

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

SARS Covid19 a zvířata
Bakalářská práce

2021

Adéla Kopecká

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

SARS Covid19 And Animals
Bachelor thesis

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Adéla Kopecká**
Osobní číslo: **C17178**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **SARS Covid19 a zvířata**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Popište virus SARS Covid 19 – původce současné pandemie.
2. Zaměřte se na možný zdroj a rezervoár infekce ve vztahu ke zvířecím vektorům.
3. Popište zdokumentovaná onemocnění tímto virem u zvířat.
4. Seznamte se se zvířecími modely testování nově vyvíjených vakcín a s možností zapojení zvířat pro detekci covidu.
5. Práci vypracujte v souladu se směrnicí UPa 7/2019.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem SARS Covid19 a zvířata 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., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 7. 7. 2021

Adéla Kopecká

PODĚKOVÁNÍ

Velmi ráda bych chtěla poděkovat za odborné vedení a cenné připomínky vedoucí mé bakalářské práce, paní doc. Ing. Marcele Pejchalové, Ph.D. Vážím si vstřícnosti a času, který práci věnovala. Zároveň děkuji mé rodině za velkou podporu a umožnění studia.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá onemocněním COVID-19, virovou infekcí způsobenou koronavirem SARS-CoV-2. V úvodní části je charakterizována samotná infekce a historie původu koronavirů. V dalším textu jsou souhrnné informace o koronaviru SARS-CoV-2, o jeho morfologii, životním cyklu, původu a možnostech přenosu. Další část práce informuje o infekci COVID-19 u zvířat. Zahrnuje náchylnost zvířat, výskyt viru po přirozené a experimentální expozici a popisuje průběh onemocnění zvířat. V závěru se práce věnuje zvířecím modelům pro vývoj vakcín a léků a screeningové diagnostice pomocí psů.

KLÍČOVÁ SLOVA

COVID-19, virus SARS-CoV-2, náchylnost zvířat, zvířecí modely, vakcíny

TITLE

SARS Covid19 And Animals

ANNOTATION

The bachelor thesis deals with COVID-19, a viral infection caused by the coronavirus SARS-CoV-2. The infection itself and the history of coronavirus origins is characterized in the introductory part of the thesis. The coronavirus SARS-CoV-2, its morphology, life cycle, origin and possibility of transmission are summarized in the following parts. The next part of the thesis is informed about COVID-19 infection in animals. Part of the text includes the susceptibility of animals, the occurrence of the virus after natural and experimental exposure, and describes the course of animal disease. The animal models for the development of vaccines and drugs and screening diagnostics using dogs are described in the final part.

KEYWORDS

COVID-19, virus SARS-CoV-2, animal susceptibility, animal models, vaccines

OBSAH

ÚVOD.....	15
1 ONEMOCNĚNÍ COVID-19.....	16
1.1. Rozdělení a historie koronavirů.....	17
1.1.1. SARS-CoV.....	18
1.1.2. MERS-CoV.....	20
2. VIRUS SARS-CoV-2.....	22
2.1. Morfologie SARS-CoV-2 viru.....	22
2.1.1. Virová RNA.....	23
2.1.2. Strukturní proteiny.....	24
2.2. Životní cyklus viru SARS-CoV-2.....	25
2.3. Zdroj a původ infekce COVID-19.....	28
2.3.1. Netopýři.....	28
2.3.2. Luskouni.....	29
2.4. Mechanismus přenosu COVID-19.....	32
2.4.1. Člověk–člověk.....	32
2.4.2. Člověk–zvíře.....	32
2.4.3. Zvíře–zvíře.....	32
3 COVID-19 U ZVÍŘAT.....	33
3.1. Náchylnost zvířat na SARS-CoV-2.....	33
3.2. Onemocnění COVID-19 u zvířat po přirozené expozici.....	37
3.2.1. Psi a kočky domácí.....	37
3.2.2. Kočkovité šelmy.....	38
3.2.3. Norci.....	39
3.2.4. Gorily.....	40
3.2.5. Fretky.....	40
3.3. Onemocnění COVID-19 u zvířat po experimentální expozici.....	40
3.3.1. Psi a kočky domácí.....	40
3.3.2. Fretky.....	41
3.3.3. Zlatí syřští křečci.....	42
3.4. Průběh onemocnění COVID-19 u zvířat.....	42
3.4.1. Psi a kočky domácí.....	42

3.4.2. Kočkovité šelmy	43
3.4.3. Norci	43
3.4.4. Gorily	44
3.4.5. Fretky	45
3.4.6. Zlatí syrští křečci	45
4 ZVÍŘATA V BOJI PROTI INFEKCI COVID-19	46
4.1. Zvířecí modely	46
4.1.1. <i>Makak Rhesus</i>	49
4.1.2. <i>Makak Cynomolgus</i>	51
4.1.3. Myši	52
4.1.4. Fretky	52
4.1.5. Potkani	52
4.1.6. Transgenní myši.....	53
4.1.7. Zlatí syrští křečci	53
4.2. Screeningová diagnostika viru SARS-CoV-2.....	53
ZÁVĚR	56
POUŽITÁ LITERATURA	58

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1 – Taxonomie řádu Nidovirales	17
Obrázek 2 – Zvířecí původ lidských koronavirů	20
Obrázek 3 – Ilustrace struktury Covid- 19	23
Obrázek 4 – Genomická organizace SARS-CoV-2.....	24
Obrázek 5 – Předpokládaný životní cyklus SARS-CoV-2.....	26
Obrázek 6 – Koronavirus byl nalezen u podkovovitých v Číně.....	29
Obrázek 7 – Manis javanica	30
Obrázek 8 – Možný původ SARS-CoV-2 a možnost zoonotického a rezervního zoonotického přenosu.....	31
Obrázek 9 – Genomická studie rizik Covid-19	33
Obrázek 10 – Relativní citlivost na SARS-CoV-2	35
Obrázek 11 – Původ a přenos SARS-CoV-2 spolu s potenciální rolí domácích a jiných zvířat při přenosu nemoci.....	36
Obrázek 12 – Experimentální nastavení přenosu	42
Obrázek 13 – Plíce z pitvaného norka, propuknutí SARS-CoV-2 na dvou farmách s norkem, Nizozemsko	44
Obrázek 14 – Model pro infekci SARS-CoV-2 prokazuje ochranu neutralizačními protilátkami.....	47
Obrázek 15 – Tradiční a zrychlený vývoj vakcín.....	48
Obrázek 16 – Vývoj BBIBP-CorV.....	51
Obrázek 17 – Biologicky detekční psi pro diagnostiku COVID-19 na letištích.....	55

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ACE2	Angiotensin-converting enzyme 2 (angiotensin konvertující enzym 2)
Ad26, Ad5	Adenovir26, Adenovir5
Ad26.COV2.S	Vakcína od společnosti Johnson & Johnson
AMK	Aminokyselina
BALB/c	Albino laboratory-bred strain of the mouse (laboratorně vyšlechtěný laboratorní kmen albínské myši)
BAL	Bronchoalveolar lavage (bronchoalveolární laváž)
Bat-SL-CoVZC4	Netopýří koronavirus u <i>Rhinolophus pusillus</i>
Bat-SL-CoVZXC21	Netopýří koronavirus u <i>Rhinolophus pusillus</i>
BBIBP-CorV	Vakcína od společnosti Sinophram
BNT162	Vakcína od společnosti Pfizer/BionTech
BPL	Beta-Propiolactone (beta-Propiolakton)
CD1 myš	Myší transgenní model
CD4+ T buňka	Pomocný T lymfocyt s povrchovým proteinem CD4
CD8+ T buňka	Cytotoxický T lymfocyt s povrchovým proteinem CD8
3Clpro	3C-like protease (proteáza podobná chymotrypsinu)
cm	Centimetr
COVID-19	Coronavirus disease 2019 (Koronavirové onemocnění 19)
DPP-4	Dipeptidyl peptidase 4 (dipeptidylpeptidáza-4)
ELISA	Enzyme-linked immuno sorbent assay (enzymově značená imunoanalýza s využitím pevné fáze)
EMA	European Medicines Agency (Evropská agentura pro léčivé přípravky)
E protein	Envelope protein (obalový protein)

ERGIC	Endoplasmic-reticulum–Golgi intermediate compartment (endoplazmatické retikulum Golgiho meziprostoru)
FDA	Food and Drug Administration (Úřad pro kontrolu potravin a léčiv)
μg	Mikrogram
hACE2	Human Angiotensin-converting enzyme 2 (lidský angiotensin konvertující enzym 2)
HCoV-229E	Human coronavirus-229E (lidský koronavir-229E)
HCoV-OC43	Human coronavirus-OC43 (lidský koronavir-OC43)
HCoV-HKU1	Human coronavirus-HKU1 (lidský koronavir-HKU1)
HCoV-NL63	Human coronavirus-NL63 (lidský koronavir-NL63)
HE	Hemagglutinin esterase (hemagglutinin-esteráza)
ChAdOx1 nCoV-19	Vakcína od společnosti AstraZeneca
IgG	Imunoglobulin G
IgM	Imunoglobulin M
kb	Kilobáze
kDa	Kilodalton
m	Metr
MERS-CoV	Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (Blízkovýchodní respirační syndrom koronavirus)
MERS	Middle East respiratory syndrome (Blízkovýchodní respirační syndrom)
Mpro	Main protease (hlavní proteáza)
M protein	Membrane protein (membránový protein)
mRNA	Messenger ribonucleic acid (messengerová ribonukleová kyselina)
NAb	Neutralizing antibody (neutralizační protilátka)
např.	Například

nm	Nanometr
N protein	Nucleocapsid protein (Nukleokapsidový protein)
NSP/ NSPS	Nonstructural protein/proteins (nestrukturální protein/proteiny)
NTPase	Nucleoside-triphosphatase (Nukleosid trifosfatáza)
NVX-CoV2373	Vakcína od společnosti Novavax
ORF a/b	Open reading frame a/b (otevřený čtecí rámec a/b)
Pangolin-CoV	Pangolin-Coronavirus (koronavir u malajských luskounů)
PCR	Polymerase chain reaction (polymerázová řetězová reakce)
PLpro	Papain-like protease (protéza podobná papainu)
pp1a, pp1ab	Polyprotein 1a, polyprotein 1ab
RaTG-13	Netopýří koronavir u <i>Rhinolophus affinis</i>
RBD	Receptor-binding domain (doména vázající receptor)
RdRp	RNA-dependent RNA polymerase (RNA-dependentní RNA polymeráza)
RNA	Ribonucleic acid (Ribonukleová kyselina)
RTC	Replicase-transcriptase complex (replikačně-transkripční komplex)
RT-PCR	Reverse transcription polymerase chain reaction (polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí)
RT-qPCR	Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (kvantitativní polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí)
SADS-CoV	Swine acute diarrhea syndrome coronavirus (syndrom akutního průjmu prasat koronavir)
SADS	Swine acute diarrhea syndrome (syndrom akutního průjmu prasat)
SARS-CoV	Severe acute respiratory syndrome coronavirus (těžký akutní respirační syndrom koronavir)
SARS	Severe acute respiratory syndrome (těžký akutní respirační syndrom)

SARS-CoV-2	Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (těžký akutní respirační syndrom koronavirus 2)
S protein	Spike protein
+ssRNA	Positive-sense single-stranded ribonucleic acid (jednovláknová (ribonukleová kyselina s pozitivní polaritou)
Th1	Helper T cells (pomocné T-lymfocyty)
TMPRSS2	Transmembrane serine protease 2 (Transmembránová proteáza serin 2)
tzv.	Takzvaně
USA	United States of America (Spojené státy americké)
VOC	Volatile organic compound (těkavá organická látka)
WHO	World Health Organization (Světová zdravotnická organizace)

ÚVOD

Onemocnění COVID-19, celým názvem koronavirové onemocnění 19, je zoonotická virová infekce, jejímž původcem je koronavirus SARS-CoV-2 neboli těžký akutní respirační syndrom koronavirus 2. Nově vzniklá infekce COVID-19 se poprvé objevila ve městě Wu-chan v roce 2019. Za možného původce infekce se považuje netopýr *Rhinolophus affinis*, u kterého byl detekován podobný koronavirus RaTG-13. Z důvodu nedostačujících dat není znám přesný původ infekce. Výzkumy stále probíhají a odborníci sbírají přesnější informace pro objasnění.

Virus potřebuje pro svůj životní cyklus hostitelskou buňku. Po vazbě na hostitelský receptor se virus replikuje v cytoplazmě buňky a exocytózou jsou uvolňovány nové viriony a napadají další buňky v těle, čímž dochází k rozvoji infekce COVID-19.

Infekce COVID-19 se šíří především v lidské populaci, přesto bylo evidováno několik nakažených zvířat. Z důvodu hrozby většího šíření a mutací viru se začala více studovat náchylnost zvířat na SARS-CoV-2. Některá zvířata byla nakažena přirozeně, zejména psi, kočky, gorily, norci a kočkovité šelmy. Další byla nakažena po experimentální expozici. Klinický průběh onemocnění u zvířat je často asymptomatický. U některých je projevem infekce únava, kašel, rýma, nechutenství a intersticiální pneumonie. Vážnější klinické projevy byly popsány u norků. Norci vykazovali úbytek váhy a častou úmrtnost spojenou s těžkou pneumonií, sepsí nebo Aleutskou nemocí.

Citlivá zvířata na SARS-CoV-2 jsou důležitá pro vývoj vakcín. Při celosvětové snaze o jejich výrobu zvířata byla použita jako zvířecí model v preklinickém stádiu. Na zvířecích modelech se zkoumá především bezpečnost a reakce imunitního systému.

Tato bakalářská práce má za cíl podat souhrn informací o infekci COVID-19 u zvířat. Práce se zabývá koronavirem SARS-CoV-2, jeho strukturou, životním cyklem, původem a možností přenosu. Dále popisuje přirozený i umělý výskyt viru u zvířat a jejich klinické projevy. V závěru informuje o zvířecích modelech pro vývoj vakcín a využití psů pro screeningovou diagnostiku.

1 ONEMOCNĚNÍ COVID-19

Koronavirové onemocnění 19 neboli COVID-19 je vysoce přenosná virová infekce způsobená virem SARS-CoV-2, který dostal název jako těžký akutní respirační syndrom koronaviru 2 (Shereen *et al.*, 2020). Onemocnění COVID-19 bylo poprvé zaznamenáno a zdokumentováno v prosinci 2019 ve Wu-chanu v provincii Chu-pej v Číně, kde byl diagnostikován nový, pro lidskou populaci zcela neznámý virus SARS-CoV-2. Za ohnisko nákazy je doposud považován trh s mořskými plody, kde se obchodovalo i s divokými zvířaty (Lu *et al.*, 2020).

Onemocnění COVID-19 patří mezi zoonotické infekce, které mají původ u zvířat. Z fylogenetické analýzy byla zjištěna sekvenční podobnost viru SARS-CoV-2 s viry u netopýrů. Proto je za hlavní rezervoár viru SARS-CoV-2 považován netopýr (Hamid *et al.*, 2020).

Mezi nejčastější klinické projevy patří kašel, únava, horečka, bolest hlavy a kloubů, rýma, průjem, nechutenství. Klinické projevy se u každého jedince liší, ale především jsou rozdíly v mírném a těžkém průběhu (Sheikhi *et al.*, 2020). Někteří pacienti nemají žádné klinické příznaky a jsou tzv. asymptomatictí. Těžšímu průběhu podléhá přibližně 20 % infikovaných. Nemocní lidé nejčastěji trpí na pneumonii, následně na respirační selhání a v některých případech dochází k úmrtí (Sheikhi *et al.*, 2020). Celková úmrtnost Covidu 19 neboli počet zemřelých z určité populace za jednotku času činí okolo 2,2 % (Velavan *et al.*, 2020).

Díky rychlému celosvětovému šíření viru byla Světovou zdravotnickou organizací (WHO) 11. března 2020 vyhlášena globální pandemie (Cucinotta *et al.*, 2020). Po celém světě byla zavedena opatření proti šíření a přenosu COVID-19. Opatření zahrnovala zákaz mezinárodních a vnitrostátních letů, sociální distancování, rušení sportovních a kulturních akcí, zavírání restaurací a obchodů, zavedení povinné karantény a nošení ochranných pomůcek (Hamid *et al.*, 2020).

K 16. 6. 2021 bylo evidováno světovou zdravotnickou organizací 176 303 596 potvrzených případů, z toho 3 820 026 úmrtí od začátku vypuknutí pandemie (WHO, 2021).

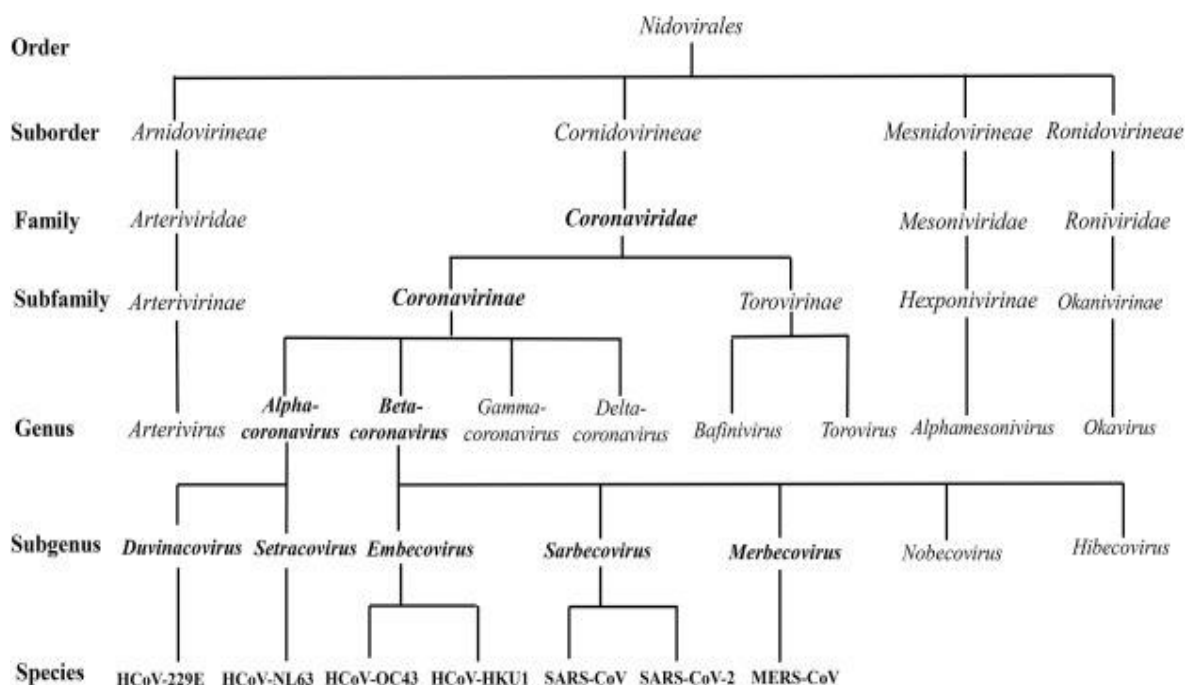
Během 6 měsíců se onemocnění dostalo do téměř všech zemí světa a k 30. březnu 2020 byly hlášeny případy z 203 zemí (Xu *et al.*, 2020; Machhi *et al.*, 2020). K rychlému celosvětovému šíření přispívají zejména asymptomatictí jedinci a dochází tak k velmi rozsáhlému a nevědomému šíření viru SARS-CoV-2 (Gandhi *et al.*, 2020).

V České republice bylo od vypuknutí pandemie do 10. 4. 2021 potvrzených 1 555 245 případů z toho 27 169 úmrtí (Komenda *et al.*, 2021).

1.1. Rozdělení a historie koronavirů

Koronaviry (CoVs) jsou nesegmentované, obalené jednovláknové RNA viry (Huang *et al.*, 2020). Koronaviry patří do rodiny *Coronaviridae*, které mají největší zastoupení v řádu *Nidovirales*. Ze 2 podrodin (*Orthocoronavirinae* a *Letovirinae*) je složena rodina *Coronaviridae*. *Orthocoronavirinae* je rozčleněna do 4 rodů, které se nazývají *Alphacoronavirus* (α -CoV), *Betacoronavirus* (β -CoV), *Gammacoronavirus* (γ -CoV) a *Deltacoronavirus* (δ -CoV) (Banerjee *et al.*, 2019).

Alphacoronavirus a *betacoronavirus* rody jsou schopné infikovat savce, ale *gammacoronavirus* a *deltacoronavirus* jsou navíc schopné infikovat ptáky. Do rodu *alfacoronavirus* patří HCoV-229E, HCoV-NL63 a rod *betacoronavirus* zastupují HCoV-OC43, HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV a SARS-CoV-2. SARS-CoV a SARS-CoV-2 (Trojánek *et al.*, 2020).



Obrázek 1 – Taxonomie řádu Nidovirales (upraveno dle Zhao *et al.*, 2020)

Existuje sedm lidských koronavirů, které jsou schopny nakazit člověka a zároveň způsobit respirační onemocnění s variabilním průběhem. Mezi těchto sedm HCoV patří HCoV-229 E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV a nejnovější SARS-CoV-2 (Zhao *et al.*, 2020).

V roce 1965 byl poprvé izolován koronavirus nazýván B814. Tento virus byl izolován anglickými vědci Davidem Arthurem Johnem Tyrrellem a Malcolmem Leslieem Bynoem z dýchacích cest pacienta trpícího dýchacími obtížemi. Virus B814 se ale nepodařilo vykultivovat na živných médiích (Jahangir *et al.*, 2020). Nový virus byl prokázán poté, co byl naočkován dobrovolníkům, u kterých byly potvrzené stejné klinické příznaky. Další koronavirus 229E, získaný od studentů medicíny, byl objeven dvojicí vědců Hamre a Procknow, který následně vykultivovali v tkáňové kultuře (Kahn *et al.*, 2020). Pomocí další studie byl zjištěn HCoV-OC43, který byl kultivován v orgánové kultuře. Vědec Tyrrel a další virologové zkoumali pod elektronovým mikroskopem různé lidské a zvířecí viry způsobující onemocnění jako např. bronchitida, hepatitida u myši a gastroenteritida u prasat. Zjistili, že viry mají velmi podobnou strukturu, a proto dostaly název Corona, protože výběžky připomínaly tvar koruny (Jahangir *et al.*, 2020).

Epidemiologické studie potvrzovaly, že všechny koronaviry způsobují respirační onemocnění s nízkou patogenitou. Postupně byly objevovány nové koronaviry u zvířat a jejich počet velmi rychle vzrůstal. Zvířecí koronaviry byly izolovány ze psů, koček, potkanů, prasat, krůt a myši. Vzhledem k tomu, že bylo objeveno tolik nových zvířecích koronavirů, bylo jen otázkou času, kdy se virus přenesl na jiný hostitelský druh a případně na lidskou populaci (Kahn *et al.*, 2020).

V dřívějších dobách byly koronaviry brány za relativně neškodné respirační patogeny pro člověka. Po objevení nových dvou koronavirů SARS-CoV a MERS-CoV v lidské populaci, začaly být brány jako větší hrozba, díky závažnější infekci dýchacích cest a schopnosti překročit mezidruhovou bariéru (Song *et al.*, 2019).

1.1.1. SARS-CoV

První větší kontakt koronaviru s lidskou populací byl hlášen v roce 2002 v jižní Číně v provincii Kuang-tung. Nemoc dostala název těžký akutní respirační syndrom (SARS) (Rota *et al.*, 2003). SARS se rozšířil do 32 zemí. Smrtnost se pohybovala okolo 11 % a nakažených bylo 8 422, z toho 919 úmrtí (Yang *et al.*, 2020). Světová zdravotnická organizace proto byla nucena vyhlásit globální výstrahu (Zhong *et al.*, 2003).

