

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2017

Nikol Krejčová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Vzteklina
Nikol Krejčová

Bakalářská práce

2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Nikol Krejčová**
Osobní číslo: **C14369**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Název tématu: **Vzteklina**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Vypracujte literární rešerši na dané téma.
2. Zaměřte se historii, epidemiologii, metody stanovení a průkazu, seznamte se s výskytem tohoto onemocnění v ČR I ve světě.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucí práce.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D.

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. února 2017**

Termín odevzdání bakalářské práce: **7. července 2017**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2017

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 7.2. 2018

Nikol Krejčová

Poděkování:

Chtěla bych poděkovat vedoucí své práce Ing. Marcele Pejchalové, Ph.D. za pomoc a cenné rady při vypracování bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině za veškerou podporu.

Anotace:

Bakalářská práce se zabývá závažným onemocněním zvané vzteklna, kterou způsobuje vir *lyssa*. Zatím neexistuje účinná metoda léčby tohoto onemocnění, a proto je zásadní včasná diagnóza. První část práce popisuje historii a charakteristiku *rhabdovirů*, mechanismus patogenity a epidemiologii. Dále popisuje prevenci a diagnózu vztekliny a také laboratorní analýzu. Zabývá se přenosem vztekliny, kam je zahrnuta i alimentární nákaza, jenž patří mezi další velmi důležité faktory přenosu. Tato práce se zaměřuje také na popis výskytu vztekliny jak u nás v České republice, tak i ve světě. Experimentální část práce se zabývá způsobem využití viru vztekliny v medicíně, a to při velmi obtížné léčbě tumorů mozku.

Klíčová slova: vir, *Lyssavirus*, onemocnění, vzteklna, nanočástice, léčba, liška, vakcína

Title:

Rabies

Annotation:

The bachelor thesis deals with a serious illness called rabies which is caused by *Lyssavirus* and unfortunately there is no effective treatment of this disease. Therefore a timely diagnosis is essential. The first part of thesis describes the history and characteristics of *rhabdoviruses* including known species of rabies, pathogenesis and epidemiology. It also describes the prevention and diagnosis of rabies and as well as laboratory analysis. It deals with the transmission of rabies which includes the alimentary infection. It is among the other very important transmission factors. This thesis also focuses on the description of rabies occurring in the Czech Republic and abroad too. The experimental part of the thesis deals with a way of use rabies virus in medicine in the very difficult treatment of brain tumors.

Keywords: virus, *Lyssavirus*, illness, rabies, nanoparticles, treatment, fox, vaccine

Seznam obrázků a tabulek:

Obrázek 1 Kazuistika - laskavě poskytl Dr. A. G. Dempster, University of Otago, Nový Zéland (Greenwood et al., 1999).....	16
Obrázek 2 Virus vztekliny (Greenwood et al., 1999)	18
Obrázek 3 Částice viru vztekliny; měřítko 30 nm. – laskavě poskytl Dr. J. Crick, Animal Virus Research Institute, Pirbright, Velká Británie (Greenwood et al., 1999)	19
Obrázek 4 Sedm genotypů rodu <i>Lyssavirus</i> porovnávaných na základě nukleoproteinového genu – virus vztekliny RABV izolovaný ze žlutého netopýra z USA a žluté opice z Jižní Afriky, PBV, MOKV, LBV, DUVV a evropské netopýří viry (EBV1 a EBV2). (Rupprecht et al., 2002).....	19
Obrázek 5 Umístění <i>lyssaviru</i> v psím jazyku ve tvaru písmene J (šipka vlevo) a na pravém obrázku je viditelné umístění <i>lyssaviru</i> v kočičím jazyku, kde je šipkami vyznačená šroubovitá struktura <i>lyssaviru</i>	21
Obrázek 6 Vstup <i>lyssaviru</i> do buňky, transkripce, translace, replikace a výstup z generalizované hostitelské buňky. (Rupprecht et al., 2002).....	22
Obrázek 7 Vzteklna v Evropě v roce 2014	24
Obrázek 8 Žvýkací svaly psa domácího (jako u lišky obecné)	26
Obrázek 9 Plán orální vakcinace lišek v ohrožených příhraničních oblastech	27
Obrázek 10 Deltoidní sval.....	29
Obrázek 11 Gluteální oblast.....	31

Obrázek 12 Negriho tělísko v buňce postižené vzteklinou (šipka).....	33
Obrázek 13 Manado v Indonésii	37
Obrázek 14 Mapa Makedonie a sousedních zemí se zaznamenanými případy vztekliny v roce 2010 a 2011	40
Obrázek 15 Mapa endemického výskytu vztekliny podle nejrozšířenějších přenašečů nemoci	41
Obrázek 16 Mapa endemického výskytu vztekliny podle četnosti výskytu onemocnění	41
Obrázek 17 Typy nanočástic a jejich vývoj v uplynulém desetiletí pomáhající průchodu léků přes krevní mozkovou bariéru.....	44
Obrázek 18	46
Tabulka 1 Klasifikace vztekliny podle zvířat, která byla zdrojem nákazy pacientů mezi léty 1908 a 1972 (vědecká zpráva centrálního výzkumného ústavu, Kasauli, 1972 - 1973)	35
Tabulka 2.....	38
Tabulka 3.....	38
Tabulka 4.....	38
Tabulka 5.....	39
Tabulka 6 Typy nanočástic využívaných k léčbě.....	44

Seznam použitých zkratk:

RNA	Ribonukleová kyselina
HRIG	Lidský imunoglobulin proti vzteklině
PCR	Polymerázová řetězová reakce
WHO	Světová zdravotnická organizace
PAHO	Panamerická zdravotnická organizace
ERIG	Imunoglobulin proti vzteklině koně
SARS	Závažný akutní respirační syndrom
AHL	Laboratoř pro zdraví zvířat
TEM	Transmisní elektronový mikroskop
HIV	Virus lidské imunitní nedostatečnosti
BMV	Virus bromové mozaiky
CNS	Centrální nervový systém
RVG	Glykoproteinový virus vztekliny
BBB	Krevní mozková bariéra
AchR	Acetylcholinový receptor
BTX	α -bungarotoxin
FAT	Test fluorescenčních protilátek
RTCIT	Test infekce tkáňové kultury vztekliny
RREID	Rychlá enzymová imunodiagnostika vztekliny
ELISA	Imunologická metoda k detekci protilátek
PCEC	Purifikované buňky kuřecího embrya
RABV	Virus vztekliny

PBV	Australský netopýří virus
MOKV	<i>Mokola</i> virus
LBV	<i>Lagos</i> virus
DUVV	<i>Duvenhage</i> virus
EBV	Evropský netopýří virus
TKID50	Titř viru ve vakcíně proti vzteklině
SAD-Bern	Očkovací kmen proti vzteklině
MICLD50	Injekční dávka
PEP	Post – expoziční profylaxe
OIE	Světová organizace pro zdraví zvířat
HDCV	Lidská vakcína s diploidními buňkami
RVA	Adsorbovaná vakcína proti vzteklině
ATP	Adenosintrifosfát
EPR	Retenční účinek
NPs	Nanočástice
GNPs	Nanočástice zlata

Obsah

ÚVOD	14
1. HISTORIE VZTEKLINY	15
1.1. Kazuistika z Edinburghu	16
2. CHARAKTERISTIKA <i>RHABDOVIRŮ</i>	17
2.1. Druhy virů vztekliny	19
2.1.1. Zuřivá vzteklina	20
2.1.2. Paralytická (němá) vzteklina	20
2.2. Stavba <i>Lyssaviru</i> u psů a koček	20
3. MECHANISMUS PATOGENITY A EPIDEMIOLOGIE	21
3.1. Mechanismus patogenity	21
3.2. Epidemiologie	23
4. PREVENCE A DIAGNÓZA	24
4.1. Prevence	24
4.2. Orální vakcinace lišek	25
4.2.1. Vakcinace lišek v ČR	25
4.2.2. Vakcinace lišek v zahraničí	28
4.3. Imunizace lidí	28
4.4. Diagnóza	30
4.5. Laboratorní diagnostika	32
5. LABORATORNÍ ANALÝZA	33
5.1. Inaktivace viru vztekliny na plochách	33
6. PŘENOS VZTEKLINY	34
7. VZTEKLINA JAKO ALIMENTÁRNÍ NÁKAZA	36
7.1. Přenos vztekliny z psího masa	36
8. VÝSKYT vztekliny	37
8.1. Vzteklina v České republice	38

8.2. Vzteklnina celosvětově rozšířená.....	40
9. VYUŽITÍ VIRU VZTEKLINY	42
9.1. Léčba nádorů mozku	42
10. ZÁVĚR.....	47
11. POUŽITÁ LITERATURA	48

ÚVOD

Tato práce pojednává o onemocnění způsobené virem *Lyssa* zvané vzteklna. *Lyssa* virus pojmenovali Řekové, v překladu to znamená šílenství. Zabývat se budu historií vztekliny, diagnostikou, imunizací, epidemiologií a laboratorní analýzou tohoto oboru. V experimentální části práce se zaměřuji na využití viru vztekliny v medicíně k léčbě tumorů mozku. Tento virus se již v České republice nevyskytuje, nákaza zde není rozšířena, ale objevují se případy, kdy byl virus do země zavlečen např. netopýry nebo jinými zvířaty cizích zemí. Proto je potřeba tomuto onemocnění předcházet a eliminovat možné následky včasnou diagnózou a správnou léčbou.

1. HISTORIE VZTEKLINY

Vzteklina má dlouhou a zajímavou historii, jejíž počátky sahají až do období starověku. (Baer, 1991)

Jedná se o nejstarší zoonózu, tzn. onemocnění přenášené ze zvířete na člověka, na světě. Už ve 30. století před Kristem byly pozorovány první projevy vztekliny jako nemoci sužující lidi a psy. Vzteklině bylo ale přisuzováno i mnoho smyšlených projevů nemoci. Dnes už totiž víme, že inkubační doba vztekliny je mnohem delší, než v kterou lidé dříve věřili.

(Koprowski, 2009)

V antickém období byla vzteklina pozorovaným onemocněním u mnoha mýtických bytostí. Slavný mýtický lovec Acteon byl roztrhán svými vzteklými loveckými psy. V Íliadě Homér odkazuje na myšlenku, že Sirius, psí hvězda Orionu, měl škodlivý vliv na zdraví člověka. Pes, Sirius, byl spojován se vzteklými psy přes celé východní středomoří, Egypt a později i Řím. Řekové měli ve své mytologii speciálního boha, který měl blahodárné účinky na toto onemocnění zvané vzteklina, Arisaeua – syna Apollóna. Sestra Apollóna – Artemis byla prezentována jako léčitelka vztekliny. (Baer, 1991)

Po celá staletí se o vzteklině nikdy nepřestalo psát, informováno o ní bylo, jak filozofy jako byl Aristoteles, tak přírodovědci, např. Celsus, básníky a lékaři jako Girolamo Fracastoro a mnoha dalšími. (Koprowski, 2009)

Aristoteles ve čtvrtém století před naším letopočtem napsal v *Natural History of Animals*, že psy sužuje šílenství. Toto chování se projevuje podrážděním a nakažení psi kousnutím infikují ostatní zvířata. Fleming uvedl, že Aristoteles věří v ochranu lidstva před vzteklinou, ale v tu dobu už byla u lidí nákaza tímto virem vztekliny pozorována. Hippokrates odkazuje na myšlenku, že nakažené osoby velmi málo pijí, jsou podrážděné, bojí se (hlavně vody) a jsou zachváceny křečemi. (Baer, 1991)

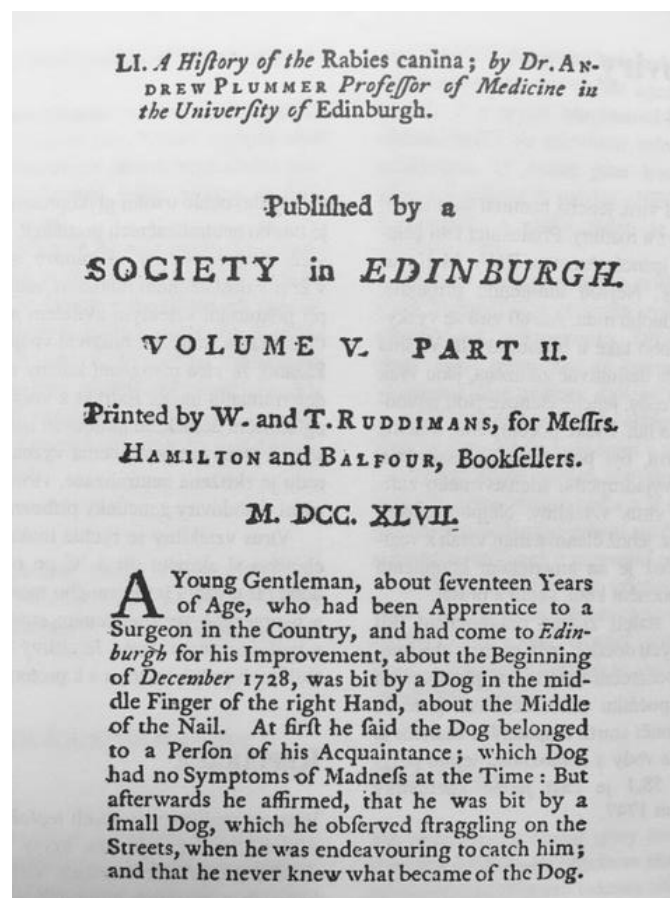
Nemoc byla u člověka popsána jako hydrofobní stav, ve kterém je nemocný člověk sužován ve stejný čas žízní a zároveň strachem z vody. Latinské slovo *rabies* neboli vzteklina pochází ze starého sanskrtského slova *rabhas*, což v překladu znamená „dělat násilí“. (Baer, 1991)

Počátkem 12. století se i katolická církev začínala zajímat o vzteklinu a patron sv. Ubald měl chránit lid před kousnutím, vzteklinou a následnou hydrofobií. Znám byl také případ, kdy vzteklinou onemocněl slavný vídeňský skladatel Ferdinand Rajmund. Ten byl

při cestování pokousán psem. Další den si byl jistý tím, že byl nakažen vzteklinou, a proto spáchal sebevraždu, jelikož věděl, že na toto onemocnění neexistovala žádná možná účinná léčba. (Koprowski, 2009)

