

**Univerzita Karlova  
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory  
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Martin Mejsnar**

Netopýři-virová Pandořina skříňka  
Bats-viral Pandora's box

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: RNDr. Martina Saláková, Ph.D.

Praha 2018

## **Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 7.5.2018

Martin Mejsnar

Podpis

## **Poděkování:**

Zde bych chtěl poděkovat své školitelce RNDr. Martině Salákové, Ph.D. za cenné rady a vstřícnost během vypracování mé bakalářské práce. Dále bych rád poděkoval své partnerce a svojí rodině za neutuchající podporu při celém studiu.

## Abstrakt

Netopýři, jako velmi stará vývojová větev savců, jsou významnými rezervoáry virových patogenů a v mnoha případech jsou i vědecky doloženými přenašeči daných virů. Tyto viry se stále více dostávají do povědomí, hlavně díky zvětšující se lidské populaci, a tedy častějšímu kontaktu lidí a netopýřů. V této práci se budu zabývat jen některými zoonózami, které rod *Chiroptera* přenáší, vybral jsem je podle míry jejich vědeckého poznání a samozřejmě podle dopadu na lidskou společnost. Tato oblast je ale stále plná informací nejasných nebo zcela neobjevených, další výzkum je tudíž žádoucí. Základními metodami identifikace virů, které se používají pro výzkum nových virů, se zabývám v druhé části práce.

Klíčová slova: netopýři, virus, zoonózy, rezervoár, epidemie

## Abstract

Bats, as a very old order of mammals, are significant reservoirs of viral pathogens and in many cases are also scientifically proven carriers of the viruses. These viruses are becoming more and more known, mainly due to the growing human population and thus the frequent contact of humans and bats. In this work I will follow up only some zoonoses that the *Chiroptera* family carries and I selected them according to their scientific knowledge and, of course, the impact on human society. However, this area is still full of information unclear or completely unknown, so further research is desirable. The basic methods of virus identification that are used to investigate new viruses are discussed in the second part.

Key words: bats, virus, zoonosis, reservoir, epidemics

## Obsah

1	Úvod.....	1
2	Netopýři a viry.....	1
2.1	Netopýři – základní informace a vlastnosti.....	1
2.2	Imunitní systém netopýřů.....	2
2.3	Vztah mezi netopýři a viry .....	3
3	Viry.....	4
3.1	Obecné pojmy.....	4
3.2	Ebolavirus.....	5
3.2.1	Struktura viru, jeho genom a životní cyklus.....	5
3.2.2	Způsobované onemocnění, diagnostika a léčba .....	6
3.2.3	Případy vypuknutí Eboly ve světě.....	8
3.3	Marburgvirus.....	10
3.3.1	Struktura viru, jeho genom a životní cyklus.....	10
3.3.2	Způsobované onemocnění, diagnostika a léčba .....	11
3.3.3	Případy nákazy Marburgvirem ve světě .....	12
3.4	SARS-CoV .....	13
3.4.1	Struktura viru, jeho genom a životní cyklus.....	13
3.4.2	Způsobované onemocnění, diagnostika a léčba .....	14
3.4.3	Případy nákazy SARS-CoV ve světě.....	15
3.5	MERS-CoV .....	16
3.5.1	Struktura viru, jeho genom a životní cyklus.....	16
3.5.2	Způsobované onemocnění, diagnostika a léčba .....	17
3.5.3	Případy nákazy MERS-CoV ve světě.....	18
3.6	Hendra virus .....	18
3.6.1	Struktura viru, jeho genom a životní cyklus.....	18
3.6.2	Způsobované onemocnění, diagnostika a léčba .....	19
3.6.3	Případy nákazy ve světě .....	20
3.7	Nipah virus .....	21
3.7.1	Struktura viru, jeho genom a životní cyklus.....	21
3.7.2	Způsobované onemocnění, diagnostika a léčba .....	21
3.7.3	Případy nákazy ve světě .....	22
3.8	Rabies virus.....	23
	Struktura viru, jeho genom a životní cyklus.....	23

3.8.1	Způsobované onemocnění, diagnostika a léčba .....	24
3.8.2	Případy nákazy ve světě .....	26
4	Metody použitelné na identifikaci virů u netopýrů .....	27
5	Závěr.....	27
6	Použitá literatura.....	28

## Seznam použitých zkratek

ACE2 – Angiotensin converting enzyme 2, Angiotensin-konvertující enzym 2

BEBOV – Bundibugyo ebolavirus

BLAST – Basic Local Alignment Search Tool, Nástroj pro porovnávání různých sekvencí

BNSP333-S – Rabies recombinant vaccine, Rekombinantní vakcína proti vzteklině

CDC – Centers for Disease Control and Prevention, Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí

CIEBOV – Cote d' Ivoire ebolavirus

DFA – Direct fluorescent antibody, Přímá protilátková fluorescence

DNA – Deoxyribonucleic acid, Deoxyribonukleová kyselina

DPP4 – Dipeptidyl peptidase-4, Dipeptidyl peptidáza 4

EBOV – Ebola virus

ELISA – Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, ImmunoSorbent esej spojená s enzymem

EVEs – Endogenous viral elements, Endogenní virové elementy

GP – Glykoprotein

HDCV – Human diploid cell culture rabies vaccine, Lidská vakcína proti vzteklině pocházející s diploidních buněk

HeV – Hendra virus

HeVsG – Recombinant Hendra virus glycoprotein-based subunit vaccine, Rekombinantní vakcína založená na glykoproteinu Hendra viru

HKU4 – Tylonycteris bat coronavirus HKU4, Netopýří koronavirus HKU4

HPIV3 – Human parainfluenza virus type 3, Lidský virus parainfluenzy typ 3

ICTV – International Committee on Taxonomy of Viruses, Mezinárodní výbor pro taxonomii virů

IgG – Immunoglobulin G, Imunoglobulin G

IgM – Immunoglobulin M, Imunoglobulin M

INF – Interferon

JAK1 – Janus kinase 1, Janus kináza 1

JEV – Japanese encephalitis virus, Virus japonské encefalitidy

LLOV – Lloviu virus

MARV – Marburg virus

MERS – Middle East respiratory syndrome, Blízkovýchodní respirační syndrom

MERS-CoV – MERS Coronavirus

mRNA – Messenger RNA, Informační RNA

MVA – Modified vaccine virus ankara, Modifikovaná vakcína ankara viru

MVD – Marburgvirus disease, Nemoc způsobená Marburgvirem

nAChR – Nicotinic acetylcholine receptor, Nikotický acetylcholinový receptor

NCBI – National Center for Biotechnology Information, Národní centrum pro biotechnologické informace

NiV – Nipah virus

NP – Nukleoprotein

NSG – Next Generation Sequencing, Sekvenování nové generace

Nsp – Nonstructural protein, Nestrukturní protein

ORF – Open reading frame, Otevřený čtecí rámeček

PCEC – Purified Chick Embryo Cell vaccine, Vakcína z purifikovaná v kuřecích embryích

PCR – Polymerase Chain Reaction, Polymerázová řetězová reakce

pol – Polymerase, Polymeráza

PVRV – Purified Vero cell vaccine, Vakcína purifikovaná ve Vero buňkách

RABV – Rabies virus

RAVV – Ravn virus

RdRp – RNA dependent RNA polymerase, RNA dependentní RNA polymeráza

REBOV – Reston ebolavirus

RIG – Rabies immunoglobulin, Imunoglobulin proti vzteklině

RNA – Ribonucleic acid, Ribonukleová kyselina

RNP – Ribonucleoprotein complex, Ribonukleoproteinový komplex

RTC – Replication – transcription complex, Replikačně – transkripční komplex

RT-PCR – Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, Reverzní transkripce polymerázová řetězová reakce

rVSV – Recombinant vesicular stomatitis virus, Rekombinovaný virus vezikulární stomatitidy

SARS – Severe acute respiratory syndrome, Těžký akutní respirační syndrom

SARS-CoV – SARS Coronavirus

SEBOV – Sudan ebolavirus

sGP – Soluble glycoprotein, Rozpustný glykoprotein

siRNA – Small interfering RNA, Malé interferující TRNA



SOLiD – Sequencing by Oligonucleotide Ligation and Detection, Sekvenování díky ligaci oligonukleotidů a jejich detekci

STAT1 – Signal transducer and activator of transcription 1, Přenašeč signálu a aktivátor transkripce 1

ssGP – Small soluble glycoprotein, Malý rozpustný glykoprotein

ssRNA – Single strand RNA, Jednovláknová RNA

UNFPA – United Nations Population Fund, Populační fond Spojených národů

USA – United States of America, Spojené státy americké

VLPs – Virus like particles, Viru podobné částice

VP24 – Viral protein 24, Virový protein 24

VP30 – Viral protein 30, Virový protein 30

VP35 – Viral protein 35, Virový protein 35

VP40 – Viral protein 40, Virový protein 40

WHO – World Health Organization, Světová zdravotnická organizace

ZEBOV – Zaire ebolavirus

# 1 Úvod

Viry jsou intracelulární patogeny, které infikují všechny živé organismy včetně některých virů. Ke své replikaci potřebují proteosyntetický aparát. Šíří se abiotickými vlivy (vzduch, kapaliny) nebo jsou, jako v našem případě, přenášeny jinými organismy.

V poslední době je patrný stále větší vědecký zájem o řád savců *Chiroptera*, jehož zástupci jsou velmi významní přenašeči a rezervoáry virových patogenů. Tato skutečnost je dána specifickými vlastnostmi netopýřů jako je schopnost létat, dlouhověkost, způsob hnízdění a koevolucí virů a netopýřího imunitního systému (Calisher et al. 2006). Viry, kterými se budu zabývat, jsou zoonózami, tedy nemocemi, jež jsou přenosné mezi zvířaty a lidmi. U většiny těchto virů existuje riziko vyvolání epidemie, u některých i pandemie, a proto je tato oblast předmětem usilovného výzkumu. Mezi viry s potenciálem způsobit nákazu většího rozměru jistě patří zástupci rodiny *Filoviridae*: Ebola a Marburg, zástupci rodiny *Paramyxoviridae*: Hendra a Nipah a rodina *Coronaviridae*, zastoupená SARS a MERS. Dalším významným patogenem je virus vztekliny patřící do rodiny *Rhabdoviridae*, jež způsobuje onemocnění, které bez léčení skoro vždy končí smrtí, ale díky dostupné vakcíně nemá takový potenciál způsobit pandemii.

Cílem této bakalářské práce je přehledně shrnout doposud známé informace o nejdůležitějších zoonózách přenášených netopýři. Budu se zabývat strukturou viru, projevy nákazy, dopadem onemocnění na člověka a také na lidskou populaci jako celek. V závěrečné části zpracuji dnes používanou metodiku pro identifikaci virů.

## 2 Netopýři a viry

### 2.1 Netopýři – základní informace a vlastnosti

Netopýři jsou savci z řádu *Chiroptera* (letouni), ke kterému patří více než 1100 druhů a který je druhým nejpočetnějším po řádu *Rodentia* (hlodavci) ze třídy savců (*Mammalia*). Řád *Chiroptera* je vývojově velmi starý a dělí se na dva podřády; *Megachiroptera* (kaloni) a početnější podřád *Microchiroptera* (netopýři). Zatímco kaloni jsou výlučně býložravci, živí se buď ovocem, nektarem nebo pylem, tak netopýří druhy se většinou živí hmyzem. Žijí na všech kontinentech kromě Antarktidy, největší diversita druhů je v deštných pralesech. Jejich výskyt závisí především na možnosti v dané lokalitě hnízdit a získávat potravu, kaloni (*Megachiroptera*) preferují deštné lesy s množstvím rostlin, zatímco většina druhů netopýřů (*Microchiroptera*) se živí hmyzem, a proto jsou pro ně výhodné například blízké vodní plochy. Jsou to společenští tvorové a většinou žijí v koloniích čítajících i několik set tisíc jedinců hnízdících pospolu, jejich hnízdiště se mění v průběhu roku (Vaughan, et al., 2000).

Netopýři mají mnoho vlastností, které je odlišují od ostatních savců. I to přispívá k jejich neobyčejnému vztahu s viry. Jednou z nich je jejich dlouhověkost, někteří jedinci se dožívají až 30 let. Jejich dlouhověkost je s největší pravděpodobností docílena kombinací jejich tělesné hmotnosti, schopností hibernovat, reprodukční strategií a života v jeskyních (Wilkinson and South 2002).

Schopnost létat je základní vlastnost, která je odlišuje od ostatních savců. Jejich přední končetiny jsou modifikovány podobně jako u ptáků, místo peří ale mají mezi tělem a předními končetinami napnutou kůži (Vaughan, et al., 2000).

Echolokace je charakteristický znak podřádu *Megachiroptera*, jedná se o proces prozkoumávání okolí pomocí zvuku a netopýřům slouží k orientaci. Vydávané zvuky jsou ultrasonické (velice vysoké frekvence) a netopýři je vytváří kontrakcemi hrtanu, ozvěny následně přijímají speciálně tvarovanými ušima (Jones 2005).

Schopnost hibernace je vlastní jen některým druhům a nastává v zimních měsících, kdy tímto způsobem přečkávají dobu, kdy jsou nepříznivé podmínky a bylo by složité hledat potravu. Netopýři během hibernace celkově snižují svůj metabolismus, tělesnou teplotu a srdeční tep (Geiser 2004). Ukazuje se, že i hibernace a strnulost má velký podíl na soužití netopýřů s viry (O'Shea et al. 2014).

## 2.2 Imunitní systém netopýřů

O imunitním systému netopýřů, nebo spíše o jeho interakci s virovými patogeny, je stále známo velice málo a je předmětem současného výzkumu. Imunitní systém netopýřů je podobný ostatním savcům, v některých aspektech se ale odlišuje, a právě tyto odlišnosti jsou zodpovědné za unikátní soužití netopýřů a virů. Zmíním zde tři základní pohledy na tuto problematiku.

První z hypotéz je založena na tom, že létání netopýřům zvyšuje hladinu metabolismu a také tělesnou teplotu na takovou míru, která jejich tělo uvede do stavu podobného horečce. Při tomto stavu je pak imunitní systém nastartován a může proti virové infekci zakročit okamžitě, podpořen vysokou teplotou, která virům v těle netopýřů také nesvědčí (O'Shea et al. 2014).

Další přístup k této problematice se zabývá interferonovým systémem, který funguje jako první obrana proti virovým patogenům. Studie Zhou a kolegů ukázala, že interferon typu 1 (INF 1) je v netopýřích buňkách exprimován průběžně. Tedy bez závislosti na iniciaci virem a v buňkách je tudíž stále dostatečné množství INF 1 a dalších proteinů, jejichž exprese je indukovaná INF, na zásah proti případné infekci (Zhou et al. 2016). INF tak představuje jedinečný systém protivirové obrany a schopností netopýřů a virů koexistovat, neboť viry si vytvořili strategii, jak tuto obranu

překonat. Například Ebolavirus inhibuje INF indukci genů protivirové obrany, konkrétně používá virový strukturální protein VP24 pro inhibici buněčného transkripčního faktoru STAT 1.

Poslední přístup k imunitnímu systému netopýřů, který zmíním, se týká variability těžkých řetězců imunoglobulinů, již mají netopýři opět odlišnou od ostatních savců. Studie na jedincích netopýřů druhu *Myotis lucifugus* ukazuje, že tento druh disponuje 234 V segmenty, nejméně 13 J segmenty a patrně mnoho D segmenty těžkých řetězců imunoglobulinů. Oproti tomu člověk má pouze 87 V segmentů, 9 J segmentů a 30 D segmentů. Díky velkému množství kombinací VDJ segmentů těžkých řetězců dosahuje netopýří imunitní systém velké afinity B buněk k virovým antigenům (Bratsch et al. 2011).

Viry, kterým jsou netopýři hostitelem si tak vyvinuly specifickou odpověď na netopýří imunitní systém. Při nakažení jiného hostitele pak může být tato odpověď pro hostitelův imunitní systém devastující. Je možné, že právě tato skutečnost může za vysokou patogenitu některých virů u jiných hostitelů než netopýřů (Schountz et al. 2017).

### 2.3 Vztah mezi netopýři a viry

Netopýři jako řád jsou velmi stará vývojová větev savců a jejich koevoluce s viry probíhá po miliony let. Výzkum ukazuje, že ze soužití hostitele a patogenu do jisté míry benefitují oba a je zde vytvořena jakási symbióza. Virus v netopýřovi přežívá, obvykle mu neškodí, a na oplátku hostiteli poskytuje pomoc při obraně proti jiným virům či bakteriím. Podobnou symbiózu lze pozorovat i u člověka, a je s největší pravděpodobností dána snahou viru být v hostiteli jediným patogenem a nekonkurovat si s jiným (Barton et al. 2007). Důkazem podporujícím vzájemné ovlivňování během evoluce je nález filovirových elementů (EVEs) v netopýřím genomu (Katzourakis and Gifford 2010).

U netopýřů bylo identifikováno na 200 různých virů z 27 čeledí. Většina virových infekcí, které u lidí nebo zvířat způsobují těžká onemocnění, se u netopýřů většinou neprojeví žádnými klinickými příznaky, přestože je možné dokázat že netopýři byli nebo jsou virem infikováni. Což tedy nasvědčuje tomu, že netopýři jsou pravděpodobně jejich rezervoárem, tedy organismem, ve kterém virus přežívá, množí se a je jím přenášen na další hostitele. Toto ukazují například následující studie. V případě studií přirozené nebo experimentální infekce u netopýřů virem Ebolavirus Zaire, byl u kaloňů virus přítomný v tělních orgánech a v krvi, žádný z nich ale neměl patrné příznaky onemocnění (Swanepoel et al. 1996). Studie Williamsona a jeho kolegů ukazuje, že netopýři druhu *Pteropus poliocephalus* byli experimentálně infikováni virem Hendra, ve většině případů nejevili žádné příznaky onemocnění, ačkoli se u nich vyvinuly protilátky (Williamson et al. 1998).

