

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
**KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD**



## **DIPLOMOVÁ PRÁCE**

### **COVID-19 v Domově ve Břevnici**

**Bc. Lenka Myslivcová**

**Vedoucí diplomové práce: prof. RNDr. Ctirad Andrýs, Ph.D.**

**Konzultant: MVDr. Václav Fejt**

**HRADEC KRÁLOVÉ 2021**

## **Poděkování**

Děkuji svému konzultantovi MVDr. Václavu Fejtovi, i svému vedoucímu prof. RNDr. Ctiradu Andrýsovi, Ph.D., za cenné rady a čas, který mi věnovali. Dále děkuji své rodině a přátelům za pomoc a podporu po celou dobu mého studia.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 5. 5. 2021

## Obsah

1. ABSTRAKT .....	6
2. ABSTRACT .....	7
3. ÚVOD.....	8
4. TEORETICKÁ ČÁST .....	10
4.1 Domov v Břevnici .....	10
4.2 Vír a makroorganismus .....	10
4.2.1 Obecný průběh virové infekce .....	10
4.2.2 Vstupní brány virové infekce .....	11
4.2.3 Šíření viru v organismu.....	11
4.2.4 Vylučování viru z organismu .....	11
4.2.5 Protivirová imunita.....	12
4.3 Lidské koronaviry .....	14
4.4 Onemocnění způsobená lidskými koronaviry .....	15
4.4.1 Syndrom akutního respiračního selhání – SARS .....	15
4.4.2 Blízkovýchodní respirační syndrom – MERS.....	19
4.4.3 Koronavirová nemoc 2019 – COVID-19 .....	21
4.5 Použité diagnostické metody.....	32
4.5.1 ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) .....	32
4.5.2 Stanovení protilátek IgM na analyzátoru .....	33
4.5.3 Rapid testy.....	33
5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	34
5.1 Výběr pacientů .....	34
5.2 Sběr dat.....	34
5.3 Laboratorní stanovení.....	34
5.3.1 ELISA .....	35
5.3.2 Rapid test Innovita .....	36
5.4 Zpracování dat.....	36
6. VÝSLEDKY .....	38

6.1	Klienti Domova.....	38
6.1.1	Klinický průběh onemocnění .....	38
6.1.2	Protilátková odpověď .....	40
6.2	Zaměstnanci Domova.....	43
6.2.1	Klinický průběh onemocnění .....	43
6.2.2	Protilátková odpověď .....	44
6.3	Shrnutí.....	46
6.4	Hodnocení rapid testů .....	48
6.4.1	Specifita a senzitivita rapid testů.....	49
7.	DISKUSE .....	51
8.	ZÁVĚR.....	56
9.	POUŽITÉ ZKRATKY.....	57
10.	SEZNAM TABULEK .....	58
11.	SEZNAM GRAFŮ .....	59
12.	POUŽITÁ LITERATURA .....	60

# 1. ABSTRAKT

Cílem této diplomové práce bylo popsat informace týkající se viru SARS-CoV-2 a koronavirové nemoci (COVID-19), zhodnotit průběh onemocnění v Domově se zvláštním režimem v Břevnici, kde nemoc proběhla na počátku první vlny pandemie COVID-19 na jaře roku 2020. Dalším cílem bylo provést analýzu protilátek a zhodnotit získaná data. Diplomovou práci jsem rozdělila do tří hlavních částí: teoretické, experimentální a diskusní.

V teoretické části jsem pracovala s odbornou literaturou a popsala informace týkající se nejen nemoci COVID-19, ale i dalších závažných infekcí způsobených lidskými koronaviry.

V experimentální části, kterou jsem vykonala v imunologické laboratoři Oddělení společných laboratoří v havlíckobrodské nemocnici, jsem se zabývala problematikou klinického průběhu onemocnění, závažnosti onemocnění a případnými následky po prodělané infekci. Dále jsem se zabývala metodami pro stanovení protilátek, jejichž principy jsou popsány v kapitole 4.5 *Použité diagnostické metody* a postupy jsou popsány v kapitole 5.3 *Laboratorní stanovení*. Ze získaných dat jsem vypracovala grafy a tabulky a zpracovala data o klinickém průběhu infekce v břevnickém Domově, a to jak u klientů, tak u zaměstnanců postižených infekcí na jaře roku 2020.

V diskusní části jsem shrnula zjištěná data s Domova v Břevnici a porovнала je s odbornou literaturou.

Nejdůležitějším poznatkem této práce je, že byla u klientů Domova detekována hladina protilátek IgG (imunoglobuliny G) a IgA v lednu 2021, tedy 10 měsíců po prvním pozitivním PCR (polymerázová řetězová reakce) testu. U zaměstnanců byly detekovány nižší hladiny protilátek než u klientů a v listopadu 2020, tedy osm měsíců po prvním pozitivním PCR testu, byly hladiny protilátek pozitivní pouze u čtvrtiny z nich.

**Klíčová slova:** COVID-19, SARS-CoV-2, protilátky, epidemiologie, dům se zvláštním režimem

## 2. ABSTRACT

The aim of this diploma thesis was to describe information about SARS-CoV-2 virus and coronavirus disease (COVID-19), to evaluate the course of the disease in the Home with a special regime in Břevnice, in which the epidemic took place at the beginning of the first wave of COVID-19 pandemic in spring 2020. Another goal was to perform an antibody analysis and evaluate the obtained data. I divided the diploma thesis into three main parts: theoretical, experimental and discussion.

In the theoretical part, I worked with the literature and described information related not only to COVID-19, but also to other serious infections caused by human coronaviruses.

In the experimental part, which I performed in the immunological laboratory of the Department of Joint Laboratories at Havlíčkův Brod Hospital, I dealt with the issue of the clinical course of the disease, the severity of the disease and possible consequences after the infection. I also dealt with methods for the determination of antibodies, the principles of which are described in Chapter 4.5. The diagnostic methods and procedures used are described in Chapter 5.3 Laboratory Assays. From the obtained data, I prepared graphs and tables and processed data on the clinical course of the infection in the Břevnice Home, both for the clients and the employees affected by the infection in the spring of 2020.

In the discussion part, I summarized the data obtained from the Home in Břevnice and compared them with the literature.

The most important finding of this work is that the level of IgG (immunoglobulin G) and IgA antibodies was detected in the clients in January 2021, ten months after the first positive PCR test. Lower levels of antibodies were detected in the employees than in the clients, and in November 2020, eight months after the first positive PCR test, antibody levels were positive in only a quarter of them.

**Key words:** COVID-19, antibody response, epidemiology, SARS-CoV-2, residential care home

### 3. ÚVOD

Před rokem 2003 byly známy pouze koronaviry, které u zdravých jedinců způsobovaly lehká nachlazení (Zhao et al., 2003). Změnu přinesla až onemocnění SARS (syndrom akutního respiračního selhání), MERS (blízkovýchodní respirační syndrom) a nejnovější onemocnění COVID-19.

COVID-19 obvykle způsobuje respirační onemocnění s různou závažností průběhu, symptomy se obvykle objeví 5–6 dní po infekci, nejčastěji se jedná o zvýšenou teplotu, horečku a kašel. Onemocnění má různý průběh, nejvíce ohrožení jsou lidé nad 60 let a lidé trpící chronickým onemocněním (WHO, 2020b).

V České republice byla (k 13. 4. 2021) nákaza prokázána u 1 564 825 lidí. Z toho se v 77 839 případech jednalo o seniory ve věku 75–84 let, z nichž 10 592 zemřelo (k 11. 4. 2020) (MZČR, 2021). Jedním z prvních případů epidemie v České republice byla nákaza v Domově se speciálními potřebami v Břevnici, kde onemocněli všichni klienti a více než polovina zaměstnanců, kteří infekci přenesli na 5 rodinných příslušníků (Fejt, 2020).

Protilátková odpověď na toto onemocnění je stále předmětem studií.



## ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE

1. Teoretická rešerše s cílem získat informace o biologii a epidemiologii viru SARS-CoV-2.
2. Zhodnocení průběhu onemocnění COVID-19 v Domově v Břevnici.
3. Experimentálně bude provedena analýza protilátek vybranými metodami a provedeno jejich srovnání.
4. Ve výsledcích a diskusi bude prezentován klinický průběh nemoci, výsledky analýz a vyhodnocení klinické využitelnosti metod.

## **4. TEORETICKÁ ČÁST**

### ***4.1 Domov v Břevnici***

Domov se zvláštním režimem v Břevnici pro klienty s Alzheimerovou chorobou a jinými typy demencí se nachází na Vysočině v blízkosti Havlíčkova Brodu. Zařízení je vhodné pro klienty trpící Alzheimerovou chorobou nebo jiným typem demence se sníženou soběstačností, potřebou podpory a pomoci při zajišťování základních potřeb. Těmto klientům jsou poskytovány ubytovací, stravovací a pomocné služby včetně zprostředkování společenského života, terapeutické činnosti apod. (Anonymous, 2021a; Anonymous 2021b).

V domově je 25 klientů ve věku 72–94 let, muži i ženy, ubytováni v pokojích po třech, se společným sociálním zařízením. V období epidemie se v Domově nacházelo 23 klientů (Exnerová, 2020).

Klienti byli od 26. 3. 2020, tedy po zjištění prvních pozitivních případů, izolováni ve svých pokojích, předtím využívali společné prostory, jako je společenská místnost, chodba, jídelna. Od 14. 3. 2020 personál domova preventivně nosil roušky. Poslední návštěva v domově proběhla 9. 3. 2020, během epidemie byl klientům kontakt s rodinnými příslušníky zprostředkován pomocí videohovorů, vzkazů apod. Na konci dubna 2020, po uzdravení prvních klientů, probíhaly individuální procházky na pozemku domova (Exnerová, 2020).

V domově je dohromady 21 zaměstnanců, z toho 16 zdravotnických pracovníků a 5 nezdravotnických. Domov má smluvního praktického lékaře a psychiatrickou lékařku (Exnerová, 2020).

### ***4.2 Vir a makroorganismus***

#### **4.2.1 Obecný průběh virové infekce**

Průběh a výsledek virové infekce lidského organismu je ovlivněn oběma účastníky tohoto procesu. Ze strany viru se jedná o jeho virulenci, vstupní bránu infekce a infekční dávku. Na straně jedince se jedná o stupeň vnímavosti či odolnosti (Votava, 2003).

V řadě případů se jedná o bezpříznakové (inaparentní) infekce – probíhají skrytě, bez příznaků, a to díky regulačním schopnostem a obranným mechanismům organismu. Pokud je napaden větší počet buněk, infekce se manifestují infekční nemocí, která může mít několik forem – klinickou formu (se všemi příznaky), abortivní formu (s některými specifickými příznaky) nebo subklinickou formu (s nespecifickými příznaky). Pokud imunitní systém nestačí virus odstranit z organismu, přetrvává infekce jako chronická infekce (příznaky onemocnění přetrvávají), perzistentní infekce (příznaky nejsou přítomny, ale stále lze prokázat infekční agens) nebo jako latentní infekce (přítomnost viru nelze běžnými technikami prokázat) (Votava, 2003).

#### **4.2.2 Vstupní brány virové infekce**

Sliznice respiračního traktu je využívána jako vstupní brána pro velký počet virů, které mohou způsobovat jak systémové infekce, tak infekce lokální (např. na sliznici nosu, nosohltanu). Tyto viry jsou nazývány respiračními viry a jedná se např. o koronaviry, rhinoviry, virus chřipky, adenoviry. Dále může být dýchací trakt vstupní branou pro tzv. exantematické viry, vyvolávající generalizované infekce – virus neštovic, spalniček, příušnic atd. (Votava, 2003).

Další významnou vstupní branou jsou sliznice gastrointestinálního traktu (GIT). Dále sliznice urogenitálního traktu, spojivek, oděrky pokožky nebo placenta (Votava, 2003).

#### **4.2.3 Šíření viru v organismu**

Viry se mohou šířit přímo z buňky do buňky – tím dochází ke zvětšování ložiska infekce. V případě sliznic se mohou viry šířit několika způsoby, a to z buňky do buňky nebo pohybujícím se sekretem (takto viry postihují jednotlivé části respiračního traktu) nebo jsou pod sliznicí roznášeny pomocí fagocytů (Votava, 2003).

#### **4.2.4 Vylučování viru z organismu**

Způsob vylučování viru souvisí se způsobem přenosu nákazy. Dochází k vylučování obzvláště z respiračního traktu a GIT, dále pomocí krve, moči a kožních lézí (Votava, 2003).

## 4.2.5 Protivirová imunita

Zahrnuje několik složek, do nichž patří faktory vrozené (nespecifické) imunity (interferony, cytotoxicita, fagocytóza, komplement) a adaptivní (specifické) imunity (T- a B-lymfocyty) (Krejsek a Kopecký, 2004).

### Mechanismy vrozené (nespecifické) imunity

Na úrovni buněk je nespecifická rezistence zabezpečena nevnímavostí a nepermissivitou buněk. Buňka nevnímavá neobsahuje na svém povrchu receptory, není schopna virion pohltnout nebo neobnaží virovou nukleovou kyselinu. U buňky nepermissivní nemůže dojít k translaci virové RNA (Votava, 2003).

Na úrovni lidského organismu se v nespecifické rezistenci uplatňují buněčné faktory ve funkci bariér proti šíření viru (kůže, sliznice, krevně orgánové bariéry, systém fagocytů) (Votava, 2003). Povrchy, kterými pronikají virové infekce do organismu, jsou pokryty epitelium, jejichž stavba s úzkými mezibuněčnými spoji zajišťuje malou prostupnost, tyto spoje se spolu s dalšími faktory účastní procesů proti proniknutí viru do organismu. Pro epitelové tkáně je typická rychlá obměna povrchových buněk, což zajišťuje, že jsou virové částice uvolněny z povrchu epitelium. Mezi další faktory řadíme především tvorbu extracelulárních substancí, které jsou součástí hlenu (např. proteoglykany). Tento hlen omývá epitelium a unáší s sebou případné virové částice. K obraně povrchových sliznic jsou nápomocné řasinkami kryté výstelky, které napomáhají pohybu sekretů. Dále na některých sliznicích pozorujeme pH, které působí negativně na virové částice. Pro aktivaci imunitních mechanismů je nezbytné rozpoznání virových struktur receptory pro signály nebezpečí (PRR receptory). Rozpoznání virových struktur PRR receptory vede k aktivaci napadené buňky a k poskytnutí nezbytných cytokinových a kostimulačních signálů imunitním buňkám, zejména T lymfocytům. Důležitá je i přítomnost přirozeného mikrobiomu, který kompetuje o povrchové receptory buněk (Krejsek a Kopecký, 2004).

Patogenní viry jsou pro organismus vážným problémem. Viry jsou schopny skrýt se imunitnímu dohledu, jsou schopny napadnout a ničit buňky imunitního systému a také jsou schopny infikovat makrofágy, množit se v nich a být jimi roznášeny po organismu. Protivirovou imunitu můžeme rozdělit na čtyři části:

1. zabránění penetrace viru;

2. zabránění replikace viru – největší schopnost zabránit replikaci virů mají interferony (INF) – INF I. typu (tedy  $INF\alpha$ ,  $INF\beta$  a  $INF\omega$ ), jedná se o glykoproteiny produkované jadernými buňkami. Nejsilnější indukcí pro tvorbu INF je virová infekce. Infikovaná buňka je silným zdrojem INF. Vážou se na specifické receptory neinfikovaných buněk a navodí v nich stav nepermesivity. INF mají také výrazné imunomodulační účinky – např. zesilují působení NK (natural killers) buněk;
3. eliminace volných virionů;
4. eliminace virem infikovaných buněk – buňky infikované virem exprimují na svém povrchu virové antigeny (eliminace  $CD8^+$  T-lymfocyty) nebo mají pozměněné povrchové vlastnosti tak, že jsou eliminovány NK buňkami. Kontakt infikované (terčové) a NK buňky je zajištěn mnohobuněčnými interakcemi mezi jejich povrchovými membránovými molekulami. Terčové buňky jsou eliminovány lýzou, kterou zajišťují nitrobuněčné granule NK buněk (perforiny). Ty tvoří póry v cytoplazmatické membráně terčové buňky, kterými dovnitř vstupují další proteiny NK buněk (granzymy). Granzymy spouští signální dráhy vedoucí k aktivaci kaspáz a apoptóze infikované buňky (Krejsek a Kopecký, 2004).

### **Mechanismy adaptivní (specifické) imunity**

Podobně jako NK buňky působí i  $CD8^+$  T-lymfocyty, s tím rozdílem, že T-lymfocyty specificky rozpoznávají buňku přes virové antigenní peptidy exprimované na buňce přes HLA 1. třídy. Spolu s  $CD8^+$  T-lymfocyty jsou pomocí antigen prezentujících buněk (především dendritických buněk) aktivovány i virus specifické  $CD4^+$  pomocné induktorové T-lymfocyty. Ty pomocí kostimulačních a cytokinových signálů podporují B-lymfocyty ve vyžívání na plazmatické buňky tvořící protilátky a zajišťují izotypový přesmyk, jehož výsledkem jsou kromě přirozených IgM i vysoce afinitní IgG, případně IgA protilátky (Krejsek a Kopecký, 2004).

Při virové infekci se tvoří protilátky proti různým antigenům na povrchu virů, i proti antigenům vzniklým na povrchu infikovaných buněk. Protilátky proti povrchovým antigenům viru se vážou na virovou částici, většinou nejsou schopny ji eliminovat, ale protilátka navázaná na virion zabrání jeho přilnutí k receptorům buňky, interferuje s průnikem do buňky, což vede k neutralizaci viru. Výsledkem je, že nukleová kyselina

viru nemůže zahájit infekci. Protilátky navázané na povrchu virové částice jako opsoniny také umožňují její fagocytózu přes receptory typu Fc. Protilátky proti virovým antigenům vzniklým na povrchu infikované buňky způsobují imunitní lýzu zasažených buněk, nejčastěji působením komplementu nebo mechanismem buněčné cytotoxicity závislým na protilátkách. Tuto schopnost mají zejména NK buňky (Votava, 2003).

