

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta

Netopýři jako významný rezervoár patogenních virů

Bakalářská práce

Vypracovala: Martina Franková

Školitel: doc. RNDr. Daniel Růžek, Ph.D.

České Budějovice 2014

Franková Martina, 2014: Netopýři jako významný rezervoár patogenních virů [Bats as a significant reservoir of pathogenic viruses. Bc. Thesis, In Czech]- 91p, Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation:

This thesis is about bats as reservoirs of viruses with zoonotic potential. It describes the outbreaks of the diseases caused by bats, the ways how the bats get infected and the spreading of the viruses in the bat's body. It also portrays how the bats transmit the viruses and which viruses they carry. Further it describes the methods of the research of bats and viruses they carry.

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně, pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou - elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích, 25 .11. 2014

.....

Podpis studenta

Poděkování:

Chtěla bych tímto poděkovat svému školiteli panu doc. RNDr. Danielu Růžkovi, Ph.D. za odborné vedení a čas, který mi věnoval. Dále bych ráda poděkovala mé rodině, za trpělivost a podporu.

Obsah

1. Úvod	1
2. Historie vypuklých nálezů přenášených netopýry	2
2.1 Virus vztekliny	2
2.2 Virus Hendra (HEV)	7
2.3 Virus Nipah (NIV)	10
2.4 Virus Menangle (MenPV)	12
2.5 Virus Marburg	12
2.6 Virus Ebola	14
2.7 Těžký akutní respirační syndrom (SARS)	16
3. Nakažení netopýra	19
3.1 Netopýři jako přírodní hostitelé virů	19
3.2 Přenos virů mezi jednotlivci	19
3.3 Nakažení z potravy	21
3.4 Mezi jedinci za pomoci přenašeče	21
4. Šíření viru v těle netopýra	22
4.1 Šíření viru v těle hostitele	22
4.2 Experimentální práce	23
4.2.1 Studie zabývající se rolí hnědé tukové tkáně v patogenezi vztekliny u hmyzožravých netopýrů	23
4.2.2 Studie zabývající se vlivem teploty životního prostředí na patogenezi vztekliny hmyzožravých netopýrů	25
4.2.3 Experimentální infekce netopýrů <i>Eptesicus fuscus</i> virem vztekliny	27
4.2.4 Experimentální infekce netopýrů virem Yokose	28

4.2.5 Detekce vysoké úrovně virové RNA evropského Lyssaviru Typu-1, ve štítné žláze experimentálně infikovaných netopýrů <i>Eptesicus fuscus</i>	29
4.2.6 Experimentální infekce netopýrů <i>Eptesicus serotinus</i> Evropským netopýřím lyssavirem typu 1a.....	31
4.2.7 Virologické a sérologické nálezy u netopýrů <i>Rousettus aegyptiacus</i> , experimentální naočkování vero buněk, přizpůsobených kmenu Hogan viru Marburg .	32
4.2.8 Distribuce Lyssaviru v přirozeně infikovaných netopýrech z Německa.....	33
5. Přenos patogenních virů z netopýra.....	35
5.1 Čeleď <i>Rhabdoviridae</i> , rod Lyssavirus	41
5.1.1 Lyssaviry	41
5.1.1.1 Virus Vztekliny	41
5.1.1.2 Austraský netopýří Lyssavirus	41
5.1.1.3 Evropský netopýří Lyssavirus 1 a 2	42
5.2 Čeleď <i>Rhabdoviridae</i> , rod nezařazeno	42
5.2.1 Virus Oita 296	42
5.3 Čeleď <i>Orthomyxoviridae</i> , rod Influenzavirus A.....	43
5.3.1 Chřipkový virus typu A.....	43
5.4 Čeleď <i>Paramyxoviridae</i> , rod Henipavirus	43
5.4.1 Virus Hendra	43
5.4.2 Virus Nipah	44
5.5 Čeleď <i>Paramyxoviridae</i> , rod Rubulavirus.....	44
5.5.1 Virus Mapuera.....	44
5.5.2 Virus Tioman.....	44
5.6 Čeleď <i>Coronaviridae</i>	45

5.6.1 SARS Koronavirus	45
5.7 Čeleď <i>Togoviridae</i> , rod Alphavirus	45
5.7.1 Virus Chikungunya	45
5.7.2 Virus Sindbis	46
5.8 Čeleď <i>Flaviridae</i> , rod Flavivirus	46
5.8.1 Virus Japonské encefalitidy	46
5.8.2 Kyasanur lesní virus	46
5.8.3 Virus Yokose	46
5.8.4 Virus St. Louis encefalitidy	46
5.8.5 Virus Montana myotis leukoencefalitidy	47
5.9 Čeleď <i>Bunyaviridae</i> , rod Bunyavirus	47
5.9.1 Virus Guama	47
5.10 Čeleď <i>Bunyaviridae</i> , rod Hantavirus	47
5.10.1 Virus Hantaan	47
5.11 Čeleď <i>Bunyavirida</i> , rod Phlebovirus	47
5.11.1 Virus Toscana	47
5.11.2 Virus horečky Rift Valley	48
5.12 Čeleď <i>Bunyaviridae</i> , rod nezařazeno	48
5.12.1 Virus Kaeng Khoi	48
5.13 Čeleď <i>Reoviridae</i> , rod Orthoreovirus	48
5.13.1 Virus Pulau	48
5.13.2 Virus Nelson Bay	49
5.14 Čeleď <i>Arenaviridae</i>	49

5.14.1 Virus Tacaribe	49
5.15 Čeleď <i>Herpesviridae</i> , rod nezařazeno	49
5.15.1 Cytomegalovirus	49
5.16 Čeleď <i>Filoviridae</i> , rod Ebolavirus a Marburg virus	49
5.16.1 Virus Ebola.....	49
5.16.2 Virus Marburg	50
6. Výzkum netopýrů	51
6.1 Metody používané při laboratorním výzkumu netopýrů	51
6.1.1 Naočkování.....	51
6.1.2 Sledování.....	51
6.1.3 Odebírání vzorků.....	52
6.1.3.1 Odebírání krevních vzorků	52
6.1.3.2 Ústní výtěry	52
6.1.3.3 Odběry moče a trusu.....	52
6.1.4 Odebírání orgánů.....	52
6.2 Metody výzkumu netopýry přenášených virových nákaz	53
6.2.1 Buněčné a tkáňové kultury	53
6.2.3 Hemadsorbční test	53
6.2.4 Imunofluorescence	54
6.2.5 Neutralizační test.....	54
6.2.6 ELISA.....	55
6.2.7 Polymerázové řetězové reakce	56
6.2.8 Imunohistochemie	57

6.2.9 Rychlý neutralizační test viru vztekliny.....	57
6.2.10 Western blotting	58
7. Diskuse	59
8. Závěr.....	62
9. Seznam použité literatury	64

Cíl práce

Netopýři představují významnou skupinu savců přenášející nejrůznější infekční agens se zoonotickým potenciálem. Cílem mé práce je analyzovat a sumarizovat publikované poznatky věnující se této problematice a zhodnotit úlohu netopýrů jako přenašečů a rezervoárů virových nákaz. Dále jsem do práce zahrnula metodiku výzkumu netopýrů a netopýry přenášených nákaz.

1. Úvod

Letouni (řád *Chiroptera*) tvoří více než pětinu všech savců. Popsáno je zhruba tisíc druhů v 17 – 18 čeledích. Místo předních končetin mají křídla tvořená z dlouhých, štíhlých prstů, pažních kostí a pružné kožní blány zvané patagium (Clutton-Brock 2002). Netopýři jsou schopni létat na dlouhé vzdálenosti. Například mexický netopýr *Tadarida brasiliensis mexicana* létá 800 mil mezi jeskyní v Texasu a Novém Mexiku (Griffin 1970, Cockrum 1969). Jejich aktivita začíná kolem soumraku, kdy netopýři opouští svůj úkryt a hledají potravu. Živí se masem, hmyzem, rybami, ovocem, nektarem. Pouze tři druhy netopýrů se živí krví (*Desmodontinae*). Úkryty nalézají v jeskynních, skalních štěrbinách, stromech, nebo ve stavbách. Někteří žijí jednotlivě, zatímco jiní v koloniích, které mohou skýtat více než jeden milion jedinců (Simmons a Conway 1997). Mnoho druhů netopýrů z podřádu *Microchiroptera* se dožívá až 25 let, nejdéle žijící zdokumentovaný netopýr byl 35 let starý (Austad 2005).

Netopýři nakažení viry většinou nevykazují žádné zjevné příznaky onemocnění, ale v některých případech, se zdají být trvale infikovaní (Baker a další 2013, Wang a další 2011, Sohayati a další 2011). Jsou hostitelé původců a potenciálních původců zoonóz. Představují epidemiologická rizika některých nemocí, které mohou být pro člověka i smrtelné. Jako je vir vztekliny, Eboly, leptospirózy a dalších virů (Greenhall 1964, Wibbelt a další 2007).

Zoonózy jsou nemoci, které jsou přenosné ze zvířat na člověka v přirozených podmínkách. Přibližně asi 60% všech infekčních agens onemocnění člověka jsou zoonotického původu (Jones a další 2008, Woolhouse a Gowtage-Sequeria 2005).

V lednu 2014 databáze virů shromáždila informace o 4176 virech přenášených netopýry z 23 virových rodin, zjištěných u 196 druhů netopýrů v 69 zemích po celém světě (Chen a další 2014).

2. Historie vypuklých nálezů přenášených netopýry

2.1 Virus vztekliny

Hlavními rezervoáry viru vztekliny jsou na všech kontinentech šelmy a netopýři (Rupprecht a další 2002). Kromě Latinské Ameriky a Mexika, byly od roku 1950 hlášeny lidské případy vztekliny i ve Spojených státech. Zde bylo nahlášeno 39 případů (da Rosa a další 2006).

Nejstarší známý vztah mezi zoonotickými viry a netopýry je mezi virem vztekliny a upírem. Tento typ netopýrů, který se živí krví, se vyskytuje jen v Latinské Americe. Úpravy, které umožňují upírům sát krev (hematophagie), jsou také vysoce efektivní v přenosu viru vztekliny. Jestli byl virus přítomný už v předkolumbovské Americe nebo sem byl zavlečen, je nejasné (Johnson a další 2014).

Nejstarší údaj o lidském úmrtí spojeném s upířím útokem pochází z doby španělského dobytí Ameriky v 16. století (De Oviedo 1950). Přenos viru vztekliny z upíra na dobytek byl uznán až za více jak sto let (Johnson a další 2014).

První ohnisko netopýry přenášené lidské vztekliny, které bylo popsáno v literatuře, bylo v Trinidadu v roce 1927, diagnóza se potvrdila v roce 1931 (Baer 1991). V této epidemii zemřelo 55 lidí v letech 1929 a 1935 (Verteuil a Urich 1935). K druhému došlo v Mexiku v roce 1951 (Malága a Campillo 1957).

V roce 2004 bylo v Latinské Americe zaznamenáno 46 případů a v roce 2005 55 případů smrtelné lidské vztekliny přenášené upíry (SIRVERA). Většina případů se vyskytla v oblasti Amazonky v Brazílii a Peru, a v některých odlehlých komunitách Kolumbie (da Rosa a další 2006). Tentýž rok, poprvé v historii programu Regionální Odstranění Vztekliny, koordinované Pan American Health Organization (PAHO), byl počet případů lidské vztekliny přenášené volně žijícími živočichy (ve většině případů upíry) vyšší než počet případů vztekliny přenášené psy (Schneider a další 2005).

V roce 2005 bylo hlášeno 13 případů psy přenášené lidské vztekliny v Latinské Americe, ale netopýry přenášené lidské vztekliny bylo hlášeno 60. Případy týkající se upírů byly také v Brazílii (41 v amazonské oblasti a 1 v jiné oblasti), 7 v Peru, 3 v Kolumbii, 2 v Ekvádoru a 1 v Bolívii (SIRVERA).

Tabulka I shrnuje informace o možných ohniskách nalezených v literatuře, v kombinaci s údaji z ministerstev zdravotnictví z Peru a Brazílie, neboť Ftyto dvě země ohlásily největší počet lidských případů vztekliny (Schneider a další 2009).

Tab.I: Ohniska netopýry přenášené lidské vztekliny nelezaná v literatuře a v oficiálních datech ministerstev zdravotnictví Peru a Brazílie (Schneider a další 2009, SIRVERA, Ministério da Saúde, Brasil 2007, Oliveira 2004, Knegt a další 2006, Ministerio de Salud, Perú 2007, Valderama a další 2006, Lopaz a další 1992, Wada a další 2004, Schneider 1991, Verlinde a další 1975, López 1991, Schneider 1996, Schneider 1995, Gonçalves a další 2002, Uieda a další 1995).

	Rok	Případy
70. léta	1975	Bylo hlášeno ohnisko netopýry přenášené lidské vztekliny v Peru v Amazonské oblasti (13 případů), v oblasti Amazonky v Brazílii ve státě Pará (6 případů) a ve státě Surinam (7 případů).
	1977	Bylo hlášeno 5 případů v oblasti Pasco v Peru.
80. léta	1984	Bylo hlášeno 15 případů v Amazonské oblasti v Peru.
	1985	Bylo hlášeno 19 případů v oblasti Ayacucho v Peru
	1987	Bylo hlášeno 7 případů v oblasti Madre de Dios v Peru.
	1989	Bylo hlášeno 28 případů v oblasti Madre de Dios v Peru
<p>V Peru, během tohoto desetiletí, bylo nahlášeno celkem 76 případů ve výše uvedených ohniskách (69 případů), z nichž 7 případů bylo rozloženo mezi dvě oblasti během různých let.</p> <p>V Brazílii během 80. let, bylo hlášeno 34 případů netopýry přenášené vztekliny, přestože nebylo hlášeno 5 případů nebo více ze stejného ohniska nemoci.</p> <p>Mezi nimi byly 2 případy ve státě Alagoas.</p>		
90. léta	1990	Bylo hlášeno 29 případů v Amazonské oblasti v Peru. Ve stejném roce, bylo ohnisko i v oblasti Amazonky v Brazílii ve státě Mato Grosso, s 5 nahlášenými případy a 3 podezřeními na vzteklinu.
	1991	Bylo hlášeno 9 případů v Amazonské oblasti v Peru.
	1994	Bylo hlášeno 22 případů v Amazonské oblasti v Peru.
	1995	Bylo hlášeno 11 případů v oblasti Loreta v Peru.
	1996	Bylo hlášeno 8 případů v oblasti Cusco v Peru.
<p>V Peru během tohoto desetiletí, bylo celkem nahlášeno 105 případů ve výše uvedených ohniskách (79 případů), zahrnujících 5 nebo více případů ze stejné oblasti a 26 případů z 8 různých oblastí během rozdílných let.</p> <p>V 90. letech, další ohniska zahrnující méně než 5 případů byly hlášeny v Brazílii, s celkovým počtem 12 případů v roce 1991 a 13 případů v roce 1992.</p>		
2000 do současnosti	2004	Bylo hlášeno 21 případů ve dvou obcích ve státě Pará v Brazílii. Ve stejném roce, bylo hlášeno 14 případů v oblasti Chocó v Kolumbii. A dalších 8 případů bylo hlášeno v Amazonské oblasti v Peru.

	2005	<p>V Brazílii bylo hlášeno 17 případů ve státě Pará a 24 případů bylo hlášeno ve státě Maranhão. Tento rok byl nahlášen největší počet případů netopýry přenášené vztekliny v Americe: Brazílie (42 případů), Peru (7 případů), Kolumbie (3 případy), Ekvádor (2 případy) a Bolívie (1 případ). Celkem 55 případů lidské vztekliny bylo způsobeno upíry. A dalších 5 případů lidské vztekliny bylo způsobeno jinými druhy netopýrů v Mexiku.</p>
--	-------------	--

Od roku 1996, SIRVERA (Regionální informační systém pro epidemiologický dozor vztekliny v Americe) začala rozlišovat mezi druhy netopýrů (hematofágní a nehematofágní), v hlášených 199 lidských případech, nakažených během období 1996-2006. Z těchto případů bylo 146 (73%) nakaženo upíry, 16 (8%) jinými druhy netopýrů a u 37 (19%) nebyl hlášen druh. Toto je zaznamenáno v tabulce II (Schneider a další 2009, SIRVERA).

Tab. II: Případy netopýry přenášené lidské vztekliny, s druhy netopýrů, které tyto nákazy způsobily v Latinské Americe v letech 1996 – 2006 (SIRVERA/PAHO 2007)

Stát	Druh	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	Celkem
Argentina	Upír	a											
	Jiný druh netopýra		1				1						2
	Neupřesněný												
Bolívie	Upír										1		1
	Jiný druh netopýra												
	Neupřesněný												
Brazílie	Upír							3	3	22	42	2	72
	Jiný druh netopýra												
	Neupřesněný	1	1 b	4	2								8
Chile	Upír												
	Jiný druh netopýra	1											1
	Neupřesněný												
Kolumbie	Upír	3								14	3		20
	Jiný druh netopýra												
	Neupřesněný												
Kuba	Upír												
	Jiný druh netopýra					1			1				2
	Neupřesněný												
Domini-kánská republika	Upír												
	Jiný druh netopýra									1			1
	Neupřesněný												
Ekvádor	Upír										2		2
	Jiný druh netopýra												
	Neupřesněný												
Salvador	Upír							1					1
	Jiný druh												

	netopýra												
	Neupřesněný												
Mexiko	Upír							1					1
	Jiný druh netopýra							1			5	1	7
	Neupřesněný	6	2	7	4	2	1	2					24
Nicaragua	Upír				1								1
	Jiný druh netopýra												
	Neupřesněný												
Paraguay	Upír							2					2
	Jiný druh netopýra												
	Neupřesněný							1					1
Peru	Upír	11 c	3	3	6	2	2		c	8	7	2	44
	Jiný druh netopýra			3	1								3
	Neupřesněný												1
Surinam	Upír												
	Jiný druh netopýra												
	Neupřesněný			1									1
Venezuela	Upír									2			2
	Jiný druh netopýra												
	Neupřesněný		1				1						2
Celkem		22	8	18	14	5	6	10	4	47	60	5	199

a ... Žádné hlášené případy netopýry přenášené lidské vztekliny

b... Data revidovaná Ministerstvem zdravotnictví v Brazílii.

c...Data revidovaná Ministerstvem zdravotnictví v Peru.

2.2 Virus Hendra (HEV)

Virus Hendra byl objeven v australském Queenslandu, v roce 1994, zabil 14 koní a jednoho člověka, který se od koní nakazil (Murray a další 1995), a byl zodpovědný za nejméně čtyři další ohniska nákaz v letech 1994 a 2006 (Eaton a další 2006).

Virus byl původně známý jako koňský Morbillivirus, ale poté co se v roce 1995 nakazil farmář z Mackay v Queenslandu od dvou infikovaných koní, kteří zemřeli před více než rokem, byl přejmenován na virus Hendra (Hooper a další 1996, Rogers a další 1996).

Počet případů nebyl velký, ale v roce 2011 bylo ve srovnání s předchozími roky případů nakažených koní více (do konce srpna 2011 17 případů) (Anonymous 2011).

V roce 2011 od června do října bylo infikováno 18 koní a byl uznán první případ infikovaného psa (Broder 2012).

V roce 2012 došlo k nakažení 10 koní v Queenslandu, a v roce 2013 byl infikován jeden pes a kůň, a sedm koní zemřelo (The Australian Veterinary Association Ltd. 2014).

Přírodními hostiteli viru Hendra jsou kaloni (Plowright a další 2011). Přesný způsob přenosu viru z kaloňů na koně nebyl zjištěn. S největší pravděpodobností, se koně nakazili na pastvě, kontaminovaným krmivem, kaloními výkaly nebo kamaší (vláknitý rostlinný materiál, který zůstává po sežvýkání potravy netopýry) (Hess a další 2011, Paterson a další 2011).

Tabulka III znázorňuje místa ohnisek viru Hendra, počty nakažených a zemřelých lidí i koní.

Tab.III: Ohniska viru Hendra, počty nakažených lidí a koní (Rogers a další 1996, Hooper a další 1996, Field a další 2000, Hanna a další 2006, Murray 2005, Arthur 2006, Promed 2007, Promed 2008, Field a další 2010, Playford a další 2010, Promed 2009, Promed (Australia 04) 2009, Promed 2010, The Australian Veterinary Association Ltd. 2014).

Rok (měsíc)	Místo	Případy
Srpen 1994	Mackay, Queensland	Smrt dvou koní a jednoho člověka.
Září 1994	Hendra, Queensland	Smrt dvaceti koní. Dva lidé infikovaní a jedno lidské úmrtí.
Leden 1999	Cairns, Queensland	Smrt jednoho koně.
Říjen 2004	Gordonvale, poblíž Cairns, Queensland	Smrt jednoho koně. Jeden člověk infikovaný.
Prosinec 2004	Townsville, Queensland	Smrt jednoho koně.
Červen 2006	Peachester, Queensland	Smrt jednoho koně.
Listopad 2006	Poblíž Murwillumbah, Nový Jižní Wales	Smrt jednoho koně.
Červen 2007	Peachester, Queensland	Smrt jednoho koně.
Červenec 2007	Clifton Beach, Queensland	Smrt jednoho koně.
Červenec 2008	Thornlands, Redlands, Queensland	Smrt pěti koní. Dva lidé byli infikováni, jedno lidské úmrtí.
	Proserpine, Queensland	Smrt čtyř koní.
Srpen 2009	Cawarral, Queensland	Smrt čtyř koní. Smrt jednoho člověka.
Září 2009	Bowen, Queensland	Smr dvou koní.
Květen 2010	Tewantin, Queensland	Smrt jednoho koně.
Červen 2011	Logan Reserve, Queensland	Smrt jednoho koně.
	Kerry, Queensland	Smrt jednoho koně.
	McLeans Ridges, Nový Jižní Wales	Smrt dvou koní.
Červenec 2011	Mt Alford, Queensland	Smrt tří koní. Infikování jednoho psa.
	Utungun, Nový Jižní Wales	Smrt jednoho koně.
	Park Ridge, Queensland	Smrt jednoho koně.
	Kuranda, Queensland	Smrt jednoho koně.

	Hervey Bay, Queensland	Smrt jednoho koně.
	Corndale, Nový Jižní Wales	Smrt jednoho koně.
	Boondall, Queensland	Smrt jednoho koně.
	Chinchilla, Queensland	Smrt jednoho koně.
	Mullumbimby, Nový Jižní Wales	Smrt jednoho koně.
Srpen 2011	Newrybar, Nový Jižní Wales	Smrt jednoho koně.
	Pimlico, Nový Jižní Wales	Smrt dvou koní.
	Mullumbimby, Nový Jižní Wales	Smrt jednoho koně.
	Currumbin Valley, Queensland	Smrt jednoho koně.
	Tintobar, Queensland	Smrt jednoho koně.
Leden 2012	Townsville, Queensland	Nakažený jeden kůň.
Květen 2012	Rockhampton, Queensland	Nakažený jeden kůň.
	Ingham, Queensland	Nakažený jeden kůň.
Červen 2012	Mackay, Queensland	Nakažený jeden kůň.
	Rockhampton, Queensland	Nakažení tři koně.
Červenec 2012	Cairns, Queensland	Nakažený jeden kůň.
Září 2012	Port Douglas, Queensland	Nakažený jeden kůň.
Říjen 2012	Ingham, Queensland	Nakažený jeden kůň.
Leden 2013	Mackay, Queensland	Smrt jednoho koně.
Únor 2013	Tablelands, Queensland	Smrt jednoho koně
Červen 2013	North-west Macksville, New South Wales	Smrt jednoho koně
	Brisbane Valley, Queensland	Smrt jednoho koně.
Červenec 2013	Macksville, New South Wales	Smrt jednoho koně.
	Gold Coast, Queensland	Smrt jednoho koně.
	West Kempsey, New South Wales	Smrt jednoho koně.
	Kempsey, New South Wales	Smrt jednoho koně.
19. červenec 2013	Kempsey, New South Wales	Jeden infikovaný pes.

