

Univerzita Karlova

Pedagogická fakulta

Katedra biologie a environmentálních studií

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Historie *Yersinia pestis* v Evropě z hlediska starodávné DNA

The history of *Yersinia pestis* in Europe from the perspective of ancient DNA

Veronika Nováková

Vedoucí práce: RNDr. Ing. Edvard Ehler, PhD.

Studijní program: Specializace v pedagogice

Studijní obor: Biologie, geologie a environmentalistika se zaměřením na
vzdělávání — Chemie se zaměřením na vzdělávání

Odevzdáním této bakalářské práce na téma Historie *Yersina pestis* z hlediska starodávné DNA potvrzuji, že jsem ji vypracovala pod vedením vedoucího práce samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále potvrzuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

4. 12. 2023 Praha

Nejprve bych chtěla poděkovat RNDr. Ing. Edvardu Ehlerovi, Ph.D. za jeho trpělivost a ochotu. Dále byla ráda poděkovala své rodině a přátelům za jejich podporu na nekonečné cestě k cíli.

ABSTRAKT

Yersinia pestis je gramnegativní bakterie, která byla na konci devatenáctého století odhalena jako původce moru. *Y. pestis* je blízce příbuzná *Y. pseudotuberculosis*, od níž se liší přítomností určitých virulentních faktorů. Právě virulentní faktory umožňují *Y. pestis* efektivní přežití v hmyzích vektoru, kterým je blecha. Blecha poté zajišťuje úspěšný přenos bakterie na obratlovce, což je nejčastěji hlodavec, případně člověk. Bakterie je geneticky vybavena tak, aby unikla imunitnímu systému. Během lidské historie proběhly tři morové pandemie, Justiniánský mor, Černá smrt a moderní pandemie, u všech z nich byla pomocí aDNA z kosterních pozůstatků potvrzena přítomnost *Y. pestis*. Mor způsobil i epidemie v době bronzové. Sekvenace aDNA a zdokonalování molekulárních metod při studiu historických pandemií se jeví jako vhodná strategie pro pochopení možných budoucích pandemií. Pomocí aDNA lze zjistit nejen fylogenezi patogenů, ale je možné i sledovat změny genofondu populace napříč historií a jak v souvislosti s migracemi, tak i možnými změnami způsobenými samotným morem.

KLÍČOVÁ SLOVA

mor, bakterie, migrace, populace, mikrobiologie, starodávná DNA

ABSTRACT

Yersinia pestis is a gram-negative bacterium that was discovered as the causative agent of plague in the late nineteenth century. *Y. pestis* is closely related to *Y. pseudotuberculosis*, from which it differs in the presence of certain virulence factors. It is the virulence factors that allow *Y. pestis* to survive effectively in the insect vector, which is the flea. The flea then ensures successful transmission of the bacterium to the vertebrate host, which is most often a rodent or human. The bacterium is genetically equipped to escape the immune system. There have been three plague pandemics during human history, the Justinian Plague, the Black Death and the modern pandemic, all of which have been confirmed by aDNA from skeletal remains to contain *Y. pestis*. The plague also caused epidemics in the Bronze Age. Sequencing of aDNA and refinement of molecular methods in the study of historical pandemics appears to be a useful strategy for understanding possible future pandemics. Using aDNA, not only can the phylogeny of pathogens be determined, but it is also possible to track changes in the gene pool of a population across history, both in relation to migrations and possible changes caused by the plague itself.

KEYWORDS

black plague, bacteria, migration, population, microbiology, ancient DNA

Obsah

Úvod	6
Cíle bakalářské práce	6
1. Rod <i>Yersinia</i> a objev původce moru	8
1.1. Objevitel původce moru	8
1.2. <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> a <i>Yersinia enterocolitica</i>	10
1.3. Charakteristika <i>Yersinia pestis</i>	10
1.4. Virulentní faktory <i>Y. pestis</i>	12
2. Morové onemocnění	15
2.1. Cyklus <i>Y. pestis</i>	15
2.2. Příznaky morového onemocnění	17
3. Starodávná DNA	19
3.1. Charakteristika aDNA	19
3.2. Extrakce aDNA ze vzorků a další metody zpracování vzorků	21
4. Historie morových epidemií a pandemií	23
4.1. Epidemie v době bronzové a nejstarší nálezy pozůstatků morových epidemií	23
4.2. Justiniánská pandemie	28
4.3. Černá smrt	35
4.4. Moderní pandemie a morová ohniska v 21. století	41
5. Závěr	46
Seznam použitých zdrojů	49
Seznam obrázků	54

Úvod

Co je to mor? Jaký organismus je jeho původcem? Na obě tyto otázky už jsou odpovědi velmi dobře známy a byly zpracovány v mnoha vědeckých i populárně naučných člancích a knihách. Tato bakalářská práce se jako rešeršní práce zaměřuje na shrnutí dosud známých faktů o bakterii *Yersinia pestis* v souvislosti s morovými onemocněními na území Evropy od počátků lidské populace.

Na základě historických záznamů lze s jistotou říci, že lidská populace musela čelit třem morovým pandemiím. Fakt, že se jednalo skutečně o mor způsobený bakterií *Y. pestis*, naznačují nálezy a získaná data molekulárních biologů. První pandemie se datuje přibližně od šestého století našeho letopočtu do poloviny osmého století a označuje se jako Justinianáská pandemie neboli Justinianáský mor. Za necelá dvě století proběhla v osmi vlnách, avšak důvod odeznění této pandemie je neznámý. Druhá pandemie vypukla ve středověku ve čtrnáctém století a označuje se jako Černá smrt. Černá smrt podle historických záznamů způsobila padesáti procentní ztráty na životech tehdejší evropské populace. Třetí pandemie moru propukla v Číně v devatenáctém století. Kromě těchto tří pandemií byly zaznamenány i menší lokální epidemie na různých místech po celém světě. Molekulární analýza vzorků z nalezišť pozůstatků obětí jak Justinianáského moru, tak Černé smrti potvrdila, že původcem je *Y. pestis*, jež se geneticky shodovala se vzorkem *Y. pestis*, která byla izolována z hlodavce odchyceného na území Číny. Dalším společným jmenovatelem těchto dvou pandemií je výrazně rychlejší šíření po celém světě ve srovnání s pandemií v Číně. (Feldman *et al.*, 2016)

Cíle bakalářské práce

Hlavním cílem této bakalářské práce je srovnání historicky doložených pandemií a epidemií, které byly údajně způsobeny morem, s výsledky analýz aDNA izolované z dentálních nálezů na pohřebištích především na území Evropy. Zásadní je otázka, zdali všechny údajné morové rány byly způsobeny pouze bakterií *Yersinia pestis*. Jako pravděpodobnější se zdá možnost, že původci těchto historicky významných pandemií byly jiné mikroorganismy, případně více mikroorganismů zároveň, nebo se jednalo o více faktorů. Jaká byla úroveň hygieny v jednotlivých obdobích? Jaké genetické predispozice spolu s tehdejším životním stylem mohly sehrát klíčovou roli?

Do jaké míry vůbec lze srovnávat rychlost šíření onemocnění, když jednotlivé pandemie od sebe dělí stovky let? Vzhledem k tomu, že shromažďovat data lze jen na základě nalezených pozůstatků obětí a historicky doložených pandemií, je možné získat jen velmi přibližnou

představu o průběhu pandemií. Nicméně je možné zaměřit pozornost na původce, tedy *Y. pestis*, a jeho genetickou výbavu. Proto dalším cílem této práce je charakteristika *Y. pestis*, včetně její genetické výbavy, jež jako intracelulární parazit velmi efektivně využívá při osidlování hostitele.

Pro ucelenou představu o životním cyklu původce moru bude stručně popsán i průběh vlastního morového onemocnění. V tomto směru dokáže věda skutečně pracovat objektivněji než při srovnávání střípků historických záznamů a mnohdy i domněnek v oblasti faktorů životního stylu populace šestého či čtrnáctého století. Přesto se domnívám, že by se tato práce mohla pokusit o syntézu jasných vědeckých faktů spolu s dalšími faktory, které nelze jednoznačně ohraničit v širším kontextu jednotlivých pandemií.

1. Rod *Yersinia* a objev původce moru

Yersinie patří mezi gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky, které se označují jako čeleď *Enterobacteriaceae*. S enterobakteriemi je možné se setkat na celém světě, mohou být patogenní pro člověka, zvířata, hmyz i rostliny. Z hlediska morfologie je nutné zmínit jejich pohyblivost. Pohyblivé jsou všechny rody kromě rodu *Shigella*, *Klebsiella*, výjimku tvoří také druhy *Yersinia pestis* a *Salmonella gallinarum-pullorum*. (Bednář, 1996).

Rod *Yersinia* podle české bakterioložky Evy Aldové zahrnuje následující druhy: *Yersinia pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii*, *Y. aldovae* (Bednář, 1996). O devět let později, tedy k roku 2015, bylo známo již devatenáct druhů a dva poddruhy (Yang, 2016). *Yersinie* mohou být patogenní nejen pro člověka, ale i pro divoká a domestikovaná zvířata. Podle genetické analýzy jsou *yersinie* sice příbuzné s běžnými enterobakteriemi, ale liší si od nich morfologicky, fermentací cukru a menší růstovou rychlostí. (Bednář, 1996)

Následující kapitoly jsou věnovány historii objevu *Y. pestis*, její charakteristice, popisu morového onemocnění a stručné charakteristice. Pro srovnání jsou také uvedeny stručné charakteristiky druhu *Y. pseudotuberculosis* a *Y. enterocolitica*. Oba tyto druhy jsou významnými patogeny. Pokud způsobují onemocnění člověka, typické symptomy se často podobají symptomům morového onemocnění.

1.1. Objevitel původce moru

Alexandre Yersin (1863–1943) byl švýcarský vědec, který se věnoval studiu medicíny v Laussaune, Malburgu a Paříži. V Paříži se zaměřil na výzkum toxinů u *Corynebacterium diphtheriae*, jež je původcem záškrtu. Poté v roce 1890 odcestoval do Francouzské Indočíny, aby se mohl věnovat práci lodního lékaře. Kromě své lékařské praxe prozkoumával vietnamské řeky a pohoří. (Butler, 1994)

Zlomovým se pro Yersiniův život stal červen 1894, kdy v Hongkongu a Kantonu vypukla epidemie bubonického moru, při níž zemřelo šedesát tisíc obyvatel Kantonu a tři sta obyvatel Hongkongu. Mortalita u hospitalizovaných pacientů během této epidemie dosáhla až na 95 %. Yersin mikroskopicky identifikoval původce moru, kterého popsal jako gramnegativní bipolární bacil. Mikroskopoval dva typy vzorků jak krve, tak vzorky odebrané přímo ze zanícených lymfatických uzlin obětí. Bakterie se mu podařilo kultivovat na peptonovém agaru, čehož následně využil při inokulaci myší a morčat. Jednu skupinu z nich inokuloval bakteriemi z vlastní kultivace a druhou skupinu vzorky odebranými ze zanícené lymfatické uzliny. Po tom,

co infikovaná zvířata zemřela, identifikoval v jejich tkáni stejné bakterie jako nacházel ve vzorcích obětí moru. V říjnu 1894 se Yersin vrátil do Paříže spolu s čistou bakteriální kulturou *Y. pestis*. Svůj objev sdílel s vědeckými kolegy, jmenovitě s Emilem Rouxem a Louisem Pasteurem. Ještě na konci téhož roku Yersin své výsledky publikoval. (Butler, 1994)

Yersin se do Vietnamu vrátil a strávil tam zbytek svého života, který zasvětil výzkumu vakcín a antisér proti lidským i zvířecím onemocněním. Kromě svého výzkumu se podílel na založení Pasteurova institutu v Nha Trang, čímž přispěl i k založení lékařské školy v Hanoji. (Butler, 1994)

Rod *Yersinia* získal své jméno na počest Yersina až v šedesátých letech dvacátého století. V té době došlo k přejmenování všech zástupců tohoto rodu. *Yersinia pestis* byla původně označována jako *Pasteurella pestis*, *Yersinia enterocolotica* se jmenovala *Bacterium enterocoliticum* a *Yersinia pseudotuberculosis* byla nazývána *Shigella pseudotuberculosis*. (Butler, 1994)

Yersin nebyl jediným vědcem, kterému se podařilo objevit původce moru. Souběžně s ním v Hongkongu učinil téměř totožný objev Kitasato, japonský lékař a bakteriolog. Doktor Kitasato se narodil ve vesnici Okuni, v provincii Higo na ostrově Kjúšú. Byl absolventem lékařské fakulty v Kumamoto a císařské univerzity v Tokiu. V letech 1885 až 1891 studoval v Německu pod vedením doktora Kocha. V roce 1889 se mu jako prvnímu podařilo kultivovat čistou kulturu tetanu. Následně se podílel na vývoji séra pro léčbu tetanu. (Yang and Anisimov, 2016)

Kitasato pracoval také na antitoxinech proti záškrtu a antraxu, za pomoci Emila von Behringa prokázal význam antitoxinů v prevenci onemocnění. Podařilo se jim vyvolat pasivní imunitu proti tetanu u zvířete, kterému byly aplikovány odstupňované injekce obsahující krevní sérum jiného zvířete nakaženého tetanem. Po návratu do Japonska v roce 1891 Kitasato založil Ústav pro studium infekčních nemocí. (Yang and Anisimov, 2016)

Kitasato přijel do Hongkongu 12. června 1894, Yersin přijel o tři dny později. 20. června Yersin poprvé pozoroval *Y. pestis* pod mikroskopem. Kitasato spolu se svým týmem publikoval svoje pozorování *Y. pestis* 11. srpna, avšak výsledky se lišily od Yersiniova pozorování. Podle Kitasata jeho pozorování odhalilo grampozitivní bakterie, což lze vysvětlit tak, že se mu nepodařilo pracovat s čistou kulturou, a proto byly jeho výsledky nejednoznačné, což následně potvrdila i laboratoř Roberta Kocha, která otestovala Kitasatovy zaslané vzorky. Podle

Kochovy laboratoře se jednalo o bakterie podobné pneumokokům. V roce 1925 Kitasato uznal svou chybu a prohlásil Yersina za jediného objevitele původce moru. (Hawgood, 2008)

1.2. *Yersinia pseudotuberculosis* a *Yersinia enterocolitica*

Y. pseudotuberculosis je charakteristická tím, že se velmi často vyskytuje jako parazit a patogen u hlodavců, ale infikovat může i ptáky a sudokopytníky. V případě laboratorních hlodavců dochází k jejímu šíření epizooticky. K nákaze člověka dochází jen ve výjimečných případech. Z morfologického hlediska se jedná o pleomorfní gramnegativní tyčinku, která je pohyblivá při nižších teplotách. Je možné ji kultivovat na běžných půdách. Některé vysoce virulentní kmeny *Y. pseudotuberculosis* mohou u jedinců se sníženou imunitou vyvolat těžkou infekci podobnou moru, ale častější bývají potíže zažívacího traktu. (Bednář, 1996)

Y. enterocolitica je v mnoha ohledech velmi podobná *Y. pseudotuberculosis*. Nejčastěji se v přírodě vyskytuje jako parazit hlodavců, dále může být v infikovaném vepřovém mase nebo způsobovat kontaminaci vody. Její infekce bývají alimentární. Opět se jedná o gramnegativní tyčinku s pohyblivostí při nižších teplotách. Její kultivace je možná jak na běžných půdách, tak na selektivních půdách, čehož se využívá při zachytu ze stolice. Z pohledu patogenity se jedná o druh s velmi kolísající virulencí. Za virulenci tohoto druhu je zodpovědná jak chromozomální DNA, tak plasmidy. (Julák, 2006)

Významnou roli v patogenitě hraje především membránový protein, který souvisí s invazivitou a průnikem do buněk hostitele. Při alimentární infekci se *Y. pseudotuberculosis* dostává do koncové části tenkého střeva a do apendixu, dále proniká do buněk lymfatické tkáně. K množení bakterií dochází v makrofázích, následně je vyvolána tvorba granulomů, výjimečně může dojít k vzniku nekrózy a vředů. U jedinců se sníženou imunitou může vzniknout bakteriémie. Nakažení jedinci se nejčastěji potýkají se zažívacími potížemi, u dětí se navíc vykytuje horečka a bolesti břicha. Nevirulentní kmeny jsou z těla hostitele vyloučeny bez průniku do buněk. (Julák, 2006)

1.3. Charakteristika *Yersinia pestis*

Y. pestis je nepohyblivá nesporulující enterobakterie, jak již bylo výše zmíněno. Z hlediska morfologie je významné bipolární barvení jejích tyčinek, což znamená, že tyčinky jsou nejintenzivněji probarveny na koncích a mohou tak připomínat zavírací špendlík. Dalšími možnými tvary jsou tvar kokobacilární a vláknitý. Bakteriální buňka má pouzdro, které je ale špatně patrné. (Julák, 2006)

V současné době se při studiu organismů preferují molekulární metody, které umožňují získat zcela jiný náhled na celý systém organismů, mnohdy jsou i vyvráceny dlouho zaběhlé kategorizace dle morfologie či domnělé příbuznosti. Molekulární metody zároveň přináší velké množství dat, možnost jejich porovnání v rámci databází a eventuální spolupráci vědců z celého světa, což je nesmírná výhoda, kterou na konci na devatenáctého století při objevení *Y. pestis* neměli. Avšak s velkým množstvím dat a různých přístupů v jejich vyhodnocování přichází i nezměrné množství výsledných hodnocení a nových kategorizací. V případě *Y. pestis* existuje rozsáhlý seznam typizací na základě různých hledisek.