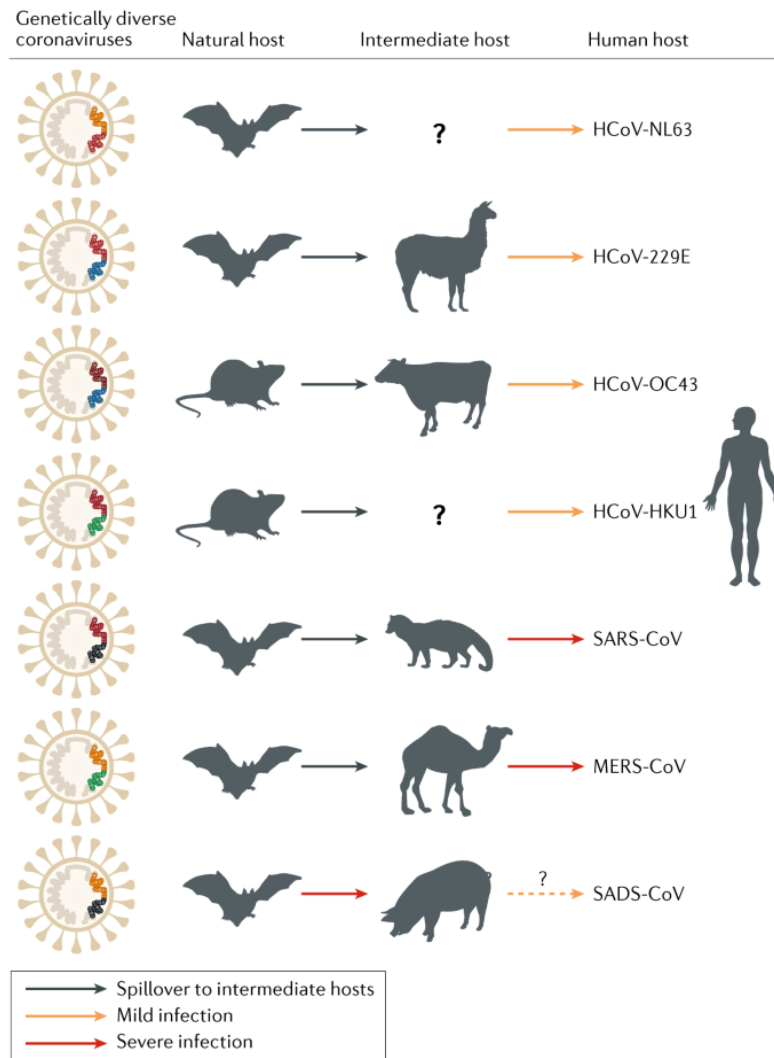
Výzkumem bylo zjištěno, že virus SARS-CoV pocházel z netopýrů z čeledi *Hipposideridae*. Mezihostitelé byly palmové cibetky, které v Číně patří mezi kulinářské pochoutky. Další mezihostitel mohl být mýval díky detekci protilátek proti SARS-CoV (Yang *et al.*, 2020).

Mezi klinické příznaky u lidí patřily vysoké horečky, lehké respirační příznaky, které ale velmi rychle přecházely v zápal plic (Zhong *et al.*, 2003).

U onemocnění SARS byly důležité zvířecí modely, které pomáhaly ke zjišťování klinických projevů a k výzkumu složení vakcín a léků. Mezi vhodné zvířecí modely patřily myši, které podporují replikaci SARS-CoV (Roberts *et al.*, 2008). Dalším modelem byli zlatí syrští křečci, kteří vykazovali histopatologické změny na plicích (Roberts *et al.*, 2005). Mezi zvířecí modely patřily i fretky a domácí kočky, u kterých byla potvrzena náchylnost na SARS-CoV stejně tak jako u subhumánních primátů-*makak rhesus*, *makak cynomolgus*, kosmanů a afrických zelených opic (Martina *et al.*, 2003; Subbarao *et al.*, 2006).

Díky rychlému zavedení účinných opatření se pandemii nakonec dokázalo dostat pod kontrolu. Došlo k omezení zdrojů zvířat, byla prováděna včasná detekce a diagnostika viru a zavedení bezpečnostních opatření sloužících k zabránění šíření viru (Yang *et al.*, 2003). V roce 2004 byly během ledna v Číně hlášeny 4 případy infikovaných jedinců virem SARS-CoV. Od té doby se již další případy neobjevily (Liang *et al.*, 2004).

Krátce po epidemii SARS vědci v roce 2004 a 2005 našli další dva nové koronaviry u netopýrů, které byly u lidské populace pojmenovány jako HCoV-HKU1 a HCoV-NL63. Z celkového množství respiračních onemocnění u lidí způsobují tyto viry v 15-30% mírné respirační onemocnění často označované jako nachlazení (Fouchier *et al.*, 2004; Woo *et al.*, 2005; Lim *et al.*, 2016). Nový HCoV-HKU1 a již dříve objevený HCoV-OC43 pravděpodobně vznikly u hlodavců, zatímco HCoV-NL63 a starší HCoV-229E pocházejí z netopýrů (Cui *et al.*, 2018).



Obrázek 2 – Zvířecí původ lidských koronavirů (upraveno dle Cui *et al.*, 2018)

1.1.2. MERS-CoV

Další objevený koronavirus, který následně infikoval lidskou populaci, byl hlášen v roce 2012 v Saudské Arábii. Onemocnění bylo pojmenováno MERS (Blízkovýchodní respirační syndrom) (Zumla *et al.*, 2015). Poprvé byl virus MERS-CoV izolován od pacienta se zápallem plic a selháním ledvin, který následně zemřel (Birmingham *et al.*, 2012). Nemoc se rozšířila do 27 zemí a do roku 2021 bylo hlášeno 2574 nemocných, z toho jich 885 zemřelo (World health organization, 2021). Smrtnost je vysoká, pohybuje se okolo 34,4 % (Al-Omari *et al.*, 2018).

Klinickými projevy u lidí jsou horečky, kašel, dušnost, pneumonie, časté selhávání ledvin a syndrom akutní respirační tísně (Zumla *et al.*, 2015). U MERS byl nozokomiální přenos výrazně menší než u SARS a COVID-19, a proto nedocházelo k rychlému šíření mezi populací (Yin *et al.*, 2017).

Po studiích vědci zjistili, že aby MERS-CoV mohl způsobit u lidí onemocnění MERS, musí se navázat na dipeptidyl peptidázu 4 (DPP4). Jedná se o receptor na lidských buňkách nacházejících se především v distálních dýchacích cestách, serózních buňkách submukózních žláz (Meyerholz *et al.* 2016).

Stejně jako u SARS i u MERS se s největší pravděpodobností jeví jako primární rezervoár viru MERS-CoV netopýr. Ze stolice netopýrů byl získán fragment RNA viru pomocí PCR a byla tak potvrzena shodná identita viru s MERS-CoV (Yin *et al.*, 2017).

Za možného mezihostitele se považuje velbloud jednohrbý neboli dromedár, u kterého byly prokázány protilátky proti MERS-CoV. Byl zdokumentován i přímý přenos MERS z velblouda na člověka (Reusken *et al.*, 2014). Zajímavostí je, že u velbloudů v Keni byly detekovány protilátky proti MERS-CoV už v roce 1992 a je tedy zřejmé, že mezi velbloudy virus koluje přibližně 29 let (Corman *et al.*, 2014).

Ukázalo se, že jako zvířecí model nejsou vhodné myši, které mají nízkou hladinu DPP4 v plicích (Coleman *et al.*, 2014). Zlatí syřští křečci mají vysokou hladinu receptoru DPP4 v plicích nebo v ledvinách, ale i přesto jsou vůči MERS-CoV imunní a nevykazují žádné klinické příznaky stejně jako fretky. Náchylnost na MERS-CoV byla pozorována u zvířecích modelů-*makak rhesus* a kosman (Sutton *et al.*, 2015).

Onemocnění MERS úplně nevymizelo a dodnes se objevují případy. V březnu 2021 bylo za měsíc evidováno 7 nových případů z toho 3 úmrtí v oblasti Saudské Arábie (World health organization, 2021).

2. VIRUS SARS-CoV-2

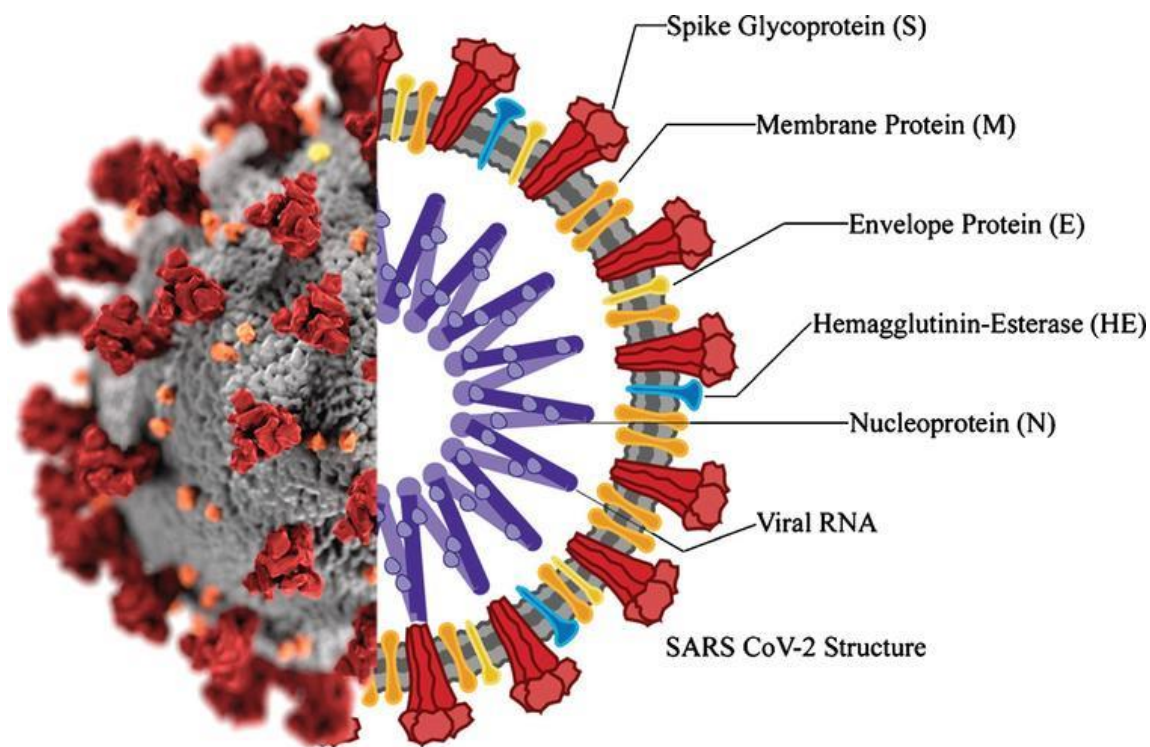
Virus SARS-CoV-2 nebol-li těžký akutní respirační syndrom koronavirus 2 způsobil celosvětovou pandemii onemocnění COVID-19 (Huang *et al.*, 2020).

Na základě genomických analýz je morfologicky SARS-CoV-2 nejvíce podobný netopýřím koronaviřům. Především největší sekvenční podobnost 96,2 % má s virem RaTG-13, který byl poprvé izolován v roce 2013 v čínské provincii Yuan. V roce 2018 ve východní Číně byly izolovány netopýří koronaviř bat-SL-CoVZC45 a bat-SL-CoVZXC21 s 88% homologií (Trojánek *et al.*, 2020). SARS-CoV 2 je podobný viru SARS-CoV z 88–89% na úrovni nukleotidů a podobnost k viru MERS-CoV činí okolo 50% (Lai *et al.*, 2020).

Vzhledem k šíření viru SARS-CoV-2 dochází v jeho virové RNA k různým mutacím. Mutace u viru SARS-CoV-2 je běžná, protože při replikaci může přirozeně dojít k malým změnám ve virové RNA. Existují vážnější nebo lehké mutace v závislosti na místě (WHO, 2021). Britská mutace viru má vyšší afinitu vazby mezi S proteinem a ACE2 z důvodu 14 změnám v aminokyselinách. Další mutací je jihoafrická, která je pro imunitní systém hůře rozpoznatelná. Zároveň i přes prodělání nemoci COVID-19 existuje riziko opětovné nákazy. Brazílská mutace obsahuje 17 změn v AMK a proto má vyšší infekčnost a nakažlivost. Další hrozbou je tzv. indická mutace, která je nakažlivější a zároveň je více odolná vůči protilátkám (Klika a Pačes, 2021). A poslední mutací je tzv. varianta cluster-5 vzniklá na norkových farmách v Dánsku (WHO, 2021).

2.1. Morfologie SARS-CoV-2 viru

SARS-CoV-2 je jednovláknový zoonotický RNA koronavirus (Manfredonia *et al.*, 2021). Patří do kategorie středně velkých obalených virů, které v průměru dosahují velikosti okolo 60–140 nm (Trojánek *et al.*, 2020). Koronaviř mají obecně kulatý nebo eliptický tvar. SARS-CoV-2 se skládá ze dvou hlavních částí. První je nesegmentovaný genom jednovláknové RNA s pozitivní polaritou +ssRNA a druhá část je tvořena kapsidou se strukturálními proteiny (Seyed Hosseini *et al.*, 2020)



Obrázek 3 – Ilustrace struktury Covid- 19 (upraveno dle Bolanos *et al.*, 2020)

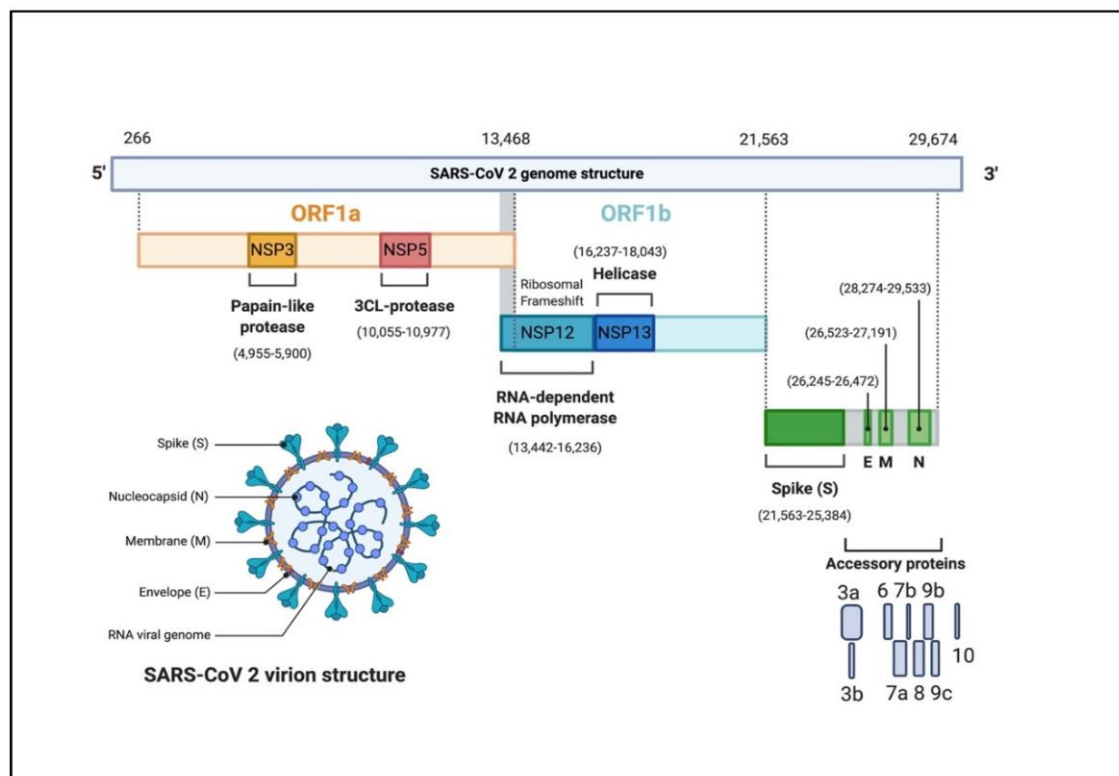
2.1.1. Virová RNA

Genom se skládá z 29 891 nukleotidů kodující 9860 aminokyselin (Seyed Hosseini *et al.*, 2020). Tento genom je dosud nejdelší známý u RNA virů, dosahující 26-32 kb (kilobází) (Manfredonia *et al.*, 2021). Genom je složen z 6–11 hlavních otevřených čtecí rámců. Dvě třetiny celého genomu zabírá první čtecí rámec ORF1 a/b kódující 16 nestrukturálních polyproteinů (NSPS) (Nencka, 2020). Tato část tvoří 67 % celého genomu (Kumar *et al.*, 2020). Velké replikázové polyproteiny pp1a a pp1ab jsou kodovány touto větší částí genomu a následně jsou proteolyticky štěpeny na 16 nestrukturálních proteinů (Chan *et al.*, 2020).

Obecně lze říct, že nestrukturální proteiny se podílejí na replikaci a transkripci viru a na životním cyklu viru díky katalytické funkci (Naqvi *et al.*, 2020). Tyto proteiny pomáhají sestavit proteinový komplex tzv. replikázu. Replikáza je zodpovědná za kopírování virové RNA a její přepis do struktury proteinů (Nencka, 2020). Mezi nejhlavnější nestrukturální proteiny patří NSP3 neboli proteáza podobná papainu (PLpro) (Gorla *et al.*, 2020). Další důležitý protein je NSP5, proteáza podobná chymotrypsinu (3CLpro) nebo označovaná jako hlavní proteáza (Mpro). Oba proteiny NSP3 a NSP5 jsou velmi důležité pro rozštěpení polyproteinů pp1a a pp1ab. NSP12 neboli RNA-dependentní RNA polymeráza je enzym přepisující virový genom z původní +RNA do -RNA a je tak schopná vytvářet novou kopii +RNA (Chan *et al.*, 2020; Nencka, 2020). Za funkci RNA helikázy, což je enzym rozplétající

strukturu virové RNA je zodpovědný protein NSP13 (NTPase). Kontrolu správnosti replikované RNA zajišťuje NSP14 (exoribonukleáza). Ostatní nezmíněné nestrukturální proteiny mají především funkci aktivační a podpůrnou (Nencka, 2020).

Zbývající 1/3 části genomu kóduje 4 strukturální proteiny (S, M, E, N) a doplňkové proteiny (Kumar *et al.*, 2020). Genom SARS-CoV-2 je uspořádán v pořadí 5'- čtecí rámec ORF1 a/b kodující 16 nestrukturálních proteinů- [Spike (S) -Envelope (E) -Membrane (M) - Nukleocapsid (N)] - 3' (Chan *et al.*, 2020).



Obrázek 4 – Genomická organizace SARS-CoV-2 (upraveno dle Alanagreh *et al.*, 2020)

2.1.2. Strukturální proteiny

Virion se skládá z kapsidy sférického tvaru a převážně z povrchových S proteinů. Název z lat. Corona vznikl ze specifického tvaru S proteinu, který připomíná tvar koruny (Nencka, 2020).

Nukleokapsid je obklopen fosfolipidovou dvojitou vrstvou, složenou ze strukturálního povrchového S proteinu (Spike), obalového proteinu (E), transmembránového glykoproteinu (M), vnitřního fosforylovaného nukleokapsidového proteinu (N) a hemaglutinin-esterázy (HE). Membránový (M) protein a obalový (E) protein jsou umístěny mezi S proteiny ve virové kapsidě (Seyed Hosseini *et al.*, 2020). Virová RNA je spojena a schopna komunikace s kapsidou pomocí fosfoproteinu (Esakandari *et al.*, 2020).

Největší zastoupení strukturních proteinů má S a M protein. Povrchové S proteiny jsou glykoproteiny interagující s receptory ACE2, které jsou přítomny na hostitelské buňce (Zhang *et al.*, 2020). Proto je hlavní faktor virulence především S (spike) glykoprotein (Naqvi *et al.*, 2020). S protein dále umí vyvolávat tvorbu neutralizačních specifických protilátek (Nencka, 2020). Dělí se na 2 podjednotky, kdy S1 slouží k vazbě na daný receptor a S2 podněcuje fúzi viru s buněčnou membránou hostitelské buňky (Nencka, 2020; Naqvi *et al.*, 2020). Na hostitelský receptor ACE2 se S1 podjednotka váže pomocí domény vázající receptor (RBD).

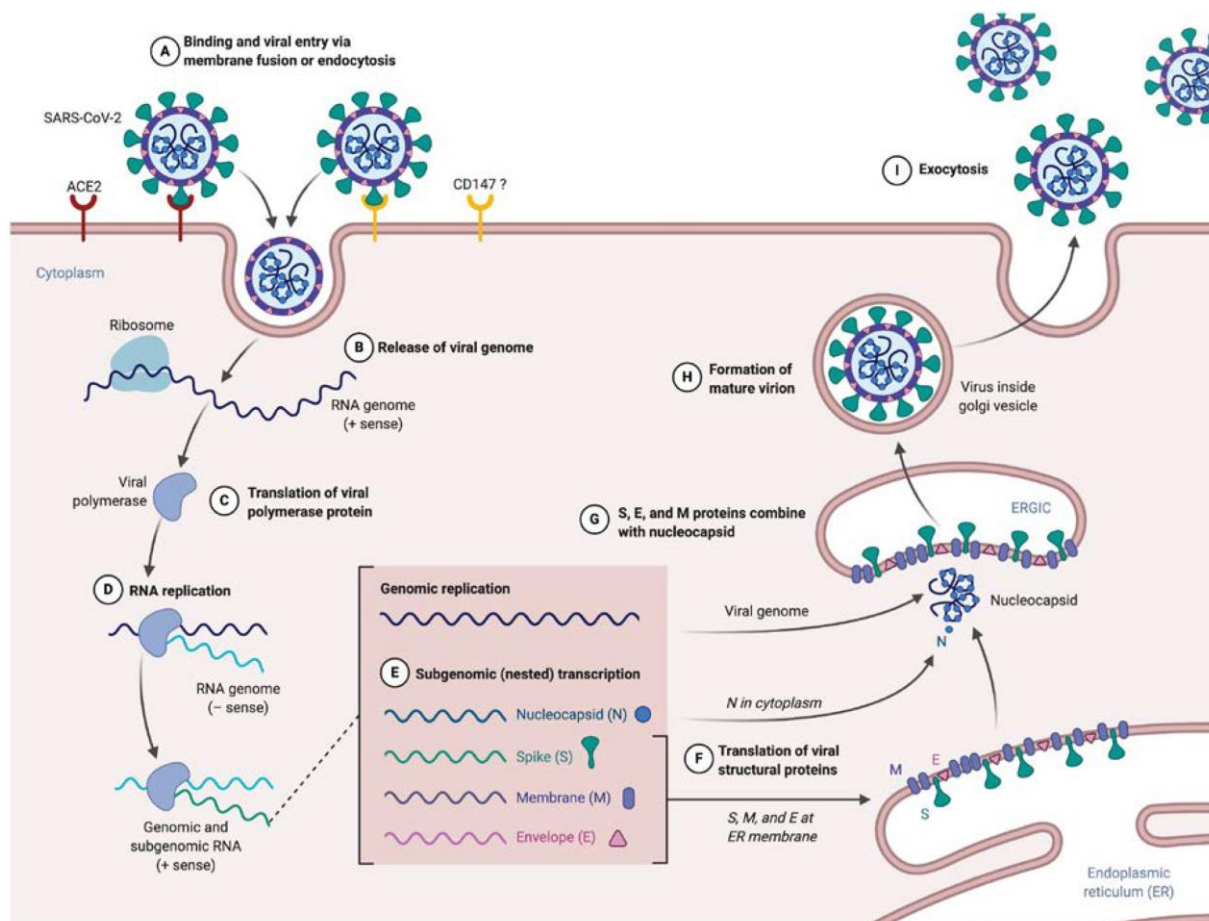
Nejvíce zastoupeným proteinem je membránový neboli strukturní M protein (Esakandari *et al.*, 2020). Jeho největší funkcí je určení tvaru virového obalu. Je schopen se vázat na všechny ostatní strukturní proteiny a napomáhá stabilizovat N protein–RNA komplex a dokončit sestavení viru (Astuti *et al.*, 2020).

Nukleokapsidový N protein je ve spojení s virovou RNA a tvoří tzv. nukleokapsidu z čehož je odvozen jeho název (Yamamoto *et al.*, 2020).

Poslední složkou patřící mezi strukturní proteiny je E (obalový) protein. Jedná se o nejmenší protein ve struktuře SARS-CoV-2 (Astuti *et al.*, 2020). E protein se shlukuje do hostitelské membrány a tvoří tzv. póry protein–lipid. Tyto póry pomáhají transportovat ionty (Naqvi *et al.*, 2020). Z různých studií bylo zjištěno, že pokud virus SARS-CoV-2 nemá E protein, dochází k horšímu zrání viru a snižují se virové titry (Schoeman *et al.*, 2019).

2.2. Životní cyklus viru SARS-CoV-2

Životní cyklus SARS-CoV-2 se dá rozdělit do několika fází. Za první fázi se považuje navázání SARS-CoV-2 na receptor buňky a vstup viru do hostitelských buněk, další fází je uvolnění genomu a translace virové RNA. Třetí fází je replikace genomu s následnou transkripcí a s ní spojený vznik subgenomické mRNA, čtvrtá fáze zahrnuje translaci a vznik strukturních proteinů. V páté fází dochází k uspořádání do virionu a poslední šestá fáze obsahuje exocytózu viru (Lebeau *et al.*, 2020).



Obrázek 5 – Předpokládaný životní cyklus SARS-CoV-2 (upraveno dle Lebeau *et al.*, 2020)

Reprodukce viru SARS-CoV-2 začíná navázáním viru pomocí povrchového S proteinu na specifický receptor ACE2 (angiotenzin konvertující enzym 2), který je na membráně hostitelské buňky (Malik, 2020). Největší výskyt ACE 2 je v dolních cestách dýchacích především na pneumocytech 2. typu, horní části jícnu, enterocytech, buňkách proximálního tubulu ledvin a také na buňkách myokardu (Luan *et al.*, 2020). Vzhledem k tomu, že receptor ACE 2 je hojně exprimován na buňkách různých tkání, je tak velmi zjednodušen vstup viru do cílových buněk organismu. SARS-CoV-2 se naváže na ACE2 pomocí RBD (Astuti *et al.*, 2020).