2.3 Virus Nipah (NIV)

Nipah je přítomen v populacích kaloňů (*Pteropus spp.*) v Indonésii, Thajsku, Malajsii, Kambodži (Calisher a další 2006).

V roce 1998 v Malajsii propukla epidemie viru Nipah, která způsobila smrt 100 lidí. Nejdříve byla nakažena domácí prasata a od nich se nákaza přenesla na lidi, převážně na chovatele těchto prasat. (Chua a další 1999). Více než 1 milion nakažených prasat bylo utraceno (Chua a další 2000). Tento virus se rozšířil i do Singapuru, přepravou infikovaných prasat na jatkách. Bylo zaznamenáno 11 nakažených pracovníků jatek a jedna oběť (Paton a další 1999).

K dalším vypuknutím NIV encefalitidy došlo v Indii v roce 2001 v Siliguri, kde došlo k přenosu nákazy i mezi rodinnými příslušníky a zdravotnickým personálem (Chadha a další 2006), a v roce 2007 také v Indii v blízkosti hranice s Bangladéšem (Mandal a Banerjee 2007). Kromě ohnisek v letech 2001-2007, došlo k dalším 17 případům viru Nipah (Luby a další 2009). Na rozdíl od ohnisek v Malajsii (Singapuru), které mohly být vysvětleny jedním nebo několika přenosy viru Nipah z infikovaných netopýřů na prasata a z nich na člověka (Epstein a další 2006), se v Bangladéši přenos viru z netopýřů na člověka opakuje a stále probíhá (Luby a další 2009).

Tabulka IV popisuje ohniska viru Nipah v letech 1998-2011, počty smrtelných případů a místa propuknutí.

Tab.IV: Ohniska viru Nipah v letech 1998-2011 (Chua a další 2000, Paton a další 1999, Harit a další 2006, Hsu a další 2004, Montgomery a další 2008, Luby a další 2009, Hossain a další 2008, Homaira a další 2007, Arankalle a další 2011, Outbreaks 2008, Nipah outbreak 2010, Nipah outbreak 2011).

Rok (měsíc)	Místo	Případy (smrtelné)
1998-1999 (září-květen)	Malajsie	265 (105)
1999 (březen)	Singapur	11(1)
2001 (leden-únor)	Indie (Siliguri)	66 (49)
2001 (duben-květen)	Bangladéš (Meherpur)	13 (9)
2003 (leden)	Bangladéš (Naogaon)	12 (8)
2004 (leden-duben)	Bangladéš (Rajbari)	12 (10)
2004 (únor-duben)	Bangladéš (Faridpur)	36 (27)
2005 (leden)	Bangladéš (Tangail)	12 (11)
2007 (leden-únor)	Bangladéš (Thakurgaon)	7 (3)
2007 (duben)	Indie (Nadia)	30 (5)
2007 (březen-duben)	Bangladéš (Kushtia)	8 (4)
2008 (únor)	Bangladéš (Rajbari a Manikgonj)	9 (8)
2009-2010 (prosinec-duben)	Bangladéš (Faridpur)	17 (15)
2011 (leden-únor)	Bangladéš (Lalmonirhat)	24 (17)

2.4 Virus Menangle (MenPV)

V roce 1997, další nový virus Menangle, z rodu paramyxovirus, se ukázal jako příčina propuknutí onemocnění u prasat, způsobující porody mrtvých selat a potraty ve vepříně nedaleko Sydney (Philbey a další 1998). Dva pracovníci, kteří byli vystaveni nakaženým prasatům, onemocněli chřipkovým onemocněním s vyrážkou (Chant a další 1998).

Po zavedení viru Menangle do naivního chovného stáda, byla nákaza patrná od dubna do září roku 1997. Avšak virus byl vymýcen až v únoru roku 1999, téměř po 18 měsících, se reprodukce ve vepříně vrátila k normálu (Kirkland a další 2001). Tato epidemie z roku 1997, byla jediná epidemie, kterou způsobil virus Menangle (Philbey a další 1998).

Jako zdroj viru byli zkoumáni netopýři. Bylo zjištěno, že druhy *Pteropus poliocephalus* a *Pteropus scapulatus*, které měly hnízdiště v blízkosti vepřína, se na nákaze podílely (Philbey a další 1998).

2.5 Virus Marburg

Virus Marburg byl identifikován v roce 1967, v Marburgu v Německu, při vypuknutí nákazy v laboratoři, způsobené manipulací tkání afrických zelených opic dovezených z Ugandy (Peters 2005, Siebert 1972).

V letech 1975-1987, se vyskytly ojedinělé případy v Jižní Africe, kdy nemocný člověk, který v nedávné době cestoval do Zimbabwe, byl s podezřením na nakažení virem Marburg přijat do nemocnice v Jižní Africe. Muž zemřel, ale nakazila se zdravotní sestra (Gear a další 1975, WHO 2005) a v Keni (1980 a 1987) (Johnson a další 1996, Smith a další 1982, Khan a další 1998). V lednu roku 1980 a v srpnu 1987 se dva pacienti nakazili při návštěvě jeskynního komplexu, s velkým počtem netopýřů, Mt Elgon v Keni (Bausch a další 2006).

Další epidemie byly hlášeny v Demokratické republice Kongo v letech 1998-2000 (WHO 1999, WHO 1999), v Angole v letech 2004-2005 (Centers for Disease Control and Prevention 2005). V červenci a září 2007 se virus Marburg znovu objevil u zlatokopů pracujících v dole Kitaka, v jihozápadní Ugandě (Towner a další 2009, WHO 2007).

V roce 2008 se objevily dva nezávislé případy nakažených turistů, kteří navštívili jeskyně obývané netopýry rodu *Rousettus* v Ugandě (WHO 2012).

Za zdroj infekce jsou považováni primáti a netopýři, ale jejich role pro přenos a nákazu člověka není jasná (ENIVD).

Všechny místa kde došlo k výskytu a propuknutí viru Marburg, s lety a počty případů nakažení, jsou zapsány v tabulce V.

Tab. V: Virus Marburg, místa vyskytnutí, roky a počty nakažených jedinců (úmrť) (ENIVD, Smith a další 1982, WHO 2005, Lawrence a Hill 2005, WHO 2007, Borchert a další 2006, Bausch a další 2006, Adjemian a další 2011, WHO 2012).

Rok (měsíc)	Místo	Případy (úmrť)
1967	Evropa	32
Srpen 2007	Uganda	4 (1)
Říjen 2012		nespočítáno
1982	Zimbabwe	1
1980	Kenya	nespočítáno
1987		1
1998-2000	Demokratická republika Kongo (Durba)	149 (123)
2005	Angola (Uige Province)	374 (329)

2.6 Virus Ebola

Rod Ebolavirus se skládá ze 4 druhů: Reston ebolavirus, ebolavirus Pobřeží slonoviny (CIEBOV), Sudan ebolavirus (SEBOV) a Zaire ebolavirus (ZEBOV) (Fauquet a další 2005). Zaire ebolavirus je nejvíce virulentní, což představuje 1390 lidských případů v 13 ohniscích zaznamenaných v průběhu posledních 35 let (Johnson 1978).

Možní hostitelé viru Ebola v Africe jsou kaloni *Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti* a *Myonycteris torquata* (Leroy a další 2005). Další druh netopýra, který je potenciálním hostitelem viru je *Rousettus amplexicaudatus*, v němž byly detekovány protilátky proti viru Ebola Reston (Taniguchi a další 2011).

První epidemie ebolaviru Zaire byla v roce 1976 v Yambuku v Demokratické republice Kongo (Johnson 1978), v ojedinělých případech byly nákazy zaznamenány i v Tandale v roce 1977 (Heymann a další 1980).

Po 17 letech vypukla další epidemie v roce 1994 ve městě Mekouka v Gabonu. Následně v Gabonu vypukly další dvě epidemie v roce 1996 v Mayinout a Booué (Georges-Courbot a další 1997, Georges a další 1999).

V letech 2001 a 2005 v oblasti mezi severovýchodním Gabonem a severozápadě republiky Kongo, došlo k 5 vzplanutím Zaire ebolaviru (Pourrut a další 2005, Wittmann a další 2007). Tato ohniska byla v Mekambo 2001-2002 (Gabon), Mbomo-Kelle 2001-2002 (republika Kongo), Kelle 2003 (republika Kongo), Mbandza.Mbomo 2003 (republika Kongo) a Etoumbi 2005 (republika Kongo) (Leroy a další 2004, Rouquet a další 2005, Lahm a další 2007).

Ebolavirus Zaire se nečekaně znovu objevil v Demokratické republice Kongo v roce 2007 v oblasti Luebo, téměř 1000 km jihovýchodně od posledního ohniska před dvěma lety. Vypuknutí v Luebu v roce 2007 trvalo od června do listopadu a bylo nakaženo 264 osob, zemřelo 187 lidí (70% úmrtnost) (ProMED-mail 2007). O rok později se tento virus znovu objevil ve stejné oblasti (Luebo) a epidemie trvala od listopadu 2008 do února 2009. Nebyla provedena žádná šetření, úřední odhady byly 32 infikovaných lidí a 15 úmrtí (47% úmrtnost) (World Health Organization 2009). Byla objevena epidemiologická souvislost mezi stěhovavými druhy netopýrů, u nichž je známo, že jsou rezervoáry viru Zair Ebola, a vypuknutí viru Ebola v Luebu v roce 2007 a 2008. Velká podobnost mezi viry v Luebu

v roce 2007 a v Luebu v roce 2008 naznačuje, že místní populace volně žijících živočichů (pravděpodobně netopýrů) nakazila a zapříčinila znovu objevení viru (Grard a další 2011).

V tabulce VI jsou zaznamenány případy nakažení virem Eboly, místo výskytu případů a úmrtnost.

Tab. VI: Nákazy virem Ebola, Ebolavirus Zaire (ENIVD, Johnson a další 1977, WHO. Inter.Com. Zaire 1978, WHO. Inter.Com. Sudan 1978, Heymann a další 1980, Baron 1983, WHO 1979, Clegg a další 1995, Georges a další 1999).

Místo		Rok (měsíc)	Případy (úmrtnost)
Demokratická republika Kongo	Yambuku	1976	318 (88%)
	Tandala	1977	1
	Kikwit	1995	315 (81%)
	Cuvette Ouest	Říjen 2001 - 2002	59 (75%)
	Kellé Mbomo a	2003	35 (83%)
	Etumbi Mbomo a	2005	12 (75%)
	Kasai	2007	Více než 300 (50%)
Uganda	Gulu, Masindi, Mbarara	2000-2001	425 (53%)
Sudan	Nzara	1976	284 (53%)
	Nzara	1979	34 (65%)
	District Yambio	2004	17 (41%)
Gabon	Minkouka	1994	(57%)
	Makokou	1994	52 (60%)
	Makokou	Leden 1996	31 (68%)
	Makokou	Červenec 1996 – leden 1997	59 (75%)

	Ogoone Invido Provence	Říjen 2001-2002	65 (82%)
Côte d'Ivoire		1994	1
Jižní Afrika		1996	1 případ z Gabonu, druhý v Jižní Africe (50%)

2.7 Těžký akutní respirační syndrom (SARS)

V roce 2002 začala globální pandemie viru SARS v jižní Číně a Hong Kongu, která vedla k 8422 infikovaných lidí a 916 lidských úmrtí (10,9% úmrtnost) po celém světě (WHO 2003). Epidemie byla sledována, za intenzivních karanténních opatření a od července 2003 nebyl hlášen nový případ. Šest měsíců po skončení epidemie, se však znovu objevil v prosinci 2003 (WHO 2004). Byly hlášeny 4 zdánlivě nesouvisející případy (Liang a další 2004). Všichni tito pacienti byli v minulosti vystaveni přímému nebo nepřímému kontaktu s volně žijícími zvířaty (Song a další 2005, Wang a další 2005).

Pro přenos koronaviru těžkého akutního respiračního syndromu (SARS-CoV) na člověka, je nutné, aby se virus rychle přizpůsobil pomocí hostitele. Vědci se domnívali, že tímto hostitelem, by mohla být cibetka palmová (*Paguma sp.*). Jako rezervoár koronavirů viru SARS, byl identifikován kaloň *Rousettus leschenaultia* obývající jeskyně (Li a další 2005). Aktuální hypotéza je, že cibetka palmová (*Paguma sp.*), by se mohla nakazit od netopýra a pak virus přenést na člověka (Lau a další 2005).

Tabulka VII poskytuje souhrn případů Těžkého akutního syndromu (SARS) od listopadu 2002 do srpna 2003.

Tab. VII: Případy Těžkého akutního syndromu (SARS) od listopadu 2002 do srpna 2003 (WHO 2003).

Datum	Místo	Případy	Úmrtí
24. březen 2003	Austrálie	6	0 (0%)
3. duben 2003	Brazílie	1	0 (0%)
23. únor 2003	Kanada	251	41 (17%)
16. listopad 2002	Čína	5327	349 (7%)
15. únor 2003	Čína, Hong Kong	1755	300 (17%)
5. květen 2003	Čína, Macao	1	0 (%)
25. únor 2003	Čína, Taiwan	665	180 (27%)
2. duben 2003	Kolumbie	1	0 (0%)
30. duben 2003	Finsko	1	0 (0%)
21. březen 2003	Francie	7	1 (14%)
9. březen 2003	Německo	9	0 (0%)
25. duben 2003	Indie	3	0 (0%)
6. duben 2003	Indonésie	2	0 (0%)
12. březen 2003	Itálie	4	0 (0%)
9. duben 2003	Kuvajt	1	0 (0%)
14. březen 2003	Malajsie	5	2 (40%)
31. březen 2003	Mongolsko	9	0 (0%)
20. duben 2003	Nový Zéland	0	0 (0%)
25. únor 2003	Filipíny	14	2 (14%)
27. únor 2003	Irsko	1	0 (0%)
25. duben 2003	Korea	3	0 (0%)
19. březen 2003	Rumunsko	1	0 (0%)
5. květen 2003	Rusko	1	0 (0%)

25. únor 2006	Singapur	238	33 (14%)
3. duben 2003	Jižní Afrika	1	1 (100%)
26. březen 2003	Španělsko	1	0 (0%)
2003	Švédsko	3	0 (0%)
9. březen 2003	Švýcarsko	1	0 (0%)
11. březen 2003	Thajsko	9	2 (22%)
1. březen 2003	Anglie	4	0 (0%)
9. leden 2003	USA	33	0 (0%)
23. únor 2003	Vietnam	63	5 (8%)

3. Nakažení netopýra

3.1 Netopýři jako přírodní hostitelé virů

Netopýři jsou přírodní hostitelé viru Hendra, Nipah, Ebola, Marburg, Respiroviru, Rubulaviru, Morbilliviru, Avulaviru, a dalších.

Hostitel se snaží zjistit a odstranit patogeny imunitní odpovědí, aby nedošlo k onemocnění nebo dokonce úmrtí. Na druhé straně, se virus snaží zajistit si dlouhodobé přežití, udržením replikace a přenosu, bez propuknutí nemoci nebo mortality (Real 2007).

Nepřítomnost symptomů onemocnění je výsledkem dobře vyvinutých virových mechanismů. Při infekci RNA viry hrají klíčovou roli jejich bílkoviny a funkce. Blokují hostitelskou vrozenou imunitu, upravují buněčné signální dráhy a přesměrovávají normální buněčné funkce (Frieman a Baric 2008, Tan a další 2006, Fontana a další 2008). Viry, které neustále napadají netopýří populace, mohou také sloužit jako jejich ochrana před predátory (například virus Hendra a filoviry) (Chua a další 2002, Chua 2003).

3.2 Přenos virů mezi jednotlivci

Přenos infekčních agens přímým kontaktem, aerosolem nebo vektory je usnadňován velkým počtem netopýrů v koloniích a jejich sociálními návyky jako je vzájemná péče, kousání během námluv a páření (Neuweiler 2000). Horizontální přenos je hlavní formou vnitrodruhového přenosu (Plowright a další 2008).

Předpokládáme, že při páření, kdy dochází k intenzivním interakcím mezi jednotlivci, se zvyšuje riziko přenosu viru (Markus 2002). Bylo prokázáno, že účinky testosteronu usnadňují nakažení netopýrů (Zuk a McKean 1996).

Počet netopýrů v každé kolonii je značně proměnlivý, od méně než 10 (Morrison 1979) až po více než 200 000 jedinců (Eby 1991). Při změnách hierarchie v kolonii, dochází k boji o nadvládu (Wong a další 2007). Sezónní narození mláďat, zajišťuje nové imunologicky naivní jedince, díky nimž se virus udrží v populaci (Begon a další 1999).

Některé druhy netopýrů migrují na velké vzdálenosti (Breed a další 2010). Díky tomu, nakažený jedinec slouží jako vektor pro zavedení nového viru do zdravé vzdálené populace (Hutterer a další 2005). Například netopýři rodu *Tadarida brasiliensis mexicana* létají 800 mil mezi jeskyněmi v Texasu a Novém Mexiku, které obývají v létě a místy, kde přezimují (Cockrum 1969).

Existují vnitřní faktory, jako věk, tělesná kondice, reprodukce, společenské postavení v kolonii, které mohou ovlivnit přenos virů. Například, v důsledku hladovění a období rozmnožování, dojde ke zvýšení napětí a utlumení imunitních reakcí, takže jsou jedinci více náchylní k infekci (Plowright a další 2008).

Netopýři žijí v průměru 3,5 krát déle než jiní savci stejné velikosti, to podporuje přetrvávání viru v jejich těle (Wilkinson a South 2002). Zdá se, že rostoucí délka předloktí netopýra, má souvislost, se zvyšujícím se rizikem infekce. Jedním z vysvětlení je, že velikost netopýra je spojena s dominancí. Dominantní netopýři mají vyšší míru kontaktu, při páření (Markus 2002) i při obraně místa před vniknutím cizích jedinců (Birt 2004).

Evolučními změnami prošli netopýři poměrně málo. Přestože fosilní záznamy o evoluci netopýrů jsou neúplné (Jones a další 2002), nedávné analýzy 17 jaderných genů dokazují, že řád *Chiroptera* pochází z Eocénu (před 52 až 50 000 000 lety), kdy se zvýšila globální teplota. Tři hlavní linie *Microchiroptera* byly dohledány k Laurasii a čtvrtá do Gondawany (Teeling a další 2005). Podobným způsobem byly dohledány původy u některých virů, které přenáší netopýři (Gould 1996). Viry se tedy mohly vyvinout a přizpůsobovat v netopýrech v průběhu milionů let (Calisher a další 2006).

Některé druhy netopýrů, mají schopnost hibernace přes zimu, aby šetřili energii. Jedná se o stav strnulosti, kdy tělesná teplota klesne pod její aktivní homeotermickou úroveň. Hibernace je forma strnulosti, která je sezónní, trvá dny, týdny nebo měsíce, jako reakce na pokles teploty prostředí nebo snížení dávek potravin. Snížená tělesná teplota a rychlost metabolismu mohou potlačit imunitní odpovědi a snížit rychlosti replikace viru. (Sulkin a Allen 1974, George a další 2011, Altringham 1996).

3.3 Nakažení z potravy

Podle stravovacích návyků můžeme netopýry rozdělit na hmyzožravé, živící se ovocem, masožravé, všežravé a hematofágní (Neuweiler 2000).

Draví netopýři mohou získat infekční agens z jiných živočišných druhů, které jim slouží jako potrava, jako jsou ptáci a hmyz. Krví se živí pouze tři druhy upírů: *Desmodus Rotundus*, *Diphylla ecau-Dara* a *Diaemus youngi*, všechny patří do rodiny *Phyllostomidae* a nachází se jen v Latinské Americe. Upíři se živí ptáky, savci a mohou také doplnit svou stravu hmyzem. Strava netopýrů nemusí přímo odpovídat povaze patogenů, protože stejné skupiny infekčních agens, mohou být přenášeny různými druhy netopýrů s různými stravovacími návyky. Nicméně, hledání potravy může vést ke kontaktu netopýrů s ostatními zvířaty, a tím usnadnit mezidruhový přenos infekčních agens (Neuweiler 2000).

3.4 Mezi jedinci za pomoci přenašeče

Virus Kaeng Khoi, který byl nedávno izolován z netopýra *Chaerephon plicata* v Kambodži, byl také izolován ze štěnic (*Stricticimex Parvusem* a *Cimex insuetus*), vyskytujících se ve stejné jeskyni spolu s *Chaerephon plicata*. Předpokládá se, že tento hmyz, hraje roli v přenosu tohoto viru mezi netopýry (Williams a další 1976).

Dalším možným přenašečem virů, je australské klíště *I.holocyclus*, které může přenášet virus Hendra z netopýra na netopýra (Field 2001). Virus Hendra byl zjištěn v krvi netopýra, který byl nedávno hostitelem tohoto klíštěte (Eggert 1994, Roberts 1970). *I.holocyclus* se vyskytuje ve všech oblastech v Queenslandu, kde byl nalezen virus Hendra. Zpočátku *I.holocyclus* nebylo považováno za přenašeče, ale jiná klíšťata jako *Carius capensis* jsou známými přenašeči virů (Field 2001).

4. Šíření viru v těle netopýra

4.1 Šíření viru v těle hostitele

K šíření viru v těle hostitele, dochází buď krevním oběhem, anebo prostřednictvím nervů.

Nejběžnějším způsobem systémového šíření viru, je oběhem v lymfatickém systému. Virus může vstoupit do cílového orgánu přes kapiláry, nebo se rozmnoží v endotelových buňkách, šíří se skrz mezery a je přenášen migrujícími leukocyty.

K šíření, prostřednictvím nervů, dochází u viru vztekliny, herpesviru a infekcí poliovirem. Virus se replikuje podkožně a uvnitř svalové tkáně, dokud nedosáhne do nervového zakončení, odtud se pak rozšíří do centrální nervové soustavy, z které se šíří dál.

Virus se z původně infikované buňky může šířit do sousedních buněk extracelulárně nebo intracelulárně. Extracelulární šíření probíhá uvolňováním viru do extracelulární tekutiny a následnou infekcí sousední buňky. K intracelulárnímu šíření dochází fúzí infikovaných buněk se sousedními neinfikovanými buňkami (Baron a další 1996, Albrecht a další 1990, Coen 1994, Fields 1983, Grieder a další 1995, Singh a další 1995, Strayer a další 1990, Wold a další 1994, Freudenrich 2000).

4.2 Experimentální práce

4.2.1 Studie zabývající se rolí hnědé tukové tkáně v patogenezi vztekliny u hmyzožravých netopýrů

V roce 1959 S.E. Sulkin, P.H. Krutzsch, R. Allen a C. Wallis provedli studii, zabývající se průběhem vztekliny u experimentálně infikovaných hmyzožravých netopýrů, s cílem dozvědět se něco o možném mechanismu netopýrů, jako přírodní nádrži virů v přírodě. Pro tuto studii byly použity dva druhy netopýrů : *Tadarida mexicana* , který nehibernuje a *Myotis lucifugus*, který hibernuje. Základním cílem studie bylo potvrdit domněnku, že během hibernace hnědá tuková tkáň slouží jako útočiště viru vztekliny v období latence a v období množení (Sulkin s další 1959).

V této studii byl použit virus vztekliny, kmen Thompson a tři až čtyři týdny staré bílé Swiss myši. Netopýři *Tadarida mexicana* byli získáni z jeskyně Blanci County v Texasu, a netopýři *Myotis lucifugus* byli získáni v severní Západní Virginii a jihozápadní Pensylvánii.

Netopýři byli naočkováni 2 dny poté, co byli shromážděni. Naočkování byli do svalu na hrudi a mezi lopatky a ramena (Sulkin a další 1959).

Tadarida mexicana:

Tento druh netopýrů, byl použit zejména kvůli své obrovské populaci (Tierkel 1958). Infekce viru vztekliny, byla prokázána u 24% zvířat, během pozorování v délce 3 měsíců. Virus vztekliny byl detekován v mozku, slinných žlázách a v hnědé tukové tkáni. Bylo tedy prokázáno, že hnědá tuková tkáň může sloužit jako místo pro ukládání a množení viru (Sulkin a další 1959).