Určení vhodných metod typizace může být obtížnou volbou, protože více metod poskytuje více možností. Jaká metoda bude zvolena? To by mělo záležet na typu a cíli šetření. Pro běžná epidemiologická šetření platí zásada pro výběr vhodné metody, která zní, že vybraná metoda by měla být proveditelná, pokud pomůže vyřešit naši specifickou otázku. Měla by archivovat typizační údaje, zároveň nebyt příliš nákladná z hlediska spotřebního materiálu a samozřejmě by měla odpovídat technickým znalostem a potřebnému vybavení, které je k dispozici. Výsledná data by měla být snadno porovnatelná mezi různými laboratořemi. Pro účely sledování patogenů souvisejících s bioterorismem by měly být zvolené metody stabilní, citlivé a standardizované. Také by měla existovat databáze pro korelační porovnávání mezi různými laboratořemi. (Yang and Anisimov, 2016)

Zvolená metoda by měla být vysoce výkonná a snadno automatizovatelná. Z počátku jsou nejlepší volbou fenotypové, genetické a chemické typizační metody, zatímco postupně se upřednostňují techniky genomické a chemické analýzy. Až dosud nebyla k dispozici standardizovaná, komplexní databáze pro tyto techniky, ačkoli forenzní vědci na dosažení tohoto cíle pracovali. (Yang and Anisimov, 2016)

Budoucnost přinese mnoho výzev, mezi něž patří rostoucí počet kontrol přenosů patogenů mezi laboratořemi, dále hledání standardizované metodiky, která bude schválena vědci z různých zemí, a v neposlední řadě tvorba databáze a její analýza. Samozřejmě nelze opomenout ani sdílení informací a mezioborovou spolupráci. Kromě toho je potřeba překonat určitá politická omezení, protože studie patogenů souvisejících s bioterorismem jsou často výrazně ztíženy politickými opatřeními. Databáze polymorfismů pro *Y. pestis* se používají nejen pro výše uvedenou oblast, ale také pro evoluční a patogenní studie. Studie polyfázového polymorfismu *Y. pestis* také vytvoří model pro budoucí studie dalších lékařsky významných mikroorganismů. To nás naučí, jak organizovat mezinárodní spolupráci při vytváření databáze smrtelně nebezpečných patogenů. (Yang and Anisimov, 2016)

V případě charakteristiky na základě fenotypu u *Y. pestis* se nejčastěji využívají následující hlediska: oblast, kde byl patogen izolován a kde zároveň došlo k jeho opakovanému výskytu; hlavní hostitel; biochemie zaměřené na konkrétní metabolické cykly či na detekci konkrétních metabolitů, jako jsou např.: fermentace rhamnózy, melibiózy, arabinózy, glycerolu a melicitózy či denitrifikace, fibrinolytické a koagulázové aktivity, produkce a citlivosti na pesticidy, závislosti na zdrojích aminokyselin; frekvence mutace z fenotypu Pgm⁺ na fenotyp Pgm⁻ během 10 generací; a virulence u morčat. (Barbieri *et al.*, 2021)

V případě kultivace lze *Y. pestis* hodnotit jako nenáročnou, protože je schopná dobrého, i když poměrně pomalého, růstu na běžných kultivačních půdách. Ve volném prostředí, ve vzduchu a ve vodě, obvykle přežije jen několik hodin, což je způsobeno její citlivostí k vysychání, ale v případě snížené teploty vzduchu či zmrzlé vody se schopnost přežití zvyšuje (Julák, 2006). Bakteriální buňky *Y. pestis* jsou schopné růstu při teplotách od 4 do 40 °C, teplotní optimum je od 28 do 30 °C. Optimální pH pro růst se pohybuje v rozmezí mezi 7,2 až 7,6; v případě extrémních hodnot pH přežijí buňky v rozmezí od 5 až do 9,6. (Perry and Fetherston, 1997). Spolehlivého zničení bakteriálních buněk je možné dosáhnout zahřátím přibližně na 60 °C či použitím běžných dezinfekčních prostředků. (Julák, 2006)

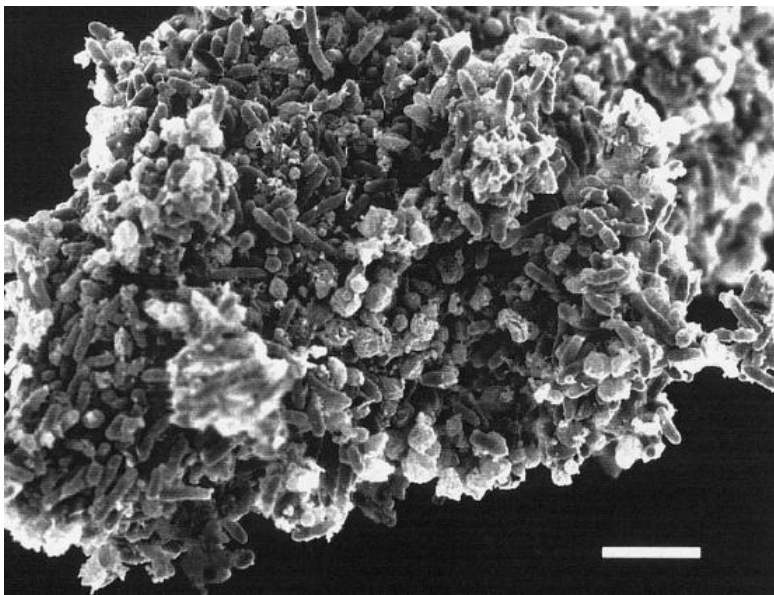
1.4. Virulentní faktory *Y. pestis*

Různé kmeny *Y. pestis* se vyznačují různým stupněm virulence. Virulence závisí na přítomnosti či absenci antigenních struktur. Mezi nejvýznamnější se řadí kapsulární antigeny F1, které zahrnují rozpustný imunogenní komplex polysacharidu a protein označovaný A, dále druhově specifický rozpustný polysacharid B a nerozpustný neimunogenní polysacharid C. Somatický antigen neboli O-antigen, který je typický pro většinu enterobakterií, není tvořen specifickými polysacharidovými řetězci, ale převážně proteinovými antigeny označovanými číslicemi. Dalším typem proteinových antigenů jsou antigeny označované jako V a W, které jsou charakteristické zejména pro plně virulentní kmeny. Většina těchto antigenů je termolabilní, jen některé z nich jsou protektivní. Tvorba těchto faktorů je kódována chromozomální i plazmidovou DNA, navíc je závislá na kultivačních podmínkách. Za určitých okolností mohou virulentní kmeny ztrácet svou virulenci. K tomu dochází po kultivaci *in vitro* a částečně i po množení ve hmyzím vektoru. (Julák, 2006)

Pro lepší porozumění virulenci *Y. pestis* je nezbytná znalost její genetiky, která hraje klíčovou roli při výzkumu, a je díky ní možné nastínit vývoj této bakterie napříč historií. Identifikace a lokace virulentních faktorů umožňuje srovnávat současné virulentní kmeny s kmeny, které

byly objeveny pomocí aDNA. Ve chvíli, kdy jsou známy konkrétní geny, je možné sledovat jejich expresi a mechanismy spouštějící řetěz událostí, které patogen potřebuje využít k efektivní nákaze a dalšímu šíření. V rámci této práce je genetice prokaryot a plazmidům věnováno velmi málo prostoru vzhledem k tomu, že samotné téma plazmidů a jejich role v bakteriální buňce by mohlo vydat na další samostatné práce.

Většina kmenů *Y. pestis* obsahuje tři virulentní plazmidy (Perry and Fetherston, 1997). Konkrétně se jedná o tyto tři plazmidy: pFra, pYV a pPla (Butler, 2013). Plazmid pFra, (plazmid fraction 1 antigen) označovaný také jako pMT1, kóduje antifagocytární kapsulární proteinový antigen 1 (F1) a fosfolipázu D. Antigen F1 má za úkol vytvořit kapsulu okolo buňky a ochránit tak bakterii před fagocytózou buňkami imunitního systému hostitele (Butler, 2013), (Hinnebusch et al., 2002). Fosfolipáza D (PLD), dříve charakterizovaná jako murin toxin (Ymt), umožňuje bakterii přežít ve střevě blechy. Ukázalo se, že intracelulární aktivita PLD chrání *Y. pestis* před cytotoxickým produktem trávení krevní plazmy ve střední části střeva blechy. Toxicita fosfolipázy D se projeví při jejím uvolnění z lyzujících bakterií. U blechy postupně dochází k hypotenzi a kolapsu cév, konečnou fází je septický mor. (Hinnebusch et al., 2002)



Obrázek 1: Mikrokolonie *Y. pestis* ze střeva blechy *X. cheopis*, skenovací elektronová mikroskopie, (Hinnebusch, Fischer and Schwan, 1998).

Druhým plazmidem je pYV, který kóduje V antigen a vnější proteiny Yersinie (Yops). Sekreční systém typu III (Yops) podporuje cytotoxicitu a běžné příznaky moru. Plazmid pYV je přítomen u všech tří druhů patogenních Yersinií. Je stejně velký a geneticky vysoce konzervovaný. Je v něm zakódována schopnost, která během infekce umožňuje zaměřit se na lymfatické tkáně. Jeho genetické determinanty jsou nezbytné pro infekci a překonání obranných mechanismů

hostitele. U všech tří druhů je nosičství pYV zodpovědné za fenotyp růstu, který je závislý na vápníku při 37 °C. (Bhaduri and Smith, 2011) Tento plazmid je nezbytný i pro patogenezí u savců, protože omezuje savčí imunitní odpověď (Hinnebusch, Fischer and Schwan, 1998).

Třetím plazmidem je pPla, jinak nazývaný jako pPCP1. Tento plazmid je zároveň nejmenší ze všech plazmidů. Kóduje plazminogenný aktivátor Pla, který je důležitý pro invazivní schopnosti bakterie. Pla umožňuje *Y. pestis* efektivní šíření se v hostitelském organismu. Přemění krevní protein plazminogen na plazmin. Plazmin patří mezi nespecifické endopeptidázy a je schopný rozkládat fibrin, což je vláknitý protein vznikající z fibrinogenu. Fibrin umožňuje srážení krve. Tak dojde k rozkladu fibrinu a rozpouštění krevní sraženiny. Tato schopnost je kritická pro invazi bakterie do tkání a šíření infekce. Kromě aktivátoru Pla plazmid pPla kóduje ještě geny pro bakteriocinový pesticid a jeho protilátku. (Hinnebusch, Fischer and Schwan, 1998)

Y. pestis je blízce příbuzná s dalšími lidskými patogenními *Yersiniae*, ale na rozdíl od *Y. enterocolitica* a *Y. pseudotuberculosis* neinfikuje hostitele střevní cestou. Některé geny, které jsou nezbytné pro střevní invazi a jsou přítomny u obou zmíněných střevních *Yersiniae*, byly lokalizovány i u *Y. pestis*, v důsledku mutací byla však pozastavena jejich exprese. Dalším specifickým pro *Y. pestis* je její neschopnost přežít mimo zvířecího hostitele. Tyto společné znaky naznačují, že *Y. pestis* se vyvinula z jiných patogenních *Yersiniae*. Na základě srovnání různorodosti několika housekeeping genů *Y. pestis* a *Y. pseudotuberculosis* se jeví jako velmi pravděpodobný scénář, že *Y. pestis* se před 1500 – 20 000 lety vyvinula přímo z *Y. pseudotuberculosis*. (Titball and Williamson, 2001)

Změny v genomu *Y. pestis* lze vnímat jako mutace, které umožnily úspěšnou adaptaci na jiné životní podmínky. Pro patogen je klíčová především schopnost efektivně se šířit mezi hostiteli a odolnost vůči jejich imunitnímu systému. Vzhledem k tomu, že mor jako onemocnění způsobil ničivé pandemie a zároveň jeho původce zvládl přežít dlouhá meziobdobí ve zvířecích rezervoárech, lze jeho adaptaci hodnotit jako velmi úspěšnou.

2. Morové onemocnění

Následující dvě kapitoly jsou zaměřeny šíření *Y. pestis* mezi hostiteli a poté na vlastní průběh morového onemocnění v infikovaném organismu.

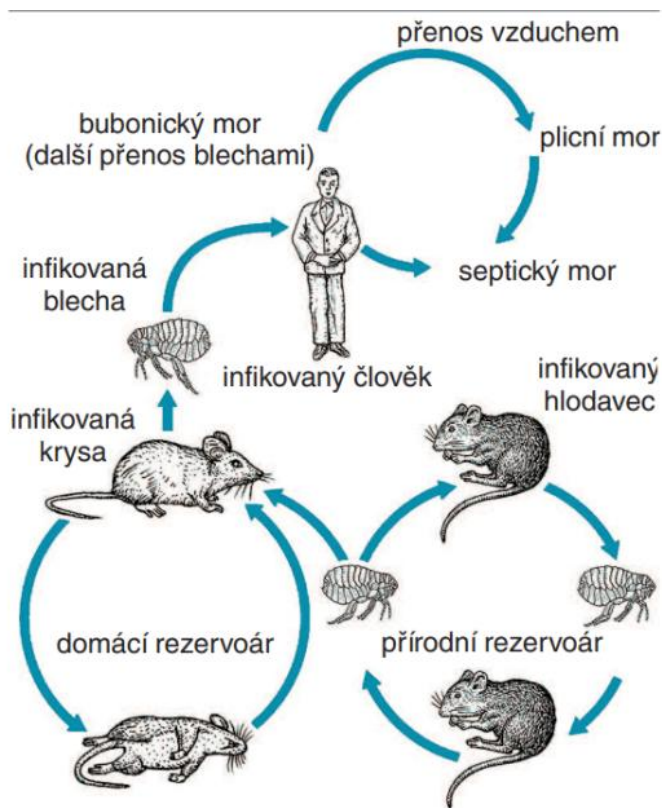
2.1. Cyklus *Y. pestis*

Bakterie *Y. pestis* patří mezi nejvirulentnější patogeny, o nichž je známo, že způsobují onemocnění u lidí. Jako původce moru je stávající hrozbou pro veřejné zdraví, protože je příčinou vznikajících i znovu se objevujících epidemií způsobených hlodavci v mnoha oblastech světa. (Bos *et al.*, 2016)

Životní cyklus *Y. pestis* se liší od ostatních patogenních zástupců rodu *Yersinia*, protože bakterie je přenášena z jednoho zvířecího hostitele na jiného buď přímo, nebo pomocí blechy, která se stává vektorem neboli přenašečem. Často se jedná o blechu *Xenopsylla cheopsis*. V některých částech světa, kde je mor endemický, *Y. pestis* přežívá právě tím, že způsobuje chronická onemocnění ve zvířecích rezervoárech. Tyto rezervoáry jsou různé skupiny hlodavců, nejčastěji se jedná o krysy, králíky, hraboše, psouny, sviště a sysly. Občasný přenos bakterie na jiné savčí hostitele může vyústit v akutní onemocnění, které se označuje jako mor. Kontakt infikovaných hlodavců a člověka často nastává při přírodních katastrofách, např. zemětřeseních, nebo k němu dochází v důsledku cestování do neosídlených oblastí. (Titball and Williamson, 2001)

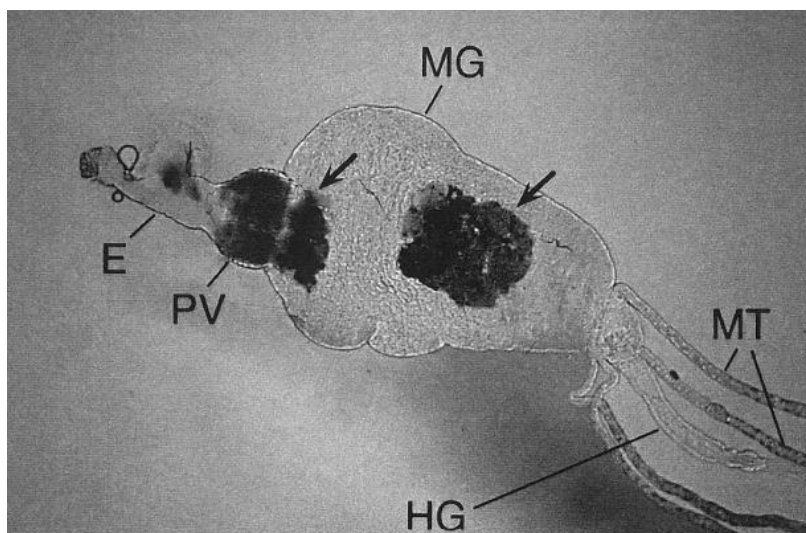
Mor se řadí mezi smrtelné zoonózy, což jsou onemocnění, která se přirozeně přenáší mezi člověkem a zvířetem, ale nelze vyloučit ani přenos mezi lidmi navzájem. V případě moru z hlediska epidemiologie lze mluvit o tzv. meta-zoonóze (Chomel, 2009), kdy jsou pro dokončení vývoje či jen úspěšný přenos původce onemocnění potřeba jak obratlovec, tak bezobratlý živočich. V tomto případě nejčastěji v roli obratlovce figuruje hlodavec a jako bezobratlý zástupce blecha, která plní funkci tzv. hematofágního vektora. Pojem meta-zoonóza může být nahrazen označením fakultativně nebo obligátně transmisivní zoonóza. (Hubálek and Rudolf, 2014)

Endemický mor bývá také označován jako sylvanický neboli „lesní“ mor. Endemický mor je v podstatě přirozeným nezničitelným ohniskem *Y. pestis*. Obvykle se taková ohniska nacházejí v polopouštních oblastech všech světadílů s výjimkou západní Evropy a Austrálie. V některých zemích se dokonce lze setkat s ohnisky, která by se dala označit za téměř trvalá, konkrétně se jedná následující státy: Brazílie, Demokratická republika Kongo, Madagaskar, Myanmar (Barma), Peru, USA a Vietnam. (Konopásek, 2014)



Obrázek 2: Přenos moru a jeho endemická a epidemická forma (Konopásek, 2014).