V případě koronavirů, které v dnešní době infikují celou řadu živočichů, byla zjištěna vysoká genetická příbuznost a vše nasvědčuje tomu, že všechny dnes známé kmeny koronavirů se vyčlenily z předků, jejichž rezervoárem jsou a v minulosti byli právě netopýři (Vijaykrishna et al. 2007).

Jen velmi málo virů, které infikují netopýry jsou pro ně patogenní. Příkladem je Lloviu virus (LLOV), nový druh rodiny *Filoviridae*, objevený v roce 2010 v netopýřích jeskyních ve Španělsku, tento virus je novým druhem rodiny *Filoviridae*. Byl nalezen v tělech jedinců druhu *Miniopterus schreibersii*, a vše nasvědčuje tomu, že na rozdíl od jiných filovirů infikujících netopýry je Lloviu virus pro netopýry velmi patogenní a způsobuje masivní úhyny netopýřích populací v jeskyních Francie, Španělska a Portugalska (Negredo et al. 2011).

## 3 Viry

### 3.1 Obecné pojmy

Viry jsou definovány jako intracelulární parazité, potřebující ke své replikaci proteosyntetický aparát. Jsou to bezpochyby nejrozšířenější entity na planetě Zemi, předpoklady mluví až o  $10^{31}$  virů (Breitbart and Rohwer 2005). Nacházejí se i na těch nejnehostinějších místech, byly nalezeny například v alkalických jezerech s pH okolo 10 nebo vodách, jejichž teplota přesahuje 80 °C, kde infikují extremofilní bakterie a arché (Jiang et al. 2004), (Prangishvili and Garrett 2004). Jejich velikost je také velice rozmanitá, od těch obrovských – Pithovirus, s délkou 1,5  $\mu\text{m}$  a šířkou 0,5  $\mu\text{m}$ , k nejmenším nalezeným virům – Circovirus, s velikostí virionu přibližně 20 nm (Abergel, Legendre, and Claverie 2015), (Afolabi et al. 2017). Viry jsou složeny z genomu a kapsidy, popřípadě dalších proteinů. Mohou být neobalené nebo obalené, přičemž fosfolipidový obal pochází od hostitelské buňky. Virový genom může být buď ve formě DNA nebo RNA, která je jednovláknová nebo dvouvláknová, s pozitivní nebo negativní polaritou. Na těchto vlastnostech je založena Baltimorova klasifikace virů.

Vznik a evoluce virů není zcela jasná, podle mnohých studií ale existují stejně dlouho jako existují buňky (Iyer et al. 2006). Tři hypotézy, které se snaží vysvětlit vznik virů jsou: regresivní teorie, teorie vzniku z částí buňky a teorie vzniku současně s buňkami.

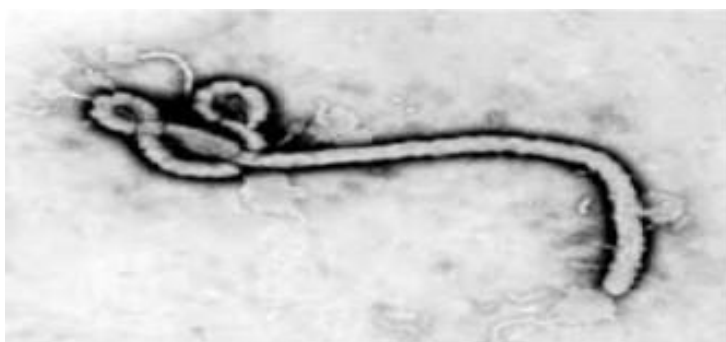
Všechny viry, o nichž budu v této práci psát, jsou ssRNA viry, a až na Rabies virus jsou považovány za extrémně nebezpečné, spadají do nejvyšší kategorie biohazardu (kategorie 4). Jejich výzkum je tedy možný jen v laboratořích k tomu vybavených a je tedy o to složitější.

## 3.2 Ebolavirus

### 3.2.1 Struktura viru, jeho genom a životní cyklus

Ebolavirus (EBOV) je virus patřící do řádu *Mononegavirales*, rodiny *Filoviridae*, rodu *Ebolavirus*. Je rozlišováno 5 druhů EBOV: *Zaire ebolavirus* (ZEBOV), *Sudan ebolavirus* (SEBOV), *Reston ebolavirus* (REBOV), *Cote d' Ivoire ebolavirus* (CIEBOV) a *Bundibugyo ebolavirus* (BEBOV) (Kuhn et al. 2013).

Strukturálně je Ebolavirus virem obaleným, s nesegmentovaným RNA genomem s negativní polaritou. Jeho virové částice mají helikální strukturu a jsou 80 nm široké a 1400 nm dlouhé, jsou charakteristicky tvarované a daly jméno celé rodině *Filoviridae* (Baron 1996) Obrázek č.1. Fosfolipidový obal pochází z hostitelské buňky, EBOV do něj jen přidává vlastní glykoprotein (Takada and Kawaoka 2001). Uvnitř virové kapsidy se nachází virový genom obalený nukleoproteinem (NP) a další strukturní proteiny.



Obrázek č.1  
Virová částice EBOV pod elektronovým mikroskopem  
Převzato z (Rewar and Mirdha 2014)

Délka genomu EBOV je přibližně 19 000 párů bází a jeho molekulová hmotnost je  $4,2 \times 10^6$  Daltonů (Leroy, Gonzalez, and Baize 2011). EBOV genom se skládá ze sedmi genů: gen pro nukleoprotein (NP), pro strukturní protein VP35, pro strukturní protein VP40, pro glykoprotein (GP), pro strukturní protein VP30, pro strukturní protein VP24, a gen kódující RNA-dependentní RNA polymerázu (L) (Feldmann et al. 1994). NP je hlavní protein tvořící nukleokapsidu a obaluje genomovou RNA. Protein VP35 je nezbytný při skládání nukleokapsidy a má důležitou funkci ve virové obraně proti imunitnímu systému hostitele, funguje jako inhibitor interferonové odpovědi typu 1 (INF 1) (Basler et al. 2000), (Huang et al. 2002). VP40 plní funkci matrixového proteinu a je esenciální při sestavování nových virových partikulí (Panchal et al. 2003). VP24 je protein, který spolupracuje s NP a VP35 na sbalení genomu a složení nukleokapsidy. Také blokuje interferonovou dráhu tím, že váže se na buněčný transkripční faktor STAT 1 a blokuje jeho signalizaci (Zhang et al. 2012), (Banadyga et al. 2017). VP30 je důležitým transkripčním faktorem (Mühlberger et al. 1999). NP, VP30, VP35 a L protein jsou nezbytné pro syntézu virového

genomu. Protein GP se skládá ze dvou glykoproteinových podjednotek GP1 a GP2, které vznikají rozdělením prekurzoru GP0. GP protein zprostředkovává vstup viru do buňky vazbou na buněčné receptory a fúzí s buněčnou membránou (Sanchez et al. 1996). Z genu pro GP vznikají díky transkripční editaci také dva nestrukturní proteiny: sGP a ssGP. SGP je tvořen ve velkém množství a je sekretován z hostitelské buňky ven, jeho funkcí je s největší pravděpodobností potlačení mnoha aspektů imunitního systému hostitele, jako je obrana povrchových proteinů GP1 a GP2 proti protilátkám, nebo navozování apoptózy u lymfocytů (Volchkov et al. 1995), (Sanchez et al. 1996). Funkce ssGP nejsou zatím zcela jasné.

Životní cyklus EBOV začíná vniknutím do hostitelské buňky makropinózou zprostředkovanou připojením virových GP na buněčné receptory (Kuhn et al. 2006). Po endocytóze musí dojít k úniku z endozómu, což je umožněno navázáním GP1 na endozomální membránu, GP2 následně vytvoří strukturu nutnou k fúzi viru s membránou endozómu (Weissenhorn et al. 1998). Po uvolnění RNA genomu do cytoplazmy probíhá transkripce a replikace. Ke skládání nových virových částic dochází po vytvoření dostatečného množství NP, který se váže na RNA genom a poté je transportován na plazmatickou membránu. Na procesu složení a vypučení se podílí i další virové proteiny, např. VP40 a GP (Kolesnikova et al. 2004).

### **3.2.2 Způsobované onemocnění, diagnostika a léčba**

Onemocnění způsobované EBOV se nazývá Ebola. Rezervoárem a zdrojem nákazy jsou zvířecí druhy, hlavně netopýři, prokázané infekce EBOV jsou například u druhů *Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti* a *Myonycteris torquata*. Při rozšíření nákazy EBOV v Kongu roku 2007 byla dokázána masivní konzumace netopýřů a vše nasvědčuje tomu, že právě to nakažlo vyvolalo (Leroy et al. 2005), (Leroy et al. 2009). Hostitelem mohou být kromě lidí také primáty a další savci (Groseth, Feldmann, and Strong 2007). Ze zvířat na lidi se virus přenáší například konzumací nakaženého zvířete. Mezi lidmi se virus nejčastěji přenáší blízkým kontaktem s tělními tekutinami nakaženého jedince (Bausch et al. 2007).

Druhy EBOV se v příznacích a projevech mohou v detailech lišit, z důvodu povahy této práce budu popisovat všechny druhy EBOV souhrnně. Inkubační doba u lidí se pohybuje v rozmezí 2 až 21 dní a závisí na způsobu nákazy virem buď ze zvířete, nebo z jiného člověka. Prvními příznaky bývají horečka, svalové křeče, artritida, vyrážka, nevolnost, bolest hlavy a bolest v krku. Tyto příznaky se s časem vyvíjejí v těžké zažívací problémy, krvácení, otoky, bolest na hrudníku a tyto symptomy mohou přejít až do hypovolemického šoku a multiorgánového selhání. Většina pacientů také vykazuje neurologické problémy. Následná hemoragická horečka je charakterizována velkými ztrátami krve hlavně z gastrointestinálního systému a také z nosu a pusy, v konečném

stádiu onemocnění přechází v koma a smrt. Podle druhu EBOV se mortalita pohybuje od 50 % až do 90 % (Pattyn 1978).

Ebolavirus v lidském těle primárně infikuje dendritické buňky a makrofágy, jejich poškozením pak dochází k narušení adaptivní odpovědi imunitního systému (Mahanty et al. 2003).

K diagnostice se v dřívějších letech používala hlavně metoda ELISA (z angl. Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), detekující protilátky (Ksiazek et al. 1999). Do dnešního dne ji ale již z většiny nahradila metoda RT-PCR (z angl. Reverse transcription polymerase chain reaction), která využívá nukleonových kyselin viru k jeho detekci, a která je mnohem přesnější a specifitější (Sanchez et al. 1999). Dnes už je tato metoda komerčně dostupná a jako nejlepší se jeví kit Lifetech L (Cherpillod et al. 2016). V minulosti velmi používaná metoda izolace virů v tkáňových kulturách a následné identifikování elektronovým mikroskopem se dnes již nepoužívá, hlavně kvůli velkému biohazardu při manipulaci s těmito viry a časové náročnosti (Broadhurst, Brooks, and Pollock 2016). V dnešní době je hlavní prioritou vytvoření setu RT-PCR na detekci EBOV mimo laboratoř, měl by být co nejjednodušší, s co nejmenším biohazardem a s možností detekce viru v co nejkratším čase (WHO | Urgently Needed: Rapid, Sensitive, Safe and Simple Ebola Diagnostic Tests n.d.).

Základní léčba spočívá v rehydrataci, podávání výživy a analgetik, důležité jsou i krevní transfuze a doplňování elektrolytů (Schieffelin et al. 2014). V případě sekundárních infekcí samozřejmě podání léků mířených proti jejich původcům. Použití širokospektrálního antivirotika Ribavirinu, používaného například pro léčbu Hepatitidy C (*Flaviviridae*) nebo i virů způsobujících hemorhagické horečky jako Lhasa virus (*Arenaviridae*), nemělo při pokusech in vitro a ani při zkouškách na zvířatech požadovaný účinek proti EBOV a tudíž se pro léčbu Eboly nepoužívá (Huggins 1989). Další antivirotikum Favipiravir, používané proti mnoha RNA virům, se u myšího modelu jeví jako účinné, u lidí jsou ale výsledky rozporuplné (Oestereich et al. 2014), (Sissoko et al. 2016).

Nejllepší možnou prevencí je poskytnutí potřebného zdravotnického materiálu a ochrany pro zdravotnický personál. Nezbytnou součástí je také zlepšení informovanosti obyvatelstva a změnění jejich mentality ohledně nemocí.

V poslední době se vývoj nových léčiv a vakcín proti EBOV ohromně urychlil, hlavně z obav, aby se už neopakovala podobná epidemie jako propuknutí nákazy ZEBOV z roku 2014 v západní Africe. Současný výzkum se zabývá vytvořením vakcín mimo jiné založených na rekombinantních vírech nebo na proteinových komplexech (Search of: Ebola Vaccine - List Results - ClinicalTrials.Gov n.d.). V současnosti je ve fázi klinického testování 7 možných vakcín, z nichž nejslibněji vypadá rVSV-ZEBOV (Wang et al. 2016). Jedná se o živou, atenuovanou vakcínu, která vznikla z rekombinovaného viru vezikulární stomatitidy (rVSV) a ZEBOV. Funguje na principu,



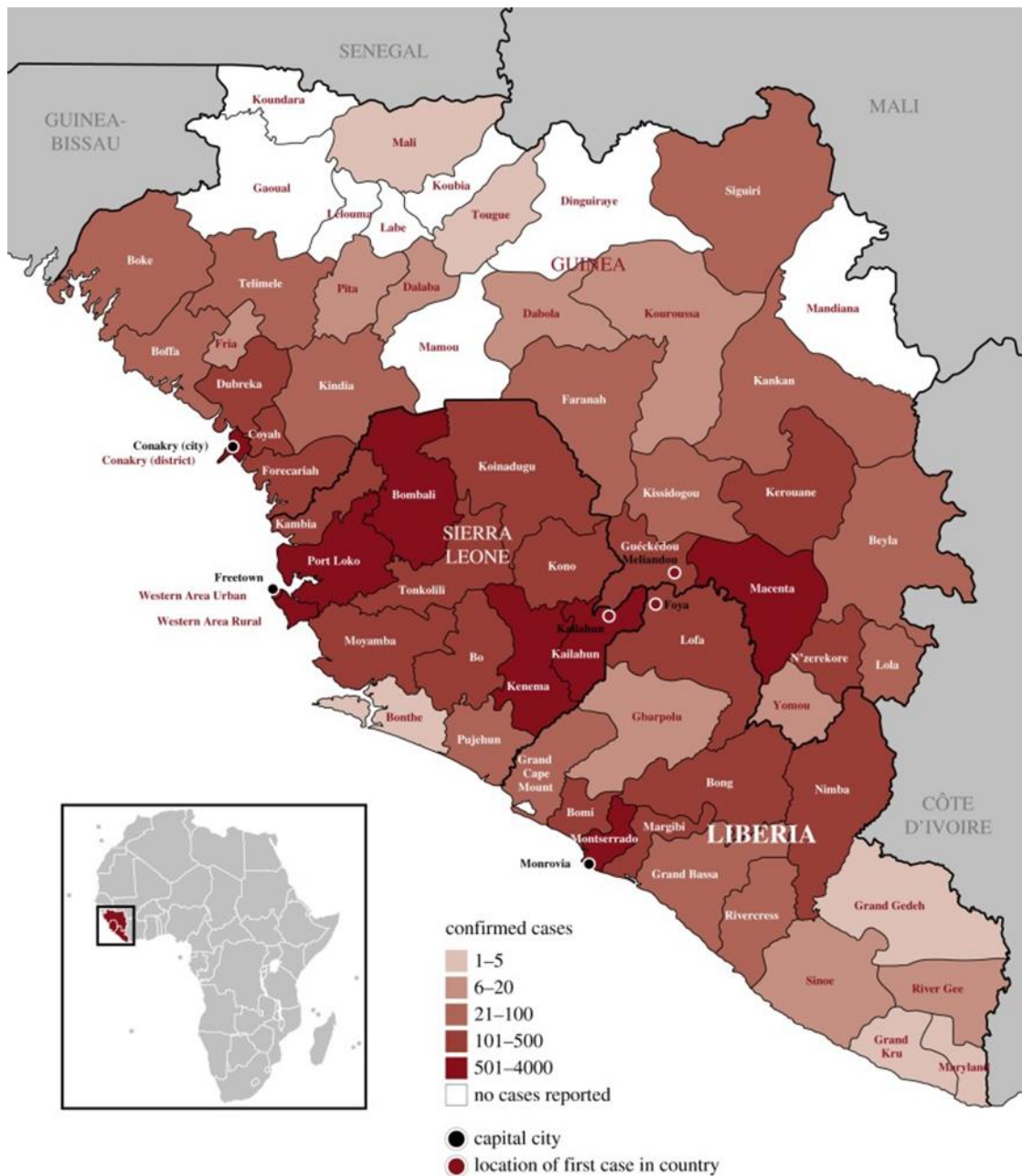
kdy rVSV je upravena tak, aby exprimovala povrchový GP ZEBOV, protože právě ten je hlavním cílem pro adaptivní imunitní systém (Jones et al. 2005). Tato vakcína již byla použita na asi 800 lidech, a to při propuknutí nákazy v Demokratické republice Kongo v roce 2017, nákazu se podařilo zastavit, to však ještě nepotvrzuje účinnost vakcíny. Nyní se nachází ve třetí fázi testování (WHO | WHO Coordinating Vaccination of Contacts to Contain Ebola Flare-up in Guinea n.d.). Další slibně vypadající vakcíny, které jsou ale teprve na začátku testování jsou Ebola VLPs (virus-like particles) vakcína a HPIV3 (human parainfluenza virus type 3) vakcína (Wang et al. 2016). Za zmínku určitě stojí také Zmapp, možné léčivo, jenž je směsicí monoklonálních protilátek vázajících se na EBOV GP protein. Tato látka již byla na lidech vyzkoušena, není však potvrzena její účinnost (Davidson et al. 2015), (Group 2016). Výzkum se nyní zaměřuje na možné využití RNA interference (siRNA) nebo použití antisense oligonukleotidů proti virové mRNA EBOV (Geisbert et al. 2006), (Warfield et al. 2006).