1.1. Kazuistika z Edinburghu

Na obrázku 1 je část kazuistiky uveřejněná roku 1747 společností z Edinburghu. Tato kazuistika pojednává o mladém muži okolo sedmnácti let, který se učil na venkovské škole chirurgii. Pro sebezdokonalení přešel do Edinburghu a v prosinci roku 1728 byl pokousán psem na prostředníčku pravé ruky přibližně uprostřed nehtu. Ze začátku si muž myslel, že ho pokousal pes, kterého krmil, tohoto psa znal, jelikož patřil známé osobě. Toho času u něj ale nepozoroval žádné známky zvláštního chování jako příznaky zlosti a šílenství. Později prohlásil, že byl kousnut malým toulavým psem, který se zběsile pohyboval po ulicích. Muž usiloval o jeho zachycení, ale bylo to neúspěšné, a tak nikdy nepřišel na to, co se vlastně psovi stalo. (Greenwood et al., 1999)



Obrázek 1 Kazuistika - laskavě poskytl Dr. A. G. Dempster, University of Otago, Nový Zéland (Greenwood et al., 1999)

Nová éra vztekliny se datuje od doby Galtiera, který izoloval virus a hlavně Pasteura, který dokázal vytvořit poněkud oslabený kmen viru. Tento oslabený kmen viru se stal nástrojem laboratorních studií po mnoho desetiletí po Pasteurovi. (Koprowski, 2009)

Maurice Raynaud uvedl, že Pasteur vpravil subkutánně virus vztekliny nemocného člověka králíkovi do ucha. O čtyři dny později králík ochrnul a během noci zemřel. Další králíci umírali po pěti až šesti dnech. Pasteur publikoval jeho první zprávu o vzteklině během roku 1881. Velmi důležitým pokrokem Pasteurova výzkumu bylo zjištění, že vstříkáváním mozkové hmoty nakažených zvířat přímo do mozku psů, se rapidně zkrátila doba inkubace, a to na 1-2 týdny, nanejvýš 3 týdny. Upozornil tak na fakt, že sliny nebyly tím nejlepším zdrojem viru pro jeho výzkum kvůli nejistým účinkům a delší časové odezvě. Sázel na jistotu a rychlost. Prokázal také to, že se virus nenachází jen v centru mozku, ale i v míše. Pro další studium vztekliny byl proto Louis Pasteur velkým přínosem. (Baer, 1991)

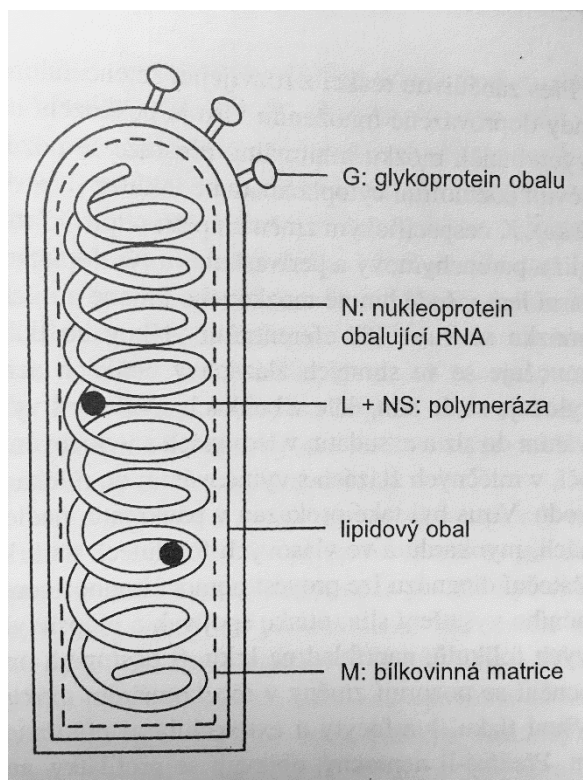
Během posledních padesáti let minulého století se naše znalosti vztekliny zvýšily mílovými kroky, a to především pomocí molekulární biologie. Například teď už víme mnohem víc o genetickém pozadí, které reguluje virulenci (stupeň patogenity) viru. Nyní je proto možné využít vzteklinu jako vektor (molekula DNA sloužící k přenášení genetické informace do buňky) biologických materiálů, jako jsou vakcíny nebo séra. Bohužel stále není dosaženo pokroku v jednotné léčbě tohoto smrtelného onemocnění, ale 21. století nám přináší záblesk naděje pro úspěšnou léčbu lidské vztekliny. (Orlowska a Zmudzinski, 2014)

2. CHARAKTERISTIKA *RHABDOVIRŮ*

Viry vztekliny se skládají z nukleoproteinu obalujícího RNA, který je důležitý pro buněčnou imunitu. Dále jsou složeny z drsného glykoproteinového obalu, polymerázy, která je nezbytná pro zahájení replikace, lipidového obalu a bílkovinné matrice. (Celer, 2010)

U viru vztekliny je velmi rychle potlačena jeho aktivita při teplotě okolo 60 °C. Aktivita viru je zachována při teplotě 4 °C po dobu několika dní. Neomezeně dlouho si vir zachovává svou aktivitu ve zmraženém stavu při teplotě -70 °C, a nebo v lyofilizovaném stavu, což je metoda sušení viru mrazem. Virus vztekliny je senzitivní k β -propiolaktonu, proteolytickým enzymům a lipidovým rozpouštědlům. (Greenwood et al., 1999)

Virus má typický tvar projektilu, který obvykle měří 75 x 180 nm (Celer, 2010), viz obrázek 2. (Greenwood et al., 1999)



Obrázek 2 Virus vztekliny (Greenwood et al., 1999)

Každý virion obsahuje jedno vlákno (řetězec) z negativní části RNA, která je 11–12 kb dlouhá. Projektilově tvarovaný lipid obklopuje obal spirálovitého nukleokapsidu a struktura proteinu zachovává tvar virionu. *Rhabdoviry* se replikují v buněčné cytoplazmě, kde je jejich přítomnost důkazem Negriho tělísek. Viry získají jejich obal, když pučí přes plazmatickou membránu hostitelské buňky. *Rhabdoviry* tvoří čeleď obalených virů s jednořetězcovou RNA. (Walker, 1998)

RNA viry vztekliny jsou řazeny do druhé kategorie virů. Jsou rozděleny podle struktury a polaritě jejich genomů. Genom viru vztekliny (*rhabdoviru*) musí být kopírován do sérií pozitivně smyslových pramenů, které jsou pak použity jako zprávy pro syntézu virových proteinů. (Walker, 1998)

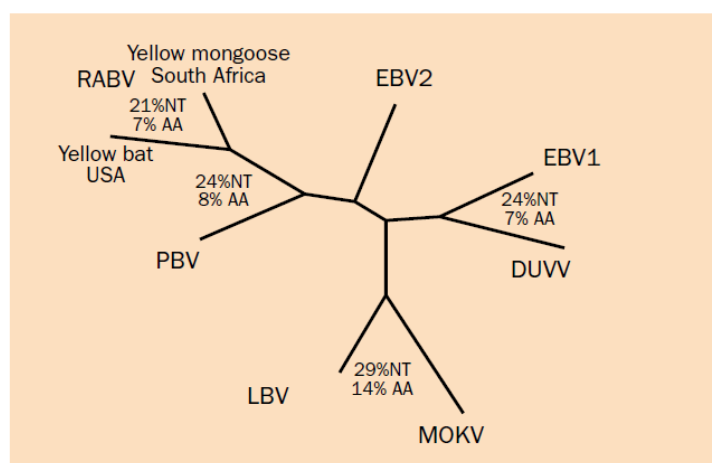
Na obrázku 3 je znázorněna částice viru vztekliny pozorována mikroskopicky v měřítku 30 nm. (Greenwood et al., 1999)



Obrázek 3 Částice viru vztekliny; měřítko 30 nm. – laskavě poskytl Dr. J. Crick, Animal Virus Research Institute, Pirbright, Velká Británie (Greenwood et al., 1999)

2.1. Druhy virů vztekliny

Popsáno bylo přes 150 členů čeledi *Rhabdoviridae*, z čehož se nejvíce rozšířeným a zároveň popsáním druhem stali infikovaní členovci. K této čeledi napadající člověka náleží dva rody. Do prvního rodu patří *Vesiculoviry*, které obsahují vezikulární virus stomatitidy. Druhým rodem jsou *Lyssaviry*, které zahrnují virus vztekliny, virus *Duvenhage*, netopýří virus *Lagos* a *Mokola* virus, viz obrázek 4. (Walker, 1998)



Obrázek 4 Sedm genotypů rodu *Lyssavirus* porovnávaných na základě nukleoproteinového genu – virus vztekliny RABV izolovaný ze žlutého netopýra z USA a žluté opice z Jižní Afriky, PBV, MOKV, LBV, DUVV a evropské netopýří viry (EBV1 a EBV2). (Rupprecht et al., 2002)

Mezi nejvíce známé a popsané druhy vztekliny patří zuřivá vzteklina a paralytická (němá) vzteklina. (Walker, 1998)

2.1.1. Zuřivá vzteklina

Vyznačuje se svalovou hypertonicitou, což znamená zvýšené svalové napětí. Charakteristickým projevem hypertonicity jsou svalové křeče (spasmy). Tato vzteklina je typická i příznaky úzkosti a stavy agresivního chování vyžadující sebekontrolu. Pacienti pociťují *aerophagii*, což je stav, kdy je nadměrně polykán vzduch hromadící se v žaludku. Mohou mít také hydrofobii neboli nesnášenlivost vody, kdy jim už jen samotný zvuk tekoucí vody způsobuje hysterii. Osoby postižené hydrofobií trpí bolestivými křečemi respiračních a hrtanových svalů hlasivek. Dále jsou velmi časté záchvaty a halucinace, které se střídají s obdobím klidu. Během každého záchvatu buší postiženým dramaticky rychleji srdce a hrozí až srdeční zástava. Také je rapidně zvýšena produkce slin, někteří pacienti produkují až 1,5 litrů slin denně. Úmrtí důsledkem zuřivé vztekliny se obvykle objeví po pěti až sedmi dnech. (Walker, 1998)

2.1.2. Paralytická (němá) vzteklina

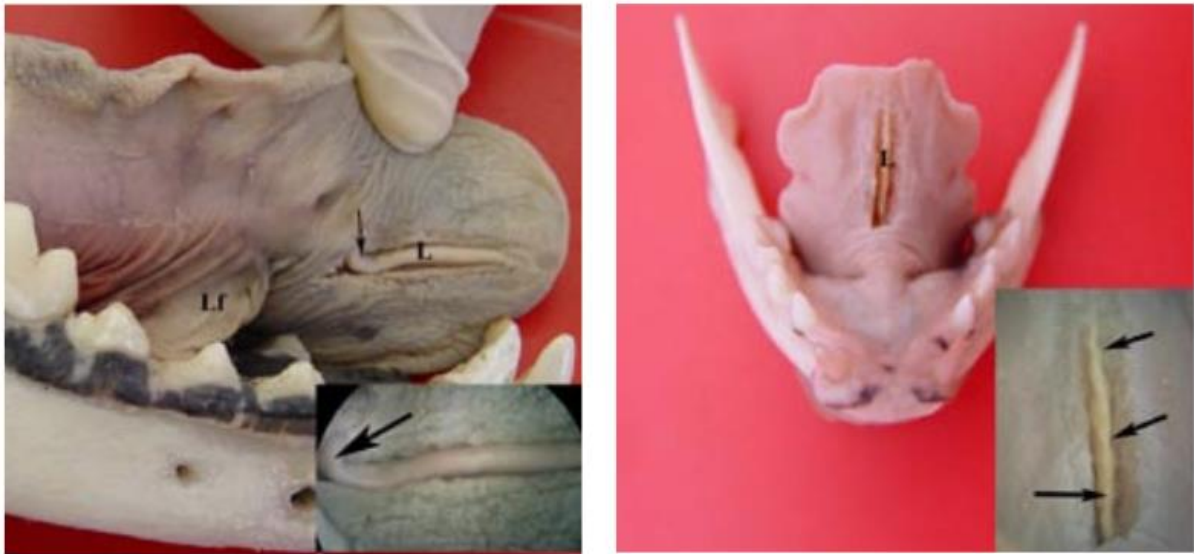
Ovlivňuje méně než 20 % pacientů a může nastat samostatně nebo po zuřivé vzteklině. Parestézie neboli brnění postupuje k velmi těžkému stupni ochabnutí končetin (paralýze) a pak až ke smrtelné paralýze respiračních svalů. Pacienti trpí deliriem, což je porucha vědomí a mohou upadat až do kómatu. K úmrtí dochází obvykle po dvou týdnech. (Walker, 1998)

2.2. Stavba *lyssaviru* u psů a koček

V jedné studii bylo zkoumáno osm psích a kočičích hlav obou pohlaví ke zjištění stavby *lyssa* viru. U koček vypadal *lyssavirus* jako šroubovice. Naopak *lyssavirus* u psa byl více či méně tvarován do písmene J, viz obrázek 5. (Besoluk et al., 2006)

Ve skutečnosti je *lyssavirus* pocházející z neuroektodermu umístěn ventrosagitálně (v místě přední šípové roviny) na vrcholu jazyka. *Lyssavirus* je tedy umístěn z velké části v tukové tkáni mezi příčně pruhovanou svalovinou jazyka. *Lyssavirus* u kočky měl

průměrnou délku 1,5 cm a průměr 1 mm, u psa byla velikost *lyssaviru* přibližně dvojnásobná než u kočky, přesně 3,5 cm dlouhý vir a v průměru měl 3 mm. (Besoluk et al., 2006)



Obrázek 5 Umístění *lyssaviru* v psím jazyku ve tvaru písmene J (šipka vlevo) a na pravém obrázku je viditelné umístění *lyssaviru* v kočičím jazyku, kde je šipkami vyznačená šroubovitá struktura *lyssaviru*. (Besoluk et al., 2006)