Druhou variantou moru je epidemický mor, což je závažnější forma, která může postupně přejít v pandemii. Přejod mezi endemickou a epidemickou formou znázorňuje Obrázek 2. V případě počátku epidemické formy sehrají klíčovou roli krysy, které se vydají za potravou do měst, nebo stačí, aby populace krys žijících ve městě přišla do kontaktu s *Y. pestis*, která tuto populaci úspěšně infikuje. K tomu může dojít pomocí blechy, která se nakazila sáním na hlodavcích z endemického rezervoáru moru. Pokud se mor mezi krysami šíří dostatečně rychle a způsobuje epidemii s vysokou mortalitou. Rychlost šíření umožňují hladové blechy, u nichž došlo vlivem namnožení *Y. pestis* k blokaci proventikulu, tedy oblasti mezi jícnem a vlastním žaludkem viz následující obrázek. Při sání dochází k rytmickému stahování proventikulu, což znemožní návrat krve do jícnu během trávení. Vyhladovělé blechy proto velmi ochotně hledají dalšího hostitele, v tomto případě člověka. Při sání krve blecha vypudí bakterie do jícnu a přítomné bakterie mohou následně způsobit infekci. (Konopásek, 2014)



Obrázek 3: Trávicí trakt vypreparovaný z blechy *X. cheopis* zablokovaný bakterií *Y. pestis* 195/P-wt. Proventrikulus je blokován bakteriální hmotou, hnědě zbarvené bakterie (bakteriální hmota) zasahují do přední části středního střeva; samostatná velká hmota je přítomna také ve středním střevě (šipky). E= esophagus (jícen), PV=proventrikulus, MG=midgut (střední střevo), HG =hindgut (zadní střevo), MT =Malpighiovy trubice. Původní zvětšení: desetkrát (Hinnebusch, Fischer and Schwan, 1998).

2.2. Příznaky morového onemocnění

Klinické projevy moru jsou v současné době jasně definované. Z historického hlediska by ovšem už tak jednoduše ohraničitelné nebyly. Důvodem je především nejistota v tom, zdali by v odborné literatuře, která spadá do období před Yersiniovým objevem, bylo vůbec možné odlišit popisy moru způsobeného *Y. pestis* a ostatní onemocněními s velmi podobnými příznaky. Čím dále do historie by průzkum zachovaných textů sahal, tím menší by byla jistota. Mor byl ve starověku pojem zahrnující soubor různých infekčních onemocnění. V Galénových komentářích k Hippokratovým epidemiím se píše, že pokud nemoc postihuje mnoho lidí v určitém regionu, lze ji označit za epidemii, a pokud tato nemoc způsobí mnoho lidských úmrtí, jedná se pak o „mor“. Většina moderních autorů má s morem jen omezené klinické zkušenosti, protože v současné době je to relativně vzácné infekční onemocnění. (Yang and Anisimov, 2016)

U lidí se mor často projevuje zduřením infikovaných lymfatických uzlin, z nichž se bakterie vnesené do kůže kontaminovanými blechami vyplavují. Dýmějový mor může vést k plicnímu moru, pokud se bakterie dostanou do krve a následně do plic. Tato forma onemocnění je obzvláště nebezpečná, protože mor se pak může přenášet z člověka na člověka prostřednictvím aerosolů. A pokud se bakterie rozmnoží v krvi, existuje třetí klinická forma onemocnění známá jako septikemický mor. Při absenci antibiotik jsou všechny formy onemocnění často smrtelné. Proti všem formám moru je účinná včasná diagnóza s rychlou antibiotickou léčbou, např.

streptomycinem, gentamicinem nebo fluorochinolony. Na Madagaskaru, v Mongolsku a v Číně však byly identifikovány kmeny *Y. pestis* rezistentní vůči antibiotikům, což poukazuje na velké potenciální riziko pro veřejné zdraví. (Demeure and Guern, 2023)

V současné době neexistuje žádná efektivní vakcína, která by byla schválena v USA či v Evropě, přestože od objevu *Y. pestis* už se několik vakcín testovalo, žádná prozatím nefungovala jako trvalá ochrana. (Demeure *et al.*, 2019)

3. Starodávná DNA

Technologický pokrok v oblasti obnovy a sekvenování DNA výrazně rozšířil rozsah genetických analýz starodávných vzorků do té míry, že je nyní možné provádět kompletní analýzy genomu, které se rychle stávají standardem. Tento trend má důležité důsledky pro výzkum infekčních onemocnění, protože genomické údaje ze starých mikrobusů mohou pomoci objasnit mechanismy evoluce a adaptace patogenů na nově vznikající a znovu se objevující infekce. (Bos *et al.*, 2011)

3.1. Charakteristika aDNA

Před téměř čtyřiceti lety se objevil první důkaz, že DNA může přežít v mrtvých organismech. S vynálezem polymerázové řetězové reakce (PCR) bylo možné opakovaně získat staré sekvence DNA neboli aDNA (ancient DNA). To vedlo k novým poznatkům o příbuzenských vztazích vyhynulých živočichů a k určení prvních sekvencí DNA neandertálce, nejbližšího vyhynulého příbuzného dnešního člověka. Počáteční nadšení však zmírnilo zjištění, že kontaminace dnešní lidskou DNA činí studium starých lidských ostatků náročným. Zatímco získání sekvencí aDNA přítomných ve více kopiích, například mitochondriální DNA, bylo často možné, studium jaderné DNA, která je přítomna z diploidních organismů bylo plně obtížné, protože jaderná DNA je přítomna pouze v jedné kopii. Tato situace se změnila s příchodem vysoce výkonných technologií sekvenování DNA na počátku tohoto tisíciletí. (Krause and Pääbo, 2016)

První sekvenovanou aDNA byl vzorek z vysušené svaloviny muzejního exempláře kangy, zebrovitého druhu (*Equus quagga*), který vyhynul v roce 1883. Z této tkáně byla extrahována aDNA v množství blízkém se 1 % množství očekávaného z čerstvé svaloviny. Tato aDNA měla relativně nízkou molekulovou hmotnost. Z mnoha klonů získaných z DNA kangy byly sekvenovány dva obsahující části mitochondriální DNA (mtDNA). Při srovnání výsledků sekvenace aDNA s DNA současně žijícího druhu horské zebry bylo potvrzeno, že se jedná o příbuzné druhy. Jejich společný předek vyhynul před třemi až čtyřmi miliony let, což bylo potvrzeno i fosilními nálezy. (Higuchi *et al.*, 1984)

Sekvenace aDNA je na rozdíl od běžné DNA komplikovanější nejen kvůli malému množství vzorku, ale také především kvůli její degradaci a kontaminacím. Ve studii z roku 1988 měla získaná aDNA vždy nízkou průměrnou molekulovou velikost a byla poškozena oxidačními procesy, které se projevují především modifikacemi pyrimidinů a cukerných zbytků. Výjimkou

nebyly ani chybějící celé báze nebo naopak přebývající mezimolekulové příčné vazby. To vše ztěžuje molekulární klonování. (Pääbo, 1989)

Nyní je možné provádět sekvenování celého genomu a také zachycení specifických genomových oblastí u vyhynulých organismů. Cílené resekvenování velkých částí jaderných genomů však dosud nebylo prokázáno pro starobylou DNA. Burbano a kolektiv ve své studii ukazují, že hybridizační zachycení na mikročipech může úspěšně obnovit více než megabázi cílových oblastí z neandertálské DNA i v přítomnosti ~99,8 % mikrobiální DNA. (Burbano *et al.*, 2012)

Od první sekvenace aDNA se metody výzkumů skokově posunuly. V současné době už je možné získat velmi detailní informace, na základě kterých si lze vytvořit velmi detailní představu o fylogenezi zkoumaného organismu. Dále se dají vytvářet podrobné genetické mapy, filtrovat poškození a kontaminace. Časové rozmezí, které lze analyzovat pomocí DNA, se rozšířilo na více než půl milionu let a je tak možné datovat vzorky odpovídající stáří 560 000-780 000 let. Byly kompletně sekvenovány genomy mnoha vyhynulých druhů, včetně mamutů srstnatých a jeskynních medvědů, stejně jako lidských populací od Vikingů až po neandrtálce. Po přidání dat aDNA se současný atlas genetické variability neomezuje pouze na přehled rozmanitosti, která se vyskytuje v současných populacích po celém světě. Místo toho je průběžně obohacován o časové informace sledující změny v genetických předcích lidských, zvířecích, rostlinných, a dokonce i mikrobiálních populací, které se rozšiřovaly, rozpadaly a přizpůsobovaly novým místním podmínkám prostředí. (Orlando *et al.*, 2021)

V roce 2011 byla zveřejněna první kompletně rekonstruovaná sekvence genomu starobylé *Y. pestis*. Tato sekvence potvrdila, že se jedná alespoň o jednoho z původců pandemie Černé smrti a ukončila roky kontroverzí, které provázely pokusy o identifikaci patogenu v archeologických vzorcích pomocí PCR. Následovaly další sekvence genomů starobylých mikrobů, včetně těch z dalších morových epidemií a dalších patogenů. Klíčovým momentem byla dostupnost sekvenování s vysokým výkonem, což byla převratná inovace v sekvenování DNA, a metody obohacení sekvenčního zachycení – dvě techniky, které zvýšily jak průchodnost vzorků, tak výstup dat o několik řádů. Tyto pokroky převratně změnil výzkum aDNA a zahájily tak novu éru genomiky téměř přes noc. (Warinner *et al.*, 2017)

Výzkumné směry v rámci rostoucího oboru mikrobiální archeologie lze obecně rozdělit do dvou směrů: patogenomika a studium mikrobiomu. První z nich se zaměřuje na pochopení evoluce patogenů a interakcí mezi hostitelem a mikroby, které se podílejí na chorobných stavech. Zatímco druhý směr se zaměřuje na pochopení rozmanitosti, struktury a funkce endogenních

mikrobiálních společenstev a jejich interakcí s hostitelem během období bez zdravotních problémů i během chorobných stavů. Obecně se patogenomika zabývá především jednotlivými mikroorganismy způsobujícími onemocnění. (Warinner *et al.*, 2017)

3.2. Extrakce aDNA ze vzorků a další metody zpracování vzorků

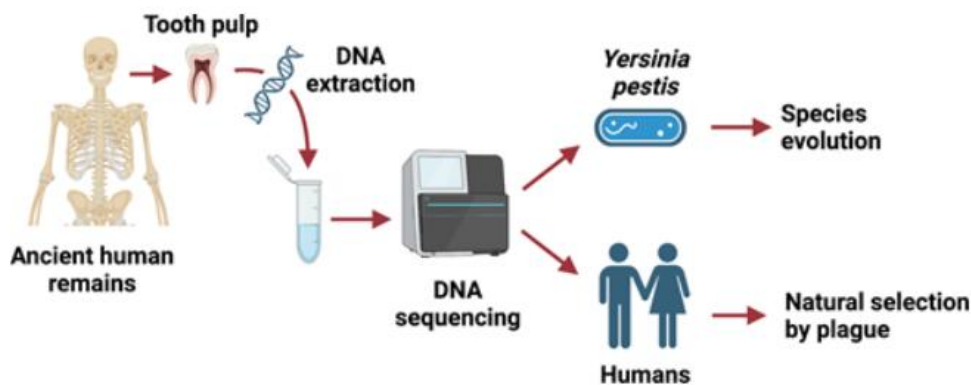
V případě odebírání vzorků aDNA je žádoucí snažit se zachovat celistvost pozůstatků, aby bylo možné provádět případné další molekulární nebo morfologické analýzy. Proto byly navrženy minimálně destruktivní metody odběru vzorků kostí, zubů, hmyzu nebo rostlin. Optimalizace v každém experimentálním a výpočetním kroku zpracování aDNA výrazně zvýšila citlivost aDNA metod, čímž se snížilo množství odebraného materiálu nutného pro úspěšné analýzy. Malé množství zachované DNA a rozsáhlá fragmentace DNA představují vážnou výzvu pro extrakci molekul DNA ze starověkých vzorků. Menší velikost molekul DNA ztěžuje oddělení endogenní zájmové DNA od kontaminující DNA a od malých molekul, které jsou extrahovány spolu s cílovým vzorkem a které by mohly působit jako inhibitory v navazujících enzymatických reakcích. (Orlando *et al.*, 2021)

Optimalizované protokoly byly upraveny pro každý experimentální krok tak, aby vyhovovaly různým typům vzorků a stavům konzervace, a některé umožňují současnou extrakci proteinů pro radiokarbonové datování a proteomické analýzy. Ve většině případů se vzorky nejprve mechanicky rozmělní na prášek a DNA se poté uvolní inkubací v pufrech, které odvápnují minerální matrice, rozkládají proteiny a lipidy a narušují interakce DNA s organickými a anorganickými sloučeninami. Odstranění volně vázaných kontaminantů lze dosáhnout pomocí „předtrávicího“ čisticího kroku sestávajícího buď z bělicího ošetření, které oxiduje a ničí kontaminující DNA a chemické inhibitory, nebo z postupného rozkladu, při němž se první extrahovaná frakce (která pravděpodobně obsahuje většinu kontaminantů a inhibitorů) odloží stranou nebo se vyhodí. Tyto metody lze také kombinovat, ale oba přístupy vedou k různým stupňům ztráty endogenní aDNA, a proto by se na agresivní čištění mělo pohlížet jako na kompromis, který podléhá klesající návratnosti. (Orlando *et al.*, 2021)

Kvůli vysoké fragmentaci se aDNA chová odlišně než vysokomolekulární genomové DNA z čerstvých vzorků a vyžaduje vlastní protokoly pro efektivní obnovu. Metody, které se nejčastěji používají pro aDNA, se opírají o adsorpci molekul DNA na částice oxidu křemičitého v chaotropním vazebném pufru, ke kterým má DNA vysokou afinitu a oddělí se tak od kontaminací v roztoku. Další možností oddělení kontaminací je možné s využitím spinových kolon nebo pomocí suspendovaných magnetických kuliček potažených oxidem křemičitým.

Následovalo by promytí ethanolem a DNA by se uvolnila do pufru s nízkým obsahem soli. Poté jsou pomocí enzymů odstraněny poškozené části aDNA, což je sice nezbytné pro další analýzy, ale zároveň to snižuje autenticitu vzorků. S odstraňováním souvisí i další zkracování řetězců. Typickými poškozeními aDNA jsou fragmentace, přeměna nukleotidů na různé deriváty a deaminace cytozinu za vzniku uracilu. Posmrtná poškození se mohou hromadit, ale kinetika degradace je v konečném důsledku řízena místními podmínkami prostředí. Některé novější vzorky se mohou jevit poškozenější než ty starší. Kromě toho jsou degradační procesy nejlépe prozkoumány u mineralizovaných tkání, avšak nejsou už tak dobře známy u jiných druhů pozůstatků. V dalším kroku se využívá sekvenace a PCR, a nakonec přichází na řadu vyhodnocování výsledků pomocí bioinformatiky. (Orlando *et al.*, 2021)

Obrázek 4 schematicky znázorňuje vlastní extrakci aDNA ze zubní dřeně, čehož se nejčastěji využívá právě v případě ověřování přítomnosti *Y. pestis* na údajných morových pohřebištích.



Obrázek 4: Extrakce a analýza aDNA (Demeure and Guern, 2023)

4. Historie morových epidemií a pandemií

Mor byl jako onemocnění velmi dobře popsán nejen v lékařských historických textech, ale i v běžné literatuře. Kromě spisovatelů se ho pokusili zachytit i mnozí umělci v podobě obrazů či soch. Za autora prvního přesného popisu symptomů moru je považován Guy de Chauliac, papežův osobní lékař a také zakladatel lékařské fakulty v Montpellier. Tento záznam vznikl ve třináctém století, kdy byl hlavním sídlem papeže Avignon. (Drancourt and Raoult, 2016).

Starověké morové epidemie výrazně snížily počet obyvatel Evropy. Úmrtnost v městských komunitách, jako je Marseille, se odhadovala na 50 % během 6 měsíců. Etiologie těchto epidemií však zůstávala neznámá až do konce devatenáctého století, kdy Alexandre Yersin poprvé identifikoval *Y. pestis* jako původce. Proto byly navrženy různé předpoklady týkající se etiologie tohoto onemocnění. K dispozici je mnoho dokumentárních a obrazových historických údajů, které v podstatě zachycují dávné epidemie v Evropě, severní Africe a na Blízkém a Středním východě, zatímco o zbytku afrického kontinentu a Asii před devatenáctým stoletím je v zahraniční literatuře velmi málo informací. Do Spojených států se mor dostal koncem devadesátých let devatenáctého století s prvními případy v San Francisku, poté se postupně rozšířil po části severoamerického kontinentu, kde se vyskytuje dodnes. (Drancourt and Raoult, 2016)

Jedná se o onemocnění, jehož infekční etiologie byla doložena mnoha paleomikrobiologickými studiemi. Avšak je nutné zdůraznit, že celý výzkum ohledně moru velmi komplikují různé vědecké přístupy. Hlavní směry výzkumu pracují s daty získanými pomocí PCR, jiné se zaměřují více na práci s aDNA. (Drancourt and Raoult, 2016)

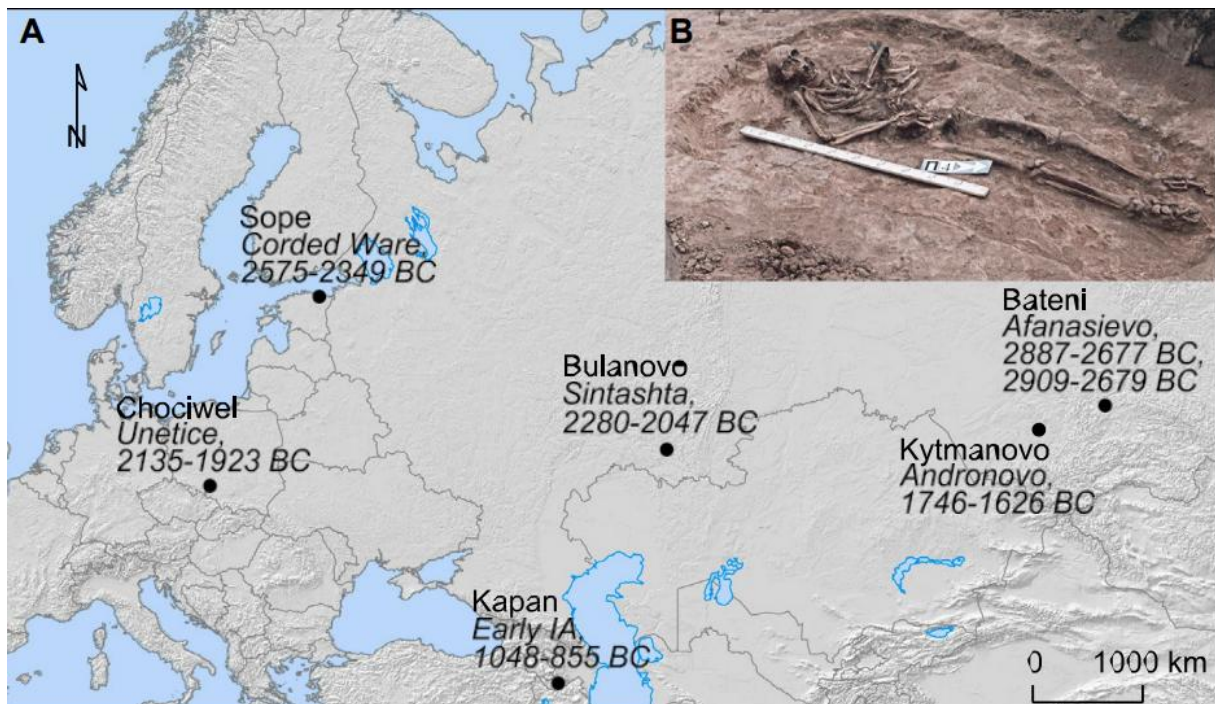
Následující kapitoly se věnují nejvýznamnějším pandemiím a epidemiím, které byly molekulárně podloženy. Hlavní pozornost je věnována relativně nově objeveným epidemiím v době bronzové, Justiniánskému moru, Černé smrti a v poslední kapitole jsou spolu s moderní pandemií zmíněna i aktuální světová ohniska moru, kterým je nezbytné věnovat pozornost.