Při imunitní reakci na virovou infekci se po pomnožení viru nejprve objevují protilátky IgM, poté IgA a IgG. IgM mají velkou molekulu, a proto obtížně vstupují do tkání, ale vytváří stabilní komplex s virovými částicemi a dobře vážou komplement. IgM se tvoří pouze v průběhu infekce a postupně se jejich hladina snižuje, až během několika týdnů úplně vymizí. Protilátky IgG jsou nejvýznamnějšími protilátkami při virové infekci, obvykle poskytují celoživotní ochranu proti reinfekci. Protilátky IgA chrání povrch sliznic, jejich ochrana trvá několik let (Votava, 2003).

### ***4.3 Lidské koronaviry***

Lidské koronaviry (HCoV) patří do čeledi *Coronaviridae*, rodu *Coronavirus*. Jedná se o středně velké obalené ssRNA viry, které mají po obvodu virionu věnec velkých výběžků tvořených glykoproteinem S (z angl. spike = výběžek), který zaujímá řadu důležitých funkcí, např. se váže na receptory buněk, u některých může vyvolat tvorbu neutralizačních protilátek a buněčné imunity. Dále pozorujeme glykoprotein M (membránový), který prochází lipidovou vrstvou obalu. Uvnitř je uložena spirála nukleokapsidy, obsahující glykoprotein N a virovou RNA (Votava, 2003).

Množení koronavirů probíhá následovně – glykoprotein S se naváže na buněčný receptor a dojde ke sloučení obalu viru a membrány buňky (Votava, 2003). V případě SARS-CoV-2 se jedná o vazbu viru a ACE2 (angiotenzin konvertující enzym 2) receptoru (Wang et al., 2020a). Virová RNA je přepsána do polyproteinu, který je rozdělen na funkční proteiny. V cytoplazmě napadené buňky probíhá syntéza složek viru, viriony dozrávají a přes nitrobuněčné vakuoly splývají s membránou buňky a uvolňují se z ní. Běžné HCoV vyvolávají mírná onemocnění, jako je infekční rýma; infikují převážně dospělé jedince; inkubační doba trvá přibližně tři dny (Votava, 2003).

Ojedinele dochází k závažnému postižení dolních dýchacích cest. Změnu přineslo až onemocnění SARS (Prymula a Šplího, 2006).

## ***4.4 Onemocnění způsobená lidskými koronaviry***

Před rokem 2003 byly známy pouze dva koronaviry způsobující onemocnění lidí – HCoV-229E a HCoV-OC43. Manifestovaly se lehkými symptomy, jako je lehké nachlazení dospělých s těžším průběhem u dětí, seniorů a imunodeficitních jedinců (Zhao et al., 2003).

Zde jsou uvedena onemocnění, která zasáhla celý svět:

### **4.4.1 Syndrom akutního respiračního selhání – SARS**

SARS způsobuje vážné postižení dýchacího traktu, rozvoj atypického zápalu plic a následné respirační selhání. Poprvé byla epidemie pozorována v provincii Guangdong. První atypické pneumonie se objevily už 16. listopadu 2002 a Světové zdravotnické organizaci (WHO) bylo podáno hlášení 11. února 2003 (Prymula a Špliňo, 2006).

Od té doby se epidemie rozšířila do 29 zemí a bylo evidentní, že svět nebyl adekvátně připraven na vývoj pandemie SARS (Peiris et al., 2003a).

Historie pandemie SARS je krátká a WHO vyhláší její konec v červenci 2003. Za tuto dobu bylo pozorováno 8 096 případů, z toho jich 774 skončilo úmrtím pacienta (Peiris et al., 2003a).

#### ***4.4.1.1 Původ viru***

Provedené studie předpokládají, že virus SARS-CoV mohl být přenesen ze zvířat na člověka (Hui a Zumla, 2019). Viry podobné SARS-CoV se běžně vyskytují mezi zvířaty a nevyvolávají u nich onemocnění. Běžně nedochází k přenosu na člověka, ale pokud se tak stane, dochází průběžně k postupnému zvyšování virulence kmene, což může být příčinou vzniku epidemie (Prymula a Špliňo, 2006). Velice podobná varianta viru byla detekována u vrápencovitých netopýrů a cibetky palmové (Hui a Zumla, 2019).

#### ***4.4.1.2 Přenos onemocnění mezi lidmi***

Je všeobecně uznáváno, že hlavní cestou šíření nákazy jsou kapénky respiračního sekretu infikované osoby. V průběhu času bylo zjištěno, že se virus vylučuje i stolicí (není tedy vyloučen přenos fekálně-orální cestou), tento přenos je ale méně častý. Dále

bylo v průběhu pandemie pozorováno, že k přenosu dochází obvykle při těsném kontaktu s nemocnou osobou (např. rodinní příslušníci nemocného, zdravotnický personál) (Prymula a Špliňo, 2006).

Období nakažlivosti infikované osoby se v průběhu onemocnění mění. Je závislé na vylučování viru do sekretu nosohltanu a stolice. Je pravděpodobnější přenos v pozdější fázi klinického rozvoje onemocnění. Těžší průběh onemocnění byl zaznamenán u osob dlouhodobě exponovaných vysokým dávkám viru (rodinní příslušníci nemocného, zdravotnický personál) (Peiris et al., 2003a; Peiris et al., 2003b).

#### **4.4.1.3 Klinické příznaky**

Průměrná inkubační doba u onemocnění SARS může být až 10 dní, obvykle 2–7 dní. (WHO, 2021)

Hlavními klinickými příznaky jsou přetrvávající horečky ( $>38\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), zimnice, bolest hlavy, suchý kašel, bolest svalů a dušnost. Mezi méně zastoupené příznaky patří bolest v krku, produkce hlenu, rýma, nevolnost, zvracení a závrať (Lee et al., 2003). U starších pacientů se může SARS projevovat nechutenstvím, poklesem celkové pohody, zlomeninami (jako následek pádů), zmatením; naproti tomu u dětí do 12 let je průběh mírný. U dospívajících probíhá infekce stejně jako u dospělých. Nebylo pozorováno žádné úmrtí dospívajících a dětí (Hon et al., 2003).

V roce 2003 nebyl běžný asymptomatický průběh, následné míry ale prokázaly celkovou míru séroprevalence 0,1 % v běžné populaci a 0,23 % u zdravotnických pracovníků (Leung et al., 2006).

Onemocnění se u infikovaných projevilo v různých stadiích infekce a u některých pacientů vykazovalo třífázový průběh:

První týden nemoci byl charakterizován přítomností horečky, bolestí svalů a dalších systémových příznaků, které se po několika dnech zlepšily. Rostoucí virová nálož během této doby naznačuje, že příznaky do značné míry souvisely s virovou replikací a cytolýzou.

V druhém týdnu docházelo k návratu horečky, nástupu průjmu, desaturaci kyslíku a zhoršení plicních konsolidací. Zdá se, že sérokonverze IgG, ke které dochází desátý den, koreluje s poklesem virové zátěže (ke kterému dochází mezi desátým a patnáctým dnem). V tomto okamžiku také dochází ke zhoršení klinického stavu, který



nelze vysvětlit nekontrolovatelnou virovou replikací (dochází k poklesu vylučování viru z nosohltanu, stolice a moči). Tato zjištění naznačují, že poškození plic v této fázi souvisí s imunopatologickým poškozením v důsledku nadměrné imunitní odpovědi hostitele.

Ve třetím týdnu byly zaznamenány nejtěžší formy respiračního poškození charakterizované syndromem akutní dechové tísně, což vyžadovalo podporu dýchání (Peiris et al., 2003b).

#### **4.4.1.4 Diagnostika**

##### *4.4.1.4.1 Klinická diagnostika*

##### **Klinická definice případu SARS podle WHO:**

- osoba s horečkou 38 °C nebo vyšší;
- **a** jedním nebo více příznaky onemocnění dolních cest dýchacích (kašel, dušnost, ...);
- **a** rentgenovým průkazem plicních infiltrátů odpovídajících pneumonii, syndromu dechové tísně **nebo** posmrtné nálezy související s pneumonií nebo syndromem dechové tísně bez zjevné příčiny;
- **a** není nalezena žádná alternativní diagnóza, která by plně vysvětlovala příznaky (WHO, 2003).

##### *4.4.1.4.2 Laboratorní diagnostika*

##### **Přímý průkaz viru SARS-CoV**

K detekci viru se v roce 2003 používalo reverzně transkripční PCR (RT-PCR) ze vzorků z nosohltanu, moči, stolice a krve. Při odběru je důležité shromáždit dostatek materiálu v kombinaci horních i dolních dýchacích cest, krve i stolice, aby byla co nejvyšší šance vir detekovat. Jediný negativní test ze vzorku odebraného z horních dýchacích cest nevyklučuje onemocnění (Peiris et al., 2003b). Stejně tak pozitivní průkaz nukleové kyseliny nepotvrzuje infekčnost pacienta, může dojít i k falešně pozitivním výsledkům. Dále je možné prokázat přítomnost viru pomocí elektronové mikroskopie nebo izolovat vir na buněčných kulturách (Prymula a Špliňo, 2006).

## **Nepřímý průkaz viru SARS-CoV**

Tvorba specifických protilátek (IgM, IgG) byla zaznamenána až tři týdny od začátku symptomů, k jejich průkazu se používá metoda ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). (Li et al., 2003).

Dále imunofluorescenční test, provádí se pomocí buněk infikovaných SARS-CoV, které jsou fixované na podložním sklíčku a je k nim přidáno sérum pacienta (Chan et al., 2004).

Sérologická diagnostika je vysoce retrospektivní a vhodná spíše pro účely epidemiologického dozoru. Silnější protilátková odpověď byla pozorována u těžkého průběhu SARS-CoV infekce – u pacientů, kteří potřebovali doplňkový kyslík, a byli hospitalizováni na jednotkách intenzivní péče (JIP) (Lee et al., 2006). Studie prokázala, že šest let po prodělání onemocnění SARS specifické IgG protilátky vymizely, ale specifická anamnestická odpověď T-lymfocytů by mohla být udržována po dobu nejméně šesti let (Tang et al., 2011).

### **4.4.1.5 Léčba**

#### **Léčba antivirotiky**

Na počátku pandemie se empiricky využívala řada antivirotik, bez výrazného léčebného efektu. Po objevení onemocnění byl zahájen vývoj účinných látek (Tan et al., 2004). Jako základní antivirotikum byl použit ribavirin, z důvodu jeho širokého inhibičního působení na řadu RNA a DNA virů (Hultgren et al., 1998).

K antivirové léčbě se dále mohou využít inhibitory proteáz, které se běžně používají k léčbě infekce HIV, v některých zařízeních byly používány společně s ribavirinem. Z pozorování vyplynulo, že při včasném podání těchto dvou látek společně s kortikosteroidy, dojde ke zmírnění dušnosti, snížení nutnosti plicního ventilátoru a snížení smrtelnosti (Prymula a Šplího, 2006).

Inhibitory neuraminidázy jsou látky používané k léčbě a prevenci chřipky. Nebyl podán důkaz o jejich dostatečné účinnosti proti viru SARS-CoV (Prymula a Šplího, 2006).

## **Systémové kortikosteroidy**

Kortikosteroidy jsou základní imunomodulační léčbou. Jejich vhodné užití vede k rychlému zlepšení stavu nemocného – poklesu horečky, lepší saturaci kyslíkem atd. (Lee et al., 2003).

## **Konvalescentní plazma**

Plazma byla darována zdravými dárci, kteří se plně vyléčili z infekce. Zdá se být klinicky užitečná pro léčbu dalších pacientů s postupující SARS infekcí (Cheng et al., 2005).

### ***4.4.1.6 Prevence infekce***

Prevence přenosu je zásadní pro zvládnutí vysoce infekční nemoci. Virus SARS-CoV se přenáší kapénkami nebo kontaminovanými předměty. Prevence zahrnuje řádnou detekci případů, izolaci podezřelých a infekčních jedinců. Osobní preventivní opatření zahrnují časté mytí rukou, užívání alkoholových dezinfekcí, osoby s vysokým rizikem nákazy, jako jsou zdravotničtí pracovníci, používají ochranné pomůcky včetně roušky, brýlí apod. (WHO, 2021).

Velice slibnými se zdály vakcíny založené na adenoviru a S proteinu viru, které indukovaly silnou SARS-CoV specifickou imunitní opověď u makaků (Gao et al., 2003).

## **4.4.2 Blízkovýchodní respirační syndrom – MERS**

MERS je onemocnění pocházející z Blízkého východu, způsobené virem MERS-CoV. První případ byl prokázán v roce 2012 v Saudské Arábii (WHO, 2019). Od té doby se rozšířil do nejméně 27 zemí světa a vykazuje přibližně 35% úmrtnost (Rabaan et al., 2021).

### ***4.4.2.1 Původ viru***

MERS-CoV patří mezi zoonotické viry; studie prokázaly, že se lidé infikovali přímým nebo nepřímým kontaktem s infikovanými dromedáry. Virus byl u dromedárů detekován v řadě zemí Blízkého východu, Afriky a jižní Asie. Původ viru není zcela znám, ale po analýze virového genomu se předpokládá, že může pocházet od netopýrů, od kterých byl přenesen v dávné minulosti na velbloudy (WHO, 2019).

#### **4.4.2.2 Přenos onemocnění mezi lidmi**

Virus z člověka na člověka nepřechází snadno, je potřeba blízkého kontaktu, jako je např. nechráněné poskytování zdravotní péče infikovaným pacientům. Bylo identifikováno množství případů, kdy došlo k přenosu ve zdravotnickém zařízení z důvodu nedostatečných nebo nevhodných preventivních opatření (WHO, 2019).

Přibližně 80 % všech případů bylo pozorováno v Saudské Arábii, kde se lidé infikovali nechráněným kontaktem s infikovanými dromedáry nebo lidmi. Případy mimo Blízký východ byly především cestovatelé infikovaní na Blízkém východě (WHO, 2019).

#### **4.4.2.3 Klinické příznaky**

Klinické spektrum MERS je v rozsahu od asymptomatických infekcí, mírných respiračních příznaků až po těžkou akutní respirační nemoc a smrt. Typickým příznakem je horečka, kašel, dušnost. Zápal plic je běžný, ale ne vždy přítomný. Mohou se vyskytovat i gastrointestinální příznaky (např. průjem). Při těžkém průběhu nemoci je možné respirační selhání a potřeba mechanické ventilace a podpory na JIP (WHO, 2019).

Onemocnění probíhá vážněji u starších pacientů, imunodeficitních a chronicky nemocných lidí (např. s onemocněním ledvin, rakovinou, diabetem) (WHO, 2019).

#### **4.4.2.4 Diagnostika**

Zlatým standardem je odběr vzorků z respiračního traktu: to zahrnuje tracheální aspirát, nosohltanový výtěr, bronchoalveolární laváž a sputum. Tracheální aspirát a bronchoalveolární laváž poskytují výrazně vyšší počet virových částic než vzorky z nosohltanového výtěru a sputa (Memish et al., 2014).

Rutinní stanovení infekce virem MERS-CoV je založeno na základě detekce jedinečných sekvencí virové RNA pomocí amplifikačních metod, jako je real-time reverzně transkripční PCR. Negativní výsledek nemusí 100% vyloučit přítomnost infekce, řada faktorů může způsobit falešně negativní výsledek – např. nízká kvalita odebraného vzorku (obsahuje malé množství materiálu), či pokud byl odběr proveden v pozdním nebo velmi brzkém stádiu nemoci nebo byl materiál znehodnocen při přepravě. V případě negativního výsledku u pacienta s jasnými příznaky onemocnění je

možné odebrat nový vzorek z jiných míst respiračního traktu nebo provést konfirmační test v jiné laboratoři (WHO, 2018).

Je možné využít sekvenační techniky, které jsou vhodné pro odhalení změn v sekvenci virového genomu, které mohou ovlivnit virulenci viru (Sameera a Hajeer, 2016).

Stejně jako u ostatních akutních virových infekcí je serologická detekce možná až s časovým odstupem od počátku klinických obtíží oproti průkazu viru pomocí molekulárních metod. Protilátky se obvykle objevují desátý den od počátku onemocnění (Park et al., 2015). Pomocí metody ELISA je také možné přímo detekovat povrchové antigeny MERS-CoV ze vzorků z nosohltanu (Chen et al., 2015).

#### **4.4.2.5 Léčba**

Léčba je podpůrná, založena na pacientově klinickém stavu (WHO, 2019). U těžkých případů bylo použito několik terapeutických strategií, jako je imunoterapie konvalescentní plazmou, intravenózní podávání imunoglobulinů, podávání antivirotických látek (ribavirin, alisporvir), interferonů a jejich kombinace s kortikosteroidy a dalšími látkami v různých kombinacích. Jako podpůrný prostředek je používán chlorochin, silvestrol nebo extrakorporální membránová oxygenace. Zároveň probíhá řada klinických studií na posouzení účinnosti léčiv a vakcín proti MERS-CoV, jejich výsledky jsou očekávány v brzké době (Rabaan et al., 2021).