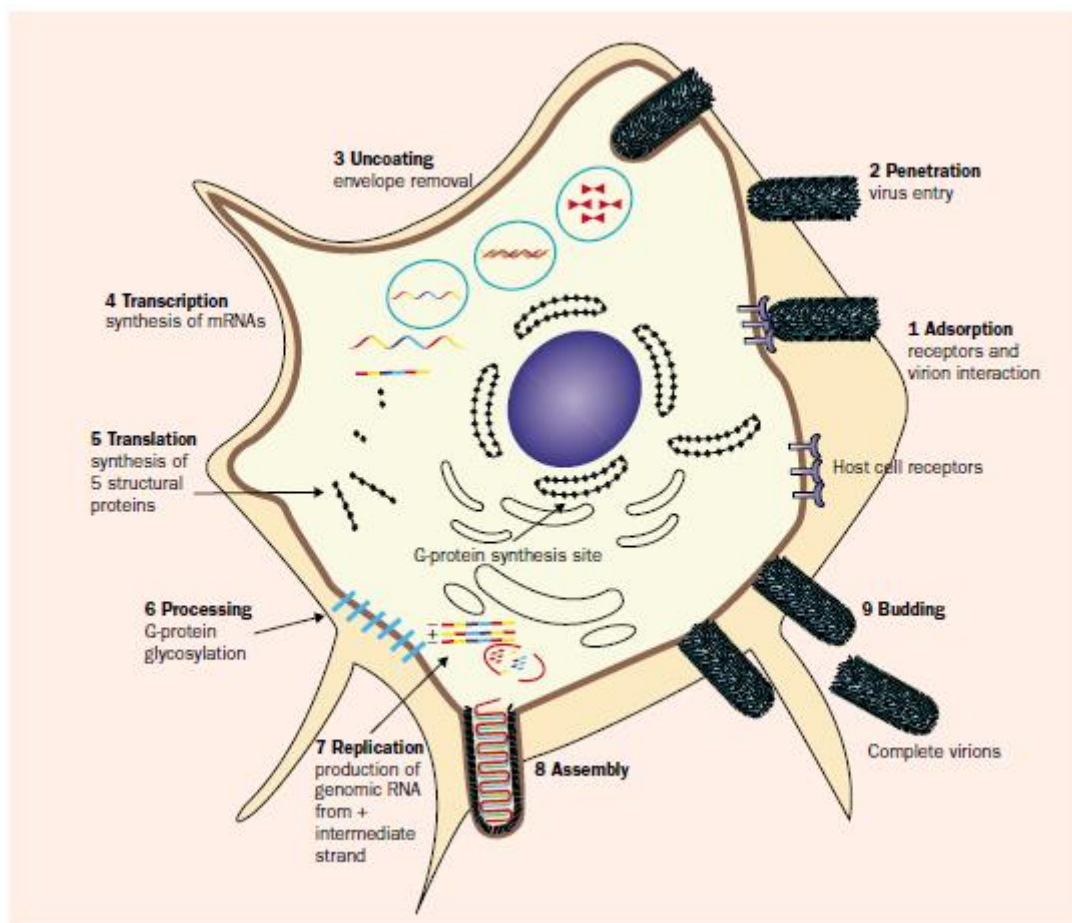
Lf ... *linguální frenulum*

L ... *lyssa*

3. MECHANISMUS PATOGENITY A EPIDEMIOLOGIE

3.1. Mechanismus patogenity

Virus vztekliny je klíčem lidských *rhabdovirů*. Přenáší se ve většině případů zvířecím kousnutím a je replikován lokálně v rámci svalových vláken a v rámci dalších buněk. Glykoproteinový hrot objevený ve virovém obalu (kódovaný genem G) je virový adhesin a váže se k acetylcholinovým receptorům na hostitelských buňkách. Virový organismus se stěhuje do neurosvalové křížovatky a je dále replikován v rámci neuronových buněk. Poté organismem cestuje přes retrogradační intra-axonální transport a infikuje nervy po celém CNS. Eventuálně, organismus infikuje motorické, senzorycké a autonomní nervy a vrací se do periferních orgánů. Po celou dobu tohoto procesu se objevuje malý zánět nebo podobný důkaz imunitní odezvy na virus. (Göpfertová a Šejda, 1997)



Obrázek 6 Vstup *lyssaviru* do buňky, transkripce, translace, replikace a výstup z generalizované hostitelské buňky. (Rupprecht et al., 2002)

Imunitní odpověď mnohým pacientům chybí. Objevila se u nich buněčná odpověď (IV. typ imunitní odpovědi) na virus vztekliny a mají znaky encefalidity. Umírají o poznání rychleji. Prostředky, kterými virus vztekliny napadá nervové funkce, jsou neznámy. Nervy jsou těžce infikovány, ale příčina není dostatečně jasná. Studie využívá modelů zvířat ke změnám nervových receptorů pro neurotransmitery. (Walker, 1998)

Limbický systém se docela brzy těžce infikuje, což vede ke zvýšení produkce kortizolu a agresivnímu chování. Tento proces podporuje přenos virů, protože slina je také těžce infikovaná a agresivní zvířata mají sklony ke kousnutí. V pozdějším stádiu nemoci je kortikální systém postižen více vážně, nemocný upadá do kómatu a dochází až k zástavě dýchání. (Walker, 1998)

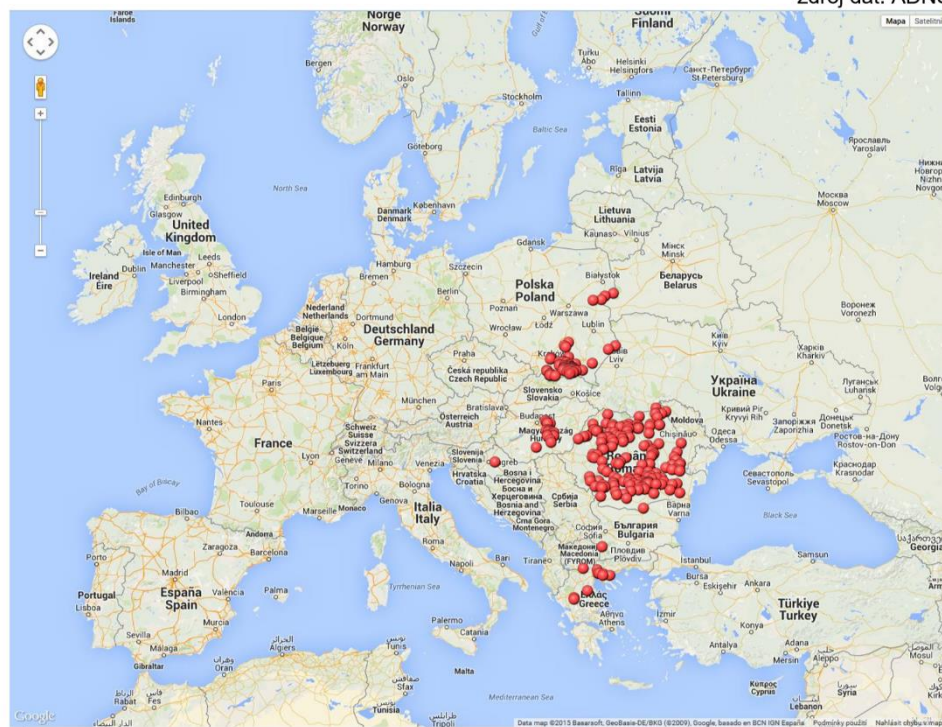
3.2. Epidemiologie

Vzteklina a vezikulární stomatitidy jsou dvě *rhabdovirové* infekce s vysokým výskytem u lidí. Světová zdravotnická organizace odhaduje, že je okolo 50000 mrtvých kvůli vzteklině každý rok. Nemoc nastává po celém světě a je přenášena nejčastěji kousnutím nebo poškrábáním vzteklého zvířete, ačkoli bylo zaznamenáno, že od netopýrů byla vzteklina přenášena i pouhými aerosoly. Okolo 90 % lidských případů je nakaženo kousnutím vzteklého psa, ale například kočky jsou také běžným přenašečem vztekliny. (Walker, 1998)

K nejčastějším případům nákazy dochází ve venkovských oblastech, kde domácí zvířata mohou přijít častěji do styku s nakaženou lesní zvěří. U volně žijících živočichů se rezervoáry vztekliny liší geograficky. Na většině území Spojených států amerických jsou největšími přenašeči viru vztekliny skunkové, ačkoliv lišky a mývalové jsou také významnými přenašeči viru, a to především na východním pobřeží. (Walker, 1998)

Ve Spojených státech amerických byly zahájeny modelové programy kontroly vztekliny Panamerické zdravotnické organizace (PAHO). Tyto programy jsou velice nákladné a Spojené státy americké za ně každoročně utratí desítky milionů dolarů. Kontrola vztekliny je ale rozšířená celosvětově, protože PAHO spolupracuje s národními kanceláři WHO. Důležitými znaky PAHO a WHO je soustředění se na trojici hlavních věcí: vzdělání, výzkum a vakcinaci. (Baer, 1991)

V Evropě jsou nejčastějšími nositeli viru lišky a netopýři. V roce 2014 se vzteklina rozšířila nejvíce na území Balkánu, hlavně v Rumunsku, Řecku a Makedonii. V tom stejném roce byl zaznamenán výskyt vztekliny také na území Maďarska a z větší části i Polska, viz obrázek 7. (Walker, 1998)



mapa vytvořená pomocí nástrojů GOOGLE

Obrázek 7 Vzteklina v Evropě v roce 2014

Zdroj: <http://www.svscr.cz/wp-content/files/pohoda-zvirat/mapa.vzteklina.2014.pdf>

V jižní a střední Americe šíří běžně virus na dobytek netopýři. Vezikulární stomatitida je zpravidla nemoc skotu, ale je příležitostně širitelná i na lidi, pravděpodobně přes kousnutí muchničkami, roztoči a komáry. (Baer, 1991)

4. PREVENCE A DIAGNÓZA

4.1. Prevence

Vzhledem k mimořádně vysoké úmrtnosti má prevence vztekliny zásadní význam. Při prevenci viru je vysoce účinná post-expoziční profylaxe (PEP) pomocí vakcíny a imunoglobulinu podávaného brzy po expozici. Včasná profylaxe exponované osoby je velmi důležitým faktorem. (Crowfort et al., 2015)

Očkování proti vzteklině je k dispozici po dobu více než 125 let. Imunizace je drahá a očkování před expozicí není často veřejně financováno nebo kryto zdravotním pojištěním. Lidé by měli být plně informováni o tom, co mají dělat v případě možného vystavení vztekliny, a to hlavně během plánování vycestování do cizích zemí, kde může být vzteklina rozšířena nebo hrozí vyšší riziko nákazy. (Plotkin, 2000)

Když cestující do endemických zemí vyhledají pomoc k dokončení průběhu post-expoziční profylaxe příliš pozdě, musí si uvědomit, že se vystavili vysoké pravděpodobnosti nákazy vztekliny a je třeba hledat úplné očkování po expozici. (Briggs, 2012)

Cestování s neúplnou sérií očkování nesou svá rizika a očkování by měla být dokončena ihned po návratu nebo nejlépe ještě při příjezdu do místa určení. (Both et al., 2012)

Většina případů onemocnění vztekliny byla zaznamenána v Africe a Asii, přičemž každoročně je v těchto zemích tisíce úmrtí. Předpokládaná roční hodnota, která činí téměř 60000 úmrtí na vzteklinu, je pravděpodobně podhodnocena. Prakticky všechny případy vztekliny jsou výsledkem kousnutí infikovaných psů. (Warrell, 2010)

Proto je finančně nejvýhodnějším řešením k odstranění celosvětového rozšíření vztekliny spíše kontrola vztekliny u psů, resp. psovitých šelem než rozšiřování profylaxe u lidí. Masové očkovací kampaně s parenterálními očkovacími látkami a pokroky v perorálních vakcínách pro volně žijící zvířata umožnily vyloučení vztekliny u suchozemských masožravců v několika zemích po celém světě. (Fooks et al., 2014)

4.2. Orální vakcinace lišek

4.2.1. Vakcinace lišek v České republice

Vzteklina byla u lišek v České republice rozšířena po druhé světové válce a dosáhla nejvyššího výskytu v 80. letech. Aplikovaná kontrolní opatření měla jen omezený účinek a výskyt vztekliny u volně žijících živočichů nepřetržitě ohrožoval domácí zvířata i lidi. (King, 2004)

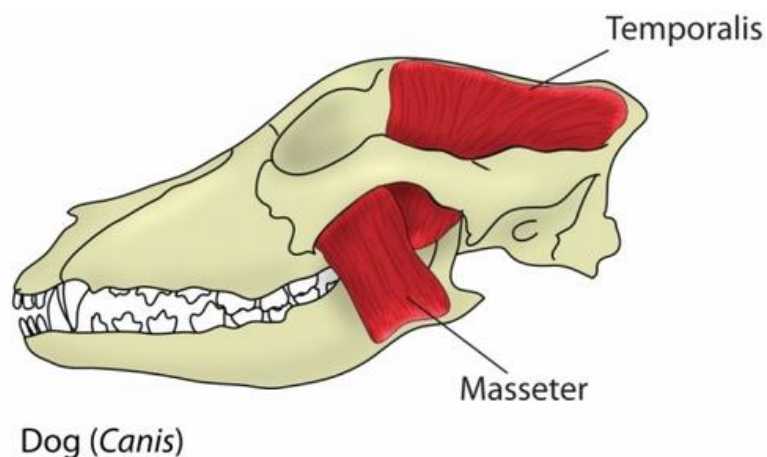
První tři případy vztekliny v ČR se objevily v severních a jižních Čechách v roce 1947. V následujícím roce bylo zaznamenáno značné zvýšení výskytu vztekliny u lišek,

které tvoří asi 90 % všech pozitivních případů (všeobecně psovité šelmy). (Freuling et al., 2013)

Nejvyšší výskyt vztekliny byl zaznamenán v roce 1984 a dosáhl celkového počtu 2232 hlášených případů. (Dodet, 2006)