4.1. Epidemie v době bronzové a nejstarší nálezy pozůstatků morových epidemií

Doba bronzová, především na území Eurasie, byla pro lidstvo obdobím významných technologických pokroků. Toto období je často spojováno s počátkem kulturní a společenské komplexnosti. Nedávná analýza aDNA lidských pozůstatků z období mezi 5 500 a 3 200 př. n. l. spojila tyto technologické pokroky s rozsáhlou expanzí Yamnaya, což je expanze pastevců

z pontsko-kaspických stepí jak na západ do Evropy, kde vznikl tzv. šňůrový keramický komplex, tak na východ do střední Asie a oblasti Altaje, reprezentovaný kulturami rané doby bronzové, jako je např. kultura afanasievo. Konkrétně v Evropě vedly migrace Yamnaya k mísení s místními neolitickými zemědělskými populacemi, čímž se vytvořil genofond, který zřejmě tvoří evropské populace dodnes. Nejnovější studie navíc předpokládají následnou populační expanzi z Evropy zpět do Střední Asie v průběhu střední a pozdní doby bronzové, což se geneticky odráží ve výskytu předků příbuzných evropským zemědělcům mezi stepními populacemi pozdní doby bronzové, jako jsou Sintashta, Srubnaya, Potapovka a Andronovo. (Spyrou *et al.*, 2018)

Y. pestis infikuje lidstvo už více než 5 000 let. Staří nálezů aDNA izolované z lidských zubů na území Evropy a Asie, konkrétně na území dnešního Polska, Ruska, Estonska a Arménie, se odhaduje na 2 800 až 5 000 let. Mapu nálezů ukazuje Obrázek 5. Screeningem prošlo 89 miliard sekvencí DNA, které byly izolovány ze sta jedna jedinců. U sedmi jedinců byl nalezen genom *Y. pestis*, přesněji řečeno jeho fragmenty. Byly to buď části plazmidů, nebo bakteriálního chromozomu. (Simon Rasmussen *et al.*, 2015)



Obrázek 5: Mapa s vyznačenými lokacemi nálezů *Y. pestis* na pohřebištích z doby Bronzové (Simon Rasmussen *et al.*, 2015)

Odhady molekulárních hodin naznačují, že se *Y. pestis* vývojově oddělila od *Y. pseudotuberculosis*, která je rozšířenější a výrazně odolnější proti stresu způsobeného prostředím, před 2 600 až 28 000 lety. (Simon Rasmussen *et al.*, 2015)

Po svém oddělení od *Y. pseudotuberculosis* získala *Y. pestis* svou vysokou patogenitu a odlišnou niku především díky ztrátě chromozomálních genů a také získáním dvou plazmidů spojených s virulencí, pMT1 a pPCP. V průběhu tohoto procesu byla jednou z nejdůležitějších evolučních adaptací souvisejících s patogenitou právě schopnost kolonizovat členovce, což je fenotypový/funkční zisk zprostředkovaný kombinací chromozomálních a plazmidových lokusů. (Spyrou *et al.*, 2018)

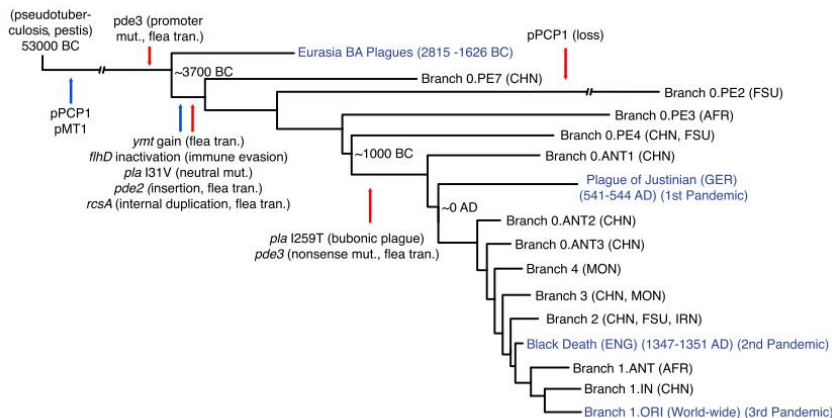
Při sekvenování starobylých bakteriálních genomů ze zubů jedinců, kteří se nacházeli na pohřebištích z pozdního neolitu, doby bronzové a rané doby železné, byl zkoumán původ *Y. pestis*. Zjištění naznačují, že virulentní, blechami přenášený kmen *Y. pestis*, který způsobil historické pandemie dýmějového moru, se vyvinul z méně patogenní linie *Y. pestis*, která ovlivňovala lidské populace dlouho předtím, než byly zaznamenány doklady o vypuknutí moru. Sekvence genomu odhalila přítomnost všech tří plazmidů typických pro *Y. pestis*, tedy pPCD1, pMT1 a pPCP1, konkrétně byla pozornost zaměřena na přítomnost padesáti pěti virulentních genů, které jsou charakteristické pro kmeny, jež způsobily následující tři pandemie, a také je najdeme u dnešních kmenů. Výsledky odhalily, že chybí gen *ymt*, který kóduje fosfolipázu D, dále byly identifikovány dva transpoziční elementy lemující chybějící 19 kb oblast, což potvrzuje, že gen *ymt* byl získán horizontálním přenosem genů, jak se dříve předpokládalo. Navíc se nedávno ukázalo, že přenos *Y. pestis* blechami závisí také na ztrátě funkčních mutací v genech *pde2*, *pde3* a *rcaA*. V kombinaci s absencí *ymt* tyto výsledky silně naznačují, že předci bakterie *Y. pestis* u těchto jedinců z rané doby bronzové nebyli přenášeni blechami. (Simon Rasmussen *et al.*, 2015)

Dalšími zkoumaným genem zajišťujícím virulenci byl gen *pla*, který usnadňuje hlubokou invazi do tkání a je nezbytný pro rozvoj bubonického a pneumonického moru. Analýza vzorků ukázala, že tento gen byl přítomen u šesti ze sedmi testovaných genomů, chyběl pouze u kmene RISE139. To ukazuje, že pPCP1 a *pla* byly pravděpodobně přítomny v nejzákladnějším kmeni *Y. pestis* (RISE509), což naznačuje, že kmeny 0.PE2 ztratily plazmid pPCP1. Je zajímavé, že třem kmenům 2.ANT3 (5761, CMCC64001 a 735) rovněž chybí gen *pla*, což naznačuje, že ke ztrátě pPCP1 došlo v evoluční historii *Y. pestis* vícekrát. Kromě toho bylo zkoumáno, zda se u RISE397, RISE505 a RISE509 vyskytuje mutace isoleucinu na threonin na aminokyselině 259 v proteinu Pla. Ukázalo se, že tato mutace je nezbytná pro rozvoj dýmějového, ale nikoliv plicního moru. (Simon Rasmussen *et al.*, 2015)

Závěr výzkumu Rasmusena a jeho týmu je, že předek současných kmenů *Y. pestis* existoval již koncem 4. tisíciletí př. n. l. a byl rozšířen po celé Eurasii nejméně od počátku

3. tisíciletí př. n. l. Výskyt moru u sedmi eurasijských jedinců z doby bronzové naznačuje, že infekce morem byly běžné nejméně o 3 000 let dříve, než bylo historicky zaznamenáno. Na základě nepřítomnosti klíčových genů virulence, které jsou typické pro současné kmeny a kmeny, jež způsobily první až třetí pandemii, tito starověcí prapředci kmenů *Y. pestis* pravděpodobně neměli schopnost vyvolat dýmějový mor, pouze plicní a septikemický mor. Tyto rané morové rány mohly být zodpovědné za naznačený pokles populace na konci 4. tisíciletí př. n. l. a na počátku 3. tisíciletí př. n. l. (Simon Rasmussen *et al.*, 2015)

Následující fylogenetické schéma (Obrázek 6) znázorňuje oddělení *Y. pestis* od *Y. pseudoburculosis*, dále jsou zaznamenány nově získané či výše zmíněné chybějící virulentní geny v době bronzové. Větvení fylogenetického stromu zaznamenává i tři následující světové pandemie.

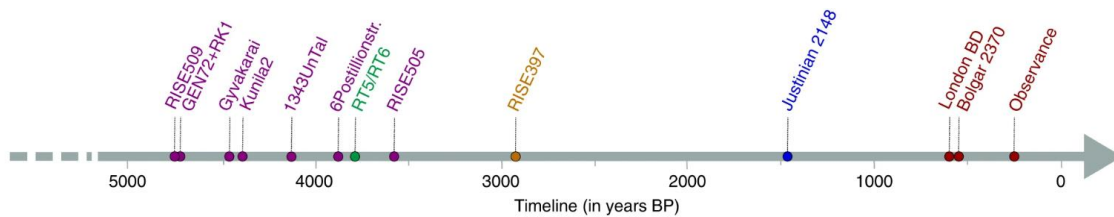


Obrázek 6: Schéma fylogeneze *Y. pestis*: Šipkami jsou vyznačeny genetické zisky (modře) a genetické ztráty nebo mutace se ztrátou funkce (červeně). Historické zaznamenané pandemie jsou vyznačeny modře. Kalendářní roky označují hlavní ohnisko pandemie (Simon Rasmussen *et al.*, 2015).

V roce 2018 byla vydána studie, která vychází z výsledků nálezů v oblasti Samara, což je dnešní území Ruska. Tato práci rekonstruuje starověké genomy *Y. pestis* z jedinců, jejichž stáří lze datovat do období pozdní doby bronzové, přibližně 3800 př. n. l. Studie dokládá jasné rozdíly mezi novými kmeny a linií LNBA (pozdní neolit a doba bronzová), které řeší S. Rasmussen a jeho tým ve studii z roku 2015, a naznačuje, že plná schopnost přenosu blechami způsobující dýmějový mor se vyvinula o více než 1000 let dříve, než se dosud předpokládalo. Vzorky aDNA byly izolovány z devíti zubů patřícím devíti různým jedincům. Při prvním hodnocení pokrytí plazmidů se navíc ukázalo, že kmeny RT5 a RT6 obsahují genový lokus *Yersinia* murine toxin (*ymt*) na plazmidu pMT1. Tento gen chybí u všech dříve sekvenovaných kmenů LNBA, ačkoli byl identifikován u jedince z pozdější doby železné, přibližně 2900 př. n. l.,

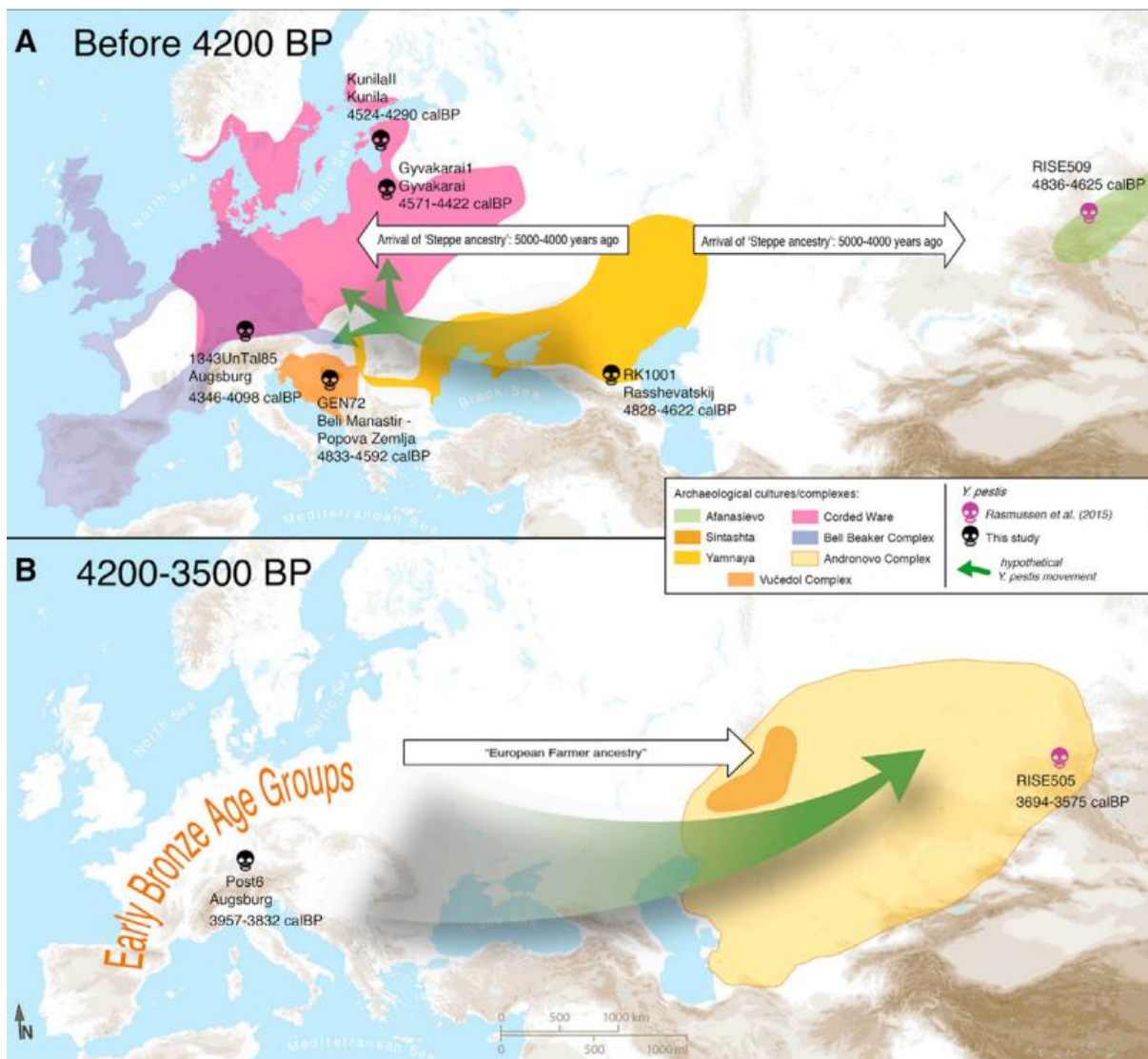
z dnešní Arménie (RISE397). Závěr studie navrhuje, že v době bronzové vzniklo několik linií *Y. pestis*, z nichž některé přetrvávají dodnes. (Spyrou *et al.*, 2018)

Následující časová osa (Obrázek 7) znázorňuje vznik konkrétních kmenů *Y. pestis*, fialově jsou znázorněny kmeny LNBA bez *ymt*, mezi nimi jsou vidět zelené kmeny RT5 a RT6 již *ymt*, které byly objeveny právě v oblasti Samary, následuje další fialový kmen se skupiny LNBA, který je též bez *ymt*. Až po roce 3000 př. n. l. vznikl žlutě znázorněný kmen z rané doby železné v oblasti Arménie, u něhož byl *ymt* opět přítomen stejně jako u následujících kmenů.



Obrázek 7: Časová osa kmenů *Y. pestis* (Spyrou *et al.*, 2018).

Objev molekulárních znaků *Y. pestis* u prehistorických euroasijských jedinců a dvou genomů z jižní Sibíře naznačuje, že *Y. pestis* způsobovala určitou formu onemocnění u lidí před první historicky doloženou pandemií. Studie z roku 2017 představuje šest nových evropských genomů *Y. pestis* zahrnujících období od pozdního neolitu až do doby bronzové (LNBA; 4800 až 3700 let př. n. l.). Toto období je charakterizováno velkými transformačními kulturními a sociálními změnami, které vedly k vytvoření celoevropských sítí kontaktů a výměny. Všechny známé kmeny LNBA tvoří ve fylogenezi *Y. pestis* jeden domněle vymřelý „klad“ neboli monofyletický taxon. Při interpretaci údajů v kontextu nedávných starověkých lidských genomických důkazů, které naznačují zvýšení lidské mobility během LNBA, autoři studie navrhli možný scénář raného šíření *Y. pestis*. Podle něj se patogen mohl dostat do Evropy ze střední Eurasie po expanzi lidí ze stepí, přetrvat v Evropě až do poloviny doby bronzové a souběžně s lidskými populacemi se přesunout zpět do střední Eurasie viz Obrázek 8. (Mittnik *et al.*, 2017)



Obrázek 8: (A) Příklad *Y. pestis* do Evropy ze střední Evropy. Eurasie s expanzí yamnajských pastevců asi před 4800 lety. (B) Cirkulace *Y. pestis* na jižní Sibiř z Evropy. Zobrazeny jsou pouze kompletní genomy (Mittnik et al., 2017).