Byly provedeny 3 experimenty. V experimentu 1 bylo prokázáno v hnědé tukové tkáni 34,4% viru, v experimentu 2 bylo prokázáno 17% a v experimentu 3 bylo prokázáno 16,1%. Nicméně procenta viru nalezených ve slinných žlázách (31,2 %, 34,1% a 38,7%) a v mozku (87,5%, 80,5% a 93,5%) se výrazně nelišily. Výrazné rozdíly obsahu viru v hnědé tukové tkáni mohou mít souvislost s ročním obdobím. Experiment 1 byl proveden na podzim, kdy se tato stěhovavá zvířata připravují na každoroční migraci a hnědá tuková tkáň je větší (Twente 1956, Sulkin a další 1959). Další dva experimenty byly provedeny na jaře,

kdy se zvířata vracejí do jeskyní a kdy je hnědé tukové tkáně málo (Burns a Farinaci 1956, Sulkin a další 1956).

Pro zjištění jestli se virus v hnědé tukové tkáni rozmnožuje, byly různé tkáně těchto zvířat titrovány na obsah viru. Výsledky ukazují, že virus je široce distribuován v hostiteli mezi 20. a 40. dnem po naočkování. Obecně byly hladiny viru vztekliny vyšší u zvířat, která byla nalezena mrtvá, nebo ty u kterých byly pozorovány příznaky. Tyto údaje ukazují, že viry se skutečně v hnědé tukové tkáni množí, stejně jako v slinných žlázách a v mozku. Virus vztekliny v hnědé tukové tkáni byl prokázán v 23% ze 104 experimentálně infikovaných zvířat, u 37 (35,6%) zvířat byl prokázán ve slinné žláze a u 91(87,5%) zvířat v mozku. Vzteklna byla v hnědé tukové tkáni prokázána téměř tak často, jako ve slinné žláze (Sulkin a další 1959).

Myotis lucifugus

Opět byla všechna zvířata pozorována na příznaky vztekliny. Testy prokázaly infekci virem vztekliny v období dvou měsíců od naočkování v 35% nebo 36,1%. Virus byl detekován v hnědé tukové tkáni v 9 případech (25,7%), slinných žlázách u 4 případů (11,4%) a v mozku u 32 případů (91,4%). Podobné výsledky byly získány v menší skupině testovaných netopýřů, kteří byli očkovaní do hnědých tukových lalůčků. K infekci virem vztekliny došlo u 24% nebo 43,6% z 46 netopýřů, kteří přežili první týden pozorovacího období 2 měsíců. Virus byl prokázán v hnědém tuku u 9 případů (37,6%), slinných žlázách u 6 případů (25%) a v mozku u 23 případů (95,9%) (Sulkin a další 1959).

Je zřejmé, že *Myotis lucifugus*, jsou citlivější na použitý kmen viru, než *Tadarida mexicana*. Míra infekce byla výrazně vyšší a inkubační doba kratší (Sulkin a další 1959).

4.2.2 Studie zabývající se vlivem teploty životního prostředí na patogenizi vztekliny u hmyzožravých netopýrů

Netopýři mají unikátní termoregulační mechanismus, který je odlišuje od ostatních savců. Tělesná teplota netopýrů úzce souvisí s teplotou prostředí a to v rozmezí 32-37°C (Hock 1951). Pokusy ukázaly, že teplota prostředí ovlivňuje průběh experimentálně vytvořené vztekliny u netopýrů (Sulkin a další 1960).

V této studii byl použit kmen viru vztekliny Thompson, který byl izolován z hnědého tuku dvou přirozeně infikovaných netopýrů *Myotis lucifugus*. K experimentu byli použity 3 týdny staré bílé švýcarské myši a netopýři *Tadarida mexicana* a *Myotis lucifugus*.

Netopýři byli naočkováni do svalů na prsou, obvykle 2 dny po odchycení. Očkovaná zvířata byla umístěna do klecí a udržována při teplotě $9 \pm 2^\circ\text{C}$ a relativní vlhkosti vzduchu 60 - 70%. Při některých experimentech byla zvířata držena v chladné místnosti a poté přenesena do teplé. Netopýři umístění v teplé místnosti dostávali jídlo a vodu každý den. V chladné místnosti netopýři dostávali jen vodu. Všechna zvířata byla pozorována několikrát denně. Ti netopýři, kteří uhynuli během prvního týdne po naočkování nebo převodem z chladného prostředí do teplého, nebo byli mrtví déle než 4 hodiny, nebyli zahrnuti do analýz (Sulkin a další 1960).

Tadarida mexicana:

Infekce vztekliny byla prokázána pouze u 5,2% ze 77 netopýrů, kteří byli drženi v prostředí s nízkou teplotou. Virus vztekliny přežíval v mozku a v hnědé tukové tkáni 12 dnů od jeho naočkování. Mezi zvířaty, která byla naočkována a udržována při teplotě 29°C, bylo méně než 16 procent, kteří zemřeli během prvního týdne v zajetí a míra infekce mezi přežívajícími zvířaty byla 23,8%. U netopýrů, kteří byli drženi v místnosti s 10°C byla míra infekce mezi přežívajícími 5,2% (Sulkin a další 1960).

Virus byl prokázán v hnědé tukové tkáni a slinných žlázách ve stejném množství, i když byly pokusy zahájeny na podzim, kdy jsou potravinové rezervy nejhojší. Čtyřicet tři dní po naočkování virem a umístění v 10°C, bylo 57 netopýrů přeneseno do teplé místnosti. Pouze 26 z těchto zvířat přežilo déle než 7 dní a mohlo se přizpůsobit na změny teploty. Důkazy o infekci vztekliny byly prokázány v 15,4% těchto případů v průběhu 5 měsíců.

U jednoho zdravého zvířete, které zemřelo 8 dní poté, co bylo umístěno do teplé místnosti, byl virus prokázán v hnědé tukové tkáni a v mozku. Dva případy měly rozvinuté příznaky vztekliny 142 dnů po naočkování virem. Jednomu z nich se rozvinuly příznaky 72 dní po přemístění do 29°C. Druhému případu se příznaky rozvinuly 36 dní po přemístění do 29°C. V obou případech byl virus detekován pouze v hnědé tukové tkáni (Levaditi a další 1928, Sulkin a další 1960).

Virus byl prokázán v mozku a v hnědé tukové tkáni u netopýřů, kteří bylo nalazeni mrtví 19 dnů po naočkování virem. Méně než 10% zvířat naočkovaných a udržovaných v teplotě 29°C, zemřelo během prvního týdne v zajetí. Míra infekce u nich byla 36,1% a virus byl distribuován mezi 9. a 30. dnem od naočkování virem. Virus byl prokázán častěji v tukové tkáni než ve slinných žlázách (Sulkin a další 1960).

Myotis lucifugus

Zde byl použit kmen viru vztekliny získaný z hnědé tukové tkáně dvou přirozeně infikovaných *Myotis lucifugus*. Postup byl stejný jako u *Tadarida mexicana*.

I když všechna zvířata byla pozorována často, žádné zvíře nevykazovalo známky infekce vztekliny. Infekce vztekliny byla prokázána pouze u 4,3% ze 47 netopýřů, kteří byly udržováni v chladné místnosti. Virus vztekliny byl nalezen pouze v mozku zvířat uhynulých 13 dní od naočkování virem a v hnědém tukové tkáni u jedince, který byl usmrcen zdravý 21 den po naočkování. Virus byl nejvíce distribuován v hostiteli mezi 11. a 27. dnem od naočkování viru. Infekce byla prokázána až u 42% z padesáti netopýřů, 17 dní před převodem do teplé místnosti. Čtyřicátý osmý den po naočkování virem, nebo 8 až 31 den po převedení z chladné do teplé místnosti, byl virus nalezen v různých tkáních (Sulkin s další 1960).

V této studii byly použity dva kmeny viru vztekliny, virus psí vztekliny a virus získaný z přirozeně infikovaných netopýřů. Netopýři *Tadarida mexicana*, byli naočkováni virem psí vztekliny a umístěni do chladného prostředí (10°C). Následně byli přemístěni do prostředí s 29°C a virus se začal množit. Virus se množil přibližně stejnou dobu, jako bylo pozorováno u netopýřů držených v teplotě 29°C. Podobné výsledky byly získány u netopýřů

Myotis lucifugus, u kterých byl použit virus získaný z hnědé tukové tkáně dvou přirozeně infikovaných netopýřů. Virus psí vztekliny se v hnědé tukové tkáni vyskytoval méně.

Pro prokázání zda má teplota prostředí vliv na rozmnožování viru, byly různé tkáně titrovány. Výsledky titrování ukázaly, že více aktivní virové šíření se vyskytovalo u zvířat držných ve vyšší teplotě, při nižších teplotách jsou jak virus (skoro nedetekovatelný), tak hostitel méně aktivní (Sulkin a další 1960).

4.2.3 Experimentální infekce netopýřů *Eptesicus fuscus* virem vztekliny

Cílem této studie bylo zjistit citlivost netopýřů *Eptesicus fuscus* na virus vztekliny, prostřednictvím inkubační doby, klinických příznaků, vylučování viru slinami a sérologickými reakcemi. Údaje z této studie budou použity k vypracování modelů pro studium přenosu vztekliny z netopýřů na člověka a přenosu mezi netopýři (Jakson a další 2008).

V den 0, byli jeden až tři vybraní netopýři z každé klece naočkováni intramuskulárně do levého a pravého žvýkacího svalu. Všichni infikovaní i neinfikovaní netopýři byli pozorováni po dobu 140 dní od naočkování. Vzorky krve byly získány z brachiální tepny a žíly distální epifýzy humeru (Jakson a další 2008, Kunz a Nagy 1988). Vzorky krve byly odebrány šestkrát mezi 15. srpnem 2005 a 9. lednem 2006. Séra byla testována na přítomnost protilátek proti viru vztekliny. Mozková tkáň byla odebrána a testována na přítomnost antigenu přímou imunofluorescencí (Dean a další 1996, Jakson a další 2008).

Kolonie netopýřů *Eptesicus fuscus*, držaná v zajetí, byla experimentálně infikována virem vztekliny, izolovaným ze slinných žláz, přirozeně infikovaných netopýřů v Koloradu v roce 2004. Netopýři byli rozděleni do 11 skupin, v každé byli jeden až tři neinfikovaní a jeden až tři infikovaní jedinci. Dvacet z 38 zvířat bylo infikováno intramuskulárně do levého i pravého žvýkacího svalu. Z dvaceti nakažených netopýřů, mělo 16 (80%) klinicky vyvinutou vzteklinu a průměrná inkubační doba byla 24 dní. Tři infikovaní netopýři nedosáhli serokonverze a podleli 13 dní po nakažení. Čtyřem infikovaným netopýřům, kteří přežili až dokonce experimentu bez příznaků, byly testovány jejich protilátky. Detekované titry protilátek vrcholily mezi 13 a 43 dnem od naočkování, ztráta protilátek pak nastala ve

140 den. Vylučování viru ve slinnách bylo pozorováno u dvou jedinců ve 13 a 15 dnu pokusu (24 hodin před začátkem klinického onemocnění). Nebyl zjištěn žádný přenos viru z netopýra na netopýra (Jakson a další 2008).

Před infekcí virem vztekliny, neměl žádný z netopýrů pozitivní protilátky neutralizující vzteklinu. Po naočkování 17 z 20 netopýrů (85%), dosáhly titry protilátek vrcholu mezi 13 a 43 dnem. Ze čtyř netopýrů s nejkratší inkubační dobou (13dní), se u tří nevyvinuly protilátky. Byla zjištěna genomová RNA vztekliny ve slinách dvou (10%) infikovaných netopýrů. Vzorky stěrů byly pozitivní 24 hodin před začátkem klinického onemocnění (Jakson a další 2008).

Studie ukázala, že netopýři *Eptesicus fuscus* jsou citliví na virus vztekliny a mají poměrně krátkou inkubační dobu 14 až 175 dní (Brass 1994, Moore a Raymond 1970) .

4.2.4 Experimentální infekce netopýrů virem Yokose

Yokose virus je virus rodu flavivirus, který byl izolován v Japonsku v roce 1971, z prstů netopýra *Miniopterus fuliginosus* (Tajima a další 2005).

K detekci protilátek proti Yokose viru, byla vyvinuta ELISA, s použitím biotinylovaného anti-netopýřího IgG séra (Omatsu a další 2003).

Netopýří vzorky séra byly odebrány na Filipínách a Malajsii. Hmyzožraví netopýří byly odchyceni ve dvou místech na Filipínách. Místa byla vybrána na základě předchozích výzkumů (Arguin a další 2002).

Dva netopýři (*Rousettus leschenaulti*), byli imunizováni inaktivovaným a purifikovaným virem. Jedním mililitrem inaktivovaného viru byli naočkováni dvakrát po 4 týdenních intervalech, do získání pozitivního séra, které obsahovalo anti-Yokose protilátky. Vzorky séra byly odebrány po 14 a 28 dnech od naočkování (Watanabe a další 2010). Krev byla odebrána srdeční punkcí a skladována při teplotě 4 °C až do odtředění. Séra byla

zmrazena při teplotě -20 °C v průběhu přepravy a po příjezdu byla uložena do mrazáku s teplotou -80°C (Watanabe a další 2010).

Netopýři *Rousettus leschenaulti* byli získáni ze zoologických zahrad v Japonsku. Tyto kaloni byli umístěni v oddělených klecích v klimatizované místnosti. Vzorok séra byly odebírány z orbitální dutiny v anestezii. Devět seronegativních netopýřů, bylo náhodně vybráno pro experimentální infekci a umístěno v podtlakovém izolátoru. Pak byli rozděleni do tří skupin, z nichž každá obsahovala tři netopýry. Jedna skupina byla usmrcena ve dnech 2,4 a 7. Pro získání séra pozitivního na anti-Yokose virové protilátky, byli dva netopýři imunizováni inaktivovaným a purifikovaným virem. Protilátky byly poprvé zjištěny ve 14. den po naočkování. Anti-Yokose virové protilátky dosáhly maxima týden po druhém naočkování v 35 dnu. Z 60 vzorků netopýřího séra, odebraných na Filipínách, mělo 36 dostatečné množství a kvalitu. Ze 62 testovaných vzorků séra, bylo 6 (9,6%) pozitivní v testu ELISA. Čtrnáct procent kaloňů, odebraných z několika zoologických zahrad v Japonsku, mělo pozitivní testy proti Yokose viru. Devět ze seronegativních netopýřů, bylo experimentálně infikováno virem Yokose. U žádného netopýry se neobjevily příznaky virové infekce, virové částice nebyly naměřeny ani detekovány. Nicméně, virová RNA byla detekována v játrech jednoho netopýra zabitého 2 dny po naočkování.

Výsledky ukazují, že Yokose virus je distribuován, nejen v Japonsku, ale také v jiných asijských zemích. Dále dokazují, že Yokose virus se špatně replikuje v *Rousette leschenault*, tudíž neslouží jako zesilovací hostitelé (Watanabe a další 2010)

4.2.5 Detekce vysoké úrovně virové RNA evropského Lyssaviru Typu-1, ve štítné žláze experimentálně infikovaných netopýřů *Eptesicus fuscus*

Replikace Evropského netopýřího Lyssaviru typu-1 ve štítné žláze infikovaných netopýřů, může způsobit hormonální nerovnováhu vedoucí ke změnám v klinické manifestaci onemocnění a změnit chování hostitele (Fooks a další 2009).

Ve studii, kdy byli netopýři *Myotis myotis* infikováni, Evropským netopýřím Lyssavirem typu-1, se dvanáct let studoval jeho průběh. K infekcím docházelo v pravidelných obdobích s vysokou mírou detekce viru s následným vymřením (Amengual a další 2007). Není jasné, zda vysoká míra detekovaného viru, svědčí o aktivní infekci vztekliny, nebo zda jiné faktory jsou zodpovědné za změnu dynamiky přenosu a tím ke snížení šíření viru (Vos a další 2007) .

Hlavním cílem této studie bylo zjistit úroveň Evropského netopýřního Lyssaviru typu-1, v nervových a nenervových tkáních infikovaných netopýřů (Fooks a další 2009). Překvapivě bylo zjištěno neobvyklé množství virové RNA ve štítné žláze, spolu s příznaky spojenými s T3 a T4 hormonální nerovnováhou (Fooks další 2009).

Izolát viru byl získán z mozku netopýra v Osnabrücku v Německu v roce 1997 (Müller a další 2007). Třicet šest dospělých netopýřů (*E.fuscus*), obou pohlaví, bylo chyceno ze dvou úkrytů v Georgii a USA (Fooks a další 2009). Každému netopýrovi byla odebrána krev v den naočkování, pro stanovení základních virus neutralizačních titrů protilátek, a pak po třítydenních intervalech, až do dokončení studie. Ústní tampony na odbírání vzorků byly používány týdně během prvních 2 měsíců po inokulaci a každé 2 týdny během experimentů. Pokud se u zvířete objevily příznaky onemocnění, výtěry se prováděly denně. Infekce Evropského netopýřního Lyssaviru typu-1 byla potvrzena fluorescenčním testem na protilátky (Fooks a další 2009).

Kontroly zahrnovaly očkování homogenátem z neinfikovaného myšího mozku a přímé zavedení Evropského netopýřního Lyssaviru typu-1 intrakraniálně. Očkování 14 netopýřů vedlo ke smrti sedmi z nich. Tito netopýři vykazovali příznaky odpovídající vzteklině. Upravení očkovací dávky nevedlo k rozdílu v počtu úmrtí, prodloužilo přežití jedinců z 19 dnů od podání vyšší dávky, na 40 dní po podání nižší dávky. Imunohistochemická reakce Lyssaviru byla pozorována v neuronech v mozkové kůře, hipokampu, mozečku, prodloužené míše a míše netopýra naočkováného intrakraniálně evropským netopýřím Lyssavirem typu-1. Citlivý RT-PCR detekoval nízké hladiny titru Evropského netopýřního Lyssaviru typu-1 v genomu v tkáních odebraných z těl *E.Fuscus*, které by mohly být zapojeny do šíření viru, jako jsou slinné žlázy a močový měchýř. Nalezení Evropského netopýřního Lyssaviru typu-1 ve slinných bylo zaznamenáno šestkrát, většinou spojené s příznaky onemocnění. Vyšší úrovně a větší šíření kopií genomu, bylo

pozorováno v netopýrech naočkovaných nižší dávkou viru. Bylo zjištěno, že nejvyšší hladiny virových kopií, v jiné než neuronální tkáni, bylo ve štítné žláze (Fooks a další 2009).

4.2.6 Experimentální infekce netopýrů *Eptesicus serotinus* Evropským netopýřím lyssavirem typu 1a

V Evropě je netopýří vzteklinu způsobena dvěma druhy lyssavirů, Evropským netopýřím lyssavirem typu 1 a 2, také označovány jako genotyp 5 a 6 (Bourhy a další 1992). *E. serotinus* představuje více než 90% všech případů vztekliny v Evropě, a proto se uvažuje, že hraje klíčovou roli v epidemiologii Evropského netopýřeho Lyssaviru typu-1 (King a další 2004).

Dvacet devět netopýrů obou pohlaví bylo nachytáno v různých místech v Německu a někteří netopýři byli získáni ze zoologických zahrad. Netopýři byli v karanténě po dobu 1 měsíce, zvykali si na klece a umělou výživu. Sedmnáct dní před naočkováním, byl odebrán vzorek krve z každého netopýra (Freuling a další 2009).

Byly použity 4 způsoby pro naočkování viru, do prsního svalu, pod kůži v zátylku, do levé části mozku a vdechování. Všechna zvířata byla pečlivě sledována po dobu 1 hodiny po naočkování a dvakrát denně po dobu 120 dnů. Krev jim byla odebrána 35, 68 a 91 den po naočkování a ústní výtěry v různých časových intervalech (Freuling a další 2009).

Z 29 netopýrů, v pěti skupinách, 14 zemřelo nebo bylo utraceno během studie trvající 120 dnů. K nespecifickému úmrtí došlo ve dvou případech. Tato zvířata měla negativní test na vzteklinu. Inkubační doba vztekliny byla v rozmezí 7 až 13 dní po naočkování.

Kromě mozku byla virová RNA nejčastěji detekována v jazyku, štítné žláze a plicích. Ve slinných žlázách byla virová RNA detekována pouze u zvířat, která byla nakažena subkutánní cestou. Touto cestou měli většinu kopií genomu viru ve slinných žlázách a ve štítné žláze. Všechna zvířata naočkováná intrakraniálně zemřela. Pouze jeden z netopýrů očkovaných intramuskulárně zemřel na vzteklinu (14%), zatímco u třech zvířat (42%) naočkovaných subkutánně se vyvinula nemoc. Tato zjištění naznačují, že intrakraniální

infekce je nejúčinnější způsob pro přenos viru. Inkubační doby se měnily v závislosti na způsobu očkování, intrakraniální očkování mělo nejkratší inkubační dobu (7 až 13 dní), subkutánní 17 až 18 dní a intramuskulární 26 dní. Výsledky této práce naznačují, že se virus šíří z místa naočkování prostřednictvím nervů až k mozku a pak do periferních tkání a orgánů. Virový antigen byl zjištěn v chuťových pohárcích u více než 50% jedinců očkovaných intrakraniálně, epitelové buňky a buňky obklopující chuťové pohárky jsou pozitivní, stejně jako buňky v lamina propria. Chuťové buňky jsou vysoce nervově aktivní a mohou poskytnout dobré podmínky pro zesílení a putování viru.

Předpokládá se, že očkování subkutánně, v přírodě způsobené kousnutím, může být efektivní způsob přenosu Evropského netopýřího Lyssaviru typu 1 u volně žijících netopýřů (Freuling a další 2009).

4.2.7 Virologické a sérologické nálezy u netopýřů *Rousettus aegyptiacus*, experimentální naočkování vero buňek, přizpůsobených kmenu Hogan viru Marburg

Netopýři *R. aegyptiacus* byli odchyceni na severovýchodě Jihoafrické republiky. K dispozici bylo 30 netopýřů, z toho bylo 7 mlád'at, 16 samic a 7 samců (Paweska a další 2012). Virový izolát byl původně izolován z ledvin australského turisty, který se nakazil v roce 1975 v Zimbabwe (Gear a další 1975).

Netopýři byli nejprve rozděleni do 2 experimentálních skupin. Jedna skupina byla naočkována kapáním do nosních dírek a na povrch jazyka, druhá skupina byla naočkována intraperitoneální a subkutánní cestou. Po celou dobu byly shromažďovány výkaly a odebírány rektální a ústní vzorky pomocí tamponů, v 9 a 21 den po naočkování. Krevní vzorky byly odebírány ve dnech 2, 5, 9 a 21 po naočkování (Paweska a další 2012).

U netopýřů očkovaných kombinací intraperitoneální a subkutánní cestou, trvala virémie nejméně 5 dní. Virus byl zjištěn v plazmě 5,7 a 9 den po naočkování. V této skupině byl virus pravidelně zjištěn v játrech, slezině, střevě, močovém měchýři a samičích

reprodukčních tkáních. Občas byl virus detekován v plicích, ledvinách a slinných žlázách. Virus byl také zjištěn v mléčné tkáni odebrané z jedné samice 9 den po naočkování. Z celkového počtu 283 vzorků krve a vzorků tkání, testovaných v této skupině, bylo 33 (11,7%) PCR pozitivních a 36 (12,7%) pozitivních na izolaci viru (Paweska a další 2012).

V další skupině byl virus v plazmě, játrech a slezině. U jedné samice byl virus zjištěn v reprodukčních tkáních. Z celkového počtu 42 vzorků krve a tkání, bylo 8(19%) PCR pozitivních a 10 (23,87%) bylo pozitivních na izolaci viru. Virus nebyl detekován, ani v jedné skupině, ve svalovině, kůži či mozkové tkáni (Paweska a další 2012).