Orální vakcinace lišek se roku 1992 prováděla vakcínou LYSVULPEN vyráběnou firmou Bioveta, s.r.o. v Ivanovicích na Hané. Vakcína obsahovala v očkovací dávce $1,8 \times 10^{7,5}$ TKID50 titru viru ve vakcíně proti vzteklině a kmen SAD-Bern. Vzorky krve nenačkovaných lišek byly odebrány před zahájením experimentu u všech testovaných lišek a poté v tříměsíčních intervalech. Poslední vzorky krve byly odebrány těsně před začátkem pokusu a dva měsíce po napadení u lišek, které přežily. Výzkumný test byl proveden u všech lišek (očkovaných a neočkovaných) rok po jediné perorální imunizaci proti vzteklině. Virus byl připraven ze slinné žlázy přirozeně infikované lišky žijící na území České republiky. (Vrzal a Matouch, 1996)

Virus byl aplikován liškám do velké hloubky žvýkacích svalů (viz obrázek 8) v celkové dávce 10000 MICLD (50). Experimentální zvířata byla pozorována po dobu 60 dnů. U všech experimentálních lišek byla po zkonsumování návnady zaznamenána tvorba specifických protilátek proti vzteklině neutralizujících virus. Protilátky byly detekovány po celý rok pozorování. Z devíti pozorovaných lišek zemřela jen jedna (neočkovaná) a všechny ostatní vakcinované lišky byly chráněny před vzteklinou z 89 %. Výsledky laboratorního vyšetření u všech léčených lišek prokázaly přítomnost tetracyklinu, jenž byl vakcinačním důkazem. (Vrzal a Matouch, 1996)



Obrázek 8 Žvýkací svaly psa domácího (jako u lišky obecné)

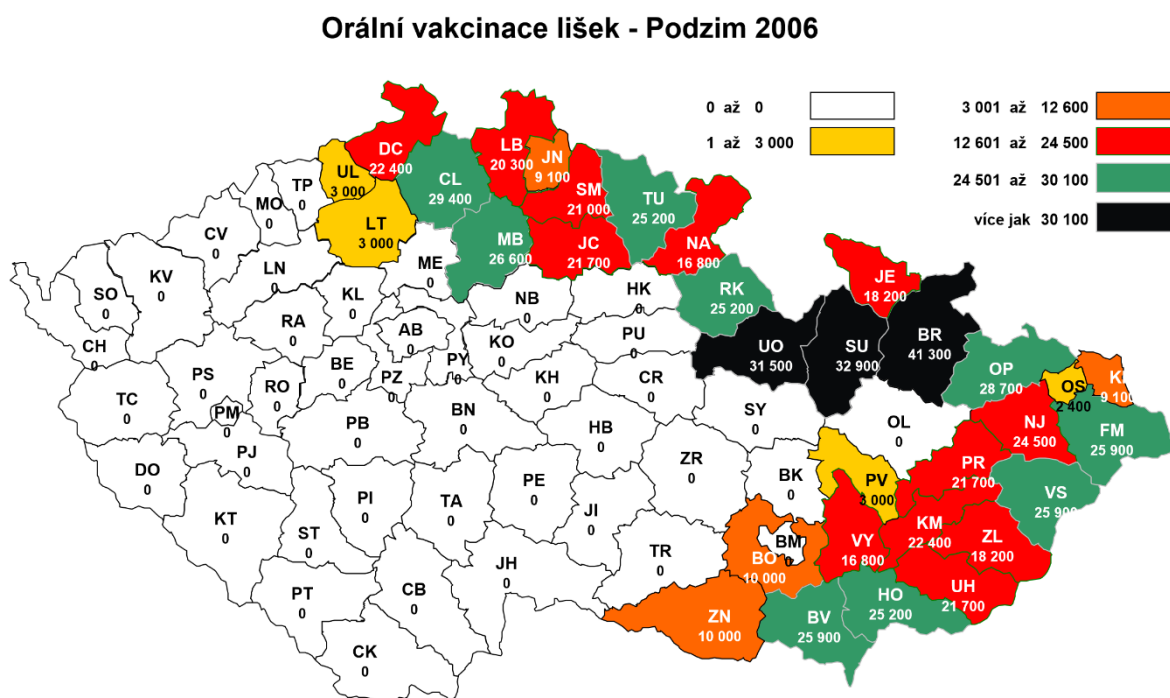
Zdroj: <https://www.vivahealth.org.uk/wheat-eaters-or-meat-eaters/jaw-type-and-jaw-closing-muscles>

Orální imunizace značně zlepšila infekční situaci v České republice. V roce 1989 bylo na začátku očkování zaznamenáno celkem 1501 případů infekce vztekliny, zatímco v roce 1994 to bylo pouze 221 případů. To znamená, že došlo k poklesu infikovaných jedinců o celých 85 %. (Vrzal a Matouch, 2007)

Významné zlepšení bylo zaznamenáno po zavedení perorální vakcinace lišek v roce 1989. Původní manuální distribuce návnad vakcíny byla nahrazena leteckou distribucí, což vedlo k úplné eliminaci vztekliny v celé zemi. (Matouch et al., 2007)

Poslední případ nákazy vzteklinou byl zaznamenán v okrese Trutnov v dubnu roku 2002. Od roku 2004 je Česká republika vyhlášena za zemi vztekliny prostou. V roce 2015 byla zjištěna nákaza u netopýra v pražských Riegrových sadech, ale na status země vztekliny prosté to nemělo vliv, jelikož se jedná o specifický typ viru. [1]

Státní veterinární správa České republiky uvedla na podzim roku 2006 plán orální vakcinace lišek, protože je zapotřebí zachovat účinný epidemiologický dohled a preventivní perorální očkování lišek. Nadále bylo nejvíce lišek vakcinováno v ohrožených příhraničních oblastech z důvodu možného rizika zavlečení viru ze sousedních zemí, viz obrázek 9. [1]



Obrázek 9 Plán orální vakcinace lišek v ohrožených příhraničních oblastech

Zdroj: <http://www.svscr.cz/wp-content/files/pohoda-zvirat/planvakcinace.pdf>

4.2.2. Vakcinace lišek v zahraničí

Perorální očkování lišek mělo významný vliv na snížení počtu pozitivních případů vztekliny např. v Srbsku. Po devíti dávkách orální vakcinace počet lišek infikovaných vzteklinou výrazně poklesl v roce 2010 z 93 případů pouze na jeden případ v roce 2014. Provádění orální vakcinace lišek také pozitivně ovlivnilo ostatní druhy zvířat. Mezi nejvíce náchylné druhy divoké zvěře patří šakali a divoké kočky. Poslední případ infikované divoké kočky byl zaznamenán v roce 2009 a případ infikovaného šakala v roce 2013. Pokud jde o domácí zvířata, vzteklina se vyskytla hlavně u koček a psů. (Lupulovic et al., 2015)

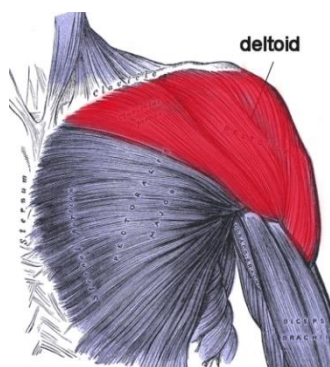
Počet onemocnění u koček a králíků se také výrazně snížil. V roce 2009 bylo registrováno 15 infikovaných psů a 23 koček. Poslední infikovaný pes byl potvrzen v roce 2011 a infikovaná kočka v roce 2012. Každoročně vzrůstá množství návnad a stále stoupá tendence a rychlost očkování. Očkování v Srbsku by mělo pokračovat po dobu nejméně dalších dvou let od záznamu posledního případu vztekliny. Rozšíření programu orální vakcinace lišek do jiných zemí má zásadní význam, protože pouze komplexní a koordinovaná akce může vést k trvalému odstranění vztekliny. (Lupulovic et al., 2015)

4.3. Imunizace lidí

Pro imunizaci před expozicí existují vakcíny proti vzteklině. Ty se doporučují osobám určitých vysoce rizikových povolání jako jsou veterináři nebo laboratorní pracovníci, kteří manipulují s živým biologickým materiálem. Mohou tak přijít do přímého kontaktu s viry vztekliny (*lyssaviry*). Patří sem i profese v oblasti kontroly chorob zvířat a myslivci, jejichž profesionální nebo osobní činnost by mohla přijít do přímého kontaktu s netopýry, masožravci nebo jinými savci, kteří by mohli být infikováni. [2]

Imunizace před expozicí se doporučuje také cestujícím do vzdálených oblastí, především do oblastí postižených vzteklinou. Dále cestujícím, kteří plánují strávit delší dobu venku, což se týká např. horolezců. Dlouhodobí cestující do oblastí s vysokým rizikem expozice vztekliny by měli být imunizováni, pokud je místní přístup k biologickým prostředkům vztekliny omezen. Pozornost by měla být věnována především dětem a měla by být prováděna imunizace dětí, které žijí nebo navštěvují vzdálené a vysoce rizikové oblasti. Děti si totiž s oblibou hrají se zvířaty a mohou proto snadno přijít do styku s tímto velmi závažným onemocněním. [2]

V současné době se lidem podávají dvě vakcíny proti vzteklině, je to Verorab (Francie) a Rabipur (Německo). Obě vakcíny mohou být použity před nebo po expozici a jsou si velmi podobné způsobem podání. Podávají se pouze intramuskulárně, v žádném případě nesmí být vakcíny podány intravaskulárně a podkožně. S novými metodami výzkumu se přišlo na to, že aplikací těchto vakcín do hýžd'ového svalu se výrazně snižují hodnoty neutralizačních protilátek. Proto děti (kojenci a batolata) dostávají injekci do anterolaterální oblasti stehna a dospělí do deltoidní oblasti, viz obrázek 10. [3]



Obrázek 10 Deltoidní sval

Zdroj: <https://anatomystudybuddy.files.wordpress.com/2012/09/deltoid.png>

Tři dávky vakcíny Verorab (0,5 ml) se podávají v nultý, sedmý a 21. nebo 28. den. Posilovací dávka vakcíny se podává za 1 rok od poslední dávky základního očkování, další pak po 5 letech. [3]

Po vakcinaci Verorabem se velmi často objevují kožní alergické reakce v místě vpichu, objev vyrážky, otoku, případně svědění a kopřivka. Častými nežádoucími účinky bývají i bolesti hlavy a závratě, které mají vliv na schopnost orientace, hlavně při řízení motorových vozidel a při obsluze strojů. Častá je i bolest břicha a svalů, případně kloubů a vyskytuje se i třesavka. [3]

Stejných reakcí se dostává i po očkování vakcínou Rabipur, kde se navíc objevuje s bolestí i zatvrdnutí kůže v místě vpichu. Dost často se objevuje malátnost, a proto se ani po této vakcinaci nedoporučuje řízení motorových vozidel. Léčivou látkou Rabipuru je inaktivovaný kmen Flury LEP pomnožen v purifikovaných buňkách kuřecího embrya (PCEC). [4]

Vakcíny pro domácí zvířata jsou různá a vpichují se intramuskulárně. I nutnost pravidelného očkování se liší, například fretky musí být očkované každoročně, zatímco kočky a psi nemusí být vakcinováni tak často. [5]

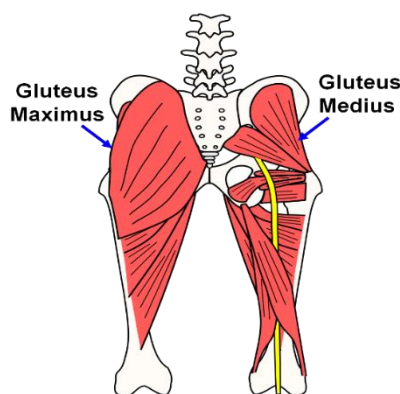
Nejdéle účinná, a proto i nejvíce doporučovaná vakcína pro psy je Nobivac Rabies. Pro kočky je určena speciální vakcína Purevax Rabies, provede se první očkování, za rok přeočkování a poté se očkuje každé tři roky, pokud kočka cestuje nebo navštěvuje výstavy, jinak není vakcinace v naší zemi povinná. Imunita nastupuje 4 týdny po první vakcinaci, a proto se nemůže s kořaty vycestovat dříve. [6]

4.4. Diagnóza

Vzteklina obvykle začíná 14. – 90. den po kousnutí nakaženým zvířetem, ačkoliv u některých pacientů byla zaznamenána mnohem delší inkubační doba. Délka inkubační doby záleží na více faktorech, a to na infekční dávce a na místě poranění poškozeného. Pokud je totiž infekce zanesena blíže nervovým vláknům, po kterých se virus šíří (CNS), je doba inkubace mnohem kratší. (Fooks a Müller, 2012)

Prodrom neboli nejistý počáteční příznak nemoci se projevuje anorexií, zimnicí, horečkou, emoční labilitou, nevolností a abnormální reakcí okolo místa postiženého kousnutím. Poté se u pacienta projeví znaky zuřivé (zběsilé) vztekliny, paralytické vztekliny nebo obojího. (Walker, 1998)

Mezi imunoglobuliny proti vzteklině (RIG) patří dva druhy: lidský imunoglobulin proti vzteklině HRIG a podstatně levnější a pro hodně zemí i mnohem dostupnější imunoglobulin proti vzteklině koně ERIG. Před podáním ERIG musí být proveden kožní test. Co nejvíce doporučené dávky (20 UI/kg tělesné hmotnosti ERIG) by mělo být vpraveno přímo kolem místa poranění. Zbytek by měl být podáván intramuskulárně (do gluteální oblasti – oblast hýždí – v dnešní době už ne), viz obrázek 11. [7]



Obrázek 11 Gluteální oblast

Zdroj: <http://www.tradestreetmassage.com/sciatic-pain-treatment/>

Existuje pouze jeden pacient z roku 1977, který přežil vzteklinu, proto je nezbytně nutné jejímu výskytu a následnému šíření zabránit. Napadený vzteklinou nakaženým zvířetem musí ránu vyčistit mýdlem s vodou a dostat injekci HRIG. (Walker, 1998)