4.2. Justiniánská pandemie

V první polovině šestého století postihlo Byzantskou říši několik přírodních katastrof, jmenovitě to bylo zemětřesení, požáry, stoleté povodně a sucha. Některé z nich způsobily rozsáhlé materiální škody, zabily tisíce lidí a narušily obchod, řemesla a zemědělskou produkci, ačkoli účinky byly vždy krátkodobé, místní nebo regionální. Nejničivější katastrofa během dlouhé vlády císaře Justiniána I. (527-565), kterou nikdo neočekával, ani se na ni nemohl nijak připravit, a která více či méně zasáhla všechny provincie a města říše, byla epidemie dýmějového moru, dnes považovaná za první morovou pandemii, raně středověkou pandemii (EMP) nebo známou prostě jako Justiniánský mor (Plague of Justinian). Specifické podmínky, geografické podmínky a klimatická anomálie, které nastaly v roce 536, spolu s vysokou mírou urbanizace, koncentrace obyvatelstva a ekonomické integrace východního Středomoří, tj. hustá

síť námořních a pozemních cest, čilý obchod a mobilita, to vše přispělo k tomu, že mor propukl nejen v této části světa, ale také ji nejvíce postihl. Mor, zejména jeho první dvě vlny (541-544 a 557-561), nebyl jedinou příčinou četných krizí (vojenské porážky, úbytek obyvatelstva, hospodářská deprese, úpadek stavebnictví, nedostatek financí atd.), kterým byla Byzantská říše nucena čelit v šestém a sedmém století, ale jeho přímý dopad byl jistě značný. Epidemie, vracející se zhruba každých 15 let, prohloubila a urychlila některé ekonomické a demografické problémy, které narůstaly již za Justiniánovy vlády. Justinián finanční krizi přestál, ale jeho nástupce Justinián II. (565-578) kvůli ní téměř zkrachoval. (Bystrický, 2023)

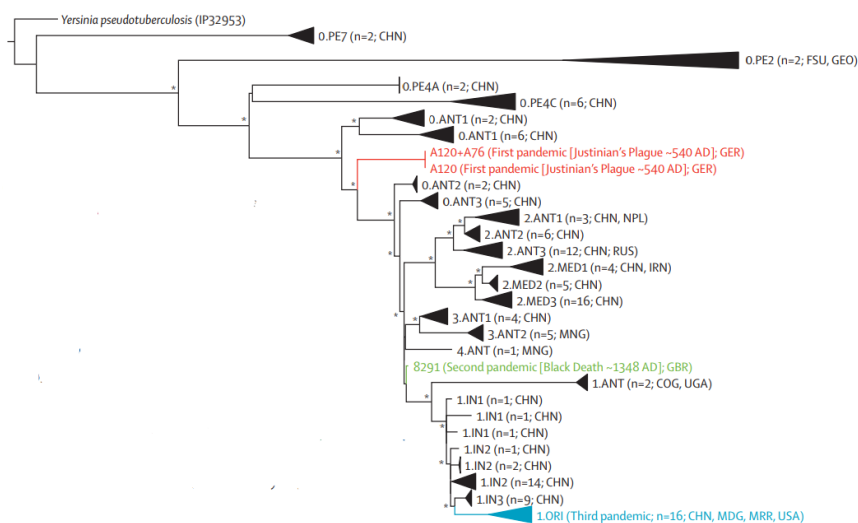
Podle archeologů a paleomikrobiologů Justiniánský mor, nazývaný také Justiniánův, vypukl v letech 541 až 543 n. l. Tato pandemie je tradičně považována za první ze tří lidských morových pandemií. Justiniánský mor se rozšířil ze střední Asie nebo Afriky napříč Středozemím do Evropy (Wagner *et al.*, 2014). V Africe pandemie vypukla v Egyptě, odkud se mor dál šířil směrem do Východořímské říše a jejího okolí (Feldman *et al.*, 2016). Podle odhadů Prokopia tato pandemie způsobila smrt asi sta milionů lidí, ačkoli tato historie je sporná (Wagner *et al.*, 2014). Prokopius byl významný světský historik za vlády císaře Justiána, zároveň je autem mnoha knih, včetně záznamů pandemie (Bystrický, 2023). Rozšíření moru mohlo přispět k zániku Římské říše a k přechodu na novou říši, následoval postupný přechod z období starověku až po začátek středověku. Následné morové epidemie se objevovaly v osmiletých až dvanáctiletých cyklech, a to po dobu dvou století po první vlně, s odhadovanou úmrtností 15-40 %. (Wagner *et al.*, 2014)

Odhaduje se, že v průběhu dvou století se epidemie mohla vrátit až v osmnácti vlnách a pak náhle v polovině osmého století odezněla v Evropě i na Blízkém východě. Avšak důvody tohoto náhlého utišení jsou podle autorů studie nejasné (Feldman *et al.*, 2016). Ačkoli se předpokládá, že původcem všech vln byla *Y. pestis*, nejasnosti v historické epidemiologii vedly některé badatele k tomu, že jako původce Justiniánského moru navrhli jiné patogeny, například virus chřipky. Příznaky popsané Prokopiem jsou však velmi podobné příznakům, které byly později zaznamenány během druhé pandemie, tedy ve čtrnáctém až sedmnáctém století (tj. Černé smrti), z níž byla *Y. pestis* genomicky charakterizována, což tento bakteriální druh usvědčuje z toho, že byl původcem infekce první pandemie. (Wagner *et al.*, 2014)

Přítomnost *Y. pestis* u obětí nákazy Justiniánského moru byla potvrzena sekvenováním genomických oblastí specifických pro *Y. pestis*. Sekvenované vzorky pocházely z kosterního materiálu jedinců pohřbených v Sens, ve Francii, a v Bavorsku, v Německu. I přes sekvenaci specifických oblastí chybí podrobná genomická charakteristika kmenů, které způsobily první

pandemii, a jejich vztah k následným morovým pandemiím. Zejména není jasné, zda justiniánské kmeny byly přímými předky kmenů černé smrti a pozdějších morových epidemií, nebo zda tvoří novou linii *Y. pestis*. Stejně tak není jasné, zda druhá a třetí pandemie byly výsledkem pokračujícího opětovného výskytu jednoho pandemického kmene, nebo se jednalo o nové výskyty z různých rezervoárů hlodavců. (Wagner *et al.*, 2014)

Na raně středověkém pohřebišti v Aschheimu, v Německu, byly odebrány zuby dvou jedinců (známých jako A120 a A76). Radiokarbonové datování obou jedinců: A120 až 533 n. l. (± 98 let); A76 až 504 n. l. (± 61 let) určilo staří, která spadá do časového rámce první pandemie. Ze zubů těchto jedinců byla izolována DNA, a to pomocí modifikované fenolchloroformové metody. U extraktů DNA byla zjišťována přítomnost genu *pla*. V několika krocích byla provedena sekvenace a následná rekonstrukce návrhů genomů infekčních kmenů *Y. pestis*. Výsledné genomy byly porovnány s databází genomů obsahující 131 kmenů *Y. pestis*, které pocházejí z druhé a třetí pandemie, následně byl s maximální přesností sestaven fylogenetický strom viz Obrázek 9. (Wagner *et al.*, 2014)



Obrázek 9: Fylogenetický strom, (Wagner *et al.*, 2014)

Fylogenetický strom má oproti předešlým studiím novou větev vedoucí k oběma justiniánským vzorkům. Tato větev nemá žádné známé současné zástupce, a je tedy buď vyhynulá, nebo se nevyskytuje v rezervoárech volně žijících hlodavců. Justiniánská větev se prolíná mezi dvěma existujícími skupinami, 0.ANT1 a 0.ANT2, a je vzdálená kmenům spojeným s druhou a třetí pandemií. Autoři studie došli k závěru, že linie *Y. pestis*, které způsobily Justiniánský mor a o osm set let později Černou smrt, se nezávisle na sobě dostaly z hlodavců na člověka. Tyto výsledky ukazují, že druhy hlodavců na celém světě představují důležité rezervoáry pro opakovaný výskyt různých linií *Y. pestis* v lidských populacích. V případě zachovalé

skupiny 0.ANT1 a 0.ANT2 byl potvrzený výskyt v dlouhodobých ohniscích moru, konkrétně v oblasti Sin-ťiang v Číně, kde jsou ekologicky tyto skupiny kmenů usazeny v populacích hlodavců a blech. Tato zjištění jsou v souladu s teorií, že první pandemie pochází z hlodavců, kteří byli součástí dlouhodobých morových ohnisek v Číně, nikoliv v Africe, jak bylo původně navrhováno Procopiem. Následně se pandemie rozšířila na východ do Evropy po zavedených obchodních trasách. (Wagner *et al.*, 2014)

V roce 2016 byly objeveny další oběti Justiniánského moru. Nalezištěm bylo jihoněmecké pohřebiště z šestého století (426 až 561 n.l. podle radiokarbonové metody) v Altenerdingu, nedaleko Mnichova. Altenerding se nachází asi dvacet kilometrů od Alsecheimu, kde byly pohřebiště z Wagnerovy studie. Dvojitá hrobka skrývala kostry dvaceti jedinců, avšak pouze u dvou extrahovaných zubů byla potvrzena přítomnost *Y. pestis*. Tyto zuby patřily ženě a muži ze stejné části hrobky. Rekonstruovaný genom *Y. pestis* umožnil odhalit třicet unikátních substitucí a také strukturní rozdíly, které nebyly dosud popsány. Autoři studie se zabývali tzv. „indely“ (inseccions/deletions mutation), jež ovlivňují gen transkripčního regulátoru rodiny *lacl* a nesynonymní záměny v genech *nrde*, *fadJ* a *pcp*, které byly navrženy jako determinanty virulence moru, nebo u nichž byla prokázána zvýšená regulace v různých modelech infekce morem. Kromě toho bylo identifikováno devatenáct falešně pozitivních substitucí v dříve publikovaném genomu *Y. pestis* s nižším pokrytím z jiné archeologické lokality ze stejného časového období a zeměpisné oblasti, který je jinak geneticky identický s genomovou sekvencí s vysokým pokrytím, o níž se zde referuje, což naznačuje nízkou genetickou diverzitu moru v průběhu šestého století na jihoněmeckém venkově. (Feldman *et al.*, 2016)

Podle historických pramenů zasáhl Justiniánský mor Evropu v šestém století nejméně třikrát. První známá vlna propukla ve Středomoří v letech 541 až 543 n. l.; další velké vlny se vyskytly v letech 558 až cca 590. Neúplné písemné záznamy se o moru v této oblasti Německa nezmiňují. Vzhledem k tomu, že není jasné, zda druhá velká vlna zasáhla západní Evropu, zemřely tyto oběti s největší pravděpodobností v první nebo třetí morové vlně. V každém případě se genom z Altenerdingu datuje do prvních desetiletí dvě stě let trvající pandemie. Jak se patogen dostal do jižního Německa, není v současné době známo. Bude zapotřebí dalších důkazů, aby se objasnilo, zda putoval přes Alpy ze Středomoří, jak se předpokládá v případě Černé smrti, nebo z Francie a západního Německa. Případně se mohl dostat po Dunaji z východu. Pro lepší pochopení této pandemie je třeba se zabývat rozdíly v epidemiologii. Jako zásadní rozdíl se nesporně jeví mnohem rychlejší geografické šíření historických pandemií ve srovnání s moderní třetí pandemií. Geografický rozsah a dopad jednotlivých vln i celé Justiniánské

pandemie na úmrtnost zůstávají neznámé. Je známo, že environmentální a behaviorální faktory, stejně jako genetické faktory hostitele, přenašeče nebo patogenu, mění dynamiku onemocnění v moderních ohniscích moru. (Feldman *et al.*, 2016)

Prokopius podrobně zaznamenal vypuknutí moru, jeho šíření, příznaky a průběh nemoci. Všiml se, že příznaky tohoto moru byly jiné než ty, o kterých četl u Thukydida. Také Evagrius, církevní historik za vlády císaře Justiniána I., později potvrdil, že mor v šestém století se v některých ohledech podobal athénskému, ale v jiných se velmi lišil. Prokopius si dále všiml úsilí lékařů o pochopení a léčbu nemoci a vyčerpání příbuzných, kteří se starali o nemocné, a věnoval se otázkám počtu nepohřbených těl a zásobování města potravinami. Zmínil se o tom, že někteří lidé považovaní za moudré se pokoušeli objasnit příčinu pomocí různých teorií, a přestože nedospěli k žádnému rozumnému výsledku, chtěli prý udělat dojem na ostatní a přesvědčit je. Prokopius je zde však zbytečně přísný, protože kromě šarlatánů existovali lékaři a další učenci, kteří jistě chtěli s jistotou určit původ nemoci. Nikdo však nespojoval epidemii s pozoruhodnou událostí, jež předtavovala klimatickou anomálií, k níž došlo v roce 536. (Bystrický, 2023)

Jednalo se o mohutný sopečný výbuch, který způsobil výrazné ochlazení země. Roky 536 a 541 byly nejchladnější za posledních tisíc pět set let, protože sopečný mrak pokryl velkou část Středozevního moře a byl tak obrovský a hustý, že nejen výrazně snížil teplotu vzduchu a intenzitu slunečního záření, ale dokonce zastínil Slunce. Po určitou dobu se zdálo, že vychází jen na několik hodin denně. Ochlazení nad Itálií mělo za následek vznik prachového závoje, sucho a velký nedostatek srážek (sopečná suchá mlha). Jinde – například ve východním Středomoří – byla popsána tato anomálie jako „vlhká mlha“ nad mořem i pevninou. Nakonec v některých oblastech přšlo více než obvykle a buď to zničilo úrodu, nebo mělo naopak pozitivní účinek. Písemné zprávy o výkyvech počasí jsou také z Galie, Irska, Persie, a dokonce i z Číny. Podobné informace chybějí z Egypta, ačkoli zprávy byly potvrzeny díky dendrochronologickému výzkumu dubů a borovic, stejně jako archeologickými, palynologickými výzkumy a vzorky ledové krusty odebrané z ledovců v Grónsku. (Bystrický, 2023)

V kapitole Cyklus *Y. pestis* je zmíněno, že z endemických ohnisek se *Y. pestis* šíří při přírodních katastrofách, podle Titballa and Williamsona 2001, vzhledem k podložení historických záznamů přírodních katastrof pomocí archeologie, dendrochronologie, palynologie a vzorkům ledu, se jedná o příklad potvrzení jedné z příčin vypuknutí historické morové pandemie. Tento příklad je tak názornou ukázkou důležitosti mezioborové spolupráce jak exaktních přírodních věd, tak humanitních věd jako je např. historie, přestože z pohledu

přírodních věd je pochopitelná výrazná skeptičnost k historickým záznamům. Čím hlouběji do historie se prostřednictvím historických pramenů lze dostat, tím více exaktních důkazů by se mělo dokládat, protože jen velmi těžko je možné spoléhat na to, že starověcí či středověcí autoři, kronikáři, ale i lékaři, vědci a další, kteří bývali ve své době zároveň filozofy a přírodovědci, písemně zaznamenali objektivní informace. Jejich subjektivní popis pandemie, socioekonomické situace a občas politické důvody či postavení tak mohlo výrazně zkreslit komplexní realitu a informace pro další generace. Většina těchto vlivů je dnes eliminována přesnými pravidly a protokoly pro vědecké práce i jejich publikace, což může být zásadní pro budoucí generace a jejich vyhodnocování informací s cílem dosáhnout nových vědeckých poznatků. Propast mezi přírodními a humanitními vědami úspěšně překonávají obory jako archeologie a paleomikrobiologie.

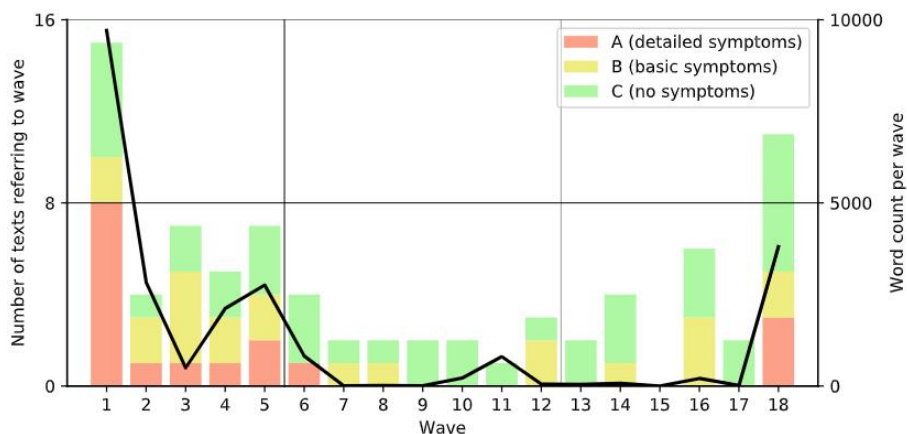
Pozdně antická morová vyprávění jsou komplexní literární příběhy s mnoha vrstvami rétorického významu. Jejich autoři měli při psaní politické, ideologické a osobní cíle a texty obsahují významné předsudky, které je třeba kontextualizovat. Vyprávění o katastrofické morové nákaze může odrážet realitu nebo být hrubou nadsázkou použitou ke zdůraznění určitého bodu (např. božího nesouhlasu). Jeden z klíčových popisů Justiniánského moru například tvrdí, že při prvním výskytu zahynulo 99,9 % obyvatel, zatímco jiný vlivný pozdně antický autor tvrdí, že císař Justinián - o němž autor tvrdí, že byl „zlým démonem“ - zabil během své vlády při různých katastrofách jeden bilion lidí. Z těchto příkladů vyplývá, že pozdně antická tvrzení o tom, že mor byl všudypřítomný nebo téměř všudypřítomný, je třeba brát s rezervou. Ačkoli by každá pasáž měla být zkoumána kriticky, a to jak v kontextu díla, v němž se objevuje, tak v rámci konkrétního kulturního prostředí díla, maximalisté mají tendenci číst morové pasáže pozitivisticky a přijímat pozdně antická tvrzení a komentáře k Justiniánské pandemii, jako by se jednalo o podložená fakta. (Mordechai *et al.*, 2019)

Přestože se tvrdí, že tato pandemie si v průběhu času získala méně pozornosti kvůli vysoké frekvenci opakování moru, je pozoruhodné, jak četné pozdně antické texty, včetně několika, které údajně přehlízejí nebo lehce přehlízejí pozdější výskyty pandemie, podrobně pojednávají o jiných přírodních katastrofách, jako je zemětřesení. Předpokládá se totiž, že seismické události byly mnohem častější a méně smrtelné než jednotlivé epidemie, přesto jim autoři věnovali pozornost po celý pozdní starověk i později. Současníci se rozhodli připomínat si některé pohromy, jako jsou zemětřesení a relativně malé sopečné erupce, ale nepřipomínali si mor. (Mordechai *et al.*, 2019)