### 3.2.3 Případy vypuknutí Eboly ve světě

První případ nákazy Ebolavirem byl vlastně jeho objevem, stalo se tak 27.června 1976 ve státě Súdán, odtud název kmen *Sudan ebolavirus*. Nákaza propukla pravděpodobně v továrně na vlnu ve městě Nzara. Z 284 případů přežilo 151 jedinců, mortalita byla tedy 53 %. Následnému rozšíření nákazy bylo zabráněno izolací nakažených jedinců (Ebola Haemorrhagic Fever in Sudan, 1976 1978). Další nákaza propukla v září roku 1976 a jednalo se o oblasti dnešní Demokratické republiky Kongo, která se dříve jmenovala Zair, od toho pojmenování *Zaire ebolavirus* (House 2014). Nákaza měla velmi vysokou mortalitu (88 %) z 280 případů přežilo jen 38 lidí, což bylo do jisté míry dáno také tím, že se jednalo o zcela nový virus. Rozšiřování nákazy bylo opět zabráněno izolací nakažených jedinců (Ebola Haemorrhagic Fever in Zaire, 1976 1978). Později se potvrdilo, že i přes podobný průběh onemocnění šlo o dva různé druhy EBOV.

Další větší případy nákazy se objevily v letech 1995 a 2007 opět v Demokratické republice Kongo (ZEBOV) a v roce 2000 v Ugandě (SEBOV), případy byly dosti podobné událostem z roku 1976. Zatím největší nákaza EBOV, jednalo se při ní o Ebolavirus Zaire, proběhla mezi lety 2014 až 2016 v západní Africe Obrázek č.2. Epidemie začala v Guinee a rozšířila se do Libérie a Siery Leone, v menší míře byly zasaženy i sousední státy a izolované případy se vyskytly v Evropě a USA. Nákaza mimo státy Afriky byla importovaná a byla ihned zachycena bez dalšího šíření. 28 616 lidí bylo nakaženo, z toho 11 310 pacientů nákaze podlehl, mortalita byla 40 % (2014 Ebola Outbreak in West Africa - Case Counts | Ebola Hemorrhagic Fever | CDC n.d.). Situace byla zhoršená hlavně tím v jaké oblasti k ní došlo, lidé případy nehlásili a celková nevybavenost zdravotnické péče a pomalé reakce vlád daných států způsobily prohloubení krize (Ebola: Pushed to the Limit and Beyond n.d.). Epidemie zasáhla ve velké míře do péče o těhotné ženy, jelikož jsou podle všeho náchylnější k nákaze EBOV. Pracovníci nemocnic s nimi odmítali pracovat, dokud se

neprokázalo, že nejsou nakaženy, z tohoto důvodu volilo mnoho žen porod mimo zdravotnické zařízení. Agentura UNFPA oznámila, že v souvislosti s epidemií EBOV přišlo o život na 120 000 těhotných žen (Check Hayden 2015).



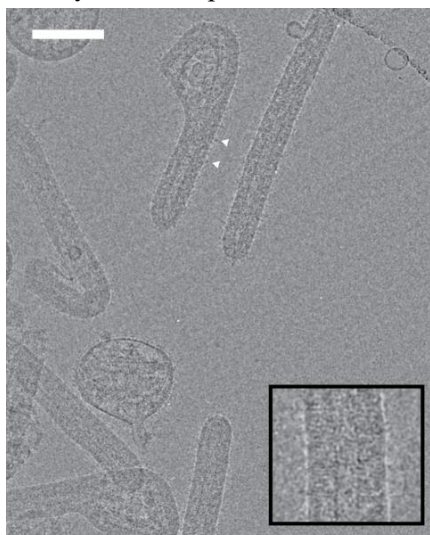
Obrázek č.2  
 Mapa zobrazující epidemii viru ZEBOV z let 2014-2016 v západní Africe  
 Převzato z (Check Hayden 2015)

### 3.3 Marburgvirus

#### 3.3.1 Struktura viru, jeho genom a životní cyklus

Nákazy Marburgvirem se nevyskytují tak často jako EBOV, z tohoto důvodu není tolik prozkoumán. Marburgvirus (MARV) patří stejně jako EBOV k řádu *Mononegavirales*, rodiny *Filoviridae*, rod *Marburgvirus*. Kromě MARV existuje ještě jeden virus rodu *Marburgvirus*, jedná se o Ravn virus (RAVV) (Bukreyev et al. 2014).

Strukturou je MARV podobný EBOV, jedná se o obalený virus s nesegmentovaným RNA genomem s negativní polaritou. Délka virových částic je přibližně 900 nm a šířka přibližně 90 nm (Bharat et al. 2011). Částice jsou helikální struktury a jsou tvořeny z nukleoproteinu v němž je skrytý RNA genom, kapsida je obalena fosfolipidovou membránou hostitelského původu s trimery virového proteinu GP Marburgviru (Feldmann et al. 1991) Obrázek č.3.



Obrázek č.3  
Snímek z kryo-elektronové tomografie Marburgviru, měřítko 100nm  
Převzato z (Bharat et al. 2011)

Genom MARV tvoří 19 100 párů bází s molekulovou hmotností přibližně  $4,2 \times 10^5$  Daltonu (Feldmann et al. 1992). Je složen ze 7 monocistroních genů: gen pro nukleoprotein (NP), strukturní protein (VP35), strukturní protein (VP40), glykoprotein (GP), strukturní protein (VP30), strukturní protein (VP24), a gen pro virovou RNA dependentní RNA polymerázu (L). Proteiny NP, VP30, VP35 a L tvoří nukleokapsidu, protein NP se váže na RNA a obaluje ji. VP35 také funguje jako kofaktor polymerázy a spolu s L proteinem tvoří komplex RNA-dependentní RNA polymerázy (Becker et al. 1998). VP40 a VP24 tvoří matrix virionu, VP40 je protein hrající důležitou roli při pučení virových částic z buňky (Kolesnikova Larissa et al. 2011). Také je represorem imunitní obrany hostitele, konkrétně inhibuje Jak1 kinázu a tím zabraňuje INF signalizaci (Valmas and Basler 2011). Protein VP24 je důležitý pro skládání nukleokapsidy a

regulaci replikace virového genomu (Bamberg et al. 2005), (Wenigenrath et al. 2010). GP se skládá z podjednotek GP1 a GP2, a je vkládán do virového obalu, kde slouží k přichycování a fúzi s buňkami hostitele (Feldmann et al. 1991).

Životní cyklus MARV je velmi podobný životnímu cyklu EBOV (Manicassamy et al. 2007).

### **3.3.2 Způsobované onemocnění, diagnostika a léčba**

Marburgvirus způsobuje onemocnění nazývané Marburgvirus nemoc (MVD). Jeho přírodním rezervoárem jsou netopyři, hlavním hostitelem jsou jedinci druhu *Rousettus aegyptiacus*, nemusí být ale jediní (Towner et al. 2007). Hostiteli MARV jsou lidé, primáti a někteří další savci. Nákaza lidí od zvířat je možná po blízkém kontaktu s nakaženým zvířetem, mezi lidmi se nákaza přenáší hlavně tělními tekutinami, např. krví, močí, nebo ejakulátem (Martini 1973).

Inkubační doba se při nákaze MARV pohybuje mezi 2 až 26 dny, závisí přitom na mnoha faktorech, například na způsobu nákazy (Pavlin 2014). Symptomy jsou podobné až stejné s nákazou Ebolavirem. První příznaky jsou podobné chřipce, jako je horečka, nevolnost a bolest hlavy, krku a zad. S postupujícím časem se objevují symptomy jako střevní problémy a zvracení a mohou se objevit i duševní poruchy. Později se může objevit vyrážka, problémy s dýcháním a hemoragické příznaky jako krvácení z trávicího systému, nosu a úst. V konečném stádiu nemoci nastává smrt, způsobená šokem nebo multiorgánovým selháním (Smith et al. 1982), (Knust et al. 2015).

Primárními buňkami, které MARV napadá jsou makrofágy, což vede k narušení funkcí imunitního systému. Dále také napadá hepatocyty, při onemocnění MARV je obvykle patrná nekróza jater (Geisbert and Jaax 1998).

Klinická diagnostika bývá na začátku onemocnění velmi obtížná kvůli neurčitým symptomům. Používané molekulární diagnostické metody jsou hlavně ELISA a RT-PCR. Stejně jako u EBOV již dnes převažuje diagnostika pomocí RT-PCR, jež je spolehlivější a specifitější (Weidmann, Mühlberger, and Hufert 2004).

Hlavní léčbou je stále bohužel jen rehydratace, výživa a podpora organismu, v případě potřeby léčba sekundárních infekcí. Stejně jako u EBOV není použití Ribavirinu účinné.

Prevence je možné docílit zlepšením vybavenosti zdravotnických zařízení: možnost rychlé diagnostiky, oddělená lůžka pro možné případy nákazy, ochrana personálu. Důležitá je samozřejmě také informovanost obyvatelstva, která je hlavně v Africe mizivá.

Jako možná vakcína se zatím nejlépe jeví VLPs (virus-like particles) obsahující proteiny GP a VP40 MARV. Při testech na prasatech vakcína poskytovala plnou ochranu proti infekci MARV (Warfield et al. 2004). Při dalším testování, tentokrát na myších, vakcína indukovala imunitní odpověď (Gai et al. 2017). Další vakcínou, již v 1. fázi klinického testování je DNA vakcína, jež kóduje GP MARV – druh Angola. Zatím byla jen potvrzena netoxičnost této vakcíny a další testování musí následovat (Sarwar et al. 2015).

### 3.3.3 Případy nákazy Maburgvirem ve světě

MARV se poprvé objevil v srpnu roku 1967 v laboratoři v německém městě Marburg, od něho název Marburgvirus. Další města, v nichž se nákaza objevila byla Frankfurt a Bělehrad, případy spolu souvisely. Samotný Marburgvirus se do Německa dostal v opicích druhu *Chlorocebus aethiops* dopravených z Ugandy a vědci se nakazili při pitvě právě těchto opic. Jelikož v té době nebyl MARV známý, pacienti nebyli izolováni a virus se rozšířil dohromady na 32 jedinců. Pacienti byli nejprve testováni na leptospirózu, ta se ale nepotvrdila, a následně byl pomocí elektronového mikroskopu 20. listopadu 1967 identifikován MARV. Mortalita této nákazy byla 22 % (Slenczka 1999).

Další případy byly ojedinělé a s největší pravděpodobností způsobeny vstupy do jeskyní obývaných nakaženými netopýry (Johnson et al. 1996). Byly také zaznamenány dva případy nákazy v ruských laboratořích, ze dvou nakažených jedinců jeden nepřežil (Nikiforov et al. 1994).

V roce 1998 propukla do té doby nejrozsáhlejší nákaza MARV, stalo se tak ve vesnici Durba v Demokratické republice Kongo. Nákaza pocházela ze zlatých dolů, ve kterých se nacházeli netopýři. Zemřelo 128 lidí ze 154 nakažených, mortalita byla vysoká 83 % (WHO | Marburg Haemorrhagic Fever - Fact Sheet n.d.). Další, a ještě rozsáhlejší nákaza se objevila mezi lety 2004 a 2005 v Angole. Výjimečná byla způsobovanou mortalitou 88 % (WHO | Marburg Haemorrhagic Fever in Angola – Update 25 n.d.). Při obou těchto nálezích bylo identifikováno více genetických variant MARV (Bausch et al. 2006), (Towner et al. 2006).

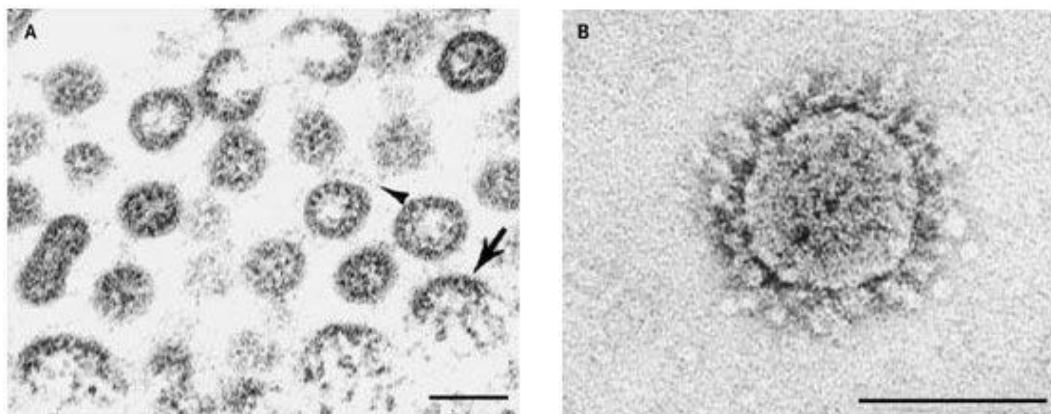
Poslední zaznamenané případy nákazy jsou ze 17. října roku 2017 z Ugandy. Od objevení MARV bylo nakaženo 472 lidí, mortalita je 84 % (WHO | Marburg Virus Disease – Uganda and Kenya n.d.), (WHO | Marburg Haemorrhagic Fever - Fact Sheet n.d.).

## 3.4 SARS-CoV

### 3.4.1 Struktura viru, jeho genom a životní cyklus

SARS-CoV neboli SARS – coronavirus je virus patřící do řádu *Nidovirales*, rodiny *Coronaviridae*, rodu *Betacoronavirus* (Human SARS Coronavirus (SARS-CoV) (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus) n.d.). Koronaviry, které získaly své jméno díky svým charakteristickým porchovým glykoproteinům se dělí na 4 rody  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  a všechny mají poměrně velké genomy (Adams, King, and Carstens 2013).

SARS-CoV je obaleným virem se nesegmentovaným, jednovláknovým RNA genomem s pozitivní polaritou (Rota et al. 2003). Virové částice o průměru 80 až 140 nm se skládají z helikální kapsidy a svrchního obalu hostitelského původu s inkorporovanými virovými proteiny (Ksiazek et al. 2003) Obrázek č.4 a č.5.



Obrázek č.4 a č.5

A - virové částice SARS-CoV u membrán endoplazmatického retikula, měřítko 100 nm

B - detail virové částice SARS-CoV, měřítko 100 nm

Převzato z (Ksiazek et al. 2003)

SARS-CoV genom má délku 29 727 párů bází a je tvořen jedenácti otevřenými čtecími rámci. Z něj se kódují proteiny: polyprotein pro RNA dependentní RNA polymerázy (pol), povrchový protein (S), obalový protein (E), membránový protein (M), protein nukleokapsidy (N) a několik menších nestrukturních proteinů (Holmes and Enjuanes 2003), (Rota et al. 2003). SARS-CoV kóduje dvě RNA dependentní RNA polymerázy (RdRp), které společně s několika malými nestrukturními proteiny tvoří replikačně transkripční komplexy (RTC) (Imbert et al. 2006), (te Velthuis, van den Worm, and Snijder 2012). Povrchový S protein slouží viru ke vstupu do hostitelské buňky. Je tvořen dvěma podjednotkami S1 a S2, které jsou spojeny fúzním peptidem a které vytváří charakteristické, 20 až 40 nm velké trimerní struktury (Bosch et al. 2003). Protein E je integrovaný membránový protein a je nezbytný při skládání a pučení virových částic z buňky (Vennema et al. 1996). Protein E také zvyšuje permeabilitu buněčných membrán tím, že samovolně

vytváří pentamerní iontové kanály, což je nezbytné pro virovou patogenitu (Wilson et al. 2004). Membránový protein M je důležitý při skládání virových partikulí (Armstrong et al. 1984), (Fleming et al. 1989). Nukleoprotein N je nezbytný pro zahájení kompletace virových částic a samozřejmě slouží jako kapsida (Rota et al. 2003).

Životní cyklus SARS-CoV začíná navázáním S proteinu na buněčný receptor ACE2 (angiotensin – converting enzyme 2) (Li et al. 2003). Tento receptor se ve velkém množství nachází např. v plicní alveolární tkáni (Hamming et al. 2004). SARS-CoV vstupuje do buněk dvěma odlišnými cestami: endocytózou, uvolnění do cytoplasmy je poté zprostředkováno katepsiny, které aktivují S protein, nebo přímo po vazbě na receptor za pomoci extracelulárních proteáz, jako je transmembránová proteáza serin 2 (TMPRSS2) (Matsuyama et al. 2005). Po uvolnění virového genomu nejprve dochází k translaci RdRp a dalších nestrukturních proteinů. Syntéza virové RNA pak začíná složením replikačně – transkripčního komplexu (RTC), který vytváří genomové a subgenomové RNA přes meziproduct RNA s negativní polaritou řetězce (Pan et al. 2008). Subgenomová RNA slouží jako mRNA pro translaci virových proteinů. Skládání virových částic začíná navázáním nukleoproteinu na genomovou RNA, následně se v endoplazmatickém retikulu a Golgiho aparátu připojují obalové proteiny M,E,S a virová částice vypučí z buňky (Garoff, Hewson, and Opstelten 1998), (Mortola Eduardo and Roy Polly 2004).

