú ústavě, po vzniku Slovenskej republiky to bolo NRC pre chrípku na úrade v Bratislave. S epidemiologickým odborom sme spolupracovali tiež pri riešení epidémií kliešťovej encefalitídy a Q horúčky.

V rámci Národného referenčného centra pre *Mycoplasma pneumoniae* sme spolupracovali s MUDr. Ondrejom Drobom, ktorý po skončení funkcie riaditeľa OÚNZ pracoval ako pediater a výborný diagnostik, tiež s primárom RTG oddelenia OÚNZ Igorom Balážom otcom Ing. Alžbety Ďurecovej, PhD., MPH, ktorá pracuje na odbore radiačnej ochrany RÚVZ so sídlom v Banskej Bystrici. Výsledky práce oboch úsekov boli prezentované na mnohých konferenciách a zároveň publikované.

V roku 1991 sa začala naša spolupráca s interným oddelením B Rooseveltovej nemocnice, ktoré začalo s transplantáciou obličiek /MUDr. Barbara Grandtnerová/. Zaviedli sme metódu dôkazu cytomegalovírusu - CMV metódou kultivácie na bunkových kultúrach a ELISA metódou na dôkaz IgM a IgG protilátok. Rozšíriť teoretické vedomosti o diagnostike pomohla Mgr. Marie Sršňová z knižnice. Prístup k internetu nebol taký, ako dnes a jej rýchla orientácia nám pomohla získať informácie z celého sveta.

Rovnako prínosnou bola spolupráca so sexuológom MUDr. Ivanom Kubišom, v období kedy sme zavádzali na oddelení virológie diagnostiku chlamýdií zo vzoriek urogenitálneho traktu.

Prínos pre našu prácu nastal zavedením, to čo je dnes bežné, jednorazových skúmaviek, pipiet, mikroplatničiek a mikrotitrátora Dynatech, tiež zavedením počítačov s pre nás vytvoreným programom, ktorý nahradil ručne písaný systém kartoték. Mikrotitrátor DYNATECH slúžil ešte veľmi dlho a pracovníci fy DYNATECH neverili, že je to tak dlho možné. My sme si tento prístroj, zakúpený priamo z veľtrhu v Brne vážili a bol zakúpený vďaka riaditeľovi Krajského ústavu národného zdravia MUDr. Josefovi Komňovi, CSc. a MUDr. Antonovi Môcikovi, CSc. námestníkovi riaditeľa KÚNZ pre liečebno – preventívnu starostlivosť.

Neskôr pribudli už zdravotnícky vzdelané laborantky Daniela Hašková, Želmíra Gondová, Mária Plíšková, (RNDr. Mária Knapková, PhD.) Eva Rabčanová, Oľga Kútiková, Iveta Abrahámová, ktorá si neskôr zvýšila vzdelanie a získala titul medicínsko-technický laborant. Väčšina z nich absolvovala atestácie /aj Eva Snopková a ďalšie vo vyššom veku/, čo ocenili aj relatívne vyšším dôchodkom. Považujeme zvyšovanie kvalifikácie vysokoškolákov, laborantov za nadhľad MUDr. Cyrila Klementa, Eriky Klobušickej a MVDr. Vierky Kohútovej.

V roku 1991 nastúpila na odbor lekárskej mikrobiológie RNDr. Renáta Kissová, PhD. ktorá začala pracovať na Oddelení parazitológie, neskôr prestúpila na oddelenie lekárskej virológie, ktoré po odchode Vierky Kohútovej, od roku 2000 aj vedie. V súčasnosti na oddelení lekárskej virológie pracujú pod jej vedením laborantky Iveta Abrahámová a Želmíra Gondová. Virologické oddelenie sa zaoberá klasickými kultivačnými virologickými metódami izolácie vírusov na bunkových kultúrach. Cez Národné referenčné centrum pre chrípku a Národné referenčné centrum pre polio je zapojené do dvoch medzinárodných programov WHO. Prvým je surveillance chrípky a chrípke podobných respiračných ochorení, kde aj naše laboratórium prispieva svojimi izolátmi vírusov chrípky. Druhým je program celosvetovej eradikácie poliomyelitídy (detskej obrny). Zároveň s touto surveillance prebieha aj surveillance iných enterálnych vírusov a to nielen vyšetrovaním klinických vzoriek, ale aj vzoriek zo životného prostredia (odpadové vody). Virologické oddelenie sa počas pôsobenia Dr. Kissovej podieľalo na dvoch projektoch. Projekt GVRNA - Vzťah genetickej variability k virulencii RNA vírusov prebiehal v rokoch 2008 až 2012. V roku 2017 bol MZ SR schválený projekt Enterovírusy cirkulujúce v Slovenskej

republike, genotypové a fenotypové charakteristiky vybraných vírusov - EVGAF, ktorý sa realizoval v rokoch 2017-2019. Vedúcou projektu bola RNDr. Renáta Kissová, PhD. Oba projekty bol realizované v spolupráci s Laboratóriom pre enterovírusy na SZU v Bratislave, pod vedením prof. RNDr. Shubhady Bopegamage, CSc. Projekty prispeli k porozumeniu problému patogenézy coxsackievírusovej infekcie po jednoduchej a viacnásobnej infekcii rôznymi, resp. rovnakými sérotypmi Coxsackievírusov B na experimentálnom modeli, s použitím izolátov z odpadových vôd z regiónu Stredného Slovenska. Výsledky projektov boli prezentované na viacerých domácich a zahraničných konferenciách a publikované vo viacerých indexovaných časopisoch. V roku 2022 vyšli v časopise Viruses dva články o histórii a súčasnosti surveillance enterálnych vírusov na Slovensku, ktoré mapujú túto surveillance od jej archívne dohľadateľných začiatkov zo začiatku 60-tych rokov 20 storočia do roku 2020.

1. KISSOVÁ, R., PASTUCHOVÁ, K., LENGYELOVÁ, V., SVITOK, M.; MIKAS, J.; KLEMENT, C.; BOPEGAMAGE, S.: History of the Wastewater Assessment of Polio and Non-Polio Enteroviruses in the Slovak Republic in 1963–2019. Viruses [IF 5.818]. - Basel, Switzerland: Multidisciplinary Digital Publishing Institute. - ISSN 1999-4915. - Roč. 14, č. 8 (2022), s. 1-10, art. no. 1599. - DOI: 10.3390/v14081599. - SCOPUS/WoS.
2. KISSOVÁ, R., PASTUCHOVÁ, K., LENGYELOVÁ, V., SVITOK, M.; MIKAS, J.; BOPEGAMAGE, S., KLEMENT, C.: Surveillance Program of Clinical Samples for Polio and Non-Polio Enteroviruses in the Slovak Republic during the 1958–2020 Period. Viruses [IF 5.818]. - Basel, Switzerland: Multidisciplinary Digital Publishing Institute. - ISSN 1999-4915. - Vol. 14, issue 9 (2022), p. 1-11, art. no. 1957. - DOI: 10.3390/v14091957. - SCOPUS/WoS.



**Polio meetnig Kodaň 2017, Renáta Kissová**



**Polio meetnig Kodaň 2019, Renáta Kissová**