Existující odhady úmrtnosti tvrdí, že Justiniánský mor (asi 541 až 750 n. l.) způsobil desítky milionů úmrtí v celém Středomoří a v Evropě a přispěl k ukončení období antiky a zahájení středověku. V tomto článku se se tvrdí, že toto paradigma neodpovídá důkazům. Autoři článku zkoumali řadu nezávislých kvantitativních a kvalitativních souborů dat, které přímo či nepřímo souvisejí s demografickými a ekonomickými trendy v tomto dvoustletém období. Jednalo se o písemné prameny, legislativu, mince, papyry, nápisy, pyl, aDNA a funerální archeologii. Jednotlivě ani dohromady nepodporují maximalistické paradigma. Žádný z nich nemá jasnou nezávislou souvislost s vypuknutím morové epidemie, žádný nepodporuje maximalistické rekonstrukce pozdně antického moru. Namísto rozsáhlé, rušivé úmrtnosti naznačují tyto soubory dat, jsou-li zkoumány v kontextu a společně, kontinuitu napříč morovým obdobím. Ačkoli demografické, ekonomické a politické změny mezi šestým a osmým stoletím pokračovaly, důkazy nepodporují dnes již běžné tvrzení, že Justiniánský mor byl jejich hlavním příčinným faktorem. (Mordechai *et al.*, 2019)

Další důkazy, jako je nedávná molekulární identifikace *Y. pestis* u pozdně antických Evropanů, trpí nízkým časovým rozlišením (intervaly nejistoty padesát let a více) a malým počtem známých případů, přibližně pouhých čtyřicet pět. Přítomnost moru navíc sama o sobě nepotvrzuje nejhorší úmrtnost v jakémkoli prostorovém nebo časovém ohledu. Pro každou lokalitu by měly být využity dostupné přímé a nepřímé důkazy o moru, aby bylo možné pochopit, zda a jak nemoc proměnila místní komunity. Takové mikrostudie by posloužily jako základ pro diferencovanější interpretaci pozdně antického moru. Na základě uvedených důkazů se autoři studie domnívají, že Justiniánská pandemie a tzv. první pandemie mají poměrně malou podobnost s druhou pandemií, především její vlnu označovanou jako Černá smrt, která významně ovlivnila demografii, hospodářství a krajinu západní Eurasie a severní Afriky. (Mordechai *et al.*, 2019)

Následující graf (Obrázek 10) znázorňuje počet textů během jednotlivých pandemických vln, zároveň jsou barevně odlišeny texty podle toho, jak detailně popisovaly morové symptomy. Nejvíce záznamů je z první a poslední, tedy osmnácté, vlny. O patnácté vlně nebyly v této studii žádné nalezené záznamy. Co se týče detailního popisu symptomů, tak nejvíce detailů bylo zaznamenáno během první vlny, během prvních šesti vln je patrný pokles detailních symptomů, od sedmé až do sedmnácté vlny nejsou zaznamenány žádné detailní symptomy, ty přicházejí až s osmnáctou vlnou. Jako závěr lze vyvodit, že první vlna byla pravděpodobně nejničivější, ale bez přesných dat o nemocnosti, mortalitě, rychlosti a dalších epidemiologických dat nelze poskytnout žádný exaktní závěr.



Obrázek 10: Počet textů odkazujících na jednotlivé morové vlny (barevné sloupce) a celkový počet slov v nich (černá čára) (Mordechai *et al.*, 2019).

4.3. Černá smrt

Druhá morová pandemie ve středověké Evropě začala epidemií Černé smrti v letech 1347-1353. Uvádí se, že během čtyř století zabila miliony lidí (Schmid *et al.*, 2015). Černá smrt začala v Asii a rozšířila se na Krym, poté do Evropy a Ruska. Po první velké vlně se objevovaly další, a to během čtrnáctého až osmnáctého století. Už v roce 1346 bylo v evropských námořních přístavech ve všeobecném povědomí, že na Východě řádí epidemie moru. V roce 1347 byl mor z Malé Asie zanesen na Krym. Nákaza byla přivezena mongolskými vojsky, která obléhala město Kaffa, což je nyní Feodosija na Ukrajině. Tehdy to bylo významné obchodní město na břehu Černého moře. Mongolové při obléhání neuspěli, avšak než vojska město opustila, rozhodla se pro pomstu. Ta spočívala v házení obětí moru přes hradby města. Výsledkem byla panika, při které uprchlo mnoho obchodníků. Bohužel už bylo pozdě, protože byli nakaženi a zavlekli tak mor do Konstantinopole, dále pak přes Středozemní moře do Messiny na Sicílii, což by začátek velké pandemie šířící se dál po Evropě. Do roku 1348 se nákaza dostala do Marseille, Paříže a dalších měst. Následovalo Německo, v roce 1349 pak Španělsko, Anglie, Norsko a v roce 1350 východní Evropa. Nicméně prchající obchodníci nebyli jediní, kdo šířil mor dál, protože Mongolové si ho odnesli s sebou a podíleli se tak na jeho šíření v Rusku a Indii. (Frith, 2012)

Guy de Chauliac, osobní lékař papeže, popisuje příznaky středověkého moru a zároveň zaznamenává vysokou mortalitu, která v té době, tedy na začátku propuknutí druhé největší pandemie, dosáhla 80 %. Rychlost šíření byla tři až pět kilometrů za den, což odpovídá průměrné rychlosti chůze v té době. (Drancourt and Raoult, 2016)

Výsledky studie, která řeší klima v souvislosti s šířením moru, podporují jednu možnou teorii. Tato teorie říká, že klimatické výkyvy, jež pozitivně ovlivňují růst stromových letokruhů u jalovců v pohorí Karakorum, mají také efekt na klima v širším regionu. V důsledku této regionální klimatické změny hrozí synchronizované propuknutí moru mezi více populacemi hlodavců ve Střední Asii. Když se klima následně stane méně příznivým, usnadní to kolaps populací hlodavců nakažených morem a jejich blechy jsou tak nuceny najít si alternativní hostitele. Taková rozsáhlá ohniska moru volně žijících zvířat v Asii by v době druhé pandemie moru mohla vést k tomu, že by se mor do evropských přístavů dostal se zpožděním asi patnácti let. (Schmid *et al.*, 2015)

Východní Evropa je jedním z klíčových regionů, ve kterém je třeba prozkoumat šíření moru a evolučních mechanismů, jež jsou jeho základem. Vzhledem k tomu, že východní Evropa leží na rozhraní Evropy a Asie, je pravděpodobnou vstupní branou pro zavlečení moru do Evropy a může obsahovat mimořádně důležité informace o cirkulaci a možných ekologických nikách *Y. pestis* v regionu. Doposud však byly k dispozici pouze dva středověké genomy *Y. pestis* z východní Evropy, a to ze dvou pohřebišť datovaných do období ze třináctého až čtrnáctého století z Mongolska. V tomto případě se jedná o dvě mongolské lokality: Bolgar a Laishevo. Aby bylo možné charakterizovat genetickou diverzitu moru ve východní Evropě, bylo potřeba rekonstruovat čtyři kompletní genomy *Y. pestis* z kosterních pozůstatků patřících obětem moru v jižním Rusku (šestnácté až osmnácté století) a Polsku (patnácté až osmnácté století). Navíc byla analyzována aDNA z fragmentů lebek krysy z kostnice v Gdaňsku, v Polsku. Analýza krysí aDNA měla odhalit genetické údaje z potenciálního rezervoáru zvířecího moru v Evropě. (Morozova *et al.*, 2020)

Celkem sedmdesát osm lidských vzorků bylo odebráno ze tří pohřebišť, konkrétně z pevnosti Svatý Dmitrij Rostovský (Rostov na Donu, Rusko), kde byly podle historických dokumentů pohřbeny oběti moru z období 1762–1773. Druhým nalezištěm bylo město Azov ve stejném regionu, zde se jednalo o oběti z patnáctého až sedmnáctého století, posledním nalezištěm bylo město Gdaňsk s nálezy datovanými do patnáctého až osmnáctého století. Kromě toho byly shromážděny tři fragmenty jedné lebky krysy, jak již bylo zmíněno výše. PCR screening odhalil přítomnost *pla* pozitivního amplikonu u pěti jedinců, čtyři byli z jižního Ruska a jeden z Polska. Při analýze byla také testována přítomnost tří typických plazmidů *Y. pestis*. Nakonec se podařila rekonstrukce čtyř genomů *Y. pestis*. Studie potvrdila, že nově rekonstruované východoevropské kmény se v rámci fylogeneze nacházejí mezi jinými středověkými a raně novověkými kmény

Y. pestis. Molekulární analýza krysí lebky potvrdila, že se skutečně jednalo o kysu černou, která je považována za hlavního přenašeče moru. (Morozova *et al.*, 2020)

Na základě výsledků odebraných v Marseille, ve Francii, bylo předloženo pět genomů *Y. pestis* z jednoho z posledních evropských ohnisek moru z roku 1722. Identifikovaná linie nebyla nalezena v žádném ze zachovaných ohnisek *Y. pestis*, z nichž byly dosud odebrány vzorky, a její předci pocházejí z kmenů získaných od obětí černé smrti ve čtrnáctém století. Tyto údaje naznačují existenci dosud necharakterizovaného historického ohniska moru, které přetrvávalo nejméně tři století. Předpokládá se, že tento zdroj nákazy mohl být zodpovědný za četná obnovení výskytu moru v Evropě po černé smrti. (Bos *et al.*, 2016)

Dalším nalezištěm v Evropě je Riga, v Lotyšsku. K analýze aDNA byly předloženy vzorky ze šestnácti jedinců, kteří byli nalezeni při vykopávkách na dvou různých hřbitovech. Nakonec z těchto šestnácti jen čtyři byli identifikováni jako pozitivní na *Y. pestis*. Tři z nich byli pohřbeni ve dvou hromadných hrobech a jeden v hrobové jámě na hřbitově kostela svaté Gertrudy. U dvou vzorků bylo pokrytí aDNA *Y. pestis* dostatečné pro rekonstrukci genomu. Následná fylogenetická analýza ukázala, že izolované kmeny spadají do diverzity již známých genomů, a to do období po černé smrti. Zajímavé je, že oba lotyšské izoláty se neshlukovaly. Navíc se ukázalo, že je zde pokles pokrytí oblasti plazmidu pPCP1 obsahujícího gen *pla*. Další analýza ukázala přítomnost dvou plazmidů pPCP1, jednoho s oblastí genu *pla* a druhého bez ní, a pouze jednoho bakteriálního chromozomu, což naznačuje, že stejná bakterie nese dva různé plazmidy pPCP1. Kromě toho byla potvrzena stejná strategie u většiny dříve publikovaných kmenů po černé smrti, ale ne u kmenů černé smrti. Podlé této strategie je gen *pla* důležitým faktorem virulence pro infekci a přenos u lidí. Šíření kmenů ochuzených o *pla* tak mohlo kromě jiných příčin přispět k vymizení druhé pandemie moru v Evropě v osmnáctém století. (Susat *et al.*, 2020)

Předchozí analýzy vedly k hypotéze, že jedinci pohřbeni v hromadných hrobech byli venkovští přistěhovalci. Genetické údaje o lidské populaci potvrdily jejich severoevropský původ. S největší pravděpodobností přišli do Rigy během hladomoru v letech 1601-1602 a pobývali v přístřešcích v okolí kostela svaté Gertrudy. Nedostatečná výživa a stísněné, nehygienické podmínky mohly zvýšit jejich náchylnost k infekčním chorobám, včetně moru. Studie ukázala, že jedinci pohřbeni v buď hromadných hrobech, nebo v malé pohřební jámě, byli skutečně oběťmi moru, což potvrzují historické zprávy o lokálních ohniscích moru v Rize na počátku sedmnáctého století. (Susat *et al.*, 2020)

Lidské populace se utvářely v důsledku katastrof, které mohly zanechat dlouhodobé stopy v jejich genomech. Jedním z pozoruhodných příkladů je právě období druhé pandemie. Předpokládá se, že vysoká mortalita ovlivnila genofond těchto populací. Zaprvé vysoký lokální pokles populace snížil genetickou diverzitu, zadruhé se očekává změna frekvence sekvenčních variant, které mohly ovlivnit přežití nebo náchylnost k *Y. pestis*. A zatřetí masová mortalita mohla změnit lokální genofondy prostřednictvím dopadu na následné migrační vzorce. Tyto faktory byly zkoumány na příkladu norského města Trondheim, a to pomocí sekvenování padesáti čtyř genomů ve třech časových obdobích: před morem, který Trondheim zasáhl v roce 1349, v sedmnáctém až devatenáctém století a v současnosti. Bylo zjištěno, že pandemické období formovalo genofond tím, že se snížila imigrace na velké vzdálenosti, zejména z britských ostrovů, a vyvolalo to tzv. bottleneck efekt, který snížil genetickou rozmanitost. Ačkoli pozorujeme také nadbytek velkých fixací na několika lokusech v genomu, jsou tyto hodnoty utvářeny referenčními zkresleními vnesenými mapováním naší degradované aDNA s relativně nízkým pokrytím genomu do referenčního genomu. Z toho vyplývá, že pokusy o detekci selekce pomocí souborů aDNA, které se liší délkou čtení a hloubkou pokrytí sekvenování, mohou být obzvláště náročné, dokud nebudou vyvinuty metody zohledňující dopad rozdílného referenčního zkreslení na testovací statistiku. (Gilbert, 2022)

Problémem, kvůli němuž si mnozí vědci kladou otázku, zda černá smrt a dýmějový mor moderní doby mají stejného původce, je míra mortality. O celkové mortalitě způsobené morem ve středověku není nic přesného známo, ale několik analýz existujících pramenů naznačuje, že v létě roku 1348 zahynulo až 75 až 80 % obyvatelstva. Jeden z prvních popisů demografických důsledků černé smrti viděných v historickém kontextu dochází k závěru, že zahynuly dvě třetiny duchovních ve West Ridingu a přibližně polovina duchovních v East Ridingu. Pozdější britský výzkum potvrdil úmrtnost kolem 50 %. Americký demograf J. C. Russell ve svém výzkumu stanovil poněkud méně dramatickou úroveň úmrtnosti, 40 % pro období mezi lety 1348 a 1377, během něhož byla v Anglii zpustošena čtyřmi epidemiemi moru. Obecně se předpokládá, že mezi epidemiemi v letech 1348-1350, 1360-1361, 1369 a 1375 se počet obyvatel víceméně obnovil. Ve své podrobné studii o demografickém vývoji anglických farností Halesowenu odhaduje Zvi Razi mortalitu v letech 1348-1349 na přibližně 43 %, v letech 1361-1362 na 14 %, v roce 1369 na 17 % a v roce 1375 na 12 %. Tato zjištění se shodují s poznámkou Raymunda Chalmelliho de Vinario, osobního lékaře papeže Klementa VII. z roku 1382 o úmrtnosti na tuto nemoc, která naznačuje, že si středověké obyvatelstvo postupem času vytvořilo vůči moru imunitu. (Lenz and Hybel, 2016)

západní Francií a jižními částmi Anglie a mezi Nizozemím a východními částmi Anglie byly potenciálními cestami nákazy, stejně jako vývoz obilí z východních částí Anglie do Bergenu. Po těchto trasách se šíření infekce přímo shodovalo s obchodními cestami obilí z Francie a Nizozemí do Anglie a z Anglie do Norska. Šíření nemoci z Anglie do Dánska přes Ribe probíhalo jak po, tak proti obchodní trase obilí. (Lenz and Hybel, 2016)

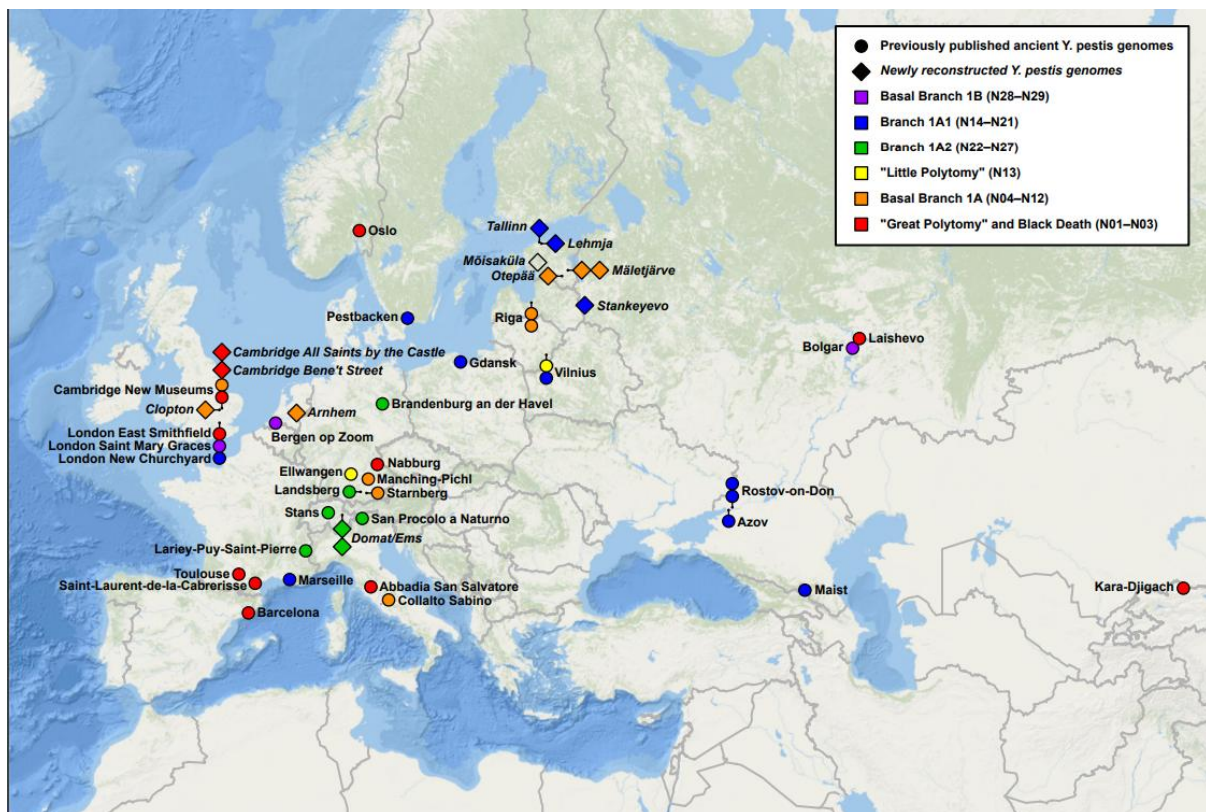
V pozdější části třináctého století bylo Ribe uděleno povolení k dovozu obilí při několika příležitostech. Obchodníci z tohoto města jsou zaznamenáni v anglických celních záznamech z první části čtrnáctého století jako dovozci obilí z přístavů na východním pobřeží Anglie. Populace Norska nebyla infikována pouze z Anglie. Značný vývoz obilí z Německa do Norska byl rovněž důležitý pro přenos nemoci a s nákladem, který se vracel podél pobřeží Hallandu a dánskými vodami do Baltského moře, dorazil mor do Dánska ze severu po stejné trase, na které padli za oběť obyvatelé pruských měst a jejich okolí. Je jisté, že lodě zakotvily ve Skanöru a Skaw a dalších přístavech, když proplouvaly dánskými vodami. (Lenz and Hybel, 2016)