#### **4.4.2.6 Prevence infekce**

Účinná vakcína je předmětem výzkumu. Hlavním opatřením je dodržování obecných hygienických opatření pro všechny, kteří navštěvují farmy, trhy a další místa, kde se vyskytují dromedáři, což zahrnuje mytí rukou před a po styku se zvířaty. Spotřeba syrových nebo nevařených zvířecích produktů s sebou nese vysoké riziko infekce nejen virem MERS-CoV. Produkty, které prošly procesem vaření nebo pasterizací, je bezpečné s opatrností konzumovat, z důvodu možné křížové kontaminace (WHO, 2019).

### **4.4.3 Koronavirová nemoc 2019 – COVID-19**

V prosinci 2019 byla ve městě Wuhan v Číně u několika pacientů diagnostikována atypická pneumonie způsobená neznámým patogenem. Byla příčinou těžkých

onemocnění a smrtí. Onemocnění postihovalo pacienty, kteří udávali pobyt na velkých trzích, kde se obchoduje s živými zvířaty (Paules et al., 2020).

Byl předpokládán vznik nového patogenního zoonotického HCoV. V lednu šanghajští vědci zveřejnili plnou genomovou sekvenci nového koronaviru, v té době pojmenovaného 2019-nCoV. Předběžné výzkumy indikovaly, že nový vir je homologický k viru SARS-CoV a může být tedy schopen se vázat na ACE2. Tato informace byla důležitou k předpokladu pandemického potenciálu viru (Paules et al., 2020).

Situace s novým koronavirem se rychle vyvíjela a počty případů rapidně stoupaly. Autority veřejného zdraví rychle jednaly, díky zkušenostem z předešlých koronavirových epidemií. Ve Wuhanu zavřeli a dezinfikovali první zasažený trh, USA a řada dalších zemí zahájily screening pasažérů přijíždějících z Wuhanu. Zdravotníci odborníci v dalších asijských městech okamžitě identifikovali případy související s cestováním, pacienty izolovali a dále o ně pečovali (Paules et al., 2020).

Odborníci dále zahájili vývoj protiopatření založených na zkušenostech z epidemie SARS a MERS. Vědci využili své poznatky z vývoje vakcín proti SARS-CoV a začali vyvíjet vakcínu proti SARS-CoV-2 (Paules et al., 2020).

11. 2. 2020 byl virus pojmenován jako SARS-CoV-2. WHO nemoc pojmenovala COVID-19 a 11. 3. 2020 byla vyhlášena celosvětová pandemie (L.-P. Zhang et al., 2020).

#### **4.4.3.1 Původ viru**

Současná zjištění ukazují, že virus byl od počátku pozoruhodně stabilní, podle sekvencí získaných z prvních případů z Wuhanu a dalších vzorků z různých zemí, což naznačuje, že vir byl od první detekce dobře adaptován na lidský organismus. To potvrzují také epidemiologické a přenosové vzorce pozorované od začátku pandemie COVID-19 (WHO, 2020a).

Netopýři jsou přirozenými rezervoáry koronavirů a s velkou pravděpodobností ukrývají mnoho dalších, dosud neobjevených koronavirů. I když je možný přímý přenos viru z netopýra na člověka, zoonózy se často přenáší z mezihostitelského zvířete. Výzkum prováděný od začátku pandemie ukázal, že řada zvířat (divokých

i domestikovaných) je náchylná k infekci. Ale kdy, kde a ze kterého zvířete se SARS-CoV-2 přenesl na člověka zůstává neznámé (WHO, 2020a).

Virus s 92,4% homologií k SARS-CoV-2 byl prokázán u luskounů (Lam et al., 2020).

#### **4.4.3.2 Přenos viru mezi lidmi**

Mezilidský přenos byl prokázán bezprostředně po objevení onemocnění (Wang et al., 2020b). Cesty přenosu jsou podobné ostatním respiračním virům, dochází k němu pomocí kapének produkovaných kašláním, kýčáním, dýcháním i mluvením (Boban, 2021). K přenosu dochází během těsného nechráněného kontaktu mezi infekční a neinfikovanou osobou. Šíření ve vzduchu se nepovažuje za hlavní cestu přenosu, ale lze předpokládat, že ve zdravotnických zařízeních vzniká při práci s nemocnými infekční aerosol, který patří do významných cest přenosu viru. U některých pacientů byl nalezen životaschopný virus ve stolici, fekálně-orální přenos také nepatří mezi hlavní cesty přenosu infekce (WHO, 2020b).

#### **4.4.3.3 Klinické příznaky**

Příznaky nemoci nejsou specifické a nemoc se může projevovat od asymptomatických případů až po těžké pneumonie končící smrtí (WHO, 2020b).

Klinické příznaky se mohou objevit v rozmezí dvou až čtrnácti dnů od kontaktu s virem (CDC, 2021a). Nemocní obecně vykazovali mírné respirační příznaky a horečku, průměrně pět až šest dní po infekci (WHO, 2020b). Symptomy obvykle zahrnují horečku, nevolnost, nosní kongesci nebo rýmu, dušnost a kašel. Dalšími klinickými příznaky jsou anosmie a ageuzie, bolest v krku, bolest svalů, únavu, bolest hlavy a průjem (CDC, 2021a).

Většina nemocných prodělala lehké onemocnění se snadným uzdravením. Většina laboratorně potvrzených případů měla mírné až středně závažné symptomy (nepneumotické a pneumotické příznaky), část případů měla těžký průběh (např. s dušností, zhoršením tepové frekvence a saturace kyslíku, přítomností plicních infiltrátů) a malé procento případů mělo kritický průběh (s respiračním selháním, septickým šokem a multiorgánovým selháním) (WHO, 2020b).

Mezi osoby s nejvyšším rizikem závažného průběhu a následného úmrtí patří lidé ve věku nad 60 let a lidé s chronickými chorobami, jako je hypertenze, diabetes mellitus,

kardiovaskulární onemocnění, chronické respirační onemocnění a rakovina. Naproti tomu u dětí je nemoc relativně vzácná a mírná, u velmi malého podílu dětí se onemocnění vyvinulo ve vážné, až kritické (WHO, 2020b).

Průběh a klinická manifestace nemoci COVID-19 je různá a někteří pacienti jsou popisováni jako asymptomatictí, jsou považováni za potenciální zdroje infekce pro společnost a mohou mít zásadní roli v přenosu nemoci (Al-Sadeq a Nasrallah, 2020). Podle řady studií je nezpochybnitelné, že asymptomatictí jsou infekční, nebyl ani pozorován žádný znatelný rozdíl ve způsobu přenosu nemoci mezi asymptomatickými a symptomatickými pacienty. Tito lidé se od symptomatických pacientů neliší pouze nepřítomností příznaků, ale i laboratorními výsledky (kromě amplifikačních metod) (W. Zhang et al., 2020).

#### **4.4.3.4 Diagnostika**

##### *4.4.3.4.1 Klinická diagnostika*

Definice případu podle WHO:

##### A. Podezřelý případ SARS-CoV-2 infekce

- a. osoba splňující klinická kritéria – akutní projev horečky **a** kašle **nebo** akutní projev tří nebo více následujících symptomů – horečka, kašel, slabost, bolest hlavy, bolest svalů, bolest v krku, dušnost, zažívací potíže, průjem  
**a** epidemiologická kritéria – pobývání v oblasti s vysokým rizikem nákazy během dvou týdnů před počátkem symptomů **nebo** pobývání v oblasti s komunitním přenosem během dvou týdnů před začátkem symptomů **nebo** zaměstnání ve zdravotnictví během dvou týdnů před začátkem symptomů;
- b. pacient s těžkým akutním respiračním onemocněním – s horečkou, kašlem, nutností hospitalizace;
- c. asymptomatická osoba bez splnění epidemiologických kritérií s pozitivním antigenním testem (amplifikační test je vhodný pro potvrzení diagnózy) (WHO, 2020c).



## B. Pravděpodobný případ SARS-CoV-2 infekce

- a. pacient splňující výše zmíněná kritéria **a** kontakt s pravděpodobným nebo potvrzeným případem nebo je zařazen do skupiny COVID-19 pacientů<sup>1</sup>;
- b. podezřelý případ s patologickými nálezy v hrudníku (počítačová tomografie a rentgen hrudníku, plicní ultrazvuk) typickými pro COVID-19;
- c. osoba s anosmií (ztráta čichu) nebo ageusií (ztráta chuti) bez jiných příznaků;
- d. úmrtí bez jasných příčin, kterému předcházely dýchací obtíže **a** osoba byla v kontaktu s pravděpodobným či potvrzeným případem nemoci nebo osobou v COVID-19 skupině (WHO, 2020c).

## C. Potvrzený případ SARS-CoV-2 infekce

- a. osoba s pozitivním amplifikačním testem;
- b. osoba s pozitivním antigenním testem **a** splňující kritéria A **nebo** B;
- c. asymptomatická osoba s pozitivním antigenním testem, která byla v kontaktu s potvrzeným nebo pravděpodobným případem (WHO, 2020c).

### 4.4.3.4.2 Laboratorní diagnostika

V dnešní době je spolehlivá, včasná a přesná diagnostika velmi důležitá k poskytnutí včasné lékařské pomoci infikovaným jedincům, stejně tak k pomoci vládám k prevenci šíření infekce a záchraně lidských životů. Falešně negativní výsledky mohou být příčinou šíření viru v komunitě, stejně tak falešně pozitivní mohou vést ke zbytečné léčbě a psychickému tlaku na pacienta. Proto je nutné mít přesné, rychlé, snadno dostupné a spolehlivé diagnostické testy. Dnes máme snadno dostupné diagnostické testy na principu imunologických a amplifikačních metod (Mathura et al., 2020).

Pro správnou diagnostiku je důležitý odběr vhodného materiálu. Obvykle je odebírán nazofaryngeální stěr, ale v některých případech to není vhodné, alternativním

---

<sup>1</sup> Skupina symptomatických jedinců spojených časem, geografickou polohou s alespoň jedním pozitivním případem potvrzeným amplifikační metodou nebo alespoň dvě epidemiologicky spojené osoby s pozitivním antigenním testem (WHO, 2020c).

materiálem mohou být vzorky z dolních dýchacích cest, jako je sputum nebo bronchoalveolární laváž (Charlton et al., 2019; Loeffelholz, 2020). Vzorky jsou umístěny do nádoby obsahující virové transportní médium a jsou včas transportovány do laboratoře. Na sérologické vyšetření je odebírán vzorek krve. Zdravotničtí pracovníci, provádějící odběr, používají osobní ochranné pomůcky, jako je jednorázový ochranný oblek, rukavice, respirátor N95 a ochrana očí (Mathuria et al., 2020).

### **Molekulární analýza**

Standardní test na potvrzení SARS-CoV-2 infekce je založen na detekci unikátní virové sekvence nukleové kyseliny amplifikačními testy, nejběžnější real-time reverzně transkripční polymerázové řetězové reakci. Cíle testu zahrnují oblasti genů pro E-protein, N-protein, S-protein a RNA-dependentní RNA polymerázu (WHO, 2020d).

U většiny jedinců se symptomatickým průběhem je virová RNA z výtěru z nosohltanu detekovatelná již v první den příznaků a její hladina vrcholí během prvního týdne. Hladina viru začíná při třetím týdnu klesat, až se stává nedetekovatelnou (Zheng et al., 2020).

Specifita většiny těchto testů je 100%, protože primery jsou vyrobené specificky ke genomové sekvenci viru SARS-CoV-2. Občasné falešně pozitivní výsledky mohou mít příčinu v technickém selhání nebo sekundární kontaminaci (Sethurman et al., 2020).

### **Imunologické testy**

Tyto testy hodnotí protilátky tvořené imunitním systémem odpovídajícím na virovou infekci nebo hodnotí proteiny viru přítomné v respiračním traktu. Po vstupu viru do lidského těla započne imunitní systém produkovat protilátky proti viru, detekce těchto protilátek u infikované osoby je velmi užitečná při asymptomatickém průběhu. Tyto testy poskytují užitečné informace o tom, zda osoba byla vystavena nemoci, nebo ne. Analýzou protilátek nemůžeme identifikovat aktivní infekci (Mathuria et al., 2020)

Při **testování protilátek** sérologické testy detekují imunoglobuliny produkované lidským organismem. Testy pracují na různých technikách, např. ELISA nebo chemiluminiscenční testy (WHO, 2020d). Je možné analyzovat dva druhy protilátek – protilátky proti S-proteinu, N-proteinu nebo jejich kombinace (Ji et al., 2020).

Rychlé diagnostické testy založené na **detekci antigenu** – antigenní rapid testy – detekují přítomnost virového proteinu (antigenu) v respiračním traktu. Většina jich

využívá princip laterální imunodifúze, které jsou obvykle hotové do 30 minut. Testy jsou méně senzitivní než amplifikační metody. Navíc mohou být falešně pozitivní z důvodu rozpoznávání antigenů jiných lidských koronavirů (WHO, 2020d).

### **Kultivace viru**

Je možné kultivovat virus izolovaný z nazofaryngeálního a orofaryngeálního materiálu od nemocných pacientů. Vzorky jsou diluovány ve virovém transportním médiu a inokulovány na Vero buňky. Přítomnost viru je možné vyhodnotit po několika dnech – replikace je potvrzena cytopatickým efektem, genovou detekcí a elektronovou mikroskopií. Tyto metody je možné provádět pouze ve specializovaných laboratořích s BSL 3 (Kim et al., 2020).

Kultivační techniky jsou vhodné pro izolaci a charakteristiku viru, nehodí se ale pro obecnou diagnostiku (Mathuria et al., 2020).

### **Genomové sekvenování**

Sekvenování může být u SARS-CoV-2 využito k vyšetřování rozvoje ohniska nákazy, zahrnující změny epidemie v čase, její časoprostorové šíření a testování hypotéz cest přenosu (WHO, 2020d).

#### **4.4.3.5 Léčba**

Nemocní s lehkým průběhem jsou léčeni jako ambulantní pacienti v karanténě, s antipyretiky, antiinflamatoriky, odpočinkem a rehydratací. Nemocní s těžším průběhem s nekontrolovatelnou horečkou, silnou dušností a dalšími vysoce rizikovými příznaky jsou léčeni optimálnějšími postupy zahrnující hospitalizaci. Výrazná dušnost nebo hypoxie, často jako komplikace pneumonie, je léčená dodáváním kyslíku a dalšími způsoby s různou medikací (Boban, 2021).

### **Antivirová terapie**

*Remdesivir* – inhibuje virovou RNA-polymerázu. Byl vyvinut pro epidemiologicky vysoce rizikové infekce, jako je ebola a marburg, ale byl prokázán jeho účinek na další RNA viry, zvláště koronaviry (Sheahan et al., 2017). I když stále není dostatek studií, remdesivir stále ukazuje velmi slibné výsledky. Nelze opomenout skutečnost, že byl podáván pouze pacientům s pokročilým, klinicky závažnějším onemocněním.

K potvrzení jeho pozice v léčbě COVID-19 by byly nutné další studie o větším počtu pacientů v různých stádiích nemoci (Boban, 2021).

*Kombinace chlorochinu a hydroxychlorochinu* – obě látky byly využívány jako antimalarika, později byly použity jako imunomodulační látky pro autoimunní a revmatické choroby. Kromě těchto účinků se předpokládá, že její antivirový efekt je způsoben změnami pH buněčné membrány nezbytnými pro fúzi viru (Alijotas-Reig et al., 2020). Některé zdroje naopak uvádí nežádoucí až škodlivé účinky hydroxychlorochinu (Štefan et al., 2021).

*Kombinace lopinaviru a ritonaviru* – tato kombinace je doporučena pro léčbu HIV infekce, pro léčbu SARS-CoV-2 byla zvolena na základě in vitro antivirové aktivity proti SARS-CoV (Yao et al., 2020). Předpokládaný mechanismus účinku je inhibice hlavní proteázy SARS-CoV, což zabrání virové replikaci (Ratia et al., 2008; Rebold et al., 2021).

Mezi další studovaná antivirotika patří favipavir, umifenovir, galidesivir, léky používané proti chřipce a další. Zatím není dostatek dat pro jejich použití (Rebold et al., 2021).

*Bamlanivimab a další monoklonální protilátky* – jsou použity při horším klinickém průběhu s nutností hospitalizace a mechanické ventilace. Bamlanivimab se váže na receptor vázající doménu S-proteinu SARS-CoV-2 a blokuje jeho vazbu na ACE2 receptor (Anonymous, 2021c).

### **Imunomodulační látky**

*Kortikosteroidy* – jsou široce působící imunosupresiva, která omezují hyperaktivní reakci imunitního systému. Tyto látky nebyly původně považovány za vhodné z důvodu předchozích zkušeností z ohnisek SARS a MERS, kde vykazovaly vyšší úmrtnost (Auyeung et al., 2005; Rebold et al., 2021). Nicméně nové studie prokázaly pozitivní účinek některých kortikoidů (Rebold et al., 2021).

*Inhibitory interleukinů* – interleukiny (IL) byly identifikovány jako rizikový faktor pro zhoršení nemoci COVID-19, tedy jako možný cíl inhibice. Předmětem studií jsou především hlavní prozánětlivé cytokiny IL-1 a IL-6. Analýza pacientů s těžkým průběhem onemocnění ukázala, že vyšší hladiny IL-6 pravděpodobně korelují s horším průběhem infekce (Rebold et al., 2021).

## **Konvalescentní plazma**

Jedná se o krevní plazmu darovanou zdravými dárci, kteří prodělali onemocnění COVID-19 a jejichž plazma obsahuje specifické neutralizační protilátky proti RBD doméně spike proteinu SARS-CoV-2. Předpokládá se, že plazma s vysokým titrem neutralizačních protilátek zajistí okamžitou krátkodobou pasivní imunizaci (Devarasetti, 2021).