HRIG se podává pouze jednou, a to hned na začátku léčby vztekliny. Úplná dávka HRIG se vpravuje přímo do rány a do oblasti kolem rány. Jakákoli zbývající dávka HRIG je aplikována do jiného svalu, než je ten, kde byla podána vakcína předchozí. HRIG je podáván pouze osobám, kteří nebyli očkováni předem. Ti lidé, kteří již očkování předem mají, si ještě v těle drží důležité protilátky. Další injekce HRIG by akorát mohly zeslabovat účinek post-expozičního očkování. [8]

Pro aktivní imunizaci je buď lidská vakcína s diploidními buňkami HDCV nebo adsorbovaná vakcína proti vzteklině RVA podána v sérii pěti injekcí. Imunizace se obvykle podávají v prvním třech, sedmi, 14 a 28 dnech. [9]

Aktivní imunizace vakcínou proti vzteklině umožní tělu pacienta vyrobit si vlastní protilátku. Nejbezpečnějšími a nejúčinnějšími vakcínami jsou HDCV, kultivovaná buněčná kultura kuřecích embryí PCEC a RVA. U starších vakcín bylo vyžadováno nejméně 16 injekcí, ale u novějších typů HDCV, PCEC nebo RVA obvykle postačuje vakcín pouze pět. Osobám ohroženým vzteklinou by měla být podána vakcína proti vzteklině formou preventivní profylaxe. [10]

Popsáno bylo celkem pět metod pro detekci RNA z viru vztekliny. Tyto metody zahrnovaly postupy založené na výběrové sekvenci nukleové kyseliny pomocí elektrochemiluminiscenčního testu (NASBA-ECL), reverzní transkripci RT hemoperázové

(hn) polymerázové řetězové reakce (PCR) a TaqMan reálného času za použití různých protokolů. (Hemachudha et al., 2011)

4.5. Laboratorní diagnostika

Laboratorní diagnostika vztekliny byla standardizována prostřednictvím několika odborných výborů pod dohledem Světové zdravotnické organizace a Mezinárodních úřadů pro nákazy zvířat. [11]

Hlavními postupy rutinní diagnostiky vztekliny se skládají z imunofluorescenčního barvení antigenu vztekliny v mozkových tkáních (fluorescenční protilátkový test FAT), izolace viru vztekliny v buněčné kultuře (test infekce tkáňové kultury vztekliny RTCIT) a enzymu imunosorbentního testu (rychlá enzymová imunobiologická diagnóza vztekliny RREID – ten již není komerčně dostupný). (Dacheux et al., 2016)

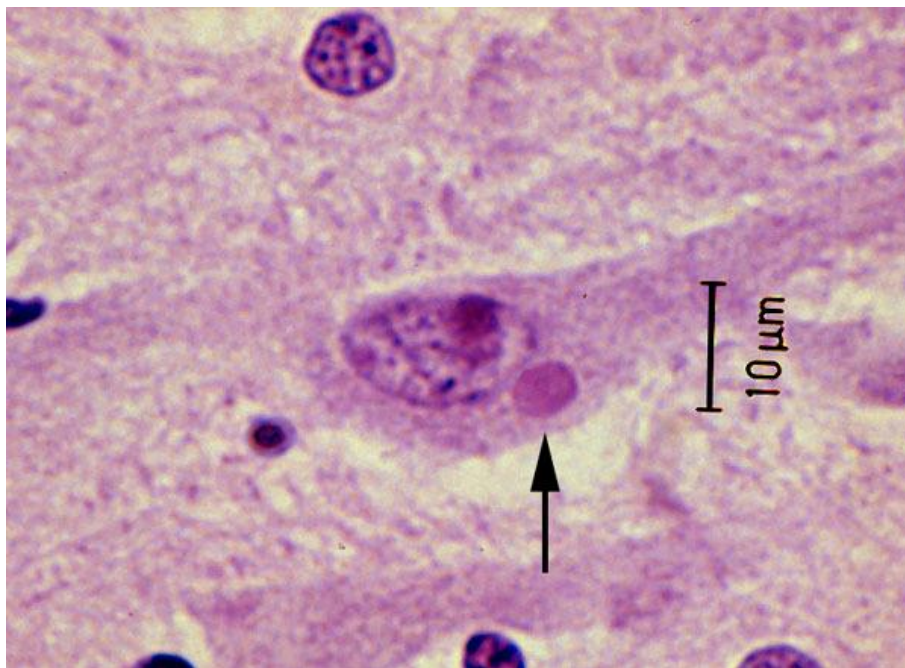
Velká část těchto technik je široce využívána. Tyto techniky jsou však velmi závislé na komerční nebo akademické dostupnosti činidel, z nichž některé jsou finančně nákladné. Proto si je nemohou pořídit lidé s omezenými finančními zdroji. Kromě toho izolace na buněčné kultuře vyžaduje přizpůsobené laboratorní pracovní podmínky. Takové podmínky ovšem nejsou k dispozici v terénních laboratořích. Předchozí výzkumy popisují rychlou a především také snadnou diagnózu vztekliny pomocí testu ELISA. Rozšířen je vývoj testu ELISA, nazvaného WELYSSA, s použitím myších monoklonálních protilátek (MAbs) za účelem zachycení antigenu (virového nukleoproteinu). V diagnostickém nastavení je tento test určen pro použití v souvislosti s fluorescenčním protilátkovým testem, který je referenční technikou. (Xu et al., 2007)

Pro diagnostiku vzorků podezřelých ze vztekliny byly vyvinuty monoklonální protilátky (MAb) založené na imunologické metodě k detekci protilátek (ELISA). Test byl optimalizován a standardizován tak, aby byla zachována maximální shoda se standardními postupy diagnostiky vztekliny doporučenými odbornou komisí WHO. Použitím prototypových virů z různých genotypů *lyssavirů* různých geografických původů a také fylogenetických linií je díky metodě WELYSSA možná snadná detekce *lyssavirů*. Tyto *lyssaviry* jsou rozšířeny v Evropě, Africe, Asii a Oceánii. Prahová hodnota detekce *lyssavirových* nukleokapsidů je nízká (0,8 ng/ml). U panelu 1030 vzorků přijatých pro diagnostiku vztekliny bylo zjištěno, že tento test je vysoce specifický (0,999) a citlivý

(0,970) ve srovnání s jinými doporučenými diagnostickými metodami proti vzteklině. (Xu at al., 2007)

5. LABORATORNÍ ANALÝZA

Zvířata podezřelá ze vztekliny by měla být usmrcena a jejich mozková tkáň musí být následně vyšetřována na antigen viru vztekliny pomocí imunofluorescenčních technik. Infikované buňky mají přítomná Negriho tělíska. Na následujícím obrázku z mikroskopu je šipkou znázorněné Negriho tělísko o velikosti 10 μm v buňce postižené vzteklinou. (Tzu Chi Med, 2007)



Obrázek 12 Negriho tělísko v buňce postižené vzteklinou (šipka)

Zdroj: <https://scienceofparkinsons.com/tag/negri-bodies/>

Negriho tělíska jsou nejčastěji pozorována v pyramidálních buňkách *hippocampu* a také v mozkové kůře, Purkinjeho buňkách *cerebella* a v neuronech míchy. (Tzu Chi Med, 2007)

5.1. Inaktivace viru vztekliny na plochách

Virus vztekliny je známý patogen, který musí být vyšetřován pouze ve speciálních laboratořích s vysokým bezpečnostním opatřením, kde platí národní a mezinárodní směrnice.

Pro účinnou inaktivaci viru vztekliny byla testována celá řada činidel. Virkon S (1% roztok) způsobil více než o 4 log snížení viru vztekliny v kultivačním médiu s 10% fetálním telecím sérem do 1 minuty. (Wu et al, 2017)

Inaktivace viru 70% isopropyl alkoholem ve výsledku větší než 3 log způsobuje snížení viru vztekliny během 20 sekund při aplikaci v poměru 19:1, což je vhodným prostředkem pro povrchovou dekontaminaci, zatímco 70% ethanol byl neúčinný. Virus vztekliny (od $10_{2.33}$ do 10_3 ffu/ml) byl také inaktivován, když byly buněčné kultury fixovány 3 nebo 4% roztokem paraformaldehydu po dobu 30 minut. (Wu et al, 2017)

6. PŘENOS VZTEKLINY

Vzteklina je většinou přenášena slinami nakaženého zvířete (nebo člověka), nejčastěji kousnutím nebo škrábnutím. Až 90 % lidských případů je způsobena nakaženými psy. Nicméně netopýři, mývalové, skunkové, lišky a kojoti jsou také velmi významnými přenašeči tohoto onemocnění. Vzácnými formami přenosu jsou sliny, které přichází do kontaktu s hlenovými membránami (bělmo v očích, nos, ústa), inhalací aerosolizovaných slin, transplantací rohovky a vnitřních orgánů. Velké riziko nákazy vzteklinou přináší i konzumace syrového masa nebo jiných tkání z nakažených zvířat, a není proto vůbec vhodná. Zaznamenány byly případy, kdy se řezáním syrového infekčního masa přenesla infekce do rány v kůži prostřednictvím infikované nervové tkáně. [12]

Virus vztekliny je zabit teplem nad 60 °C, takže pití pasterizovaného mléka nebo požití vařeného masa nevádí. Ovšem za infekčně přenosné je považováno mléko nepasterizované (kravské, kozí). [13]

Nedoporučuje se ani jíst neomyté ovoce, např. při sbírání borůvek nebo jiných plodů v lese. Les je nejpravděpodobnějším místem výskytu nákazy, a to z důvodu velkého osídlení liškami. Velké riziko nákazy tak nastává v případě, že byly borůvky nebo jiné lesní plody potřísněny slinami vzteklinou nakaženého zvířete. Kdybychom nasbírané plody nejdříve dostatečně neomyli, mohli bychom se tímto velmi nepříjemným onemocněním vztekliny jednoduše nakazit. Virus totiž dokáže být na vzduchu aktivní 4 hodiny až několik dní. Závisí na teplotě, vlhkosti a dalších faktorech, ale i v rádech hodin je to dlouhá doba k uskutečnění přenosu nákazy. [14]

Tabulka 1 Klasifikace vztekliny podle zvířat, která byla zdrojem nákazy pacientů mezi léty 1908 a 1972 (vědecká zpráva centrálního výzkumného ústavu, Kasauli, 1972 - 1973).

Druh zvířete	Počet infikovaných lidí podstupujících celou léčbu	Celkový počet v %	Úmrtí	Celkový počet úmrtí v %
Pes	1380920	89817	2567	0,186
Šakal	75494	4901	903	1,196
Buvol	12461	0,810	-	-
Vlk	1558	0,101	69	4,429
Hyena	552	0,036	17	3,080
Panter, leopard	449	0,029	9	2,004
Opice	3024	0,197	2	0,066
Kočka	3769	0,245	2	0,053
Liška	320	0,021	1	0,312
Jezevec	60	0,004	-	-
Veverka	17	-	-	-
Medvěd	115	0,007	-	-
Kráva, tele, vůl	17470	1,136	-	-
Velbloud	831	0,054	-	-
Jelen	17	-	-	-
Osel	2995	0,195	-	-
Kačer	5	-	-	-
Orel	3	-	-	-
Slon	2	-	-	-
Ovce	1695	0,110	-	-
Morče	1	-	-	-
Husa	4	-	-	-
Kůň	4013	0,251	-	-
Lev	42	0,003	-	-
Myš	18	-	-	-
Králík	36	0,002	-	-
Krysa	110	0,007	-	-
Člověk	21566	1403	2	0,009

Z tabulky je jednoznačné, že vzteklinu nejvíce přenáší psi, po jejich nákaze byla zároveň i nejvyšší úmrtnost (v tabulce znázorněná sestupně).

7. VZTEKLINA JAKO ALIMENTÁRNÍ NÁKAZA

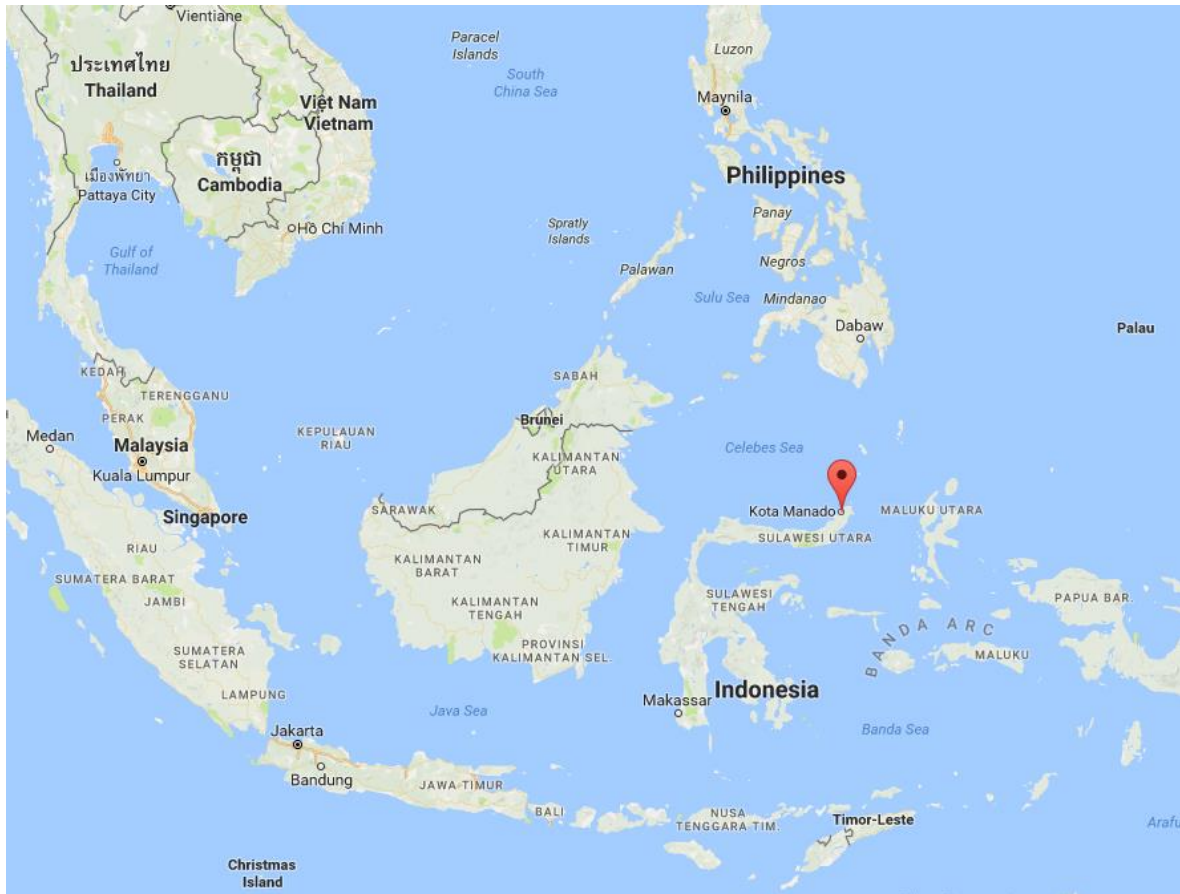
7.1. Přenos vztekliny z psího masa

V Severní Sulawesii (indonéska provincie), konkrétně v Minahasii, se stalo psí maso náhradním zdrojem bílkovin za kuřecí maso, vepřové, hovězí a další. Je velmi populární v syrové podobě jako RW maso (RAW nebo také Rintek Wu-uk), což znamená, že maso neprošlo tepelnou úpravou nad 45 °C. Psí maso se momentálně stalo jednou z nejpobulárnějších, a tím i nejprodávanějších potravin v mnoha minahasijských restauracích a supermarketech, ve městě Manado v Indonésii (viz obrázek 14) a na dalších místech. Protože je vzteklina smrtelným onemocněním, cílem je nejprve získat informace o stavu vzteklinou nakažených psů na mokřých trzích, za druhé získat informace o počtu zakoupeného psího masa na mokřém trhu a za třetí získat informace na objednávku k vytvoření odpovídající strategie v prevenci a kontrole vztekliny v provincii Severní Sulawesie. (Adiani et al., 2009)