### **3.4.2 Způsobované onemocnění, diagnostika a léčba**

SARS-CoV způsobuje onemocnění nazývané SARS (těžký akutní respirační syndrom). Rezervoárem viru jsou jedinci netopýrů druhu *Rhinolophus sinicus* (Lau et al. 2005), (Li et al. 2005). Nákaza ze zvířat může nastat po manipulaci s nebo po pozření nakaženého živočicha, jako v případě nákazy z cibetek v Číně, které ale byly pouze mezihostitelem SARS-CoV (Wang et al. 2005). Mezi lidmi se virus přenáší nejčastěji kontaktem s kapkami hlenů nebo slin vznikajících při kašlání (Seto et al. 2003).

Inkubační doba SARS se pohybuje mezi 2 až 12 dny (Wai-ming Chan et al. 2004). První symptomy se podobají chřipkovému onemocnění, jako horečka, bolest hlavy a únava. Následně se objevuje bolest hrudníku a dušnost, méně často mohou také nastat střevní problémy. Respirační symptomy se mohou dále zhoršovat a může docházet k zánětům plic, v nejhorším případě nastává smrt (Booth et al. 2003), (Poutanen et al. 2003).

Virus primárně napadá buňky plicního epitelu a makrofágy (Nakajima et al. 2003), (Cheung et al. 2004). Patrné virové částice se nalézají i v monocytech a lymfocytech. V plicní tkáni virus indukuje spojování buněk do syncytií a kolapsy alveolů (Gu et al. 2005).

Jelikož symptomy nákazy SARS-CoV nejsou alespoň ze začátku specifické, k diagnostice se používají molekulární metody jako RT-PCR (Poon et al. 2004). Lze použít i metodu ELISA založenou na detekci protilátek proti SARS-CoV proteinu nukleokapsidy (NP) (Che et al. 2004).

Hlavní prevencí rozšiřování nákazy SARS-CoV by měla být kvůli jeho relativně snadnému přenosu mezi lidmi izolace nakažených jedinců. Ochrana nemocničního personálu by měla být samozřejmá. Pokud se nákaza již rozšířila, lidé by měli nosit roušky pro ochranu sebe i okolí.

Hlavní léčba se zakládá na podpoře organismu a obraně proti sekundárním infekcím. Uvažovalo se o použití antivirotika Ribavirinu, testy ale prokázaly převahu škodlivosti kvůli jeho toxicitě oproti přínosu v boji proti SARS-CoV (Stockman, Bellamy, and Garner 2006).

Jako vakcína by mohla sloužit atenuovaná verze SARS-CoV, která je zbavena částí genu pro protein E a genu pro nsp1. Při testech na myších tato experimentální vakcína zaručovala obranu proti SARS-CoV (Jimenez-Guardeño et al. 2015). Další zkoumanou možností je indukce imunitní odpovědi proti SARS-CoV v nosní sliznici pomocí DNA vakcíny složené z genu pro N protein SARS-CoV a nanočásticím z chitonasanu (Raghuwanshi et al. 2012).

### **3.4.3 Případy nákazy SARS-CoV ve světě**

První a jediná potvrzená nákaza SARS-CoV proběhla mezi lety 2002 a 2003, případy byly hlášeny z více než dvou desítek zemí. Nákaza vypukla v Číně v provincii Guangdong (Zhong et al. 2003). První případy se objevily ve městech Foshan a Heyuan. Čína tyto informace držela v tajnosti až do začátku února 2003, kdy nákazu ohlásila WHO (Huang 2004). Nákaza se následně šířila do dalších zemí, první případy mimo Čínu se objevili ve Vietnamu, Singapuru, Hongkongu a Kanadě (Skowronski et al. 2006). K šíření nákazy velice přispěla letecká doprava, případy ale byly většinou rychle zachyceny. Prvním kdo zkoumal nové onemocnění byl doktor Carlo Urbani, který pracoval v lékařském zařízení v Hanoji, zemřel 29. března 2003 (Reilley et al. 2003). Genom SARS-CoV byl poprvé identifikován v kanadských laboratořích v dubnu 2003. Jako zdroj nákazy byly označeny cibetky a později netopýři (Li et al. 2005). 5. července byla pohotovost kvůli SARS zrušena (WHO | Update 95 - SARS: Chronology of a Serial Killer n.d.:95). Celkově bylo při epidemii nakaženo 8096 lidí z 26 zemí světa a 774 jich nákaze podlehl (WHO | Summary of Probable SARS Cases with Onset of Illness from 1 November 2002 to 31 July 2003 n.d.).

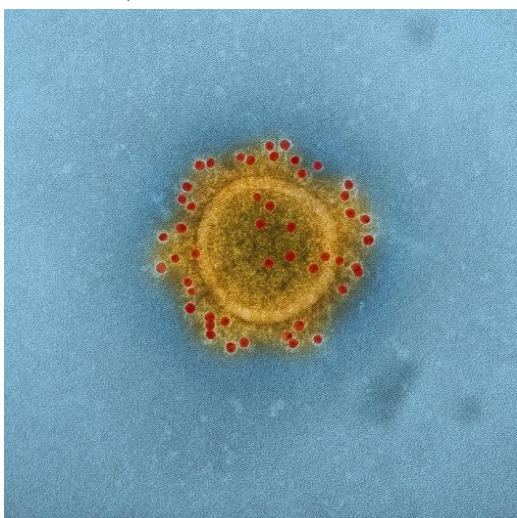


## 3.5 MERS-CoV

### 3.5.1 Struktura viru, jeho genom a životní cyklus

MERS-CoV je virem patřícím do řádu *Nidovirales*, rodiny *Coronaviridae*, rodu *Betacoronavirus*. Je to tedy virus příbuzný SARS-CoV, při porovnávání jejich genomů za použití programu BLAST (BLAST, NCBI) byla jejich podobnost 66 %.

MERS-CoV je virem obaleným s nesegmentovaným, jednovláknovým RNA genomem s pozitivní polaritou (van Boheemen et al. 2012). Jeho virové částice jsou 80 až 130 nm velké (Park et al. 2016) Obrázek č.6.



Obrázek č.6

Snímek MERS-CoV s navázanými protilátkami

Převzato z (MERS and SARS | NIH: National Institute of Allergy and Infectious Diseases n.d.)

Genom MERS-CoV tvoří 30 119 párů bází a skládá se z nejméně 10 otevřených čtecích rámců (ORF) (van Boheemen et al. 2012). MERS-CoV genom má obvyklou strukturu koronavirů, skládá se z genů: gen pro polyprotein RdRp (pol), gen pro povrchový protein (S), pro obalový protein (E), pro membránový protein (M) a pro nukleokapsidový protein (N) (Masters 2006). Z jeho genomu se také kóduje 5 menších nestruturních proteinů (van Boheemen et al. 2012). Replikázový komplex je tvořen dvěma RNA dependentními RNA polymerázami a několika nestruturními proteiny (nsp) (Thiel et al. 2003). Nsp se podílí např. při skládání kapsidy nebo na obraně proti imunitnímu systému buňky (Menachery et al. 2017). S protein se skládá z podjednotek S1, která obsahuje vazebnou doménu, a S2, která zajišťuje fúzi s membránou (Raj et al. 2013). Protein E je důležitý pro dopravu a skládání virových částic na membráně buňky a jejich pučení z buňky ven (Surya et al. 2015). Protein M je transmembránový glykoprotein, je důležitý pro sestavení virové částice a dokáže také umlčovat interferonovou odpověď imunitního systému (Yang et al. 2013), (Siu et al. 2014). Nukleoprotein N zahajuje skládání kapsidy navázáním na RNA genom MERS-CoV a transportuje ho na plazmatickou membránu (Narayanan et al. 2003).

Životní cyklus MERS-CoV je velmi podobný SARS-CoV, receptorem povrchového proteinu je u MERS-CoV DPP4 (dipeptidyl peptidase 4) (Raj et al. 2013).

### 3.5.2 Způsobované onemocnění, diagnostika a léčba

MERS-CoV způsobuje onemocnění MERS (Middle East respiratory syndrome). Rezervoár viru není zcela jasný, velkým kandidátem jsou ale netopýři, u nichž se našly koronaviry s podobným genomem (Ithete et al. 2013). Například netopýří virus HKU4 používá stejný buněčný receptor jako MERS-CoV, a to DPP4 (Yang et al. 2014). Nákazy ze zvířat jsou potvrzené v případě velbloudů, lidé se mohou nakazit z velbloudích výkalů, slin nebo mléka (Azhar et al. 2014), (Reusken et al. 2014). Mezi lidmi se virus přenáší blízkým kontaktem, hlavně kapénkovou infekcí.

Inkubační doba se pohybuje mezi 2 a 16 dny, v průměru trvá 6,5 dne. Prvními symptomy jsou horečka, kašel, svalové křeče a zažívací problémy (Ki 2015). Symptomy se následně zhoršují, může docházet k zánětům plic, 35 % případů končí smrtí (WHO | Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) n.d.). Nástup nemoci je celkově rychlejší než u nákazy SARS-CoV, mortalita je vyšší u MERS-CoV.

Tkání, kterou MERS-CoV nejvíce a nejčastěji postihuje je plicní tkáň, kde způsobuje rozsáhlé poškození alveolů (Alsaad et al. 2018). Při MERS se také objevuje selhání ledvin, obvykle ve spojení s infekcí jaterních buněk (Eckerle et al. 2013).

Diagnostika podle příznaků je možná až v pozdějších stádiích nemoci. Dnes už se tedy využívají molekulární metody, z nichž nejpoužívanější je RT-PCR. Používá se hlavně detekce MERS-CoV Orf1 (otevřený čtecí rámec 1) jenž kóduje protein virové polymerázy (Guery et al. 2013).

Prevence platí stejná jako u SARS-CoV. Důležitá jsou opatření k zamezení přenosu MERS-CoV ze zvířat na člověka.

Jelikož léky přímo proti MERS-CoV zatím nejsou k dispozici, tak hlavní pomoc pacientům spočívá ve výživě organismu a obraně proti sekundární infekci. V akutní případech je možné použití umělé plicní ventilace nebo přistoupení k transplantaci ledviny (Zaki et al. 2012), (Guery et al. 2013). Při zkouškách na jedincích opic *Macaca mulatta* bylo použito léčivo Interferon- $\alpha$ 2b v kombinaci s Ribavirinem. Výsledky byly povzbudivé a tato léčiva by měla být dále otestována pro případné použití na lidech (Falzarano et al. 2013).

Přes 15 vakcín proti MERS-CoV je v současné době ve vývoji, žádná však ještě nebyla klinicky testována na lidech. Zde je pár příkladů vakcín určených pro člověka: Rekombinantní vakcína s názvem BNSP333-S. Jedná se o inaktivovaný virus vztekliny (RABV), který na svém

povrchu nese S protein MERS-CoV. Tato vakcína byla úspěšně testována na myších (Wirblich et al. 2017). Vakcína kterou vytváří společnost Novavax funguje na principu vakcinace MERS-CoV S nanočásticemi, experiment na myších potvrdil její funkčnost proti MERS-CoV (Coleman et al. 2017). Vakcína s názvem MVA je rekombinantní vakcínou vyrobenou z orthopoxviru a MERS-CoV a je primárně určena pro velbloudy (Haagmans et al. 2016).

### 3.5.3 Případy nákazy MERS-CoV ve světě

MERS-CoV se poprvé objevil 13.června roku 2012 ve městě Jeddah, Saudská Arábie. Původcem onemocnění byl označen nový neznámý coronavirus (Zaki et al. 2012). Mezi lety 2012-2014 se virus rozšířil do dalších zemí, velkou měrou se o to zasloužila letecká doprava (Bermingham et al. 2012), (Puzelli et al. 2013). Nákaza se nejvíce projevila na konci roku 2013 v Saudské Arábii a na konci roku 2014 v Jižní Koreji. Šíření viru se nepodařilo zcela zastavit a do dnešního dne bylo ohlášeno 2189 případů z 27 zemí světa, 782 lidí nemoci podlehl. MERS-CoV se vyznačuje vyšší mortalitou a infekčností než SARS-CoV, WHO ho považuje za jeden z patogenů, které jsou schopny vyvolat epidemie (WHO | Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) n.d.).

## 3.6 Hendra virus

### 3.6.1 Struktura viru, jeho genom a životní cyklus

Hendra virus (HeV) je virus patřící do řádu *Mononegavirales*, rodiny *Paramyxoviridae* a rodu *Henipavirus*, který se od ostatních zástupců *Paramyxoviridae* v mnohém odlišuje (Mayo 2002). Do rodu *Henipavirus* zatím spadají 3 viry – Hendra virus, Nipah virus a Cedar virus (Marsh et al. 2012).



Strukturálně je HeV virus obalený, s nesegmentovaným, jednovláknovým RNA genomem s negativní polaritou. Jeho virové částice mají helikální strukturu, jejich průměr je přibližně 18 nm, i s obalem má virus průměr 40 nm. Virové částice jsou složeny z nukleokapsidy, pomocných proteinů a fosfolipidové membrány s virovými proteiny (Hyatt et al. 2001) Obrázek č.7.

Obrázek č.7  
Snímek Hendra viru z elektronového mikroskopu  
Převzato z (Hanna et al. 2006)

Genom Hendra viru je tvořen z 18 234 nukleotidů (Wang et al. 2000). Skládá se z genů pro 6 základních virových proteinů: gen pro nukleoprotein (N), gen pro fosfoprotein (P), gen pro matrixový protein (M), gen pro povrchový protein (F), gen pro glykoprotein (G), a velký gen pro virovou RNA dependentní RNA polymerázu (L). Z genu pro fosfoprotein se díky regulacím genové exprese a editingu mRNA vytváří proteiny V, W a C (Wang et al. 1998). Protein N je hlavním proteinem kapsidy, obaluje RNA genom a vytváří nukleokapsidu. N protein při replikaci a enkapsidaci úzce spolupracuje s proteinem P (Y. P. Chan et al. 2004). Protein P je esenciálním kofaktorem virové RdRp (L), která zajišťuje iniciaci, elongaci a terminaci transkripce virové mRNA a replikaci virového RNA genomu. (Curran 1996). Matrixový protein M je důležitý pro skládání nových virových částic na plazmatické membráně a jejich pučení z buněk (Patch et al. 2008). F protein je prvním ze dvou membránových glykoproteinů HeV, jeho funkcí je navození fúze viru a buňky (Lamb 1993). Druhým glykoproteinem je protein G, ten zajišťuje navázání virových částic na buněčný receptor Ephrin-B2 (Bonaparte et al. 2005). Malý C protein je součástí virové nukleokapsidy, funkce zatím není zcela známa. Proteiny V a W mají důležitou funkci v patogenitě viru, fungují jako antagonisté buněčné INF odpovědi na virovou infekci (Rodriguez, Wang, and Horvath 2003), (Satterfield et al. 2015).

### **3.6.2 Způsobované onemocnění, diagnostika a léčba**

Hendra virus způsobuje onemocnění dýchacího systému a encefalitidu. Jeho potvrzeným rezervoárem jsou kaloni (*Megachripta*), hlavně druhy *Pteropus alecto* a *Pteropus conspicillatus* (Young et al. 1996). Nákaza se z netopýrů na lidi přenáší obvykle přes jiné živočichy, například koně nebo psy, kteří se nakazí z potravy kontaminované netopýřími výkaly (Barr et al. 2015). Virus se na lidi poté přenáší při práci s těmito infikovanými zvířaty. Přenos HeV mezi lidmi zatím zaznamenán nebyl. Jelikož bylo zdokumentováno zatím jen 7 případů nákazy HeV u člověka, všechny aspekty onemocnění nemusí být ještě známé.

Inkubační doba při onemocnění HeV se u člověka pohybuje od 7 do 16 dnů (Hanna et al. 2006), (Playford et al. 2010). Prvními příznaky jsou symptomy podobné chřipkovému onemocnění, jako bolest hlavy, horečka, kašel, únava a svalové křeče. Později se začínají projevovat neurologické problémy, může nastat selhání orgánů a smrt (Selvey et al. 1995). U koní se virus projevuje podobně, někteří koně jsou však asymptotičtí (Murray et al. 1995).

Primární tkání, na kterou HeV útočí jsou plíce, při rozvinutí onemocnění se v alveolech tvoří syncysytia, na plicích jsou patrné edémy a krvácení. V případě encefalitidy je napadána mozková tkáň (Selvey et al. 1995), (O'Sullivan et al. 1997).

Přesná diagnostika podle příznaků není možná, používají se proto molekulární metody. Používané metody jsou ELISA, která detekuje protilátky IgG a IgM, dále také metoda RT-PCR, při které se detekují molekuly RNA ze séra pacienta (Diagnosis | Hendra Virus Disease | CDC n.d.) (Playford et al. 2010).

Prevence nákazy je u tohoto relativně neznámého viru složitá. Jelikož není znám způsob přenosu u lidí, je potřeba chránit zdravotnický personál. Pokud se nákaza prokáže u zvířat, je nutná jejich izolace a ochrana pracovníků v areálu se zvířaty.

Základní léčbou je podpora organismu a ochrana proti sekundárním infekcím. V případě selhání orgánů je ustavena jejich náhrada. Přímá léčba je nyní možná jen širokospektrálními antiviroty jako například Ribavirin. Jeho účinnost je prokázána in vitro, u lidí byl při naze podáván, někteří z pacientů se uzdravili, není však prokázáno, že díky léčbě Ribavirinem (Treatment | Hendra Virus Disease | CDC n.d.), (Playford et al. 2010).

Zvířecí vakcína proti HeV již existuje, je používána od roku 2012, jedná se o HeVsG vakcínu, je složena z rekombinantní rozpustné verze HeV glykoproteinu GP. Výsledky zatím potvrzují její účinnost (Middleton et al. 2014). V Austrálii nyní běží klinické testování vakcíny na lidech.