Marburg virus byl zjištěn ve tkáních, které by mohly mít na svědomí horizontální přenos, například plic, střeva, ledvin, močového měchýře a slinných žláz. Je zajímavé, že přítomnost viru ve slinných žlázách a plicích byla zjištěna pouze u netopýřů naočkových kombinací intraperitoneální-subkutánní cestou, ale ne u netopýřů naočkových pouze subkutánně. Přítomnost viru ve střevech, ledvinách a močových měchýřích pouze u netopýřů naočkových intraperitoneální-subkutánní cestou (Paweska a další 2012).

4.2.8 Distribuce Lyssaviru v přirozeně infikovaných netopýřech z Německa

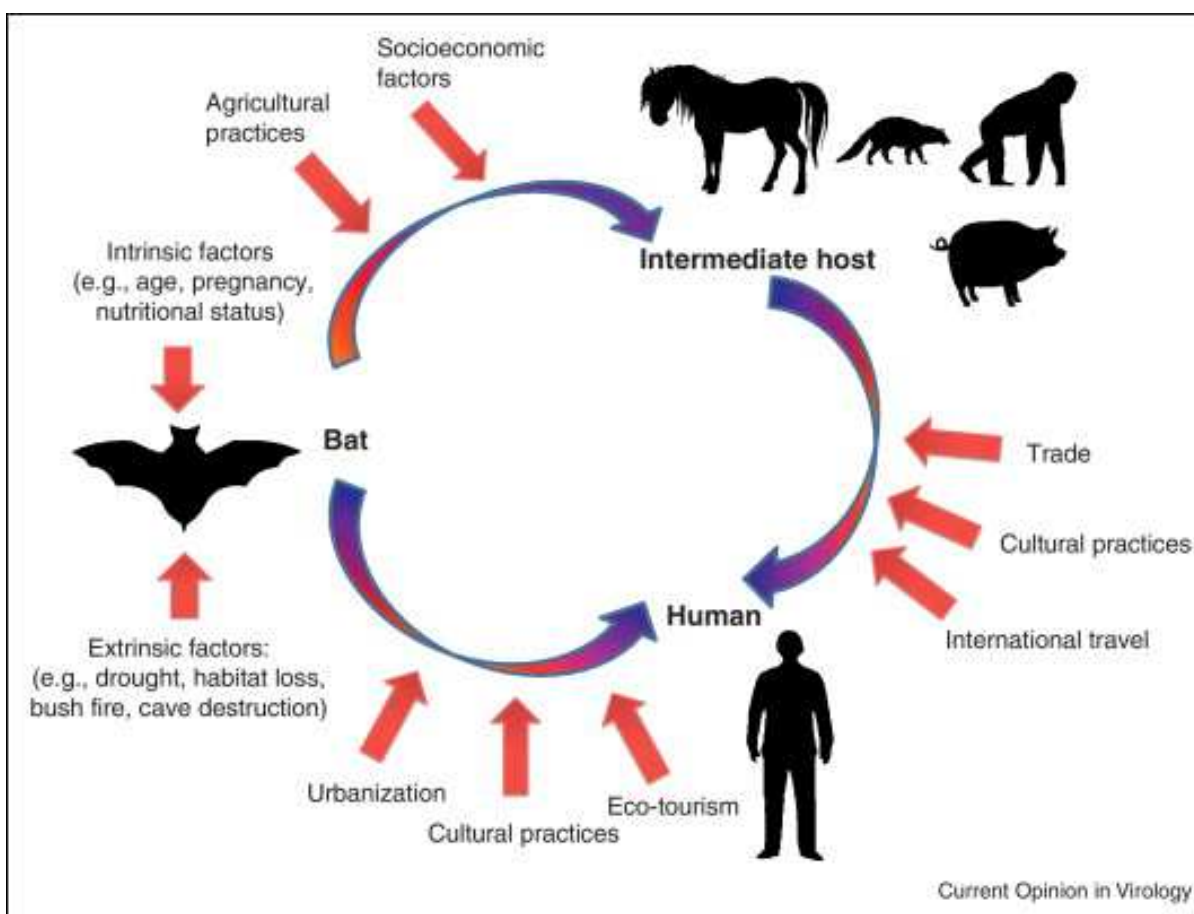
V letech 1998 až 2013 bylo shromážděno 57 mrtvých netopýřů *E. serotinus*, jeden *Pipistrellus nathusii* a dva *M. duabentonii*, s potvrzenou infekcí viru vztekliny (Dietz 2004).

Celkem 33 netopýřů *E. serotinus* a jeden *P. nathusii* bylo pozitivních na Lyssavirus. Ve většině *E.serotinus* netopýřů byla zjištěna virová RNA v různých orgánech: v mozku 100%, slinné žláze 85%, ledvinách 68,5%, jazyku 65,3%, hrudním svalů 61,5%, srdci 59,3%, močovém měchýři 55,6%, játrech 50,9%, plicích 48,1% a slezině 41,2%. Životaschopný virus byl izolován z celkového počtu 54 jedinců *E.serotinus*, jednoho *S. nathusii* a dvou netopýřů *M. duabentonii* (Schatz a další 2014).

Nejvyšší virová zátěž byla zjištěna v mozku. Detekce vztekliny v různých tkáních naznačuje odstředivé šíření viru z centrálního nervového systému do podélných nervů, které inervují tkáň. Kromě slinných žláz byl i jazyk pozitivně testován na vysokou virovou zátěž, tento orgán se tedy může podílet na vylučování viru. Byla zkoumána jedna březí, na virus pozitivní samice. Plod byl vyňat a zkoumán s negativním výsledkem. Nebyl tedy získán žádný důkaz o vertikálním přenosu. Zdá se, že jazyk je nejčastější místo pro replikaci viru a případně jeho vylučování (Carneiro a další 2010, Constantine D.G. 1986, Schatz a další 2014).

5. Přenos patogenních virů z netopýra

Existuje mnoho potenciálních spouštěčů, které mohou přispět k přelévání zoonotických, netopýry přenášených onemocnění. Některé z nich, jsou popsány v tabulce VIII a znázorněny na obrázku 1. Tyto Faktory mohou být exogenní a nebo endogenní. Endogenní faktory, jako je životní prostředí a antropogenní stresové faktory, mohou mít vliv na průběh a výskyt onemocnění u netopýrů. U stresorů v prostředí, jako jsou klimatické události (tajfuny, sucha), které ničí stanoviště a potravinové zdroje netopýrů, se předpokládá, že mohou mít vliv na zdraví netopýrů (Field 2009, Wood a další 2012, Mathews 2009, Daszak a další 2001, Streicker a další 2012). Lidská činnost uměle mění hustotu zvířat využíváním půdy, což zvyšuje kontakt mezi lidmi, domácími zvířaty a netopýry (Plowright a další 2011). Změny stanoviště, v důsledku odlesňování, mohou vést ke změnám migračních vzorců netopýrů. Tyto antropogenní činnosti mohou ovlivňovat rovnováhu mezi hostiteli, což může mít za následek narušení rovnováhy a snadný přenos virů (Wolfe a další 2005, Morse a další 2004, Field a další 2007).



Obr.1: Příklady potenciálních spouštěčů odpovědných za přelévání zoonotických virů z netopýrů (Smith a Wang 2013).

Tab.VIII:Porovnání spouštěčů a rizikových faktorů pro viry přenášené netopýry. Jsou zde uvedeny viry, které se nejčastěji objevují v posledních letech (Smith a Wang 2013, Li a další 2005, Webster 2004, Guan a další 2003, Lim a další2004, Leroy a další 2009, Timen a další 2009, Adjemian a další 2011, Bausch a další 2003, Beer a další 1999, Mendez a další 2012, Plowright a další 2011, Plowright a další 2008, Gurley a další 2007, Blum a další 2009, Nahar a další 2010, Luby a další 2009, Homaira a další 2010, Pulliam a další 2012, Chua a další 2001, Chua 2003, Chua a další 2007, Chua a další 2011, Philbey a další 1998, Mathews 2009, Streicker a další2012).

Viry	Spouštěče	Rizikové faktory/ Způsoby přenosu
SARS koronavirus	Hospodářský růst Touha po masu Obchodování se zvířaty na trhu Mezinárodní cestovní ruch	Porážka Sociální/kulturní praktiky Chov volně žijících živočichů Zkoumání infekce v laboratoři
Virus Ebola	Touha po zvěřině (Bush meat) Obchodování se živými zvířaty Pohřby	Porážka zvířat/lovení Sociální/Kulturní zvyky Špatná zdravotní péče
Virus Marburg	Infikované opice Důlní těžba Cestovní ruch	Laboratorní výzkum Ekoturistika (jeskyně) Důlní těžba
Virus Hendra	Růst počtu obyvatel/urbanizace/ pronikání člověka/synantropie Změna klimatu Hladovění	Nedostatečné ochranné prostředky pro veterináře/kontakt s infikovanými koňmi (řezy, odřeniny, sekrety)

	Reprodukční stres	
Virus Nipah (Bangladéš)	Šťáva z datlovníku Kulturní tradice	Pití šťávy Péče o infikované pacienty
Virus Nipah (Malajsie)	Zintenzivnění zemědělské výroby Zásahy do zalesněné oblasti Pohyb prasat ve vepřinech Zpracovávání potravin v Singapuru Ničení biotopů Stres	Pracovníci ve vepřinech (aerosoly, chovatelství) Pracovníci jatek (porážka)
Reoviry (virus Melaka a související viry)	Urbanizace Turistika	Blízkost netopýrů Ekoturistika
Virus Menangle	Zemědělská praxe Přeprava prasat do pěstitelských vepřinů Těsná blízkost prasat s koliniemi kaloňů	Pracovníci vepřinů Chovatelské postupy bez ochranných prostředků
Lyssavirus například vzteklina, australský netopýří lyssavirus, evropské netopýří lyssaviry, Lagos virus, virus Duvenhage	Urbanizace Odlesňování Synantropie	Soužití s netopýry (např. v domech) Pečování o netopýry

K vytvoření seznamu virů, které přenáší netopýří, byl využit článek od C.H. Calishera a dalších . V tomto článku je shrnuto 66 virů, které byly izolovány a zjištěny v netopýřích tkáních (tabulka IX) (Calisher a další 2006).

Tab. IX: Viry, které byly izolovány nebo zjištěny v netopýřích tkáních a druhy netopýřů u kterých byl virus objeven (Calisher a další 2006).

Viry	Druhy netopýřů	
Čeleď <i>Rhabdoviridae</i> , rod Lyssavirus	Virus vztekliny	Řada druhů netopýřů, téměř po celém světě
	Virus Lagos	<i>Eidolon helvum</i> , <i>Micropteropus pusillus</i> , <i>Epomops dobsonii</i> , <i>Nycteris gambiensis</i> , <i>Epomophorus wahlbergi</i>
	Virus Duvenhage	<i>Miniopterus sp.</i> , <i>Nyctalus noctula</i> , <i>Vespertilio murinus</i> , <i>Nycteris thebaica</i>
	Australský netopýří lyssavirus	Megachiroptera (více <i>Pteropus spp.</i>), Microchiroptera sp. Z Austrálie, <i>Saccolaimus flaviventris</i>
	Evropský netopýří lyssavirus 1	<i>Eptesicus serotinus</i> , <i>Rousettus aegyptiacus</i>
	Evropský netopýří lyssavirus 2	<i>Myotis myotis</i> , <i>Myotis dasycneme</i> , <i>Myotis nattereri</i> <i>Miniopterus schreibersi</i> , <i>Rhinolophus ferrumequinum</i> <i>Myotis daubentonii</i>
	Virus Aravan	<i>Myotis blythii</i>
	Virus Khujand	<i>Myotis mystacinus</i>
	Virus Irkut	<i>Murina leucogaster</i>
	Západní Kavkazský netopýří virus	<i>Miniopterus schreibersi</i>
Čeleď <i>Rhabdoviridae</i> , rod nespecifikován	Virus Gossas	<i>Tadarida sp</i>
	Kern Canyon virus	<i>Myotis yumanensis</i>
	Mount Elgon netopýří virus	<i>Rhinolophus eloquens</i>
	Virus Oita 296	<i>Rhinolophus cornutus</i>
Čeleď <i>Orthomyxoviridae</i> , rod Influenzavirus A	Virus Influenza A	<i>Nyctalus noctula</i>
Čeleď <i>Paramyxoviridae</i> , rod Henipavirus	Virus Hendra	<i>Pteropus alecto</i> , <i>Pteropus poliocephalus</i> , <i>Pteropus scapulatus</i> , <i>Pteropus conspicillatus</i>
	Virus Nipah	<i>Pteropus hypomelanus</i> , <i>Pteropus vampyrus</i> , <i>Pteropus lylei</i>
Čeleď <i>Paramyxoviridae</i> , rod Rubulavirus	Virus Mapuera	<i>Sturnira lilium</i>
	Virus Menangle	<i>Pteropus poliocephalus</i>
	Virus Tioman	<i>Pteropus hypomelanus</i>

Čeleď <i>Paramyxoviridae</i> , rod nespecifikován	Parainfluenzavirus	<i>Rousettus leschenaultia</i>
Čeleď <i>Coronaviridae</i>	SARS koronavirus	<i>Rhinolophus sinicus</i> , <i>Rhinolupus pearsonii</i> , <i>Rhinolophus macrotis</i> , <i>Rhinolophus ferrumequinum</i>
Čeleď <i>Togaviridae</i> , rod Alphavirus	Virus Chingunya	<i>Scotophilus sp.</i> , <i>Rousettus aegyptiacus</i> , <i>Hipposideros caffer</i> , <i>Chaerephon pumilus</i> ,
	Virus Sindbis	<i>Rhinolophidae sp.</i> , <i>Hipposideridae sp.</i>
	Virus Venezuelské koňské encefalidity	<i>Desmodus rotundus</i> , <i>Uroderma bilobatum</i> , <i>Artibeus phaeotis</i>
Čeleď <i>Flaviviridae</i> , rod Flavivirus	Virus Bukalasa	<i>Chaerephon pumilus</i> , <i>Tadarida condylura</i>
	Virus Carey Island	<i>Cynopterus brachiotis</i> , <i>Macroglossus minimus</i>
	Virus Středoevropské encefalidity	Neidentifikované druhy netopýřů
	Virus Dakar	<i>Chaerephon pumilus</i> , <i>Taphozous perforatus</i> , <i>Scotophilus sp.</i> , <i>Mops condylurus</i>
	Virus Entebbe	<i>Chaerephon pumilus</i> , <i>Mops condylurus</i>
	Virus Japonské encefalidity	<i>Hyipposideros armiger terasensis</i> , <i>Miniopterus schreibersii</i> , <i>Rhinophus cornutus</i>
	Virus Jugra	<i>Cynopterus brachiotis</i>
	Virus Kyasanur lesního onemocnění	<i>Rhinoophus rouxi</i> , <i>Cynopterus sphinx</i>
	Virus Montana myotis leukoencefalidity	<i>Myotis lucifugus</i>
	Virus Phnom-Penh	<i>Eonycteris spelaea</i>
	Virus Rio Bravo	<i>Tadarida brasiliensis mexicana</i> , <i>Eptesicus fuscus</i>
	Virus St.Louis encefalidity	<i>Tadarida brasiliensis mexicana</i> ,
	Virus Saboya	<i>Nyctersi gambiensis</i>
	Virus Sokuluk	<i>Vespertilio pipistrellus</i>
	Virus Tamana	<i>Pteronotus parnellii</i>
	Virus Uganda	<i>Rousettue sp.</i> , <i>Tadarida sp.</i>
Virus Yokose	Nespecifikovaný druh netopýřů	
Čeleď <i>Bunyaviridae</i> ,	Virus Catu	<i>Molossus obscurus</i>
	Virus Guama	Nespecifikovaný druh netopýřů

rod Bunyavirus	Virus Nepuyo	<i>Artibeus jamaicensis</i> , <i>A. lituratus</i>
Čeled' <i>Bunyaviridae</i> , rod Hantavirus	Virus Hantaan	<i>Eptesicus serotinus</i> , <i>Rhinolophus ferrumequinum</i>
Čeled' <i>Bunyaviridae</i> , rod Phlebovirus	Virus Rift Valley fever	<i>Micropteropus pusillus</i> , <i>Hipposideros abae</i> , <i>Miniopterus schreibersii</i> , <i>Hipposideros caffer</i> , <i>Epomops franqueti</i> , <i>Glauconycteris argentata</i>
	Virus Toscana	<i>Pipistrellus kuhlii</i>
Čeled' <i>Bunyaviridae</i> , rod nespecifikován	Virus Kaeng Khoi	<i>Chaerephon plicatus</i>
	Virus Bangui	<i>Scotophilus sp.</i> , <i>Pipistrellus sp.</i> , <i>Tadarida sp.</i>
Čeled' <i>Reoviridae</i> , rod Orthoreovirus	Virus Nelson Bay	<i>Pteropus poliocephalus</i>
	Virus Pulau	<i>Pteropus hypomelanus</i>
	Virus Broome	<i>Pteropus alecto</i>
Čeled' <i>Arenaviridae</i>	Virus Tacaribe	<i>Artibeus lituratus</i> , <i>A. jamaicensis</i>
Čeled' <i>Herpesviridae</i> , rod nespecifikován	Virus Agua Preta	<i>Carollia subrufa</i>
	Cytomegalovirus	<i>Myotis lucifugus</i>
	Virus Parixa	<i>Lonchophylla thomasi</i>
Čeled' <i>Picornaviridae</i> , rod nespecifikován	Virus Juruaca	Nespecifikovaný druh netopýrů
Čeled' <i>Filoviridae</i> rod Ebolavirus rod Marburgvirus	Virus Ebola	<i>Hypsignathus monstrosus</i> , <i>Epomops franqueti</i> , <i>Myonycteris torquata</i> , <i>Rousettus amplexicaudatus</i>
	Virus Marburg	Netopýři rodu <i>Rousettus</i>
Nespecifikováno	Virus Keterah	<i>Nyctalus noctula</i> , <i>Eptesicus serotinus</i> , <i>Pipistrellus pipistrellus</i> , <i>Myotis blythii</i> , <i>Rhinolophus ferrumequinum</i> , <i>Scotophilus kuhlii</i> , <i>Cynopterus brachyotis</i> , <i>Eonycteris spelaea</i> , <i>Chaerephon plicatus</i> , <i>Hipposideros diadema</i> , <i>Taphozous melanopogon</i> , <i>Rhinolophus lepidus</i> , <i>Rhinolophus horsfeldi</i>
	Virus Mojui dos Campos	Nespecifikované druhy netopýrů
	Virus Yogue	<i>Rousettus aegyptiacus</i>
	Virus Kasokero	<i>Rousettus aegyptiacus</i>

V následujících bodech jsou uvedeny některé viry přenášené netopýry.

5.1 Čeleď *Rhabdoviridae*, rod *Lyssavirus*

5.1.1 Lyssaviry

Existuje sedm genotypů Lyssavirů a další čtyři nové genotypy byly nedávno získány z netopýrů v Eurasii (Speare a další 1997). Dříve byla diagnostikovaná vzteklina přičítána viru vztekliny sérotypu / genotypu 1, ale nyní víme, že ji může způsobit jakýkoli druh Lyssavirů (Hanlon a další 2005).

5.1.1.1 Virus Vztekliny

Virus vztekliny patří do čeledě *Rhabdoviridae*, rodu *Lyssavirus*, sérotyp / genotyp 1.

Virus vztekliny se začal studovat systematicky ke konci 19. století. Louis Pasteur svou prací položil základy virologie a imunologie (McKendrick 1941).

Vzteklinu přenáší netopýří, kteří se živí hematophagií, tzv. upíři. U tří druhů netopýrů *Diphylla ecaudata*, *Diaemus youngi* a *Desmodus rotundu*, je zjištěno, že se podílí na přenosu viru vztekliny (Turner 1975).

Časné příznaky mohou být jemné, nekonzistentní a nespecifické. Smrt nastává obvykle 3-7 den po nástupu klinických příznaků (Green a další 1992, Turner 1994, Sommardahl C 2010).

5.1.1.2 Australský netopýří Lyssavirus

Některé z těchto lyssavirů, především Australský netopýří Lyssavirus (Speare a další 1997), může způsobit fatální onemocnění u lidí, které je k nerozeznání od vztekliny (Hanna a další 2000, Samaratunga a další 1998). Australský netopýří Lyssavirus byl poprvé identifikován v roce 1996 ve výzkumu, zabývajícím se souvislostí netopýrů s virem Hendra (Frazer a další 1996). Australský netopýří Lyssavirus byl izolován ze všech druhů

australských kaloňů, kromě toho byl získán i pozitivní serologický důkaz u 7 rodů, což představuje 5 z 6 rodu australských Microchiroptera (Field 2005).

K přenosu australského Lyssaviru na člověka dochází obvykle kousnutím od infikovaného domácího zvířete. Toto domácí zvíře, nakazil netopýr, inokulací (kousnutím) přes epidermis, dermis, podkožní a možná i svalové tkáně (Messenger a další 2002). K infikování také může dojít přes sliny obsahující virus (Carrieri a další 2006).

Inkubační doba infekce je velice variabilní, od dnů až po roky, může být ovlivněna kmenem viru, druhem hostitele a místem vstoupení do centrální nervové soustavy (Sommarahl 2010). Průměrná inkubační doba, podle 21 experimentálně infikovaných koní, u kterých došlo k očkování do žvýkacího svalu je 12 dní (Hudson a další 1996).

5.1.1.3 Evropský netopýří Lyssavirus 1 a 2

Všechni netopýři přenášející evropské netopýří Lyssaviry jsou synantropní, tedy sdílejí svá stanoviště s lidmi (Racey a další 2013). Evropský netopýří Lyssavirus 1 byl převážně detekován v *Eptesicus serotinus*, *E. isabellinus* a další v Evropě. Tito netopýři žijí v budovách, střeších a v podkroví (Dietz a další 2007). Byly potvrzeny dva lidské případy nákazy evropským netopýřím Lyssavirem 2, který převládá v netopýřech *M. daubentonii* a *M. dasycnem* (Schatz a další 2013, Johnson a další 2010).

Prevalence Lyssavirů je značně nízká, ale změny chování v důsledku infekce mohou zavést netopýry blízko k lidem. Celkový počet smrtelných případů lidí v posledních 35 letech, je 5 případů na 590 milionů lidí, kteří žijí v Evropě (Racey a další 2013).

5.2 Čeleď *Rhabdoviridae*, rod nezařazeno

5.2.1 Virus Oita 296

Virus Oita 296 je virus izolovaný v roce 1972, z netopýří krve, při výzkumu přirozeného hostitele viru japonské encefalitidy. Jediná jeho známá vlastnost, je schopnost růst v mozku bílé myši. Bylo zjištěno, že množení viru Oita 296, v ledvinách křečka, nemělo znatelný cytopatogenní efekt (Morita 1982).

5.3 Čeleď *Orthomyxoviridae*, rod *Influenzavirus A*

5.3.1 Chřipkový virus typu A

Dvě nové linie chřipkových virů, byly nedávno detekovány v netopýrovi *Sturnira lilii*, v Guatemale, v *Artibeus jamaicensis planirostris* v Peru (Tong a další 2012), (Tong a další 2013). Virus chřipky přirozeně infikuje různorodou škálu zvířat. Pozorování střeoevropských netopýrů neodhalilo virus chřipky ve více než 1300 zvířatech, což naznačuje, že ne všechny populace netopýrů jsou infikovány (Fereidouni a další 2014).

Laboratorní výzkum dokazuje, že lidské buňky nepodporují růst netopýřího viru (Tong a další 2012). Netopýří chřipkové viry nemohou růst a replikovat se v lidech, a musí podstoupit změny, aby byly schopny infikovat a šířit se z jednoho člověka na druhého. Vzhledem k tomu, že chřipkové viry netopýrů jsou kompatibilní s lidskými chřipkovými viry, je možné, že tyto viry by si mohly vyměňovat genetické informace s lidskými chřipkovými viry prostřednictvím procesu zvaného rekombinace. Rekombinací virů vzniknou nové chřipkové viry, které by mohly infikovat i lidi (Juozapaitis a další 2014).