Po zmíněné vazbě na daný receptor začne docházet ke konformační změně S proteinu. Spike protein se začne proteolyticky štěpit pod vlivem proteáz z hostitelských buněk. SARS-Cov-2 využívá hlavně serinovou proteázu TMPRSS2 nebo endosomální katepsin L, vyskytující se na buněčném povrchu. Proteolytické štěpení způsobí rozdělení S proteinu na části S1 a S2 a zprostředkovává fúzi virové a buněčné membrány (Bailey *et al.*, 2021). Po fúzi je virový

genom uvolněn do cytoplazmy hostitelské buňky a dochází k další fázi životního cyklu viru (Malik, 2020).

Dalším krokem je translace genomu RNA, která probíhá v cytoplazmě hostitelské buňky konkrétně na ribozomech (Machhi *et al.*, 2020). Uvolněný genom slouží jako vzor neboli templát pro vytvoření nové virové RNA (Bailey *et al.*, 2021). Translace je děj, při kterém dochází k překlada nukleotidové sekvence mRNA do sekvence základních stavebních složek proteinů. Jelikož má SARS-CoV2 RNA s pozitivní polaritou (+) ssRNA, má již povahu mRNA a po vstupu do buňky může být ihned překládána do polypeptidů (Forstová *et al.*, 2019). Translací čtecího rámce ORF1a a ORF1b dochází k produkci 2 polyproteinů pp1a a pp1ab. Následně dochází k jejich autoproteolytickému štěpení pomocí proteáz (NSP3 a NSP5) a vzniká 15–16 nestrukturálních proteinů NSPS (Machhi *et al.* 2020).

Pomocí RNA-dependentní RNA-polymerázy (NSP 12, RdRp) dochází k replikaci negativního řetězce RNA, který slouží jako templát k vytvoření pozitivního řetězce RNA (Ghotbizadeh *et al.*, 2021).

Další fáze reprodukčního cyklu viru SARS-CoV2 je transkripce, jejímž výsledkem je subgenomická mRNA, která vzniká z již zmíněného negativního řetězce. Ze subgenomické mRNA vznikají na endoplazmatickém retikulu pomocí translace strukturální proteiny (S, M a E) (Perlman *et al.*, 2009). Nukleokapsidový protein je jako jediný ze strukturních proteinů překládán na ribozomech hostitelské buňky. Všechny strukturální proteiny jsou vystaveny posttranslačním modifikacím a až poté jsou považovány za plně funkční proteiny. Nově vzniklé a plně funkční proteiny jsou vpučením přesunuty do endoplazmatického retikula Golgiho meziprostoru (ERGIC). Zde dochází ke shromažďování a vzniku nových virionových částic SARS-CoV-2 prostřednictvím membránového proteinu (Machhi *et al.*, 2020).

Virionové částice jsou transportovány ve formě vezikul a následně jsou spojeny s plazmatickou membránou buňky a exocytózou uvolňovány ven z hostitelské buňky (Machhi *et al.*, 2020). Nově vzniklé viriony mohou napadat a infikovat další hostitelské buňky a orgány (Schoeman *et al.*, 2019).

2.3. Zdroj a původ infekce COVID-19

Na začátku vypuknutí epidemie po celém světě vyvstaly otázky týkající se vzniku SARS-CoV-2 v laboratořích jako produkt genetického inženýrství. Výzkum pod vedením doc. Andersena zjistil, že mutace RBD a odlišná molekulární struktura viru od již známých lidských koronavirů potvrzují, že virus SARS-CoV-2 vznikl přirozenou cestou evoluce. K evoluci mohlo dojít u netopýřích koronavirů, v lidské populaci nebo ve zvířecím mezipřenositeli (Andresen *et al.*, 2020).

U koronavirů lze různé části genomu odvodit z různých zdrojů, protože mají vysoce rekombinantní genetický materiál. Znamená to, že je obtížnější najít původce viru SARS-CoV-2 (Boni *et al.*, 2020). První případy lidí s onemocněním COVID-19 byly spojovány s existencí trhu Huanan v čínském Wu-chanu, na kterých se prodávaly mořské plody a divoká zvířata. Virový materiál SARS-CoV-2 byl identifikován v kanálech a kanalizacích na stejných místech, kde se vyskytuje trh s mořskými plody, ale koronavirus nebyl nalezen v tělech zvířat (Mallapaty, 2021). Od ledna 2021 probíhala měsíční mezinárodní mise WHO ve Wu-chanu, která měla za úkol zjistit přesný původ infekce. Bohužel kvůli nedostatečným informacím její členové nedošli k jasnému závěru a nenašli přesný zdroj infekce a její přenosovou cestu. Proto je stále zapotřebí provádět výzkum na toto téma (WHO, 2021). S možným vysvětlením přišel zoolog Dr. Peter Daszak, člen týmu WHO, který tvrdí, že trh byl zásobován zvířaty z farmy v jižní Číně. Farmy chovají exotická zvířata jako jsou dikobrazi, mývali, cibetky, luskouni a bambusové krysy, kteří jsou náchylní na koronaviry. Zajímavostí je, že se farmy vyskytují v oblastech, kde byl nalezen netopýří koronavirus shodný z 96 % se SARS-CoV-2. Všechny tyto nové informace nasvědčují tomu, že jako prvotní zdroj nákazy jsou farmy v jižní Číně (Douceff, 2021).

2.3.1. Netopýři

Netopýři jsou rezervoárem pro víc než 130 druhů virů, z nichž nejzávažnější jsou SARS-CoV, MERS-CoV nebo virus Ebola (Hu *et al.*, 2017; Banerjee *et al.*, 2019). Netopýři patří mezi nejranější druh savců, je tedy možné, že vrozené a získané imunitní odpovědi mají jisté rozdíly od ostatních savců. Je potřeba provádět další studie na toto téma, abychom lépe pochopili, proč jsou netopýři tak odolní proti virům (Calisher *et al.*, 2006). Příbuzné CoV u netopýřů nejsou hrozbou jen pro lidskou populaci, ale i pro ostatní zvířata. To potvrzuje objev syndromu akutního průjmu prasat (SADS) v roce 2016-2017 v jižní Číně. Původce

SADS-CoV byl nalezen v roce 2016 u netopýrů rodu *Rhinolophus* a vykazoval 98,5% shodu v sekvenci genomu (Zhou *et al.*, 2018).



Obrázek 6 – Koronavirus byl nalezen u podkovovitých v Číně (upraveno dle Ridley, 2020)

I u viru SARS-CoV-2 tomu není jinak a jeho sekvence genomu je podobná s koronavirem RaTG-13 mající genomovou podobnost 96,2 % a s koronavirem bat-SL-CoVZC45 a bat-SL-CoVZXC21 88% homologii (Andersen *et al.*, 2020). Koronavirus RaTG-13 pochází z netopýra z provincie Yunnana a oba bat-SL pochází z *Rhinolophus pusillus* (Leitner *et al.*, 2020).

Z vrápence prostředního (*Rhinolophus affinis*) byl virus RaTG-13 poprvé izolován v roce 2013 (Ramaiah *et al.*, 2020). Virus RaTG-13 ale nemá podobnou část RBD, tudíž se není schopen tak dobře vázat na receptor ACE2. Kvůli tomuto zjištění se uvažuje o mutaci receptoru RBD, který je již schopen se vázat na ACE2 na jiném zvířecím hostiteli (Leitner *et al.*, 2020). Vědci stále nenalezli zdokumentované případy přímého přenosu z netopýrů na člověka (Andersen *et al.*, 2020). U SARS-CoV-2 se předpokládá z důvodu předchozích epidemií koronavirů, že i u něj existuje mezihostitel pro přenos viru na člověka (Zhang *et al.*, 2020).

2.3.2. Luskouni

Za možného mezihostitele se považuje luskoun malajský (*Manis javanica*). Luskoun je zvláštní druh savce patřící do řádu luskounů (*Pholidota*), který se vyskytuje převážně v Asii

a Africe. Luskouni patří mezi ohrožený druh a přispívá k tomu i nelegální obchodování (Lam *et al.*, 2020).



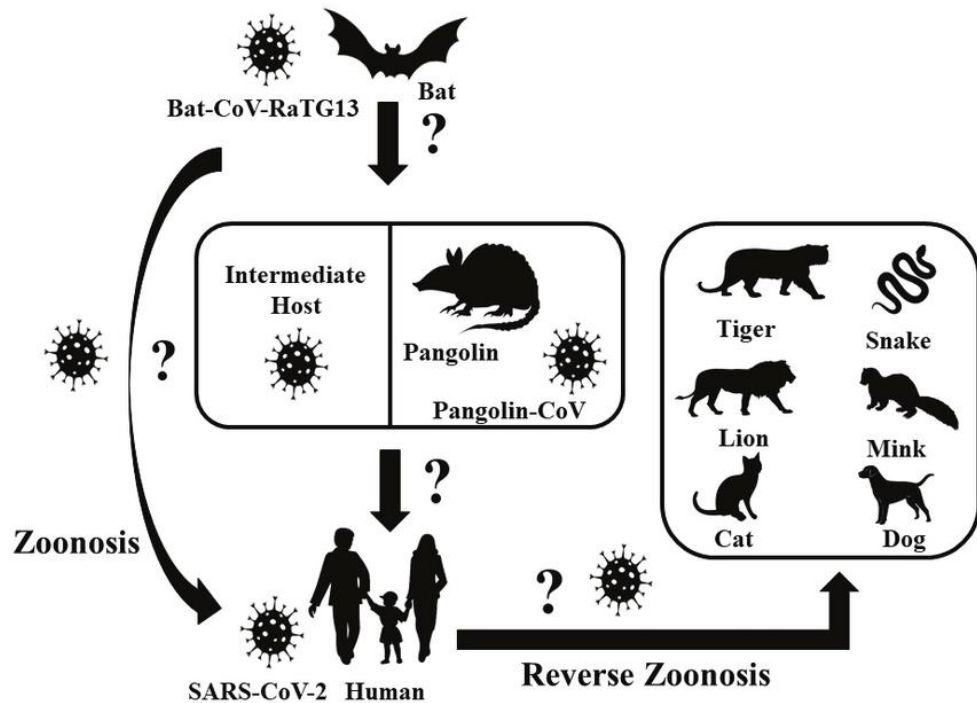
Obrázek 7 – *Manis javanica* (upraveno dle Eszterhas, 2020)

Záchrané středisko pro divokou zvěř v Číně přijalo 24. března 2019 celkem 21 živých malajských luskounů, kteří byli zabaveni během pašování. Zvířata byla ve špatném stavu a následně jich 16 zemřelo. U většiny mrtvých luskounů, u nichž byla provedena pitva, byl identifikován virus Sendai, který způsobil jejich smrt (Liu *et al.*, 2019). U dvou vzorků plic byl nalezen koronavirus, který vykazoval 80% podobnost se SARS-CoV. Luskouni trpěli plicní fibrózou a měli tekutinu v plicích. Toto zjištění se objevilo ještě před vypuknutím onemocnění COVID-19 v lidské populaci. Po vypuknutí celosvětové epidemie vědci znovu zkoumali virus u těchto luskounů a potvrdili, že je podobný viru SARS-CoV-2 (Zhang *et al.*, 2020).

Nově objevený koronavirus Pangolin-CoV je v celém genomu shodný se SARS-CoV-2 z 91,02 % a s RaTG-13 z 90,55 %. Po podrobnějším zkoumání viru Pangolin-CoV bylo zjištěno, že některé geny mají vyšší podobnost aminokyselinové sekvence s geny SARS-CoV-2 než s geny RaTG-13 (Zhang *et al.*, 2020). Ve vazebné doméně receptoru mají 6 aminokyselin z 97 % stejnou mutaci jako u koronaviru SARS-CoV-2. Zbytek genomu ale vykazoval větší rozdílnost se SARS-CoV-2 (Singla *et al.*, 2020). Shoda RBD u Pangolin-CoV a u SARS-CoV-2 naznačuje, že mutace RBD nastala přirozenou evolucí před nakažením

lidské populace (Andersen *et al.*, 2020). Během provedené studie vědci zjistili, že u člověka a luskounů se u viru vyvinula schopnost replikovat se v horních dýchacích cestách (Boni *et al.*, 2020).

Je tedy možné, že v původu a přenosu cesty SARS-CoV-2 hrají roli netopýři (*Rhinolophus affinis*) a luskouni malajští. Stále ovšem není zcela jasné, jakým způsobem virus překročil mezidruhové bariéry, aby mohl infikovat člověka (Singla *et al.*, 2020).



Obrázek 8 – Možný původ SARS-CoV-2 a možnost zoonotického a rezervního zoonotického přenosu (upraveno dle Poudel *et al.*, 2020)

2.4. Mechanismus přenosu COVID-19

2.4.1. Člověk–člověk

Celosvětově známý přenos je prostřednictvím respiračních kapiček obsahujících 5–10 μm viru a pomocí aerosolu o menší velikosti částic s množstvím viru $\leq 5 \mu\text{m}$. Obě tyto varianty jsou uvolňovány při výdechu infikované osoby, mluvením a kašláním ať už z úst nebo nosu a jsou schopny nakazit člověka na vzdálenost 1 metru. (Prather *et al.*, 2020). Za nepřímý kontakt se považují kapénkami a aerosolem kontaminované materiály nebo dotykem. Zjistilo se, že vyšší přenosnost viru mají neporézní materiály (Singla *et al.*, 2020). SARS-CoV-2 je schopný přežít na hladkých površích např. na kovu, plastu nebo skle i přibližně 9 dní (Eslami *et al.*, 2020). Průměrná inkubační doba viru se pohybuje okolo 3–7 dnů, kdy je virus schopný se dál šířit. Nejvíce nakažliví jsou jedinci zhruba 2 dny před vypuknutím příznaků (Li *et al.*, 2020). Problém současné epidemie je, že asymptomatické jedinci rychle šíří virus v populaci a je těžko dohledatelný (Prather *et al.*, 2020).

2.4.2. Člověk–zvíře

U přenosu z člověka na zvíře a naopak není zjištěno, zda má podíl na dopad celosvětové pandemie. Byla zjištěna různá náchylnost zvířat na SARS-CoV-2 ať už přirozeným způsobem, kdy došlo k nakažení zvířete po kontaktu s člověkem, nebo experimentálně v laboratořích. Některá zvířata mohou být nakažena po přímém kontaktu s člověkem nebo i nepřímo působením aerosolu a z infikovaného povrchu (podestýlka, krmivo). Nakažení zvířete člověkem potvrzují případy ze zoologických zahrad nebo onemocnění domácích mazlíčků po kontaktu s ošetřovatelem nebo majitelem (Hossain *et al.*, 2020). Infikovaný člověk je schopen nakazit některá zvířata, opačná cesta přenosu stále není prokázána až na výjimku přenosu z norka na člověka (Singla *et al.*, 2020).

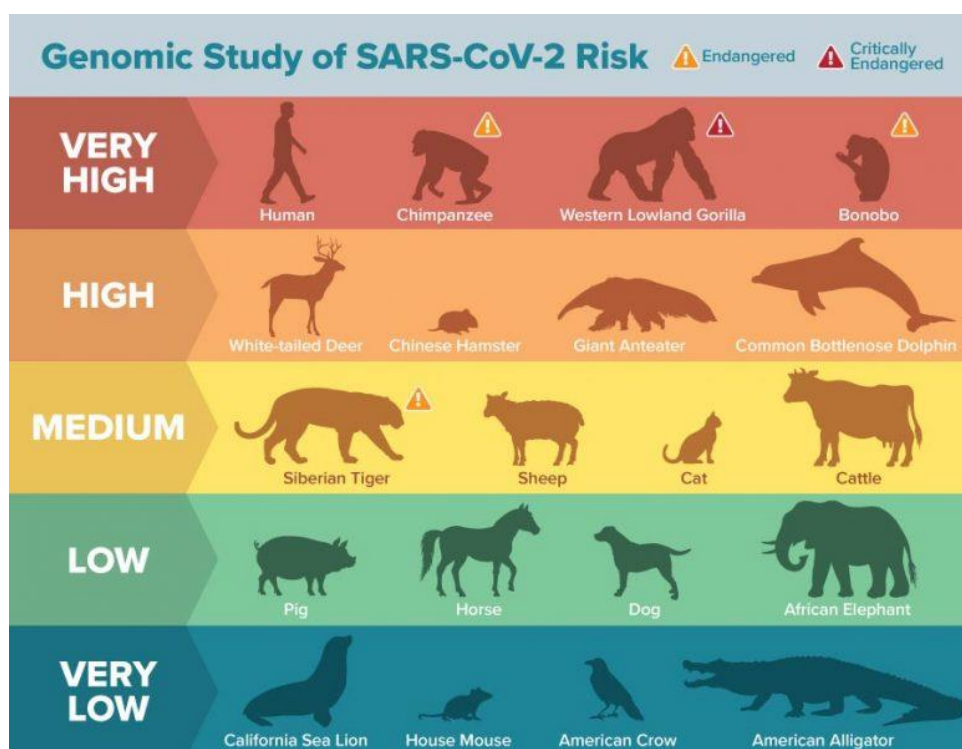
2.4.3. Zvíře–zvíře

Přirozeně nebo experimentálně je hlášeno mnoho případů takového přenosu, například mezi kočkami, fretkami, norky, tygry a dalšími. Mechanismus je stejný jako u předešlých přenosů (Singla *et al.*, 2020). Při experimentálním výzkumu u fretek byl pozorován přenos SARS-CoV-2 v rozmezí 1–3 dnů v blízkém kontaktu a pomocí aerosolu ze vzduchu přenos trval 3–7 dní (Opriessnig *et al.*, 2020).

3 COVID-19 U ZVÍŘAT

3.1. Náchylnost zvířat na SARS-CoV-2

Citlivost zvířat na SARS-CoV-2 byla zjišťována pomocí analýzy proteinových sekvencí receptoru ACE2, která dokáže předpovědět afinitu vazby mezi ACE2 a S proteinem SARS-CoV-2. Podrobněji bylo zkoumáno 25 aminokyselin, které se vážou na část Spike proteinu (RBD). Těchto 25 AMK bylo srovnáváno a posuzováno s ACE2 na lidských buňkách a hledala se podobnost a sklon k vazbě na RBD (Damas *et al.*, 2020). Jelikož RBD vykazuje jistou plasticitu, je schopen se navázat na ACE2 u různých druhů a vyvstává tím riziko mezidruhového šíření (Leroy *et al.*, 2020).

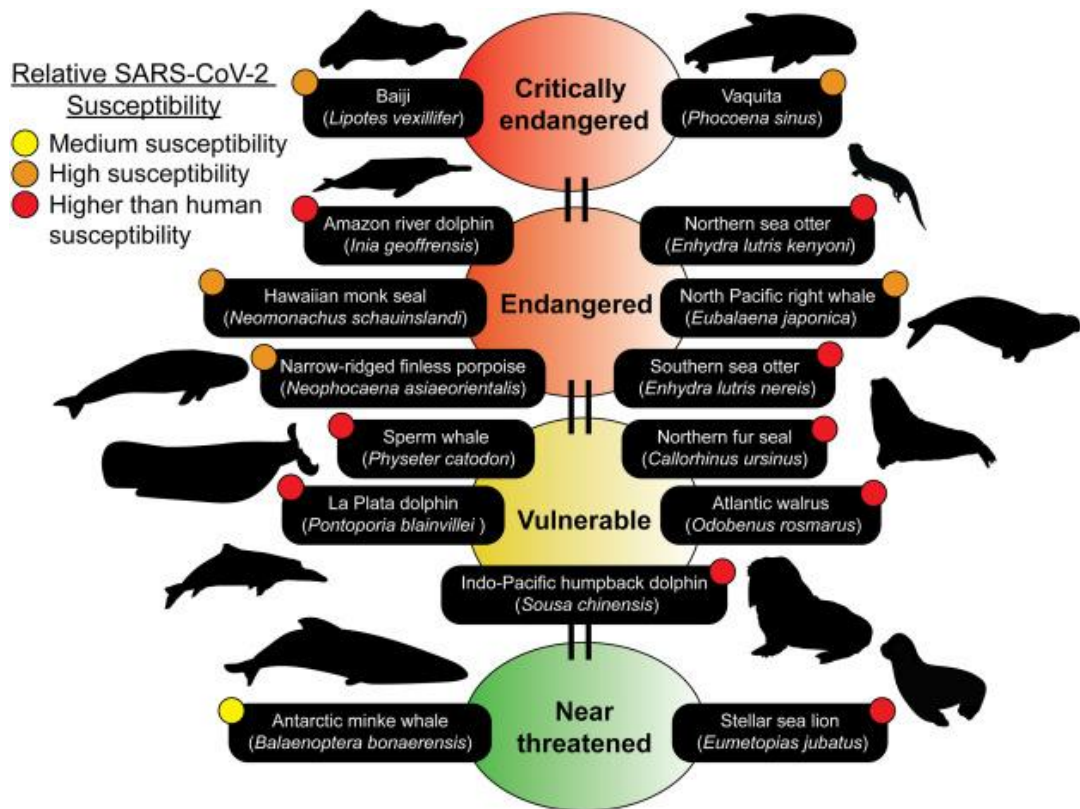


Obrázek 9 – Genomická studie rizik Covid-19 (upraveno dle Verdolivo, 2020)

Do výzkumu vazebné afinity S proteinu a ACE2 bylo zařazeno 410 druhů zvířat (252 savců, 65 ryb, 72 ptáků, 17 plazů a 4 obojživelníci). Za velmi rizikovou skupinu jsou považováni primáti, u kterých byla shodnost u všech analyzovaných 25 AMK. Vysoká citlivost byla identifikována u velryb, delfínů, některých hlodavců (zlatí syrští křečci), jelenů a mravenečníka obrovského. Mezi středně rizikovou skupinu, která má podobnost minimálně s 20 AMK, patří domácí kočky, další kočkovité šelmy, dobytek, ovce, žirafa Masai a hroch. Naopak nižší náchylnost mají koně, prase domácí nebo psi domácí (Damas *et al.*, 2020).

Z jiného výzkumu byla zjištěna citlivost na základě již zmíněné vazby u dalších zvířat, jako jsou lasice hranostaj, netopýři (*Rhinolophus macrotis*, *Rhinolophus sinicus*), kaloň malajský, prase divoké, luskouni, kůň, králík divoký, liška obecná a sysel páskovaný. Naopak rezistentními zvířaty v této studii byli velbloud jednohrbý, netopýr (*Rhinolophus ferrumequinum*), potkan, myš domácí, ptakopysk, slon africký, ježek západní, psík mývalovitý, surikata nebo morče domácí (Luan *et al.*, 2020). Jiná studie ale tvrdí, že psík mývalovitý umožňuje replikaci viru a přenos na jiné psíky (Freuling *et al.*, 2020).

Za možné riziko lze brát i nakažení mořských savců odpadní vodou, která není dostatečně ošetřena v čistírnách odpadních vod. Mořští savci se hojně vyskytují na pobřeží Aljašky, proto se tato studie zaměřila na čistotu vod v této oblasti (Mathavarajah *et al.*, 2021). U menšího počtu čistíren byla zjištěna pouze primární forma čištění, která nedokonale ničí infekční vir (Mathavarajah *et al.*, 2021; Aboubakr *et al.*, 2020). Pro zjištění náchylnosti zvířat na SARS-CoV-2 byly použity genomové údaje z roku 2016. Patnáct ohrožených druhů z 36 testovaných bylo schopno stabilizovat vazbu mezi S proteinem a receptorem díky mutací na ACE2. Proto byla zjištěna vyšší citlivost než u člověka, u druhů jako je delfinovec amazonský a laplatský, delfin skákavý a indočínský, kulohlavec černý, kosatka dravá, vorvaň obrovský, keporkak, lachtan ušatý a medvěd, mrož lední, tuleň a vydra mořská. Mezi vysoce náchylné dále patří např. plejtvák jižní, rypouš, sviňucha obecná, velryba beluga a další. U osmi z devíti testovaných ploutvonožců byla také prokázána vyšší citlivost. Nižší afinitu vykazuje lední medvěd a lachtan kalifornský (Mathavarajah *et al.*, 2021).



Obrázek 10 – Relativní citlivost na SARS-CoV-2 (upraveno dle Mathavarajah *et al.*, 2021)

Mezi významné studie patří výzkumy u hospodářských zvířat. Vzhledem k jejich počtu a přímému kontaktu s lidmi docházelo k velkým obavám z případné citlivosti a šíření. Skot má velmi podobný ACE2 s lidským a již dříve byl spojován s koronavirem HCoV-OC43, proto byl považován za potenciálního mezihostitele (Bidokhti *et al.*, 2013; Michelitsch *et al.*, 2021). Byl proveden výzkum šesti kusů hovězího dobytka, u kterého nebyl pozorován žádný přenos a naočkovaný skot byl také bez známek klinických příznaků. Proto se vědci domnívají, že skot nehraje žádnou roli v pandemii a nejsou zprávy o přirozené nákaze skotu (Ulrich *et al.*, 2020). Prasata mají ACE2 vysoce kompatibilní s RBD SARS-CoV-2 (Meekins *et al.*, 2020). Z laboratorních studií, ale vyplývá, že náchylnost prasat na SARS-CoV-2 je velmi nízká. Nedošlo k přenosu na ostatní prasata a rovněž nebyly zjištěny klinické projevy (Shi *et al.*, 2020).