### **3.6.3 Případy nákazy ve světě**

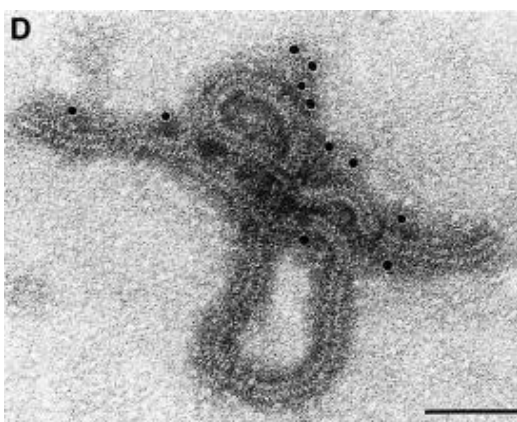
První lidský případ onemocnění HeV nastal v roce 1994 v Brisbane v Austrálii. Dva lidé se nakazili HeV při práci s nakaženými koňmi. Bilance této nákazy byla jeden mrtvý člověk a 14 mrtvých koní (Selvey et al. 1995). Všechny další dokumentované případy nákazy zvířat a lidí pocházejí opět jen z Austrálie, poslední případ lidské nákazy je z roku 2009. Dodnes bylo celkově nakaženo 7 lidí, z čehož 4 zemřeli, virus má zatím tedy mortalitu 57 % (Signs and Symptoms | Hendra Virus Disease | CDC n.d.) U koní bylo zatím potvrzeno 80 případů úmrtí po naze HeV (Fisheries 2015).

## 3.7 Nipah virus

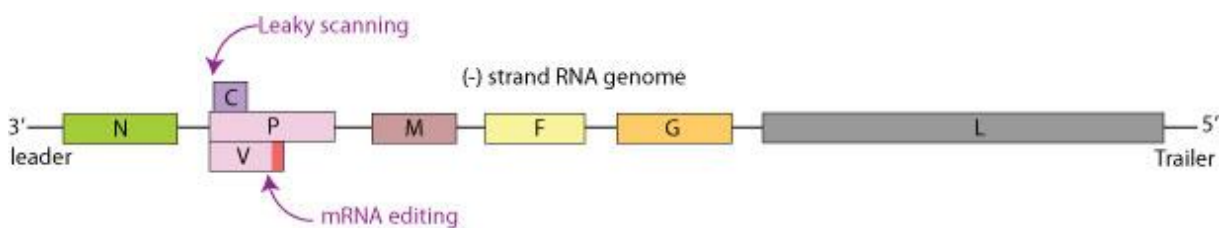
### 3.7.1 Struktura viru, jeho genom a životní cyklus

Nipah virus (NiV) patří stejně jako HeV do řádu *Mononegavirales*, rodiny *Paramyxoviridae* a rodu *Henipavirus* (Adams, King, and Carstens 2013).

Nipah virus je strukturálně velmi podobný Hendra viru, budu tedy řešit jen skutečnosti ve kterých se liší. Virové částice NiV jsou nepatrně větší než HeV, mají průměr přibližně 19 nm (Hyatt et al. 2001) Obrázek č.8. Genom NiV je složen z 18246 nukleotidů a je opět velmi podobný viru Hendra (Harcourt et al. 2001) Obrázek č.9.



Obrázek č.8  
Snímek kapsidy Nipah virus z elektronového mikroskopu, měřítko 100 nm  
Převzato z (Hyatt et al. 2001)



Obrázek č.9  
Struktura genomu rodu Henipavirus  
Převzato z ([https://viralzone.expasy.org/85?outline=all\\_by\\_species](https://viralzone.expasy.org/85?outline=all_by_species))

### 3.7.2 Způsobované onemocnění, diagnostika a léčba

Nipah virus u lidí způsobuje stejně jako HeV respirační onemocnění a encefalitidu. Přírodním rezervoárem NiV jsou kaloni, konkrétně jedinci druhu *Pteropus hypomelanus*. Z nich se NiV přenáší na další savce, například prasata a koně, lidé se následně nakazí manipulací s těmito zvířaty (Chua et al. 2002). Přenos mezi lidmi je možný kapénkovou infekcí (Gurley et al. 2007).

Inkubační doba se při onemocnění NiV pohybuje obvykle mezi jedním až dvěma týdny. První symptomy jsou podobné příznakům chřipky: horečka, kašel, bolest hlavy a gastroenterologické potíže. Časté jsou také neurologické problémy, patrné jsou snížené reflexy, rozšířené zornice, zvýšený krevní tlak a změny v chování. V konečných fázích nastává selhání orgánů a smrt (Paton et al. 1999), (Goh et al. 2000).

NiV se nejprve objevuje v epitelálních buňkách průdušnice, následně NiV napadá pneumocyty a makrofágy v plicních sklípcích (Chua et al. 2001), (Baseler et al. 2016).

Nipah virus nelze diagnostikovat podle příznaků při onemocnění. Používají se tedy molekulární metody jako RT-PCR nebo ELISA (Diagnosis | Nipah Virus (NiV) | CDC n.d.).

Základní prevencí je nepohybovat se v místech s prokázanou nákazou NiV. Jelikož se virus přenáší mezi lidmi je nutná ochrana zdravotnického personálu a izolace pacientů nakažených Nipah virem.

Léčba se zakládá hlavně na výživě a podpoře organismu a na zabránění sekundárním infekcím. Při selhání orgánů je možná náhrada jejich funkcí. Širokospektré antivirotikum Ribavirin bylo k léčbě pacientů použito při naze v Malajsii, není však jisté, zda u nich bylo proti NiV účinný (Goh et al. 2000).

Žádná z vakcín proti NiV zatím není v takovém stavu, kdy by mohla být klinicky testována. Jedním z kandidátů je vakcína založená na VLPs Nipah viru, konkrétně složených z jeho M, F a GP virových proteinů. Vakcína byla zatím úspěšně testována na zvířatech (Walpita et al. 2017).

### **3.7.3 Případy nákazy ve světě**

První případ nákazy virem Nipah byl zdokumentován v Malajsii mezi roky 1998 až 1999, nákaza byla nejprve přisuzována viru JEV (virus japonské encefalitidy). Následné testy odhalily virus rodiny *Paramyxoviridae*, byl pojmenován Nipah (Chua et al. 2000). Lidé se nakazili z manipulace s nakaženými zvířaty, v tomto případě s prasaty. NiV se rozšířil i do sousedního Singapuru, zde bylo nakaženo 11 lidí (Paton et al. 1999). Celková bilance této nákazy byla 265 nakažených lidí, 105 pacientů zemřelo, mortalita NiV byla 40 % (Chua et al. 2000). V dalších letech se nové případy objevovaly hlavně v Bangladéši, v roce 2004 se objevil první potvrzený případ přenosu NiV mezi lidmi, kdy jeden pacient nakazil 33 dalších jedinců přes kapénkovou infekci (Gurley et al. 2007). Další nákaza nastala v roce 2005 opět v Bangladéši, a je zajímavá tím, že nákaza na lidi přešla nepřímo z netopýrů. Stalo se tak díky konzumaci palmové šťávy, která obsahovala netopýří moč nebo sliny. Při této naze zemřelo 11 lidí ze 12 případů (Luby et al.

2006). Zatím poslední nákaza se objevila v roce 2015 (Outbreak 2015 n.d.:201). Celková bilance nákaz NiV u lidí je 297 případů, z toho 220 mrtvých.

### 3.8 Rabies virus

#### Struktura viru, jeho genom a životní cyklus

Rabies virus (RABV) je zástupce řádu *Mononegavirales*, rodiny *Rhabdoviridae*, rodu *Lyssavirus*. Spolu s RABV má rod *Lyssavirus* ještě 15 dalších virů, které se rozdělují se do dvou skupin (International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) n.d.).

RABV je obalený virus, s nesegmentovaným, jednovláknovým RNA genomem s negativní polaritou. Virové částice mívají délku okolo 180 nm s průměrem 60 až 110 nm. Jsou tvořeny nukleoproteinem obalujícím RNA genom, nukleokapsida je obalena fosfolipidovou membránou buněčného původu. Jejich vzhled je popisován jako tvar kulky, s jednou stranou špičatou, druhou plochou (Davies et al. 1963), (Sokol et al. 1969) Obrázek č.10.



Obrázek č.10  
Snímek RABV z elektronového mikroskopu, zvětšení 70000x  
Převzato z (Virology Images and Resources | IHII | UTMB n.d.)

RABV genom o velikosti 12 kb se skládá z 5 monocistroních genů pro virové strukturní a nestrukturní proteiny: gen pro nukleoprotein (N), gen pro fosfoprotein (P), gen pro matrixový protein (M), gen pro glykoprotein (G) a gen pro virovou RdRp (L) (Tordo et al. 1986; Tordo et al. 1988). N je hlavním proteinem nukleokapsidy a je součástí RNP (ribonukleoproteinový komplex), který zajišťuje transkripci a replikaci (Kouznetzoff, Buckle, and Tordo 1998). Je také komponentou pro RABV charakteristických Nergiho tělísek vznikajících v infikovaných nervových buňkách (Lahaye et al. 2009). P protein má mnoho funkcí, je důležitý při transkripci a replikaci, kdy slouží jako kofaktor RdRp. Funguje také jako inhibitor imunitní odpovědi hostitele, a to díky bránění



signalizaci INF přes transkripční faktor STAT1 (Vidy, Chelbi-Alix, and Blondel 2005). Matrixový protein M se nachází mezi kapsidou a obalem, je zcela nezbytný při transportu a skládání nových virových částic a také se účastní regulace RNA syntézy (Mebatsion, Weiland, and Conzelmann 1999), (Finke and Conzelmann 2003). Protein G je jediným povrchovým proteinem RABV, je organizovaný do trimerů a jeho hlavní funkcí je vazba RABV na hostitelské buněčné receptory (Dietzschold, Cox, and Schneider 1978). RABV se v nervové soustavě živočichů transportuje axony nervových buněk, umožňuje mu to právě G protein (Etessami et al. 2000). L protein neboli RNA dependentní RNA polymeráza tvoří spolu s P proteinem transkripčně-replikační komplex, templátem je RNA genom s navázaným N proteinem (Green et al. 2006), (Morin et al. 2016).

Životní cyklus RABV začíná navázáním G proteinu na buněčný receptor, identita tohoto receptoru není zcela jasná, jedním z kandidátů je například nAChR (Nicotinic acetylcholine receptor), který se mimo jiné nachází i ve svalových a nervových buňkách (Gastka, Horvath, and Lentz 1996). Následuje endocytóza clathrinovými váčky do endozómu (Piccinotti, Kirchhausen, and Whelan 2013). V endozómu se díky kyselému prostředí změni konformace G proteinu a virová částice sfúzuje s endozomální membránou (Gaudin et al. 1993). Po uvolnění nukleokapsidy z endozómu začíná transkripce mRNA, replikace genomové RNA a translace virových proteinů. Složená nukleokapsida je transportována na plazmatickou membránu, proteiny M,P a GP jsou připojovány, následně dochází k vypuštění nových virových částic (Mebatsion, Weiland, and Conzelmann 1999).

### **3.8.1 Způsobované onemocnění, diagnostika a léčba**

RABV způsobuje onemocnění nazývané vzteklna. Nakazit se jí může prakticky každý savec. Člověk se v 99 % případů nakazí od psů, nejčastěji po útoku zvířete, virus se nachází v jeho slinách. Samozřejmě nákaza RABV je možná i z jiného nakaženého savce (Schneider et al. 2001).

Inkubační doba se obvykle pohybuje v řádu týdnů, může však být dlouhá až rok. Závisí na místě vniknutí patogenu do těla (Held, Tierkel, and Steele 1967), (Anderson et al. 1984), (Charlton et al. 1997). Ranými symptomy jsou brnění a zarudnutí v oblasti infekce, které se následně může rozšiřovat po těle. Později se objevuje horečka, bolest hlavy, střevní problémy nebo poruchy vidění. V pozdější fázi nemoci se objevují neurologické problémy jako nespavost, halucinace, změny chování. Pokud není poskytnuta léčba, tak nemoc přechází do posledního stádia, projevují se poškození nervového systému, nastává kóma a pacient umírá na celkové selhání organismu. (Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 1998), (Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2008).

RABV nejprve infikuje svalovou tkáň v místě poranění. Z periferních nervů ve svalech se infekce poté šíří do míchy a mozku, kde dochází k masivnímu pomnožení viru (Lewis, Fu, and Lentz 2000). Virus následně napadá hlavně neurony a v nervové soustavě se šíří jejich axony, u nervových buněk mimo jiné způsobuje apoptózu (Lycke and Tsiang 1987), (Jackson and Rossiter 1997).

Diagnostika podle příznaků je až do pozdější fáze nemoci velmi obtížná. Využití metod molekulární biologie je tedy nezbytné. Na detekci RABV je možné použít metodu PCR (polymerázová řetězová reakce), nebo testy na detekci protilátek fluorescenčním mikroskopem. Na diagnostiku u člověka se používá hlavně RT-PCR metoda, zaměřená na části RABV proteinu N nebo části proteinu P. Jako vzorky slouží sliny jedince (Faye et al. 2017). Při zjišťování, zda bylo zvíře nakaženo RABV se využívá metoda DFA (direct fluorescent antibody), při které se používá mozková tkáň nakaženého jedince. Na ní se aplikují protilátky specifické na RABV, které se následně pozorují ve fluorescenčním mikroskopu (Protocol for Postmortem Diagnosis of Rabies in Animals by Direct Fluorescent Antibody Testing: A Minimum Standard for Rabies Diagnosis in the United States 2004).

Nejspolehlivější prevencí je snaha o vymýcení nákazy v přírodě, kde přežívá ve volně žijících savcích. V České republice byla vakcinace divokých zvířat (konkrétně lišek) zahájena roku 1989, a to způsobem přidávání vakcíny do návnad. Dnes se RABV ve volné přírodě v ČR vyskytuje minimálně (Vzteklina – problematika vztekliny a její výskyt v České republice 2018). Očkování psů se provádí systematicky. Další důležitou prevencí je informovanost populace o nebezpečí nákazy (Rupprecht, Hanlon, and Slate 2004), (Nigg and Walker 2009).

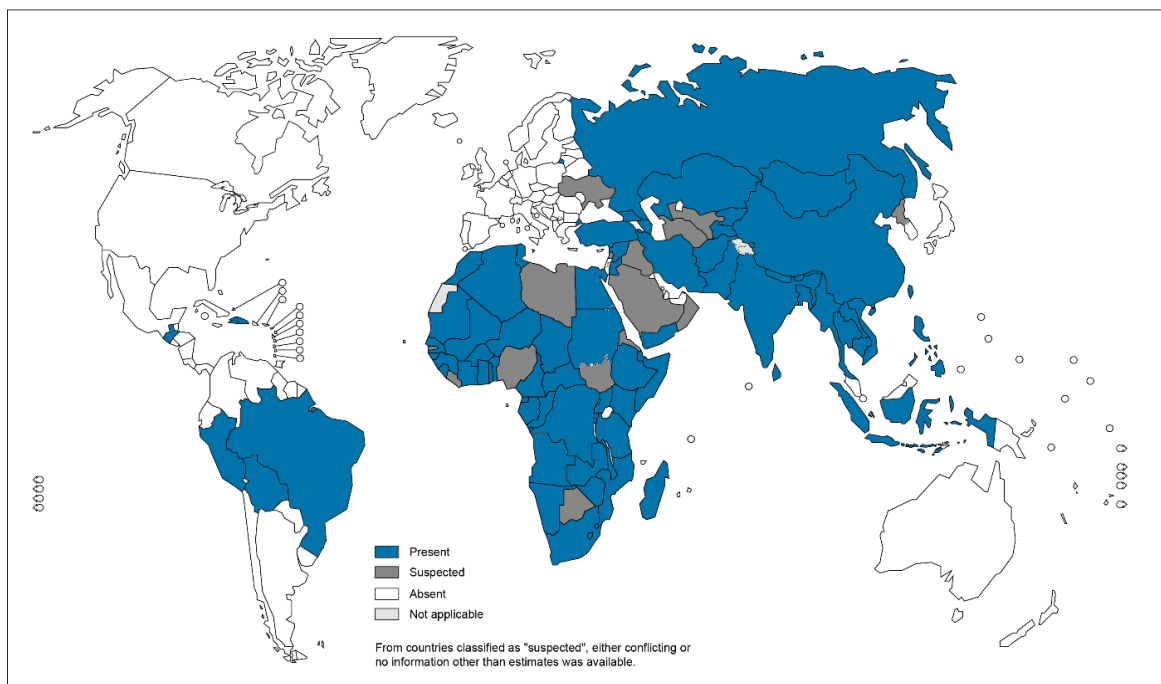
Léčba je dostupná, avšak nesmí se s ní začít příliš pozdě. První pomocí při podezření nákazy je důkladné omytí poškozeného místa vodou a mýdlem. Doporučená desinfekce poranění se provádí ethanolem nebo jódem. Následně je aplikována kombinace vakcíny proti RABV a lidského imunoglobulinu proti RABV (RIG), injekce by měly být aplikovány co nejbližší postíženého místa v co nejkratším čase po infikování jedince (WHO | Rabies n.d.), (Hankins and Rosekrans 2004).

První vakcína byla použita v roce 1885 Louisem Pasteurem, objevitelem vakcíny proti RABV. Jednalo se o atenuovanou vakcínu, připravenou pasáží vlivem ve zvířatech (Pasteur 1885). V dnešní době se používají tři vakcíny, každá z nich je účinná. Vakcína HDCV (Human diploid cell culture rabies vaccine) byla vytvořena roku 1964, jedná se o atenuovaný RABV (Wiktor, Fernandes, and Koprowski 1964). Vakcína PVRV (purified Vero cell vaccine), vytvořená roku 1985, je vyrobena z RBAV částic zbavených RNA genomu (Suntharasamai et al. 1986). Poslední používanou vakcínou je PCEC (Purified Chick Embryo Cell vaccine), je opět vyrobena z RABV částic bez RNA genomu (Barth et al. 1984).