Střední délka života a mortalita se běžně používají jako měřítko celkového zdravotního stavu obyvatelstva v současných populacích. Existují doklady o tom, že střední délka života klesala od konce třináctého století až do černé smrti. To v kombinaci s klesajícími trendy v přežití a rostoucím rizikem úmrtnosti odhadnutým na základě kosterních dat naznačuje, že ve čtrnáctém století se zdraví obecně zhoršilo ještě před příchodem černé smrti. Takové zhoršování zdravotního stavu mohlo v předvečer druhé morové pandemie zhoršit zranitelnost vůči nové nemoci. Jedním z charakteristických rysů černé smrti byla její mimořádně vysoká mortalita. Středověká epidemie zahubila 30 až 60 % evropské populace, což byla úroveň, která byla nesrovnatelná s jakýmkoliv pozdějšími epidemiemi moru. Například v Londýně proběhly v roce 1600 tři velké morové epidemie (včetně Velké londýnské morové epidemie v roce 1665), z nichž každá zabila přibližně pětinu tehdejšího obyvatelstva města. (DeWitte, 2019)

Velká londýnská morová epidemie se šířila dál na sever a v roce 1665 zasáhla asi sto padesát mil vzdálenou vesnici Eyam. Během čtrnácti měsíců moru podlehl dvě stě padesát sedm obyvatel z celkové počtu sedm set. Eyam byl proslulý tím, že zde byla uplatněna karanténa. Ta významně přispěla k proslulosti eyamského moru a všechny historické zprávy se shodují, že byla téměř bez výjimky důsledně uplatňována. Ve viktoriánské době byla karanténa prezentována jako hrdinský čin, který sám o sobě zabránil rozšíření moru do širšího okolí za cenu vyšší úmrtnosti v Eyamu, ale o dobrovolnosti tohoto opatření se od té doby vedou diskuse. Z epidemiologického hlediska však není zajímavá otázka, zda byla karanténa

dobrovolná nebo hrdinská, ale zda se jednalo o rozumné opatření pro kontrolu infekce, či nikoliv. V době vypuknutí epidemie existovalo staré a téměř všeobecné přesvědčení, že mor se přenáší neviditelným miasmatem ve vzduchu, které mohou oběti vdechovat a vydechovat, a proto byla karanténa považována za nezbytnou k zastavení šíření nemoci. Viktoriáni stále věřili v miasmata, a proto nepochybovali o účinnosti karantény. (Didelot, 2016)

V roce 2023 vyšla studie, která se popisuje rekonstrukce jedenácti nových genomů *Y. pestis*. Na základě toho se podařilo objasnit historii druhé pandemie v Evropě a identifikovat dosud neznámé linie. Navíc byly nalezeny další důkazy o pozoruhodné diverzitě *Y. pestis* během morové epidemie v období třicetileté války. Prostřednictvím identických genomů z okolí Baltského moře se podařilo identifikovat šířené epidemie, která podle radiouhlíkové metody měla být v období mezi lety 1470 a 1510. Tato epidemie s největší pravděpodobností zasáhla i další části Evropy. Přehled všech nalezišť spolu s jednotlivými kmeny týkajícími se druhé pandemie znázorňuje Obrázek 13. (Keller *et al.*, 2023)



Obrázek 13: Mapa s kmeny *Y. pestis* z druhé pandemie, (Keller *et al.*, 2023)

4.4. Moderní pandemie a morová ohniska v 21. století

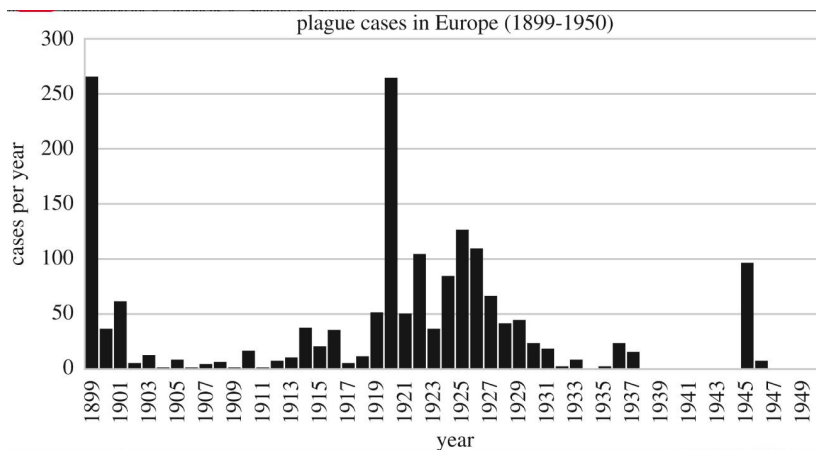
Tři velké morové pandemie se liší geografickým původem a způsobem šíření. Justiniánská pandemie začala ve střední Africe a rozšířila se do Egypta a Středomoří. Černá smrt vznikla v Asii a rozšířila se na Krym, poté do Evropy a Ruska. Třetí pandemie, která vypukla v roce

1894, vznikla v čínském Yunnanu (Frith, 2012). Stejně jako v případě druhé pandemie i zde sehrála významnou roli lodní doprava. Epidemie se rozšířila z Číny do Japonska, Singapur, na Tchaj-wan a na indický subkontinent. Během několika následujících let se mor rozšířil do mnoha měst po celém světě: Bombaj, Singapur, Alexandrie, Buenos Aires, Rio de Janeiro, Honolulu, San Francisco, Sidney a další. První známé případy v Evropě se objevily v září a říjnu 1896, kdy na mor zemřeli dva námořníci z Bombaje na lodích zakotvených v Londýně na Temži (Bramanti *et al.*, 2019). Celková mortalita dosáhla 2-3 % (DeWitte, 2019).

Záznamů o případech a zpráv o ohniscích nákazy během třetí pandemie je mnoho a zlepšily naše znalosti o historické epidemiologii a rozšíření moru. Tyto zprávy byly shromážděny a shrnuty pro několik regionů: Severní Amerika, Jižní Amerika, Afrika a Asie. Chybí však podobný přehled pro Evropu, což ztěžuje porovnání místních a celosvětových vzorců přenosu. Evropa je také jediným regionem, pro který jsou k dispozici rozšířené záznamy a zprávy o předchozích pandemiích moru, zejména o druhé pandemii. Mít zdokumentovaná ohniska třetí pandemie tak může umožnit srovnání s ohnisky historickými, zejména s ohledem na to, že třetí pandemie v Evropě byla omezena na období před antibiotickou érou. (Bramanti *et al.*, 2019)

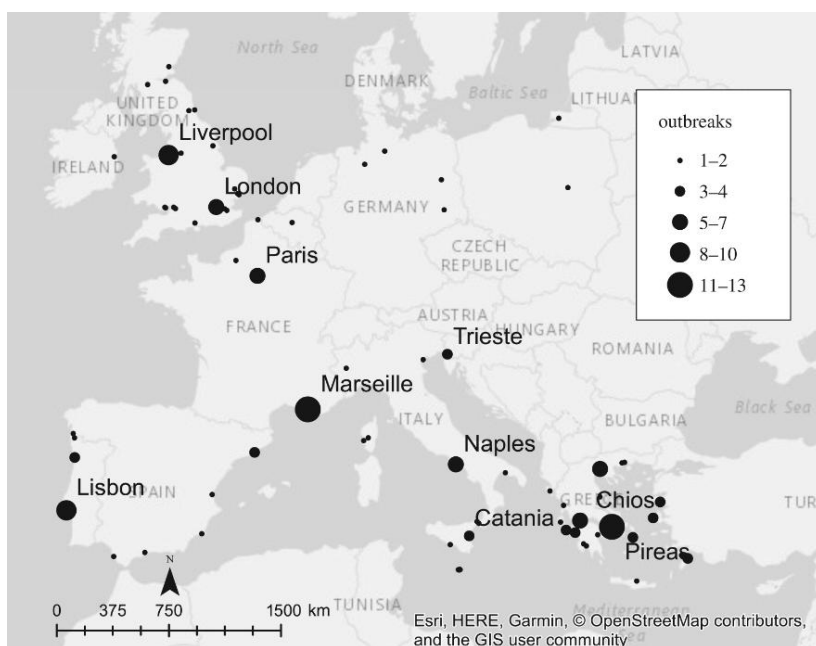
Po zavlečení moru do přístavních měst došlo k rozsáhlým epidemiím u lidí v hustě osídlených městských centrech. Nákaza se postupně šířila do vnitrozemí, zpravidla po dopravních trasách. Vzhledem k tomu, že se domácí krysy ve venkovských oblastech mísily s volně žijícími zvířaty, přenášela se infekce na tyto volně žijící hostitele, kteří dnes slouží jako hlavní rezervoár v oblastech, kde mor zůstává problémem veřejného zdraví. V oblasti Ameriky bylo jako rezervoár identifikováno několik hlodavců, včetně krysy. Hlavním přenašečem je hlodavčí blecha *Xenopsylla cheopis*. (Schneider *et al.*, 2014)

V letech 1899 až 1947 bylo v Evropě hlášeno tisíc šest set devadesát dva případů a čtyři sta padesát sedm úmrtí na mor viz Obrázek 14, přičemž největší počet případů byl zaznamenán v letech 1899 a 1920. (Bramanti *et al.*, 2019)



Obrázek 14: Hlášené případy podezření na mor v Evropě za rok (1899-1950) ze zpráv o veřejném zdraví, (Bramanti *et al.*, 2019).

Případy byly geograficky rozšířené, i když se vyskytovaly především v pobřežních nebo vnitrozemských přístavních městech. Mor byl hlášen v jedenácti zemích a v mnoha městech, včetně Lisabonu, Marseille, Paříže a Pireas, se vyskytlo více ohnisek. V některých částech Evropy se mor nápadně nevyskytoval. Například severské země, které hlásily infekční nemoci, jako je dětská obrna a cholera, nehlásily během třetí pandemie žádný případ moru. Následující mapa (Obrázek 15) ukazuje zmíněná ohniska (Bramanti *et al.*, 2019)



Obrázek 15: Mapa hlášených případů moru v Evropě (1899-1947), včetně počtu ohnisek v jednotlivých lokalitách (Bramanti *et al.*, 2019).

Ze srovnání s šedou literaturou je zřejmé, že ne všechny případy byly uvedeny ve zprávách o veřejném zdraví. Například poslední epidemie v Mongolsku v roce 1945 s třiceti případy a patnácti úmrtími byla utajena z vojenských důvodů. A pravděpodobně další případy nebyly hlášeny v době války. Je patrné, že případy byly hlášeny hlavně ve velkých městech

a přístavech, kde byl větší obchodní ruch, ale zároveň mohlo být k dispozici více prostředků a zavedené postupy pro odhalování infekčních nemocí. Některé regiony, například severské země a východní Evropa, neohlásily žádný případ moru. I když se v těchto oblastech mor skutečně nevyskytoval, nemůže se vyloučit, že mor nebyl zjištěn nebo nebyl nahlášen. Nicméně mohlo dojít k nadměrnému hlášení, pokud byly případy chybně diagnostikovány jako mor. Ačkoli v některých případech byly k identifikaci moru použity rané bakteriologické metody, většina případů uvedených v elektronickém doplňkovém materiálu nebyla potvrzena. Oficiální zprávy a zprávy o jednotlivých ohniscích, jako například v Portu, Glasgow a Mongolku, nabízejí podrobnější informace o počtech případů, příznacích, přenosu a úmrtnosti. Tyto informace se mohou lišit od informací uvedených ve Zprávách o veřejném zdraví. (Bramanti *et al.*, 2019)

V dnešní Evropě nejsou známa žádná ohniska moru, s výjimkou jihovýchodní hranice u Kaspického moře. Její podnebí je vlhčí než podnebí většiny moderních ohnisek moru. Zároveň se dá předpokládat, že údajná středověká ohniska nemusela nutně reagovat na výkyvy klimatu stejně jako moderní ohniska moru. Nicméně rezervoáry nákaz hlodavců v Evropě, jako je hantavirus u hrabošů, reagují na výkyvy klimatu srovnatelným způsobem jako ohniska moru, přičemž ohniska nákazy následují po obdobích teplých a/nebo vlhkých podmínek, které jsou příznivé pro růst vegetace, a tím i pro zvýšení populační hustoty hlodavců. Proto se zdá, že klimatické ukazatele založené na letokruzích stromů, které odrážejí roční podmínky pro růst vegetace, jsou vhodnou volbou pro zjišťování vztahů mezi domnělými ohnisky moru v Evropě a výkyvy klimatu. (Schmid *et al.*, 2015)

Ve čtrnácti z dvaceti pěti zemí Latinské Ameriky (1899-2012) se mor vyskytoval minimálně jeden rok. Ohnisková nákaza přetrvávala v šesti zemích, z nichž ve dvou nejsou hlášeny žádné aktuální případy. Existují důkazy, že případy moru u lidí stále přetrvávají v osmnácti zemích. V jedenácti z nich byly pozorovány demografické a chudinské vzorce. S těmito ohnisky se pojí čtyři nejčastější typy biomů. Ve dvanácti z nich je průměrná nadmořská výška vyšší než 1 300 metrů nad mořem. Přestože jsou případy moru lidí pouze lokální záležitostí, existuje riziko neočekávaného vypuknutí epidemie. Je třeba, aby země vyvinuly konečný tlak na eliminaci moru jako problému veřejného zdraví v Americe. Další možností je rozčleněné hodnocení rizika, včetně identifikace ohnisek a možných interakcí mezi oblastmi, kde by se mor mohl objevit nebo znovu objevit, čemuž by pomohl i užší geografický přístup a charakterizace prostředí. (Schneider *et al.*, 2014)

Volně žijící zvířata jsou rezervoárem moru po celém světě, takže jej nelze eradikovat pouze očkováním lidí jako se to podařilo v roce 1980 s pravými neštovicemi. Jednoho dne může znovu celosvětově vypuknout morová epidemie, pokud nastanou vhodné klimatické, environmentální nebo genetické podmínky. Největší obavy vzbuzuje skutečnost, že *Y. pestis* je na seznamu patogenů, které by mohly být využity k bioterorismu, jenž sestavilo Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí, a to kvůli kombinaci vysoké přenosnosti a smrtelnosti. Byl prvním biologickým činitelem, který byl v zaznamenané historii použit jako záměrná zbraň, např. mongolskou armádou na Krymu, jak již bylo popsáno výše. V nedávné době byl mor použit během druhé světové války japonskou armádou proti čínskému obyvatelstvu a během studené války byl vyvíjen jako biologická zbraň. Stále jsou každoročně hlášeny tisíce případů moru u lidí, včetně nedávných ohnisek v Jižní Americe a Africe. Léčba antibiotiky je obvykle úspěšná, pokud je zahájena dostatečně brzy, ačkoli bylo zaznamenáno několik zpráv o vzniku rezistence, srovnatelné s jinými bakteriálními patogeny. Bakterie moru byla nedávno izolována z lidských blech ve vesnicích postižených morem na Madagaskaru a v Tanzanii, což ukazuje na riziko přenosu z člověka na člověka prostřednictvím lidských parazitů. Přenos z člověka na člověka prostřednictvím těchto parazitů je epidemiologicky nerozlišitelný od přímého přenosu dotykem nebo kašlem. Takže tento způsob přenosu mohl významně přispět k vysoké míře přenosu z člověka na člověka, ke kterému došlo během epidemie v Eyamu. Paleoepidemiologie je relativně nový vědní obor, který se snaží porozumět šíření nemocí v minulosti. K tomu je zapotřebí zaujmout vysoce multidisciplinární přístup, který si případně vypůjčuje prvky z archeologie, historie, současné literatury, molekulární biologie, epidemiologie a statistiky. Kromě zřejmého historického zájmu má paleoepidemiologie potenciál pomoci nám poučit se z minulosti a lépe se připravit na budoucí epidemie. Zvláště slibná je v případě onemocnění, jako je mor, které v minulosti způsobilo významné pandemie, v současné době je na ústupu a je obtížné ho studovat z přímého pozorování, ale jednoho dne se může vrátit. (Didelot, 2016)

Konec třetí pandemie v Evropě lze teoreticky přičíst nedostatku dlouhodobých a vyčerpání střednědobých rezervoárů moru o tři sta let dříve. Mohl však být také důsledkem kombinace přírodních a společenských faktorů, včetně zlepšení hygienických standardů spolu s účinnými kontrolními opatřeními. V poslední době se jako faktory, které přispěly k ukončení první a druhé pandemie v Evropě, uvádí oslabení virulence morové bakterie a vyselektování silnější vrozené imunity proti *Y. pestis*. (Stenseth *et al.*, 2023)

5. Závěr

Na základě sekvenace aDNA, která byla izolována na archeologických nalezištích, se podařilo potvrdit, že *Yersinia pestis* je původcem nejen tří známých pandemií, ale i epidemií, které probíhaly již od neolitu přes dobu bronzovou až po začátek doby železné. V případě těchto epidemií hraje klíčovou roli migrace pastevců z Asie do Evropy. Osídlení a splynutí s obyvateli Evropy je opět podloženo aDNA. Genofond současné evropské populace je tak výsledkem kombinace genofondu tehdejších Evropanů spolu s nově příchozími pastevci. Jedna studie druhé pandemie také řeší vliv migrace na genofond obyvatel, zároveň sleduje pokles rozmanitosti genofondu vlivem vysoké mortality a snaží se vysledovat možné fixování odolnosti či náchylnosti vůči morové nákaze.