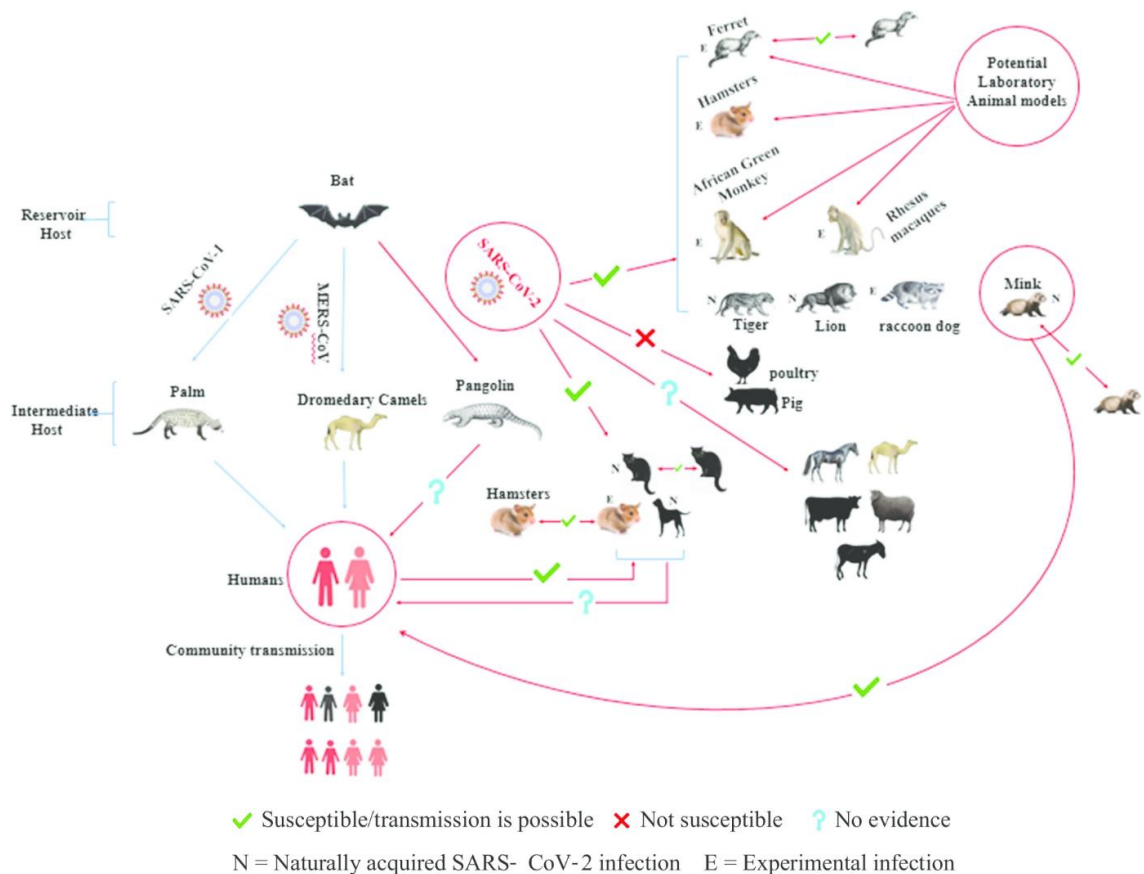
U ptáků jako jsou kachny, husy, křepelky, kuřata a krůty nebyla při průzkumu po podání izolátu SARS-CoV-2 sledována citlivost. Nevyskytly se příznaky onemocnění, nenašly se protilátky v séru proti SARS-CoV-2 a nedocházelo k replikaci viru (Suarez *et al.*, 2020).

Neschopnost vázat S protein byla detekována nejen u ptáků, ale také plazů, ryb a obojživelníků. Podobnost struktury ACE2 se u těchto druhů pohybovala okolo 60 %. Tak

nízká podobnost naznačuje, že tento druh zvířat by neměl být nakažen (Damas *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2020).

Mezi důležité studie patří testování 140 druhů komárů. Komárům podávali krev infikovanou virem SARS-CoV-2. Většina komárů měla do desátého dne pozitivní nález virové RNA, ale nebyl získán žádný infekční virus. Proto vědci tvrdí, že komáři nepodporují replikaci viru (Balaraman *et al.*, 2021).

Studie došla k závěru, že jiné třídy obratlovců než savci pravděpodobně nevykazují hrozbu a nejsou považovány za hostitele viru (Damas *et al.*, 2020).



Obrázek 11 – Původ a přenos SARS-CoV-2 spolu s potenciální rolí domácích a jiných zvířat při přenosu nemoci (upraveno dle Kiros *et al.*, 2020)

3.2. Onemocnění COVID-19 u zvířat po přirozené expozici

Po přirozené expozici bylo celkem evidováno 97 pozitivních případů u koček, 59 u psů, u jedné fretky, u 28 kočkovitých šelem (13 lvů, 10 tygrů, 3 levhartů sněžných a 2 pumy). Další případy byly hlášeny u goril a u norků ve 409 farmách (American Veterinary Medical Association, 2021). K lednu 2021 bylo v USA hlášeno 89 koček, 78 psů, 17 tygrů, 5 lvů, 4 vydry, 3 gorily, 3 sněžní levharti a 1 puma ze 7 399 testovaných zvířat (United States Department of Agriculture, 2021).

3.2.1. Psi a kočky domácí

První hlášený případ výskytu nemoci COVID-19 u domácího zvířete se objevil 27. února 2020 v Hongkongu. U majitelky psa byla dříve diagnostikována infekce a na základě těchto pozitivních výsledků testovali psa (plemeno Pomeranian). U 17 let starého psa byly ve třech intervalech odebrány pozitivní vzorky z dutiny ústní a nosu a analyzovány pomocí specifické kvantitativní RT-PCR (Singla *et al.*, 2020). Z prvního krevního vzorku vyšel negativní serologický screening a při dalším již byl potvrzen důkaz protilátek. Vzorky vykazovaly slabě pozitivní výsledky, přesto se u psa vytvořila specifická imunitní odpověď. Tyto počáteční negativní výsledky a posléze pozitivní ukazují, že tvorba protilátek se pohybuje v rozsahu 14 a víc dnů (Leroy *et al.*, 2020). 19. března byl v Hongkongu potvrzen přenos viru z nemocného majitele na dvouletého německého ovčáka. Vzorky z orální a nosní dutiny byly opět slabě pozitivní jako u předešlého případu (Sit *et al.*, 2020).

Další případ přirozeného přenosu SARS-CoV-2 z člověka na zvíře se objevil v Belgii. Majitel kočky cestoval do Itálie, kde se nakazil infekcí COVID-19 (Chini *et al.*, 2020). U kočky se týden po majiteli objevily klinické příznaky a následně byla infekce potvrzena z fekálních vzorků a žaludečních tekutin metodou RT-PCR (Chini *et al.*, 2020; Leroy *et al.*, 2020). Další infikovaná kočka byla 31. března 2020 v Hongkongu vyšetřena odebráním pozitivně testovaných vzorků z dutiny ústní, nosu a rektálního stěru na základě pozitivně testované majitelky. Kočka byla asymptomatická (Leroy *et al.*, 2020).

Zajímavostí je, že v blízkosti farem s infikovanými norky byly odebrány vzorky z dutiny ústní a nosní 24 toulavým kočkám. Sedm koček mělo protilátky proti SARS-CoV-2 a specifická imunitní odpověď už proběhla. Detekce protilátek byla prováděna mikroneutralizačním testem. U jedné z koček byla nalezena virová RNA se slabou pozitivitou. Toto zjištění ukazuje na možnost nákazy koček z norkových farem (Oreshkova *et al.*, 2020).

V severní Itálii, v době kdy probíhal nárůst počtu nakažených obyvatel, probíhala studie zabývající se přirozeným výskytem viru u koček a psů. Z veterinárních prohlídek bylo odebráno 919 vzorků (603 psů a 316 koček). Pozitivita na protilátky byla u 5,8 % koček a 3,3 % psů) nezávisle na výskytu infekce u majitelů. Zajímavostí je, že u 69 zvířat žijících v domácnosti s výskytem COVID-19 byly protilátky objeveny u 12,8 % psů a u 4,5 % koček. Toto zjištění naznačuje větší interakci mezi infikovanými lidmi a psy. Tato studie je v rozporu s informacemi o nižší náchylnosti psů než u koček. Určitou roli mohl hrát i menší počet pozitivně testovaných koček na protilátky. Virová RNA nebyla detekována u žádného zvířete. Toto zjištění potvrzuje, že i když zvířata mají protilátky, tak virus vylučují krátkou dobu. Zároveň u koček bylo zjištěno větší množství protilátek značící rozsáhlejší imunitní reakci a jsou tudíž náchylnější (Patterson *et al.*, 2020). Podobný výzkum proběhl i v Německu v klidnější fázi pandemie, kde 920 vzorků sér koček bylo testováno na protilátky, které byly zjištěny pouze u 6 případů (0,69 %). Studie poukazuje na nízký přenos z člověka na kočku (Michelitsch *et al.*, 2020).

3.2.2. Kočkovité šelmy

Malajský tygr byl infikován po kontaktu s asymptomatickým ošetřovatelem (United States Department of Agriculture, 2021). Tento případ byl první u nedomestikovaných druhů zvířat ve světě a zároveň první ve Spojených státech amerických. U čtyřleté malajské tygřice se objevily klinické příznaky, které přetrvávaly a 2. dubna 2020 byly odebrány vzorky, které potvrdily onemocnění COVID-19. Stejně klinické projevy vykazovali další 3 tygři a 3 afričtí lvi. (McAloose *et al.*, 2020). Podrobnější testování ale podstoupil pouze jeden tygr, protože během odebírání diagnostického vzorku musí být pod celkovou anestézií. Tímto postupem chtěl veterinář omezit potenciální rizika anestezie pro ostatní zvířata (United States Department of Agriculture, 2021). Vzorky odebrané z fekálních stěrů byly pozitivní poměrně dlouhou dobu (35 dnů) i po ukončení projevů. Následně bylo provedeno cytologické vyšetření u tygra, který vykazoval nekrózu buněk s obsahem virové RNA zjištěnou z tracheální promývací tekutiny (Barlett *et al.*, 2021). Analýza genomů SARS-CoV-2 u zvířat včetně chovatelů ukázala, že existují rozdíly mezi sekvencemi tygrů a lvů a tudíž se předpokládá, že byli infikováni různými genotypy viru dvěma na sobě nezávislými kontakty. Stále ale není jasný způsob přenosu u těchto zvířat (McAloose *et al.*, 2020).

V České republice byl hlášen přenos viru na zvířata v zoologické zahradě v Praze. Nakaženi byli dva lvi indičtí, pár krátkouchých koček a dva tygři malajští po kontaktu s chovatelem. U všech zvířat byl SARS-CoV-2 detekován ze vzorků trusu (Zoo PRAHA, 2021).

Přenos z ošetřovatele na čtyři samice lva byly zaznamenány v zoologické zahradě v Barceloně. Zvířata projevovala mírné klinické příznaky a následně byla pozitivně izolována virová RNA metodou PCR (BBC, 2021).

3.2.3. Norci

Za velmi důležitý případ u zvířat po přirozené expozici je považován přenos SARS-CoV-2 na norky v Nizozemsku. Tento přenos byl zpozorován 19. dubna 2020 na dvou farmách v provincii Severní Brabantsko (Singla *et al.*, 2020). Nakažení norci vyvolali celosvětové obavy z mutací a z potvrzeného přenosu ze zvířete na člověka (The World Organisation for Animal Health, 2020). Norci měli klinické projevy vyskytující se u onemocnění COVID-19 a vykazovali vyšší úmrtnost (Singla *et al.*, 2020). Běžná úmrtnost se pohybovala okolo 0,6 %, ale od doby hlášení do 30. dubna úmrtnost činila na jedné z farem 2,4 % a na druhé 1,2 % (Oreshkova *et al.*, 2020). Všechny odebrané vzorky (sliny, nosní a rektální stěr) vykazovaly přítomnost virové RNA. Po zkoumání bylo zjištěno, že 4 pracovníci na začátku dubna měli příznaky charakterizující COVID-19 (Singla *et al.*, 2020). Norci jsou také schopni virus šířit mezi sebou. Byli jednotlivě uspořádáni v klecích, a proto je považován za jediný přenos nepřímý kontakt pomocí krmiva, podestýlky a respiračními kapénkami. Byly odebrány i vzorky prachových částic ze vzduchu, které obsahovaly virovou RNA. Nález naznačuje způsob přenosu viru z norka na člověka. Přenos mezi norky způsobil mutaci viru, která byla odhalena genomovou sekvencí. Všichni pracovníci byli testováni na COVID-19 a pozitivní nález byl odhalen u 68 % z celkového počtu testovaných (Oreshkova *et al.*, 2020). Celkově v Nizozemsku byl zaznamenán SARS-CoV-2 na 62 farmách. Vláda v Nizozemsku pracovala na legislativě, která by zakázala chov norků od března 2021 (Státní veterinární správa, 2020).

Další výskyt viru u norků byl registrován 17. června 2020 ve třech farmách v Dánsku a potvrdilo se 214 osob nakažených variantou SARS-CoV-2 od norků. I zde byla potvrzena mutace viru. Tato nová varianta viru pojmenovaná jako cluster-5 byla zaznamenána u norků a u 12 lidí, z nichž čtyři pracovali na farmě (World health organization, 2020). Mutace viru se týkala genomu S proteinu a způsobila větší odolnost vůči protilátkám a mohla by tak snížit účinnost vyráběných vakcín (Koopmans, 2021; Státní veterinární správa, 2020). Norek začal být vnímán jako možný rezervoár SARS-CoV-2 a jako riziko mutací a dalšího šíření COVID-19 v lidské populaci (World health organization, 2020). Proto Dánsko zavedlo nutná protiepidemická opatření. Muselo být utraceno 17 milionů norků a byla nařízena karanténa po dobu 4 týdnů pro celkem 280 000 obyvatel žijících na severním Jutsku (Koopmans, 2021; Státní veterinární správa, 2020). Onemocnění COVID-19 bylo v Dánsku potvrzeno na

217 farmách. Zjištěná nákaza byla i v dalších zemích například ve Španělsku, Itálii, Švédsku a Spojených státech amerických (Státní veterinární správa, 2020).

3.2.4. Gorily

První přenos z asymptomatického člověka na gorilu nížinnou byl zaznamenán v zoologické zahradě v San Diegu. Dvě gorily vykazovaly klinické projevy a virová RNA byla potvrzena ve vzorcích stolice (Gibbons *et al.*, 2021). Jelikož gorily mají identické receptory ACE2 jako u lidí, jsou náchylné stejně jako lidská populace. Postupně bylo nakaženo až osm goril (Gorman, 2021). Vzhledem k tomu, že jsou gorily ohrožená zvířata, mají odborníci obavy o gorily žijící ve volné přírodě. Navíc u šimpanzů a goril horských způsobují lidské respirační patogeny až 20% úmrtnost (Negrey *et al.*, 2019).

V Pražské zoologické zahradě byl nakažen gorilí samec a tři samice po kontaktu s ošetřovatelem (Zoo PRAHA, 2021).

3.2.5. Fretky

Ve Španělsku u frettek chovaných doma byl zjišťován výskyt protilátek metodou ELISA. Ze 127 vzorků sér byly pouze dva pozitivní (1,57 %). Protilátky proti SARS-CoV-2 byly u nich detekovány více než 129 dní. Fretky netrpěly žádnými klinickými projevy (Giner *et al.*, 2021).

3.3. Onemocnění COVID-19 u zvířat po experimentální expozici

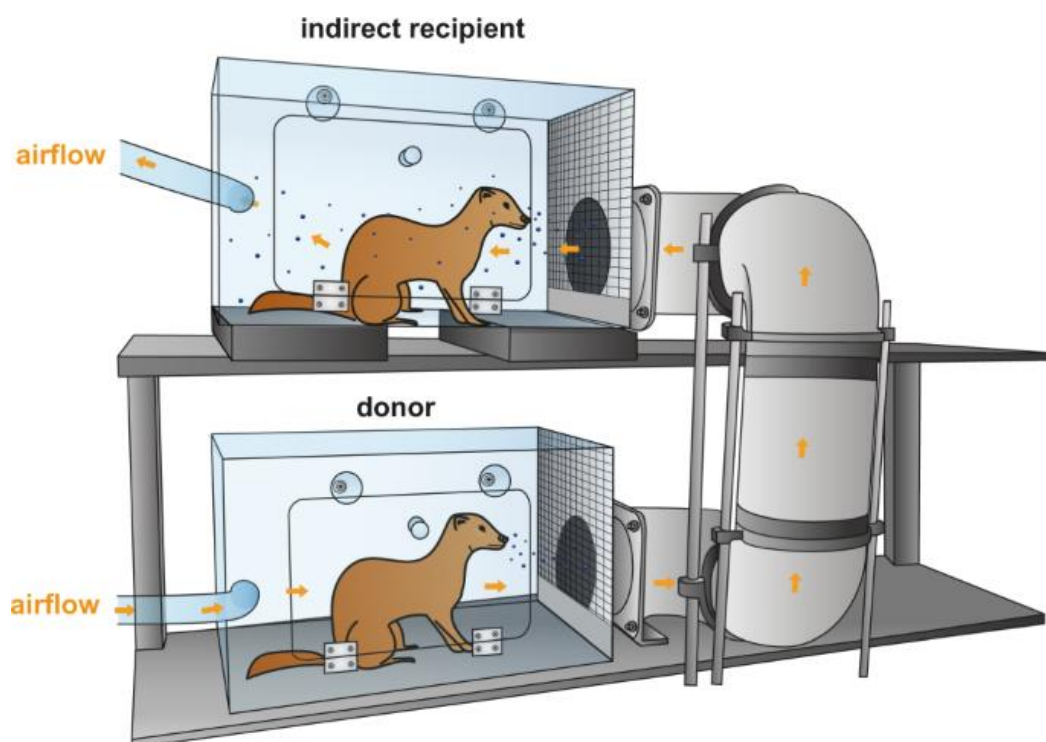
3.3.1. Psi a kočky domácí

Studie ukázala, že ACE2 u psa je schopen interagovat se SARS-CoV-2, ale přesto je vůči němu méně citlivý (Shi *et al.*, 2020). Pět aminokyselin podílejících se na interakci je rozdílných od lidských AMK, ale žádná z nich není schopna narušit vazbu mezi ACE2 a virem (Sit *et al.*, 2020). Do experimentu popisujícího nižší náchylnost psů vůči SARS-CoV-2 bylo vybráno pět štěňat bíglů, která byla spolu v izolaci. Dvě ze štěňat byla naočkována izolátem SARS-CoV-2, pouze u nich byl potvrzen nález virové RNA v rektálním stěru. U jednoho z nich byla po eutanazii provedena pitva, která neprokázala virovou RNA v žádných orgánech. Po 14 dnech byly vzaty vzorky séra pro stanovení protilátek metodou ELISA. U žádného z psů nebyl zjištěn výskyt protilátek ani klinické příznaky. I když jsou psi vystaveni viru, jsou vůči němu málo citliví a tudíž je i menší riziko přenosu (Shi *et al.*, 2020). Další studie u psů nepopisuje žádné klinické projevy. Někteří psi produkují protilátky proti viru, ale virová RNA nebyla identifikována v žádných orgánech a byla izolována pouze z rektálních stěrů. Pes tedy není příliš vhodným kandidátem na zvířecí model (Parolin *et al.*, 2021).

U koček se ukázalo, že receptor ACE2 je z 85 % podobný tomu lidskému, což ukazuje na větší náchylnost (Wang *et al.*, 2021). Ve studii bylo naočkováno izolátem SARS-CoV-2 sedm koček. Jedna neinfikovaná kočka byla v kleci, která sousedila s okolními naočkovanými kočkami. Třetí den byl nalezen virus v dýchacím systému a v tenkém střevě u dvou koček po eutanazii. Detekce RNA byla potvrzena ve výkalech očkovaných koček a u kočky nakažené ostatními. Tato kočka byla usmrcena a vir byl nalezen v mandlích a průduškách, a tímto byl potvrzen přenos respiračními kapičkami. Protilátky byly zjištěny u všech koček. Zajímavé je, že u mladších koček byly nalezeny rozsáhlé léze epitelu nosu, plic a průdušnic. Tento výzkum potvrzuje náchylnost a především nepřímý přenos vzduchem (Shi *et al.*, 2020). Další studie prokázala přenos z nakažené kočky na jinou. Kočky neměly klinické projevy, ale u všech byly detekovány protilátky. Navíc studie prokázala, že u koček dochází k silnější protilátkové imunitní odpovědi a jsou imunní proti opětovnému vystavení viru (Hosie *et al.*, 2021).

3.3.2. Fretky

Plíce fretek jsou podobné s lidskými, i proto byla brzy po vypuknutí pandemie zkoumána jejich náchylnost na SARS-CoV-2 (Michelitsch *et al.*, 2021). U fretek dochází k vysoké replikaci viru v horních cestách dýchacích a tím i k přenosu na jiné fretky. Z toho důvodu jsou vhodnými kandidáty na zvířecí model pro testování účinnosti vakcín (Marsh *et al.*, 2021). Vědci naočkovali fretky virem izolovaného z pacienta. Pro vyhodnocení přenosu byly fretky v přímém a nepřímém kontaktu s infikovanými. Po přímém kontaktu fretky vykazovaly klinické příznaky, ale po nepřímém nikoliv. Virová RNA byla detekována nejvíce v dutině nosní, dále ve slinách, stolici a moči, zatímco v séru byla v menším množství. Po usmrcení byl virus objeven u některých fretek v nosní dutině, plicích, střevech a ledvinách. U přímého kontaktu došlo k rychlejšímu přenosu viru. Po 12 dnech žádná z fretek nevykazovala známky onemocnění (Kim *et al.*, 2020). Další výzkum se zabýval inokulovanou fretkou v kleci s 118 cm dlouhou trubicí, která přenášela vydechovaný vzduch do jiné klece se zdravou fretkou. Ve výtěrech z nosu a krku u testované fretky byla virová RNA detekována třetí den. Zvířata nevykazovala žádné projevy nemoci. Významné je, že i když inokulovaným fretkám byla podána vyšší dávka viru, všechny fretky včetně infikovaných vzduchem měly podobnou kinetiku vylučování viru (čas, množství) (Kutter *et al.*, 2021).



Obrázek 12 – Experimentální nastavení přenosu (upraveno dle Kutter *et al.*, 2021)

3.3.3. Zlatí syrští křečci

Křeček má velmi vysokou afinitu k RBD. U křečka jsou popisovány podobné údaje vztahující se ke COVID-19 jako u lidí. Podobnými klinickými projevy byly histopatologické změny, virová kinetika a imunitní reakce. Ve studii bylo testováno 8 křečků, kteří druhý den poté byli přeneseni ke zdravým křečkům. Křečci vykazovali klinické projevy. Expresí N proteinu viru SAR-CoV-2 byla dále detekována v průdušnicích a plicích. Po eutanazii některých křečků byly zjištěny histopatologické změny na alveolách. Tento výzkum potvrdil vysokou schopnost přenosu viru při přímém kontaktu a to na všechna kontaktní zvířata (Chan *et al.*, 2020). Další studie potvrzuje velmi efektivní přenos u křečků prostřednictvím aerosolu (Sia *et al.*, 2020).

3.4. Průběh onemocnění COVID-19 u zvířat

3.4.1. Psi a kočky domácí

Pes plemene Pomerian nevykazoval žádné známky nemoci. Pár dnů po vyléčení nemoci zemřel. Jednalo se o velmi starého psa, který měl mnoho jiných nemocí. Vědci tak vyloučili, že by smrt byla způsobena na následky onemocnění COVID-19 (Singla *et al.*, 2020). Druhý případ nakaženého německého ovčáka rovněž nevykazoval žádné klinické projevy (Sit *et al.*, 2020).