5.4 Čeleď *Paramyxoviridae*, rod *Henipavirus*

5.4.1 Virus Hendra

Přírodními hostiteli viru Hendra jsou pravděpodobně kaloni rodu *Pteropus* (Field 2004). Virus je vysoce patogenní a účinná léčba v současné době neexistuje. Zatímco infekčnost a výskyt nemoci jsou nízké, v případě nakažení je úmrtnost vysoká, kolem 80% u nakažených koní a 60% u nakažených lidí (Field a další 2010, Playford a další 2010).

Virus je velice citlivý na sucho, teploty a změny pH, ale experimentální důkazy naznačují, že virus může přetrvávat v životním prostředí, při optimálních podmínkách, několik dní, což naznačuje možný přenos prostřednictvím infikovaných předmětů (Fogarty a další 2008).

Mezi patologické prvky lidských případů, nakažených virem Hendra patří, šíření endoteliálních buněk, spojené s vaskulitidou, trombózou, ischemií, nekrózou a CNS infekce

(Wong a další 2009, Wong a další 2002). Podobné patologické rysy byly přítomny i u zvířat nakažených virem Hendra (Weingartl a další 2009, Bossart a další 2007).

5.4.2 Virus Nipah

Inkubační doba viru Nipah může být až 10 dní (Harit a další 2006). V Bangladéši bylo zjištěno, že prodleva mezi expozicí virem Nipah a nástupem onemocnění je v rozmezí 6-16 dní, s průměrnou inkubační dobou 9 dní (IEDCR 2013).

Klinický obraz infekce viru Nipah v Bangladéši se liší od infekce v Malajsii. V Bangladéši je častější závažné onemocnění dýchacích cest, přičemž 62% případů má kašel, 69% se rozvíjí dýchací obtíže a RTG hrudníku ukazuje difúzní bilaterální zákal, pokrývající většinu plochy plic (Hossain a další 2008). Naproti tomu v Malajsii 14% pacientů mělo neproduktivní kašel, pouze 6% z RTG hrudníku byly abnormální a tyto abnormality byly mírné a lokalizované (Goh a další 2000). Úmrtnost byla vyšší v Bangladéši (73%) než v Malajsii (39%) (Goh a další 2000, Hossain a další 2008).

5.5 Čeleď *Paramyxoviridae*, rod *Rubulavirus*

5.5.1 Virus Mapuera

Virus Mapuera byl izolován v roce 1979 z asymptomatického kaloně *Sturnira lilium*, v brazilském deštném pralese. I když virus Mapuera není považován za patogenní pro člověka, intrakraniální infekcí myši bylo prokázáno, že je fatální (Zeller a další 1989).

5.5.2 Virus Tioman

Je málo známo o patogenезi tohoto nově uznaného paramyxoviru, který byl izolován z kaloně v Malajsii (Chua a další 2001). Byl objeven během studování viru Nipah na ostrově Tioman. Kromě viru Nipah byly objeveny i další dva viry, virus Tioman a virus Pulau (Chua a další 2001, Pritchard a další 2006).

Potenciál viru infikovat a vyvolat onemocnění u lidí nebo jiných zvířat není znám. Nicméně nedávné studie prokázaly, že prasata jsou náchylná k infekci virem Tioman (Yaiw a další 2008), a sérologické známky infekce lidí tímto virem na ostrově Tioman (Yaiw a další 2007). Skutečnost, že 2 ze 3 lidských případů, u kterých byly objeveny protilátky proti viru Tioman, konzumovaly ovoce částečně snědené netopýry, což naznačuje přenos viru z netopýra na člověka (Yaiw a další 2007).

5.6 Čeleď Coronaviridae

5.6.1 SARS Koronavirus

Infekce koronavirem může být asymptomatická, ale může být zodpovědná za celou řadu nemocí, jak veterinárních, tak lékařských, včetně infekcí dýchacích cest, gastrititidu a hepatitidu. Koronaviry mají velký potenciál pro mezidruhový přenos (Decaro a Buonavoglia 2008). Virus SARS způsobil, převážně u starších pacientů, úmrtnost přibližně 50% a více (Pepin a další 2010).

Genetická variabilita koronavirů v netopýrech je mnohem větší, než rozmanitost lidských koronavirů (Drexler a další 2010). Při hledání přírodních rezervoárů viru SARS, vědci našli i několik nových typů koronavirů, což ukazuje, že netopýři mohou skrývat mnohem širší spektrum koronavirů (Lau a další 2005, Poon a další 2005).

5.7 Čeleď Togaviridae, rod Alphavirus

5.7.1 Virus Chikungunya

Virus Chikungunya byl poprvé izolován v roce 1953 během epidemie v Tanzanii (Ross 1956).

V Africe jsou přirozeným hostitelem tohoto viru primáti a netopýři. Prvotním hostitelem je komár, který pak ostatní hostitele nakazí. Inkubační nemocí je až dva týdny po inokulaci infikovaným komárem (Aronoff 2014).

5.7.2 Virus Sindbis

Virus Sindbis byl poprvé izolován v roce 1952 z komárů vyskytujících se u delty Nilu v Egyptě (Taylor a další 1955). Virus byl izolován i z netopýrů (Blackburn a další 1982).

5.8 Čeleď *Flaviridae*, rod *Flavivirus*

5.8.1 Virus Japonské encefalitidy

Japonská encefalitida je těžké zoonotické onemocnění s vysokou úmrtností (Misra a Kalita 2010). Studie ukázaly, že protilátky proti Japonské encefalitidě mohou existovat v netopýrech v Japonsku i Číně (Cui a další 2008, Miura a Kitaoka 1977, Pan a další 2011, Sulkin a Allen 1974, Wang a další 2009).

5.8.2 Kyasanur lesní virus

Tento virus byl poprvé rozpoznán v roce 1957, kdy byl izolován z umírající opice v lese Kyasanur v Indii (Pattnaik 2006, Gould a Solomon 2008).

5.8.3 Virus Yokose

Yokose virus byl poprvé izolován z netopýra v roce 1971, při zkoumání netopýrů jako možného zdroje Japonské encefalitidy (Tajima a další 2005).

5.8.4 Virus St. Louis encefalitidy

Tento virus byl objeven v roce 1933, kdy došlo k více než 50 ohniskům četné epidemie ve Spojených státech a jižní Kanadě (Chamberlain 1980, Lanciotti a další 1999, Lumsden 1958, Monath a Tsai 1987).

5.8.5 Virus Montana myotis leukoencefalitidy

Poprvé byl izolován v roce 1958 z myši, kterou pokousal přirozeně infikovaný netopýr *Myotis lucifugus* v západní Montaně. Virus byl následně izolován ze slin, mozku a různých tkání z dalších netopýrů stejného druhu (Bell a Thomas 1964).

5.9 Čeleď *Bunyviridae*, rod *Bunyavirus*

5.9.1 Virus Guama

Tento virus se nachází v subtropích a tropech, včetně Floridy, Mexika, Střední Ameriky a teplejších oblastech Jižní Ameriky (Shope a další 1988). Bylo identifikováno nejméně 25 různých sérotypů viru. Tyto viry přenáší komáři a malí savci jako jsou hlodavci a vačnatci. Případy nákazy se vyskytují většinou jen sporadicky, díky jejich nespécifické povaze jsou obvykle špatně diagnostikovány, takže jejich incidence je neznámá (Richard a další 2011).

5.10 Čeleď *Bunyviridae*, rod *Hantavirus*

5.10.1 Virus Hantaan

Tento virus byl izolován v roce 1978 (Lee a další 1978).

Rezervoáry hantavirů jsou malí savci, většinou hlodavci, Hantaan virus byl identifikován u potkanů v Koreji (Stewart 2014). Sérologické známky Hantavirové infekce byly zaznamenány i u netopýra *Eptesicus serotinus* a *Rhinolophus ferrumequinum* (Kim a další 1994).

5.11 Čeleď *Bunyvirida*, rod *Phlebovirus*

5.11.1 Virus Toscana

Virus Toscana byl izolován z netopýřího mozku v roce 1988 (Verani a další 1988).

5.11.2 Virus horečky Rift Valley

Tento virus způsobuje vysokou úmrtnost u novorozenců přežvýkavců, zejména ovcí, koz a potraty u březích zvířat (EFSA 2005).

Virus se přenáší pomocí vektorů, komárů, a kontaktem s tkání infikovaných zvířat (Jup a další 2002). Kontakt s infikovanou tkání je považován za hlavní zdroj infekce u lidí (Swanepoel a Coetzer 2004) . Tento virus byl izolován ze dvou druhů netopýrů, z *Micropteropus pusillus* a *Hipposideros Abae*, které jsou považovány za rrezervoár viru (Boiro a další 1987).

5.12 Čeled' *Bunyaviridae*, rod nezařazeno

5.12.1 Virus Kaeng Khoi

Virus Kaeng Khoi byl izolován z netopýrů *Chaerephon plicata* a *Taphozous theobaldi* v jeskyni v Thajsku v roce 1969 (Neill 1985) a znovu u netopýrů *C.plicata* ve stejné oblasti v letech 1970-1971 (Williams a další 1976).

Virus byl také izolován ze štěnic vyskytujících se v jeskyni, ve které se nakažení netopýři vyskytovali, což vede k závěru, že štěnice mohou sloužit jako biologický vektor viru (Williams a další 1976).

Tento virus může být problémem veřejného zdraví, protože analýza séra ukázala, že neutralizačné protilátky na tento virus má 29% populace. Příznaky viru u netopýrů a lidí jsou neznámé (Osborne a další 2003).

5.13 Čeled' *Reoviridae*, rod *Orthoreovirus*

5.13.1 Virus Pulau

Virus Pulau byl izolován z kaloně *Pteropus poliocephalus* na ostrově Tioman v Malajsii v roce 2000 (Pritchard a další 2006, Clancy a další 2000, Duncana 1999).

5.13.2 Virus Nelson Bay

Virus Nelson Bay byl poprvé izolován z krve kaloně *Pteropus poliocephalus* v Austrálii před 30 lety (Gard a Compans 1970, Gard a Marshall 1973).

5.14 Čeleď Arenaviridae

5.14.1 Virus Tacaribe

Virus Tacaribe byl poprvé izolován z jamajských kaloňů *Artibeus jamaicensis* a netopýrů *Artibeus lituratus* v roce 1950 blízko Trinidadu, když probíhal výzkum vztekliny (Downs a další 1963, Price 1978). Vyšetření více než 2000 savců, zejména drobných hlodavců v Trinidadu ukázalo, že rezervoáry viru jsou netopýři. Když byl Tacaribe virus izolován z netopýrů a kaloňů, bylo zjištěno, že někteří byli zdraví, zatímco jiní byli mylně považováni za nakažené vzteklinou. (Downs a další 1963).

5.15 Čeleď Herpesviridae, rod nezařazeno

5.15.1 Cytomegalovirus

Částice tohoto viru byly nalazeny ve slinných žlázách netopýra *Myotis lucifugus* (Tandler 1996).

5.16 Čeleď Filoviridae, rod Ebolavirus a Marburg virus

5.16.1 Virus Ebola

Virus Ebola je z čeledi *Filoviridae* a rodu *Ebolavirus*. Byly popsány 4 druhy viru Ebola: Ebola Zaire, Ebola Sudan, Ebola Pobřeží slonoviny a Ebola Reston (Morvan a další 1999). Virus Ebola Reston byl zjištěn pouze v Asii, nikde jinde onemocnění u člověka nezpůsobil (Fisher-Hoch a další 1992, Rollin a další 1999, Miranda a další 1999). Druh Ebola Zaire je naopak nejvíce patogenní druh, který způsobuje těžkou hemoragickou horečku (Formenty a další 2003, Leroy a další 2004).

Úmrtnost po nakažení virem Eboly se pohybuje kolem 60-70%, ale potenciálně může sahat až k 90%. Inkubační doba u člověka se pohybuje v rozmezí dvou dnů až tři týdny a smrt nastává během 6 až 16 dní po propuknutí nemoci (Feldmann a Geisbert 2011).

Současné vypuknutí viru Ebola Zaire začalo v Guineji v prosinci 2013 (Baize a další 2014, Bausch a Schwarz 2014), následně se virus rozšířil do Libérie, Sierra Leone a Nigérie (ECDC 2014).

Důkazy ukazují, že netopýři jsou primárními přírodními hostiteli viru Eboly, včetně hmyzožravých netopýřů (*Rhinolophus a Miniopterus*) a kaloňů (*Pteropodidae*). Kaloni rodu *Rousettus* byli prokázáni jako hostitelé viru v Africe (Leroy a další 2005, Towner a další 2009, Swanepoel a další 2007, Pourrut a další 2009).

5.16.2 Virus Marburg

Virus Marburg je z čeledi *Filoviridae* a rodu Marburgvirus (Morvan a další 1999).

Rod Marburgvirus se skládá ze dvou velmi odlišných virů, z viru Marburg a viru Ravn (Kuhn a další 2010, Towner a další 2006, Swanepoel a další 2007).

Virus Marburg byl objeven v roce 1967, kdy laboratorní pracovníci v Marburgu v Německu, Bělehradě a Jugoslávii, byli vystaveni viru kontaktem s nakaženými opicemi (Brauburger a další 2012, Amman a další 2012).

Dlouho nebyly známy rezervoáry tohoto viru. Testování netopýři byli schopni přežít infekci, došlo u nich k replikaci viru a adaptivní imunitní odpovědi. Trvalo skoro čtyřicet let od objevu viru Marburg, než byli kaloni identifikováni jako primární přírodní rezervoár (Wittmann a další 2007, Kissling a další 1968).

6. Výzkum netopýrů

6.1 Metody používané při laboratorním výzkumu netopýrů

Většina výzkumů prováděných na netopýrech, za účelem zjistit způsoby šíření virů mezi netopýry, přenosů virů z netopýra na jiné živočichy, nebo kde v těle netopýra virus přežívá, má tyto postupy : naočkování zdravých netopýrů virem, sledování, odebrání vzorků z netopýra a odebrání vnitřních orgánů netopýrům.

6.1.1 Naočkování

Jeden druh očkování, je injekční vpravení látky do svalu, například prsního, deltového nebo do oblasti žvýkacího svalu (Freuling a další 2009, Franka a další 2008).

Dalším způsobem je injekční vpravení látky do těla přes kůži v zátylku.

Další způsob inokulace probíhá za podání sedativa, následně je očkovací látka injekčně vpravena do levé části mozku.

Intranasální naočkování probíhá, že látka je umístěna k nosu a dojde k vdechování látky (Freuling a další 2009).

Naočkování subdermální/intradermální se provádí poškrábáním jehlou na přední hraně každého křídla (Franka a další 2008).

6.1.2 Sledování

Například v pokusu Freuling C., a dalších v roce 2009 byla všechna zvířata pečlivě sledována po dobu 1 hodiny po naočkování. Následně byli netopýři pozorováni dvakrát denně po dobu 120 dnů.

Netopýři bývají často měřeni, váženi a je jim měřena teplota například pomocí infračerveného laserového teploměru (Freuling a další 2009).

6.1.3 Odebírání vzorků

6.1.3.1 Odebírání krevních vzorků

Krev je netopýrům odebírána v určitých intervalech od naočkování virem. Krev je odebírána například z brachiální tepny nebo žíly, nebo srdeční punkcí po humánním utracení zvířete (Freuling a další 2009). Dalším způsobem je přes malé žíly na patangiu, jsou naříznuty skalpelem, na ránu jsou přiloženy filtrační papírky, které nasajou potřebné množství krve (Watanabe a další 2010).

6.1.3.2 Ústní výtěry

Ústní vzorky se odebírají pomocí sterilních vatových tamponů (Freuling a další 2009).

6.1.3.3 Odběry moče a trusu

Moč a fekální vzorky se odebírají za použití čisté průsvitné plastové fólie, která je široká jako spodní část klece (Watanabe a další 2010).

6.1.4 Odebírání orgánů

Tkáně a orgány jsou odebírány po usmrcení zvířete, buď anestezií a nebo srdečním vykrvácením. Někdy se odebírají vzorky moči přímo z močového měchýře pomocí injekční stříkačky (Paweska J.T. 2012).

6.2 Metody výzkumu netopýry přenášených virových nákaz

6.2.1 Buněčné a tkáňové kultury

Mnoho živočišných a rostlinných buněk je schopno přežít a množit se v kultivační misce, pokud jim je dodáno vhodné medium obsahující živiny a specifické růstové faktory.

Prvním krokem při izolaci buněk jednotného typu z tkáně je narušit extracelulární matrix, která drží buňky pohromadě. Vzorek tkáně se obvykle smíchá s proteolytickými enzymy, které štěpí proteiny v extracelulární matrix a s činidly. Další způsob využívá jejich rozdílných fyzikálních vlastností. Například pomocí centrifugace, kdy se od sebe oddělí velké a malé buňky (Alberts a další 2002).

Většina tkáňových buněk není přizpůsobených žít v suspenzi a vyžadují pevný povrch, na kterém mohou růst a dělit se. Kultivace pomocí suspenze používáme pouze pro buňky s nelimitovaným růstovým potenciálem, což jsou hlavně nádorové buňky. U buněčných kultur je tento pevný povrch zajištěn plastovým povrchem kultivační misky. Buňky se liší ve svých nárocích, nicméně mnoho z nich neroste, dokud není kultivační miska potažena složkami extracelulárního matrixu, jako je například kolagen a laminin.

Kultury připravené přímo z tkání organismu, bez proliferace buněk *in vitro* se nazývají primární kultury. Primokultury se zpočátku množí pomalu, po vytvoření souvislé vrstvy se přestanou množit a musí se pasážovat do nové kultivační nádoby. Často mají diferencované vlastnosti v závislosti na jejich původu : fibroblasty vylučují kolagen, nervové buňky rozšiřují axony a epitelové buňky tvoří rozsáhlou vrstvu s mnoha vlastnostmi nedotčeného epitelu.

Ačkoli mnoho živočišných buněk se přestává množit po konečném počtu buněčných dělení, tak immortalizované prostřednictvím spontánních mutací nebo genetickou manipulací lze udržovat po neomezenou dobu v buněčných liniích (Alberts a další 2002).

6.2.3 Hemadsorbční test

Tento test je užitečný pouze pro viry, jako je virus parainfluenzy a virus příušnic, které exprimují hemaglutinační proteiny na plazmatické membráně buněk infikovaných virem. Tyto proteiny nejsou viditelné světelným mikroskopem, ale mohou být detekovány díky své afinitě k erytrocytům (Minnuch a Ray 1987).

Buněčné kultivační médium se odstraní a nahradí se zředěnou suspenzí erytrocytů, obvykle z morčat, tato kultura se inkubuje při teplotě 4°C po dobu 30 minut (Leland 1996). Následuje mikroskopické zkoumání. Pokud je virus přítomen, bude udržovat erytrocyty ve shlukách (Klespies a další 1996).

6.2.4 Imunofluorescence

Imunofluoresce je technika používaná k prokázání struktury a látek v buňkách a tkáních. Využívá fluorescenčně značených protilátek k detekci specifických cílových antigenů. Fluorescenční barviva pohlcují ultrafialové světlo a vyzařují světlo viditelné, které vidíme v mikroskopu (Beutner 2003).

První typ imunofluorescence je primární, nebo také přímá. Tento typ používá jednu primární protilátku, která je chemicky spojená s fluoroforem. Primární protilátka rozpozná antigen a naváže se na specifickou oblast zvanou epitop. Protože počet fluorescenčních molekul, které mohou být vázány na primární protilátku je omezený, přímá imunofluorescence je méně citlivá než nepřímá imunofluorescence (EURO Diagnostica 2014).

Druhý typ je sekundární nebo také nepřímá imunofluorescence. Tento typ používá dvě protilátky. První neznačenou protilátku, která se váže na cílovou molekulu a sekundární protilátku, která nese fluorofor, rozpoznává primární protilátku a váže se na ní (EURO Diagnostica 2014).

Tento proces trvá jen 1-2 hodiny a poskytuje citlivou a specifickou identifikaci viru (Klespies a další 1996).

6.2.5 Neutralizační test

Buňky infikované virem jsou inkubovány s protilátkami známé virové specifičnosti. Odpovídající podíl směsi se pak naočkuje do citlivých buněčných kultur, tyto kultury jsou pak pozorovány kvůli známkám proliferace viru. Vznik cytopatického efektu ukazuje, že protilátky se nevážou, inaktivují nebo neutralizují virus. A naopak nedostatek vzniku cytopatického efektu ukazuje, že protilátky jsou na virus navázané, což umožňuje

identifikaci viru, podle specifit použitých protilátek. Tento test má náročný postup, vyžadující stanovení titru viru před zahájením postupu a delší inkubaci po inokulaci buněčné kultury se směsí protilátek a buněk infikovaných virem. I když neutralizační testy mohou být použity při identifikaci všech typů virů, používají se pouze tehdy, pokud rychlejší metody nejsou k dispozici (Waner 1994).

6.2.6 ELISA

Tato biochemická technika se používá zejména v imunologii pro detekci protilátek nebo antigenu ve vzorku. Test ELISA zahrnuje aspoň jednu protilátku se specifitou pro daný antigen.

Vzorek s neznámým množstvím antigenu je imobilizován na pevném nosiči (obvykle polystyrenové mikrotitrační destičky) a to buď nespecificky (prostřednictvím adsorpce na povrchu), nebo specificky (prostřednictvím zachycení jinou protilátkou specifickou pro stejný antigen). Poté, co je antigen imobilizován, detekční protilátka se přidá, následně vytvoří komplex s antigenem. Detekční protilátka může být kovalentně spojena s enzymem, nebo může být sama o sobě detekována sekundární protilátkou, která je spojena s enzymem. Mezi každým krokem se deska promyje jemným čistícím prostředkem, pro odstranění všech proteinů nebo protilátek, které nejsou specificky vázány. Po posledním promývání, je přidán enzymatický substrát tak, aby vytvořil viditelný signál, který udává množství antigenu ve vzorku (BC 2004-2014). Existují čtyři druhy testu ELISA.

Přímá ELISA, kdy je antigen vázán na desku a je detekován pomocí protilátky, která je přímo konjugovaná s enzymem. Tento postup může být i obrácený.

Nepřímá ELISA, při které je antigen navázán na polystyrénovou desku a je detekován ve dvou fázích. První je s neznačenou protilátkou, která je specifická pro antigen a druhá, kdy enzymem značená sekundární protilátka se váže na první protilátku.

Sendvičová ELISA většinou vyžaduje použití spárovaných protilátek, kde každá protilátka je specifická pro různé nepřekrývající se části epitopů antigenu. První protilátka, tzv. zachycená protilátka, je vázaná na polystyrénové desce. Analyt nebo roztok se přidá do jamky. Druhá vrstva je detekční protilátka, tímto krokem se měří koncentrace roztoku.

A poslední typ je Inhibice ELISY. Tento typ je velice složitý a používá se při měření koncentrace antigenu (nebo protilátky) tím, že se pozoruje rušení výstupu signálu. V případě, že je vysoká koncentrace antigenu ve vzorku, pak dojde ke snížení signálu. Naopak, je-li málo antigenu ve vzorku, snížení signálu bude minimální (Bio-Rad Laboratories 2014).

6.2.7 Polymerázové řetězové reakce

Základním principem je opakovaná řízená denaturace dvouřetězcové DNA a následná renaturace osamocených řetězců se specifickými oligonukleotidy, které jsou v reakční směsi v nadbytku. Tyto oligonukleotidy slouží následně jako primery pro syntézu nového řetězce DNA. Amplifikace DNA probíhá v opakujících se cyklech, které mají tři kroky.

První krok denaturace DNA zahřátím na teplotu kolem 95°C, čímž se rozpadnou vodíkové můstky mezi vlákny DNA. Druhý krok je hybridizace neboli dosednutí primerů. Nejčastěji probíhá při teplotách 50-60°C a molekuly jednořetězcové DNA po ochlazení opět renaturují. Při příliš nízké teplotě mohou primery nasedat i na sekvenve, které jsou komplementární jen z části. Poslední třetí krok je elongace, kdy probíhá syntéza nových řetězců při teplotě 65-75°C. Oligonukleotidy, které dosedly na jednořetězcovou DNA (templát) slouží jako primery pro DNA polymerasu (Šmarda 2005).