Přesný mechanismus působení těchto protilátek není zcela znám, předpokládá se, že mechanismus zahrnuje antivirotický a imunomodulační účinek. Včasné podání plazmy může inhibovat vstup viru do buněk a jeho replikaci. Nejvhodnější je zahájit léčbu nejpozději pátý den (Devarasetti, 2021).

Zkušenosti z předešlých virových epidemií (např. španělská chřipka) ukazují minimální nepříznivé účinky tohoto léčebného postupu (Devarasetti, 2021).

## **Oxygenoterapie**

Pokud dušnost převládá delší dobu a saturace hemoglobinu klesá, je potřeba suplementace kyslíkem k udržení periferní saturace na hodnotách 90–96 %. Extrakorporální membránová oxygenace může být užita ve formě venovenózní nebo venoarteriální metody v závislosti na náhradě oxygenace anebo cirkulace (Boban, 2021).

Je potřeba zdůraznit skutečnost, že doplňování kyslíku mechanickou ventilací anebo podporou oběhu, jsou pokročilou metodikou léčby na JIP, stále však jde o podporu akutně snížených tělesných funkcí. Tímto způsobem je prodloužen život pacienta, který se s touto podporou sám zotaví nebo se mu dodají účinná antivirotika či jiné látky, které ovlivní životní cyklus viru (Boban, 2021).

## **Doporučený postup léčby COVID-19 podle Společnosti infekčního lékařství**

Léčba je zahájena symptomatickou terapií, při horečce se podávají běžná antipyretika, případně jejich kombinace, kašel se tlumí běžnými antitusiky, která mohou být v kombinaci s mukolytiky, případně je možné podávat nosní kapky pro uvolnění nosní obstrukce. V případě bronchiální obstrukce jsou podávána bronchodilatancia, nejčastěji ve formě ručních inhalátorů, při přítomnosti hypoxie je indikována oxygenoterapie.

Dále léčba přechází ve specifickou, při které se v časných stádiích podávají antivirotické látky (např. remdesivir), které jsou podávány u hospitalizovaných

s pneumonií vyžadujících oxygenoterapii. Konvalescentní plazma se dříve používala u kritických případů vyžadujících plicní ventilaci, dnes se podává v raných stádiích infekce k zabránění vzniku těžkých forem infekce, stejně tak se podávají monoklonální protilátky (např. bamlanivimab). V pozdějších stádiích infekce se podávají přípravky k potlačení přehnané zánětlivé odpovědi – imunomodulační látky (např. dexamethason) (Štefan et al., 2021).

#### **4.4.3.6 Prevence**

##### *4.4.3.6.1 Preventivní opatření proti šíření nákazy*

Vládou České republiky byla vydávána řada opatření, která se během roku neustále zpříšňovala a povolovala, proto zde zmíním jen globálně známá doporučení k zamezení šíření infekce, ve kterých je zahrnuto i hojně propagované 3R – ruce, roušky, rozestupy.

1. Používejte ochranných roušek k ochraně své i ostatních.
2. Dodržujte alespoň dvoumetrových rozestupů, pamatovat na to, že i lidé bez příznaků mohou šířit onemocnění.
3. Často si myjte ruce, vodou a mýdlem po dobu minimálně 20 vteřin, případně používejte dezinfekční prostředky na ruce, obzvlášť po pobytu ve veřejných prostorách, po dotýkání se nosu, kašláním nebo kýcháním. Dále si myjte před přípravou a konzumací jídla, před dotýkáním se obličeje, po použití toalety a po kontaktu se zvířaty. Zamezte dotýkání se očí, nosu a pusy nečistýma rukama.
4. Vyhýbejte se místům s vysokou koncentrací lidí a špatně větraným prostorům.
5. Zakrývejte ústa a nos při kašláním a kýcháním papírovým kapesníkem, který vyhodíte do odpadu, nebo použijte loket. Neprodleně poté si umyjte ruce.
6. Umývejte a dezinfikujte často dotýkaná místa a povrchy (např. stoly, vypínače, kliky, klávesnice, mobilní telefony, kohoutky).
7. Pozorujte svůj zdravotní stav, obzvlášť symptomy spojené s nemocí COVID-19 (teplota, kašel, dušnost, ...), v případě zhoršení zdravotního stavu vyhledejte lékařskou pomoc.
8. Nechte se naočkovat (CDC, 2021b).

#### 4.4.3.6.2 Preventivní opatření proti šíření nákazy v domovech pro seniory

30. 3. 2020 byly Státním zdravotním ústavem (SZÚ) doporučeny následující postupy.

*Včasná identifikace osob s možnou infekcí* – u klientů musí zaměstnanců domovů musí věnovat pozornost případným příznakům akutního respiračního onemocnění, případně gastrointestinálním projevům (např. průjem), dále je nutné sledovat jakékoli změny celkového stavu seniora (dezorientace, změny vědomí, zhoršení demence) (Jindrák et al., 2020).

*Aktivní vyhledávání možných infekčních jedinců* – klienti zařízení by měli být denně dotazováni na zdravotní stav (pozornost by měla být upřena obzvláště na respirační příznaky), vhodné je preventivně, dvakrát denně, měřit teplotu a dále motivovat seniory k sdělení případných projevů. Pokud je podezření na přítomnost infikovaného jedince, je potřeba zajistit jeho izolaci od ostatních klientů a neprodleně provést nazofaryngeální výtěr k přímému průkazu přítomnosti viru. Stálí pracovníci zařízení sledují svůj zdravotní stav a při projevech onemocnění informují vedení domova, stejně tak informují o rizikovém kontaktu s nakaženými osobami. Při podezření na nemoc musí dojít k zamezení jejich pracovní činnosti spojené s kontaktem s klienty i ostatními pracovníky do doby vyloučení infekce virem SARS-CoV-2. Služby externích pracovníků jsou omezeny na minimum, protože mohou být významným zdrojem infekce. Tito pracovníci musí před vstupem do domova projít kontrolou jejich zdravotního stavu (Jindrák et al., 2020).

*Preventivní a kontrolní opatření* – v domově je nutné zamezit pohybu klientů mimo jejich pokoj, případně mezi nimi dodržovat dvoumetrovou vzdálenost. Pokud je to možné, je vhodné, aby klienti nosili ochrannou roušku k zamezení přenosu kapének, stejně tak aby personál využíval ochranné roušky při kontaktu s klienty domova. Všichni obyvatelé i personál domova musí dodržovat častou hygienu rukou pečlivým umýváním mýdlem a vodou, případně použitím vhodných dezinfekčních přípravků. Kromě běžných situací (před jídlem, po toaletě apod.) je hygiena prováděna i před vstupem a opuštěním pokoje klienta. V souvislosti s pandemií je nutné častěji uklízet společné i soukromé prostory a je nutné zajistit jejich častější větrání. Kromě častého pečlivého úklidu je nutné dezinfikovat často dotýkané povrchy celého zařízení pomocí vhodných virucidních přípravků (Jindrák et al., 2020).

#### 4.4.3.6.3 *Vakcinace*

Na začátku pandemie WHO koordinovala skupinu expertů k práci na vytvoření vhodných kandidátů na vakcíny a zveřejnění profilu cílového produktu, což zahrnovalo jak kritické, tak preferované vlastnosti vakcíny (např. žádné kontraindikace, minimální nežádoucí účinky, vhodné pro všechny věkové kategorie, vhodné pro těhotné, alespoň 70% účinnost) (WHO, 2020e). Některé vakcíny obdržely povolení pro nouzové použití ani ne rok po začátku pandemie (Pruss, 2021). Takto rychlý vývoj vakcín je možný díky řadě faktorů – již existujícím kandidátům na vakcínu, datům a zvířecím modelům z období předešlých epidemií SARS a MERS; brzkému zveřejnění celé genomové sekvence viru SARS-CoV-2; podobnost sekvence S-proteinu mezi viry SARS-CoV a SARS-CoV-2 a snížení regulační zátěže v důsledku naléhavosti situace (Poland et al., 2020).

Vakcíny **mechanismu mRNA** jsou založené na injektování syntetické mRNA, která je v organismu rychle translatována na protein. Jedná se o novou skupinu léčiv, která pracuje s genetickou informací (Sahin et al., 2014). Do této skupiny patří vakcíny:

- *BioNTech/Pfizer* (Spojené státy americké/Německo);
- *Moderna* (Spojené státy americké);

Vakcíny založené na **adenovirovém vektoru**:

- *Oxford/Astra Zeneca* (Spojené království/Spojené státy americké);
- *Sputnik V* (Rusko);
- *Janssen/Johnson & Johnson* (Holandsko/Spojené státy americké) (Pruss, 2021).

## 4.5 *Použité diagnostické metody*

### 4.5.1 **ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)**

Enzymová imunoanalýza na pevné fázi, při které se stanovuje množství protilátek nebo antigenů ve vzorku (Litzman, 2007). Základním principem je imobilizace jednoho z reaktantů na pevném povrchu, v našem případě se jedná o mikrotitrační destičku, na které je ukotvena doména S1 S-proteinu SARS-CoV-2 (EUROIMMUN, 2020). Přidáním vzorku se na imobilizovaný antigen naváží specifické protilátky, na které se v dalším kroku naváže zvířecí protilátka proti lidskému imunoglobulinu značená



enzymem, který po přidání substrátu katalyzuje barevnou reakcí. Pozitivní výsledek pozorujeme změnou barvy roztoku v jamce, jejíž intenzita se měří spektrofotometricky (Litzman, 2007).

#### **4.5.2 Stanovení protilátek IgM na analyzátoru**

Protilátky IgM byly stanoveny metodou CMIA – chemiluminiscenční mikročasticová imunoanalýza na analyzátoru firmy Abbott. Jedná se o stanovení protilátek v lidském séru nebo plazmě. Vzorek, mikročástice potažené antigenem SARS-CoV-2 a diluent jsou společně inkubovány. Po promytí se přidá konjugát značený akridinem a znovu se inkubuje. Do reakční směsi se přidá peroxid vodíků, který zabrání předčasné světelné emisi, dále se přidá hydroxid sodný, dojde k oxidační reakci a vzniku chemiluminiscence, která je detekována (Abbott, 2021).

#### **4.5.3 Rapid testy**

*Innovita* – jedná se o imunochemický průtokový laterální test od firmy Innovita biological technology CO., při kterém jsou detekovány IgM a IgG protilátky ve vzorcích. Balení obsahuje jeden panel se dvěma testovacími místy pro IgM a IgG; každé z nich obsahuje rekombinantní SARS-CoV-2 antigen (S1 a NP protein) a myši protilátky značené zlatem jako indikátor (INNOVITA, 2020).

*DeepBlue* – jedná se o test stanovení protilátek IgM a IgG proti SARS-CoV-2 od firmy Anhui DeepBlue medical technology CO. V balení je testovací panel se dvěma detekčními místy na jedné nitrocelulózové membráně, která obsahuje SARS-CoV-2 antigen a králičí protilátku značenou koloidním zlatem (TESTLINE, 2020).

*AllTest* – antigenní test od firmy Durviz pro kvalitativní stanovení protilátek IgM a IgG v lidských vzorcích. Testovací membrána obsahuje dvě detekční místa, jedno pro IgM a druhé pro IgG, ve kterých jsou přítomny anti-lidské protilátky proti daným imunoglobulinům. Test obsahuje SARS-CoV-2 antigenové částice, se kterými reagují protilátky přítomné v lidských vzorcích. Pozitivní výsledek se projeví barevným proužkem v místě detekce (ALLTEST, 2021).

## 5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 5.1 Výběr pacientů

Výběr pacientů podléhal jasným kritériím – nutnosti být klientem nebo zaměstnancem Domova v Břevnici a být prokazatelně nakaženým, tedy mít pozitivní PCR test, v období počátku epidemie v České republice (březen 2020). Pacienty jsem rozdělila podle věku a s ohledem na riziko závažnosti průběhu onemocnění COVID-19 na dvě skupiny.

V první skupině se nachází klienti domova, ve věkovém rozmezí 72–94 let (průměr 83,3 let), muži (5) i ženy (17), z nichž všichni trpí nějakým typem stařecké demence a dalšími komborbiditami, běžnými pro tuto věkovou skupinu.

Do druhé skupiny patří zaměstnankyně domova, kterých bylo v této první vlně nakažených 11 (z 21), ve věkovém rozmezí 24–61 let (průměr 50,8 let), které nemají žádné výrazné komborbidity.

Klientům i zaměstnankyním byly provedeny odběry venózní krve. Po doručení do laboratoře byly vzorky přijaty do laboratorního informačního systému, zcentrifugovány a bylo odděleno sérum, které se rozdělilo do příslušných alikvotů pro stanovení na imunochemickém analyzátoru a pro imunologické metody.

### 5.2 Sběr dat

Data ohledně klinického stavu seniorů jsem získala s jejich souhlasem z lékařských záznamů v systému Domova a konzultovala je s vrchní sestrou. Informace o klinickém stavu zaměstnanců jsem získala přímo od nich ústně nebo telefonicky.

Data o protilátkové odpovědi mi byla poskytnuta mým konzultantem, který část z nich (výsledky protilátkové odpovědi u klientů Domova z odběrů duben I, červenec, září, listopad) použil ve svém článku (Fejt et al., 2020).

### 5.3 Laboratorní stanovení

Stanovení protilátek bylo provedeno několika testy. Jeden z rapid testů byl proveden v průběhu dubna v Domově (testy *Innovita*), ostatní stanovení byla provedena na Oddělení společných laboratoří v havlíčkobrodské nemocnici v průběhu roku 2020 a na

začátku roku 2021. Provedeny byly rapid testy *Alltest IgG, IgM, Deep Blue IgG, IgM, Innovita IgG, IgM* (zaměstnancům pouze *Innovita IgM*).

V rámci diplomové práce jsem provedla vyšetření rapid testy Innovita a stanovení protilátek pomocí ELISA soupravy od firmy Euroimmun z červencových a zářijových odběrů. Zbylá data jsou převzata z havlíčkobrodské nemocnice.

### 5.3.1 ELISA

#### Pomůcky a přístroje

- testovací souprava EUROIMMUN (mikrotitrační jamky s antigenem, kalibrátor, pozitivní a negativní kontrola, enzymový konjugát, vzorkový pufr, promývací pufr, roztok chromogen/substrát, zastavovací roztok)
- mikropipety + špičky
- stopky
- inkubátor
- promývací zařízení
- čtečka mikrotitračních destiček
- destilovaná voda

#### Pracovní postup

1. Nejprve jsem si zředila vzorky séra ve vzorkovém pufru v poměru 1:101 (10  $\mu$ l séra a 1 ml pufru), dobře promíchala.
2. Postupovala jsem podle pipetovacího protokolu v návodu k použití, napipetovala jsem 100  $\mu$ l kalibrátoru, kontrol a naředěných vzorků do jamek mikrotitrační destičky. Destičku jsem překryla víkem a inkubovala 60 minut při 37 °C ( $\pm$  1 °C).
3. Pomocí promývacího zařízení jsem promyla jamky destičky třikrát 450  $\mu$ l promývacího pufru, který jsem v každé jamce nechala působit 30–60 sekund. Po promytí jsem z jamek vyklepala zbytkový pufr.
4. Dále jsem do každé jamky napipetovala 100  $\mu$ l enzymového konjugátu. Destičku jsem překryla víkem a inkubovala 30 minut při 37 °C ( $\pm$  1 °C).

5. Znovu jsem promyla, viz bod 3.
6. Do každé jamky jsem napipetovala 100  $\mu$ l substrátového roztoku, inkubovala 30 minut při pokojové teplotě, chráněné před slunečním světlem.
7. Do každé jamky jsem napipetovala 100  $\mu$ l zastavovacího roztoku. Destičky jsem změřila fotometricky při vlnové délce 450 nm a vyhodnotila výsledky.

### **5.3.2 Rapid test Innovita**

#### **Pomůcky a přístroje:**

- testovací souprava (testovací panel, zředovací roztok, návod k použití)
- mikropipeta
- stopky

#### **Pracovní postup:**

1. Nejprve jsem nechala testovací set ohřát na pokojovou teplotu, poté jsem vyndala testovací panel z obalu.
2. Napipetovala jsem 10  $\mu$ l séra do každé testovací jamky, přidala 80  $\mu$ l zředovacího roztoku.
3. Výsledky jsem odečetla během 15 minut od provedení testu.

### **5.4 Zpracování dat**

Data týkající se klinického stavu jsem zpracovávala v textovém editoru Word a Excel. Klinické příznaky jsem roztřídila do skupin a vyhodnotila, s jakou četností a v jakých procentech byly zastoupené u klientů, zaměstnanců a všech pacientů dohromady. Dále jsem vypočítala procentuální zastoupení závažností průběhů podle následujících kritérií:

- asymptomatický průběh – průběh onemocnění bez jakýchkoli příznaků;
- mírný průběh – přítomnost pouze jednoho až dvou příznaků s krátkou dobou trvání (např. teplota trvající dva dny, den trvající průjem);
- středně těžký průběh – přítomnost několika příznaků v krátkém čase nebo jednoho příznaku trvajícího delší dobu, přítomnost horečky;

- těžký průběh – přítomnost několika příznaků trvajících delší dobu, podpora dýchání, nutnost hospitalizace;
- kritický průběh – nutnost hospitalizace na JIP nebo anesteziologicko resuscitačním oddělení.

Dále jsem okrajově zhodnotila i dlouhodobé následky onemocnění, které jsem zpracovávala stejně jako informace o klinickém stavu.

Epidemiologické ukazatele jsem počítala podle vzorců:

míru zasažení jsem vypočítala podle vzorce:

$$\frac{\text{počet osob, které onemocněly}}{\text{počet exponovaných osob}} \times 100$$

smrtnost jsem vypočítala podle vzorce:

$$\frac{\text{počet osob, které na nemoc zemřely}}{\text{počet osob s nemocí}} \times 100$$

(Janout, 1998).