### 3.8.2 Případy nákazy ve světě

Vzteklina je rozšířená prakticky na všech kontinentech kromě Antarktidy, v nejrozvinutějších státech světa je ale její přítomnost nepatrná. Ročně se na celém světě vyskytne kolem 55 000 úmrtí způsobených RABV. Nejvíce případů úmrtí (95 %) je zaznamenáno v Africe, jelikož tam není léčba vždy dostupná a RABV se zde ve velké míře vyskytuje volně v přírodě. Situace nákazy RABV je sledována jak u lidí, tak i u hlavních přenašečů RABV, psů (WHO | Rabies n.d.) Obrázek č.11. Vypuknutí nákazy u lidí nastává přibližně jednou za 5 let, obvykle je toto vypuknutí způsobeno právě psy. První záznamy o nálezích jsou již ze starověku, kdy byla známa jen nemoc, její původce samozřejmě ne. Poslední větší vypuknutí nákazy RABV nastalo v Bali mezi lety 2008 až 2011, kdy bylo očkováno přes 500 000 psů a 13 000 lidí s podezřením na RABV (Putra et al. 2013).

Presence of dog-transmitted human rabies based on most recent data points from different sources, 2010-2014



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. © WHO 2015. All rights reserved

Data Source: World Health Organization  
Map Production: Control of Neglected  
Tropical Diseases (NTD)  
World Health Organization



Obrázek č.11

Mapa zobrazující přítomnost psů nakažených RABV ve světě  
Převzato z (WHO | Epidemiology and Burden of Disease n.d.)

## 4 Metody použitelné na identifikaci virů u netopýrů

Většina virových infekcí u netopýrů nezpůsobuje žádné klinické příznaky a vyvolávají latentní či perzistentní infekce, které jsou charakteristické žádnou nebo velmi malou replikací viru. Proto se pro detekci a identifikaci viru používají metody molekulární biologie. Při identifikaci virů se musí brát v potaz, zda chceme identifikovat viry zcela známé nebo příbuzné známých virů, či hledat úplně nové druhy. Metodika je totiž pro tyto přístupy značně odlišná.

Pokud chceme zjišťovat přítomnost částečně nebo zcela známého viru, je výhodné použít metodu PCR nebo RT-PCR. Tyto metody mají výhodu detekce viru i při velmi malých množstvích ve vzorku, jsou zde ale nutné specifické primery, proto se dají použít jen když víme co chceme detekovat. Pro identifikaci neznámých virů se více hodí sekvenování nové generace (NGS), kde se dá při použití správné adaptorové sekvence amplifikovat cokoli, identifikace virů poté závisí na dostupných datech o nalezených sekvencích. Tyto přístupy vyžadují zcela rozdílné pojetí i při přípravě vzorků, zatímco PCR nepotřebuje čistý vzorek, protože namnoží jen ty sekvence, na které se připojí primery. Metody NGS většinou vyžadují důkladně purifikovanou DNA, jelikož amplifikují téměř vše (Conceição-Neto et al. 2015).

## 5 Závěr

Netopýři jsou rezervoáry a přenašeči virů, které jsou a budou velmi nebezpečné pro lidskou populaci. Skutečnost, proč tomu tak je, není zcela známá a další výzkum je nutný. Lidé by se ale k netopýřům měli chovat s patřičným respektem a co nejméně narušovat jejich stanoviště, a to jak kvůli ochraně svojí osoby, tak i samotných zvířat. Viry, které netopýři přenášejí, musí být nadále studovány, abychom dostatečně pochopili rozdílnou patogenitu virů u netopýrů a u ostatních savců. Velký důraz by měl být kladen na vytvoření vakcín proti zoonózám, které netopýři hostí. Společnost se doposud se všemi těmito nemocemi vypořádala, měla by být ale zavedena opatření, aby se nákazy objevovaly minimálně, nebo aby, pokud se objeví, byly rychle potlačeny. To zahrnuje vybavení zdravotnických zařízení, péči pro matky a děti, a proškolení personálu, především v místech s největším rizikem vzniku epidemií.

## 6 Použitá literatura

- Abergel, C., M. Legendre, and J. M. Claverie 2015 The Rapidly Expanding Universe of Giant Viruses: Mimivirus, Pandoravirus, Pithovirus and Mollivirus. *FEMS Microbiology Reviews* 39(6): 779–796.
- Adams, M. J., A. M. Q. King, and E. B. Carstens 2013 Ratification Vote on Taxonomic Proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2013). *Archives of Virology* 158(9): 2023–2030.
- Afolabi, K. O., B. C. Iweriebor, A. I. Okoh, and L. C. Obi 2017 Global Status of Porcine Circovirus Type 2 and Its Associated Diseases in Sub-Saharan Africa. *Advances in Virology* 2017.
- Alsaad, K. O., A. H. Hajeer, M. A. Balwi, et al. 2018 Histopathology of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) Infection – Clinicopathological and Ultrastructural Study. *Histopathology* 72(3): 516–524.
- Anderson, L. J., K. G. Nicholson, R. V. Tauxe, and W. G. Winkler 1984 Human Rabies in the United States, 1960 to 1979: Epidemiology, Diagnosis, and Prevention. *Annals of Internal Medicine* 100(5): 728–735.
- Armstrong, J., H. Niemann, S. Smeeckens, P. Rottier, and G. Warren 1984 Sequence and Topology of a Model Intracellular Membrane Protein, E1 Glycoprotein, from a Coronavirus. *Nature* 308(5961): 751–752.
- Azhar, E. I., S. A. El-Kafrawy, S. A. Farraj, et al. 2014 Evidence for Camel-to-Human Transmission of MERS Coronavirus. *The New England Journal of Medicine* 370(26): 2499–2505.
- Banadyga, L., T. Hoenen, X. Ambroggio, et al. 2017 Ebola Virus VP24 Interacts with NP to Facilitate Nucleocapsid Assembly and Genome Packaging. *Scientific Reports* 7.
- Baron, S., ed. 1996 *Medical Microbiology*. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.
- Barr, J., C. Smith, I. Smith, et al. 2015 Isolation of Multiple Novel Paramyxoviruses from Pteropid Bat Urine. *Journal of General Virology* 96(1): 24–29.
- Barth, R., H. Gruschkau, O. Jaeger, L. Milcke, and E. Weinmann 1984 Purified Chick Embryo Cell (PCEC) Rabies Vaccine for Human Use. *Laboratory Data. Behring Institute Mitteilungen* (76): 142–154.
- Barton, E. S., D. W. White, J. S. Cathelyn, et al. 2007 Herpesvirus Latency Confers Symbiotic Protection from Bacterial Infection. *Nature* 447(7142): 326–329.
- Baseler, L., D. P. Scott, G. Saturday, et al. 2016 Identifying Early Target Cells of Nipah Virus Infection in Syrian Hamsters. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 10(11): e0005120.
- Basler, C. F., X. Wang, E. Mühlberger, et al. 2000 The Ebola Virus VP35 Protein Functions as a Type I IFN Antagonist. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97(22): 12289–12294.
- Bausch, D. G., M. Borchert, T. Grein, et al. 2003 Risk Factors for Marburg Hemorrhagic Fever, Democratic Republic of the Congo. *Emerging Infectious Diseases* 9(12): 1531–1537.
- Bausch, D. G., S. T. Nichol, J. J. Muyembe-Tamfum, et al. 2006 Marburg Hemorrhagic Fever Associated with Multiple Genetic Lineages of Virus. *The New England Journal of Medicine* 355(9): 909–919.
- Bausch, D. G., J. S. Towner, S. F. Dowell, et al. 2007 Assessment of the Risk of Ebola Virus Transmission from Bodily Fluids and Fomites. *The Journal of Infectious Diseases* 196(Supplement\_2): S142–S147.
- Bermingham, A., M. A. Chand, C. S. Brown, et al. 2012 Severe Respiratory Illness Caused by a Novel Coronavirus, in a Patient Transferred to the United Kingdom from the Middle East, September 2012. *Euro*

Surveillance: Bulletin European Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin 17(40): 20290.

Bharat, T. A. M., J. D. Riches, L. Kolesnikova, et al. 2011 Cryo-Electron Tomography of Marburg Virus Particles and Their Morphogenesis within Infected Cells. *PLoS Biology* 9(11).

van Boheemen, S., M. de Graaf, C. Lauber, et al. 2012 Genomic Characterization of a Newly Discovered Coronavirus Associated with Acute Respiratory Distress Syndrome in Humans. *MBio* 3(6).

Bonaparte, M. I., A. S. Dimitrov, K. N. Bossart, et al. 2005 Ephrin-B2 Ligand Is a Functional Receptor for Hendra Virus and Nipah Virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102(30): 10652–10657.

Booth, C. M., L. M. Matukas, G. A. Tomlinson, et al. 2003 Clinical Features and Short-Term Outcomes of 144 Patients With SARS in the Greater Toronto Area. *JAMA* 289(21): 2801–2809.

Bosch, B. J., R. van der Zee, C. A. M. de Haan, and P. J. M. Rottier 2003 The Coronavirus Spike Protein Is a Class I Virus Fusion Protein: Structural and Functional Characterization of the Fusion Core Complex. *Journal of Virology* 77(16): 8801–8811.

Bratsch, S., N. Wertz, K. Chaloner, T. H. Kunz, and J. E. Butler 2011 The Little Brown Bat, *M. Lucifugus*, Displays a Highly Diverse V H, D H and J H Repertoire but Little Evidence of Somatic Hypermutation. *Developmental and Comparative Immunology* 35(4): 421–430.

Breitbart, M., and F. Rohwer 2005 Here a Virus, There a Virus, Everywhere the Same Virus? *Trends in Microbiology* 13(6): 278–284.

Broadhurst, M. J., T. J. G. Brooks, and N. R. Pollock 2016 Diagnosis of Ebola Virus Disease: Past, Present, and Future. *Clinical Microbiology Reviews* 29(4): 773–793.

Bukreyev, A. A., K. Chandran, O. Dolnik, et al. 2014 Discussions and Decisions of the 2012–2014 International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) Filoviridae Study Group, January 2012–June 2013. *Archives of Virology* 159(4): 821–830.

Calisher, C. H., J. E. Childs, H. E. Field, K. V. Holmes, and T. Schountz 2006 Bats: Important Reservoir Hosts of Emerging Viruses. *Clinical Microbiology Reviews* 19(3): 531–545.

Chan, W., Y. Kwan, H. Wan, C. Leung, and M. Chiu 2004 Epidemiologic Linkage and Public Health Implication of a Cluster of Severe Acute Respiratory Syndrome in an Extended Family. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 23(12): 1156–1159.

Chan, Y. P., C. L. Koh, S. K. Lam, and L. F. Wang 2004 Mapping of Domains Responsible for Nucleocapsid Protein–phosphoprotein Interaction of Henipaviruses. *Journal of General Virology* 85(6): 1675–1684.

Charlton, K. M., S. Nadin-Davis, G. A. Casey, and A. I. Wandeler 1997 The Long Incubation Period in Rabies: Delayed Progression of Infection in Muscle at the Site of Exposure. *Acta Neuropathologica* 94(1): 73–77.

Che, X., L. Qiu, Y. Pan, et al. 2004 Sensitive and Specific Monoclonal Antibody-Based Capture Enzyme Immunoassay for Detection of Nucleocapsid Antigen in Sera from Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. *Journal of Clinical Microbiology* 42(6): 2629–2635.

Check H. E. 2015 Maternal Health: Ebola’s Lasting Legacy. *Nature News* 519(7541): 24.

Cherpillod, P., M. Schibler, G. Vieille, et al. 2016 Ebola Virus Disease Diagnosis by Real-Time RT-PCR: A Comparative Study of 11 Different Procedures. *Journal of Clinical Virology* 77: 9–14.

Cheung, O. Y., J. W. M. Chan, C. K. Ng, and C. K. Koo 2004 The Spectrum of Pathological Changes in Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS). *Histopathology* 45(2): 119–124.

Chua, K. B., W. J. Bellini, P. A. Rota, et al. 2000 Nipah Virus: A Recently Emergent Deadly Paramyxovirus. *Science* 288(5470): 1432–1435.

Chua, K. B., S. K. Lam, K. J. Goh, et al. 2001 The Presence of Nipah Virus in Respiratory Secretions and Urine of Patients during an Outbreak of Nipah Virus Encephalitis in Malaysia. *The Journal of Infection* 42(1): 40–43.

Chua, K. B., C. L. Koh, P. S. Hooi, et al. 2002 Isolation of Nipah Virus from Malaysian Island Flying-Foxes. *Microbes and Infection* 4(2): 145–151.

Coleman, C. M., T. Venkataraman, Y. V. Liu, et al. 2017 MERS-CoV Spike Nanoparticles Protect Mice from MERS-CoV Infection. *Vaccine* 35(12): 1586–1589.

Conceição-Neto, N., M. Zeller, H. Lefrère, et al. 2015 Modular Approach to Customise Sample Preparation Procedures for Viral Metagenomics: A Reproducible Protocol for Virome Analysis. *Scientific Reports* 5: 16532.

Curran, J. 1996 Reexamination of the Sendai Virus P Protein Domains Required for RNA Synthesis: A Possible Supplemental Role for the P Protein. *Virology* 221(1): 130–140.

Davidson, E., C. Bryan, R. H. Fong, et al. 2015 Mechanism of Binding to Ebola Virus Glycoprotein by the ZMapp, ZMab, and MB-003 Cocktail Antibodies. *Journal of Virology* 89(21): 10982–10992.

Davies, M. C., M. E. Englert, G. R. Sharpless, and V. J. Cabasso 1963 THE ELECTRON MICROSCOPY OF RABIES VIRUS IN CULTURES OF CHICKEN EMBRYO TISSUES. *Virology* 21: 642–651.

Dietzschold, B., J. H. Cox, and G. Schneider 1978 Structure and Function of Rabies Virus Glycoprotein. *Developments in Biological Standardization* 40: 45–55.

Eckerle, I., M. A. Müller, S. Kallies, D. N. Gotthardt, and C. Drosten 2013 In-Vitro Renal Epithelial Cell Infection Reveals a Viral Kidney Tropism as a Potential Mechanism for Acute Renal Failure during Middle East Respiratory Syndrome (MERS) Coronavirus Infection. *Virology Journal* 10: 359.

Etefami, R., K.-K. Conzelmann, B. Fadai-Ghotbi, et al. 2000 Spread and Pathogenic Characteristics of a G-Deficient Rabies Virus Recombinant: An in Vitro and in Vivo Study. *Journal of General Virology* 81(9): 2147–2153.

Falzarano, D., E. de Wit, A. L. Rasmussen, et al. 2013 Interferon-A2b and Ribavirin Treatment Improves Outcome in MERS-CoV-Infected Rhesus Macaques. *Nature Medicine* 19(10): 1313–1317.

Faye, M., L. Dacheux, M. Weidmann, et al. 2017 Development and Validation of Sensitive Real-Time RT-PCR Assay for Broad Detection of Rabies Virus. *Journal of Virological Methods* 243: 120–130.

Feldmann, H., S. T. Nichol, H. D. Klenk, C. J. Peters, and A. Sanchez 1994 Characterization of Filoviruses Based on Differences in Structure and Antigenicity of the Virion Glycoprotein. *Virology* 199(2): 469–473.

Feldmann, H., C. Will, M. Schikore, W. Slenczka, and H.-D. Klenk 1991 Glycosylation and Oligomerization of the Spike Protein of Marburg Virus. *Virology* 182(1): 353–356.

Finke, S., and K.-K. Conzelmann 2003 Dissociation of Rabies Virus Matrix Protein Functions in Regulation of Viral RNA Synthesis and Virus Assembly. *Journal of Virology* 77(22): 12074–12082.

Fleming, J. O., R. A. Shubin, M. A. Sussman, N. Casteel, and S. A. Stohlman 1989 Monoclonal Antibodies to the Matrix (E1) Glycoprotein of Mouse Hepatitis Virus Protect Mice from Encephalitis. *Virology* 168(1): 162–167.

Gai, W., X. Zheng, C. Wang, et al. 2017 Marburg Virus-like Particles by Co-Expression of Glycoprotein and Matrix Protein in Insect Cells Induces Immune Responses in Mice. *Virology Journal* 14.