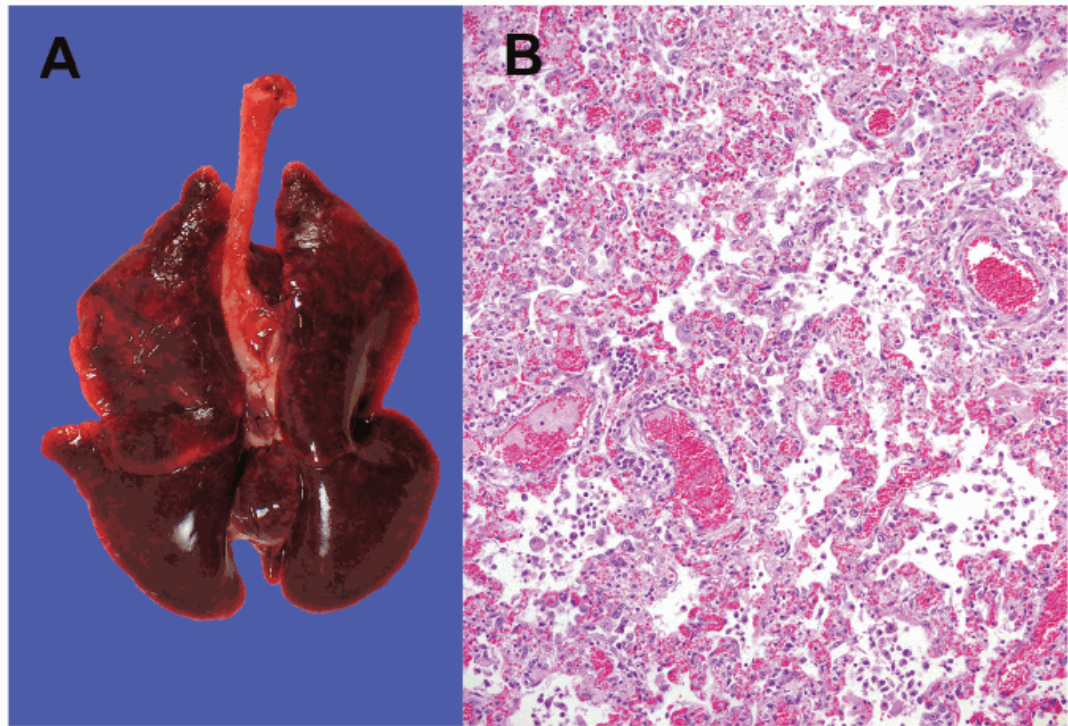
U koček je častější výskyt klinických projevů než u psů. První hlášená kočka v Belgii trpěla respiračními potížemi jako je kašel, zhoršené dýchání a poté průjmem, nevolností a zvracením. Po 9 dnech se kočka zlepšil zdravotní stav a byla propuštěna z karantény (Hossain *et al.*, 2020). Další infikovaná kočka v Hongkongu byla bezpříznaková (Singla *et al.*, 2020). U většiny koček byl ve vzorcích séra diagnostikován zvýšený obsah protilátek, díky kterým jsou kočky imunní vůči dalšímu vystavení SARS-CoV-2 viru a asymptomatické kočky jsou schopny virus přenášet respiračními kapičkami (Bosco-lauth *et al.*, 2020).

3.4.2. Kočkovité šelmy

První nakažený malajský tygr vykazoval suchý kašel a sípání (Hossain *et al.*, 2020). Další tygři a 3 afričtí lvi měli podobné příznaky. Zvířata vykazovala nechutenství a kašel, ale jinak byla bez větších respiračních obtíží. Příznaky trvaly přibližně 1–5 dnů (Leroy *et al.*, 2020). U jednoho z těchto tygrů byl proveden rentgen plic a odběr krve. Rentgen hrudníku odhalil mírnou konsolidaci plic s alveolárně-intersticiálním syndromem. Vzorky byly odebrány z orofaryngeální dutiny a byl potvrzen nález virové RNA metodou rRT-PCR. Pomocí cytologického vyšetření tracheální tekutiny byla potvrzena nekróza a detekce RNA viru na místě nekrotických buněk (Barlett *et al.*, 2021).

3.4.3. Norci

U norků byly klinické projevy onemocnění COVID-19 popisovány jako jedny z nejzávažnějších. Projevy obvykle trvaly 2 až 3 dny. U středně těžkých a těžkých příznaků, trvajících přibližně 1 až 2 dny norek ztratil chuť k jídlu a následně zemřel (Molenaar *et al.*, 2020). Byl pozorován serózní sekret z nosu, gastrointestinální potíže, zhoršené dýchání, ale u některých se objevily i těžké respirační potíže. Ze dvou farem podstoupilo 36 norků histopatologické studie. Pitva prokázala u 28 uhynulých norků intersticiální pneumonii tzv. těžký akutní zápal plic. Makroskopický nález plic odhalil skvrny na mokřých plicích, které byly zbarveny do tmavě červené (Oreshkova *et al.*, 2020). Norek, který nezemřel na akutní zápal plic, měl jiné druhy onemocnění jako je jaterní lipidóza, chronická nefritida, sepse a celkový zhoršený stav těla neboli Aleutskou nemoc (Molenaar *et al.*, 2020).



Obrázek 13 – Plíce z pitvaného norka, propuknutí SARS-CoV-2 na dvou farmách s norkem, Nizozemsko (upraveno dle Oreshkova *et al.*, 2020)

Na horních dýchacích cestách norků došlo ke ztrátě řasinek a byly nalezeny zduřelé epiteliální buňky. Epiteliální buňky bronchiolu měly větší poškození spojené s nekrózou a další nález zahrnoval plicní alveolární edém. U čtyř z jedenácti plic byla prokázána virová RNA. U ostatních nebyla prokázána, protože pouze během prvního týdne akutní fáze nemoci se SARS-CoV-2 vyskytuje v plicní tkáni. Z tohoto důvodu byl virus častěji nacházen ve vzorcích odebraných výtěrem z krku nebo rektálními stěry (Molenaar *et al.*, 2020).

3.4.4. Gorily

U gorilího samce v Pražské zoologické zahradě byla pár dní pozorována pouze únava a nechutenství. Nakažené byly i tři samice, z nichž jedna byla asymptomatická, druhá vykazovala pouze kašel. Třetí a nejstarší samice trpěla zvýšenou teplotou a únavou. Veterinář jim podával podpůrné léky například vitamín C, antipyretika a dle stavu zvířete i antibiotika (Zoo PRAHA, 2021). Gorily v Zoo v San Diegu vykazovaly stejně mírné příznaky (kašel, únava). Virová RNA byla testována a následně potvrzena ve vzorcích stolice (Gibbons, 2021).

3.4.5. Fretky

Po přímém kontaktu s infikovanou fretkou fretky trpí zvýšenou teplotou, únavou a kašlem. U nepřímého kontaktu studie nepopisovala žádný příznak nemoci. U pár jedinců pitva prokázala akutní bronchiolitidu (Kim *et al.*, 2020).

3.4.6. Zlatí syrští křečci

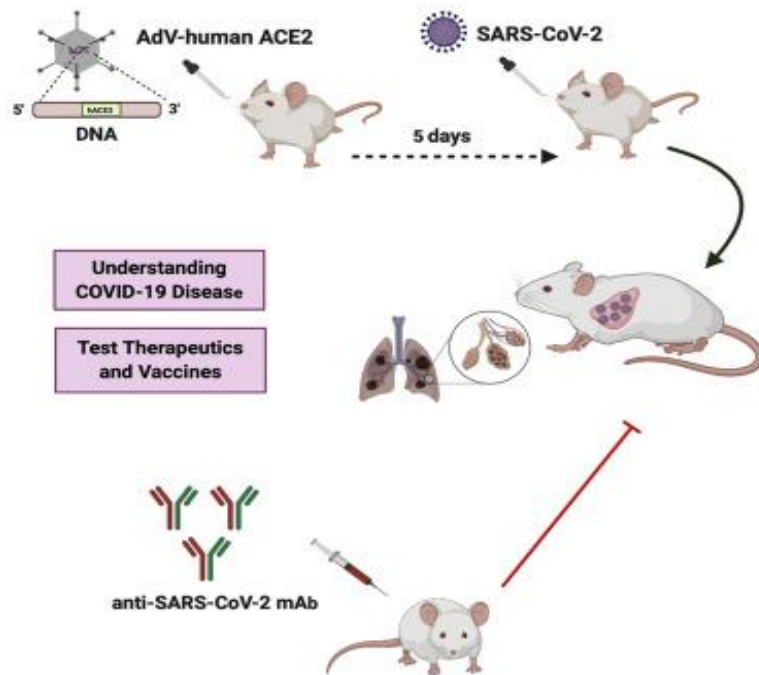
Křečci u onemocnění COVID-19 vykazovali úbytek hmotnosti, únavu, rozcuchanou srst, zhoršené držení těla a zrychlené dýchání. Zvláštností je, že inokulovaní křečci vykazovali větší úbytek váhy. Při pitvě byl popsán otok průdušnice se ztrátou řasinek, dále tvorba zánětu s exudátem v alveolách, který přecházel v nekrózu, a po týdnu docházelo k proliferaci tkáně. Takový nález je podobný i u lidí. Podobnost mezi klinickými projevy u lidí a křečků potvrzuje i výskyt virové RNA ve střevech se zánětem. U 2-10 % lidí se u onemocnění COVID-19 může objevit průjem. U lidí lze v občasných případech pozorovat srdeční selhání, u křečků byly popsány histopatologické změny myokardu (Chan *et al.*, 2020).

4 ZVÍŘATA V BOJI PROTI INFEKCI COVID-19

4.1. Zvířecí modely

Zvířecí modely jsou vybrány pro studium patogeneze infekce SARS-CoV-2, ale především pro vývoj nových vakcín a léků. V předklinické fázi studie se používají pro zjišťování účinnosti a bezpečnosti vakcín a antivirotik. Studuje se na nich délka trvání a typ imunitní odpovědi (Dhama *et al.*, 2020). Za ideální zvířecí model se považuje ten, který je citlivý vůči SARS-CoV-2 a vykazuje podobné klinické a histopatologické projevy jako u lidí. Dále by měl mít co nejpodobnější ACE2 s lidským. (Kumar *et al.*, 2020). Malé zvířecí modely, např. myši nebo křečci, se používají zejména k předběžnému hodnocení bezpečnosti vakcín a imunogenocity. Větší zvířata, především nehumánní primáti, zprostředkovávají lepší pochopení imunitních odpovědí u lidí (Gerds *et al.*, 2015).

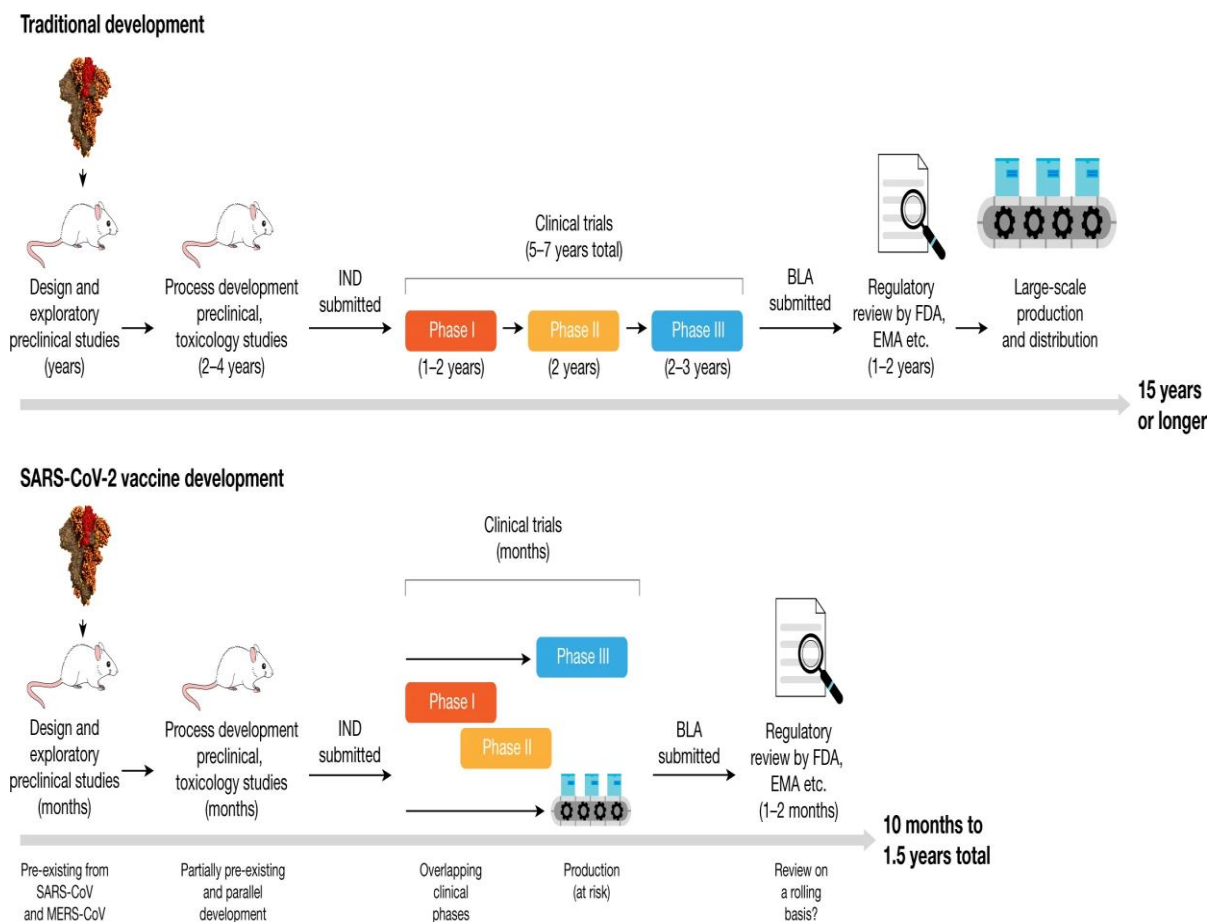
Vhodným zvířecím modelem je transgenní myš. Z důvodu odlišné struktury ACE a s ním spojená neschopnost replikace viru u normální myši, byla vyvinuta transgenní myš, která je schopna exprimovat ACE2 (Zhang *et al.*, 2020). To je možno docílit různými způsoby. Například lze myši trvale geneticky modifikovat tak, aby byly schopné exprimovat lidské ACE2. Nebo lze provést genetickou modifikaci S proteinu na SARS-CoV-2, aby byl schopný se navázat na myší ACE2. Další variantou k zajištění citlivosti myši je transdukce adenoviru exprimující hACE2 neboli lidský receptor. Jedná se pouze o přechodné řešení na pár dní, kdy dochází k replikaci viru SARS-Cov-2 v senzibilizovaných plicích (Muñoz-Fontela *et al.*, 2020).



Obrázek 14 – Model pro infekci SARS-CoV-2 prokazuje ochranu neutralizačními protilátkami (upraveno dle Hassan *et al.*, 2020)

Mezi další vhodné zvířecí modely zejména pro vakcíny patří *Makak Rhesus*, *Makak Cynomolgus*, kočkodan obecný, fretky, zlatí syřští křečci a možné jsou i kočky, i když nejsou příliš využívány (Cleary *et al.*, 2020).

Od vypuknutí pandemie je v různých fázích vývoje celkem 270 vakcín, které musí projít veškerým hodnocením (Šindelková, 2020). Vyrobené vakcíny nejprve prochází kontrolou kvality a studií farmaceutických kvalit zjišťující složení vakcíny. Poté jsou testovány na zvířatech pro zjištění prevence infekce a bezpečnosti vakcíny (European Medicines Agency, 2021). Tyto studie poskytují informace o buněčných reakcích v organismu zvířat a naznačují, jaké reakce by se daly očekávat u lidí (Dutta, 2020). Následně přecházejí do tří fází klinických studií. V této fázi se zjišťuje bezpečnost, imunitní odpověď a přiměřená dávka vakcíny na 20–100 lidských dobrovolnících. Ve druhé fázi jsou testovány stovky dobrovolníků pro objevení případných nežádoucích účinků a pro zjištění počtu a objemu dávky. Třetí fáze zahrnuje účinnost vakcín na více než tisíce dobrovolníků (European Medicines Agency, 2021). Po úspěšném absolvování klinické studie je vakcína posouzena výborem EMA, který doporučí vydání vakcíny na trh. Následné schvalování a uvolňování vakcín provádí Evropská komise (European Medicines Agency, 2021).



Obrázek 15 – Tradiční a zrychlený vývoj vakcín (upraveno dle Krammer, 2020)

Mezi celosvětově využívané vakcíny patří Pfizer/BioNTech od amerického výrobce, vakcína od britského výrobce AstraZeneca a další vakcíny Moderna, Novavax, Sinopharm, Sinovac, Johnson & Johnson a Sputnik V. Vakcína BNT162 od výrobce Pfizer a BioNTech, funguje na bázi RNA vakcíny. Po podání uměle vytvořené RNA dojde k produkci bílkovin viru (S proteinu), proti kterým se začnou tvořit protilátky (Šindelková, 2020). Na stejném principu funguje i vakcína mRNA-1273 od americké společnosti Moderna (Diamond and Pierson, 2020). Mezi virové vektorové vakcíny patří Ad26.COV2.S od společnosti Johnson & Johnson, ChAdOx1 nCoV-19 od výrobce AstraZeneca a také vakcína Sputnik V. Tyto vakcíny fungují na mechanismu podání jiného upraveného adenoviru. Americký výrobce Johnson & Johnson používá adenovir26, ruský Sputnik V vybral kombinaci Ad26 a Ad5 a AstraZeneca vyrábí vakcíny ze šimpanzího adenoviru (Šindelková, 2020). Další typ tzv. inaktivované vakcíny zastupují vakcíny od čínských společností Sinopharm a Sinovac (Zahid *et al.*, 2021). Posledním typem je vakcína fungující na základě obalových proteinů napodobující virus SARS-CoV-2. Na tomto principu funguje vakcína od amerického výrobce Novavax (Šindelková, 2020).

4.1.1. *Makak Rhesus*

Protože je *Makak Rhesus* fylogeneticky blízký k lidem, je výborný kandidát na zvířecí model. Makak již dříve posloužil jako zvířecí model pro jiné viry, například pro MERS-CoV. Jejich citlivost na SARS-CoV-2 potvrzuje studie, ze které vyplývá, že po podání izolátu viru dochází u makaků ke klinickým projevům, jako je dehydratace, nechutenství, zvýšení teploty, bledost, změny v pravidelnosti dýchání a úbytek hmotnosti. Při rentgenu plic byly nalezeny plicní infiltráty. U všech zvířat bylo detekováno nejvíce SARS-CoV-2 z výtěru z dutiny nosní. Klinické projevy trvaly po dobu jednoho týdne (Munster *et al.*, 2020).

Na makacích je testována řada vakcín. Patří mezi ně vakcína ChAdOx1 nCoV-19 od společnosti AstraZeneca. Podání vakcíny proběhlo bez vedlejších příznaků a byla pozorována dostatečná buněčná a humorální odpověď. Následně byli všichni makakové očkovaní izolátem SARS-CoV-2. U všech makaků, nezávisle na očkovaní, byla zjištěna virová nálož v nosní dutině. Všechny opice byly podrobeny histopatologickému vyšetření, kde u očkovaných nebyl v plicích zjištěn žádný patologický nález ani virus. Polovina nenačkovaných makaků měla intersticiální pneumonii a vysokou virovou nálož. Vakcína AstraZeneca umí chránit před poškozením plic již při první dávce. Očkování zabraňuje nebo velmi snižuje replikaci viru v dolních cestách dýchacích. Kvůli detekci viru v nosní dutině, není ale jasné, zda vakcína zabraňuje šíření viru (Van Doremalen *et al.*, 2020).

V další studii byla šesti makakům intramuskulárně podána vakcína BNT162b2 (Pfizer/BioNTech). Byla detekována rovnovážná buněčná (CD4+ T-buněk, CD8+ T-buňky) i humorální odpověď. IgG protilátky byly nalezeny po 14 dnech od první dávky, za týden po druhé dávce došlo k jejich zvýšené tvorbě. Virová RNA nebyla prokázána metodou RT-qPCR v dolních cestách dýchacích a zároveň nebyly pozorovány klinické projevy infekce. Vakcína byla schopna úplně potlačit onemocnění COVID-19, a proto byla studie brána za úspěšnou (Vogel *et al.*, 2021).

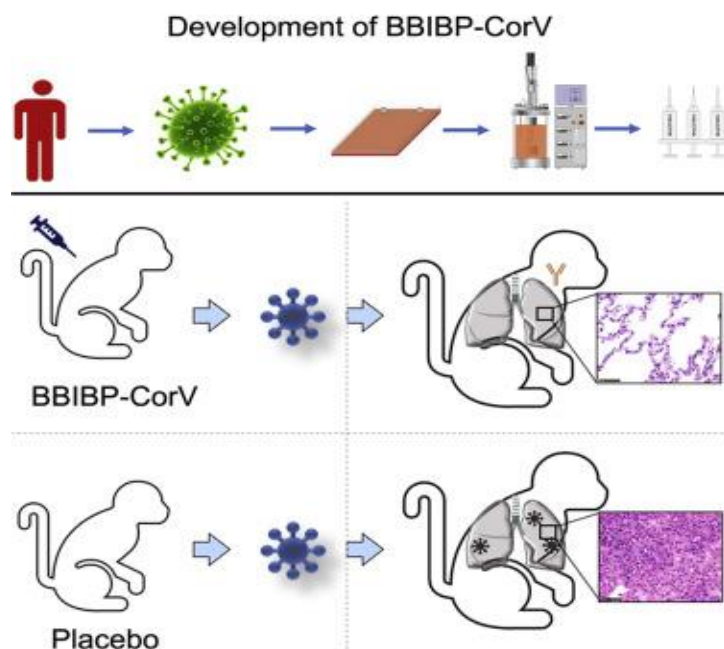
Vakcína mRNA-1273 od výrobce Moderna byla naočkovaná osmi makakům. Vakcína vyvolala silnou neutralizační odpověď, zároveň u sedmi naočkovaných nebyl v BAL (bronchoalveolární laváži) detekován virus a v dutině nosní nebyla pozorována žádná virová nálož. Také bylo detekováno zvýšené množství Th1 a CD4+ T buněk. V plicích opic nebyla zjištěna žádná patologie. Zajímavostí je, že očkovaní makakové byli schopni produkovat

účinnější specifické protilátky, než bylo pozorováno u lidí a také byla zjištěna vyšší inhibice vazby ACE2 (Corbett *et al.*, 2020).

Další vakcína, ověřovaná na makacích, byla od společnosti Johnson & Johnson. Ve výzkumu bylo zkoumáno 52 makaků, kteří byli očkovaní a následně imunizováni virem SARS-CoV-2. Po vakcinaci došlo k velké neutralizační protilátkové odpovědi a nebyl izolován virus v BAL a nosních stěrech až na jednu výjimku. Detekována byla i buněčná odpověď se zvýšením T lymfocytů. Zároveň byla v plicích pozorována pouze malá patologie oproti závažnému patologickému nálezu u kontrolních opic. Tímto nálezem byla potvrzena velká ochrana u většiny opic již po první dávce (Mercado *et al.*, 2020).

Jiný výzkum studoval čínskou vakcínu PiCoVacc (CoronaVac) od výrobce Sinovac. Makaci byli očkovaní středními nebo vyššími dávkami, na které reagovali zvýšením anti-S IgG protilátek. Překvapivě byly zjištěny vyšší titry protilátek u opic se střední dávkou oproti vysoké. Vědci tuto skutečnost přisuzovali individuálním rozdílům mezi zvířaty. Následně byly opice intratracheálně naočkované virem SARS-CoV-2. V plicích byly zjištěny jen mírné nálezy oproti nenačkovaným, u kterých probíhala těžká pneumonie. Mírné nálezy byly nejspíše přítomny z důvodu přímého způsobu podání viru. Zejména u vysoké dávky vakcíny nebyl virus detekován v žádných orgánech. Zatímco u střední dávky byl virus izolován z análních vzorků a z plic. Studie potvrdila účinnost vakcíny a dostačující ochranu (Gao *et al.*, 2020).

Výrobce Sinopharm testoval čínskou vakcínu BBIBP-CorV. Byly podány 2 dávky o různých objemech (2 µg a 8 µg) s odstupem 14 dní. Opice s vyšší dávkou vykazovaly vysokou hladinu neutralizačních protilátek (NAb). Všem zvířatům byl 10 dní po druhé imunizaci podán izolát viru. U kontrolních opic byl metodou PCR detekován virus ve vysokém množství ve výtěrech z krku a v plicích spojený s těžkou intersticiální pneumonií. Zatímco makaci s nižší dávkou vakcíny vykazovali razantní úbytek viru ve výtěrech z krku, u vyšší dávky nebyla zjištěna virová nálož. Ale u obou dávek virus nebyl izolován z plic. Výzkum zjistil, že vakcína je bezpečná a je schopna ochránit opice s nízkou i vysokou dávkou proti SARS-CoV-2 (Wang *et al.*, 2020).



Obrázek 16 – Vývoj BBIBP-CorV (upraveno dle Wang *et al.*, 2020)

Na zvířecích modelech se kromě vakcín vyvíjely i některé léky například Remdesivir (Willamson *et al.*, 2020). Jedná se o antivirotikum, které již dříve bylo vyrobeno pro léčbu infekce Ebola. Funguje na principu inhibice RNA dependentní polymerázy, která umožňuje replikaci viru (Ferner a Aronson, 2020). V této studii bylo 12 opic vystaveno viru SARS-CoV-2 a po 12 hodinách bylo šesti opicím intravenózně podán lék Remdesivir. Lék se průběžně podával s odstupem jednoho dne. U makaků byly potvrzeny snížené klinické projevy. Opicím byl lék podán v období nejvyšší úrovně replikace viru, i z toho důvodu by se měl lék podávat pacientům co nejdříve. Lék ale nebyl schopen zmírnit vylučování viru (Willamson *et al.*, 2020). WHO ovšem nedoporučila používat lék u lidí z důvodu nedostatku údajů o jeho účinnosti (WHO, 2020).