Data týkající se protilátkové odpovědi jsem zpracovávala v editoru Excel; vytvořila jsem tabulky a grafy z naměřených hodnot.

Výsledky rapid testů jsem porovnávala se stanovením IgG a IgM, které bylo provedeno ve stejném období metodou ELISA Euroimmun (IgG) a CMIA (IgM). Určila jsem, kolik výsledků bylo shodných a kolik neshodných. Dále jsem vypočítala senzitivitu a specifitu podle vzorců;

senzitivitu v procentech jsem počítala podle vzorce:

$$\frac{\text{správně pozitivní}}{\text{správně pozitivní} + \text{falešně negativní}} \times 100$$

specifitu v procentech jsem počítala podle vzorce:

$$\frac{\text{správně negativní}}{\text{správně negativní} + \text{falešně pozitivní}} \times 100$$

(Tomášková, 2007).

## 6. VÝSLEDKY

### 6.1 Klienti Domova

#### 6.1.1 Klinický průběh onemocnění

Virem SARS-CoV-2 byli pravděpodobně infikováni všichni klienti domova – jeden z nich zemřel s příznaky respiračního onemocnění bez prokazatelného PCR testu, není proto zařazen do hodnocení. Nejčastějším příznakem byla únava (63,64 %) a zvýšená teplota (54,55 %). Horečka (minimálně 38 °C) byla přítomna pouze u dvou klientů. Data jsou shrnuta v tabulce 1.

*Tabulka 1/klinické příznaky klientů Domova*

<b>Příznaky</b>	<b>četnost n=22</b>	<b>procentuální zastoupení [%]</b>
anosmie, ageuzie	2	9,09
kašel, chraptot, dýchací obtíže	9	40,91
únava, spavost	14	63,64
GIT potíže	6	27,27
teplota	12	54,55
kožní defekty, hematomy, otoky	5	22,73
bolest svalů, kloubů	5	22,73
psychické problémy	7	31,82
horečka	2	9,09

Klienti nejčastěji vykazovali mírný průběh onemocnění (36,36 %), hospitalizace byla nutná pouze u čtyř klientů (18,18 %), z nichž dva zemřeli. Kritéria pro rozdělení klientů do jednotlivých skupin jsou uvedena v kapitole 5.4. *Zpracování dat*. Data o závažnosti průběhu jsou shrnuta v tabulce 2.

*Tabulka 2/závažnost průběhu onemocnění u klientů Domova*

<b>závažnost průběhu</b>	<b>četnost n=22</b>	<b>procentuální zastoupení [%]</b>
Asymptomatický	4	18,18
Mírný	8	36,36
středně těžký	6	27,27
Těžký	4	18,18
Kritický	0	0

U několika klientů byly pozorovány dlouhodobé následky. U tří klientů (13,63 %) se přibližně měsíc po pozitivním PCR testu objevily příznaky zánětu močových cest (tmavá moč), u jedné klientky byla pozorována silná únava ještě asi čtyři měsíce, přičemž spavost u ní byla hlavním příznakem. U dalšího klienta delší dobu přetrvávala bolest zad, která také byla hlavním a nejsilnějším příznakem. Dále jedna z klientek prodělala cévní mozkovou příhodu asi dva měsíce po infekci, u další z klientek byla diagnostikována obstrukce žlučových cest, přibližně tři měsíce po infekci. U všech klientů Domova došlo po prodělání infekce k rapidnímu zhoršení jejich psychického i fyzického stavu, personál na nich pozoruje větší únavnost i častější kolapsové stavy.

Míra zasažení mezi klienty byla 100 %. Smrtnost mezi klienty byla 9,09 % (zemřeli dva klienti).

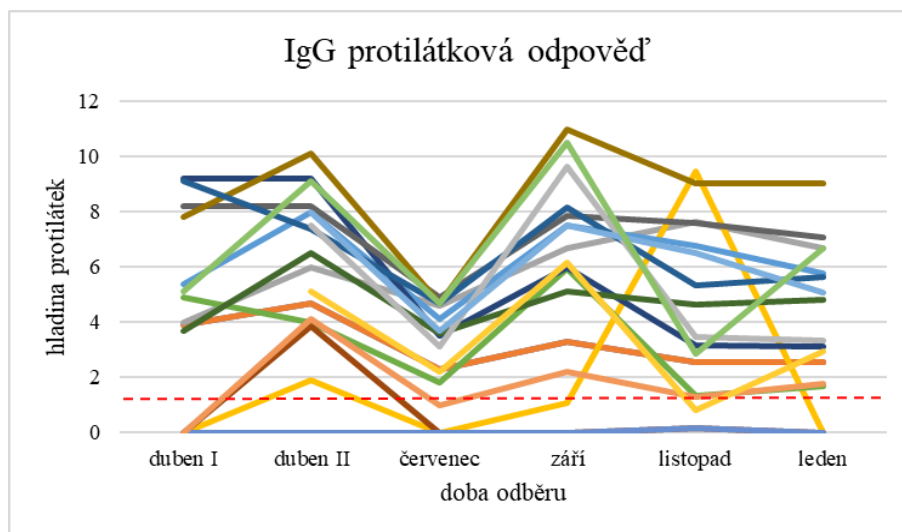
## 6.1.2 Protilátková odpověď

Klientům byla odebírána krev v průběhu roku 2020, a to na začátku a na konci dubna, v červenci, v září, v listopadu. Poslední vzorek byl odebrán v lednu 2021, poté v Domově proběhla vakcinace. Protilátková odpověď nemohla být stanovena u všech klientů, z důvodu jejich úmrtí (nejen na COVID-19) v průběhu roku. Protilátková odpověď byla testována u 18 klientů.

Metodou ELISA byly testovány protilátky IgG a IgA, a to od začátku dubna 2020 až po leden 2021. Na níže zobrazených grafech představuje každá čára hladinu protilátek jednoho klienta, a to, jak se protilátky vyvíjely v čase.

Z grafu 1 je viditelné, že přibližně dva týdny od začátku nemoci (začátek dubna) byly hladiny protilátek u většiny klientů v pozitivní oblasti (nad 1,1). Na konci dubna došlo ke zvýšení hladiny protilátek, pozitivní výsledek byl u téměř 95 % klientů. V červenci došlo k jejich snížení a v září k opětovnému zvýšení, pozitivní výsledky byly asi u 83 % klientů. Poté došlo k opětovnému poklesu hladiny protilátek a v lednu byl ještě asi u 82 % klientů pozitivní výsledek, i když hladiny protilátek byly oproti předešlým měsícům lehce snížené. U třech klientek nebyl proveden první odběr.

Graf 1/IgG protilátková odpověď u klientů Domova

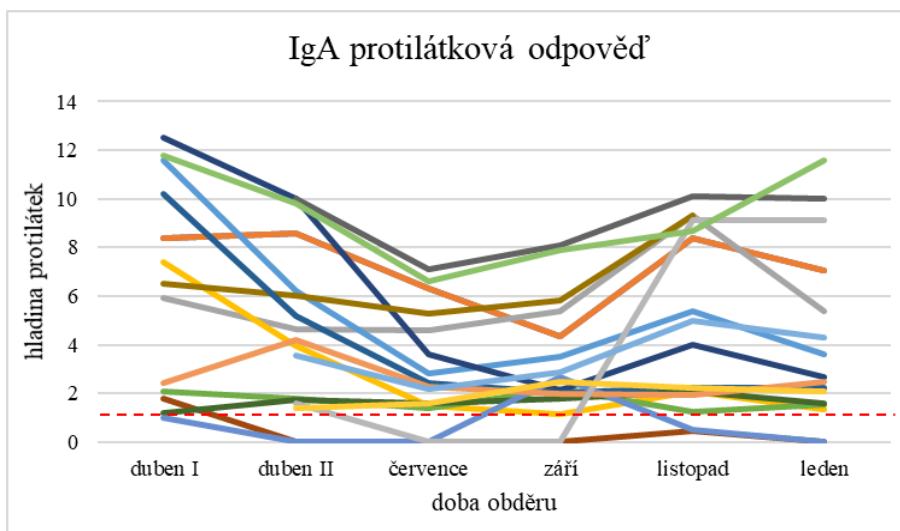


Hodnoty duben I, červenec, září a listopad jsou převzaty z Fejt et al. (2020). Každá čára představuje jednoho klienta a jeho dynamiku protilátek v čase. Červená přerušovaná čára představuje hranici positivity.



Na grafu 2 je viditelné, že hladina protilátek IgA byla na začátku dubna pozitivní u 90 % klientů (nad 1,1), u jednoho byla na hranici positivity. Dále docházelo k postupnému snižování hladin a v listopadu k jejich opětovnému navýšení. V lednu byl počet klientů s pozitivním výsledkem téměř stejný jako v listopadu, hladiny protilátek se lehce snížily, ale pozitivních nadále zůstávalo přibližně 88 % klientů. U třech klientek nebyl proveden první odběr.

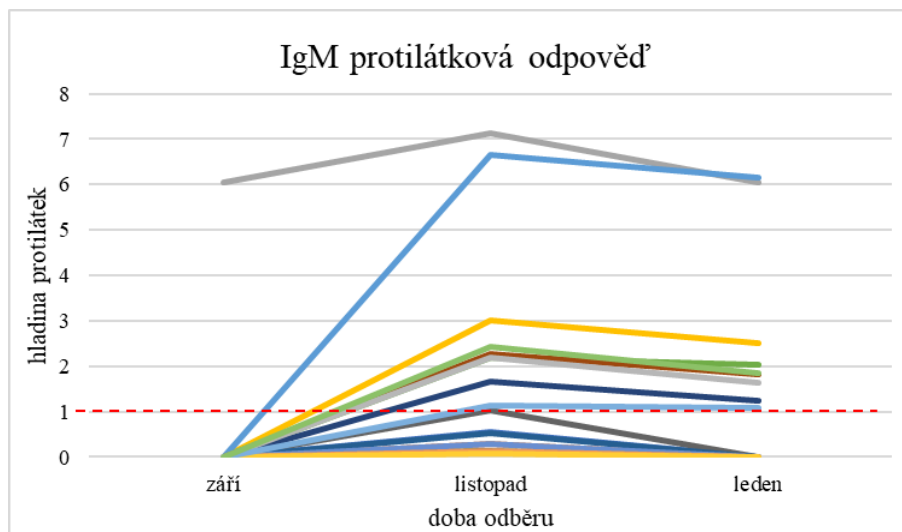
*Graf 2/IgA protilátková odpověď u klientů Domova*



*Hodnoty duben I, červenec, září a listopad jsou převzaty z Fejt et al. (2020). Každá čára představuje jednoho klienta a jeho dynamiku protilátek v čase. Červená přerušovaná čára představuje hranici positivity.*

Hladina protilátek IgM byla u klientů stanovena v září, listopadu a lednu. V grafu 3 je vidět, že téměř u všech klientů byla v září hladina protilátek IgM nulová, v listopadu došlo k jejímu navýšení a v lednu došlo opět k jejich snížení, pozitivních ale byla stále téměř polovina vzorků.

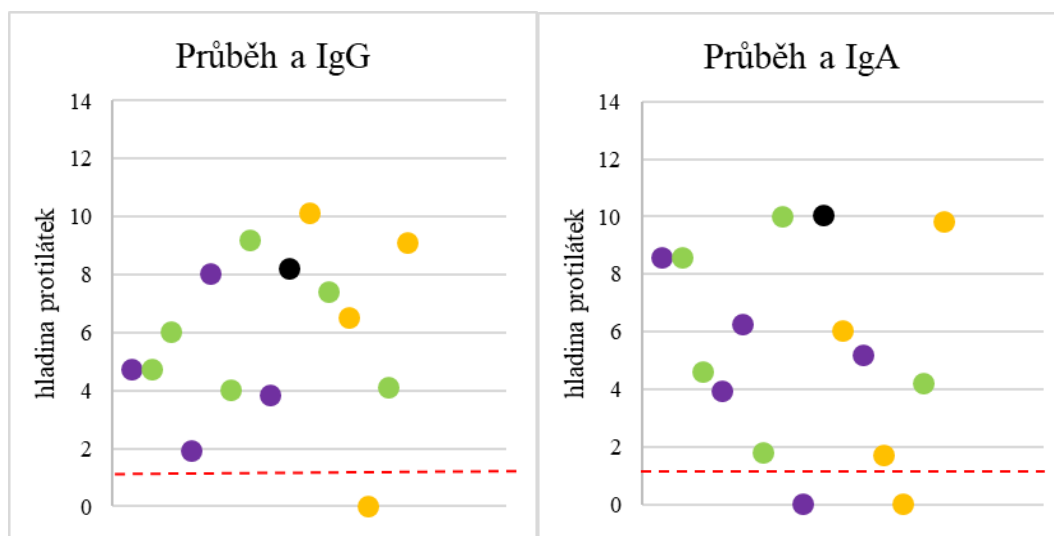
Graf 3/IgM protilátková odpověď u klientů Domova



Záříjové hodnoty jsou převzaty z Fejt et al. (2020). Každá čára představuje jednoho klienta a jeho dynamiku protilátek v čase. Červená přerušovaná čára představuje hranici positivity (1,0).

V grafu 4 je zobrazeno porovnání hladiny protilátek IgG a IgA u 15 klientů se závažností průběhu, z odběru na konci dubna tedy přibližně pět týdnů od pozitivních PCR testů. Není zde pozorována žádná souvislost.

Graf 4/porovnání hladiny protilátek IgG a IgA se závažností průběhu u klientů Domova



● mírný ● středně těžký ● těžký ● asymptomatický

Každý bod představuje jednoho klienta, červená přerušovaná čára představuje hranici positivity.

## 6.2 Zaměstnanci Domova

### 6.2.1 Klinický průběh onemocnění

Z počtu 21 zaměstnanců v Domově jich bylo na jaře 2020 pozitivně testováno 11. Mezi nejčastější příznaky zaměstnankyň patřila anosmie – ztráta čichu, ageuzie – ztráta chuti (81,82 %) a bolestivost svalů a kloubů (81,82 %) Příznaky jsou shrnuty v tabulce 3.

Tabulka 3/klinické příznaky zaměstnanců Domova

<b>Příznaky</b>	<b>četnost n=11</b>	<b>procentuální zastoupení [%]</b>
anosmie, ageuzie	9	81,82
kašel, chraptot, dýchací obtíže	4	36,36
únava, spavost	8	73,73
GIT potíže	4	36,36
Teplota	4	36,36
bolest svalů, kloubů	9	81,82
Horečka	1	9,09

Zaměstnankyně Domova nejčastěji vykazovaly středně těžký průběh (82 %), nebyla nutná žádná hospitalizace. Data o závažnosti jsou shrnuta v tabulce 4.

Tabulka 4/závažnost průběhu onemocnění u zaměstnanců Domova

<b>závažnost průběhu</b>	<b>četnost n=11</b>	<b>procentuální zastoupení [%]</b>
Asymptomatický	0	0

Mírný	2	18
středně těžký	9	82
těžký	0	0
kritický	0	0

Dlouhodobé následky popisovalo devět z jedenácti tázaných zaměstnankyň (81,81 %). U čtyř z nich (44,44 %) trvala únava alespoň devět měsíců, poté vymizela. U pěti z nich (55,55 %) přetrvávají obtíže i téměř po roce od infekce (údaje k 18. 3. 2021). Nejčastější dlouhotrvající obtíží je bolestivost končetin a únava. V jednom případě se objevuje i vracející se bolest hlavy a obtížné dýchání při zátěži.

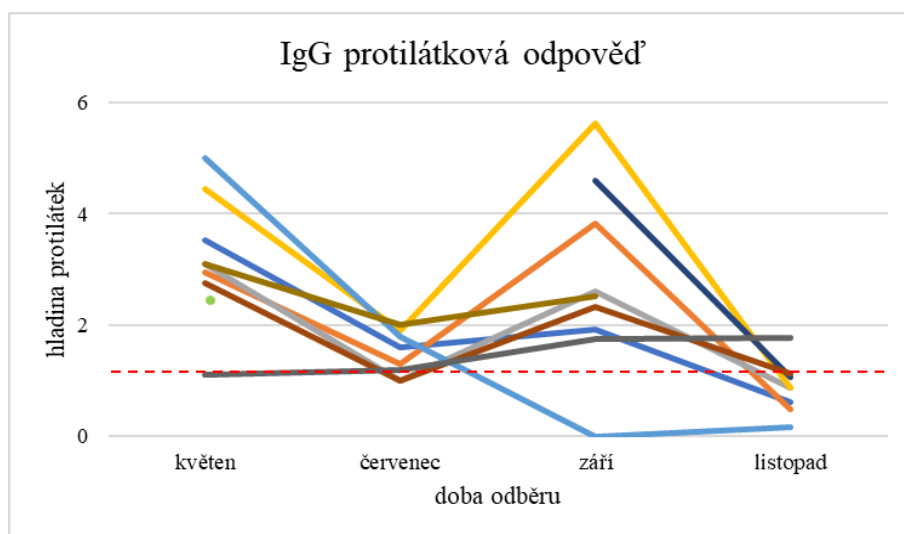
Míra zasažení mezi zaměstnanci Domova byla 52,38 %, smrtnost byla nulová.

### **6.2.2 Protilátková odpověď**

U zaměstnankyň domova, které byly na COVID-19 pozitivně testovány na jaře 2020 byly vzorky odebírány v květnu, červenci, září a listopadu 2020. Protilátková odpověď nemohla být hodnocena u všech těchto zaměstnankyň, u některých byl proveden např. jen jeden test, nepřišlo mi proto vhodné jejich výsledky zařazovat do statistiky.