Nejstarší nálezy *Y. pestis* jsou staré přibližně 5 000 let, nicméně samotné staří bakterie může být výrazně starší vzhledem k tomu, že bylo prokázáno, že se *Y. pestis* se vyvinula přímo z *Y. pseudotuberculosis* před 2 800 až 28 000 lety. Přestože se v obou případech jedná o patogenní bakterie, *Y. pestis* postupně zdokonalila svou strategii dalšími virulentními faktory, které získala spolu s dvěma dalšími plazmidy a zároveň ztrátou některých genů, či jen jejich ztlumením. Přítomnost virulentních faktorů, nejčastěji gen *pla* a *ymt*, je zásadní při srovnání kmenů jednotlivých pandemií a při následném sestavování fylogenetického stromu. Téměř každé nové naleziště přináší objev nového kmenu, který se mnohdy jen nepatrně liší od kmenů předešlých. Na základě sekvenace aDNA lze s jistotou tvrdit, že všechny tři hlavní pandemie začaly v Číně. V případě justiniánských kmenů není jasné, zda byly přímými předky kmenů černé smrti a pozdějších morových epidemií, nebo zda tvoří novou linii *Y. pestis*. Stejně tak není jasné, zda druhá a třetí pandemie byly výsledkem pokračujícího opětovného výskytu jednoho pandemického kmene, nebo se jednalo o nové výskyty z různých rezervoárů hlodavců.

Při srovnávání jednotlivých pandemií je jasné, že největší mortality dosáhla druhá pandemie, při které zemřelo 30 až 60 % obyvatel Evropy, třetí pandemie, která Evropu zasáhla jen minimálně, měla celkovou mortalitu 2 až 3 %, avšak většina obětí byla v Asii, dále v Jižní a Severní Americe. Co se týče dostupných dat a studií zaměřených na území Evropy, včetně historických záznamů, tak nejvíce je podložena druhá pandemie. V případě Justiniánského moru, který sice měl asi osmnáct vln s uváděnou mortalitou 15 až 40 %, je velmi diskutabilní reálná mortalita, protože odkazovat se na historické prameny není optimální. Někteří autoři Justiniánskému moru přisuzují pád Byzantské říše, jiní zas tvrdí, že je to přehnaný názor. Ani z analýzy různých papyrusů, které měly doložit kontext doby včetně socioekonomické situace, nelze jednoznačně vyvodit vysokou mortalitu. Pokud by se měla mortalita hodnotit zcela

objektivně bylo by potřeba mít k dispozici demografické údaje a ideálně i větší množství nalezišť pohřebišť morových objektů, což by platilo pro první i druhou pandemii.

Při dalším srovnání pandemií lze hodnotit rychlost šíření a způsob šíření. V případě vektoru je hlavně uváděna blecha s výjimkou epidemií v době bronzové, kde *Y. pestis* postrádala genetickou výbavu na to, aby se pro ni blecha byla ideálním vektorem. Pro nakažení člověka byl však nezbytný přenos z endemických hlodavčích rezervoárů, což mají na svědomí ve většině případů krysy. Během druhé pandemie krysy byly převáženy díky lodní dopravě. Jedna studie provedla sekvenaci aDNA z údajné krysí lebky, která se našla na pohřebišti, a potvrdila, že se jedná o kysu černou. Bohužel zatím není více molekulárních důkazů o zapojení krys v jednotlivých pandemiích.

Důležitým faktorem pro šíření moru jsou klimatické podmínky, které se mohou změnit vlivem přírodních katastrof, jako byl např. výbuch sopky v době Justiniánského moru, který následně způsobil výrazné ochlazení a tím se nejspíš podílel i na zastavení pandemie. Narozdíl od těžko doložitelných demografických údajů je v tomto případě možné využít metody dendrologie, palynologie či výzkumem ledovcových vrtů.

Podle dostupných dat lze s jistotou říci, že v současné době nejsou v Evropě žádná známá ohniska moru. Při pohledu světovou situaci se jako problematické oblasti s opakovaným výskytem moru jeví USA, Brazílie, Peru, Madagaskar, Tanzánie, Demokratická republika Kongo, Myanmar, Mongolsko, Vietnam a Čína. Typicky jsou tato ohniska v polopouštních oblastech. V současné době stále neexistuje vakcína, která by mohla být spolehlivou ochranou proti moru, proto nejspolehlivější metodou je včasná diagnostika onemocnění a léčba antibiotiky. Eradikace se nezdá jako možná kvůli endemickým ohniskům, likvidace těchto ohnisek by z pohledu ekologie též nebyla žádoucí. Určité riziko přináší i hrozba bioterorismu, pro který se *Y. pestis* jeví jako jedním z možných adeptů.

Pro komplexní pochopení morových pandemií je potřeba v budoucnu pokračovat v současném trendu posouvání molekulárních metod, zároveň je klíčový multidisciplinární přístup. Efektivní spolupráce vědců z mnoha oborů by postupně mohla dosáhnout ucelenější představy o skutečném průběhu pandemií, jmenovitě je potřeba spolupráce mezi archeology, paleomikrobiology, paleoepidemiology, imunology, molekulárními biology, bioinformatiky a příležitostně i historiky. Získané znalosti by mohly být cenné při boji s případnými budoucími pandemiemi ať už morovými či jinými.

Cíle bakalářské práce byly splněny, avšak některá témata by si zasloužila vlastní samostatnou práci, kde by bylo více prostoru pro detaily a hlubší pochopení problematiky.

Seznam použitých zdrojů

- Barbieri, R. *et al.* (2021) 'Yersinia pestis: The natural history of Plague', *Clinical Microbiology Reviews*, 34(1), pp. 1–44. Available at: <https://doi.org/10.1128/CMR.00044-19>.
- Bhaduri, S. and Smith, J.L. (2011) 'Virulence Plasmid (pYV) -Associated Expression of Phenotypic Virulent Determinants in Pathogenic Yersinia Species : A Convenient Method for Monitoring the Presence of pYV under Culture Conditions and Its Application for Isolation / Detection of Yersinia', 2011. Available at: <https://doi.org/10.4061/2011/727313>.
- Bednář, M. *et al.* 'Lékařská mikrobiologie', Marvil, 1996. ISBN 8594031505280,
- Bos, K.I. *et al.* (2011) 'A draft genome of Yersinia pestis from victims of the Black Death', *Nature*, 478(7370), pp. 506–510. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature10549>.
- Bos, K.I. *et al.* (2016) 'Eighteenth century Yersinia pestis genomes reveal the long-term persistence of an historical plague focus', *eLife*, 5(JANUARY2016). Available at: <https://doi.org/10.7554/eLife.12994.001>.
- Bramanti, B. *et al.* (2019) 'The third plague pandemic in Europe', *Proceedings of the Royal Societ B: Biological Sciences*, 286(1901), pp. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.2429>.
- Burbano, H.A. *et al.* (2012) 'Targeted Investigation of the Sequence Capture', 723(2010). Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1188046>.
- Butler, T. (1994) 'Yersinia Infections : Centennial of the Discovery of the Plague Bacillus Author (s): Thomas Butler Published by : Oxford University Press Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/4458084> Yersinia Infections : Centennial of the Discovery of the Plague B', *Oxford Journals*, 19(4), pp. 655–661.
- Butler, T. (2013) 'Review Article : Plague Gives Surprises in the First Decade of the 21st Century in the United States and Worldwide', 89(4), pp. 788–793. Available at: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0191>.
- Bystrický, P. (2023) 'The Justinian Plague in literary sources', *Forum Historiae*, 17(1), pp. 11–31. Available at: <https://doi.org/10.31577/FORHIST.2023.17.1.2>.
- Chomel, B.B. (2009) 'Zoonoses', *Encyclopedia of Microbiology*, p. 820. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00213-3>.

- Demeure, C. *et al.* (2019) ‘Yersinia pestis and plague: an updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination and diagnostics’, *Microbes and Infection*, 21(5–6), pp. 202–212. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2019.06.007>.
- Demeure, C. and Guern, S. Le (2023) ‘Yersinia pestis and plague in the 21st century : learning from a distant past’, 0(April), pp. 1–5.
- DeWitte, S. (2019) ‘Misconceptions About the Bioarchaeology of Plague’, *Bioarchaeology and Social Theory*, pp. 109–131. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-319-93012-1_5.
- Didelot, X. (2016) ‘Heroic sacrifice or tragic mistake? Revisiting the Eyam plague, 350 years on’, *Significance*, 13(5), pp. 20–25. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1740-9713.2016.00961.x>.
- Pääbo, S. (1989) ‘Ancient DNA: Extraction , characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification’, 86(March), pp. 1939–1943. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.86.6.1939>.
- Drancourt, M. and Raoult, D. (2016) ‘Molecular history of plague’, *Clinical Microbiology and Infection*, 22(11), pp. 911–915. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.08.031>.
- Feldman, M. *et al.* (2016) ‘A High-Coverage Yersinia pestis Genome from a Sixth-Century Justinianic Plague Victim’, *Molecular Biology and Evolution*, 33(11), pp. 2911–2923. Available at: <https://doi.org/10.1093/molbev/msw170>.
- Frith, J. (2012) ‘The history of plague - Part 1. The three great pandemics’, *Journal of Military and Veterans’ Health*, 20(2), pp. 11–16.
- Gilbert, M.T.P. (2022) ‘Report The population genomic legacy of the second plague pandemic II The population genomic legacy of the second plague pandemic’, pp. 4743–4751. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.09.023>.
- Hawgood, B.J. (2008) ‘Alexandre Yersin (1863-1943): discoverer of the plague bacillus, explorer and agronomist.’, *Journal of medical biography*, 16(3), pp. 167–172. Available at: <https://doi.org/10.1258/jmb.2007.007017>.
- Higuchi, R., Bowman, B., Freiberger, M. *et al.* DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family. *Nature* 312, 282–284 (1984). <https://doi.org/10.1038/312282a0>
- Hinnebusch, B.J. *et al.* (2002) ‘Role of Yersinia Murine Toxin in Survival of Yersinia pestis in the Midgut of the Flea Vector’, 296(April), pp. 733–736.

- Hinnebusch, B.J., Fischer, E.R. and Schwan, T.G. (1998) 'Evaluation of the Role of the *Yersinia pestis* Plasminogen Activator and Other Plasmid-Encoded Factors in Temperature-Dependent Blockage of the Flea', pp. 1406–1415.
- Hubálek, Z. and Rudolf, I. 'Mikrobiální zoonózy a sapronózy'. 3., dopl. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2014. ISBN ISBN978-80-210-7516-0.
- Julák, J. 'Úvod do lékařské bakteriologie'. Praha: Karolinum, 2006. ISBN 80-246-1270-4.
- Keller, M. *et al.* (2023) 'A Refined Phylochronology of the Second Plague Pandemic in Western Eurasia', *bioRxiv*, p. 2023.07.18.549544. Available at: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2023.07.18.549544v1%0Ahttps://www.biorxiv.org/content/10.1101/2023.07.18.549544v1.abstract>.
- Konopásek, I. (2014) 'Mor, *Yersinia pestis*, blecha a člověk', *Živa*. Dostupné na: <https://ziva.avcr.cz/2014-4/mor-yersinia-pestis-blecha-a-clovek.html>
- Krause, J. and Pääbo, S. (2016) 'Genetic time travel', *Genetics*, 203(1), pp. 9–12. Available at: <https://doi.org/10.1534/genetics.116.187856>.
- Lenz, K. and Hybel, N. (2016) 'The Black Death: Its origin and routes of dissemination', *Scandinavian Journal of History*, 41(1), pp. 54–70. Available at: <https://doi.org/10.1080/03468755.2015.1110533>.
- Mittnik, A. *et al.* (2017) 'The Stone Age Plague and Its Persistence in Eurasia Report The Stone Age Plague and Its Persistence in Eurasia', pp. 3683–3691. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.10.025>.
- Mordechai, L. *et al.* (2019) 'The Justinianic Plague: An inconsequential pandemic?', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(51), pp. 25546–25554. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1903797116>.
- Morozova, I. *et al.* (2020) 'New ancient Eastern European *Yersinia pestis* genomes illuminate the dispersal of plague in Europe: Evolution of *Y. pestis* in Eastern Europe', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 375(1812). Available at: <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0569>.
- Orlando, L. *et al.* (2021) 'Ancient DNA analysis', *Nature Reviews Methods Primers*, 1(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s43586-020-00011-0>.

Perry, R.D. and Fetherston, J.D. (1997) ‘Yersinia pestis-Etiologic Agent of Plague’, 10(1), pp. 35–66.

Schmid, B. V *et al.* (2015) ‘Climate-driven introduction of the Black Death and successive plague reintroductions into Europe’, 112(10), pp. 3020–3025. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1412887112>.

Schneider, M.C. *et al.* (2014) ‘Where Does Human Plague Still Persist in Latin America?’, *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(2). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002680>.

Simon Rasmussen, A. *et al.* (2015) ‘Early Divergent Strains of Yersinia pestis in Eurasia 5,000 Years Ago Article Early Divergent Strains of Yersinia pestis in Eurasia 5,000 Years Ago’, *Cell*, 163, pp. 571–582. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.009>.

Spyrou, M.A. *et al.* (no date) ‘Analysis of 3800-year-old Yersinia pestis genomes suggests Bronze Age origin for bubonic plague’, *Nature Communications*, (2018), pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04550-9>.

Stenseth, N.C. *et al.* (2023) ‘Reply to Alfani: Reconstructing past plague ecology to understand human history’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 120(11), pp. 4–5. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.2300760120>.

Susat, J. *et al.* (2020) ‘Yersinia pestis strains from Latvia show depletion of the pla virulence gene at the end of the second plague pandemic’, *Scientific Reports*, (0123456789), pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71530-9>.

Titball, R.W. and Williamson, E.D. (2001) ‘Vaccination against bubonic and pneumonic plague’, *Vaccine*, 19(30), pp. 4175–4184. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0264-410X\(01\)00163-3](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(01)00163-3).

Wagner, D.M. *et al.* (2014) ‘Yersinia pestis and the Plague of Justinian 541 – 543 AD : a genomic analysis’, *The Lancet Infectious Diseases*, 3099(13), pp. 1–8. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70323-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70323-2).

Warinner, C. *et al.* (2017) ‘A Robust Framework for Microbial Archaeology’. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-091416>.

Yang, R. and Butler, T.(2016) ‘Discovery of the Plague Pathogen: Lessons Learned’. Online. In: YANG, Ruifu and ANISIMOV, Andrey (ed.). *Yersinia pestis: Retrospective and Perspective*. Advances in Experimental Medicine and Biology. Dordrecht: Springer

Netherlands, 2016, s. 27-33. ISBN 978-94-024-0888-1. Dostupné
z: https://doi.org/10.1007/978-94-024-0890-4_2. [cit. 2023-11-19].

Seznam obrázků

Obrázek 1: Mikrokolonie <i>Y. pestis</i> ze střeva blechy <i>X. cheopis</i> , skenovací elektronová mikroskopie, (Hinnebusch, Fischer and Schwan, 1998).....	13
Obrázek 2: Přenos moru a jeho endemická a epidemická forma (Konopásek, 2014).....	16
Obrázek 3: Trávicí trakt vypreparovaný z blechy <i>X. cheopis</i> zablokováný bakterií <i>Y. pestis</i> 195/P-wt. Proventrikulus je blokováný bakteriální hmotou, hnědě zbarvené bakterie (bakteriální hmota) zasahují do přední části středního střeva; samostatná velká hmota je přítomna také ve středním střevě (šipky). E= esophagus (jícen), PV=proventrikulus, MG=midgut (střední střevo), HG =hindgut (zadní střevo), MT =Malpighiovy trubice. Původní zvětšení: desetkrát. (Hinnebusch, Fischer and Schwan, 1998)	17
Obrázek 4: Extrakce a analýza aDNA (Demeure and Guern, 2023).....	22
Obrázek 5: Mapa s vyznačenými lokacemi nálezů <i>Y. pestis</i> na pohřebištích z doby Bronzové (Simon Rasmussen et al., 2015)	24
Obrázek 6: Schéma fylogeneze <i>Y. pestis</i> : Šípkami jsou vyznačeny genetické zisky (modře) a genetické ztráty nebo mutace se ztrátou funkce (červeně). Historické zaznamenané pandemie jsou vyznačeny modře. Kalendářní roky označují hlavní ohnisko pandemie (Simon Rasmussen et al., 2015).....	26
Obrázek 7: Časová osa kmenů <i>Y. pestis</i> (Spyrou et al., 2018).	27
Obrázek 8: (A) Příklad <i>Y. pestis</i> do Evropy ze střední Evropy. Eurasie s expanzí jamnajských pastevců asi před 4800 lety. (B) Cirkulace <i>Y. pestis</i> na jižní Sibiř z Evropy. Zobrazeny jsou pouze kompletní genomy (Mittnik et al., 2017).....	28
Obrázek 9: Fylogenetický strom, (Wagner et al., 2014)	30
Obrázek 10: Počet textů odkazujících na jednotlivé morové vlny (barevné sloupce) a celkový počet slov v nich (černá čára) (Mordechai et al., 2019).....	35
Obrázek 11: Obchodní cesty pro dovoz obilí před r. 1350, (Lenz and Hybel, 2016)	39
Obrázek 12: Šíření Černé smrti v severní Evropě, 1346–1351, (Lenz and Hybel, 2016).....	39
Obrázek 13: Mapa s kmeny <i>Y. pestis</i> z druhé pandemie, (Keller et al., 2023).....	41
Obrázek 14: Hlášené případy podezření na mor v Evropě za rok (1899-1950) ze zpráv o veřejném zdraví, (Bramanti et al., 2019).....	43
Obrázek 15: Mapa hlášených případů moru v Evropě (1899-1947), včetně počtu ohnisek v jednotlivých lokalitách (Bramanti et al., 2019).....	43