- Garoff, H., R. Hewson, and D.-J. E. Opstelten 1998 Virus Maturation by Budding. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62(4): 1171–1190.
- Gastka, M., J. Horvath, and T. L. Lentz 1996 Rabies Virus Binding to the Nicotinic Acetylcholine Receptor Subunit Demonstrated by Virus Overlay Protein Binding Assay. *Journal of General Virology* 77(10): 2437–2440.
- Gaudin, Y, R W Ruigrok, M Knossow, and A Flamand 1993 Low-PH Conformational Changes of Rabies Virus Glycoprotein and Their Role in Membrane Fusion. *Journal of Virology* 67(3): 1365–1372.
- Geisbert, T. W., and N. K. Jaax 1998 Marburg Hemorrhagic Fever: Report of a Case Studied by Immunohistochemistry and Electron Microscopy. *Ultrastructural Pathology* 22(1): 3–17.
- Geiser, F. 2004 Metabolic Rate and Body Temperature Reduction during Hibernation and Daily Torpor. *Annual Review of Physiology* 66: 239–274.
- Goh, K. J., C. T. Tan, N. K. Chew, et al. 2000 Clinical Features of Nipah Virus Encephalitis among Pig Farmers in Malaysia. *New England Journal of Medicine* 342(17): 1229–1235.
- Green, T. J., X. Zhang, G. W. Wertz, and M. Luo 2006 Structure of the Vesicular Stomatitis Virus Nucleoprotein-RNA Complex. *Science (New York, N.Y.)* 313(5785): 357–360.
- Groseth, A., H. Feldmann, and J. E. Strong 2007 The Ecology of Ebola Virus. *Trends in Microbiology* 15(9): 408–416.
- Group, The PREVAIL II Writing 2016 A Randomized, Controlled Trial of ZMapp for Ebola Virus Infection. Research-article. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1604330>.
- Gu, J., E. Gong, B. Zhang, et al. 2005 Multiple Organ Infection and the Pathogenesis of SARS. *The Journal of Experimental Medicine* 202(3): 415–424.
- Guery, B., J. Poissy, L. el Mansouf, et al. 2013 Clinical Features and Viral Diagnosis of Two Cases of Infection with Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus: A Report of Nosocomial Transmission. *Lancet (London, England)* 381(9885): 2265–2272.
- Gurley, E. S., J. M. Montgomery, M. J. Hossain, et al. 2007 Person-to-Person Transmission of Nipah Virus in a Bangladeshi Community. *Emerging Infectious Diseases* 13(7): 1031–1037.
- Haagmans, B. L., J. M. A. van den Brand, V. S. Raj, et al. 2016 An Orthopoxvirus-Based Vaccine Reduces Virus Excretion after MERS-CoV Infection in Dromedary Camels. *Science* 351(6268): 77–81.
- Hamming, I., W. Timens, M. L. C. Bulthuis, et al. 2004 Tissue Distribution of ACE2 Protein, the Functional Receptor for SARS Coronavirus. A First Step in Understanding SARS Pathogenesis. *The Journal of Pathology* 203(2): 631–637.
- Hankins, D. G., and J. A. Rosekrans 2004 Overview, Prevention, and Treatment of Rabies. *Mayo Clinic Proceedings* 79(5): 671–676.
- Hanna, J. N., W. J. McBride, D. L. Brookes, et al. 2006 Hendra Virus Infection in a Veterinarian 185(10): 3.
- Held, J. R., E. S. Tierkel, and J. H. Steele 1967 Rabies in Man and Animals in the United States, 1946–65. *Public Health Reports* 82(11): 1009–1018.
- Holmes, K. V., and L. Enjuanes 2003 The SARS Coronavirus: A Postgenomic Era. *Science* 300(5624): 1377–1378.
- Huang, Y. 2004 THE SARS EPIDEMIC AND ITS AFTERMATH IN CHINA: A POLITICAL PERSPECTIVE. National Academies Press (US).



- Huang, Y., L. Xu, Y. Sun, and G. J. Nabel 2002 The Assembly of Ebola Virus Nucleocapsid Requires Virion-Associated Proteins 35 and 24 and Posttranslational Modification of Nucleoprotein. *Molecular Cell* 10(2): 307–316.
- Huggins, J. W. 1989 Prospects for Treatment of Viral Hemorrhagic Fevers with Ribavirin, a Broad-Spectrum Antiviral Drug. *Reviews of Infectious Diseases* 11(Supplement\_4): S750–S761.
- Hyatt, A. D., S. R. Zaki, C. S. Goldsmith, T. G. Wise, and S. G. Hengstberger 2001 Ultrastructure of Hendra Virus and Nipah Virus within Cultured Cells and Host Animals. *Microbes and Infection* 3(4): 297–306.
- Imbert, I., J.-C. Guillemot, J.-M. Bourhis, et al. 2006 A Second, Non-Canonical RNA-Dependent RNA Polymerase in SARS Coronavirus. *The EMBO Journal* 25(20): 4933–4942.
- Ithete, N. L., S. Stoffberg, V. M. Corman, et al. 2013 Close Relative of Human Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus in Bat, South Africa. *Emerging Infectious Diseases* 19(10): 1697–1699.
- Iyer, L. M., S. Balaji, E. V. Koonin, and L. Aravind 2006 Evolutionary Genomics of Nucleo-Cytoplasmic Large DNA Viruses. *Virus Research* 117(1). *Comparative Genomics and Evolution of Complex Viruses*: 156–184.
- Jackson, A. C., and J. P. Rossiter 1997 Apoptosis Plays an Important Role in Experimental Rabies Virus Infection. *Journal of Virology* 71(7): 5603–5607.
- Jiang, S., G. Steward, R. Jellison, W. Chu, and S. Choi 2004 Abundance, Distribution, and Diversity of Viruses in Alkaline, Hypersaline Mono Lake, California. *Microbial Ecology* 47(1): 9–17.
- Jimenez-Guardeño, J. M., J. A. Regla-Nava, J. L. Nieto-Torres, et al. 2015 Identification of the Mechanisms Causing Reversion to Virulence in an Attenuated SARS-CoV for the Design of a Genetically Stable Vaccine. *PLOS Pathogens* 11(10): e1005215.
- Johnson, E. D., B. K. Johnson, D. Silverstein, et al. 1996 Characterization of a New Marburg Virus Isolated from a 1987 Fatal Case in Kenya. *Archives of Virology. Supplementum* 11: 101–114.
- Jones, G. 2005 Echolocation. *Current Biology* 15(13): R484–R488.
- Jones, S. M., H. Feldmann, U. Ströher, et al. 2005 Live Attenuated Recombinant Vaccine Protects Nonhuman Primates against Ebola and Marburg Viruses. *Nature Medicine* 11(7): 786–790.
- Katzourakis, A., and R. J. Gifford 2010 Endogenous Viral Elements in Animal Genomes. *PLOS Genetics* 6(11): e1001191.
- Ki, M. 2015 2015 MERS Outbreak in Korea: Hospital-to-Hospital Transmission. *Epidemiology and Health* 37.
- Knust, B., I. J. Schafer, J. Wamala, et al. 2015 Multidistrict Outbreak of Marburg Virus Disease—Uganda, 2012. *The Journal of Infectious Diseases* 212(Suppl 2): S119–S128.
- Kolesnikova, L., B. Berghöfer, S. Bamberg, and S. Becker 2004 Multivesicular Bodies as a Platform for Formation of the Marburg Virus Envelope. *Journal of Virology* 78(22): 12277–12287.
- Kouznetzoff, A., M. Buckle, and N. Tordo 1998 Identification of a Region of the Rabies Virus N Protein Involved in Direct Binding to the Viral RNA. *Journal of General Virology* 79(5): 1005–1013.
- Ksiazek, T. G., P. E. Rollin, A. J. Williams, et al. 1999 Clinical Virology of Ebola Hemorrhagic Fever (EHF): Virus, Virus Antigen, and IgG and IgM Antibody Findings among EHF Patients in Kikwit, Democratic Republic of the Congo, 1995. *The Journal of Infectious Diseases* 179(Supplement\_1): S177–S187.

- Ksiazek, T. G., D. Erdman, C. S. Goldsmith, et al. 2003 A Novel Coronavirus Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome. *The New England Journal of Medicine* 348(20): 1953–1966.
- Kuhn, J. H., Y. Bao, S. Bavari, et al. 2013 VIRUS NOMENCLATURE BELOW THE SPECIES LEVEL: A STANDARDIZED NOMENCLATURE FOR LABORATORY ANIMAL-ADAPTED STRAINS AND VARIANTS OF VIRUSES ASSIGNED TO THE FAMILY FILOVIRIDAE. *Archives of Virology* 158(6): 1425–1432.
- Kuhn, J. H., S. R. Radoshitzky, A. C. Guth, et al. 2006 Conserved Receptor-Binding Domains of Lake Victoria Marburgvirus and Zaire Ebolavirus Bind a Common Receptor. *The Journal of Biological Chemistry* 281(23): 15951–15958.
- Lahaye, X., A. Vidy, C. Pomier, et al. 2009 Functional Characterization of Negri Bodies (NBs) in Rabies Virus-Infected Cells: Evidence That NBs Are Sites of Viral Transcription and Replication. *Journal of Virology* 83(16): 7948–7958.
- Lamb, R. A. 1993 Paramyxovirus Fusion: A Hypothesis for Changes. *Virology* 197(1): 1–11.
- Lau, S. K. P., P. C. Y. Woo, K. S. M. Li, et al. 2005 Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-like Virus in Chinese Horseshoe Bats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102(39): 14040–14045.
- Leroy, E. M., J-P Gonzalez, and S. Baize 2011 Ebola and Marburg Haemorrhagic Fever Viruses: Major Scientific Advances, but a Relatively Minor Public Health Threat for Africa. *Clinical Microbiology and Infection* 17(7): 964–976.
- Leroy, E. M., A. Epelboin, V. Mondonge, et al. 2009 Human Ebola Outbreak Resulting from Direct Exposure to Fruit Bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* (Larchmont, N.Y.) 9(6): 723–728.
- Leroy, E. M., B. Kumulungui, X. Pourrut, et al. 2005 Fruit Bats as Reservoirs of Ebola Virus. *Nature* 438(7068): 575–576.
- Lewis, P., Y. Fu, and T. L. Lentz 2000 Rabies Virus Entry at the Neuromuscular Junction in Nerve-Muscle Cocultures. *Muscle & Nerve* 23(5): 720–730.
- Li, Wendong, Zhengli Shi, Meng Yu, et al. 2005 Bats Are Natural Reservoirs of SARS-Like Coronaviruses. *Science* 310(5748): 676–679.
- Li, W., M. J. Moore, N. Vasilieva, et al. 2003 Angiotensin-Converting Enzyme 2 Is a Functional Receptor for the SARS Coronavirus. *Nature* 426(6965): 450–454.
- Luby, S. P., M. Rahman, M. J. Hossain, et al. 2006 Foodborne Transmission of Nipah Virus, Bangladesh. *Emerging Infectious Diseases* 12(12): 1888–1894.
- Lycke, E., and H. Tsiang 1987 Rabies Virus Infection of Cultured Rat Sensory Neurons. *Journal of Virology* 61(9): 2733–2741.
- Mahanty, S., K. Hutchinson, S. Agarwal, et al. 2003 Cutting Edge: Impairment of Dendritic Cells and Adaptive Immunity by Ebola and Lassa Viruses. *The Journal of Immunology* 170(6): 2797–2801.
- Manicassamy, B., J. Wang, E. Rumschlag, et al. 2007 Characterization of Marburg Virus Glycoprotein in Viral Entry. *Virology* 358(1): 79–88.
- Marsh, G. A., C. de Jong, J. A. Barr, et al. 2012 Cedar Virus: A Novel Henipavirus Isolated from Australian Bats. *PLoS Pathogens* 8(8): e1002836.
- Martini, G. A. 1973 Marburg Virus Disease. *Postgraduate Medical Journal* 49(574): 542–546.

- Masters, P. S. 2006 The Molecular Biology of Coronaviruses. *In* Advances in Virus Research Pp. 193–292. Academic Press.
- Matsuyama, S., M. Ujike, S. Morikawa, M. Tashiro, and F. Taguchi 2005 Protease-Mediated Enhancement of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102(35): 12543–12547.
- Mayo, M. A. 2002 A Summary of Taxonomic Changes Recently Approved by ICTV. *Archives of Virology* 147(8): 1655–1656.
- Mebatsion, T., F. Weiland, and K.-K. Conzelmann 1999 Matrix Protein of Rabies Virus Is Responsible for the Assembly and Budding of Bullet-Shaped Particles and Interacts with the Transmembrane Spike Glycoprotein G. *Journal of Virology* 73(1): 242–250.
- Menachery, V. D., L. E. Gralinski, H. D. Mitchell, et al. 2017 MERS-CoV NSP16 Necessary for IFN Resistance and Viral Pathogenesis.
- Middleton, D., J. Pallister, R. Klein, et al. 2014 Hendra Virus Vaccine, a One Health Approach to Protecting Horse, Human, and Environmental Health. *Emerging Infectious Diseases* 20(3): 372–379.
- Morin, B., B. Liang, E. Gardner, R. A. Ross, and S. P. J. Whelan 2016 An In Vitro RNA Synthesis Assay for Rabies Virus Defines Ribonucleoprotein Interactions Critical for Polymerase Activity. *Journal of Virology* 91(1).
- Mortola E., and R. Polly 2004 Efficient Assembly and Release of SARS Coronavirus-like Particles by a Heterologous Expression System. *FEBS Letters* 576(1–2): 174–178.
- Mühlberger, E., M. Weik, V. E. Volchkov, H. D. Klenk, and S. Becker 1999 Comparison of the Transcription and Replication Strategies of Marburg Virus and Ebola Virus by Using Artificial Replication Systems. *Journal of Virology* 73(3): 2333–2342.
- Murray, K., R. Rogers, L. Selvey, et al. 1995 A Novel Morbillivirus Pneumonia of Horses and Its Transmission to Humans. *Emerging Infectious Diseases* 1(1): 31–33.
- Nakajima, N., Y. Asahi-Ozaki, N. Nagata, et al. 2003 SARS Coronavirus-Infected Cells in Lung Detected by New In Situ Hybridization Technique. *Jpn. J. Infect. Dis.*: 3.
- Narayanan, K., C.-J. Chen, J. Maeda, and S. Makino 2003 Nucleocapsid-Independent Specific Viral RNA Packaging via Viral Envelope Protein and Viral RNA Signal. *Journal of Virology* 77(5): 2922–2927.
- Negredo, A., G. Palacios, S. Vázquez-Morón, et al. 2011 Discovery of an Ebolavirus-Like Filovirus in Europe. *PLoS Pathogens* 7(10).
- Nigg, A. J., and P. L. Walker 2009 Overview, Prevention, and Treatment of Rabies. *Pharmacotherapy* 29(10): 1182–1195.
- Nikiforov, V. V., I. I. Turovskii, P. P. Kalinin, et al. 1994 [A case of a laboratory infection with Marburg fever]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, I Immunobiologii* (3): 104–106.
- Oestereich, L., A. Lütke, S. Wurr, et al. 2014 Successful Treatment of Advanced Ebola Virus Infection with T-705 (Favipiravir) in a Small Animal Model. *Antiviral Research* 105: 17–21.
- O’Shea, T. J., P. M. Cryan, A. A. Cunningham, et al. 2014 Bat Flight and Zoonotic Viruses. *Emerging Infectious Diseases* 20(5): 741–745.
- O’Sullivan, J.D., A.M. Allworth, D.L. Paterson, et al. 1997 Fatal Encephalitis Due to Novel Paramyxovirus Transmitted from Horses. *The Lancet* 349(9045): 93–95.

- Pan, J., X. Peng, Y. Gao, et al. 2008 Genome-Wide Analysis of Protein-Protein Interactions and Involvement of Viral Proteins in SARS-CoV Replication. *PLOS ONE* 3(10): e3299.
- Panchal, R. G., G. Ruthel, T. A. Kenny, et al. 2003 In Vivo Oligomerization and Raft Localization of Ebola Virus Protein VP40 during Vesicular Budding. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100(26): 15936–15941.
- Park, W. B., N.-J. Kwon, P. G. Choe, et al. 2016 Isolation of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus from a Patient of the 2015 Korean Outbreak. *Journal of Korean Medical Science* 31(2): 315–320.
- Pasteur, L. 1885 *Methode Pour Prevenir La Rage Apres Morsure*.
- Patch, J. R., Z. Han, S. E. McCarthy, et al. 2008 The YPLGVG Sequence of the Nipah Virus Matrix Protein Is Required for Budding. *Virology Journal* 5: 137.
- Paton, N. I, Y. S. Leo, S. R. Zaki, et al. 1999 Outbreak of Nipah-Virus Infection among Abattoir Workers in Singapore. *The Lancet* 354(9186): 1253–1256.
- Pattyn, S. R., ed. 1978 *Ebola Virus Haemorrhagic Fever: Proceedings of an International Colloquium on Ebola Virus Infection and Other Haemorrhagic Fevers, Held in Antwerp, Belgium, 6-8 December, 1977*. Amsterdam; New York: New York: Elsevier/North-Holland Biomedical Press ; sole distributors for the USA and Canada, Elsevier North-Holland.
- Pavlin, B. I. 2014 Calculation of Incubation Period and Serial Interval from Multiple Outbreaks of Marburg Virus Disease. *BMC Research Notes* 7.
- Piccinotti, S., T. Kirchhausen, and S. P. J. Whelan 2013 Uptake of Rabies Virus into Epithelial Cells by Clathrin-Mediated Endocytosis Depends upon Actin. *Journal of Virology* 87(21): 11637–11647.
- Playford, E. G., B. McCall, G. Smith, et al. 2010 Human Hendra Virus Encephalitis Associated with Equine Outbreak, Australia, 2008. *Emerging Infectious Diseases* 16(2): 219–223.
- Poon, L. L. M., B. W. Y. Wong, K. H. Chan, et al. 2004 A One Step Quantitative RT-PCR for Detection of SARS Coronavirus with an Internal Control for PCR Inhibitors. *Journal of Clinical Virology* 30(3): 214–217.
- Poutanen, S. M., D. E. Low, B. Henry, et al. 2003 Identification of Severe Acute Respiratory Syndrome in Canada. *The New England Journal of Medicine* 348(20): 1995–2005.
- Prangishvili, D., and R. A. Garrett 2004 Exceptionally Diverse Morphotypes and Genomes of Crenarchaeal Hyperthermophilic Viruses. *Biochemical Society Transactions* 32(Pt 2): 204–208.
- Putra, A. A. G., K. Hampson, J. Girardi, et al. 2013 Response to a Rabies Epidemic, Bali, Indonesia, 2008–2011. *Emerging Infectious Diseases* 19(4): 648–651.
- Puzelli, S., A. Azzi, M. G. Santini, et al. 2013 Investigation of an Imported Case of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) Infection in Florence, Italy, May to June 2013. *Euro Surveillance: Bulletin Europeen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin* 18(34).
- Raghuwanshi, D., V. Mishra, D. Das, K. Kaur, and M. R. Suresh 2012 Dendritic Cell Targeted Chitosan Nanoparticles for Nasal DNA Immunization against SARS CoV Nucleocapsid Protein. *Molecular Pharmaceutics* 9(4): 946–956.
- Raj, V. S., H. Mou, S. L. Smits, et al. 2013 Dipeptidyl Peptidase 4 Is a Functional Receptor for the Emerging Human Coronavirus-EMC. *Nature* 495(7440): 251–254.
- Reilley, B., M. V. Herp, D. Sermand, and N. Dentico 2003 SARS and Carlo Urbani. *The New England Journal of Medicine* 348(20): 1951–1952.
- Reusken, C. B., E. A. Farag, M. Jonges, et al. 2014 Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-