Na grafu 5 je vidět, že v květnu měly všechny zaměstnankyně domova hladinu IgG protilátek v pozitivní oblasti (nad 1,1). V červenci se hladiny protilátek snížily, v září došlo k jejich opětovnému zvýšení a v listopadu opět ke snížení, pouhá čtvrtina vzorků zůstávala pozitivních.

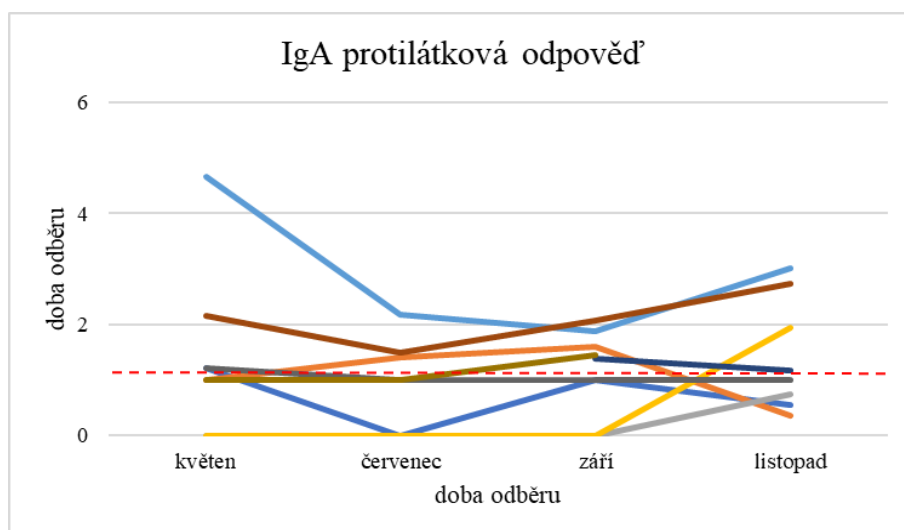
Graf 5/IgG protilátková odpověď u zaměstnanců Domova



Každá čára představuje jednu zaměstnankyni a její hladinu protilátek v čase. Červená přerušovaná čára představuje hranici positivity.

Hladina protilátek IgA u zaměstnanců byla v průběhu času značně různorodá a rozkolísaná. Na grafu 6 je vidět, že v květnu, u více než poloviny (55,55 %) zaměstnanců, byly výsledky v pozitivní oblasti (nad 1,1). U některých vzorků bylo pozorováno zvýšení hladiny i v listopadu 2020.

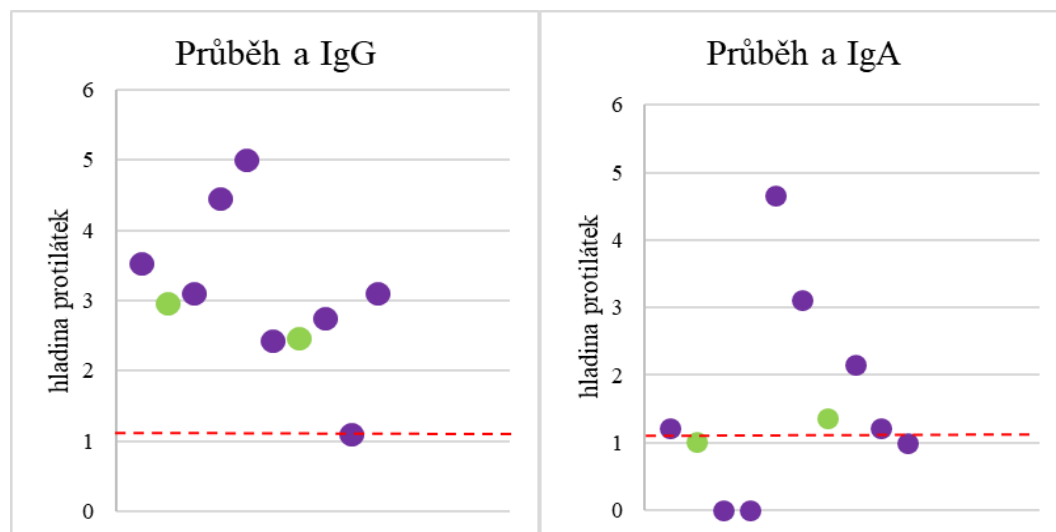
Graf 6/IgA protilátková odpověď u zaměstnanců Domova



Každá čára představuje jednu zaměstnankyni a její hladinu protilátek v čase. Červená přerušovaná čára představuje hranici positivity.

Na grafu 7 je zobrazeno porovnání hladiny protilátek IgA a IgG se závažností průběhu u 10 zaměstnankyň z květnového odběru, tedy necelé dva měsíce od pozitivního PCR testu. Není pozorována žádná souvislost.

*Graf 7/porovnání hladiny protilátek IgG a IgA se závažností průběhu u zaměstnankyň Domova*



● mírný ● středně těžký

*Každý bod představuje jednu zaměstnankyni. Červená přerušovaná čára představuje hranici positivity.*

### 6.3 Shrnutí

Nejčastější příznaky, které postihly dohromady 33 klientů a zaměstnanců břevnického Domova, jsou shrnuty v tabulce 5. Nejčastějším příznakem byla únava (66,66 %), dále teplota (48,48 %) a bolestivost svalů a kloubů (42,42 %).

*Tabulka 5/klinické příznaky u klientů a zaměstnanců Domova*

Příznaky	četnost n=33	procentuální zastoupení [%]
únava	22	66,66
teplota	16	48,48
bolesti svalů, kloubů	14	42,42
kašel, chrapot,	13	39,39

dýchací obtíže		
anosmie, ageuzie	11	33,33
GIT potíže	10	30,30
psychické problémy	7	21,21
kožní defekty, hematomy, otoky	6	18,18
Horečka	3	9,09

U všech břevnických pacientů byl nejčastější středně těžký průběh (45,45 %). Data o četnosti závažnosti průběhu jsou shrnuta v tabulce 6.

*Tabulka 6/závažnost průběhu onemocnění u klientů a zaměstnanců Domova*

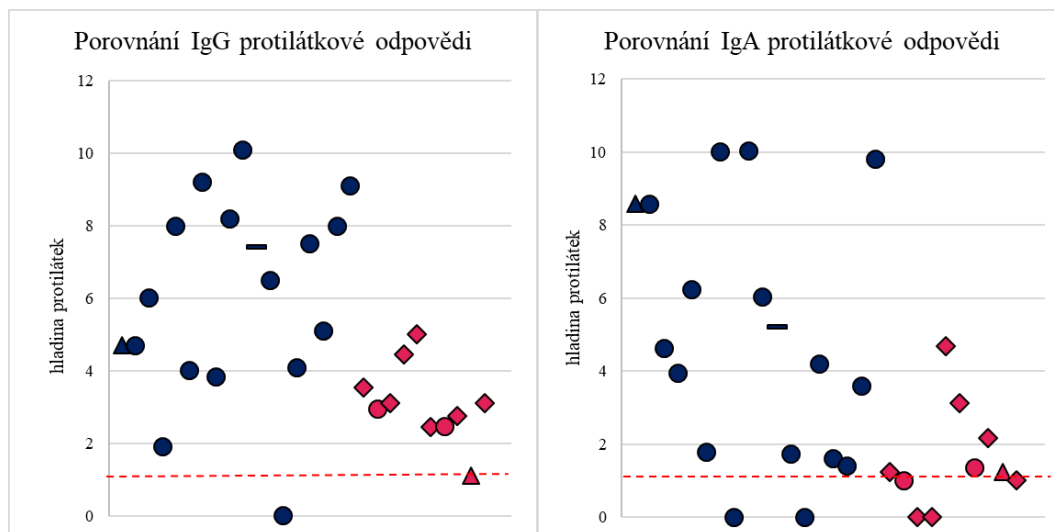
<b>závažnost průběhu</b>	<b>Četnost n=33</b>	<b>procentuální zastoupení [%]</b>
Asymptomatický	4	12,12
Mírný	10	30,30
středně těžký	15	45,45
Těžký	4	12,12
Kritický	0	0

Celková míra zasažení u břevnických pacientů byla 76,74 %, celková smrtnost byla 4,65 %.

V grafu 8 jsou porovnány protilátkové odpovědi IgG a IgA klientů a zaměstnanců Domova z odběrů 30. 4. 2020 u klientů a 15. 5. 2020 u zaměstnanců. Z grafu vyplývá, že hladina protilátek IgG i IgA, v odpovědi na infekci SARS-CoV-2 byla vyšší u klientů

Domova. Dále jsou v grafu zobrazeni jedinci, kteří trpěli anosmií, ageuzií nebo obojím dohromady.

Graf 8/porovnání protilátkové odpovědi klientů a zaměstnanců Domova



● klienti ● zaměstnanci Δ anosmie = ageuzie ◇ anosmie, ageuzie

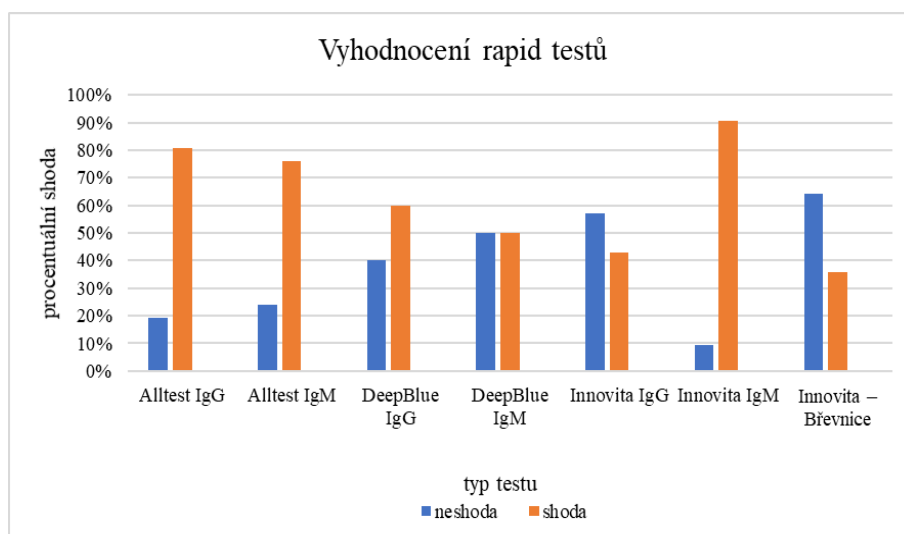
Každý bod představuje jednoho klienta nebo zaměstnankyni. Červená čára představuje hranici positivity.

## 6.4 Hodnocení rapid testů

V dubnu byly klientům provedeny rapid testy v Domově; jednalo se o testy *Innovita*. Dále byly rapid testy provedeny v nemocniční laboratoři, a to ze zářijových vzorků jak od klientů, tak od zaměstnanců. Byly použity testy *Alltest IgG*, *IgM*, *Deep Blue IgG*, *IgM*, *Innovita IgG*, *IgM* (zaměstnancům pouze *Innovita IgM*). V grafu 9 je vidět, že nejvyšší shodu se stanovením protilátek metodou ELISA (IgG) a CMIA (IgM) vykazoval test *Innovita IgM* (90,48 %), druhou nejvyšší shodu vykazoval test *Alltest IgG* (80,77 %). Nejvyšší neshodu vykazoval test *Innovita* provedený v Domově (67,29 %), druhou největší neshodu měl test *Innovita IgG* (57,14 %).



Graf 9/porovnání výsledků rapid testů s metodami ELISA a CMA



#### 6.4.1 Specifita a senzitivita rapid testů

V tabulce 7 jsou vypočítané hodnoty specifit a senzitivit jednotlivých rapid testů. 100% specifitu měly testy *Innovita IgG* a *DeepBlue IgG*, nejnižší specifitu měl test *DeepBlue IgM* (43,75 %). 100% senzitivitu měl test *DeepBlue IgM*, nejméně senzitivní byl test *Innovita* provedený v Domově (30,77 %).

Tabulka 7/Specifita a senzitivita rapid testů

	specifita pro jednotlivé imunoglobuliny		celková specifita	
	specifita [%]	senzitivita [%]	specifita [%]	senzitivita [%]
<i>Innovita IgG</i>	100	33,33	95,24	28,57
<i>Innovita IgM</i>	95	–		
<i>DeepBlue IgG</i>	100	57,14	55,56	58,33
<i>DeepBlue IgM</i>	43,75	100		
<i>Alltest IgG</i>	66,67	82,61	78,26	79,17
<i>Alltest IgM</i>	80	–		

<i>Innovita</i> Břevnice	–	–	100	30,77
-----------------------------	---	---	-----	-------

Celková senzitivita všech rapid testů byla 62,5 %, celková specifita byla 76,19 %.

## 7. DISKUSE

Po zjištění prvních pozitivních klientů postupovalo vedení Domova způsobem, který byl v souladu s vládními doporučeními – zaměstnanci nosili od půlky března 2020 ochranu úst a nosu a byla dodržována přísnější hygienická opatření. Po identifikaci prvního nakaženého klienta došlo k jeho izolaci a následnému vyšetření ostatních (Exnerová, 2020; Jindrák et al., 2020).

Mezi klienty byla míra zasažení 100%, onemocnělo 22 klientů, smrtnost byla 9,09 %, zemřeli dva klienti, kteří vyžadovali hospitalizaci. U klientů, tedy u pacientů s věkovým průměrem 83,3 let byly nejčastějšími příznaky únava, spavost (63,64 %) a zvýšená teplota (54,55 %), Liu et al. (2020) popisuje v této věkové skupině jako nejčastější příznak kašel (53 %), spavost je popisována u 34 %. Jako druhý nejčastější příznak je zde uvedena horečka ( $> 38,1$  °C), a to u 50 %. U břevnických seniorů byla horečka pozorována pouze u 9,09 % seniorů, i z toho důvodu byl u většiny z nich průběh vyhodnocen jako mírný (36,36 %).

Mezi zaměstnanci byla míra zasažení 52,38 %, onemocnělo 11 z 21 stálých zaměstnanců, smrtnost byla nulová. U zaměstnanců Domova, s věkovým průměrem 50,8 let byla nejčastějším příznakem anosmie, ageuzie (81,82 %) společně s myalgií, atralgií (81,82 %), druhým nejčastějším příznakem byla únava, spavost (73,73 %). Liu et al. (2020) popisuje v této věkové skupině jako nejčastější příznak kašel (80 %), anosmie nebyla zaznamenána ani u jednoho pozorovaného, druhý nejčastější příznak byla horečka ( $> 38,1$  °C), zvýšená teplota se vyskytovala u 23 %. V břevnické skupině zaměstnanců se zvýšená teplota vyskytovala u 36,36 % a horečka pouze u 9,09 % zaměstnanců.

Nebyl přítomný žádný atypický příznak (CDC, 2020a). Všechny fyziopatologické změny byly přítomny na orgánech, které podle Hamming at al. (2004) mají na svých buňkách přítomny ACE2 receptory, mezi tyto tkáně a orgány patří plíce, nosní a ústní sliznice, tenké střevo, cévy, myofibroblasty, částečná přítomnost byla pozorována i na žlučovodech. Proto předpokládám, že zdravotní komplikace, které postihly klienty v rozmezí přibližně tří měsíců od pozitivního PCR byly způsobeny v důsledku pozdních následků infekce SARS-CoV-2, jednalo se o příznaky zánětu močových cest, cévní mozkovou příhodu a obstrukci žlučových cest. Stejně tak dlouhodobé příznaky přetrvávající převážně u zaměstnankyň, byly přítomny na těchto orgánech. Nejčastěji se

jednalo o téměř rok trvající bolestivost končetin (k 18. 3. 2021). Dlouhodobé psychické a z části i fyzické (zhoršení mobility) následky klientů jsou podle mého názoru důsledkem dlouhodobého psychického strádání, osamělosti a stresu, způsobenými opatřeními proti šíření nákazy (izolace od rodin především) spíš, než že vznikly v důsledku napadení organismu virem. El Haj et al. (2020), popisuje zvýšení depresivních a úzkostných stavů u seniorů v pečovatelských domovech, způsobených jejich izolací. Všechny přítomné příznaky infekce i její následky jsou shrnuty v kapitole 6. *Výsledky*.

Na začátek diskuse o protilátkové odpovědi je nutno říct, že v prosinci 2020 a lednu 2021 měly pozitivní PCR test další tři zaměstnankyně Domova. I přes to neproběhla žádná reinfekce u klientů ani zaměstnanců, kteří onemocnění prodělali na jaře 2020. Jedním z důvodů může být skutečnost, že řada klientů měla ještě v této době dostatečně vysokou hladinu protilátek nebo zároveň fungovala imunitní paměť, případně i to, že byla zaměstnanci dostatečně dodržována opatření proti šíření nákazy (ochrana úst a nosu apod.).

Protilátková odpověď klientů Domova byla sledována podrobněji než u zaměstnanců, u kterých bylo první stanovení protilátek provedeno až v květnu 2020 a poslední v listopadu 2020. Jedné z klientek nebyl po celou dobu detekován pozitivní výsledek IgG protilátek, výsledek IgA protilátek byl jednou hraniční a jednou pozitivní (v době druhé vlny epidemie). Další klientka měla pozitivní výsledek IgG i IgA pouze z jednoho odběru, ostatní testy byly negativní. U dalšího z klientů byla hladina protilátek IgG jednou hraniční a jednou na spodní hranici positivity, protilátky IgA byly pozitivní ve všech odběrech. Hladiny protilátek zaměstnanců byly celkově nižší než u klientů, u řady z nich se pohybovaly v hraničních hodnotách. U dvou zaměstnanců byla hladina všech protilátek IgA až na poslední odběr nulová.