Mokřý trh je trh prodávající živou drůbež, ryby, plazy a savce všeho druhu a odlišuje se od suchých trhů, které prodávají zboží dlouhodobé spotřeby. Každodenně se zavází nová zvířata na trh, kdy ta starší neprodaná zůstávají na místě stále k prodeji. Takhle se i ty starší kusy masa prodávají po dobu několika dnů i mnohem déle, a to v řádech několika týdnů. Tento dlouhý prodej starého masa poskytuje optimální podmínky pro rozvoj nemoci. Navíc každodenní styk lidí včetně dětí s živými zvířaty vytváří ideální podmínky pro přenos a vývoj infekčního onemocnění. Tento trh je spojen s infekčními chorobami v důsledku velké vlhkosti a nehygienickými podmínkami prodeje. Např. na mokřých trzích v Číně byl pozorován výskyt onemocnění SARS, což je závažný akutní respirační syndrom neboli syndrom náhlého selhání dýchání. [15]

Vzorky čerstvých i sušených psích hlav byly zakoupeny na několika mokřých trzích ve městě Manado, Airmadidi a Langowan. Tyto vzorky byly zkoumány za použití prodejních výzkumných metod, a poté se pokračovalo s výzkumem ve spolupráci se zdravotnickou organizací pro zvířata (AHL) v Manado. Celkem ze 103 vzorků psích hlav bylo zjištěno osm pozitivních nálezů vztekliny (10,6 %). Navíc případů vztekliny u psů bylo mezi léty

2000 – 2006 okolo 68 – 85,6 % s průměrem 602 testů ročně a počet lidí pokousaných za rok byl 909. V krátké době se stala vzteklina na tomto území velmi závažným problémem od mokrých trhů po řezníky, prodejce i zákazníky RW masa. Pravděpodobně nejvíce šokujícími se staly počty psů bez sebemenších známek vztekliny. (Adiani et al., 2009)



Obrázek 13 Manado v Indonésii

Zdroj: <https://www.google.cz/maps/place/Manado,+Manado+City,+Severn%C3%AD+Sulawesi,+Indon%C3%A9sie/@3.5564805,112.4912972,5z/data=!4m5!3m4!1s0x32879e9ffb30fd3:0x3030bfbcaf77280!8m2!3d1.4748305!4d124.8420794>

8. VÝSKYT VZTEKLINY

Většina případů vztekliny je způsobena klasickým sylvatickým virem vztekliny (druh RABV). Navíc čtyři druhy viru *lyssavirus* byly nalezeny v Evropě u netopýřů: WCB (západní kavkazský netopýří virus), BBLV (Bokeloh netopýří *lyssavirus*), EBLV-1 (evropský netopýří *lyssavirus*) a EBLV-2, ze kterých byly tři objeveny roku 2012. Přestože jsou netopýři v Evropě vzácní, mohou přenášet vzteklinu na jiné savce včetně lidí. [16]

8.1. Vzteklna v České republice

Na území České republiky nastala mezi léty 1999 a 2001 velká změna, jelikož díky patřičným opatřením zde došlo k rapidnímu úbytku vztekliny, viz tabulka 2 a 3. [17]

Tabulka 2

Nálezy vztekliny v České republice v roce 1999

MĚSÍC / ZVÍŘE	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	celkem	%
liška	19	19	31	32	16	5	5	15	13	15	11	11	192	89,7
tchoř	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	2	0,9
srnec	1	1	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	4	1,9
jezevec	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	1	-	4	1,9
kuna sp.	-	-	-	1	1	-	2	-	1	-	1	-	6	2,8
DIVOKÁ ZVÍŘATA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	0,5
pes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ovce	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,5
skot	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	0,5
kočka	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	1	3	1,3
DOMÁCÍ ZVÍŘATA	1	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-	1	5	2,3
CELKEM	21	20	31	34	19	6	8	17	15	18	13	12	214	100

Tabulka 3

Nálezy vztekliny v České republice v roce 2001

MĚSÍC / ZVÍŘE	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	celkem	%
liška	9	5	5	2	1	-	4	-	-	-	2	1	29	82,9
tchoř	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2,9
srnec	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2,9
jezevec	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2,9
kuna sp.	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2,9
DIVOKÁ ZVÍŘATA	12	5	6	2	1	-	4	-	-	-	2	1	33	94,3
pes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ovce	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
skot	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
kočka	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	5,7
DOMÁCÍ ZVÍŘATA	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	5,7
CELKEM	13	6	6	2	1	-	4	-	-	-	2	1	35	100

Tabulka 4

Nálezy vztekliny v České republice v roce 2002

MĚSÍC / ZVÍŘE	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	celkem	%
liška	-	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	3	100
tchoř	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
srnec	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
jezevec	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
kuna sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DIVOKÁ ZVÍŘATA	-	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	3	100
pes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ovce	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
skot	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
kočka	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DOMÁCÍ ZVÍŘATA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CELKEM	-	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	3	100

V roce 2002 se celkem vyskytly pouze tři případy s onemocněním vztekliny, v roce následujícím (2003) už nebyl dokázán žádný případ nemocného, viz tabulka 4 a 5.

Tabulka 5

Nálezky vztekliny v České republice v roce 2003

MĚSÍC / ZVÍŘE	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	celkem	%
liška	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tchoř	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
srnec	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
jezevec	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
kuna sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DIVOKÁ ZVÍŘATA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ovce	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
skot	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
kočka	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DOMÁCÍ ZVÍŘATA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CELKEM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Od roku 2003 se postupem času podařila eradikace (úplné vymýcení) vztekliny, ale je potřeba mít toto onemocnění stále pod kontrolou, jelikož cestováním zvířat (při převozu i samovolným nekontrolovaným pohybem, např. u netopýrů) nebo i lidí do zemí s větším výskytem vztekliny hrozí riziko nákazy a přenos tohoto onemocnění zpět do ČR. [17]

Česká republika byla roku 2004 vyhlášena Světovou organizací pro zdraví zvířat (OIE) za zemi vztekliny prostou, a to i přes pár objevených případů vzteklých netopýrů, jelikož u netopýrů je toto onemocnění považované za specifický typ nákazy, kde vir není adaptován na lidi a lišky. [18]

Případ samovolného zavlečení nemoci do ČR byl zaznamenán v květnu roku 2005, kdy se v okrese Vyškov objevila vzteklina u netopýra hvízdavého (*Pipistrellus pipistrellus*) a zatím úplně poslední případ byl zdokumentován před dvěma lety (2015) v Riegrových sadech v Praze u netopýra večerního (*Eptesicus serotinus*). Tento druh netopýra nesl specifický typ viru, který se přenáší u letounů a u lidí dosud nebyl tento typ viru prokázán. I přesto, že je přenos tohoto typu viru vztekliny na člověka vzácný, je třeba se vyhnout uhynulým jedincům nebo těm, kteří prokazují zvláštní chování. Jsou to především netopýři nevyhledávající úkryt a mohou mít i problémy letu. [18]

Stále platí, že riziko přenosu vztekliny přes netopýry není příliš velké, alespoň ne tolik jako od lišek, které představují nejvyšší riziko přenosu tohoto onemocnění. Lišky jsou vůči specifickému viru netopýrů odolné, a tak nehrozí velké riziko rozšíření nákazy. Jen v ojedinělých případech může dojít k přenosu viru na jiné pozemní savce, např. kunu skalní, kočku, psa, ovci a další jedince. [18]

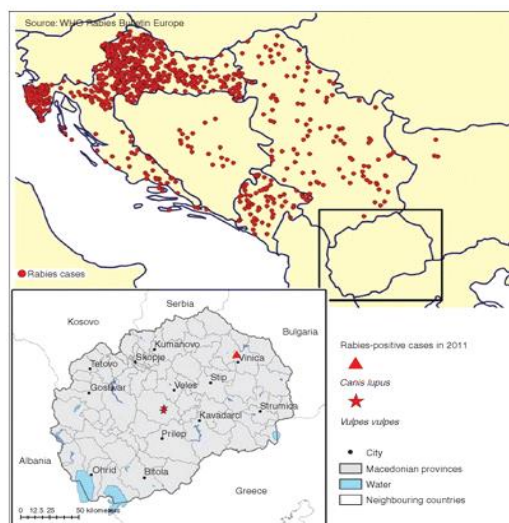
Nebezpečí nákazy vzteklinou netopýrem je zpravidla největší pro speleology a osoby pohybující se často v jeskyních, kde žijí celé kolonie netopýrů. Je zde proto možné riziko

přenosu nemoci i ze vzduchu a je vřele doporučeno v těchto místech vždy používat brýle, rukavice a respirátor. Prevence očkováním patří také mezi jedno ze základních doporučení před vstupem do těchto rizikových míst. [18]

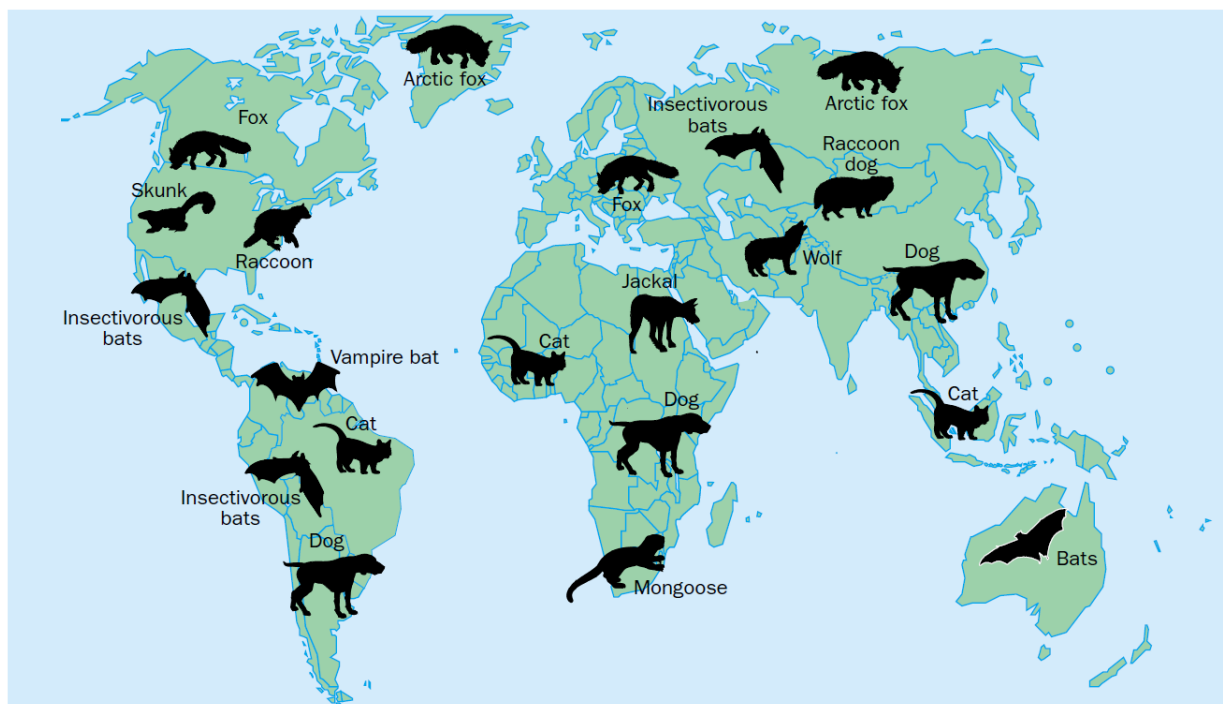
8.2. Výskyt vztekliny ve světě

Republika Makedonie se nachází v jižní části Balkánského poloostrova. Země je ohraničena Kosovem na severozápadě, Srbskem na severu, Bulharskem na východě, Řeckem na jihu a Albánií na západě. Od roku 2000 v zemi nebyly hlášeny případy vztekliny. Na obrázku 14 lze vidět celkový počet případů vztekliny hlášených v roce 2010 v sousedních zemích. V těchto oblastech je přenašečem této choroby červená liška (*Vulpes vulpes*), která je zodpovědná za více než 88 % hlášených případů (údaje získané z Rabies Bulletin Europe). Všechny země (s výjimkou Albánie a Řecka, které jsou hlášeny jako země vztekliny prosté) jsou v současné době zapsány do očkovacích programů, které byly zahájeny v Kosovu na jaře roku 2010. V Bulharsku byla první očkování provedena na jaře roku 2009. (Kirandjiski et al., 2012)