4.1.2. Makak *Cynomolgus*

Jako zvířecí model pro vakcínu NVX-CoV2373 (Novavax) byl vybrán *makak cynomolgus*. Po podání vakcíny docházelo k rozvoji imunitní reakce ve formě zvýšení anti-S IgG protilátek blokujiící vazbu S protein-ACE2. Dále došlo ke zvýšení CD8⁺ T buněk a CD4⁺ T lymfocytů. Opicím byly podány dvě dávky s rozmezím 21 dnů. Oproti kontrolním opicím, u kterých byly zjištěny těžké záněty plic, byly u očkovaných pozorovány pouze velmi malé záněty nebo vůbec žádné. S tím souvisí i absence viru v BAL a dutině nosní. Tato studie potvrzuje ochranu před vážnějším poškozením plic a také před šířením viru (Guebre-Xabier *et al.*, 2020).

4.1.3. Myši

Na testování britské vakcíny od výrobce AstraZeneca byly vybrány dva mutantní kmeny myši tzv. BALB/c a CD1. U očkovaných myši byla od 9–14 dnů po podání zkoumána imunitní odpověď. Došlo k velké humorální a buněčné odpovědi organismu. Převážně byly detekovány Th1 buňky, IgM protilátky a virově specifické neutralizační protilátky (Van Doremalen *et al.*, 2020). Ve Velké Británii byla studována role věku při imunizaci proti vakcíně ChAdOx1 nCoV-19. U starších myši došlo po první dávce vakcíny k menší stimulaci imunity než u mladších. Při druhém podání vakcíny došlo ke zvýšení produkci B buněk a T lymfocytů. Ovšem u první dávky nastal defekt při tvorbě granzymu B u CD8+ T buněk. Tento defekt je běžnou součástí stárnutí i u lidí. Druhá dávka vakcíny ovšem byla schopna tento defekt korigovat, což svědčí o důležitosti druhé dávky ChAdOx1 nCoV-19. Z této studie vyplývá, že pravděpodobně bude nutná i druhá dávka u lidí (Silva-Cayetano *et al.*, 2021).

4.1.4. Fretky

U osmi fretek podání vakcíny ChAdOx1 nCoV-19 proběhlo bez nežádoucích projevů. Po imunizaci virem SARS-Cov-2 nedošlo k výskytu příznaků onemocnění. U některých po první dávce vakcíny došlo po 2 měsících k dýchacím obtížím. Pitva prokázala alergickou reakci, kterou pravděpodobně zapříčinila vakcína proti viru psinky. Tato nežádoucí reakce neovlivnila výsledky výzkumu. Očkované fretky vykazovaly snížené množství virové nálože v dutině nosní. Tvorba neutralizačních protilátek byla posílena po druhé dávce vakcíny. Zajímavostí je, že po druhé dávce byly neutralizační protilátky dvakrát větší u intramuskulárního podání oproti intranasálnímu. Vakcína ChAdOx1 nCoV-19 se po této studii považuje za bezpečnou a účinnou s dostatečnou imunitní odpovědí (Marsh *et al.*, 2021).

4.1.5. Potkani

Na potkanech byla studována především toxicita čínské vakcíny Sinopharm. Vědci zkoumali akutní toxicitu, a proto byly potkanům naočkovány tři 8 µg dávky za sebou. Potkani byli 14 dní pozorně sledováni, ale nebyly pozorovány žádné vedlejší příznaky. Nebylo zjištěno žádné nechutenství, ani úbytek váhy s porovnáním s kontrolními potkany. 15. den byly usmrceny a při pitvě nebyly zjištěny žádné patologie. Vakcína je tedy považována za velmi bezpečnou, jelikož potkanům byla podána 24 µg dávka, která je 900× větší, než maximální tolerovaná dávka u lidí (Wang *et al.*, 2020).

4.1.6. Transgenní myši

Vakcína BNT162b2 (Pfizer a BioNTech) byla 2× podána bez vedlejších příznaků s intervalem tři týdnů. Po druhé dávce byly zjištěny vysoké titry protilátek třídy IgG a také vyvážená buněčná odpověď. Následně byl intranazálně podán virus SARS-CoV-2, který vyvolal u všech myší ztrátu hmotnosti. V kontrolní skupině myší se prokázala mírná nebo středně těžká intersticiální pneumonie. I když u naočkovaných nebyla detekována virová RNA, přesto se u některých jedinců prokázaly mírné plicní léze. I přesto je tato vakcína vysoce imunogenní a studie byla brána za úspěšnou (Ji *et al.*, 2021).

4.1.7. Zlatí syrští křečci

Vakcína od amerického výrobce Johnson & Johnson již po první dávce účinně chránila padesát křečků před vysokým úbytkem hmotnosti, vážné pneumonii, rozšířením viru do více orgánů a úmrtím. Tyto vážnější projevy byly pozorovány u nenačkovaných křečků po expozici vyšší dávce viru. U imunizovaných křečků došlo k vysoké tvorbě neutralizačních protilátek stanovené metodou ELISA. Histopatologie prokázala funkčnost této vakcíny na základě snížení nebo nepřítomnosti patologických nálezů již po prvním naočkování. V dýchacím systému byla detekována nízká virová nálož. Tato vakcína je účinná proti replikaci viru, ale zároveň zabraňuje vážnějšímu průběhu onemocnění COVID-19 (Tostanoski *et al.*, 2020).

4.2. Screeningová diagnostika viru SARS-CoV-2

Psi jsou již dlouho a hojně používáni díky svým čichovým schopnostem pro detekci výbušnin, zakázaných látek a své místo zaujímají i ve forenzní diagnostice. O biologicky detekční psy narůstá zájem v lékařské diagnostice kvůli schopnosti identifikovat karcinomy, bakteriální a virové infekce (např. malárie) (Hackner a Pleil, 2017).

Proto se začalo uvažovat o využití biologicky detekčních psů v rámci detekce onemocnění COVID-19. Jelikož viry postrádají svůj vlastní metabolismus, využívají metabolismus hostitelských buněk v organismu. Hostitelské buňky posléze uvolňují jako metabolit specifické těkavé organické látky, známé pod zkratkou VOC (volatile organic compound), které se liší od profilu VOC u zdravého člověka (Jendry *et al.*, 2020). Tyto těkavé organické látky s odlišným zápachem se dají identifikovat ze vzorků slin, potu, dechu, slz, moči a stolice (Grandjean *et al.*, 2020). Psi jsou schopni rozpoznávat i velmi nízké koncentrace látek. Důležitý a zajímavý poznatek je, že čichové receptory u psů jsou schopny rozpoznat koncentrace až 1,5 dílu na bilion látek (Jones *et al.*, 2020). Organické těkavé látky se běžně

měří pomocí plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem jako detektor (Angle *et al.*, 2016).

Detekční psi mají výhodu oproti laboratorním ve své mobilitě, a tudíž jsou schopni virus identifikovat na různých strategických místech, např. při vstupu na letiště, nádraží, stadion, aby se zabránilo šíření nemoci (Angle *et al.*, 2016). Výcvik a školení detekčních psů probíhá pomocí speciálního zařízení tzv. Detection Dog Training System, který vybírá vzorky prostřednictvím vygenerovaného systému. Toto zařízení je tvořeno sedmi pachovými otvory, ke kterým psi čichají a rozpoznávají vzorky. Pro výcvik byl vždy jeden pozitivní vzorek v jednom z otvorů a zbylé obsahovaly pouze negativní vzorky (Jendrny *et al.*, 2020). Pokud pes ve vzorku detekuje infekci, respektive VOC, sedne si nebo dá znamení přední tlapou a je odměněn pamlskem (Jendrny *et al.*, 2020; Sharun *et al.*, 2021). Pes je schopen vzorek detekovat během dvou sekund. Osm psů potřebovalo 5 dní výcviku, aby bylo možno říct, že detekce je vyšší než náhoda. Druhý den po trénování psi vykazovali průměrnou míru detekce 50 %, pátý den se již míra detekce zvýšila na 70 % a poté na 81 % (Jendrny *et al.*, 2020).

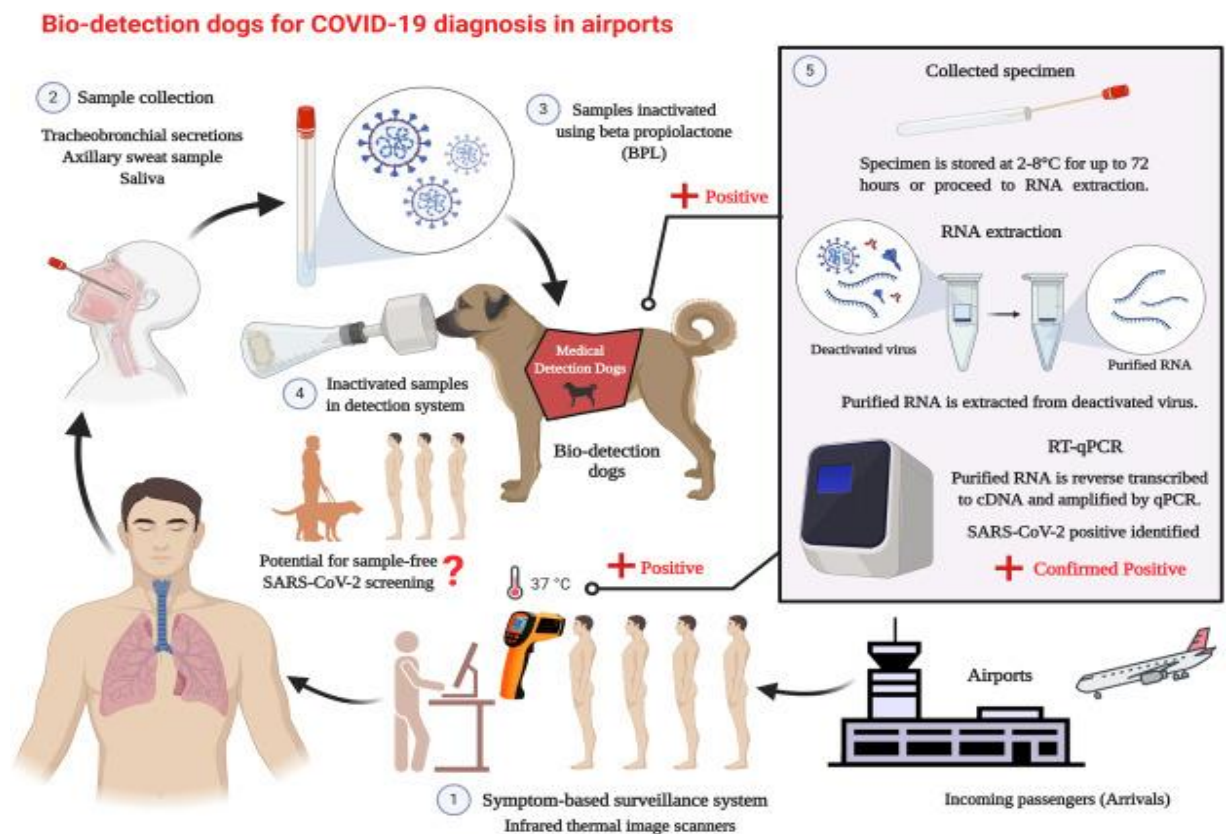
Další skupina odborníků ve Francii vycvičila psy k detekci viru z axilárního potu. Výhoda tohoto vzorku spočívá v tom, že ho není třeba inaktivovat, a tudíž je metoda rychlejší. Byla zjištěna průměrná citlivost detekce okolo 89 % ze 177 vzorků. Tento výzkum rovněž došel k závěru, že by psi mohli být používáni pro screeningovou diagnostiku a potvrzuje rozdílnost zápachu z potu mezi infikovanými lidmi a zdravou populací (Grandjean *et al.*, 2020).

V jedné studii bylo testováno a trénováno osm psů během jednoho týdne k identifikaci viru SARS-CoV-2 ze vzorků slin od pozitivních pacientů. Z důvodu bezpečnosti psů musely být všechny vzorky inaktivované prostřednictvím beta propiolaktonu (BPL). Vzorky byly napipetovány na vatový tampon do zkumavky. Z celkového počtu vzorků (1012) byli psi průměrně úspěšní z 94 %. Pozitivních vzorků bylo 157 a negativních 792, z toho psi špatně rozpoznali 63 vzorků. Tento předběžný výzkum poukazuje na schopnost psů rozlišovat infekci (Jendrny *et al.*, 2020).

Další výzkum trénoval necelé dva měsíce několik psů (plemena německý ovčák, labrador a německý černý ovčák). Psi byli trénováni na vzorcích faryngeálních sekretů. Jejich citlivost se u pozitivních testů pohybovala okolo 65 % a u negativních 89 %. U druhé studie s využitím použitých obličejových masek (1300 kusů) a oděvů stejného počtu od infikovaných pacientů byla citlivost u pozitivních vzorků 86 % a u negativních až 93% citlivost. I tato studie potvrzuje možnost využití psů ke screeningu onemocnění COVID-19 (Eskandari *et al.*, 2021).

Psi už jsou zkoušeni na letištích v některých zemích např. ve Spojených arabských emirátech, Finsku a Libanonu. Psi detekují infekci z axilárního potu od cestujících. Významné je, že z dat vyplývá schopnost psů rozeznat infekci dříve než samotné detekční testy. Tento závěr naznačuje, že psi mohou odhalit asymptomatické jedince. V Libanonu byli vybráni dva nejlepší kandidáti z 18 vycvičených psů pod dohledem chirurga a výzkumného pracovníka Riada Sarkise. Z 1680 cestujících tito dva psi identifikovali infekci u 158 lidí, kteří poté podstoupili PCR testy a jejich detekce byla úspěšně potvrzena. Jejich citlivost byla u negativních vzorků až 100 % a u pozitivních dosahovala 92 %. I tato data slibují do budoucna nápomocnou screeningovou metodu z důvodu její přesnosti a nižších finančních nákladů (Else, 2020).

Psi jsou u identifikace vystaveni různým vnějším vlivům a detekci také může ovlivňovat individuální posouzení daného psa. Proto psi nemohou plně nahradit molekulární diagnostické metody, ale mohli by hrát velmi důležitou roli v předběžném screeningu a zabránění šíření infekce. Jejich využití se nabízí i v rozvojových zemích, kde je omezený přístup k molekulárně diagnostickým testům např. PCR (Sharun *et al.*, 2021).



Obrázek 17 – Biologicky detekční psi pro diagnostiku COVID-19 na letištích (upraveno dle Sharun *et al.*, 2021)

ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout informace o výskytu onemocnění COVID-19 u zvířat a jejich využití v boji proti infekci COVID-19. Za ohnisko nákazy je považován trh s mořskými plody a divokými zvířaty v městě Wu-chan v Číně, odkud se nákaza rozšířila do celého světa. Z různých studií a výzkumů vyplývá, že vhodný kandidát na možného původce je netopýr *Rhinolophus affinis*, u kterého byl objeven podobný koronavirus RaTG-13 s 96% genomovou sekvencí. Z 91,02% podobný koronavir tzv. Pangolin-CoV byl izolován u malajských luskounů. Důležitost tohoto koronaviru je v tom, že má 97% homologii s RBD, který se váže na ACE2. Proto se někteří vědci domnívají, že luskouni mohli hrát určitou roli v přenosu nákazy na člověka. V lednu 2021 probíhala ve městě Wu-chan mezinárodní mise mající za úkol odhalit původce a cestu přenosu nákazy na lidskou populaci. Koncem března WHO oznámila, že z důvodu nedostačujících informací a dat zatím tyto informace nelze určit. Zoolog Dr. Peter Daszak však tvrdí, že trh ve Wu-chanu byl zásobován farmami z jižní Číny chovající exotická zvířata, která jsou náchylná na koronaviry. Dále říká, že se netopýr s koronavirem s 96% homologií vyskytoval poblíž farmy. Z těchto důvodů se domnívá, že prvotním zdrojem nákazy jsou tyto farmy.

U některých zvířat se infekce COVID-19 objevila po přímém nebo nepřímém kontaktu s lidmi. Tento přirozený výskyt viru se týká psů, koček, kočkovitých šelem, norků, goril a fretky. Doposud, kromě norků, nebylo hlášeno žádné riziko přenosu z infikovaných zvířat na člověka. Obecně mají zvířata mírnější průběh onemocnění než lidé a často mají asymptomatický průběh. Mezi příznaky po přirozené expozici patří únava, rýma, kašel, nechutenství nebo zvýšená teplota. Při histopatologických vyšetřeních u některých zvířat byly popsány mírné změny na plicích. Závažné příznaky, často končící smrtí, byly pozorovány u norků na farmách. Norci převážně umírali na intersticiální pneumonii a občasně na přídatné nemoci. Vzhledem k tomu, že u norků docházelo k mutacím viru a k následnému přenosu na lidi, bylo nutné zavést přísná opatření. Proto muselo být v Dánsku usmrceno 17 milionů norků.

Zvířata jsou nenahraditelná při vývoji vakcín a léků. Vhodnými zvířecími modely se ukázaly *Makak Rhesus*, *Makak Cynomolgus*, fretky, zlatí syřští křečci a myši. Na nich byla testována imunitní odpověď a bezpečnost vakcín, které pak úspěšně splnily i klinické studie na lidech.

Psi mohou být nápomocni ve screeningové diagnostice viru SARS-CoV-2. Měli vysokou úspěšnost v detekci viru ze vzorků z axilárního potu, faryngeálních sekretů nebo z předmětů. Tato metoda se zdá být velmi nadějná. Metoda není nákladná a především je mobilní. Dala by se tak využívat na strategických místech, například na letištích, stadionech nebo v obchodních centrech. Metoda se již zkouší na letištích v některých zemích. Mohla by se také využívat v rozvojových státech, kde nemají dostatečné možnosti pro zajištění molekulárně diagnostických testů, především PCR, které patří mezi nejčastější vyšetření pro zjištění onemocnění COVID-19 u lidí a zvířat.

POUŽITÁ LITERATURA

1. ABOUBAKR, Hamada A., Tamer A. SHARAFELDIN a Sagar M. GOYAL. Stability of SARS-CoV-2 and other coronaviruses in the environment and on common touch surfaces and the influence of climatic conditions: A review. *Transboundary and Emerging Diseases* [online]. WILEY, 2021, 30 June 2020, 68(2), s. 296-312. ISSN 1865-1674
2. ALANAGREH, Lo'ai, Foad ALZOUGHLOOL a Manar ATOUM. The genomic organization of SARS-CoV-2. In: *The Human Coronavirus Disease COVID-19: Its Origin, Characteristics, and Insights into Potential Drugs and Its Mechanisms* [online]. Pathogens, 2020, 29 April 2020 [cit. 2021-04-15]. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2076-0817/9/5/331/htm>
3. AL-OMARI, Awad, Ali A. RABAAN, Samer SALIH, Jaffar A. AL-TAWFIQ a Ziad A. MEMISH. MERS coronavirus outbreak: Implications for emerging viral infections. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* [online]. 2019, 2018 Oct 18, 93(3), s. 265-285. ISSN 07328893
4. ANDERSEN, Kristian G., Andrew RAMBAUT, W. Ian LIPKIN, Edward C. HOLMES a Robert F. GARRY. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine* [online]. Springer Nature, 2020, 17 March 2020, 26(4), s. 450-452. ISSN 1546-170X
5. ANGLE, T. Craig, Thomas PASSLER, Paul L. WAGGONER, Terrence D. FISCHER, Bart ROGERS, Patricia K. GALIK a HERRIS S. MAXWELL. Real-Time Detection of a Virus Using Detection Dogs. *Frontiers in Veterinary Science* [online]. Frontiers Media S.A, 2007 - 2021, 8 January 2016, 2 [cit. 2021-6-6]. ISSN 2297-1769. Dostupné z: doi:10.3389/fvets.2015.00079
6. ASTUTI, Indwiani a YSRAFIL. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* [online]. Diabetes India, 2020, July–August 2020, 14(4), s. 407-412. ISSN 18714021

7. BAILEY, Adam L. a Michael S. DIAMOND. A Crisp(r) New Perspective on SARS-CoV-2 Biology. *Cell* [online]. Cellpress, 2021, January 2021, 184(1), s. 15-17. ISSN 00928674.
8. BALARAMAN, Velmurugan, Barbara S DROLET, Natasha N GAUDREAUULT, et al. Susceptibility of Midge and Mosquito Vectors to SARS-CoV-2. *Journal of Medical Entomology* [online]. 2021, 2021 March 4 [cit. 2021-5-16]. ISSN 1938-2928. Dostupné z: doi:10.1093/jme/tjab013
9. BANERJEE, Arinjay, Kirsten KULCSAR, Vikram MISRA, Matthew FRIEMAN a Karen MOSSMAN. Bats and Coronaviruses. *Viruses* [online]. 2019, 9 January 2019, 11(1) [cit. 2021-04-14]. ISSN 1999-4915. Dostupné z: doi:10.3390/v11010041
10. BARTLETT, Susan L., Diego G. DIEL, Leyi WANG, et al. SARS-COV-2 INFECTION AND LONGITUDINAL FECAL SCREENING IN MALAYAN TIGERS (PANTHERA TIGRIS JACKSONI), AMUR TIGERS (PANTHERA TIGRIS ALTAICA), AND AFRICAN LIONS (PANTHERA LEO KRUGERI) AT THE BRONX ZOO, NEW YORK, USA. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* [online]. 2020, 12 January 2021, 51(4), s. 733-744. ISSN 1042-7260
11. BERMINGHAM, A., MA CHAND, Brown CS, et al. Severe respiratory illness caused by a novel coronavirus, in a patient transferred to the United Kingdom from the Middle East, September 2012. *Eurosurveillance* [online]. Stockholm: The European Centre for the disease Prevention and control, 2012, 04/Oct/2012, 17(40) [cit. 2021-04-13]. ISSN 1560-7917. Dostupné z: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/ese.17.40.20290-en>
12. BIDOKHTI, Mehdi R. M., Madeleine TRÁVÉN, Neel K. KRISHNA, Muhammad MUNIR, Sándor BELÁK, Stefan ALENIUS a Martí CORTEY. Evolutionary dynamics of bovine coronaviruses: natural selection pattern of the spike gene implies adaptive evolution of the strains. *Journal of General Virology* [online]. 2013, 01 September 2013, 94(9), s. 2036-2049. ISSN 1465-2099
13. BOLANOS, Joe, Vicky YAMAMOTO, John FIALLOS, et al. Illustration of COVID-19 Structure. In: *COVID-19: Review of a 21st Century Pandemic from Etiology to Neuro-psychiatric Implications* [online]. *Journal of Alzheimer's Disease: IOS Press*

All rights reserved., 2020, 15 September 2020 [cit. 2021-04-15]. Dostupné z: <https://content.iospress.com/articles/journal-of-alzheimers-disease/jad200831>

14. BONI, Maciej, Philippe LEMEY, David L. ROBERTSON, Xiaowei JIANG, Tommy Tsan-Yuk LAM, Blair PERRY, Todd CASTOE a Andrew RAMBAUT. RESEARCHERS IDENTIFY EVOLUTIONARY ORIGINS OF SARS-COV-2. University of Glasgow: UNIVERSITY NEWS [online]. Glasgow, 2020, 28 Jul 2020 [cit. 2021-04-19]. Dostupné z: https://www.gla.ac.uk/news/headline_732781_en.html
15. BOSCO-LAUTH, Angela M. Porter, Airn E. HARTWIG, Stephanie M. PORTER, et al. Experimental infection of domestic dogs and cats with SARS-CoV-2: Pathogenesis, transmission, and response to reexposure in cats. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America [online]. National Academy of Sciences, 2021, September 29, 2020;, 42(117), s. 26382- 26388. ISSN 1091-6490
16. CALISHER, Charles H., James E. CHILDS, Hume E. FIELD, Kathryn V. HOLMES a Tony SCHOUNTZ. Bats: Important Reservoir Hosts of Emerging Viruses. Clinical Microbiology Reviews [online]. Washington, 2006, 19(3), s. 531-545. ISSN 1098-6618
17. Cases of SARS-CoV-2 in Animals in the United States. United States Department of Agriculture: Overview of cases [online]. Washington, 1862, 2021 [cit. 2021-5-16]. Dostupné z: <https://www.aphis.usda.gov/aphis/dashboards/tableau/sars-dashboard>
18. CLEARY, Simon J., Simon C. PITCHFORD, Richard T. AMISON, et al. Animal models of mechanisms of SARS-CoV-2 infection and COVID-19 pathology. British Journal of Pharmacology [online]. John Wiley, 2021, 27 May 2020, 177(21), s. 4851-4865. ISSN 0007-1188
19. COLEMAN, Christopher M., Krystal L. MATTHEWS, Lindsay GOICOCHEA a Matthew B. FRIEMAN. Wild-type and innate immune-deficient mice are not susceptible to the Middle East respiratory syndrome coronavirus. Journal of General Virology [online]. 2014, 2014 Feb, 95(2), s. 408-412. ISSN 1465-2099
20. CORBETT, Kizzmekia S., Barbara FLYNN, Kathryn E. FOULDS, et al. Evaluation of the mRNA-1273 Vaccine against SARS-CoV-2 in Nonhuman Primates. New England