Dynamika protilátek zpočátku odpovídala studii, ve které Wang et al. (2021) uvádí, že koncentrace IgG protilátek se po dvou týdnech od začátku symptomů zvýšila do maxima a přetrvávala vysoká po dobu třinácti týdnů, následně začala ve čtvrtém měsíci klesat. Dále Röltgen et al. (2020) uvádí maximální hladinu IgG protilátek po šesti týdnech s následným pomalým snižováním a maximální hladinu IgA protilátek po pěti týdnech s rychlejším poklesem hladin než u IgG, po 12 týdnech byla většina vzorků IgA negativních.

U břevnických seniorů byla přibližně pět týdnů po pozitivním PCR testu hladina IgG na maximum a čtvrtý měsíc, tedy červenec, došlo k jejich snížení. Hladina IgA byla nejvyšší asi tři týdny po pozitivním PCR testu, poté se do července postupně snižovala. Nedošlo tedy k absolutnímu vymizení protilátek IgG ani IgA, pouze ke snížení jejich hladin. V červenci (po čtyřech měsících) bylo téměř 78 % (IgG) a 83 % (IgA) výsledků stále v pozitivní oblasti.

U zaměstnanců byly v květnu (sedm týdnů od pozitivního PCR testu) hladiny IgG vyšší než v červenci, dá se tedy podle výše zmíněných studií předpokládat, že se jednalo o maximální hladinu protilátek IgG, i u nich došlo čtvrtý měsíc od pozitivního PCR testu ke snížení. I přesto, že hladina protilátek IgA měla, podle výše zmíněné studie, již klesající tendenci, byla stále vysoká a do července se dále snižovala. I v této skupině byly po čtyřech měsících protilátky IgG v 75 % případů snižené (oproti květnovému stanovení), stále se ale pohybovaly v pozitivní oblasti, protilátky IgA byly pozitivní u 32,5 % zaměstnanců.

Při následujícím zářijovém zvýšení hladin protilátek IgG i IgA u obou sledovaných skupin se přikláním k názoru Fejta et al. (2020), který udává jako důvod zvýšení vystavení klientů a zaměstnanců viru při druhé vlně pandemie. Zkřížená reaktivita s jinými sezónními hCoV je vyloučena díky vysoké analytické specifitě ELISA testů. (EUROIMMUN, 2020). Velká část klientů měla pozitivní protilátky IgG a IgA i v lednovém odběru, důvodem bude patrně opětovné setkání s virem při kontaktu se zaměstnankyněmi, které měly v tomto období pozitivní PCR test.

Protilátky IgM nebyly v počáteční fázi infekce stanoveny, první stanovení proběhlo u klientů až ze zářijového odběru, tedy téměř půl roku od první infekce. Z těchto výsledků tedy nelze hodnotit primární protilátkovou odpověď. IgM protilátková odpověď klientů z odběrů v září, listopadu 2020 a lednu 2021 je zobrazena na grafu 3. Na rozdíl od IgG byly hladiny IgM zvýšené až v listopadovém odběru a do ledna jejich hladina poklesla. Pravděpodobně se opět jedná o zvýšení z důvodu vystavení klientů viru během podzimní vlny epidemie (Fejt et al., 2020).

Graf 8 zobrazuje sílu protilátkové odpovědi, tedy výšku hladiny protilátek dvou věkových skupin – klientů a zaměstnanců, z odběrů pět týdnů a sedm týdnů po pozitivním testu PCR, tedy v období, kdy by, podle Röltgen et al. (2020) měly být hladiny protilátek vysoké. U klientů byla protilátková odpověď značně vyšší než

u zaměstnanců. V několika studiích zaměřených na imunitní systém a stárnutí je zmíněn pojem imunosenescence a inflammaging, které zahrnují změny imunitního systému během stárnutí vlivem různých faktorů. Tyto změny mají za následek snížení jak přirozené, tak adaptivní imunity (tedy sníženou tvorbu protilátek) a možné zvýšení produkce prozánětlivých cytokinů při infekci SARS-CoV-2 (Cunha et al., 2020; Pietrobon et al., 2020). Podle výše zmíněných studií by se dalo předpokládat, že výše hladin protilátek budou opačné, tedy vyšší u zaměstnanců – mladší věkové skupiny. Luo et al. (2021) zmiňuje vyšší hladinu protilátek IgA u skupiny starších pacientů, u hladin protilátek IgG nebyl významný rozdíl, v případě této studie se ale jedná o šedesátníky. Srovnatelné informace o skupině osmdesátiletých nebo starších pacientů mi nejsou známy.

Na grafu 8 jsou dále zobrazeni jedinci s anosmií, ageuzií nebo obojím dohromady. Tyto příznaky byly přítomny pouze u dvou klientů a u devíti zaměstnanců (v grafu je zobrazeno pouze osm, neboť u jedné zaměstnankyně nebyly testy provedeny). Z výsledků nelze dělat závěry o spojitosti výše protilátek a těmito příznaky. Není mi známa žádná studie, která by se touto problematikou zabývala.

Na grafech 4 a 7 je zobrazeno porovnání hladin protilátek a průběhu onemocnění z odběru pět (u klientů) a sedm (u zaměstnankyň) týdnů po pozitivním PCR testu. U břevnických pacientů nebyla pozorována žádná spojitost mezi výší protilátek a závažností průběhu onemocnění. Hansen et al. (2021), který se zabýval stejnou problematikou, uvádí jako nejvýznamnější výši protilátek IgG. Röltgen et al. (2020) ve své studii také uvádí spojitost výše protilátek se závažností průběhu.

Graf 9 ukazuje, jak moc shodné (nebo neshodné) byly výsledky rapid testů v porovnání s výsledky stanovenými testem ELISA (IgG) a CMIA (IgM). U čtyř testů ze sedmi byla častější shoda než neshoda, jeden test byl půl na půl. Ve studii séroprevalence v okresech Písek a Strakonice byly rapid testy testovány vzorky, které byly ELISA IgG pozitivní. Testy DeepBlue byly 100% neshodné s ELISA výsledky, všechny byly falešně negativní. U Alltest byla 80% neshoda, pouze jeden test byl shodně pozitivní s ELISA (Šimečková et al., 2020). U rapid testů byla stanovena také senzitivita a specifita, hodnoty jsou uvedeny v tabulce 7. Výrobce soupravy *Innovita* udává dohromady pro IgG a IgM senzitivitu 87,3 % a specifitu 100 % (INNOVITA, 2020), testy použité při testování klientů a seniorů měly senzitivitu 95,24 % a specifitu pouze 28,57 %. U *Alltest* udává výrobce senzitivitu 100 % pro IgG a 85 % pro IgM, specifitu

98 % pro IgG a 96 % u IgM (ALLTEST, 2020), testy použité při testování břevnických pacientů měly senzitivitu 82,61 % u IgG, u IgM nebyla hodnocena, specifitu 66,67 % u IgG a 80 % u IgM.

Z výše zmíněného vyplývá, že použití protilátkových rapid testů je nevhodné pro screening a zcela nevhodné pro diagnostiku hladin protilátek. Pokud je toto stanovení vyžadováno, existují vhodnější testy s vyšší senzitivitou a specifitou než rapid testy, např. stanovení protilátek metodou ELISA nebo za pomoci automatických analyzátorů pro stanovení celkových protilátek i hladin jednotlivých imunoglobulinů.

Stanovení protilátek proti SARS-CoV-2 není vhodnou metodou při zjišťování aktuální infekce, protože neodráží aktuální situaci, ale má několik týdnů zpoždění. Stanovení protilátek je vhodné naopak pro zjištění výše ochrany před reinfekcí. Tyto metody se také jeví jako vhodné a nenahraditelné pro zpětné sledování onemocnění v populaci, zjišťování séroprevalence, kontrole očkování, vyhledávání vhodných dárců konvalescentní plazmy, vyloučení infekciozity apod.

## 8. ZÁVĚR

V teoretické části diplomové práce jsem shrnula informace o COVID-19 a dalších významných koronavirových nákazách. Seznámila jsem se s chodem Domova se zvláštním režimem v Břevnici, s jeho zaměstnanci a detaily epidemie, která zde proběhla na jaře 2020. Dále jsem v experimentální části provedla analýzu protilátek proti SARS-CoV-2 metodami ELISA EUROIMMUN a rapid testy Innovita. Ve výsledcích je prezentován klinický průběh nemoci u klientů i zaměstnanců Domova, kteří prodělali infekci na jaře 2020, dále jsou zde prezentována data o závažnosti průběhu, který byl u pozorovaných pacientů nejčastěji středně těžký a nejčastějším příznakem byla únava. Okrajově jsou zhodnoceny následky, které u některých zaměstnankyň přetrvávaly nejméně téměř dvanáct měsíců po proběhlé infekci. Je zde zhodnocena i protilátková odpověď, která byla stanovena metodami ELISA a CMIA a rapid testy. Prokázala, že hladiny protilátek přetrvávaly u klientů Domova v pozitivní oblasti i deset měsíců po proběhlé infekci. Z toho vyplývá, že stanovení protilátek není vhodné pro stanovení akutní infekce (nejen u infekce virem SARS-CoV-2), ale je nenahraditelné pro kontrolu očkování, průkazu již prodělaného onemocnění a pro zhodnocení specifické imunitní odpovědi. Nejdůležitějším poznatkem této práce je, že nedošlo k žádné reinfekci, i když byl virus prokazatelně přítomen v Domově devět měsíců od prvních případů infekce.

V diplomové práci jsou splněny cíle vytyčené při jejím zadávání.



## **9. POUŽITÉ ZKRATKY**

ACE2 – angiotensin konvertující enzym

COVID-19 (coronavirus disease 2019) – koronavirová nemoc 2019

CMIA – chemiluminescenční imunoanalýza na mikročásticích

ELISA – enzyme-linked immunosorben assay

GIT – gastrointestinální trakt

HCoV (human coronavirus) – lidský koronavir

INF – interferon

IL – interleukin

IgG – imunoglobulin G

JIP – jednotka intenzivní péče

MERS (Middle East respiratory syndrome) – blízkoovýchodní respirační syndrom

PCR (polymerase chain reaction) – polymerázová řetězová reakce

SARS (severe acute respiratory syndrome) – syndrom akutního respiračního selhání

WHO (world health organization) – světová zdravotnická organizace

## 10. SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1/klinické příznaky klientů Domova.....</i>	<i>38</i>
<i>Tabulka 2/závažnost průběhu onemocnění u klientů Domova.....</i>	<i>39</i>
<i>Tabulka 3/klinické příznaky zaměstnanců Domova.....</i>	<i>43</i>
<i>Tabulka 4/závažnost průběhu onemocnění u zaměstnanců Domova.....</i>	<i>43</i>
<i>Tabulka 5/klinické příznaky u klientů a zaměstnanců Domova.....</i>	<i>46</i>
<i>Tabulka 6/závažnost průběhu onemocnění u klientů a zaměstnanců Domova.....</i>	<i>47</i>
<i>Tabulka 7/Specifita a senzitivita rapid testů.....</i>	<i>49</i>

## 11. SEZNAM GRAFŮ

<i>Graf 1/IgG protilátková odpověď u klientů Domova</i> .....	40
<i>Graf 2/IgA protilátková odpověď u klientů Domova</i> .....	41
<i>Graf 3/IgM protilátková odpověď u klientů Domova</i> .....	42
<i>Graf 4/porovnání hladiny protilátek IgG a IgA se závažností průběhu u klientů Domova</i> .....	42
<i>Graf 5/IgG protilátková odpověď u zaměstnanců Domova</i> .....	45
<i>Graf 6/IgA protilátková odpověď u zaměstnanců Domova</i> .....	45
<i>Graf 7/porovnání hladiny protilátek IgG a IgA se závažností průběhu u zaměstnanců Domova</i> .....	46
<i>Graf 8/porovnání protilátkové odpovědi klientů a zaměstnanců Domova</i> .....	48
<i>Graf 9/porovnání výsledků rapid testů s metodami ELISA a CMIA</i> .....	49

## 12. POUŽITÁ LITERATURA

ABBOTT. *SARS-CoV-2 IgG* [online]. 2021 [cit. 2021-5-6]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/media/137383/download>

ALIJOTAS-REIG, Jaume et al. Immunomodulatory therapy for the management of severe COVID-19. Beyond the anti-viral therapy: A comprehensive review. *Autoimmunity Reviews* [online]. 2020, **19**(7) [cit. 2021-04-16]. ISSN 1568-9972. Dostupné z: doi:10.1016/j.autrev.2020.102569

AL-SADEQ, Duaa W., Gheyath K. NASRALLAH. The incidence of the novel coronavirus SARS-CoV-2 among asymptomatic patients: A systematic review. *International journal of infectious diseases* [online]. 2020, **98**, 372–380 [cit. 0000-00-00]. ISSN 1201-9712. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijid.2020.06.098

ALL TEST. – COVID19 Rapid Test: real laboratory. *Life-science solutions: Real laboratory* [online]. 2020 [cit. 2021-03-02]. Dostupné z: <https://reallaboratory.com/product/all-test-covid19-rapid-test/>

ANKA, Abubakar Umar et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): An overview of the immunopathology, serological diagnosis and management. *Scandinavian Journal of Immunology* [online]. 2021, **93**(4) [cit. 2021-04-16]. ISSN 0300-9475. Dostupné z: doi:10.1111/sji.12998

ANONYMOUS. Domov se zvláštním režimem Břevnice. *Domov pro seniory – Havlíčkův Brod* [online]. © 2021a [cit. 2021-02-22]. Dostupné z: <https://www.ddhb.cz/domov-se-zvlastnim-rezimem-brevnice>

ANONYMOUS. Poslání, cíle, cílová skupina Břevnice. *Domov pro seniory – Havlíčkův Brod* [online]. © 2021b [cit. 2021-03-1]. Dostupné z: <https://www.ddhb.cz/poslani-cile-cilova-skupina-brevnice>

ANONYMOUS. An EUA for Bamlanivimab—A Monoclonal Antibody for COVID-19. *JAMA* [online]. 2021c, **325**(9) [cit. 2021-4-29]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2020.24415

AUYEUNG, T. et al. The use of corticosteroid as treatment in SARS was associated with adverse outcomes: a retrospective cohort study. *Journal of Infection* [online]. 2005, **51**(2), 98–102 [cit. 0000-00-00]. ISSN 0163-4453. Dostupné z: doi:10.1016/j.jinf.2004.09.008

BOBAN, Marko. Novel coronavirus disease (COVID-19) update on epidemiology, pathogenicity, clinical course and treatments. *International Journal of Clinical Practice* [online]. 2021, **75**(4) [cit. 2021-04-16]. ISSN 1368-5031. Dostupné z: doi:10.1111/ijcp.13868

CDC. How to protect yourself & others. *CDC: Centers for disease control and prevention* [online]. 2021b [cit. 2021-03-02]. Dostupné z: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/prevention.html?fbclid=IwAR0DO8Y5rfJdjisistEeZhUUv32sVaDYDVHuJC4ozxBkoOPp4DGRQCTDgWY>

CDC. Symptoms of coronavirus. *Centers for disease control and prevention* [online]. 2021a [cit. 2021-04-11]. Dostupné z: [https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html?fbclid=IwAR30t2ygLMdz\\_7z7bTHfI6\\_VajN6b5fvRHqSyb23yxIPIJd32fXyRKq\\_H-M](https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html?fbclid=IwAR30t2ygLMdz_7z7bTHfI6_VajN6b5fvRHqSyb23yxIPIJd32fXyRKq_H-M)

CUNHA, Lucas Leite et al. Remodeling of the Immune Response With Aging: Immunosenescence and Its Potential Impact on COVID-19 Immune Response. *Frontiers in Immunology* [online]. 2020, **11** [cit. 2021-04-16]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2020.01748

DE DONNO, Antonella et al. IgM and IgG Profiles Reveal Peculiar Features of Humoral Immunity Response to SARS-CoV-2 Infection. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2021, **18**(3) [cit. 2021-04-16]. ISSN 1660-4601. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph18031318

DEVARASETTI, Phani Kumar et al. A review of COVID-19 convalescent plasma use in COVID-19 with focus on proof of efficacy. *Immunologic Research* [online]. 2021, **69**(1), 18–25 [cit. 2021-04-16]. ISSN 0257-277X. Dostupné z: doi:10.1007/s12026-020-09169-x

EL HAJ, Mohamad et al. High depression and anxiety in people with Alzheimer's disease living in retirement homes during the covid-19 crisis. *Psychiatry Research* [online]. 2020, **291** [cit. 2021-03-10]. ISSN 0165-1781. Dostupné z: doi:10.1016/j.psychres.2020.113294

EUROIMMUN. *Anti-SARS-CoV-2 ELISA (IgA): Návod k použití*. 2020.

EXNEROVÁ, Renata, staniční sestra Domova se zvláštním režimem v Břevnici [ústní sdělení]. Břevnice, 10. 11. 2020.