Jednou z mnoha úprav standartní polymerázové řetězové reakce je kvantitativní PCR, která se používá k měření specifického množství cílové DNA (nebo RNA) ve vzorku. Měří se zesílení pouze v rámci fáze exponenciálního růstu.

Další z úprav je kvantitativní polymerázová řetězová reakce v reálném čase. Tato metody využívá fluorescenční barviva, jako je například SYBR Green, nebo fluorofor, k měření množství amplifikovaných produktů (Logan a další 2009).

Mezi dalšími úpravami je i reverzní transkripce polymerázové řetězové reakce. Tato technika se používá pro detekci RNA (Freeman a další 1999). Vzorek RNA je nejdříve převeden na komplementární DNA, za použití reverzní transkriptázy. Tato DNA je pak použita jako templát pro exponenciální amplifikaci pomocí polymerázové řetězové reakce (Schmittgen a další 2000). Tento druh je používán v expresním profilování, při kterém se

detekuje exprese genu, stanovení počátku transkripce a terminačního místa a mapování exonů a intronů v sekvenci genu (Mueller a Wold 1989).

6.2.8 Imunohistochemie

Toto odvětví histochemie využívá základního principu interakce antigen-protilátka, kdy monoklonální protilátky přisedají afinitně na cílový antigen, proti kterému byly vytvořeny. Monoklonální protilátky jsou produkovány hybridomy. Imunohistochemie využívá dvou metod.

Při přímé reakci nasedají primární protilátky, které jsou značené, na antigen. Označí tak místo interakce, ale nevýhodou je nízká citlivost a nutnost použít zvýšené množství protilátek.

Když primární protilátka přisedá na svůj antigen s použitím sekundární protilátky, tak se jedná o nepřímou reakci. Sekundární protilátky jsou značené a může jich na primární protilátku nasednout více a tím se zvyšuje citlivost reakce (Maňáková a Seichertová 2002, Junquiera a další 1997).

6.2.9 Rychlý neutralizační test viru vztekliny

Tento neutralizační test se provádí v buněčné kultuře pro stanovení celkového množství neutralizačních protilátek viru vztekliny v lidském nebo zvířecím séru. Jako indikátor replikace viru vztekliny se používá imunofluorescenční barvení.

Test se provádí smícháním různě zředěných testovaných sér s konstantním množstvím viru vztekliny. Směs séra a viru se inkubuje po krátkou dobu, před přidáním směsi k buňkám, ve kterých se virus může replikovat. Vzorky jsou inkubovány po dobu přibližně 20 hodin, než jsou fixovány a obarveny pro detekci produkce viru (CDC 2012).

6.2.10 Western blotting

Tato technika je široce používána a slouží k detekci specifických proteinů. Používá gelovou elektroforézu, která oddělí nativní proteiny podle struktury nebo denaturované proteiny podle délky polypeptidu. Proteiny jsou pak přeneseny na membránu, kde jsou obarveny spolu s protilátkami specifickými pro cílový protein (Towbin a další 1979, Renart a další 1979).

7. Diskuse

Všechny výše popsané vlastnosti dělají z netopýrů jedny z nejvýznamnějších rezervoárů a přenašečů zoonóz. Je dobře, že zájem vědců se na tato pozoruhodná a zároveň i riziko představující zvířata zaměřil. Počet u nich nalezených virů je ohromující a zážející. Zájem o získání více informací o těchto rezervoárech neustále narůstá, protože představují reálnou hrozbu pro zdraví jak zvířat, tak i lidí. Veřejnost s tímto problémem už tolik seznámena není, pokud se řekne slovo netopýr, každý si vybaví pouze vzteklinu, ale nikoho už nenapadne virus Nipah, Marburg, Menangle, SARS nebo dokonce Ebola. Lidé si neuvědomují, že i malá zvířata by mohla být přenašeči takové spousty virů. Třeba současně vypuknutí viru Eboly, kdy jedním ze zdrojů nákazy jsou i netopýři, kteří jsou součástí potravy domorodých obyvatel. Avšak tito lidé si nic vysvětlit nedají a v konzumaci netopýrů dále pokračují. Další výzkumy by se měly i nadále zaměřovat na „soužití“ netopýrů s virem, a zabývat se otázkami, jak přesně funguje interakce viru s netopýří imunitou. U netopýrů se viry většinou neprojevují a jen minimum netopýrů na nákazu umírá. Výsledky výzkumů by mohly hrát významnou roli v boji proti těmto virům.

Netopýři jsou velice plachá zvířata, proto také většina lidských nákaz virů přenášených netopýry je šířena mezihostitelem. Co se týče přímého nakažení kousnutím, většinou jde o virus vztekliny, který u netopýra vyvolal aktivní onemocnění, jak bylo popsáno již v 16. Století (De Oviedo 1950). Od roku 2004 počet případů lidské vztekliny přenášené většinou upíry postupně převýšil počet případů vztekliny přenášené psy (Schneider a další 2005). I když jsou počty případů nezanedbatelné, ve srovnání s přenosem nepřímým jsou minimální. Přenos kapénkami, je také jeden z možných způsobů, jak se člověk může nakazit. Došlo k tomu například v Keni, kdy se dva pacienti nakazili virem Marburg, při návštěvě jeskynního komplexu, s velkým počtem netopýrů (Bausch a další 2006). Největší podíl přenosů je nepřímý přes mezihostitele, jako je tomu u viru Hendra, kdy se prvotně nakazí koně, a u virů Nipah a Menangle, kdy jsou mezihostiteli prasata. Tato zvířata bývají jen zřídka napadena netopýry, nakazí se většinou potravou, kterou se předtím krmil netopýr. Hypotéza přenosu koronaviru, těžkého akutního respiračního syndromu je, že netopýr nakazí cibetku palmovou (*Paguma sp*), a ta pak dále nakazí člověka (Lau a další 2005). Nepřímo dochází také k rozšíření nákazy virem Eboly, kdy nejčastěji k nakažení člověka netopýrem dochází až po netopýrově smrti, kdy slouží jako zdroj potravy.

Problémem je i stále se vyskytující viry v populacích netopýrů. Přispívá tomu i sezonní narození mláďat, což zajišťuje nové imunologicky naivní jedince (Begon a další 1999) a migrace do vzdálených oblastí některých netopýrů, kteří tak slouží jako vektor pro zavlečení nových virů, které se v dané populaci nevyskytovaly (Hutterer a další 2005). Klíšťata a štěnice jsou známí přenašeči viru jak mezi lidmi, tak mezi zvířaty. Pravděpodobně přenáší virus Hendra a virus Kaeng Khoi mezi jedinci netopýrů (Field 2001, Williams a další 1976).

Tímto tématem se zabývá stále více prací. Studie zkoumající roli hnědé tukové tkáně v patogenezi vztekliny dokázala, že slouží k ukládání a množení viru (Sulkin a další 1959). V další studii pokusy ukázaly, že teplota prostředí ovlivňuje průběh experimentálně vytvořené infekce vztekliny, kdy při vyšších teplotách byl virus více aktivní a rychleji se šířil (Sulkin a další 1960). Výsledky experimentů také jsou, že netopýři *Eptesicus fuscus* jsou citliví na virus vztekliny (Brass 1994, Moore a Raymond 1970), virus Yokose není distribuován pouze v Japonsku, ale i v jiných asijských zemích a v netopýrech *Rousettus leschenaulti* se virus špatně množí (Watanabe a další 2010). Předpokládá se, že očkování subkutánně, v přírodě způsobené kousnutím, může být efektivní způsob přenosu Evropského netopýřího Lyssaviru typu 1 u volně žijících netopýrů (Freuling a další 2009). Studie zkoumající netopýry po naočkování virem Marburg zjistila, že tkáně jako jsou plíce, střeva, ledviny, močový měchýř a slinné žlázy, by mohly mít na svědomí horizontální přenos viru. A zároveň, že virus se ve střevech, ledvinách a močových měchýřích vyskytoval pouze po naočkování netopýrů virem intraperitoneální-subkutánní cestou (Paweska a další 2012). Nejvyšší virová zátěž Lyssavirů byla zjištěna v mozku a detekce viru v různých tkáních naznačují, že se šíří odstředivě z centrálního nervového systému do podélných nervů, které inervují tkáně (Carneiro a další 2010, Constantine D.G. 1986, Schatz a další 2014).

Nebezpečí spočívá také v blízkosti netopýrů k lidským obydlím, konkrétně jejich úkryty na půdách domů. Nesmíme zapomínat, že virem se můžeme nakazit prostřednictvím kapének moči či guana. Měla by se také zajistit jejich dostatečná vzdálenost od chovů hospodářských zvířat, která se snadno nakazí a dále šíří nákazu. Tato nebezpečí si však z části vytváří lidstvo samo, když svou činností ovlivňuje chování netopýrů. Zemědělské využívání půdy mění hustotu zvířat, což zvyšuje kontakt mezi lidmi, domácími zvířaty a netopýry (Plowright a další 2011). Dále změny stanovišť, v důsledku odlesňování vedou ke změnám migračních vzorců netopýrů a ti pak hledají útočiště právě v obytných budovách.

Jinak tomu není u dalších činností, jako je ekoturistika, důlní těžba, urbanizace nebo kulturní tradice.

Přes to všechno jsou netopýři prospěšní i pro člověka. Jejich guano se používá jako hnojivo, na výrobu mýdla, lihu a antibiotik (Hill a Smith 1984, Kunz a Fenton 2003). A echolokace poskytla model pro systémy sonarů (Neretti a další 2003). Loví potenciální škůdce plodin. Ačkoli je opylení netopýřem poměrně neobvyklé, tak zahrnuje velký počet ekonomicky i ekologicky významných rostlin. Mnohé z těchto rostlin jsou jedny z nejdůležitějších z hlediska biomasy (Fujita a Tuttle 1991, Kunz a další 2011).

8. Závěr

V posledních letech se lidstvo začalo více zajímat o netopýry jako o rezervoáry a přenašeče virů, které mohou nakazit, nebo dokonce zapříčinit úmrtí lidí i zvířat.

Netopýři mají vlastnosti, které z nich dělají dobré rezervoáry a přenašeče virů. Například jejich schopnost létat na dlouhé vzdálenosti, díky které se virus může rozšířit i do vzdálených oblastí, jejich úkryty, často se nalézající v okolí lidských domů, dlouhověkost, která zapříčinila vývoj viru spolu s netopýry nebo jejich sociální návyky, díky nimž se v koloniích téměř nevyskytují nenakažení jedinci. Hematofágní netopýři se mohou při hledání potravy dostat do kontaktu s jinými zvířaty a tím zajistit mezidruhový přenos virů.

Nakažení netopýři bývají většinou asymptomatictí, což znesnadňuje objevení a rozeznání nákazy. Viry se u netopýrů neprojevují, protože blokují hostitelskou vrozenou imunitu, ale zároveň také mohou sloužit jako ochrana netopýrů před predátory.

Kromě viru vztekliny, byla v minulosti s netopýry spojena i ohniska viru Hendra, Nipah, Menangle, Marburg, Eboly a Těžkého akutního respiračního syndromu.

Bylo provedeno mnoho experimentálních prací, jejichž úkolem bylo odhalit mechanismus šíření viru v těle netopýra. Zjistily například, že hnědá tuková tkáň hraje v patogenezi vztekliny podstatnou roli, protože slouží jako útočiště viru v období jeho množení. Dále bylo zjištěno, že teplota prostředí má vliv na rozmnožování viru vztekliny, u zvířat testovaných při vyšších teplotách, byl virus aktivnější. Studie zabývající se virem Yokose, ukázala, že tento virus není distribuován pouze v Japonsku a že se špatně replikuje v *Rousette leschenault*, a ten tudíž neslouží jako zesilovací hostitel. Zjištění, že větší množství Lyssavirů typu 1 ve štítné žláze spolu s příznaky spojenými s hormonální nerovnováhou, vedlo ke spekulacím o jejím vlivu na onemocnění. Zkoumána byla i distribuce viru Marburg a Lyssaviru v přirozeně infikovaných netopýrech z Německa.

Existuje mnoho potenciálních spouštěčů, které přispívají k přenosu virů. Jedním z nich je i touha po zvěřině, kdy se nakažená zvířata loví a představují nedílnou součást lidského jídelníčku. Dále cestovní ruch, špatná zdravotní péče, urbanizace a další.

Pro výzkumy netopýry přenášených virových nákaz se používají buněčné kultury, pro kultivaci a izolaci viru. Hemadsorbční test se používá pro viry, které exprimují

hemaglutinační proteiny, podle shluků erytrocytů je pak určována přítomnost viru. Další používaná metoda je imunofluorescence, která poskytuje citlivou a specifickou identifikaci viru. Neutralizační test může být použit pro identifikaci všech typů virů, ale používá se jen tehdy, když rychlejší metody nejsou k dispozici. Virová inaktivace činí viry neschopné dále infikovat. ELISA, je používána pro detekci protilátek nebo antigenu ve vzorku. Dále polymerázová řetězová reakce, imunohistochemie využívá principu antigen-protilátka, rychlý neutralizační test pro stanovení celkového množství neutralizačních protilátek v séru a western blotting je používán k detekci specifických proteinů.

O tom, že netopýři nejsou zanedbatelní jako hostitelé a přenašeči virů, vypovídá i databáze, která v lednu 2014 shromáždila informace o 4176 netopýřích přenášených virech z 23 virových rodin, zjištěných u 196 druhů netopýřů v 69 zemích po celém světě.

9. Seznam použité literatury

Adjemian J., Farnon E.C., Tshioko F., a další. „Outbreak of Marburg hemorrhagic fever among miners in Kamwenge.“ *J Infect Dis*, 2011: 796-799.

Alberts B., Johnson A., Lewis J., a další. „Molecular Biology of the Cell.“ New York, Garland Science, 2002.

Albrecht T., Boldogh I., Fons M., a další. „Cell activation signals and the pathogenesis of human cytomegalovirus.“ *Intervirology*, 1990: 68-75.

Altringham J.D. „Bats, biology and behaviour.“ New York: Oxford university press, 1996: 115-132.

Amengual B., Bourhy H., López-roig M., Serra-Cobe J., „Temporal dynamics of European bat Lyssavirus type 1 and survival of *Myotis myotis* in natural colonies.“ *PLoS ONE* , 27. Juny 2007: 2.

Amman B.R., Carroll S.A., Reed Z.D., a další. „Seasonal Pulses of Marburg Virus Circulation in Juvenile *Rousettus aegyptiacus* Bats Coincide with Periods of Increased Risk of Human Infection.“ *PLoS Pathog*, 2012.

Anonymous, Henipavirus. Descriptive summary of Henipaviruses. 2011.

Arankalle V.A., Bandyopadhyay B.T., Ramdasi A.Y., a další. „Genomic characterization of Nipah virus, West Bengal, India.“ *Emerg Infect Dis*, 2011: 907-909.

Arguin P.M., Murray-Lillibridge K., Miranda M.E., a další. „Serologic evidence of Lyssavirus infections among bats, the Philippines.“ *Emerg Infect Dis*, 2002: 258-262.

Aronoff M.D. „What do I need to know about the Chikungunya virus?“ Temple University Hospital , 12. August 2014.

Arthur R. Hendra virus Animal Health Surveillance. 2006.

Austad S.N. „Diverse aging rates in metazoans: targets for functional genomics.“ *Mech Ageing Dev*, 2005: 43-49.

Baer G. M. „The Natural History of Rabies, 2nd Edition.“ CRC Press, 1991.

- Baize S., Pannetier D., Oestereich L., a další. „Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea - preliminary report.“ *The New England Journal of Medicine*, 2014.
- Baker M.L., Schountz T., Wang L.F., „Antiviral immune responses of bats: a review.“ *Zoonoses Public Health*, 2013: 104-116.
- Baron R.C., McCormick JB., Zubeir O.A., „Ebola hemorrhagic fever in southern Sudan: hospital dissemination and intrafamilial spread.“ *Bulletin of the World Health Organization*, 1983: 997-1003.
- Baron S., Fons M., Albrecht T., „Viral Pathogenesis.“ Kap. 45 v *Medical Microbiology*. Galveston, Texas: University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996.
- Bausch D.G., a Schwarz L., „Outbreak of Ebola virus disease in Guinea: where ecology meets economy.“ *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2014.
- Bausch D.G., Borchert M., Grein T., a další. „Risk factors for Marburg hemorrhagic fever, Democratic Republic of the Congo.“ *Emerg Infect Dis*, 2003: 1531-1537.
- Bausch D.G., Nichol S.T., Muyembe-Tamfum J.J., a další. „Marburg Hemorrhagic Fever Associated with Multiple Genetic Lineages of Virus.“ *NEJM*, 2006: 909-919.
- Beer B., Kurth R., Bukreyev A., „Characteristics of Filoviridae: Marburg and Ebola viruses.“ *Naturwissenschaften*, 1999: 8-17.
- Begon M., Hazel S.M., Daxby D., a další. „Transmission dynamics of a zoonotic pathogen within and between wildlife host species.“ *Proc. R. Soc. Lond.*, 1999: 1939-1945.
- Bell J.F., Thomas L.A., „A new virus, ‘MML’, enzootic in bats (*Myotis lucifungus*) of Montana.“ *Am J Trop Med Hyg*, 1964: 607-612.
- Beutner E.H., „The development of immunofluorescence and the immunopathology of the skin.“ *Int J Dermatol*, 2003: 99-109.
- Bio-Rad Laboratories. Inc., AbD Serotec, ELISA. 2014. <http://www.abdserotec.com/an-introduction-to-elisa.html> (přístup získán 24. October 2014).
- Birt P. „Mutualistic interactions between the nectar-feeding little red flying fox *Pteropus scapulatus* (Chiroptera: Pteropodidae) and flowering eucalypts (Myrtaceae): habitat

utilisation and pollination.“ V Phd thesis. Brisbane, Australia: University of Queensland, 2004.

Blackburn N.K., Foggin C.M., Searle L., a další. „Isolation of Sindbis virus from bat organs.“ *Cent Afr J Med*, August 1982.

Blum L.S., Khan R., Nahar N., Breiman R.F., „In-depth assessment of an outbreak of Nipah encephalitis with person-to-person transmission in Bangladesh: implications for prevention and control strategies.“ *Am J Trop Med Hyg*, 2009: 96-103.

Boiro I., Konstaninov O.K., Numerova A.D., „Isolation of Rift Valley Fever Virus from Bats in the Republic of Guinea.“ *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique et de ses Filiales (in French)*, 1987: 62-67.

Borchert M., Mulangu S., Swanepoel R., a další. „Serosurvey on Household Contacts of Marburg Hemorrhagic Fever Patients.“ *Emerg Infect Dis*, 2006: 433-439.

Bossart K.N., Bingham J., Middleton D., „Targeted strategies for Henipavirus therapeutics.“ *Open Virol J*, 2007: 14-25.

Bourhy H., Kissi B., Lafon M., a další. „Antigenic and molecular characterization of bat rabies virus in Europe.“ *J Clin Microbiol*, 1992: 2419-2426.

Brass D.A. „Rabies in bats: Natural history and public health implications.“ Livia Press, 1994.

Brauburger K., Hume A.J., Mühlberger E., a další. „Forty-Five Years of Marburg Virus Research.“ *Viruses*, 2012: 1878-1927.

Breed A.C., Field H.E., Craig S.S., a další. „Bats Without Borders: Long-Distance Movements and Implications for Disease Risk Management.“ *EcoHealth*, 20. June 2010: 204-212.

Broder C.C. „Henipavirus outbreaks to antivirals: the current status of potential therapeutics.“ *Curr Opin Virol*, 2012: 176-187.

Burns K.F. a Farinaci C.J. „Virus of bats antigenically related to St. Louis encephalitis.“ *Science*, 1956: 227.

Calisher C.H., Childs J.E., Field H.E., a další. „Bats: important reservoir hosts of emerging viruses.“ *Clin Microbiol Rev*, July 2006: 531-545.

Carneiro A.J.B., Franke C.R., Stockee A., a další. „Rabies virus RNA in naturally infected vampire bats, Northeastern Brazil.“ *Emerg Infect Dis*, 2010: 2004-2006.

Carrieri M.L., Peixoto Z.M.P., Paciencia M.L.B., a další. „Paciencia MLB et al. Laboratory diagnosis of equine rabies and its implications for human postexposure prophylaxis.“ *J Virol Methods*, 2006: 1-9.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). „Centers for Disease Control and Prevention.“ *Rabies*. 29. June 2012. http://www.cdc.gov/rabies/specific_groups/doctors/serology.html (přístup získán 24. October 2014).

Centers for Disease Control and Prevention. „Outbreak of Marburg virus hemorrhagic fever—Angola.“ *MMWR MORB Mortal Wkly Rep*, 2005: 308-309.

Clancy E.K., Duncan R., „Reovirus FAST protein transmembrane domains function in a modular, primary sequence-independent manner to mediate cell–cell membrane fusion.“ *J. Virol*, 2000: 2941-2950.

Clegg J.C.S., Lloyd G., „Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1995: A perspective.“ *Curr Opin Infect Dis*, 1995: 225-228.

Clutton-Brock J. „Letouni.“ *V Příroda v kostce-savci*, 2002.

Cockrum E.L. „Migration in the guano bat, *Tadarida brasiliensis*.“ *University of Kansas Museum of Natural History. Lawrence*, 1969: 303-336.

Coen D.M. „Acyclovir-resistant, pathogenic herpesviruses.“ *Trends Microbiol*, December 1994: 481-485.

Constantine D.G. „Absence of prenatal infection of bats with rabies virus.“ *J Wild Dis*, 1986: 249-250.

Cui J., Counor D., Shen D., a další. „Detection of Japanese encephalitis virus antibodies in bats in Southern China.“ *Am J Trop Med Hyg*, 2008: 1007-1011.

Da Rosa E.ST., Kotait I., Vasconcelos P.F.C., „Bat-transmitted Human Rabies Outbreaks, Brazilian Amazon.“ *Emerg Infect Dis.*, August 2006: 1197-1202.

Daszak P., Cunningham A.A., Hyatt A.D., „Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife.“ *Acta Trop*, 2001: 103-116.

De Oviedo F. „Sumario de la natural historia de las Indias.“ Mexico: Fond de Cultura Económica, 1950.

Dean D.J., Abelseth M.K., Atanasiu P., „The fluorescent antibody test. In laborator techniques in rabies, 4th edition.“ WHO, 1996: 88-93.

Decaro N., Buonavoglia C., „An update on canine coronaviruses: Viral evolution and pathobiology.“ *Vet Microbiol*, 2008: 221-234.

Dietz C., von Helversen O., „Identification Key to the Bats of Europe – Electronical Publication“, Version 1.0. 2004. www.uni-tuebingen.de/tierphys/Kontakt/mitarbeiter_seiten/dietz.htm.

Dietz C., von Helversen O., Nill D., a další. „Handbuch der Fledermäuse Europas und Nordwestafrikas“. Stuttgart, Germany: Kosmos, 2007.

Downs W.G., Anderson C.R., Spence L., a další. „Tacaribe virus, a new agent isolated from artibeus bats and mosquitos in Trinidad, West Indies .“ *Am J Trop Med Hyg*, 1963: 640-646.

Drexler J.F., Gloza-Rausch F., Glende J., a další. „ Genomic characterization of severe acute respiratory syndrome-related coronavirus in European bats and classification of coronaviruses based on partial RNA-dependent RNA polymerase gene sequences.“ *J Virol*, 2010: 11336-11349.

Duncana R., „Extensive sequence divergence and phylogenetic relationships between the fusogenic and nonfusogenic orthoreoviruses: a species proposal.“ *Virology*, 1999: 316-328.

Eaton BT., Broder C.C., Middleton D., Wang L.F., „Hendra and Nipah viruses: different and dangerous.“ *Nat Rev Microbiol*, January 2006: 23-35.

Eby P., „Seasonal movements of grey-headed flying-foxes, *Pteropus poliocephalus* (Chiroptera : Pteropodidae), from two maternity camps in northern New South Wales.“ *Wildlife Research*, 1991: 547-559.