- Journal of Medicine [online]. NEJM Group, 2020, 28 July 2020, 383(16), s. 1544-1555. ISSN 1533-4406
21. CORMAN, Victor M., Joerg JORES, Benjamin MEYER, et al. Antibodies against MERS Coronavirus in Dromedary Camels, Kenya, 1992–2013. *Emerging Infectious Diseases* [online]. U.S. Department of Health & Human Services, 2014, August 2014, 20(8) [cit. 2021-04-13]. ISSN 1080-6040. Dostupné z: doi:10.3201/eid2008.140596
 22. Coronavirus: Four lions test positive for Covid-19 at Barcelona Zoo. *BBC News* [online]. London, 2021, 8 December 2020 [cit. 2021-5-18]. Dostupné z: <https://www.bbc.com/news/world-europe-55229433>
 23. COSTEIRA, Ricardo, Karla A. LEE, Benjamin MURRAY, et al. Estrogen and COVID-19 symptoms: associations in women from the COVID Symptom Study. *Medrxiv the preprint server for health sciences* [online]. 2020, August 01, 2020 [cit. 2021-04-10]. Dostupné z: doi:10.1101/2020.07.30.20164921
 24. Covid-19 Dashboard by the center for the systems Science and Engineering (CSSE) at Johns LiHopkins University (JHU). *JOHNS HOPKINS UNIVERSITY MEDICINE* [online]. Baltimore: JOHNS HOPKINS UNIVERSITY MEDICINE, 2021 [cit. 2021-04-06]. Dostupné z: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
 25. COVID-19 vaccines: development, evaluation, approval and monitoring. *European Medicines Agency: Human regulatory* [online]. Netherlands: European Medicines Agency, 1995-2021, 2021 [cit. 2021-6-5]. Dostupné z: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/vaccines-covid-19/covid-19-vaccines-development-evaluation-approval-monitoring>
 26. CUCINOTTA, Domenico a Maurizio VANELLI. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta biomedica* [online]. 2020, 2020 Mar 19., 91(1), s. 157-160. ISSN 2531-6745.
 27. CUI, Jie, Fang LI a Zheng-Li SHI. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology* [online]. 2019, 10 December 2018, 17, s. 181–192 [cit. 2021-04-13]. ISSN 1740-1534. Dostupné z: doi:10.1038/s41579-018-0118-9
 28. DAMAS, Joana, Graham M. HUGHES, Kathleen C. KEOUGH, et al. Broad host range of SARS-CoV-2 predicted by comparative and structural analysis of ACE2 in

- vertebrates. Proceedings of the National Academy of Sciences [online]. 2020, August 21, 2020, 117(36), s. 22311-22322. ISSN 0027-8424
29. DHAMA, Kuldeep, Khan SHARUN, Ruchi TIWARI, Maryam DADAR, Yashpal Singh MALIK, Karam Pal SINGH a Wanpen CHAICUMPA. COVID-19, an emerging coronavirus infection: advances and prospects in designing and developing vaccines, immunotherapeutics, and therapeutics. Human Vaccines & Immunotherapeutics [online]. 2020, 18 March 2020, 16(6), s. 1232-1238. ISSN 2164-5515
30. DIAMOND, Michael S. a Theodore C. PIERSON. The Challenges of Vaccine Development against a New Virus during a Pandemic. Cell Host & Microbe [online]. CellPress, 2020, 13 May 2020, 27(5), s. 699-703. ISSN 1931-3128
31. DOUCLEFF, Michaeleen. WHO Points To Wildlife Farms In Southern China As Likely Source Of Pandemic. WBUR [online]. Boston, 2021, March 15, 2021 [cit. 2021-04-19]. Dostupné z: <https://www.wbur.org/npr/977527808/who-points-to-wildlife-farms-in-southwest-china-as-likely-source-of-pandemic>
32. DUTTA, Ashok Kumar. Vaccine Against Covid-19 Disease – Present Status of Development. The Indian Journal of Pediatrics [online]. Springer nature, 2020, 3 September 2020, 87(10), s. 810-816. ISSN 0973-7693
33. ELSE, Holly. Can dogs smell COVID? Here's what the science says. Nature [online]. Springer nature, 2020, 23 November 2020, 587(7835), s. 530-531. ISSN 1476-4687
34. ESAKANDARI, Hanie, Mohsen NABI-AFJADI, Javad FAKKARI-AFJADI, Navid FARAHMANDIAN, Seyed-Mohsen MIRESMAEILI a Elham BAHREINI. A comprehensive review of COVID-19 characteristics. Biological Procedures Online [online]. Springer Nature, 2020, 04 August 2020, 22(1) [cit. 2021-04-15]. ISSN 1480-9222. Dostupné z: doi:10.1186/s12575-020-00128-2
35. ESKANDARI, Esmail, Milad AHMADI MARZALEH, Hassan ROUDGARI, et al. Sniffer dogs as a screening/diagnostic tool for COVID-19: a proof of concept study. BMC Infectious Diseases [online]. Springer nature, 2021, 5 March 2021, 21(1) [cit. 2021-6-6]. ISSN 1471-2334. Dostupné z: doi:10.1186/s12879-021-05939-6

36. ESLAMI, Hadi a Mahrokh JALILI. The role of environmental factors to transmission of SARS-CoV-2 (COVID-19). *AMB Express* [online]. 2020, 15 May 2020, 10(92) [cit. 2021-04-20]. ISSN 2191-0855. Dostupné z: doi:10.1186/s13568-020-01028-0
37. ESZTERHAS, Suzi. Sunda pangolin (*Manis javanica*) climbing branch, Singapore Night Safari, Singapore. Captive. In: *Nature picture library* [online]. USA: Wild Wonders of China, 2002, 17 Mar 2020 [cit. 2021-04-19]. Dostupné z: <https://www.naturepl.com/stock-photo-sunda-pangolin-manis-javanica-climbing-branch-singapore-night-safari-nature-image01644338.html>
38. FERNER, Robin E a Jeffrey K ARONSON. Remdesivir in covid-19. *The British Medical Journal* [online]. British Medical Association, 2020, 22 April 2020, 369 [cit. 2021-6-6]. ISSN 1756-1833. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.m1610
39. FORSTOVÁ, Jitka a Martin FRAIBERK. Diverzita virů. *Živa* [online]. Praha: Academia, Středisko společných činností, 2019, 5 [cit. 2021-04-15]. ISSN 0044-4812. Dostupné z: <https://ziva.avcr.cz/files/ziva/pdf/diverzita-viru.pdf>
40. FOUCHIER, Ron A. M., Nico G. HARTWIG, Theo M. BESTEBROER, Berend NIEMEYER, Jan C. de JONG, James H. SIMON a Albert D. M. E. OSTERHAUS. A previously undescribed coronavirus associated with respiratory disease in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. National Academy of Sciences, 2004, April 20, 2004, 101(16), s. 6212-6216. ISSN 1091-6490
41. FREULING, Conrad M., Angele BREITHAUPT, Thomas MÜLLER, et al. Susceptibility of Raccoon Dogs for Experimental SARS-CoV-2 Infection. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 2020, August 20, 2020., 26(12), s. 2982-2985. ISSN 1080-6040.
42. GANDHI, Monica, Deborah S. YOKOE a Diane V. HAVLIR. Asymptomatic Transmission, the Achilles' Heel of Current Strategies to Control Covid-19. *New England Journal of Medicine* [online]. 2020, 2020 Apr 24, 382(22), s. 2158-2160. ISSN 0028-4793
43. GAO, Qiang, Linlin BAO, Haiyan MAO, et al. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science* [online]. American Association for the Advancement of Science, 2020, 3 Jul 2020, 369(6499), s. 77-81. ISSN 1095-9203

44. GERDTS, Volker, Heather L. WILSON, F. MEURENS, et al. Large Animal Models for Vaccine Development and Testing. *ILAR Journal* [online]. 2015, 56(1), s. 53-62. ISSN 1930-6180
45. GHOTBIZADEH, Fahimeh, Farzaneh NAZARI, Sedigheh HANTOUSHZADEH, Zahra PANAHI a Zahra NAEIJI. Investigation of SARS-CoV-2 Ability to Pass Through the Placenta. *Shiraz E-Medical Journal* [online]. Kowsar, 2021, January 9, 2021 [cit. 2021-04-16]. ISSN 1735-1391. Dostupné z: doi:10.5812/semj.110047
46. GIBBONS, Ann. Captive gorillas test positive for coronavirus. *Science* [online]. Washington: American Association for the Advancement of Science, 2021, January 12, 2021 [cit. 2021-5-18]. Dostupné z: <https://www.sciencemag.org/news/2021/01/captive-gorillas-test-positive-coronavirus>
47. GINER, Jacobo, Sergio VILLANUEVA-SAZ, Ana Pilar TOBAJAS, et al. SARS-CoV-2 Seroprevalence in Household Domestic Ferrets (*Mustela putorius furo*). *Animals* [online]. 2021, 2 March 2021, 11(3) [cit. 2021-5-18]. ISSN 2076-2615. Dostupné z: doi:10.3390/ani11030667
48. GORLA, Uma Sankar a GSN Koteswara RAO. SARS-CoV-2: The Prominent Role of Non-structural Proteins (NSPs) in COVID-19. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* [online]. Association of Pharmaceutical Teachers of India, 2020, 13-08-2020, 54(3), s. 381-389. ISSN 00195464
49. GORMAN, Steve. Gorillas at San Diego Zoo Safari Park diagnosed with COVID-19. *Reuters: Healthcare & Pharmaceuticals* [online]. London, 2021, January 12, 2021 [cit. 2021-5-18]. Dostupné z: <https://www.reuters.com/business/healthcare-pharmaceuticals/two-gorillas-san-diego-zoo-test-positive-covid-19-2021-01-11/>
50. GRANDJEAN, Dominique, Riad SARKIS, Clothilde LECOQ-JULIEN, et al. Can the detection dog alert on COVID-19 positive persons by sniffing axillary sweat samples? A proof-of-concept study. *PLOS ONE* [online]. 2020, 10 December 2020, 15(12) [cit. 2021-6-6]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0243122
51. GUEBRE-XABIER, Mimi, Nita PATEL, Jing-Hui TIAN, et al. NVX-CoV2373 vaccine protects cynomolgus macaque upper and lower airways against SARS-CoV-2 challenge. *Vaccine* [online]. Elsevier, 2020, 25 November 2020, 38(50), s. 7892-7896. ISSN 0264-410X

52. HACKNER, Klaus a Joachim PLEIL. Canine olfaction as an alternative to analytical instruments for disease diagnosis: understanding ‘dog personality’ to achieve reproducible results. *Journal of Breath Research* [online]. IOP Publishing, 2017, 9 January 2017, 11(1) [cit. 2021-6-6]. ISSN 1752-7163. Dostupné z: doi:10.1088/1752-7163/aa5524
53. HAMID, Saima, Mohammad Yaseen MIR a Gulab Khan ROHELA. Novel coronavirus disease (COVID-19): a pandemic (epidemiology, pathogenesis and potential therapeutics). *New Microbes and New Infections* [online]. 2020, May 2020, 35(3) [cit. 2021-04-05]. ISSN 2052-2975. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100679>
54. HASSAN, Ahmed O., James Brett CASE, Emma S. WINKLER, et al. A SARS-CoV-2 Infection Model in Mice Demonstrates Protection by Neutralizing Antibodies. *Cell* [online]. Cell Press, 2021, June 10, 2020 [cit. 2021-6-6]. Dostupné z: [https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(20\)30742-X?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS009286742030742X%3Fshowall%3Dtrue#](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(20)30742-X?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS009286742030742X%3Fshowall%3Dtrue#)
55. HOSIE, Margaret J., Katrin HARTMANN, Regina HOFMANN-LEHMANN, et al. SARS-Coronavirus (CoV)-2 and cats. *European Advisory Board on Cat Diseases* [online]. 2016, 31 January, 2021 [cit. 2021-5-19]. Dostupné z: <http://www.abcdcatsvets.org/sars-coronavirus-2-and-cats/>
56. HOSSAIN, Md. Golzar, Aneela JAVED, Sharmin AKTER a Sukumar SAHA. SARS-CoV-2 host diversity: An update of natural infections and experimental evidence. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* [online]. 2020, 25 June 2020 [cit. 2021-04-20]. ISSN 16841182. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmii.2020.06.006
57. HU, Dan, Changqiang ZHU, Yi WANG, et al. Virome analysis for identification of novel mammalian viruses in bats from Southeast China. *Scientific Reports* [online]. 2017, 07 September 2017, 7(1) [cit. 2021-04-19]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-017-11384-w
58. HUANG, Chaolin, Yeming WANG, Xingwang LI, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet* [online]. 2020, 15–21 February 2020, 395(10223), s. 497-506. ISSN 01406736.

59. CHAN, Jasper Fuk-Woo, Anna Jinxia ZHANG, Shuofeng YUAN, et al. Simulation of the Clinical and Pathological Manifestations of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in a Golden Syrian Hamster Model: Implications for Disease Pathogenesis and Transmissibility. *Clinical Infectious Diseases* [online]. Infectious Diseases Society of America, 2020, 26 March 2020, 71(9), s. 2428-2446. ISSN 1537-6591
60. CHAN, Jasper Fuk-Woo, Kin-Hang KOK, Zheng ZHU, Hin CHU, Kelvin Kai-Wang TO, Shuofeng YUAN a Kwok-Yung YUEN. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerging Microbes & Infections* [online]. England, 2020, 28 January 2020, 9(1), s. 221-236. ISSN 2222-1751
61. CHEN, Yun, Yao GUO, Yihang PAN a Zhizhuang Joe ZHAO. Structure analysis of the receptor binding of 2019-nCoV. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. 2020, April 2020, 525(1), s. 135-140. ISSN 0006291X
62. CHINI, Maïthé. Coronavirus: Belgium reaches 7,284 confirmed cases. *The Brussels times* [online]. Brusel, 2021, 27 March 2020 [cit. 2021-5-17]. Dostupné z: <https://www.brusselstimes.com/news/belgium-all-news/102984/coronavirus-belgium-reaches-7284-confirmed-cases/>
63. JAHANGIR, Mohammed Asadullah, Abdul MUHEEM a Midhat Fatima RIZVI. Coronavirus (COVID-19): History, Current Knowledge and Pipeline Medications. *International Journal of Pharmaceutics & Pharmacology* [online]. 2020, 31 March 2020, 4(1), s. 1-9. ISSN 25813080.
64. JELÍNEK, Tomáš, SMOLKOVÁ, Karla. Jak se vyznat ve vakcínách? Velký průvodce očkováním proti COVID-19. FELCANOVÁ, Tereza, editor. In: *Medici PRO Očkování*. [online]. 2021. Dostupné z: <https://www.mediciproockovani.cz/velky-pruvodce-ockovanim-proti-covid-19>
65. JENDRNY, Paula, Claudia SCHULZ, Friederike TWELE, et al. Scent dog identification of samples from COVID-19 patients – a pilot study. *BMC Infectious Diseases* [online]. 2020, 23 July 2020, 20(1) [cit. 2021-6-6]. ISSN 1471-2334. Dostupné z: doi:10.1186/s12879-020-05281-3
66. JI, Rui-Ru, Yajin QU, Hua ZHU, Yumei YANG, Annette B. VOGEL, Ugur SAHIN, Chuan QIN a Aimin HUI. BNT162b2 Vaccine Encoding the SARS-CoV-2 P2 S

- Protects Transgenic hACE2 Mice against COVID-19. *Vaccines* [online]. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2021, 1 April 2021, 9(4) [cit. 2021-6-6]. ISSN 2076-393X. Dostupné z: doi:10.3390/vaccines9040324
67. JONES, Robert T, Claire GUEST, Steve W LINDSAY, Immo KLEINSCHMIDT, John BRADLEY, Sarah DEWHIRST, Anna LAST a James G LOGAN. Could bio-detection dogs be used to limit the spread of COVID-19 by travellers? *Journal of Travel Medicine* [online]. Oxford University Press, 2020, 12 August 2020, 27(8) [cit. 2021-6-6]. ISSN 1708-8305. Dostupné z: doi:10.1093/jtm/taaa131
68. KAHN, Jeffrey, MCINTOSH a KENNETH. History and Recent Advances in Coronavirus Discovery. *The Pediatric Infectious Disease Journal* [online]. November 2005, 24(11), s. 223-227. ISSN 1532-0987
69. KIM, Young-Il, Seong-Gyu KIM, Se-Mi KIM, et al. Infection and Rapid Transmission of SARS-CoV-2 in Ferrets. *Cell host and microbe* [online]. 2020, 27(5), s. 704-709. ISSN 19313128
70. KIROS, Mulugeta, Henok ANDUALEM, Teklehaimanot KIROS, Wasihun HAILEMICHAEL, Sisay GETU, Alene GETENEH, Derbie ALEMU a Woldaregay Erku ABEGAZ. COVID-19 pandemic: current knowledge about the role of pets and other animals in disease transmission. *Virology Journal* [online]. BioMed Central, 2020, 2 October 2020, 17(1) [cit. 2021-6-16]. ISSN 1743-422X. Dostupné z: doi:10.1186/s12985-020-01416-9
71. KLIKA, Jan a Jan PAČES. Přehledně: Nejznámější mutace viru SARS-CoV-2 v České republice. *Akademie věd České republiky: Věda a výzkum* [online]. Praha: Středisko společných činností AV ČR, 28. 05. 2021 [cit. 2021-6-6]. Dostupné z: <https://www.avcr.cz/cs/veda-a-vyzkum/biologie-a-lekarske-vedy/Prehledne-Nejznamejsi-mutace-viru-SARS-CoV-2-v-Ceske-republice/>
72. Komenda M., Karolyi M., Bulhart V., Žofka J., Brauner T., Hak J., Jarkovský J., Mužík J., Blaha M., Kubát J., Klimeš D., Langhammer P., Daňková Š., Májek O., Bartůňková M., Dušek L. COVID-19: Přehled aktuální situace v ČR. *Onemocnění aktuálně* [online]. Praha: Ministerstvo zdravotnictví ČR, 2020 [cit. 06.04.2021]. Dostupné z: <https://onemocneni-aktualne.mzcr.cz/covid-19>.

73. KOOPMANS, Marion. SARS-CoV-2 and the human-animal interface: outbreaks on mink farms. *The Lancet Infectious Diseases* [online]. 2021, JANUARY 01, 2021, 21(1), s. 18-19. ISSN 14733099
74. KRAMMER, Florian. Traditional and accelerated vaccine-development pipelines. SARS-CoV-2 vaccines in development [online]. *Nature: Springer nature*, 2020, 23 September 2020 [cit. 2021-6-5]. Dostupné z: https://www.nature.com/articles/s41586-020-2798-3?utm_source=twitter&utm_medium=social&utm_content=organic&utm_campaign=NGMT_USG_JC01_GL_Nature
75. KUMAR, Suresh, Pardeep Kumar YADAV, Ramesh SRINIVASAN a Nagarajan PERUMAL. Selection of animal models for COVID-19 research. *VirusDisease* [online]. 2020, 2 December 2020, 31(4), s. 453-458. ISSN 2347-3517
76. KUMAR, Swatantra, Rajni NYODU, Vimal K. MAURYA a Shailendra K. SAXENA. Morphology, Genome Organization, Replication, and Pathogenesis of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). SAXENA, Shailendra K. *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, and Therapeutics* [online]. 1. Singapore: Springer, 2020, s. 23-31 [cit. 2021-04-15]. ISBN 978-981-15-4814-7. Dostupné z: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-15-4814-7_3
77. KUTTER, Jasmin S., Dennis DE MEULDER, Theo M. BESTEBROER, Pascal LEXMOND, Ard MULDER, Mathilde RICHARD, Ron A. M. FOUCHIER a Sander HERFST. SARS-CoV and SARS-CoV-2 are transmitted through the air between ferrets over more than one meter distance. *Nature Communications* [online]. Springer Nature Limited, 2021, 12 March 2021, 12(1) [cit. 2021-5-19]. ISSN 2041-1723. Dostupné z: [doi:10.1038/s41467-021-21918-6](https://doi.org/10.1038/s41467-021-21918-6)
78. LAI, Chih-Cheng, Tzu-Ping SHIH, Wen-Chien KO, Hung-Jen TANG a Po-Ren HSUEH. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents* [online]. Elsevier B.V. and the International Society of Chemotherapy, 2020, March 2020, 55(3) [cit. 2021-04-15]. ISSN 09248579. Dostupné z: [doi:10.1016/j.ijantimicag.2020.105924](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924)

79. LAM, Tommy Tsan-Yuk, Na JIA, Ya-Wei ZHANG, et al. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature* [online]. Springer Nature, 2020, 26 March 2020, 583(7815), s. 282-285. ISSN 1476-4687
80. LEBEAU, Grégoire, Damien VAGNER, Étienne FRUMENCE, Franck AH-PINE, Xavier GUILLOT, Estelle NOBÉCOURT, Loïc RAFFRAY a Philippe GASQUE. Deciphering SARS-CoV-2 Virologic and Immunologic Features. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2020, 18 August 2020, 21(16) [cit. 2021-04-16]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms21165932
81. LEBEAU, Grégoire, Damien VAGNER, Étienne FRUMENCE, Franck AH-PINE, Xavier GUILLOT, Estelle NOBÉCOURT, Loïc RAFFRAY a Philippe GASQUE. SARS-CoV-2 supposed life cycle. In: Deciphering SARS-CoV-2 Virologic and Immunologic Features [online]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 18 August 2020 [cit. 2021-04-16]. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/16/5932/htm>
82. LEITNER, Thomas, Sudhir KUMAR a ROWE. Where Did SARS-CoV-2 Come From? *Molecular Biology and Evolution* [online]. 2020, 06 July 2020, 37(9), s. 2463-2464. ISSN 1537-1719
83. LEROY, Eric M., Meriadeg AR GOUILH a Jeanne BRUGÈRE-PICOUX. The risk of SARS-CoV-2 transmission to pets and other wild and domestic animals strongly mandates a one-health strategy to control the COVID-19 pandemic. *One Health* [online]. Elsevier BV, 2020, December 2020, 10 [cit. 2021-5-16]. ISSN 23527714. Dostupné z: doi:10.1016/j.onehlt.2020.100133
84. LI, Heng, Shang-Ming LIU, Xiao-Hua YU, Shi-Lin TANG a Chao-Ke TANG. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): current status and future perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents* [online]. 2020, 55(5) [cit. 2021-04-20]. ISSN 09248579. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijantimicag.2020.105951
85. LIANG, Guodong, Qiuxia CHEN, Jianguo XU, et al. Laboratory Diagnosis of Four Recent Sporadic Cases of Community-acquired SARS, Guangdong Province, China. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 2004, October 2004, 10(10), s. 1774-1781. ISSN 1080-6040

86. LIM, Yvonne, Yan NG, James TAM a Ding LIU. Human Coronaviruses: A Review of Virus–Host Interactions. *Diseases* [online]. 2016, 25 July 2016, 4(3) [cit. 2021-04-13]. ISSN 2079-9721. Dostupné z: doi:10.3390/diseases4030026
87. LIU, Ping, Wu CHEN a Jin-Ping CHEN. Viral Metagenomics Revealed Sendai Virus and Coronavirus Infection of Malayan Pangolins (*Manis javanica*). *Viruses* [online]. 2019, 24 October 2019, 11(11) [cit. 2021-04-19]. ISSN 1999-4915. Dostupné z: doi:10.3390/v11110979
88. LU, Hongzhou, Charles W. STRATTON a Yi-Wei TANG. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle. *Journal of medical virology* [online]. 2020, 16 January 2020, 92(4), s. 401-402. ISSN 1096-9071
89. LUAN, Junwen, Yue LU, Xiaolu JIN a Leiliang ZHANG. Spike protein recognition of mammalian ACE2 predicts the host range and an optimized ACE2 for SARS-CoV-2 infection. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. 2020, 21 May 2020, 526(1), s. 165-169. ISSN 0006291X
90. MACHHI, Jatin, Jonathan HERSKOVITZ, Ahmed M. SENAN, et al. The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections. *Journal of Neuroimmune Pharmacology* [online]. Springer Nature Switzerland, 2020, 21 July 2020, 15(3), s. 359-386. ISSN 1557-1890
91. MALIK, Yasmin A. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. *Malaysian Journal of Pathology* [online]. College of Pathologists, 2020, April 2020, 42(1), s. 3-11. ISSN 0126-8635
92. MALLAPATY, Smriti. Where did COVID come from? Five mysteries that remain. *Nature* [online]. Springer Nature, 2021, 26 FEBRUARY 2021, 591(7849), s. 188-189. ISSN 1476-4687
93. MANFREDONIA, Ilaria a Danny INCARNATO. Structure and regulation of coronavirus genomes: state-of-the-art and novel insights from SARS-CoV-2 studies. *Biochemical Society Transactions* [online]. Portland Press, 2021, February 2020, 49(1), s. 341-352. ISSN 1470-8752
94. MARSH, Glenn A., Alexander J. MCAULEY, Gough G. AU, et al. ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine candidate significantly reduces SARS-CoV-2 shedding in