Jako vůbec první se vzteklina objevila v severní Africe, kde i přes veškeré snahy o vymýcení přetrvává toto onemocnění po tisíciletí. Lidské civilizace této oblasti komunikovaly s lidmi na Blízkém východě a jižní Evropě, kde byla ve starověku hlášena vzteklina. Nicméně první zaznamenané náznaky, že vzteklina existovala v severní Africe, pocházejí už z pozdních let 19. století. To byly v Alžírsku a Tunisku založeny instituce Pasteurem, částečně s cílem produkovat protilátky proti vzteklině. (Freuling et al., 2013)



Obrázek 14 Mapa Makedonie a sousedních zemí se zaznamenanými případy vztekliny v roce 2010 a 2011 (Rupprecht et al., 2002)



Obrázek 15 Mapa endemického výskytu vztekliny podle nejrozšířenějších přenašečů nemoci (Rupprecht et al., 2002)

Na obrázku 16 je znázorněná mapa endemického výskytu vztekliny, kde nejtmavší místa znamenají nejvyšší možné riziko nákazy a zároveň oblast, kde se vzteklina vyskytuje nejvíce. (Rupprecht et al., 2002)



Obrázek 16 Mapa endemického výskytu vztekliny podle četnosti výskytu onemocnění (Rupprecht et al., 2002)

Nadměrné cestování vede k šíření známých infekčních onemocnění a vzniku nových nemocí. Mezi těmito infekcemi vykazují neuroinfekční onemocnění významnou morbiditu a mortalitu. Aby se snížil účinek onemocnění spojených s cestovním ruchem, jsou pro dosažení optimálních výsledků nezbytná vhodná preventivní opatření a nejnovější diagnostické a léčebné strategie. (Thompson a Thakur, 2017)

U krátkodobých cest jsou nákazou nejvíce ohroženi běžci, dobrodružní cestovatelé, cyklisté, pěší turisté, průzkumníci jeskyní a malé děti. (Kozarsky et al., 2016)

U těhotných žen se postupuje v léčbě vzhledem k možným důsledkům nemoci stejným způsobem bez omezení. Studie ukázaly, že se po vakcinaci proti vzteklině neobjevuje zvýšený výskyt potratů, předčasných porodů nebo abnormalit plodů. Diagnóza vztekliny u matky by proto neměla být důvodem pro přerušování těhotenství. (CDC, 2008)

9. VYUŽITÍ VIRU VZTEKLINY

9.1. Léčba nádorů mozku

Studie se zabývá možností léčby tumorů mozku pomocí nanočástic. Jedná se o zlaté nanočástice, které jsou pokryty oxidem křemičitým. Svou velikostí, tvarem, vlastnostmi povrchu glykoproteinu, ale i chováním in vivo napodobují virus vztekliny. Tyto nanočástice se nejen podobají vzhledu skutečného viru vztekliny, ale také putují do mozku přes neuronální bariéru. (Lee et al., 2017)

Tato krevní mozková bariéra (BBB) je jedním z nejdůležitějších obranných mechanismů centrálního nervového systému (CNS). Tato membránová bariéra je tvořena mozkovým mikrovaskulárním systémem, která odděluje krevní oběh od extracelulární tekutiny mozku v CNS většiny obratlovců včetně obojživelníků, plazů, ptáků a savců. (Leblanc et al., 2018)

Chrání mozek před cizími látkami v krvi, které ho mohou poškozovat. Z anatomického hlediska se BBB skládá z pěti základních částí: pericytů, astrocytů, neuronů, bazální membrány a spojovacích komplexů. Mezi nimi jsou nejzákladnější kompoziční elementy, koncovka astrocytů, bazální membrána a těsné spojení mezi endotelovými buňkami. (Song et al., 2018)

Glykoproteinový virus vztekliny (RVG) umožňuje virionům viru vztekliny cestovat prostřednictvím neuronových cest přes CNS kolem krevní mozkové bariéry, což vede ke smrtelnému onemocnění encefalomyelitidou. Obecně platí, že léky >500 Da s nízkou rozpustností lipidů nemohou prostoupit přes BBB kvůli unikátní struktuře endoteliálních buněk mozkových kapilár, kde jsou velmi těsná spojení. Tím pádem se cca 98 % malých molekul a částice koloidní velikosti nedostanou do mozku a nemůže se tak provést účinná léčba. (Mikitsh a Chacko, 2014)

Novým řešením léčby nádorů se stala strategie zahrnující nanočástice související s RVG ligandem RABV. Tyto nanočástice jsou příliš malé, a proto mohou proniknout i do míst endoteliálních buněk, kam se větší částice nedostanou. (Little a Davies, 2017)

RVG interaguje speciálně s nikotinovým acetylcholinovým receptorem (AChR) exprimovaným na neuronových buňkách, což umožňuje vstupu RABV do centrální nervové soustavy. Zvláště krátký peptid RVG29 pocházející z RVG se váže na nikotinové AChR exprimující neuronální buňky jako jsou neurony a jen málo reaguje s nonneurony. Inhibují vazbu α -bungarotoxinu (BTX) zvenčí, který je jedním z nejúčinnějších ligandů nikotinové AChR, viz obrázek 15. (Lee et al., 2017)

V bazální membráně se vyskytují proteiny extracelulární matrice a dočasné narušení těchto proteinů může pomoci zlepšit propustnost BBB. Dříve to byla nejvhodnější metoda k transportu léků do CNS. Vzhledem k přítomnosti těsných křížovatek mezi endotelovými buňkami je průchod léků skrze BBB primárně omezen. Dočasné narušení těsných spojení, které vyvolávají otevření BBB s osmotickým tlakem a ultrazvukem, jsou ale riskantní, jelikož mohou poškodit integritu BBB a způsobit nekontrolovatelný přísun nežádoucích toxinů nebo molekul do CNS v průběhu otevřených těsných křížovatek. (Panwar et al., 2017)

V posledních letech bylo vyzkoušeno mnoho metod, aby byla membrána cizím molekulám lépe propustná. Jako nejúčinnější a neinvazivní systém léčby mozkových onemocnění se v současné době jeví dodání léků zprostředkovaných nanočásticemi (NPs). (Panwar et al., 2017)

BBB selektivně dovoluje jednotlivým malým molekulám jako je voda, některé plyny a některé sloučeniny rozpustné v lipidech snadno procházet kapilární endotelovou membránou, zatímco omezí průchod patogenů nebo toxinů. Děje se tak pasivní transcelulární difúzí. Tento ochranný mechanismus je však hlavní překážkou v průběhu nemoci, neboť dramaticky brání průchodu léků. (Khlebtsov a Dykman, 2016)

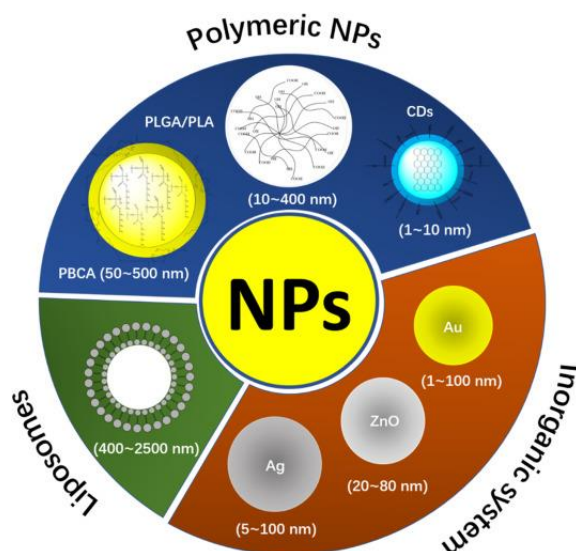
Přenos velkých molekul s vysokým elektrickým nábojem, polaritou a hydrofilností, tj. glukóza, aminokyseliny a většina léků se musí vázat na specifické proteiny prostřednictvím transportních cest. Proto je dodávání léků do mozku tak obtížné. (Mikitsh a Chacko, 2014)

Tradiční nanočástice (nositelé) sestávají z poly-butylykanoakrylátu, polymléčné glykolové kyseliny, liposomů a anorganických systémů. Mezitím se zavádí i noví nanonosiči jako jsou kvantové tečky uhlíku, které jsou výhodné pro svou malou velikost (1–10 nm) a také pro univerzální povrchové využití. (Gharatape a Salehi, 2017)

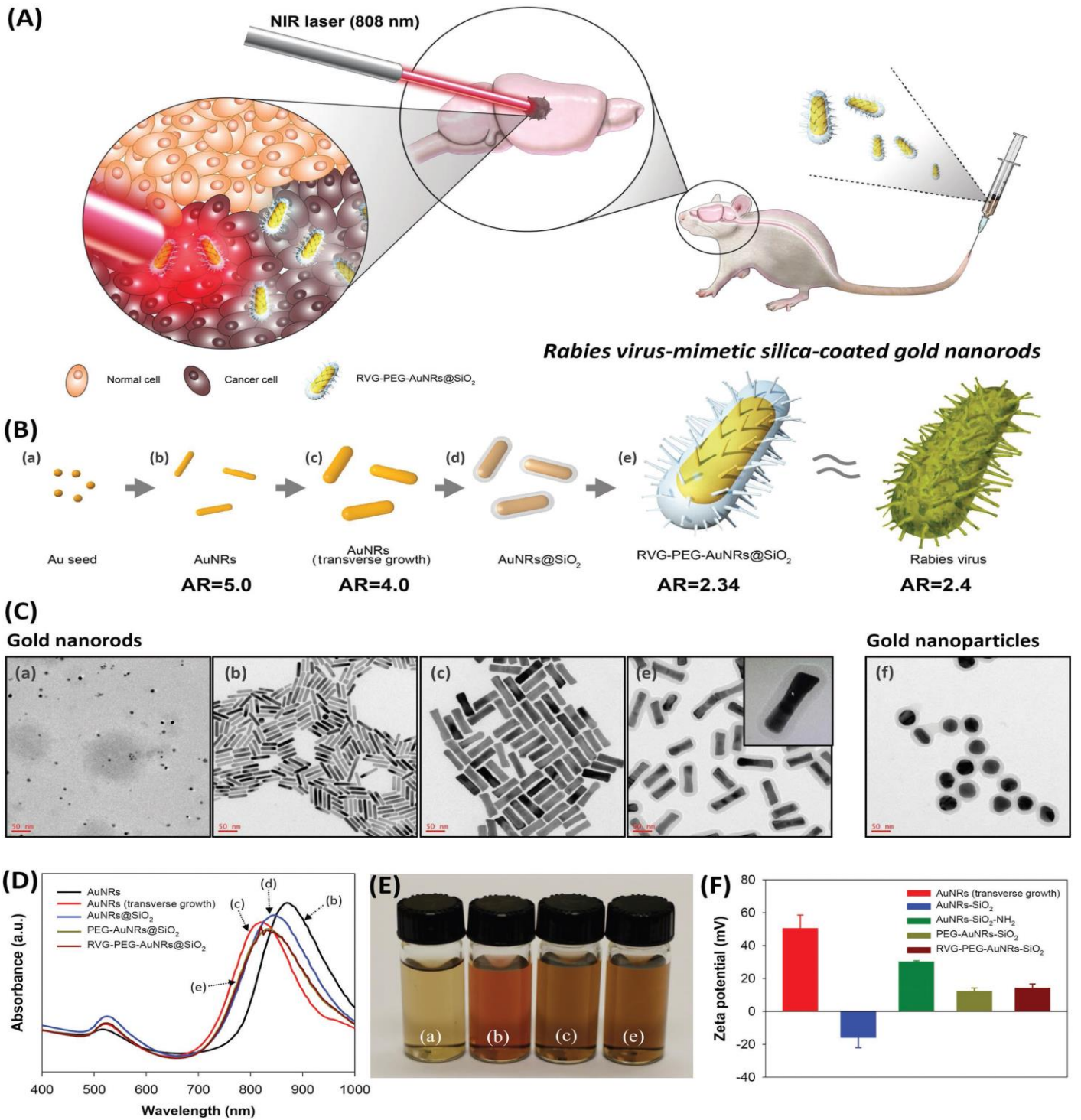
Cesta přenosu léků přes BBB může být buď aktivní nebo pasivní. Mezi aktivní cestu přenosu patří endocytóza, kdy buňky absorbují materiál z vnějšího prostředí za pomoci příslušných receptorů na nosič, vyžadovaná je hydrolýza adenosintrifosfátu (ATP). Oproti tomu jednodušší (pasivní) způsob je energeticky nezávislý proces. Patří sem jednoduchá difúze a využívá se zvýšené permeability a retenčního účinku (EPR). (Lee et al., 2017)

Tabulka 6 Typy nanočástic využívaných k léčbě (Zhou et al., 2018)

Polymerní NPs	Anorganické systémy	Liposomy
PBCA nanočástice	Nanočástice zlata AuNPs	
PLGA/PLA nanočástice	Nanočástice stříbra AgNPs	
Uhlíkové kvantové tečky	Nanočástice oxidu zinečnatého ZnO NPs	



Obrázek 17 Typy nanočástic a jejich vývoj v uplynulém desetiletí pomáhající průchodu léků přes krevní mozkovou bariéru (Zhou et al., 2018)



Obrázek 18

- A) Schéma znázorňující dodání mozku mimetického viru vztekliny RVG - PEG - AuNRs@SiO₂ přes neuronovou dráhu a fototermální terapii pomocí NIR laseru.
- B) Schéma strategie syntézy pro výrobu mimetického viru vztekliny pokrytého oxido-křemičitými zlatými nanočásticemi (RVG - PEG - AuNRs@SiO₂): a) částice zlata, b) AuNRs (podélný růst), c) AuNRs (po příčném růstu), d) AuNRs pokryté oxidem křemičitým e) RVG29 peptid - PEG5k - konjugované AuNRs@SiO₂ (dále označované jako RVG - PEG - AuNRs@SiO₂; odpovídá 73000 nm³); AR = poměr stran (délka/šířka).
- C) Fotografie z TEM (transmisní elektronový mikroskop) znázorňující morfologii AuNRs v každém kroku (a, b, c a e) a nanočástice zlata (RVG - PEG - AuNPs@SiO₂; odpovídá 68000 nm³)
- D) UV - Vis - NIR spektra pro RVG - PEG - AuNRs@SiO₂ v každém kroku syntézy (0,25 x 10 - 3 m, DW).
- E) Fotografie znázorňující reprezentativní barvy pro RVG - PEG - AuNRs@SiO₂ v každém kroku syntézy (0,25 x 10 - 3 m, DW).
- F) Povrchové zeta potenciály RVG - PEG - AuNRs@SiO₂ v každém kroku syntézy (0,25 x 10 - 3 m, DW).