FEJT, Václav et al. Stáří není nemoc: Vývoj hladiny ochranných protilátek proti koronaviru SARS CoV 2 u seniorů z Domova Břevnice. *Časopis lékařů českých* [online]. 2020, (7-8), 303-311 [cit. 2021-03-29]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/casopis-lekaru-ceskych/2020-7-8-1/stari-neni-nemoc-vyvoj-hladiny-ochrannych-protilatek-proti-koronaviru-sars-cov-2-u-senioru-z-domova-brevnice-125513>

GAO, Wentao et al. Effects of a SARS-associated coronavirus vaccine in monkeys. *The Lancet* [online]. 2003, **362**(9399), 1895–1896 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0140-6736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(03)14962-8

- HAMMING, I. et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *The Journal of Pathology* [online]. 2004, **203**(2), 631–637 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0022-3417. Dostupné z: doi:10.1002/path.1570
- HON, J. S. M. et al. Clinical presentations and outcome of severe acute respiratory syndrome in children. *The Lancet* [online]. 2003, **361**(9370), 1701–1703 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0140-6736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(03)13364-8
- HUI, David Shu-Ceong, Zumla ZUMLA. Severe Acute Respiratory Syndrome Historical, Epidemiologic, and Clinical Features. *Infectious Disease clinics of North America* [online]. 2019, **33**(4) [cit. 2021-03-10]. ISSN 0891-5520. Dostupné z: doi:10.1016/j.idc.2019.07.001
- HULTGREN, C. et al. The antiviral compound ribavirin modulates the T helper (Th) 1/Th2 subset balance in hepatitis B and C virus-specific immune responses. *Journal of General Virology* [online]. 1998, **79**(10), 2381–2391 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0022-1317. Dostupné z: doi:10.1099/0022-1317-79-10-2381
- CHAN, Paul K. S. et al. Immunofluorescence Assay for Serologic Diagnosis of SARS. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 2004, **10**(3), 530–532 [cit. 2021-03-10]. ISSN 1080-6040. Dostupné z: doi:10.3201/eid1003.030493
- CHARLTON, Carmen L. et al. Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: Viruses Causing Acute Respiratory Tract Infections. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2019, **32**(1), e00042-18 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.00042-18
- CHEN, Y. et al. A sensitive and specific antigen detection assay for Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Emerging microbes & infections* [online]. 2015, **4**(1), 1–5 [cit. 2021-03-10]. ISSN 2222-1751. Dostupné z: doi:10.1038/emi.2015.26
- CHENG, Y. et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. *European journal of microbiology & infectious diseases* [online]. 2005, **24**(1), 44–46 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0934-9723. Dostupné z: doi:10.1007/s10096-004-1271-9
- INNOVITA. *Instructions for 2019-nCoV Ab test (colloidal gold)*. 2020.
- JANOUT, Vladimír. *Klinická epidemiologie-nedílná součást klinických rozhodovacích procesů*. Praha: Grada, 1998, 152 s. ISBN 80-716-9353-7.
- JI, Tianxing et al. Detection of COVID-19: A review of the current literature and future perspectives. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2020, **166** [cit. 2021-03-10]. ISSN 0956-5663. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2020.112455
- JINDRÁK, Vlastimil et al. Prevence a kontrola infekce COVID-19 v bytových zařízeních pro seniory. In: *SZÚ* [online]. 2020 [cit. 2021-03-10]. Dostupné z:

<http://www.szu.cz/tema/prevence/prevence-a-kontrola-infekce-covid-19-v-pobytovych-zarizenich>

KIM, J. M. et al. Identification of Coronavirus Isolated from a Patient in Korea with COVID-19. *Osong Public Health and Research Perspectives* [online]. 2020, **11**(1), 3–7 [cit. 2021-03-10]. ISSN 2210-9099. Dostupné z: doi:10.24171/j.phrp.2020.11.1.02

KREJSEK, Jan, Otakar KOPECKÝ. *Klinická imunologie*. Hradec Králové: Nucleus HK, 2004, 941 s. ISBN 80-86225-50-x.

LAM, Tommy Tsan-Yuk et al. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature* [online]. 2020, **583**(7815), 282–285 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/s41586-020-2169-0

LEE, Nelson et al. A Major Outbreak of Severe Acute Respiratory Syndrome in Hong Kong. *New England Journal of Medicine* [online]. 2003, **348**(20), 1986–1994 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa030685

LEE, Nelson et al. Anti-SARS-CoV IgG response in relation to disease severity of severe acute respiratory syndrome. *Journal of Clinical Virology* [online]. 2006, **35**(2), 179–184 [cit. 2021-03-10]. ISSN 1386-6532. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcv.2005.07.005

LEUNG, G. M. et al. Seroprevalence of IgG antibodies to SARS-coronavirus in asymptomatic or subclinical population groups. *Epidemiology and Infection* [online]. 2006, **134**(2), 211–221 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0950-2688. Dostupné z: doi:10.1017/S0950268805004826

LI, Gang et al. Profile of Specific Antibodies to the SARS-Associated Coronavirus. *New England Journal of Medicine* [online]. 2003, **349**(5), 508–509 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM200307313490520

LITZMAN, Jiří. *Základy vyšetření v klinické imunologii*. Brno: Masarykova univerzita, 2007. ISBN 978-80-210-4227-8.

LIU, Xuemei et al. Comparative Analysis of Clinical Characteristics, Imaging and Laboratory Findings of Different Age Groups with COVID-19. *Indian Journal of Medical Microbiology* [online]. 2020, **38**(1), 87–93 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0255-0857. Dostupné z: doi:10.4103/ijmm.IJMM\_20\_133

LOEFFELHOLZ, Michael J. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections – the state of the art. *Emerging microbes & infections* [online]. 2020, **9**(1), 747–756 [cit. 2021-03-10]. ISSN 2222-1751. Dostupné z: doi:10.1080/22221751.2020.1745095

LOU, Bin et al. Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection after exposure and post-symptom onset. *European Respiratory Journal* [online]. 2020, **56**(2) [cit. 2021-03-10]. ISSN 0903-1936. Dostupné z: doi:10.1183/13993003.00763-2020

LUO, Huanle et al. The Characterization of Disease Severity Associated IgG Subclasses Response in COVID-19 Patients. *Frontiers in Immunology* [online]. 2021, **12** [cit. 2021-04-17]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2021.632814

MAIR-JENKINS, John et al. The Effectiveness of Convalescent Plasma and Hyperimmune Immunoglobulin for the Treatment of Severe Acute Respiratory Infections of Viral Etiology: A Systematic Review and Exploratory Meta-analysis. *Journal of Infectious Diseases* [online]. 2014, **211**(1), 80–90 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0022-1899. Dostupné z: doi:10.1093/infdis/jiu396

MATHURIA, J. P. et al. Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 – A review of current methods. *Journal of infection and public health* [online]. 2020, **13**(7), 901–905 [cit. 2021-03-10]. ISSN 1876-0341. Dostupné z: doi:10.1016/j.jiph.2020.06.005

MEHTA, Puja et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet* [online]. 2020, **395**(10229), 1033–1034 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0140-6736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(20)30628-0

MEMISH, Ziad A. et al. Respiratory Tract Samples, Viral Load, and Genome Fraction Yield in Patients With Middle East Respiratory Syndrome. *Journal of Infectious Diseases* [online]. 2014, **210**(10), 1590–1594 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0022-1899. Dostupné z: doi:10.1093/infdis/jiu292

MZČR. COVID-19. *Onemocnění aktuálně od MZČR* [online]. 2021 [cit. 2021-04-13]. Dostupné z: <https://onemocneni-aktualne.mzcr.cz/covid-19/prehledy-khs?fbclid=IwAR1IEaxCGCRTxQIhLjiEPLenewOVHF6icsFLaMepmJ3KGdbc0rfJJ8Jbe84>

PARK, Wan Beom et al. Kinetics of Serologic Responses to MERS Coronavirus Infection in Humans, South Korea. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 2015, **21**(12), 2186–2189 [cit. 2021-03-10]. ISSN 1080-6040. Dostupné z: doi:10.3201/eid2112.151421

PAULES, Catharine I., Hilary D. MARSTON, Anthony S. FAUCI. Coronavirus Infections: More Than Just the Common Cold. *JAMA* [online]. 2020, **323**(8) [cit. 2021-03-10]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2020.0757

PEIRIS, J. S. M. et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *The Lancet* [online]. 2003a, **361**(9366), 1319–1325 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0140-6736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(03)13077-2

PEIRIS, J. S. M. et al. Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *The Lancet* [online]. 2003b, **361**(9371), 1767–1772 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0140-6736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(03)13412-5



- PIETROBON, Anna Julia et al. Immunosenescence and Inflammaging: Risk Factors of Severe COVID-19 in Older People. *Frontiers in Immunology* [online]. 2020, **11** [cit. 2021-03-10]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2020.579220
- POLAND, Gregory A. et al. SARS-CoV-2 Vaccine Development: Current Status. *Mayo clinic proceedings* [online]. 2020, **95**(10), 2172–2188 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0025-6196. Dostupné z: doi:10.1016/j.mayocp.2020.07.021
- PRUSS, Birgit M. Current State of the First COVID-19 Vaccines. *Vaccines* [online]. 2021, **9**(1) [cit. 2021-03-10]. ISSN 2076-393X. Dostupné z: doi:10.3390/vaccines9010030
- PRYMULA, Roman, Miroslav ŠPLIŇO. *SARS: syndrom akutního respiračního selhání*. Praha: Grada, 2006, 144 s. ISBN 80-247-1550-3.
- RABAAN, Ali A. et al. MERS-CoV: epidemiology, molecular dynamics, therapeutics, and future challenges. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials* [online]. 2021, **20**(8) [cit. 2021-03-10]. ISSN 1476-0711. Dostupné z: doi:10.1186/s12941-020-00414-7
- RATIA, Kiira et al. A noncovalent class of papain-like protease/deubiquitinase inhibitors blocks SARS virus replication. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2008, **105**(42), 16119–16124 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0805240105
- REBOLD, Nicholas et al. COVID-19: Before the Fall, An Evidence-Based Narrative Review of Treatment Options. *Infectious diseases and therapy* [online]. 2021, **10**(1), 93–113 [cit. 2021-03-10]. ISSN 2193-8229. Dostupné z: doi:10.1007/s40121-021-00399-6
- RÖLTGEN, Katharina et al. Defining the features and duration of antibody responses to SARS-CoV-2 infection associated with disease severity and outcome. *Science Immunology* [online]. 2020, **5**(54) [cit. 2021-04-10]. ISSN 2470-9468. Dostupné z: doi:10.1126/sciimmunol.abe0240
- SAHIN, Ugur et al. mRNA-based therapeutics — developing a new class of drugs. *Nature Reviews Drug Discovery* [online]. 2014, **13**(10), 759–780 [cit. 2021-03-10]. ISSN 1474-1776. Dostupné z: doi:10.1038/nrd4278
- SAMEERA, Al Johani, Ali H. HAJEER. MERS-CoV diagnosis: An update. *Journal of infection and public health* [online]. 2016, **9**(3), 216–219 [cit. 2021-03-10]. ISSN 1876-0341. Dostupné z: doi:10.1016/j.jiph.2016.04.005
- SETHURAMAN, Nandini, Sundararaj Stanleyraj JEREMIAH, Akihide RYO. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA* [online]. 2020, **323**(22), 2249–2251 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2020.8259

SHEAHAN, Timothy P. et al. Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses. *Science Translational Medicine* [online]. 2017, **9**(396) [cit. 2021-03-02]. ISSN 1946-6234. Dostupné z: doi:10.1126/scitranslmed.aal3653

SOO, Y. O. Y. et al. Retrospective comparison of convalescent plasma with continuing high-dose methylprednisolone treatment in SARS patients. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. 2004, **10**(7), 676–678 [cit. 2021-03-10]. ISSN 1198-743X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1469-0691.2004.00956.x

ŠIMEČKOVÁ, Eva et al. *Srovnávací průřezová studie séroprevalence protilátek proti SARS-CoV-2 v okresech Písek a Strakonice* [online]. 2020 [cit. 2021-04-10]. Dostupné z: [https://www.nemopisek.cz/media/ke\\_stazeni/StudiePrevalenceFINtext.pdf](https://www.nemopisek.cz/media/ke_stazeni/StudiePrevalenceFINtext.pdf)

ŠTEFAN, Marek et al. *COVID-19 diagnostika a léčba: Doporučený postup Společnosti infekčního lékařství ČLS JEP* [online]. 2021 [cit. 2021-4-30]. Dostupné z: [https://www.infekce.cz/Covid2019/DPcovid-19\\_SIL\\_0421.pdf](https://www.infekce.cz/Covid2019/DPcovid-19_SIL_0421.pdf)

TALEGHANI, Nastaran, Fariboz TAGHIPOUR. Diagnosis of COVID-19 for controlling the pandemic: A review of the state-of-the-art. *Biosensors and bioelectronics* [online]. 2021, **174** [cit. 2021-03-10]. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2020.112830

TAN, Emily L. C. et al. Inhibition of SARS Coronavirus Infection In Vitro with Clinically Approved Antiviral Drugs. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 2004, **10**(4), 581–586 [cit. 2021-03-10]. ISSN 1080-6040. Dostupné z: doi:10.3201/eid1004.030458

TANG, Fang et al. Lack of Peripheral Memory B Cell Responses in Recovered Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome: A Six-Year Follow-Up Study. *The Journal of Immunology* [online]. 2011, **186**(12), 7264–7268 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0022-1767. Dostupné z: doi:10.4049/jimmunol.0903490

TESTLINE. COVID-19 (SARS-CoV-2) IgG/IgM. *Vývoj, výroba a distribuce humánní a veterinární laboratorní diagnostiky: TestLine clinical diagnostics s.r.o.* [online]. 2020 [cit. 2021-03-02]. Dostupné z: [https://www.testlinecd.cz/file/1555/IFU\\_CZ\\_COVID19IgGIgM.pdf](https://www.testlinecd.cz/file/1555/IFU_CZ_COVID19IgGIgM.pdf)

TOMÁŠKOVÁ, Hana. *Základy biostatistiky*. Ostrava: Ostravská univerzita v Ostravě, Zdravotně sociální fakulta, 2007. ISBN 978-80-7368-464-8.

VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003, 495 s. ISBN 80-902-8966-5.

WANG, Yanan et al. Persistence of SARS-CoV-2-specific antibodies in COVID-19 patients. *International Immunopharmacology* [online]. 2021, **90** [cit. 2021-03-10]. ISSN 1567-5769. Dostupné z: doi:10.1016/j.intimp.2020.107271

WANG, Qihui et al. Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2. *Cell* [online]. 2020a, **181**(4), 894-904.e9 [cit. 2021-04-15]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2020.03.045

WANG, Ruichen et al. Emergence of SARS-like coronavirus poses new challenge in China. *Journal of Infection* [online]. 2020b, **80**(3), 350-371 [cit. 2021-04-18]. ISSN 01634453. Dostupné z: doi:10.1016/j.jinf.2020.01.017

WHO. Alert, verification and public health management of SARS in the post-outbreak period. *WHO: World health organization* [online]. 2003 [cit. 2021-03-01]. Dostupné z: <https://www.who.int/csr/sars/postoutbreak/en/>

WHO. Diagnostic testing for SARS-CoV-2. In: *World health organization* [online]. 2020d [cit. 2021-03-01]. Dostupné z: <https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>

WHO. Laboratory testing for Middle East respiratory syndrome coronavirus – revised. In: *World health organization* [online]. 2018 [cit. 2021-02-02]. Dostupné z: <https://www.who.int/publications/i/item/10665-259952>

WHO. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). *World health organization* [online]. 2019 [cit. 2021-02-02]. Dostupné z: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov))

WHO. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). In: *World health organization* [online]. 2020b [cit. 2021-03-01]. Dostupné z: [https://www.who.int/publications/i/item/report-of-the-who-china-joint-mission-on-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications/i/item/report-of-the-who-china-joint-mission-on-coronavirus-disease-2019-(covid-19))

WHO. Severe acute respiratory syndrome (SARS). *World health organization* [online]. 2021 [cit. 2021-03-15]. Dostupné z: <https://www.who.int/health-topics/severe-acute-respiratory-syndrome>

WHO. WHO-convened Global Study of the Origins of SARS-CoV-2: Terms of References for the China Part. In: *World health organization* [online]. 2020a [cit. 2021-03-01]. Dostupné z: <https://www.who.int/publications/m/item/who-convened-global-study-of-the-origins-of-sars-cov-2>

WHO. WHO COVID-19 Case definition. In: *World health organization* [online]. 2020c [cit. 2021-03-01]. Dostupné z: [https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Surveillance\\_Case\\_Definition-2020.2](https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Surveillance_Case_Definition-2020.2)

WHO. WHO Target product profiles for COVID-19 vaccines. In: *World health organization* [online]. 2020e [cit. 2021-03-25]. Dostupné z: <https://www.who.int/publications/m/item/who-target-product-profiles-for-covid-19-vaccines>

YAO, Tian-Tian et al. A systematic review of lopinavir therapy for SARS coronavirus and MERS coronavirus—A possible reference for coronavirus disease-19 treatment option. *Journal of Medical Virology* [online]. 2020, **92**(6), 556–563 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0146-6615. Dostupné z: doi:10.1002/jmv.25729

ZHANG, Ling-Pu et al. Focus on the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2). *Future Microbiology* [online]. 2020, **15**(10), 905–918 [cit. 2021-03-10]. ISSN 1746-0913. Dostupné z: doi:10.2217/fmb-2020-0063

ZHANG, Wanying et al. Clinical characteristics and infectivity of asymptomatic carriers of SARS-CoV-2 (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine* [online]. 2020, **21** [cit. 2021-03-10]. ISSN 1792-0981. Dostupné z: doi:10.3892/etm.2020.9547

ZHAO, Z. et al. Description and clinical treatment of an early outbreak of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangzhou, PR China. *Journal of Medical Microbiology* [online]. 2003, **52**(8), 715–720 [cit. 2021-03-10]. ISSN 0022-2615. Dostupné z: doi:10.1099/jmm.0.05320-0

ZHENG, Shufa et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. *BMJ* [online]. 2020, **32**(1) [cit. 2021-03-10]. ISSN 1756-1833. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.m1443