- CoV) RNA and Neutralising Antibodies in Milk Collected According to Local Customs from Dromedary Camels, Qatar, April 2014. *Euro Surveillanc*: Bulletin Europeen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin 19(23).
- Rewar, S., and D. Mirdha 2014 Transmission of Ebola Virus Disease: An Overview. *Annals of Global Health* 80(6). *Tropical Medicine in the Era of Global Connectivity*: 444–451.
- Rodriguez, J. J., L.-F. Wang, and C. M. Horvath 2003 Hendra Virus V Protein Inhibits Interferon Signaling by Preventing STAT1 and STAT2 Nuclear Accumulation. *Journal of Virology* 77(21): 11842–11845.
- Rota, P. A., M. S. Oberste, S. S. Monroe, et al. 2003 Characterization of a Novel Coronavirus Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome. *Science* 300(5624): 1394–1399.
- Rupprecht, C. E., C. A. Hanlon, and D. Slate 2004 Oral Vaccination of Wildlife against Rabies: Opportunities and Challenges in Prevention and Control. *Developments in Biologicals* 119: 173–184.
- Sanchez, A., S. G. Trappier, B. W. Mahy, C. J. Peters, and S. T. Nichol 1996 The Virion Glycoproteins of Ebola Viruses Are Encoded in Two Reading Frames and Are Expressed through Transcriptional Editing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93(8): 3602–3607.
- Sanchez, A., T. G. Ksiazek, P. E. Rollin, et al. 1999 Detection and Molecular Characterization of Ebola Viruses Causing Disease in Human and Nonhuman Primates. *The Journal of Infectious Diseases* 179(Supplement\_1): S164–S169.
- Sarwar, U. N., P. Costner, M. E. Enama, et al. 2015 Safety and Immunogenicity of DNA Vaccines Encoding Ebolavirus and Marburgvirus Wild-Type Glycoproteins in a Phase I Clinical Trial. *The Journal of Infectious Diseases* 211(4): 549–557.
- Satterfield, B. A., R. W. Cross, K. A. Fenton, et al. 2015 The Immunomodulating V and W Proteins of Nipah Virus Determine Disease Course. *Nature Communications* 6: 7483.
- Schieffelin, J.S., J.G. Shaffer, A. Goba, et al. 2014 Clinical Illness and Outcomes in Patients with Ebola in Sierra Leone. *The New England Journal of Medicine* 371(22): 2092–2100.
- Schneider, M. C., J. Aron, C. Santos-Burgoa, W. Uieda, and S. Ruiz-Velazco 2001 Common Vampire Bat Attacks on Humans in a Village of the Amazon Region of Brazil. *Cadernos De Saude Publica* 17(6): 1531–1536.
- Schountz, T., M. L. Baker, J. Butler, and V. Munster 2017 Immunological Control of Viral Infections in Bats and the Emergence of Viruses Highly Pathogenic to Humans. *Frontiers in Immunology* 8.
- Selvey, L. A., R. M. Wells, J. G. McCormack, et al. 1995 Infection of Humans and Horses by a Newly Described Morbillivirus. *The Medical Journal of Australia* 162(12): 642–645.
- Seto, W. H., D. Tsang, R. W. H. Yung, et al. 2003 Effectiveness of Precautions against Droplets and Contact in Prevention of Nosocomial Transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS). *The Lancet* 361(9368): 1519–1520.
- Sissoko, D., C. Laouenan, E. Folkesson, et al. 2016 Experimental Treatment with Favipiravir for Ebola Virus Disease (the JIKI Trial): A Historically Controlled, Single-Arm Proof-of-Concept Trial in Guinea. *PLOS Medicine* 13(3): e1001967.
- Siu, K.-L., C.-P. Chan, K.-H. Kok, P. C.-Y. Woo, and D.-Y. Jin 2014 Suppression of Innate Antiviral Response by Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus M Protein Is Mediated through the First Transmembrane Domain. *Cellular and Molecular Immunology* 11(2): 141–149.
- Skowronski, D. M., M. Petric, P. Daly, et al. 2006 Coordinated Response to SARS, Vancouver, Canada. *Emerging Infectious Diseases* 12(1): 155–158.

- Slenczka, W. G. 1999 The Marburg Virus Outbreak of 1967 and Subsequent Episodes. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 235: 49–75.
- Smith, D. H., M. Isaacson, K. M. Johnson, et al. 1982 MARBURG-VIRUS DISEASE IN KENYA. *The Lancet* 319(8276). Originally Published as Volume 1, Issue 8276: 816–820.
- Sokol, F., H. D. Schlumberger, T. J. Wiktor, H. Koprowski, and K. Hummeler 1969 Biochemical and Biophysical Studies on the Nucleocapsid and on the RNA of Rabies Virus. *Virology* 38(4): 651–665.
- Stockman, L. J., R. Bellamy, and P. Garner 2006 SARS: Systematic Review of Treatment Effects. *PLOS Medicine* 3(9): e343. \*
- Suntharasamai, P., D. A. Warrell, S. Looareesuwan, et al. 1986 NEW PURIFIED VERO-CELL VACCINE PREVENTS RABIES IN PATIENTS BITTEN BY RABID ANIMALS. *The Lancet* 328(8499). Originally Published as Volume 2, Issue 8499: 129–131.
- Surya, W., Y. Li, C. Verdià-Bàguena, V. M. Aguilera, and J. Torres 2015 MERS Coronavirus Envelope Protein Has a Single Transmembrane Domain That Forms Pentameric Ion Channels. *Virus Research* 201: 61–66.
- Takada, A., and Y. Kawaoka 2001 The Pathogenesis of Ebola Hemorrhagic Fever. *Trends in Microbiology* 9(10): 506–511.
- Thiel, V., K. A. Ivanov, A. Putics, et al. 2003 Mechanisms and Enzymes Involved in SARS Coronavirus Genome Expression. *The Journal of General Virology* 84(Pt 9): 2305–2315.
- Tordo, N., O. Poch, A. Ermine, G. Keith, and F. Rougeon 1986 Walking along the Rabies Genome: Is the Large G-L Intergenic Region a Remnant Gene? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83(11): 3914–3918.
- Tordo, N., O. Poch, A. Ermine, G. Keith, and F. Rougeon 1988 Completion of the Rabies Virus Genome Sequence Determination: Highly Conserved Domains among the L (Polymerase) Proteins of Unsegmented Negative-Strand RNA Viruses. *Virology* 165(2): 565–576.
- Towner, J. S., M. L. Khristova, T. K. Sealy, et al. 2006 Marburgvirus Genomics and Association with a Large Hemorrhagic Fever Outbreak in Angola. *Journal of Virology* 80(13): 6497–6516.
- Towner, J. S., X. Pourrut, C. G. Albariño, et al. 2007 Marburg Virus Infection Detected in a Common African Bat. *PLoS ONE* 2(8).
- te Velhuis, A. J.W., S. H. E. van den Worm, and E. J. Snijder 2012 The SARS-Coronavirus Nsp7+nsp8 Complex Is a Unique Multimeric RNA Polymerase Capable of Both de Novo Initiation and Primer Extension. *Nucleic Acids Research* 40(4): 1737–1747.
- Vennema, H., G. J. Godeke, J. W. Rossen, et al. 1996 Nucleocapsid-Independent Assembly of Coronavirus-like Particles by Co-Expression of Viral Envelope Protein Genes. *The EMBO Journal* 15(8): 2020–2028.
- Vidy, A., M. Chelbi-Alix, and D. Blondel 2005 Rabies Virus P Protein Interacts with STAT1 and Inhibits Interferon Signal Transduction Pathways. *Journal of Virology* 79(22): 14411–14420.
- Volchkov, V. E., S. Becker, V. A. Volchkova, et al. 1995 GP MRNA of Ebola Virus Is Edited by the Ebola Virus Polymerase and by T7 and Vaccinia Virus Polymerases. *Virology* 214(2): 421–430.
- Walpita, P., Y. Cong, P. B. Jahrling, et al. 2017 A VLP-Based Vaccine Provides Complete Protection against Nipah Virus Challenge Following Multiple-Dose or Single-Dose Vaccination Schedules in a Hamster Model. *Npj Vaccines* 2(1): 21.
- Wang, L. F., W. P. Michalski, M. Yu, et al. 1998 A Novel P/V/C Gene in a New Member of the

- Paramyxoviridae Family, Which Causes Lethal Infection in Humans, Horses, and Other Animals. *Journal of Virology* 72(2): 1482–1490.
- Wang, L.-F., M. Yu, E. Hansson, et al. 2000 The Exceptionally Large Genome of Hendra Virus: Support for Creation of a New Genus within the Family Paramyxoviridae. *Journal of Virology* 74(21): 9972–9979.
- Wang, M., M. Yan, H. Xu, et al. 2005 SARS-CoV Infection in a Restaurant from Palm Civet. *Emerging Infectious Diseases* 11(12): 1860–1865.
- Wang, Y., J. Li, Y. Hu, et al. 2016 Ebola Vaccines in Clinical Trial: The Promising Candidates. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* 13(1): 153–168.
- Warfield, K. L., D. L. Swenson, D. L. Negley, et al. 2004 Marburg Virus-like Particles Protect Guinea Pigs from Lethal Marburg Virus Infection. *Vaccine* 22(25): 3495–3502.
- Weidmann, M., E. Mühlberger, and F. T. Hufert 2004 Rapid Detection Protocol for Filoviruses. *Journal of Clinical Virology* 30(1): 94–99.
- Weissenhorn, W., A. Carfi, K. H. Lee, J. J. Skehel, and D. C. Wiley 1998 Crystal Structure of the Ebola Virus Membrane Fusion Subunit, GP2, from the Envelope Glycoprotein Ectodomain. *Molecular Cell* 2(5): 605–616.
- Wiktor, T. J., M. V. Fernandes, and H. Koprowski 1964 Cultivation of Rabies Virus in Human Diploid Cell Strain WI-38. *The Journal of Immunology* 93(3): 353–366.
- Wilkinson, G. S., and J. M. South 2002 Life History, Ecology and Longevity in Bats. *Aging Cell* 1(2): 124–131.
- Williamson, M. M., P. T. Hooper, P. W. Selleck, et al. 1998 Transmission Studies of Hendra Virus (Equine Morbillivirus) in Fruit Bats, Horses and Cats. *Australian Veterinary Journal* 76(12): 813–818.
- Wilson, L., C. McKinlay, P. Gage, and G. Ewart 2004 SARS Coronavirus E Protein Forms Cation-Selective Ion Channels. *Virology* 330(1): 322–331.
- Wirblich, C., C. M. Coleman, D. Kurup, et al. 2017 One-Health: A Safe, Efficient, Dual-Use Vaccine for Humans and Animals against Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus and Rabies Virus. *Journal of Virology* 91(2): e02040-16.
- Yang, Y., L. Du, C. Liu, et al. 2014 Receptor Usage and Cell Entry of Bat Coronavirus HKU4 Provide Insight into Bat-to-Human Transmission of MERS Coronavirus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111(34): 12516–12521.
- Yang, Y., L. Zhang, H. Geng, et al. 2013 The Structural and Accessory Proteins M, ORF 4a, ORF 4b, and ORF 5 of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) Are Potent Interferon Antagonists. *Protein & Cell* 4(12): 951–961.
- Young, P. L., K. Halpin, P. W. Selleck, et al. 1996 Serologic Evidence for the Presence in Pteropus Bats of a Paramyxovirus Related to Equine Morbillivirus. *Emerging Infectious Diseases* 2(3): 239–240.
- Zaki, A. M., S. van Boheemen, T. M. Bestebroer, A. D. M. E. Osterhaus, and R. A. M. Fouchier 2012 Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. *The New England Journal of Medicine* 367(19): 1814–1820.
- Zhang, A. P. P., Z. A. Bornholdt, T. Liu, et al. 2012 The Ebola Virus Interferon Antagonist VP24 Directly Binds STAT1 and Has a Novel, Pyramidal Fold. *PLoS Pathogens* 8(2).
- Zhong, N. S., B. J. Zheng, Y. M. Li, et al. 2003 Epidemiology and Cause of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *Lancet (London, England)* 362(9393): 1353–1358.

Zhou, P., M. Tachedjian, J. W. Wynne, et al. 2016 Contraction of the Type I IFN Locus and Unusual Constitutive Expression of IFN- $\alpha$  in Bats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113(10): 2696–2701.

## Internetové odkazy

2014 Ebola Outbreak in West Africa – Case Counts | Ebola Hemorrhagic Fever | CDC  
N.d. <https://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/2014-west-africa/case-counts.html>, accessed April 17, 2018.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC)  
1998 Human Rabies--Texas and New Jersey, 1997. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* 47(1): 1–5.  
2008 Human Rabies--Minnesota, 2007. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* 57(17): 460–462.

Diagnosis | Hendra Virus Disease | CDC  
N.d. <https://www.cdc.gov/vhf/hendra/diagnosis/index.html>, accessed May 4, 2018.

Diagnosis | Nipah Virus (NiV) | CDC  
N.d. <https://www.cdc.gov/vhf/nipah/diagnosis/index.html>, accessed May 1, 2018.

Ebola Haemorrhagic Fever in Sudan, 1976  
1978 *Bulletin of the World Health Organization* 56(2): 247–270.

Ebola: Pushed to the Limit and Beyond  
N.d. Médecins Sans Frontières (MSF) International. <http://www.msf.org/en/article/ebola-pushed-limit-and-beyond>, accessed April 17, 2018.

Fisheries, Agriculture and 2015 Summary of Hendra Virus Incidents in Horses. Collection; Text.  
<https://www.business.qld.gov.au/industries/service-industries-professionals/service-industries/veterinary-surgeons/guidelines-hendra/incident-summary>, accessed May 4, 2018.

Human SARS Coronavirus (SARS-CoV) (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus)  
N.d. <https://www.uniprot.org/taxonomy/227859>, accessed April 20, 2018.  
International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)  
N.d. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>, accessed April 25, 2018.

MERS and SARS | NIH: National Institute of Allergy and Infectious Diseases  
N.d. <https://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/mers-and-sars>, accessed May 9, 2018.

Outbreak 2015  
N.d. <http://iedcr.gov.bd/index.php/outbreak/27-outbreak>, accessed May 1, 2018.

Search of: Ebola Vaccine – List Results – ClinicalTrials.Gov  
N.d. <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=Ebola+vaccine&Search=Search>, accessed April 19, 2018.

Signs and Symptoms | Hendra Virus Disease | CDC  
N.d. <https://www.cdc.gov/vhf/hendra/symptoms/index.html>, accessed May 4, 2018.

Treatment | Hendra Virus Disease | CDC  
N.d. <https://www.cdc.gov/vhf/hendra/treatment/index.html>, accessed April 30, 2018.

ViralZone – ExPASy  
[https://viralzone.expasy.org/85?outline=all\\_by\\_species](https://viralzone.expasy.org/85?outline=all_by_species)

Virology Images and Resources | IHII | UTMB  
N.d. <https://www.utmb.edu/virusimages/>, accessed April 25, 2018.

Vzteklina – problematika vztekliny a její výskyt v České republice



2018 Státní veterinární správa. <https://www.svscr.cz/zdravi-zvirat/vzteklina/>, accessed May 1, 2018.

WHO | Epidemiology and Burden of Disease

N.d. WHO. <http://www.who.int/rabies/epidemiology/en/>, accessed May 9, 2018.

WHO | Marburg Haemorrhagic Fever – Fact Sheet

N.d. WHO. <http://www.who.int/csr/disease/marburg/factsheet/en/>, accessed April 19, 2018.

WHO | Marburg Haemorrhagic Fever in Angola – Update 25

N.d. WHO. [http://www.who.int/csr/don/2005\\_08\\_24/en/](http://www.who.int/csr/don/2005_08_24/en/), accessed April 19, 2018.

WHO | Marburg Virus Disease – Uganda and Kenya

N.d. WHO. <http://www.who.int/csr/don/15-november-2017-marburg-uganda-kenya/en/>, accessed April 19, 2018.

WHO | Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)

N.d. WHO. <http://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/>, accessed April 24, 2018.

WHO | Rabies

N.d. WHO. <http://www.who.int/ith/vaccines/rabies/en/>, accessed April 27, 2018.

WHO | Summary of Probable SARS Cases with Onset of Illness from 1 November 2002 to 31 July 2003

N.d. WHO. [http://www.who.int/csr/sars/country/table2004\\_04\\_21/en/](http://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en/), accessed April 22, 2018.

WHO | Update 95 - SARS: Chronology of a Serial Killer

N.d. WHO. [http://www.who.int/csr/don/2003\\_07\\_04/en/](http://www.who.int/csr/don/2003_07_04/en/), accessed April 22, 2018.

WHO | Urgently Needed: Rapid, Sensitive, Safe and Simple Ebola Diagnostic Tests

N.d. WHO. <http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/18-november-2014-diagnostics/en/>, accessed April 15, 2018.

WHO | WHO Coordinating Vaccination of Contacts to Contain Ebola Flare-up in Guinea

N.d. WHO. <http://www.who.int/features/2016/ebola-contacts-vaccination/en/>, accessed April 19, 2018.