(Lee et al., 2017)

10. ZÁVĚR

Česká republika je země vztekliny prostá, ale riziko nákazy stále trvá. Proto bychom měli být opatrní, a to hlavně při cestování do rizikových oblastí. Plánujeme-li cestu do míst se zvýšeným rizikem výskytu vztekliny, neměli bychom podcenit prevenci, jako je očkování, a být důslední i v dalších preventivních opatřeních jako je hygiena atd. Je potřeba mít toto onemocnění stále pod kontrolou, riziko přenosu hrozí i při ilegálním převozu zvířat, která nemusí mít veškerá platná očkování a mohou být samotnými přenašeči nemoci.

Viry vztekliny ovšem nejsou jen na škodu, jelikož nové studie ukázaly, že se staly inspirací pro vyvinutí speciálních nanočástic s pozitivním účinkem v medicíně. Tyto nanočástice jsou viru vztekliny podobné tvarem, velikostí i chováním, a jsou tak moderním a zároveň zatím jediným účinným řešením při léčbě tumoru mozku.

11. POUŽITÁ LITERATURA

1. BAER, George M. *The natural history of rabies*. 2 nd ed. Boca Raton: CRC Press, 1991. ISBN 0-8493-6760-3.
2. KOPROWSKI, H. Rabies in the Face of the 21st Century. *Zoonoses and Public Health*, 2009, **56** (6-7), 258-261.
3. PEUTHERER, John Forrest, Richard C. B. SLACK a David GREENWOOD. *Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. Vyd. 1., čes. Praha: Grada, 1999. ISBN 80-7169-365-0.
4. WALKER, T. Stuart. *Microbiology*. Philadelphia: W.B. Saunders Co., c1998. ISBN 0-7216-4641-7.
5. CELER, Vladimír. *Obecná virologie*. Hradec Králové: Nucleus HK, 2010. ISBN 978-80-87009-70-3.
6. WU, Guanghui, David SELDEN, Anthony R. FOOKS a Ashley BANYARD. Inactivation of rabies virus. *Journal of Virological Methods*, 2017, **243**, 109-112.
7. ADIANI, Sri a Evacuree TANGKERE. Rabies Case Study On Dog's Head (Canis Familiaris) In Manado, Airmadidi & Langowan Wet Markets. *JOURNAL OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT IN THE TROPICS AND SUBTROPICS*. Germany, 2009, **90**, 166-170.
8. GÖPFERTO VÁ, J. a ŠEJDA J. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie: pro střední a vyšší odborné zdravotnické školy*. Praha: Triton, 1997. ISBN 80-85875-48-9.

9. XU, Gelin, Patrick WEBER, Qiaoling HU, Honggang XUE, Laurent AUDRY, Chengping LI, Jie WU a Herve BOURHY. A simple sandwich ELISA (WELYSSA) for the detection of lyssavirus nucleocapsid in rabies suspected specimens using mouse monoclonal antibodies. *Biologicals*, 2007, **35**(4), 297-302.

10. WACHARAPLUESADEE, Supaporn, Patta PHUMESIN, Pornpun SUPAVONWONG, Pakamatz KHAWPLOD, Nirun INTARUT a Thiravat HEMACHUDHA. Comparative detection of rabies RNA by NASBA, real-time PCR and conventional PCR. *Journal of Virological Methods*, 2011, **175**(2), 278-282.

11. Dacheux L, Larrous F, Lavenir R, Lepelletier A, Faouzi A, Troupin C, et al. Dual Combined Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Assay for the Diagnosis of Lyssavirus Infection. *PLoS Negl Trop Dis*, 2016, **10**(7), 112-115.

12. HAYMAN, David T.S., Ashley C. BANYARD, Philip R. WAKELEY, Graeme HARKESS, Denise MARSTON, James L.N. WOOD, Andrew A. CUNNINGHAM a Anthony R. FOOKS. A universal real-time assay for the detection of Lyssaviruses. *Journal of Virological Methods*, 2011, **177**(1), 87-93.

13. WARRELL, Mary. Rabies and African bat lyssavirus encephalitis and its prevention. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2010, **36**, 47-52.

14. LEE, Changkyu, Ha Shin HWANG, Sungin LEE, et al. Rabies Virus-Inspired Silica-Coated Gold Nanorods as a Photothermal Therapeutic Platform for Treating Brain Tumors. *Advanced Materials*, 2017, **29**(13), 1-8.

15. BESOLUK, K., E. EKEN a E. SUR. Morphological studies on lyssa in cats and dogs. *Veterinarni Medicina*. Konya, Turkey: Department of Anatomy, Department of Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Selcuk, Campus, 2006, **10**(51), 485-489.

16. BOTH, Leonard, Ashley C BANYARD, Craig VAN DOLLEWEERD, Daniel L HORTON, Julian K-C MA a Anthony R FOOKS. Passive immunity in the prevention of rabies. *The Lancet Infectious Diseases*, 2012, **12**(5), 397-407.

17. BRIGGS, Deborah J. The role of vaccination in rabies prevention. *Current Opinion in Virology*, 2012, **2**(3), 309-314.
18. CROWFORT, Natasha S a Nisha THAMPI. The prevention and management of rabies. *The BMJ*. Children's Hospital of Eastern Ontario, Canada: Public health Ontario, Infection Prevention & Control, Division of Infectious Diseases, Canada, 2015, **14**(35), 1-9.
19. MATOUCH, O., J. VITÁSEK, Z. SEMERÁD a M. MALENA. Rabies-free status of the Czech Republic after 15 years of oral vaccination. *MEDLINE*. State Veterinary Institute, National Reference Laboratory for Rabies, Czech Republic, Revue scientifique et technique (International office of Epizootics), 2007, **26**(3), 577-584.
20. DODET, Betty. *First International Conference on Rabies in Europe: Kiev, Ukraine, 15-18 June, 2005*. New York: Karger, 2006. ISBN 3-8055-8115-7.
21. VRZAL, V. a O. MATOUCH. Tests of annual immunity in foxes after oral immunization against rabies. *VETERINARNI MEDICINA*, 1996, **41**(4), 107-111.
22. RUPPRECHT, Charles E, Cathleen A HANLON a Thiravat HEMACHUDHA. Rabies re-examined. *THE LANCET: Infectious Diseases*, 2002, **2**(2), 327-343.
23. PLOTKIN, Stanley A. Rabies. *Oxford Journals: Clinical Infectious Diseases*. Oxford: Oxford University Press, 2000, **30**(1), 4-12.
24. LUPULOVIC, D., J. MAKSIMOVIC ZORIC, N. VASKOVIC, et al. First Report on the Efficiency of Oral Vaccination of Foxes against Rabies in Serbia. *Zoonoses and Public Health*, 2015, **62**(8), 625-636.
25. ORŁOWSKA, Anna a Jan Franciszek ŻMUDZIŃSKI. Molecular epidemiology of rabies virus in Poland. *Archives of Virology*, 2014, **159**(8), 2043-2050.

26. FREULING, C. M., K. HAMPSON, T. SELHORST, R. SCHRODER, F. X. MESLIN, T. C. METTENLEITER a T. MULLER. The elimination of fox rabies from Europe: determinants of success and lessons for the future. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2013, **368**(23), 2012-2032.

27. Update on oral vaccination of foxes and raccoon dogs against rabies. *EFSA Journal*, 2015, **13**(7), 4164.

28. CLIQUET, Florence, Emmanuelle ROBARDET a Evelyne PICARD MEYER. Genetic strain modification of a live rabies virus vaccine widely used in Europe for wildlife oral vaccination. *Antiviral Research*, 2013, **100**(1), 84-89.

29. FOOKS, Anthony R, Ashley C BANYARD, Daniel L HORTON, Nicholas JOHNSON, Lorraine M MCELHINNEY a Alan C JACKSON. Current status of rabies and prospects for elimination. *The Lancet*, 2014, **384**(11), 1389-1399.

30. KIRANDJISKI, T., S. MRENOSKI, I. CELMS, et al. First reported cases of rabies in the Republic of Macedonia. *Veterinary Record*, 2012, **170**(12), 312-313.

31. KING, A. A. a EDS. *Historical perspective of rabies in Europe and the mediterranean basin: a testament to rabies by Dr. Arthur A. King*. Paris: OIE, 2004, ISBN 9290446390.

32. FOOKS R. ANTHONY, MÜLLER Thomas. *Rabies control: towards sustainable prevention at the source: compendium of the OIE Global Conference on Rabies Control, Incheon-Seoul (Republic of Korea)*. Paris: World Organisation for Animal Health, 2012. ISBN 9789290448969.

33. SPARROW, Erin, Martin FRIEDE, Mohamud SHEIKH a Siranda TORVALDSEN. Therapeutic antibodies for infectious diseases. *Bulletin of the World Health Organization*, 2017, **95**(3), 235-237.

34. HIATT, Andrew, Larry ZEITLIN a Kevin J. WHALEY. Plant-Derived Monoclonal Antibodies for Prevention and Treatment of Infectious Disease. *Microbiology Spectrum*, 2014, **2**(1).
35. OLEKSIEWICZ, Martin B., Gábor NAGY a Eszter NAGY. Anti-bacterial monoclonal antibodies: Back to the future? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2012, **526**(2), 124-131.
36. BERRY, Jody D. a Ryan G. GAUDET. Antibodies in infectious diseases: polyclonals, monoclonals and niche biotechnology. *New Biotechnology*, 2011, **28**(5), 489-501.
37. LEE, Jangwook, Eun Ju JEONG, Yeon Kyung LEE, Kwangmeyung KIM, Ick Chan KWON a Kuen Yong LEE. Optical Imaging and Gene Therapy with Neuroblastoma-Targeting Polymeric Nanoparticles for Potential Theranostic Applications. *Small*, 2016, **12**(9), 1201-1211. ISSN 16136810.
38. TAO, Youhua, Jianfeng HAN a Huanyu DOU. Brain-targeting gene delivery using a rabies virus glycoprotein peptide modulated hollow liposome: bio-behavioral study. *Journal of Materials Chemistry*, 2012, **22**(3), 108-118. ISSN 0959-9428.
39. GIEL-MOLONEY, Maryann, Alexander A. RUMYANTSEV, Fred DAVID, et al. A novel approach to a rabies vaccine based on a recombinant single-cycle flavivirus vector. *Vaccine*, 2017, **35**(49), 6898-6904. ISSN 0264410x.
40. ZHOU, Jie, Zhonglin CAO, Nishtha PANWAR, et al. Functionalized gold nanorods for nanomedicine: Past, present and future. *Coordination Chemistry Reviews*, 2017, **35**, 15-66. ISSN 00108545.
41. DYKMAN, Lev A. a Nikolai G. KHLEBTSOV. Multifunctional gold-based nanocomposites for theranostics. *Biomaterials*, 2016, **18**, 13-34. ISSN 01429612.

42. GHARATAPE, Alireza a Roya SALEHI. Recent progress in theranostic applications of hybrid gold nanoparticles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, **138**, 221-233. ISSN 02235234.
43. THOMPSON, Haley a Kiran THAKUR. Infections of the Central Nervous System in Returning Travelers and Immigrants. *Current Infectious Disease Reports*, 2017, **19**(11). ISSN 1523-3847.
44. LONGO, Dan L., David O. FREEDMAN, Lin H. CHEN a Phyllis E. KOZARSKY. Medical Considerations before International Travel. *New England Journal of Medicine*, 2016, **375**(3), 247-260. ISSN 0028-4793.
45. ZHOU, Yiqun, Zhili PENG, Elif S. SEVEN a Roger M. LEBLANC. Crossing the blood-brain barrier with nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 2018, **270**, 290-303. ISSN 01683659.
46. MIKITSH, John L. a Ann-Marie CHACKO. Pathways for Small Molecule Delivery to the Central Nervous System across the Blood-Brain Barrier. *Perspectives in Medicinal Chemistry*, 2014, **6**. ISSN 1177-391.
47. LITTLE, Wheaton T. a Ceri H. DAVIES. Emerging strategies to treat the brain, behind its barrier. *Neuropharmacology*, 2017, **120**, 1-3. ISSN 00283908.

INTERNETOVÉ ODKAZY

- [1] https://www.svsr.cz/v_cr_po_deseti_letech_vzteklina/
- [2] WHO, 2017. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/en/>
- [3] <http://www.vakcinace.eu/data/files/vakciny/verorab-spc.pdf>
- [4] <https://www.vakciny.net/object?id=348>

- [5] <http://www.uskvbl.cz/attachments/spc/0910f7c78012024c.pdf>
- [6] <http://us.merial.com/pdf/labels/purevaxfelinerrabies.pdf>
- [7] WHO, 2017. www.who.int/rabies/human/adminimmuno/en/
- [8] <http://www.webmd.com/brain/tc/rabies-hrig-injection-topic-overview>
- [9] <http://www.encyclopedia.com/medicine/diseases-and-conditions/pathology/rabies>
- [10] <https://www.britannica.com/science/rabies#ref754752>
- [11] http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00044.htm
- [12] <https://rabiesalliance.org/rabies/what-is-rabies-and-frequently-asked-questions/what-is-rabies/>
- [13] <http://caninerabiesblueprint.org/5-1-3-4-Can-rabies-be-transmitted?lang=en>
- [15] Medicinenet.com. *Medical Definition of Wet market*, 2017. <http://www.medicinenet.com/script/main/art.asp?articlekey=26193>
- [16] www.efsa.europa.eu/efsajournal
- [17] <http://www.svs-cr.cz/wp-content/files/pohoda-zvirat/tabulkapozitivni.pdf>
- [18] http://www.svs-cr.cz/pred_vzteklinou_na_pozoru/