ECDC. „Outbreak of Ebola virus disease in West Africa.“ ECDC, 2014.

Eggert C., „Is tick paralysis in the spectacled flying-fox, *Pteropus conspicillatus* related to a change in the foraging behaviour of *P.conspicillatus* ?“ Unpublished Bachelor of Science (Honours) Thesis. Lismore, Australia: Southern Cross University, 1994.

Epstein J.H., Field H.E., Luby S., a další. „Nipah virus: impact, origins, and causes of emergence.“ *Curr Infect Dis reports*, 2006: 59-65.

EURO Diagnostica. „Immunofluorescence“ 2000-2014.
<http://eurodiagnostica.com/index.php?headId=3&pageId=3&langId=1&catId=10> (přístup získán 23. October 2014).

European Food Safety Authority (EFSA). „Opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) on a request from the Commission related to "The Risk of a Rift Valley Fever Incursion and its Persistence within the Community".“ *The EFSA Journal*, 2005: 1-128.

European Network for Diagnostics of Imported Viral Diseases. „Management and control of viral hemorrhagic fevers.“ <http://www.enivd.de/index.htm> (přístup získán 16. 8 2014).

Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., a další. „Virus taxonomy, Eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.“ San Diego, California: Elsevier Academic Press, 2005.

Feldmann H., a Geisbert T.W., „Ebola haemorrhagic fever.“ *Lancet*, 2011: 849-862.

Fereidouni S., Kwasnitschka L., Buschmann B.n a další., „No Virological Evidence for an Influenza A-like Virus in European Bats.“ *Zoonoses Public Health*, 2014.

Field H., „Australian bat lyssavirus.“ V PhD thesis. Brisbane, Austrálie: University of Queensland, 2004.

Field H., Schaaf K., Kung N., a další. „Hendra virus outbreak with novel clinical features, Australia.“ *Emerg Infect Dis.*, 2010: 338-340.

Field H., Young P., Yob J.M., a další. „The natural history of Hendra and Nipah viruses.“ *Microbes and Infection*, April 2001: 307-314.

Field H.E., „Australian bat lyssavirus.“ V PhD thesis. University of Queensland: School of Veterinary Science, 2005.

Field H.E.. „Bats and emerging zoonoses: henipaviruses and SARS.“ *Zoonoses Public Health*, 2009: 278-284.

Field H.E., Barratt P.C., Hughes R.J., a další. „A fatal case of Hendra virus infection in a horse in north Queensland: clinical and epidemiological features.“ *Aust Vet J.*, 2000: 279-280.

Field H.E., Mackenzie J.S., Daszak P.. „Henipaviruses: emerging paramyxoviruses associated with fruit bats.“ *Curr Top Microbiol Immunol*, 2007: 133-159.

Fields B.N. „How do viruses cause different diseases?“ *Am J Med Assoc*, 7. October 1983: 1754-1756.

Fisher-Hoch S.P., Brammer T.L., Trappier S.G., a další. „Pathogenic potential of filoviruses: role of geographic origin of primate host and virus strain.“ *J Infect Dis*, 1992: 753-763.

Fogarty R., Halpin K., Hyatt A.D., a další. „Henipavirus susceptibility to environmental variables.“ *Virus Res*, 2008: 140-144.

Fontana J.M., Bankamp B., Rota P.A.. „Inhibition of interferon induction and signaling by paramyxoviruses.“ *Immunol Rev*, 2008: 46-67.

Fooks A.R., Johnson N., Müller T., a další. „Detection of high levels of European Bat Lyssavirus Type-1 viral RNA in the thyroid gland of experimentally -infected *Eptesicus fuscus* bats.“ *Zoonoses Public Health* , August 2009: 270-277..

Formenty P., Libama F., Epelboin a další. „Outbreak of Ebola hemorrhagic fever in the Republic of the Congo: a new strategy?“ *Med Trop (Mars)*, 2003: 291-295.

Franka R., Johnson N., Müller T., a další. „Susceptibility of North American big brown bats (*Eptesicus fuscus*) to infection with European bat lyssavirus type 1.“ *J Gen Virol*, 2008.

Frazer G.C., Hooper P.T., Lunt R.A., a další. „Encephalitis caused by a Lyssavirus in fruit bats in Australia.“ *Emerg Infect Dis*, 1996: 327-331.

Freeman W.M., Walker S.J., Vrana K.E.. „Quantitative RT-PCR: pitfalls and potential.“ *BioTechniques*, 1999: 112-122, 124-125.

Freudenrich C. „How Viruses Work.“ howstuffworks. 19. October 2000. <http://science.howstuffworks.com/life/cellular-microscopic/virus-human.htm> (přístup získán 10. 9 2014).

Freuling C., Vos A., Johnson N., a další. „Experimental infection of serotine bats (*Eptesicus serotinus*) with European bat lyssavirus type 1a.“ *J Gen Virol.*, October 2009: 2493-2502.

Frieman M.B., Baric R., „Mechanisms of severe acute respiratory syndrome pathogenesis and innate immunomodulation.“ *Microbiol Mol Biol Rev*, 2008: 672-685.

Gard G., Compans R.W., „Structure and cytopathic effects of Nelson Bay virus.“ *J Virol*, 1970: 100-106.

Gard G.P., Marshall I.D., „Nelson Bay virus. A novel reovirus.“ *Arch Gesamte Virusforsch*, 1973: 34-42.

Gear J.S., Cassel G.A., Gear A.J., a další. „Outbreak of Marburg virus disease in Johannesburg.“ *BMJ*, 1975: 489-493.

George D.B., Webb C.T., Farnsworth M.L., a další. „Host and viral ecology determine bat rabies seasonality and maintenance.“ *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011: 10208-10213.

Georges A.J., Tshioko F.K., Heymann D.L., a další. „Ebola hemorrhagic fever outbreaks in Gabon, 1994–1997: Epidemiologic and health control issues.“ *J Infect Dis*, 1999: 65-75.

Georges-Courbot M.C., Sanchez., Lu C.Y., a další. „Isolation and phylogenetic characterization of Ebola viruses causing different outbreaks in Gabon.“ *Emerg Infect Dis*, 1997: 59-62.

Goh K.J., Tan C.T., Chew N.K., a další. „Clinical features of Nipah virus encephalitis among pig farmers in Malaysia.“ *The New England Journal of Medicine*, 27. April 2000: 1229-1235.

Gonçalves M.A.S., Sá-Neto R.J., Brazil T.K., „Outbreak of aggressions and transmission of rabies in human beings by vampire bats in northeastern Brazil.“ *Rev Soc Bras Med Trop*, 2002: 461-464.

Gould E., Solomon T., „Pathogenic flaviviruses.“ *The Lancet*, 2008: 500-509.

- Grard G., Biek R., Leroy E., „Emergence of Divergent Zaire Ebola Virus Strains in Democratic Republic of the Congo in 2007 and 2008.“ *J Infect Dis*, 1. 11 2011: 776-784.
- Green S.L., Smith L.L., Vernay W., a další. „Rabies in horses: 21 cases (1970-1990).“ *J Am Vet Med Assoc*, 1992: 1133-1137.
- Greenhall A.M., „Bats: their public health importance and control with special reference to Trinidad,“ *Proceedings of the 2nd Vertebrate Pest Control Conference*, 1964: 108-116.
- Grieder F.B., Davis N.L., Aronson J.F., a další. „Specific restrictions in the progression of Venezuelan equine encephalitis virus-induced disease resulting from single amino acid changes in glycoproteins.“ *Virology*, 1. February 1995: 994-1006.
- Griffin D.R. „Migrations and homing in bats.“ *Biology of bats*, New York: Academic Press, 1970: 233-264
- Gould A.R., „Comparison of the deduced matrix and fusion protein sequences of equine morbillivirus with cognate genes of the *Paramyxoviridae*.“ *Virus Res*, 1996: 17-31.
- Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q., a další. „Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China.“ *Science*, 2003: 276-278.
- Gurley E.S., Montgomery J.M., Hossain M.J., a další. „Person-to-person transmission of Nipah virus in a Bangladeshi community.“ *Emerg Infect Dis*, 2007: 1031-1037.
- Hanlon C.A., Kuzmin I.V., Blanton J.D., a další. „Efficacy of rabies biologics against new lyssaviruses from Eurasia.“ *Virus Res*, 2005: 44-54.
- Hanna J.N., Carney I.K., Smith G.A., a další. „Australian bat lyssavirus infection: a second human case, with a long incubation period.“ *Med. J. Aust.*, 2000: 597-599.
- Hanna J.N., McBride W.J., Brookes D.L., a další. „Hendra virus infection in a veterinarian.“ *Med J Aust.*, 2006: 562-564.
- Harit A.K., Ichhpujani R.L., Gupta S., a další. „Nipah/Hendra virus outbreak in Siliguri, West Bengal, India in 2001.“ *Indian J Med Res*, 2006: 553-560.
- Hess I.M., Massey P.D., Walker B., a další. „Hendra virus: what do we know?“ *NSW Public Health Bull*, 2011: 118-122.

Heymann D.L., Weisfeld J.S., Webb P.A., a další. „Ebola hemorrhagic fever: Tandala, Zaire, 1977–1978.“ *J Infect Dis.*, 1980: 372-376.

Hock R. J. „Nature of hibernation of bats.“ *Fed. Proc.*, 1951: 65.

Homaira N., Rahman M., Hossain M.J., a další. „Nipah virus outbreak with person-to-person transmission in a district of Bangladesh, 2007.“ *Epidemiol Infect*, 2010: 1630-1636.

Homaira N., Rahman M., Hossain M.J., a další. „Cluster of Nipah virus infection, Kushtia District, Bangladesh.“ *PLoS ONE*, 2007.

Hooper P.T., Gould A.R., Russel G.M., a další. „The retrospective diagnosis of a second outbreak of equine morbillivirus infection.“ *Aust Vet J.*, 1996: 244-245.

Hossain M.J., Gurley E., Montgomery J.M., a další. „Risk factors for Nipah virus encephalitis in Bangladesh.“ *Emerg Infect Dis*, 2008: 1526-1532.

Hossain M.J., Gurley E.S., Montgomery J.M., a další. „Clinical presentation of nipah virus infection in bangladesh.“ *Clin Infect Dis*, 2008: 977-984.

Hsu V.P., Hossain M.J., Parashar U.D., a další. „Nipath virus encephalitis reemergence, Bangladesh.“ *Emerg Infect Dis*, 2004: 2082-2087.

Hudson L.C., Weinstock D., Jordan T., a další. „Clinical presentation of experimentally induced rabies in horses.“ *J Vet Med*, 1996: 277-285.

Hutterer R., Ivanova T., Meyer-Cord C., Rodrigues L., „Bat Migrations in Europe: A Review of Banding Data and Literature.“ *Naturschutz und Biologische Vielfalt*, 2005: 1-172.

Chadha M.S., Comer J.A., Lowe L., a další. „Nipah virus-associated encephalitis outbreak, Siliguri, India.“ *Emerg Infect Dis*, February 2006: 235-240.

Chamberlain R.W., „History of St . Louis encephalitis“. Washington DC: American Public Health Association, 1980.

Chant K., Chan R., Smith M., a další. „Probable human infection with a newly described virus in the family Paramyxoviridae. The NSW Expert Group.“ *Emerg Infect Dis*, April 1998: 273-275.

Chen L., Liu B., Yang J., Jin Q., „DBatVir: the database of bat-associated viruses.“ Database (Oxford), 18. March 2014.

Chua K.B. „Nipah virus outbreak in Malaysia.“ J Clin Virol, 2003: 265-275.

Chua K.B., Bellini W.J., Rota P.A., a další. „Nipah virus: a recently emergent deadly paramyxovirus.“ Science, 26. May 2000: 1432-1435.

Chua K.B., Crameri G., Hyatt A., a další. „A previously unknown reovirus of bat origin is associated with an acute respiratory disease in humans.“ Proc Natl Acad Sci USA, 2007: 11424-11429.

Chua K.B., Goh K.J., Wong K.T. a další. „Fatal encephalitis due to Nipah virus among pig-farmers in Malaysia.“ The Lancet, 9. October 1999: 1257-1259.

Chua K.B., Chau B.H., Wang C.W., „Anthropogenic deforestation, El Nino and the emergence of Nipah virus in Malaysia.“ Malays J Patho, 2002: 15-21.

Chua K.B., Lam S.K., Goh K.J., a další. „The presence of Nipah virus in respiratory secretions and urine of patients during an outbreak of Nipah virus encephalitis in Malaysia.“ J Infect, 2001: 40-43.

Chua K.B., Voon K., Yu M., a další. „Investigation of a potential zoonotic transmission of orthoreovirus associated with acute influenza-like illness in an adult patient.“ PLoS ONE, 2011.

Chua K.B., Wang L.F., Lam S.K., a další. „Tioman virus, a novel paramyxovirus isolated from fruit bats in Malaysia.“ Virology, 2001: 215-229.

IEDCR. „Institute of Epidemiology, Disease Control and Research. Nipah infection in 2013.“ 15. May 2013.
http://www.iedcr.org/index.php?option=com_content&view=article&id=135:23-rd-february-2013-nipah-outbreak&catid=11 (přístup získán 28. 9 2014).

Jakson F.R., Turnelle A.S., Farino D.M., a další. „Experimental rabies virus infection of big brown bats (*Eptesicus fuscus*).“ J Wild Dis, July 2008: 612-621.

Johnson E.D., Johnson B.K., Silverstein D., a další. „Characterization of a new Marburg virus isolated from a 1987 fatal case in Kenya.“ Arch Virol Suppl, 1996: 101-114.

Johnson K.M. „Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1976. Bull World Health Organ.“ Bull World Health Organ, 1978: 271-293.

Johnson K.M., Webb P.A., Lange J.V., Murphy F.A., „Isolation and partial characterization of a new virus causing acute haemorrhagic fever in Zaire.“ The Lancet, 1977: 569-571.

Johnson N., Aréchiga-Ceballos N., Aguilar-Setien A. „Vampire Bat Rabies: Ecology, Epidemiology and Control.“ Viruses, May 2014: 1911-1928.

Johnson N., Vos A., Freuling C., a další. „Human rabies due to lyssavirus infection of bat origin.“ Vet Microbiol., 2010: 151-159.

Jones K.E., Patel N.G., Levy M.A., a další. „Global trends in emerging infectious diseases.“ Nature, 2008: 990-993.

Jones K.E., Purvis A., MacLarnon A., a další. „A phylogenetic supertree of the bats (Mammalia: Chiroptera).“ Biol Rev Camb Philos Soc, 2002: 223-259.

Junquiera., Carlos L., O Kelley J., a další. „Principles of histology.“ Jinočany: H & H, 1997.

Juozapaitis M., Aquiar Moreira E., Mena I., a další. „An infectious bat-derived chimeric influenza virus harbouring the entry machinery of an influenza A virus.“ Nat Commun, 23. July 2014.

Juozapaitis M., Aquiar Moreira E., Mena I., a další. „An infectious bat-derived chimeric influenza virus harbouring the entry machinery of an influenza A virus.“ Nat Commun, 23. July 2014.

Jup P.G., Kemp A., Grobbelaar A., a další. „The 2000 epidemic of Rift Valley fever in Saudi Arabia: Mosquito vector studies.“ Medical and veterinary entomology , 2002: 245-252.

Khan A.S., Sanchez., Pflieger A.K., „Filoviral haemorrhagic fevers.“ Br Med Bull, 1998: 675-692.

Kim G.R., Lee Y.T., Park C.H., „A new natural reservoir of hantavirus: Isolation of hantaviruses from lung tissues of bats.“ Arch. Virol., 1994: 84-95.

King A.A., Haagsma J., Kappeler A., „Lyssavirus infections in European bats. In Historical Perspective of Rabies in Europe and the Mediterranean Basin.“ World Organization for Animal Health (OIE), 2004: 221-241.

- Kirkland P.D., Love R.J., Philbey A.W., a další. „Epidemiology and control of Menangle virus in pigs.“ *Aust Vet J*, 2001: 199-206.
- Kissling R.E., Robinson R.Q., Murphy F.A., a další. „Green monkey agent of disease.“ *Science*, 1968: 1364.
- Klespies S.L., Cebula D.E., Kelley C.L., a další. „Detection of enteroviruses from clinical specimens by spin amplification shell vial culture and monoclonal antibody assay.“ *J. Clin. Microbiol*, 1996: 1465-1467.
- Knegt L.V., Renoirer E.I.M., Araújo W.N., a další. „Prevalence study on vampire-bat (*Desmodus rotundus*) bites in a rural population following an outbreak of rabies-related deaths—Maranhão State.“ *RITA XVII. Annales of the XVII International Conference on Rabies in the Americas*. Brasília, Brazil: Ministry of Health, 2006.
- Kuhn J.H., Becker S., Ebihara H., a další. „Proposal for a revised taxonomy of the family Filoviridae: Classification, names of taxa and viruses, and virus abbreviations.“ *Arch. Virol.*, 2010: 2083-2103.
- Kunz T.H., Nagy K.A., „Energy budget analysis. In *Ecological and behavioral methods for the study of bats*.“ Smithsonian Institution Press, 1988: 283-285.
- Lahm S.A., Kombila M., Swanepoel R., a další. „Morbidity and mortality of wild animals in relation to outbreaks of Ebola haemorrhagic fever in Gabon, 1994–2003.“ *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2007: 64-78.
- Lanciotti R.S., Roehrig J.T., Deubel V., a další. „Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States .“ *Science*, 1999: 2333-2337.
- Lau S.K., Woo P.C., Li K.S., a další. „Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats.“ *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005: 14040-14045.
- Lawrence J., Hill D.R., „Largest ever Marburg haemorrhagic fever outbreak, Angola.“ 2005.
<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?PublicationType=W&Volume=10&Issue=14&OrderNumber=1> (přístup získán 18. 8 2014).

Lee H.W., Lee P.W., Johnson k.M., „Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever.“ *J Infect Dis*, 1978: 298-308.

Leland D.S., „Clinical virology.“ Philadelphia: WB Saunders, 1996.

Leroy E.M., Kumulungui B., Pourrut X., a další. „Fruit bats as reservoirs of Ebola virus.“ *Nature*, 2005: 575-576.

Leroy E.M., Rouquet P., Formenty P., a další. „Multiple Ebola virus transmission events and rapid decline of central African wildlife.“ *Science*, 2004: 387-390.

Leroy M.E., Epelboin A., Mondonge V., „Human Ebola outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007.“ *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2009: 723-728.

Levaditi C., Sanchic-Bayarri V., Schoen R., „Neuro-infections autosterilisables (encephalite, herpis, rage).“ *Compt. rend. Soc. biol.*, 1928: 911.

Li W., Shi Z., Yu M., a další. „Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses.“ *Science*, 2005: 676-679.

Liang G., Chen Q., Xu J., a další. „Laboratory diagnosis of four recent sporadic cases of community-acquired SARS, Guangdong Province China.“ *Emerg. Infect. Dis.*, 2004: 1774-1781.

Lim P.L., Kurup A., Gopalakrishna G., a další. „Laboratory-acquired severe acute respiratory syndrome.“ *N Engl J Med*, 2004: 1740-1745.

Logan J., Edwards K., Saunders N., „Current Technology and Applications .“ Caister Academic Press, 2009.

Lopaz A., Miranda P., Tejada E., Fishbein D.B., „Outbreak of human rabies in the Peruvian jungle.“ *The Lancet*, 1992: 408-411.

López A. „Report of the outbreaks of human rabies in Peru. Human outbreak in Madre de Dios.“ Pan American Health Organization, ed. Final report of the Expert Consultation on the Care of Persons Exposed to Rabies Transmitted by Vampire Bats. PAHO., Washington D.C. 2-5. April 1991. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2001000600038%094. (přístup získán 12. 8 2014).

Luby S., Hossain J., Gurley E., a další. „Recurrent Zoonotic Transmission of Nipah Virus into Humans, Bangladesh, 2001–2007.“ *Emerg Infect Dis*, 2009: 1229-1235.

Luby S.P., Gurley E.S., Hossain M.J., „Transmission of human infection with Nipah Virus.“ *Clin Infect Dis*, 2009: 1743-1748.

Lumsden L.L. „Louis encephalitis in 1933, observations on epidemiological features.“ *Public Health Rep*, 1958: 340-353.

Malága A.A., Campillo S.C. „Rabia humana transmitida por murciélagos: confirmación del primer caso en México.“ *Bol Of Sanit Panam*, 1957: 567-570.

Maňáková E., a Seichertová A., „Methods in histology.“ Prague: Karolinum, 2002.

Mandal S., Banerjee R., „Bat virus in Bengal.“ *The Telegraph*, 8. May 2007.

Markus N. „Behaviour of the black flying fox *Pteropus alecto*: 2. Territoriality and courtship.“ *Acta Chiropt.*, 2002: 153-166.

Martin M.L., Sedmak P.A., „Rabies. 1: epidemiology, pathogenesis and diagnosis.“ *Compend Contin Educ Pract Vet*, 1983: 521.

Mathews F. „Zoonoses in wildlife integrating ecology into management.“ *Advances in Parasitology Elsevier Ltd*, 2009: 185-209.

McKendrick A.G. „A ninth analytical review of reports from Pasteur Institutes.“ *Bull. WHO*, 1941: 31-78.

Mendez D.H., Judd J., Speare R., „Unexpected result of Hendra virus outbreaks for veterinarians, Queensland, Australia.“ *Emerg Infect Dis*, 2012: 83-85.

Messenger S.L., Smith J.S., Rupprecht C.E., a další. „Emerging epidemiology of bat-associated cryptic cases of rabies in humans in the United States.“ *Clin Infect Dis*, 2002: 738-747.

Ministério da Saúde., Brasil 2007.,. <http://portalsaude.saude.gov.br/> (přístup získán 15. 8 2014).

Ministerio de Salud., Perú 2007. Ministerio de Salus Presidencia de la Nación. <http://www.msal.gov.ar/> (přístup získán 15. 8 2014).

Minnuch L.L., a Ray G.C., „Early testing of cell cultures for detection of hemadsorbing viruses.“ *J. Clin. Microbiol*, 1987: 421-422.

Miranda M.E., Ksiazek T.G., Retuya T.J., a další. „Epidemiology of Ebola (subtype Reston) virus in the Philippines.“ *J Infect Dis*, 1999: 115-119.

Misra U.K., Kalita J., „Overview: Japanese encephalitis.“ *Prog Neurobiol*, 2010: 108-120.

Miura T., Kitaoka M., „Viruses isolated from bats in Japan.“ *Arch Virol*, 1977: 281-286.

Monath T.P., Tsai T.F., „Louis encephalitis: lessons from the last decade .“ *Am J Trop. Med Hag.*, 1987: 40-59.

Montgomery M.J., Hossain M.J., Gurley U., a další. „Risk factors for Nipah virus encephalitis in Bangladesh.“ *Emerg Infect Dis*, 2008: 1526-1532.

Moore G.J., a Raymond G.H., „Prolonged incubation period of rabies in a naturally infected insectivorous bat, *Eptesicus fuscus* (Beauvois).“ *Journal of Wildlife Diseases*, 1970: 167-168.

Morita M., „Virus oita 296 isolated from the bat in cell culture.“ *Mikrobiologija*, 1982: 5-10.

Morrison D.W., „Apparent male defense of tree hollows in the fruit bat, *artibues jamaicensis*.“ *Journal of Mammalogy*, February 1979: 11-15.

Morse S.S., „Factors and determinants of disease emergence.“ *Rev Sci Tech*, 2004: 443-451.

Morvan J.M., Deubel V., Gounon P., a další. „Identification of Ebola virus sequences present as RNA or DNA in organs of terrestrial small mammals of the Central African Republic.“ *Microbes Infect*, 1999: 1193-1201.

Mueller P.R., Wold B., „In vivo footprinting of a muscle specific enhancer by ligation mediated PCR.“ *Science*, November 1989: 780-786.

Müller T., Johnson N., Freuling C., a další. „Epidemiology od bat rabies in Germany.“ *Arch. Virol*, 2007: 273-288.

Murray G., Miscellaneous. „Hendra virus findings in Queensland, Australia.“ *Disease Information*, 2005: 66.

Murray K., Selleck P., Hooper P. „A morbillivirus that caused fatal disease in horses and humans.“ *Science*, 7. April 1995: 94-97.

Nahar N., Sultana R., Gurley E.S., a další. „Date palm sap collection: exploring opportunities to prevent Nipah transmission.“ *EcoHealth*, 2010: 196-203.

Neill W.A. „In International Catalogue of Arboviruses Including Certain Other Viruses of Vertebrates.“ San Antonio: American Society for Tropical Medicine and Hygiene, 1985: 533-534.

Neuweiler G. *The Biology of Bats*. Oxford: Oxford University Press, 2000.

New York Blood Center (NYBC). New York Blood Center. 2014. <http://nybloodcenter.org/> (přístup získán 24. October 2014).

„Nipah outbreak in Faridpur District, Bangladesh, 2010. “, *Health Sci Bull*, 2010: 6-11.

„Nipah outbreak in Lalmonirhat district, 2011. “ *Health Sci Bull*, 2011: 13-18.

Oliveira R.C. „Outbreak of human rabies transmitted through bats in the Pará, Brazil.“ *Proceedings of the XV International Conference on Rabies in the Americas (RITA XV)*. Santo Domingo, Dominican Republic, 2004.

Omatsu T., Ishii Y., Kyuwa S., a další. „Molecular evolution inferred from immunological cross-reactivity of immunoglobulin G among Chiroptera and closely related species.“ *Exp Anim*, 2003: 425-428.

Organización Panamericana, de la Salud. „Sistema de Información y Vigilancia Epidemiológica para la Rabia en las Américas.“ SIRVERA. <http://sirvera.panaftosa.org.br/AcessoLivre/Logon.aspx?ReturnUrl=%2facessogeral%2fdefault.aspx> (přístup získán 12. 8 2014).

Osborne J.C., Rupprecht C.E., Olson J.G., a další. „Isolation of KaengKhoivirus from dead *Chaerephon plicata* bats in Cambodia.“ *J Gen Virol*, October 2003: 2685-2689.

„Outbreaks of Nipah virus in Rajbari and Manikgonj, February 2008. “, *Health Sci Bull*, 2008: 12-13.

Pan X.L., Liu H., Wang H.Y., a další. „Emergence of genotype I of Japanese encephalitis virus as the dominant genotype in Asia.“ *J Virol*, 2011: 9847-9853.

Paterson B.J., Mackenzie J.S., Durrheim D.N., Smith D., „A review of the epidemiology and surveillance of viral zoonotic encephalitis and the impact on human health in Australia.“ NSW Public Health Bull, 2011: 99-104.

Paton N.I., Leo Y.S., Zaki S.R., a další. „Outbreak of Nipah-virus infection among abattoir workers in Singapore.“ Lancet, 1999: 1253-1256.

Pattnaik P. „Kyasanur forest disease: An epidemiological view in India.“ Reviews in Medical Virology, 2006: 151-165.

Paweska J.T., Jansen van Vuern P., Masumu J., a další. „Virological and Serological Findings in Rousettus aegyptiacus Experimentally Inoculated with Vero Cells-Adapted Hogan Strain of Marburg Virus.“ PLoS ONE, 2012.

Pepin K.M., Lass S., Pulliam J.R.C., a další. „Identifying genetic markers of adaptation for surveillance of viral host jumps.“ Nat Rev Microbiol, 2010: 802-813.

Peters C.J. „Mandell, Douglas, and Bennett’s principles and practice of infectious diseases.“ V Marburg and Ebola virus hemorrhagic fevers, Philadelphia: Elsevier Inc, 2005: 2057-2059.

Philbey A.W., Kirkland P.D., Ross A.D., a další. „An apparently new virus (family Paramyxoviridae) infectious for pigs, humans, and fruit bats.“ Emerg Infect Dis., April 1998: 269-271.

Playford E.G., McCall B., Smith G., a další. „Hendra virus encephalitis associated with an equine outbreak;Clinical, laboratory and public health aspects.“ Emerging Inf Dis, 2010: 219-223.

Plowright R.K., Field H.E., Smith C., a další. „Reproduction and nutritional stress are risk factors for Hendra virus infection in little red flying foxes (Pteropus scapulatus).“ Proc Biol Sci, 2008: 861-869.

Plowright R.K., Foley P., Field H.E., a další. „Urban habituation, ecological connectivity and epidemic dampening: the emergence of Hendra virus from flying foxes (Pteropus spp.).“ Proc Biol Sci, 11. May 2011.

Poon L.L., Chu D.K., Chan K.H., a další. „Identification of a novel coronavirus in bats.“ J. Virol., 2005: 2001-2009.

Pourrut X., Kumulungui B., Wittmann T., a další. „The natural history of Ebola virus in Africa.“ Microbes Infect, 2005: 1005-1014.

Pourrut X., Souris M., Towner J.S., a další. „Large serological survey showing cocirculation of Ebola and Marburg viruses in Gabonese bat populations, and a high seroprevalence of both viruses in *Rousettus aegyptiacus*.“ BMC Infect Dis, 2009.

Price J.L. „Serological evidence of infection of Tacaribe virus and arboviruses in Trinidadian bats .“ Am J Trop Med Hyg, 1978: 162-167.

Pritchard L.I., Chua K.B., Cummins D., a další. „Pulau virus; a new member of the Nelson Bay orthoreovirus species isolated from fruit bats in Malaysia.“ Arch Virol, 2006: 229-239.

Promed 20070903.2897. „Hendra virus, Human, Equine - Australia: (Queensland)(03).“ Correction, 2007.

Promed 20080717.2168. „Hendra virus, Human, Equine - Australia (02): (Queensland, New South Wales).“ 2008.

Promed 20090811.2862.. Hendra virus, Equine - Australia: (Queensland), 2009.

Promed 20090903.3098.. Hendra virus, Human, Equine - Australia (04): (Queensland), 2009.

Promed 20100520.1673.. Hendra virus, Equine-Australia (Queensland), 2010.

ProMED-mail. „Ebola hemorrhagic fever—Congo DR.“ Archive number 20071121.3758. . 2007. <http://www.promedmail.org/pls/apex/f?p=2400:1000> (přístup získán 17. 8 2014).

Pulliam J.R.C., Epstein J.H., Dushoff J., a další. „Agricultural intensification, priming for persistence and the emergence of Nipah virus: a lethal bat-borne zoonosis.“ J R Soc Interface, 2012: 89-101.

Racey P.A., Hutson A.M., Lina P.H.,. „Bat rabies, public health and European bat conservation.“ Zoonoses Public Health, 2013: 58-68.

Real L.A., Biek R., „Infectious disease modeling and the dynamics of transmission.“ *Curr Top Microbiol Immunol*, 2007: 33-49.

Renart J., Reiser J., Stark G.R., „Transfer of proteins from gels to diazobenzyloxymethyl-paper and detection with antisera: a method for studying antibody specificity and antigen structure.“ *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1979: 3116-3120.

Richard L., Guerrant M.D., David H., a další. „Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens and Practice.“ Elsevier Inc, 2011.

Roberts F.H.S. „Australian Ticks, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Australia.“ 1970: 20-22.

Robinson J.P., Sturgis J., Kumar G.K., „Immunofluorescence.“ 2009 http://www.dako.com/08002_03aug09_ihc_guidebook_5th_edition_chapter_10.pdf (přístup získán 23. October 2014).

Rogers R.J., Douglas I.C., Baldock F.C., a další. „Investigation of a second focus of equine morbillivirus infection in coastal Queensland.“ *Aust Vet J*, 1996: 243-244.

Rollin P.E., Williams R.J., Bressler D.S., a další. „Ebola (subtype Reston) virus among quarantined nonhuman primates recently imported from the Philippines to the United States.“ *J Infect Dis*, 1999: 108-114.

Ross R.W. „The Newala epidemic. III. The virus: isolation, pathogenic properties and relationship to the epidemic.“ *J. Hyg.*, 1956: 177-191.

Rouquet P., Froment J.M., Bermejo M., a další. „Multiple Ebola virus transmission events and rapid decline of central African wildlife.“ *Emerg Infect Dis*, 2005: 283-290.

Rupprecht C.E., Hanlon C.A., Hemachudha T. „Rabies re-examined.“ *The Lancet Infectious Diseases*, June 2002: 327-343.

Samaratunga H., Searle J.W., Hudson N., „Non-rabies Lyssavirus human encephalitis from fruit bats: Australian bat Lyssavirus (pteropid lyssavirus) infection.“ *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, 1998: 331-335.

Shope R.E., Woodall J.P., Travassos da Rosa. „The epidemiology of diseases caused by viruses in groups C and Guama (Bunyaviridae) .“ V *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*, autor: Monath T.P., CRC Press, 1988: 37.

Schatz J., Fooks A.R., McElhinney L., a další. „Bat rabies surveillance in Europe.“ *Zoonoses Public Health*, 2013: 22-34.

Schatz J., Teifke J.P., Mettenleiter T.C., a další. „Lyssavirus distribution in naturally infected bats from Germany.“ *Vet. Microbiol.*, 21. February 2014: 33-41.

Schmittgen T.D., Zakrajsek B.A., Mills A.G., a další. „Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction to study mRNA decay: comparison of endpoint and real-time methods.“ *Anal. Biochem.*, 2000: 194-204.

Schneider M.C. „Reflexiones sobre los modelos para el estudio de los brotes de rabia humana por murciélago.“ *Cad Saúde Pública*, 1995: 291-304.

Schneider M.C., „Epidemiological situation of human rabies transmitted by bats in Brazil. Probable outbreak of bat-transmitted human rabies at Apiacás, Mato Grosso. “ *Washington D.C. : PAHO*. 2-5. April 1991. http://www.paho.org/cd_media/hdmvp01/docs.rabia/docs7/22%5B1%5D%20Situaci%F3N%20epi%20Brasil.pdf . (přístup získán 12. 8 2014).

Schneider M.C. „Rabia humana transmitida por murciélago hematófago en Brasil: modelo de transmisión y acciones de control. [PhD dissertation].“ *Instituto Nacional de Salud Pública. D.F., México*. 1996. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2001000600038%094 (přístup získán 12. 8 2014).

Schneider M.C., a další. „ Rabies transmitted by vampire bats to humans: an emerging zoonotic disease in Latin America?“ 2009. http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49892009000300010&lng=en&nrm=iso&tlng=en (přístup získán 31. 7 2014).

Schneider M.C., Belotto, Leanes L.F., a další. „ Situación epidemiológica de la rabia humana transmitida por perros en América Latina .“ *Bol Epidemiol OPS*, 2005: 2-4.

Schneider M.C., Romijn P.C., Uieda W., a další. „Rabies transmitted by vampire bats to humans: an emerging zoonotic disease in Latin America?“ *Rev Panam Salud Publica*. 2009.

- http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49892009000300010&lng=en&nrm=iso&tlng=en (přístup získán 20. červenec 2014).
- Siegert R. „Marburg virus. Virology monograph. New York: Springer-Verlag.“ 1972: 98-153.
- Simons N.B., a Conway T., „Chiroptera .Bats.“ The Tree of Life Web Project. 1997. <http://tolweb.org/Chiroptera/15966/1997.01.01> (přístup získán 3. May 2014).
- Sino Biological Inc. (BC), ELISA encyclopedia. 2004-2014. <http://www.elisa-antibody.com/ELISA-Introduction> (přístup získán 24. October 2014).
- Singh I.P., Chopra A.K., Copenhaver D.H., a další. „Vertebrate brains contain a broadly active antiviral substance.“ *Antiviral Research*, August 1995: 375-388.
- Smith D.H., Johnson B.K., Isaacson M., a další. „Marburg-virus disease in Kenya.“ *Lancet*, 1982: 816-820.
- Smith I., Wang L., „Bats and their virome: an important source of emerging viruses capable of infecting humans.“ *Current Opinion in Virology*, February 2013: 84-91.
- Sohayati A.R., Hassan L., Sharifan S.H., a další. „Evidence for Nipah virus recrudescence and serological patterns of captive Pteropus vampyrus.“ *Epidemiol Infect*, 2011: 1570-1579.
- Sommardahl C.S. „Rabies in.“ *V Equine internal medicine*. St Louis: Saunders, 2010.
- Song H.D., Tu C.C., Zhang G.W., a další. „Cross-host evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus in palm civet and human.“ *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2005: 2430-2435.
- Speare R., Skerratt L., Foster R., a další. „Australian bat lyssavirus infection in three fruit bats from north Queensland.“ *Commun. Dis. Intell*, 1997: 117-120.
- Stewart S. „Microbial Pathogenesis . “ 23. 9 2014. <http://mp.sscherer.com/mpbin/mp?cmd=species&data=383> (přístup získán 11. 10 2014).
- Strayer D.S., Laybourne K.A., Heard H.K., „Determinants of the ability of malignant fibroma virus to induce immune dysfunction and tumor dissemination in vivo.“ *Microb Pathos*, September 1990: 173-189.

Streicker D.G., Recuenco S., Valderrama W., a další. „Ecological and anthropogenic drivers of rabies exposure in vampire bats: implications for transmission and control.“ *Proc R Soc Biol Sci*, 2012: 3384-3392.

Sulkin E.S., Krutzsch P.H., Allen R., Wallis C.. „Studies on the pathogenesis of rabies in insectivorous bats : I. Role of brown adipose tissue.“ *J. Exp. Med.*, 1. September 1959: 369-388.

Sulkin S.E., Allen R., Sims R., Krutzsch P.H., Kim Ch.,. „Studies on the pathogenesis of rabies in insectivorous bats: II Influence of enviromental temperature.“ *J. Exp. Med.*, 19. May 1960: 595-617.

Sulkin S.E., Allen R.,. „Virus infections in bats.“ *V Monographs in Virolog.* Basel, 1974.

Sulkin S.E., Wallis C. a Allen R.,. „Relationship of bat salivary gland virus to St. Louis encephalitis group of viruses.“ *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 1956: 79.

Swanepoel R., Coetzer J.A.,. „Rift Valley horečka.“ *V Infectious diseases of livestock*, autor: Tustin R.C., Coetzer J.A., Cape Town: Oxford University Press Southern Africa, 2004: 1037-1070.

Swanepoel R., Smit S.B., Rollin P.E., a další. „Studies of reservoir hosts for Marburg virus.“ *Emerg Infect Dis*, 2007: 1847-1851.

Šmarda J. *Metody molekulární biologie*. Brno: Masarykova univerzita, 2005.

Tajima S., Takasaki T., Matsuno S., a další. „Genetic characterization of Yokose virus, a flavivirus isolated from the bat in Japan.“ *Virology*, 2005: 38-44.

Tan Y.J., Lim S.G., Hong W.,. „Understanding the accessory viral proteins unique to the severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus.“ *Antiviral Res*, 2006: 78-88.

Tandler B. „Cytomegalovirus in the principal submandibular gland of the little brown bat, *Myotis lucifugus*.“ *J Comp Pathol*, 1996: 1-9.

Taniguchi S., Watanabe S., Masangkay J.S., a další. „Reston Ebolavirus antibodies in bats, the Philippines.“ *Emerg Infect Dis*, 2011: 1559-1560.

Taylor R.M., Hurlbut H.S., Work T.H. a další. „Sindbis virus: a newly recognized arthropodtransmitted virus.“ *Am J Med Trop Hyg*, 1955: 844-862.

Teeling E.C., Springer M.S., Madsen O., a další. „A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record.“ *Science*, 2005: 580-584.

„The Australian Veterinary Association Ltd. Hendra virus.“ 2014. <http://www.ava.com.au/hendra-virus> (přístup získán 19. 8 2014).

Tierkel E.S. „Recent developments in the epidemiology of rabies.“ *Acad.Med.Sc.*, 1958: 445.

Timen A., Koopmans M., Vossen A., a další. „Response to imported case of Marburg hemorrhagic fever, the Netherlands.“ *Emerg Infect Dis*, 2009: 1171-1175.

Tong S., Li Y., Rivaller P., a další. „A distinct lineage of influenza A virus from bats.“ *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012: 4269-4274.

Tong S., Zhu X., Li Y., a další. „New world bats harbor diverse influenza A viruses.“ *PLoS Pathog*, 2013.

Towbin H., Staehelin T., Gordon J.,. „Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications.“ *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1979: 4350-4354.

Towner J.S., Amman B.R., Sealy T.K., a další. „Isolation of genetically diverse Marburg viruses from Egyptian fruit bats.“ *PLoS Pathog*, 2009.

Towner J.S., Khristova M.L., Sealy T.K., a další. „Marburgvirus genomics and association with a large hemorrhagic fever outbreak in Angola.“ *J. Virol.*, 2006: 6497-6516.

Turner D.C. „The vampire bat.“ Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1975.

Turner G.S. „Equine rabies.“ *Equine Vet Educ*, 1994: 197-199.

Twente J.W. „Ecological observations on a colony of *Tadarida mexicana*.“ *J. Mamm.*, 1956: 42.

Valderrama J., García I., Figueroa G., a další. „Brotos de rabia humana transmitida por vampiros en los municipios de Bajo y Alto Baudó, departamento del Chocó.“ 387-396. Colombia : Biomédica, 2006.

- Verani P., Ciufolini M.G., Caciolli S., a další. „Ecology of viruses isolated from sand flies in Italy and characterized of a new Phlebovirus (Arabia virus) .“ *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1988: 433-439.
- Verlinde J.D., Li-fo-Joe E., Versteeg J., Dekker S.M., „A local outbreak of paralytic rabies in Surinam children.“ *Trop Geogr Med*, 1975: 137-142.
- Verteuil E., Urich F.W. „The study and control of paralytic rabies transmitted by bats in Trinidad, British West Indies.“ 1935: 371-51.
- Vos A., Kaipf I., Denzinger A., a další. „European Bat Lyssaviruses - an ecological enigma. .“ *Acta Chript.*, 2007: 283-296.
- Wada M.Y., Begot A.L., Noronha S.L.B., a další. „Investigação de surto de raiva humana no município de Portel—Pará.“ *SVS Bol Eletrônico Epidemiol.* março/abril 2004. http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_eletronico_06_ano04.pdf (přístup získán 12. 8 2014).
- Waner J.L. „Mixed viral infections: detection and management.“ *Clin. Microbiol Rev*, 1994: 143-151.
- Wang J.L., Pan X.L., Zhang H.L., a další. „Japanese encephalitis viruses from bats in Yunnan, China.“ *Emerg Infect Dis*, 2009: 939-942.
- Wang L.F., Walker P.J., Poon L.L.M., „Mass extinctions, biodiversity and mitochondrial function: are bats 'special' as reservoirs for emerging viruses?“ *Curr Opin Virol*, 2011: 649-657.
- Wang M., Yan M., Xu H., a další. „SARS-CoV infection in a restaurant from palm civet.“ *Emerg. Infect. Dis*, 2005: 1860-1865.
- Watanabe S., Omatsu T., Miranda M. E., a další. „Epizootology and experimental infection of Yokose virus in bats.“ *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, January 2010: 25-36.
- Webster R.G. „Rapid review. Wet markets — a continuing source of severe acute respiratory syndrome and influenza?“ *Lancet*, 2004: 234-236.
- Weingartl H.M., Berhane Y., Czup M., „Animal models of henipavirus infection: a review.“ *Vet J*, 2009: 211-220.

WHO. „Marburg haemorrhagic fever.“ 2012.
http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs_marburg/en/ (přístup získán 18. 8 2014).

WHO. „Marburg haemorrhagic fever in Uganda - update.“ Epidemic and Pandemic Alert and Response (EPR). 2007. http://www.who.int/csr/don/2007_08_14/en/ (přístup získán 18. 8 2014).

WHO. „Summary table of SARS cases by country, 1 November 2002 - 7 August 2003.“ Global Alert and Response (GAR). 15. August 2003.
http://www.who.int/csr/sars/country/2003_08_15/en/ (přístup získán 18. 8 2014).

WHO. „Review of Probable and Laboratory-Confirmed SARS Cases in Southern China.“ Update 4 2004.

WHO. „Marburg haemorrhagic fever in Angola - update.“ 2005.
http://www.who.int/csr/don/2005_03_23/en/ (přístup získán 18. 8 2014).

Wibbelt G., Kurth A., Yasmum N., a další. „Discovery of herpesviruses in bats.“ *Journal of General Virology*, 2007: 2651-2655.

Wilkinson G.S., South J.M., „Life history, ecology and longevity in bats.“ *Aging Cell*, 2002: 124-131.

Williams J.M., Imlarp S., Top F.H., a další. „Kaeng Khoi virus from naturally infected bedbugs (Cimicidae) and immature free-tailed bats.“ *Bull World Health Organ*, 1976: 365-369.

Wittmann T.J., Biek R., Hassanin., a další. „Isolates of Zaire ebolavirus from wild apes reveal genetic lineage and recombinants.“ *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007: 17123-17127.

Wold W.E., Hermiston T.W., Tollefson A.E., „Adenovirus proteins that subvert host defenses.“ *Trends Microbiol*, November 1994: 437-443.

Wolfe N.D., Daszak P., Kilpatrick A.M., Burke D.S., „Deforestation, and prediction of zoonotic disease emergence.“ *Emerg Infect Dis*, 2005: 1822-1827.

Wong K.T., Robertson T., Ong B.B., a další. „Human Hendra virus infection causes acute and relapsing encephalitis.“ *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2009: 296-305.

- Wong K.T., Shieh W.J., Kumar S., a další. „Nipah virus infection: pathology and pathogenesis of an emerging paramyxoviral zoonosis.“ *Am J Pathol*, 2002: 2153-2167.
- Wong S., Lau S., Woo P., a další. „Bats as a continuing source of emerging infections in humans.“ *Reviews in Medical Virology*, 2007: 67-91.
- Wood J.L.N., Leach M., Waldman L., a další. „A framework for the study of zoonotic disease emergence and its drivers: spillover of bat pathogens as a case study.“ *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2012: 2881-2892.
- Woolhouse M.E., Gowtage-Sequeria S., „Host range and emerging and reemerging pathogens.“ *Emerg. Infect. Dis*, 2005: 1842-1847.
- WHO. „End of Ebola outbreak in the Democratic Republic of the Congo.“ 2009. http://www.who.int/csr/don/2009_02_17/en/index.html (přístup získán 17. 8 2014).
- WHO. Viral haemorrhagic fever/Marburg, Democratic Republic of the Congo.,. *Wkly Epidemiol Rec*, 1999: 157-158.
- WHO. „Viral hemorrhagic fever surveillance.“ *Weekly Epidemiol Rec*, 1979: 342-343.
- WHO. „Outbreak of Marburg haemorrhagic fever: Uganda, June–August 2007.“ *Wkly Epidemiol Rec*, 2007: 381-384.
- WHO /International Commission to Sudan. „Ebola hemorrhagic fever in Sudan, 1976.“ *Bull WHO*, 1978: 247-270.
- WHO /International Commission to Zaire. „Ebola hemorrhagic fever in Zaire, 1976.“ *Bull WHO*, 1978: 271-293.
- WHO. Marburg fever, Democratic Republic of the Congo. *Wkly Epidemiol Rec*, 1999: 145.
- Yaiw K.C., Bingham J., Cramer G., a další. „Tioman virus, a paramyxovirus of bat origin, causes mild disease in pigs and has a predilection for lymphoid tissues.“ *J Virol.*, 2008: 565-568.
- Yaiw K.C., Cramer G., Wang L., a další. „Serological evidence of possible human infection with Tioman virus, a newly described paramyxovirus of bat origin.“ *J Infect Dis.*, 2007: 884-886.

Zeller H.G., Karabatsos N., Calisher C.H., a další. „Electron microscopy and antigenic studies of uncharacterized viruses. I. Evidence suggesting the placement of viruses in families Arenaviridae, Paramyxoviridae, or Poxviridae.“ Arch Virol, 1989: 191-209.

Zuk M., McKean K.A., „Sex differences in parasite infections: patterns and processes . Int.“ Int. J. Parasitol, 1996: 1009-1023.