- ferrets. *Npj Vaccines* [online]. Springer nature, 2021, 10 May 2021, 6(1) [cit. 2021-6-6]. ISSN 2059-0105. Dostupné z: doi:10.1038/s41541-021-00315-6
95. MARSH, Glenn A., Alexander J. MCAULEY, Sheree BROWN, et al. In vitro characterisation of SARS-CoV-2 and susceptibility of domestic ferrets (*Mustela putorius furo*). *Transboundary and Emerging Diseases* [online]. Wiley-VCH GmbH, Weinheim, 2021, 05 January 2021, 68(2) [cit. 2021-5-19]. ISSN 1865-1674. Dostupné z: doi:10.1111/tbed.13978
96. MARTINA, Byron E. E., Bart L. HAAGMANS, Thijs KUIKEN, et al. SARS virus infection of cats and ferrets. *Nature* [online]. Springer Nature, 2003, 30 October 2003, 425(915) [cit. 2021-04-11]. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1038/425915a>
97. MATHAVARAJAH, Sabateeshan, Amina K. STODDART, Graham A. GAGNON a Graham DELLAIRE. Pandemic danger to the deep: The risk of marine mammals contracting SARS-CoV-2 from wastewater. *Science of The Total Environment* [online]. 2021, March 2021, 760 [cit. 2021-5-16]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2020.143346
98. MATHAVARAJAH, Sabateeshan, Amina K. STODDART, Graham A. GAGNON a Graham DELLAIRE. Relative SARS-CoV-2 Susceptibility. Pandemic danger to the deep: Pandemic danger to the deep [online]. *Science of The Total Environment*, 2021, 15 March 2021 [cit. 2021-5-16]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720368777#f0010>
99. MCALOOSE, Denise, Melissa LAVERACK, Leyi WANG, et al. From People to Panthera: Natural SARS-CoV-2 Infection in Tigers and Lions at the Bronx Zoo. *MBio* [online]. 2020, 11(5) [cit. 2021-5-18]. ISSN 2150-7511. Dostupné z: doi:10.1128/mBio.02220-20
100. MEEKINS, David A., Igor MOROZOV, Jessie D. TRUJILLO, et al. Susceptibility of swine cells and domestic pigs to SARS-CoV-2. *Emerging Microbes & Infections* [online]. 2020, 20 October 2020, 9(1), s. 2278-2288. ISSN 2222-1751
101. MERCADO, Noe B., Roland ZAHN, Frank WEGMANN, et al. Single-shot Ad26 vaccine protects against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Nature* [online]. Springer nature, 2020, 30 July 2020, 586(7830), s. 583-588. ISSN 1476-4687

102. MEYERHOLZ, David K., Allyn M. LAMBERTZ a Paul B. MCCRAY. Dipeptidyl Peptidase 4 Distribution in the Human Respiratory Tract. *The American Journal of Pathology* [online]. 2016, January 2016, 186(1), s. 78-86. ISSN 00029440.
103. Middle East respiratory syndrome. World health organization: Regional Office for the Eastern Mediterranean [online]. Geneva: World Health Organization (WHO), 2021, 2021 [cit. 2021-04-13]. Dostupné z: <https://www.emro.who.int/health-topics/mers-cov/mers-outbreaks.html>
104. MICHELITSCH, Anna, Donata HOFFMANN, Kerstin WERNIKE a Martin BEER. Occurrence of Antibodies against SARS-CoV-2 in the Domestic Cat Population of Germany. *Vaccines* [online]. 2020, 2020 December 17, 8(4) [cit. 2021-5-17]. ISSN 2076-393X. Dostupné z: doi:10.3390/vaccines8040772
105. MICHELITSCH, Anna, Kerstin WERNIKE, Lorenz ULRICH, Thomas C. METTENLEITER a Martin BEER. SARS-CoV-2 in animals: From potential hosts to animal models. *Advances in virus research*. [online]. Elsevier, 2021, 2021 April 7 [cit. 2021-5-19]. *Advances in Virus Research*. ISSN 1557-8399. Dostupné z: doi:10.1016/bs.aivir.2021.03.004
106. MOLENAAR, Robert Jan, Sandra VREMAN, Renate W HAKZE-VAN DER HONING, et al. Clinical and Pathological Findings in SARS-CoV-2 Disease Outbreaks in Farmed Mink (*Neovison vison*). *Veterinary Pathology* [online]. American College of Veterinary Pathologists, 2020, July 14, 2020, 57(5), s. 653-657. ISSN 1544-2217.
107. MUÑOZ-FONTELA, César, William E. DOWLING, Simon G. P. FUNNELL, et al. Animal models for COVID-19. *Nature* [online]. Springer nature, 2020, 23 September 2020, 586(7830), s. 509-515. ISSN 1476-4687
108. MUNSTER, Vincent J., Friederike FELDMANN, Brandi N. WILLIAMSON, et al. Respiratory disease in rhesus macaques inoculated with SARS-CoV-2. *Nature* [online]. Springer nature, 2020, 12 May 2020, 585(7824), s. 268-272. ISSN 1476-4687
109. NAQVI, Ahmad Abu Turab, Kisa FATIMA, Taj MOHAMMAD, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular*

Basis of Disease [online]. 2020, 1 October 2020, 1866(10) [cit. 2021-04-15]. ISSN 09254439. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbadis.2020.165878

110. NEGREY, Jacob D., Rachna B. REDDY, Erik J. SCULLY, et al. Simultaneous outbreaks of respiratory disease in wild chimpanzees caused by distinct viruses of human origin. *Emerging Microbes & Infections* [online]. 2019, 21 January 2019, 8(1), s. 139-149. ISSN 2222-1751
111. NENCKA, Radim. Radim Nencka: SARS-CoV-2 a budoucí terapie COVID-19 z pohledu medicijnálního chemika. Ústav organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky: Novinky [online]. Praha: Ústav organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky, 2020, 14. DUBNA 2020 [cit. 2021-04-15]. Dostupné z: <https://www.uochb.cz/cs/novinky/169/radim-nencka-sars-cov-2-a-budouci-terapie-covid-19-z-pohledu-medicinalniho-chemika>
112. OIE statement on COVID-19 and mink. The World Organisation for Animal Health [online]. France, 2021, 12.11. 2020 [cit. 2021-5-18]. Dostupné z: <https://www.oie.int/en/oie-statement-on-covid-19-and-mink/>
113. Onemocnění COVID-19. Státní veterinární správa [online]. Praha, 2020 [cit. 2021-5-18]. Dostupné z: <https://www.svs-cr.cz/zdravi-zvirat/covid-19/>
114. OPRIESSNIG, Tanja a Yao-Wei HUANG. Further information on possible animal sources for human COVID-19. *Xenotransplantation* [online]. Kodaň, 2020, 2020 September 25, 27(6) [cit. 2021-04-20]. ISSN 1399-3089. Dostupné z: doi:10.1111/xen.12651
115. ORESHKOVA, Nadia, Robert Jan MOLENAAR, Sandra VREMAN, et al. Lung from a necropsied mink, SARS-CoV-2 outbreak on two mink farms, the Netherlands. *Eurosurveillance* [online]. Stockholm, 2021, 11 June 2020 [cit. 2021-5-19]. Dostupné z: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.23.2001005#r10>
116. ORESHKOVA, Nadia, Robert Jan MOLENAAR, Sandra VREMAN, et al. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Eurosurveillance* [online]. 2020, 11 June 2020, 25(23) [cit. 2021-5-17]. ISSN 1560-7917. Dostupné z: doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.23.2001005

117. PAROLIN, Cristina, Sara VIRTUOSO, Marta GIOVANETTI, Silvia ANGELETTI, Massimo CICCOZZI a Alessandra BORSETTI. Animal Hosts and Experimental Models of SARS-CoV-2 Infection. *Chemotherapy* [online]. S. Karger AG, Basel, 2021, 1-9 [cit. 2021-5-19]. ISSN 0009-3157. Dostupné z: doi:10.1159/000515341
118. PATTERSON, E. I., G. ELIA, A. GRASSI, et al. Evidence of exposure to SARS-CoV-2 in cats and dogs from households in Italy. *Nature Communications* [online]. 2020, 04 December 2020, 11(1) [cit. 2021-5-17]. ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/s41467-020-20097-0
119. PERLMAN, Stanley a Jason NETLAND. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology* [online]. 2009, 2009 May 11, 7(6), s. 439-450. ISSN 1740-1526
120. POUDEL, Uddab, Deepak SUBEDI, Saurav PANTHA a Santosh DHAKAL. Animal coronaviruses and coronavirus disease 2019: Lesson for One Health approach. *Open Veterinary Journal* [online]. 2020, 10(3), s. 239-251. ISSN 2218-6050
121. PRATHER, Kimberly A., Chia C. WANG a Robert T. SCHOOLEY. Reducing transmission of SARS-CoV-2. *Science* [online]. 2020, 26 Jun 2020:, 368(6498), s. 1422-1424. ISSN 1095-9203
122. RAMAIAH, Arunachalam a Vaithilingaraja ARUMUGASWAMI. Insights into Cross-species Evolution of Novel Human Coronavirus 2019-nCoV and Defining Immune Determinants for Vaccine Development. *The biorxiv* [online]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 2013, February 04, 2020. [cit. 2021-04-19]. Dostupné z: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.29.925867v2>
123. REUSKEN, Chantal B.E.M., Bart L. HAAGMANS a Marion P.G. KOOPMANS. Dromedaris en ‘Middle East respiratory syndrome’: MERS-CORONAVIRUS IN HET ‘SCHIP VAN DE WOESTIJS’. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde* [online]. Amsterdam: Dutch Journal of Medicine Society, 17-09-2014 [cit. 2021-04-13]. Dostupné z: <https://www.ntvg.nl/artikelen/dromedaris-en-middle-east-respiratory-syndrome/volledig#lb-18>
124. RIDLEY, Matt. The coronavirus has been found in horseshoe bats in China. In: *The waal street journal* [online]. England, 1889, April 9, 2020 [cit. 2021-04-19].

Dostupné z: <https://www.wsj.com/articles/the-bats-behind-the-pandemic-11586440959>

125. ROBERTS, A., L. VOGEL, J. GUARNER, N. HAYES, B. MURPHY, S. ZAKI a K. SUBBARAO. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection of Golden Syrian hamsters. *Journal of Virology* [online]. American Society for Microbiology, 2005, January 2005, 79(1), s. 503-511. ISSN 1098-5514.
126. ROBERTS, Anjeanette, Elaine W. LAMIRANDE, Leatrice VOGEL, et al. Animal models and vaccines for SARS-CoV infection. *Virus Research* [online]. Elsevier, 2008, April 2008, 133(1), s. 20-32. ISSN 0168-1702.
127. ROTA, P. A., M. Steven OBERSTE, Stephan S. MONROE, W. Allan NIX, Ray CAMPAGNOLI, Joseph P. ICENOGLE, Silvia PEÑARANDA a Bettina BANKAMP, et al., Characterization of a Novel Coronavirus Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome. *Science* [online]. 2003, 30 May 2003, 300(5624), s. 1394-1399. ISSN 00368075.
128. SARS-CoV-2 in animals. American Veterinary Medical Association [online]. Schaumburg, 1863, March 2, 2021 [cit. 2021-5-16]. Dostupné z: <https://www.avma.org/resources-tools/animal-health-and-welfare/covid-19/sars-cov-2-animals-including-pets>
129. SARS-CoV-2 mink-associated variant strain – Denmark. World health organization: Disease outbreak news [online]. Zeneva, 2021, 6 November 2020 [cit. 2021-5-18]. Dostupné z: <https://www.who.int/csr/don/06-november-2020-mink-associated-sars-cov2-denmark/en/>
130. SARS-CoV-2 Variants. World Health Organizataion: Emergencies preparedness, response [online]. Geneva: World Health Organizataion, 2021, 31 December 2020 [cit. 2021-6-6]. Dostupné z: <https://www.who.int/csr/don/31-december-2020-sars-cov2-variants/en/>
131. SEYED HOSSEINI, Elahe, Narjes RIAHI KASHANI, Hossein NIKZAD, Javid AZADBAKHT, Hassan HASSANI BAFRANI a Hamed HADDAD KASHANI. The novel coronavirus Disease-2019 (COVID-19): Mechanism of action, detection and recent therapeutic strategies. *Virology* [online]. 2020, 2020 September 24, 551, s. 1-9. ISSN 00426822

132. SHARUN, K., B. JOSE, R. TIWARI, S. NATESAN a K. DHAMA. Bio-detection dogs for COVID-19 diagnosis in airports. *Biodetection dogs for COVID-19: an alternative diagnostic screening strategy* [online]. Public Health: Elsevier, 2021, 19 January 2021 [cit. 2021-6-6]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003335062100007X?via%3Dihub#bib2>
133. SHARUN, K., B. JOSE, R. TIWARI, S. NATESAN a K. DHAMA. *Biodetection dogs for COVID-19: an alternative diagnostic screening strategy*. Public Health [online]. Elsevier, 2021, 19 January 2021, 195 [cit. 2021-6-6]. ISSN 0033-3506. Dostupné z: doi:10.1016/j.puhe.2020.12.013
134. SHEIKHI, Kowsar, Hamidreza SHIRZADFAR a Milad SHEIKHI. A Review on Novel Coronavirus (Covid-19): Symptoms, Transmission and Diagnosis Tests. *Research in Infectious Diseases and Tropical Medicine* [online]. 2020, April 25, 2020, 2(1), s. 1-8. ISSN 2737-4521.
135. SHEREEN, Muhammad Adnan, Suliman KHAN, Aber KAZMI, Nadia BASHIR a Rabeea SIDDIQUE. COVID-19 infection: Emergence, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of Advanced Research* [online]. 2020, July 2020, 24(4), s. 91-98 ISSN 2090-1232.
136. SHI, Jianzhong, Zhiyuan WEN, Gongxun ZHONG, et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS–coronavirus 2. *Science* [online]. 2020, 29 May 2020, 368(6494), s. 1016-1020. ISSN 1095-9203.
137. SCHOEMAN, Dewald a Burtram C. FIELDING. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology Journal* [online]. Springer Nature, 2019, 27 May 2019, 16(1) [cit. 2021-04-15]. ISSN 1743-422X. Dostupné z: doi:10.1186/s12985-019-1182-0
138. SIA, Sin Fun, Li-Meng YAN, Alex W. H. CHIN, et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature* [online]. 2020, 14 May 2020, 583(7818), s. 834-838. ISSN 1476-4687
139. SILVA-CAYETANO, Alyssa, William S. FOSTER, Silvia INNOCENTIN, et al. A booster dose enhances immunogenicity of the COVID-19 vaccine candidate

- ChAdOx1 nCoV-19 in aged mice. *Med* [online]. Cell Press, 2021, 12 March 2021, 2(3), s. 243-262. ISSN 2666-6340
140. SINGLA, Rubal, Abhishek MISHRA, Rupa JOSHI, et al. Human animal interface of SARS-CoV-2 (COVID-19) transmission: a critical appraisal of scientific evidence. *Veterinary Research Communications* [online]. 2020, 14 September 2020, 44(3-4), s. 119-130. ISSN 1573-7446
141. SIT, Thomas H. C., Christopher J. BRACKMAN, Sin Ming IP, et al. Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature* [online]. 2020, 14 May 2020, 586(7831), s. 776-778. ISSN 1476-4687
142. SONG, Zhiqi, Yanfeng XU, Linlin BAO, et al. From SARS to MERS, Thrusting Coronaviruses into the Spotlight. *Viruses* [online]. 2019, 14 January 2019, 11(1) [cit. 2021-04-14]. ISSN 1999-4915. Dostupné z: doi:10.3390/v11010059
143. STAV ZVÍŘAT, KTERÁ ONEMOCNĚLA COVIDEM-19, SE LEPŠÍ. ZOO PRAHA [online]. Praha, 2021, 08. 03. 2021 [cit. 2021-5-18]. Dostupné z: <https://www.zoopraha.cz/aktualne/novinky-u-zvirat/12729-stav-zvirat-ktera-onemocnela-covidem-19-se-lepsi>
144. SUAREZ, David L., Mary J. PANTIN-JACKWOOD, David E. SWAYNE, Scott A. LEE, Suzanne M. DEBLOIS a Erica SPACKMAN. Lack of Susceptibility to SARS-CoV-2 and MERS-CoV in Poultry. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 2020, June 16, 2020, 26(12), s. 3074-3076. ISSN 1080-6040
145. SUBBARAO, Kanta a Anjeanette ROBERTS. Is there an ideal animal model for SARS? *Trends in Microbiology* [online]. Celpress, 2006, July 2006, 14(7), s. 299-303. ISSN 0966842X
146. SUTTON, Troy C. a Kanta SUBBARAO. Development of animal models against emerging coronaviruses: From SARS to MERS coronavirus. *Virology* [online]. 2015, May 2015, 479-480, s. 247-258. ISSN 00426822
147. ŠINDELKOVÁ, Martina. Přehled vakcín proti COVID-19: mechanismy účinku, výhody a nevýhody. *Medicínské centrum Praha* [online]. Praha: Medicínské centrum Praha, 2018, 17. 12. 2020 [cit. 2021-6-5]. Dostupné z: <https://www.mc-praha.cz/mcp/prehled-vakcin-proti-covid-19-mechanismy-ucinku-vyhody-a-nevyhody/>

148. The effects of virus variants on COVID-19 vaccines. World Health Organization: Newsroom [online]. Geneva: World Health Organization, 2021, 1 March 2021 [cit. 2021-6-6]. Dostupné z: https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/the-effects-of-virus-variants-on-covid-19-vaccines?gclid=Cj0KCQjw5PGFBhC2ARIsAIFIMNcUbzFrKLTJIB2ag1g1xzPA3XngTVzpg2IIPAZd4PwqIo-HzIKSwc0aAh-sEALw_wcB
149. TOSTANOSKI, Lisa H., Frank WEGMANN, Amanda J. MARTINOT, et al. Ad26 vaccine protects against SARS-CoV-2 severe clinical disease in hamsters. Nature Medicine [online]. Springer nature, 2020, 3 September 2020, 26(11), s. 1694-1700. ISSN 1546-170X
150. TROJÁNEK, Milan, Vyacheslav GREBENYUK, Kristýna HERRMANNOVÁ, et al. Nový koronavirus (SARS-CoV-2) a onemocnění COVID-19. ČASOPIS LÉKAŘŮ ČESKÝCH [online]. Praha: MeDitorial, 2020, 18.5.2020, 159(2), s. 55-66. ISSN 1803-6597
151. ULRICH, Lorenz, Kerstin WERNIKE, Donata HOFFMANN, Thomas C. METTENLEITER a Martin BEER. Experimental Infection of Cattle with SARS-CoV-2. Emerging Infectious Diseases [online]. 2020, December 2020, 26(12), s. 2979-2981. ISSN 1080-6040
152. USDA Statement on the Confirmation of COVID-19 in a Tiger in New York. United States Department of Agriculture [online]. Washington, 2021, 5 April 2020 [cit. 2021-5-17]. Dostupné z: https://www.aphis.usda.gov/aphis/newsroom/news/sa_by_date/sa-2020/ny-zoo-covid-19
153. VAN DOREMALEN, Neeltje, Teresa LAMBE, Alexandra SPENCER, et al. ChAdOx1 nCoV-19 vaccine prevents SARS-CoV-2 pneumonia in rhesus macaques. Nature [online]. Springer nature, 2020, 30 July 2020, 586(7830), s. 578-582. ISSN 1476-4687
154. VELAVAN, Thirumalaisamy P. a Christian G. MEYER. The COVID-19 epidemic. Trop med int health [online]. 2020, 2020 Feb 16, 25(3), s. 278-280. ISSN 1360-2276.

155. VERDOLIVO, Matt. Genomic Study of SARS-CoV-2 Risk. ScitechDaily: Many Animal Species Vulnerable to SARS-CoV-2 / COVID-19 According to Genomic Analysis [online]. UNIVERSITY OF CALIFORNIA-DAVIS, 2021, AUGUST 23, 2020 [cit. 2021-5-16]. Dostupné z: <https://scitechdaily.com/many-animal-species-vulnerable-to-sars-cov-2-covid-19-according-to-genomic-analysis/>
156. VOGEL, Annette B., Isis KANEVSKY, Ye CHE, et al. BNT162b vaccines protect rhesus macaques from SARS-CoV-2. Nature [online]. Springer nature, 2021, 1 February 2021, 592(7853), 283-289. ISSN 1476-4687
157. WANG, Hui, Yuntao ZHANG, Baoying HUANG, et al. Development of an Inactivated Vaccine Candidate, BBIBP-CorV, with Potent Protection against SARS-CoV-2. Cell [online]. Cell Press, 2020, June 06, 2020, 182(3), s. 713-721. ISSN 1097-4172
158. WANG, Hui, Yuntao ZHANG, Baoying HUANG, et al. Development of BBIBP-CorV. Cell [online]. Cell Press, 2020, June 06, 2020 [cit. 2021-6-6]. Dostupné z: [https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(20\)30695-4?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867420306954%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(20)30695-4?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867420306954%3Fshowall%3Dtrue)
159. WANG, Chong, Ya-di TAN, Ai-zhen GUO a Huan-chun CHEN. Domestic Cat ACE2 Gene Cloning, Sequencing and Bioinformatic Analysis. China National Knowledge Infrastructure [online]. Peking, 2021 [cit. 2021-5-19]. Dostupné z: https://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotat-WHDY200506018.htm
160. WHO calls for further studies, data on origin of SARS-CoV-2 virus, reiterates that all hypotheses remain open. World Health Organization: News [online]. Geneva: World Health Organization, 2021, 30 March 2021 [cit. 2021-6-9]. Dostupné z: <https://www.who.int/news/item/30-03-2021-who-calls-for-further-studies-data-on-origin-of-sars-cov-2-virus-reiterates-that-all-hypotheses-remain-open>
161. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard: Overview. World Health Organization [online]. Geneva: World Health Organization, 2021, 16 June 2021 [cit. 2021-6-16]. Dostupné z: <https://covid19.who.int/>
162. WHO recommends against the use of remdesivir in COVID-19 patients. World Health Organization [online]. Geneva: World Health Organization, 2021, 20

- November 2020 [cit. 2021-6-6]. Dostupné z: <https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/who-recommends-against-the-use-of-remdesivir-in-covid-19-patients>
163. WILLIAMSON, Brandi N., Friederike FELDMANN, Benjamin SCHWARZ, et al. Clinical benefit of remdesivir in rhesus macaques infected with SARS-CoV-2. *Nature* [online]. Springer nature, 2020, 9 June 2020, 585(7824), s. 273-276. ISSN 1476-4687
164. WONG, Antonio, Xin LI, Susanna LAU a Patrick WOO. Global Epidemiology of Bat Coronaviruses. *Viruses* [online]. 2019, 20 February 2019, 11(2) [cit. 2021-04-13]. ISSN 1999-4915. Dostupné z: doi:10.3390/v11020174
165. WOO, Patrick C. Y., Susanna K. P. LAU, Chung-ming CHU, et al. Characterization and Complete Genome Sequence of a Novel Coronavirus, Coronavirus HKU1, from Patients with Pneumonia. *Journal of Virology* [online]. 2005, 79(2), s. 884-895. ISSN 0022-538X.
166. XU, Shunqing a Yuanyuan LI. Beware of the second wave of COVID-19. *The Lancet* [online]. 2020, 395(10233), s. 1321-1322. ISSN 01406736.
167. YAMAMOTO, Vicky, Joe F. BOLANOS, John FIALLOS, et al. COVID-19: Review of a 21st Century Pandemic from Etiology to Neuro-psychiatric Implications. *Journal of Alzheimer's Disease* [online]. 2020, 15 September 2020, 77(2), s. 459-504. ISSN 1875-8908
168. YIN, Yudong a Richard G. WUNDERINK. MERS, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. *Respirology* [online]. Wiley, February 2018, 20 October 2017, 23(2), s. 130-137. ISSN 13237799
169. ZAHID, Muhammad Nauman, Mustafa Shehab MOOSA, Simone PERNA a Ebtisam Bin BUTI. A review on COVID-19 vaccines: stages of clinical trials, mode of actions and efficacy. *Arab Journal of Basic and Applied Sciences* [online]. Taylor & Francis Group, 2021, 19 May 2021, 28(1), s. 225-233. ISSN 2576-5299
170. ZHANG, Tao, Qunfu WU a Zhigang ZHANG. Pangolin homology associated with 2019-nCoV. *Biorxiv* [online]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 2013, February 20, 2020. [cit. 2021-04-19]. Dostupné z: https://www.aphis.usda.gov/aphis/newsroom/news/sa_by_date/sa-2020/ny-zoo-covid-19

171. ZHANG, Tao, Qunfu WU a Zhiqiang ZHANG. Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak. *Current Biology* [online]. Cellpress, 2020, 6 April 2020, 30(7), s. 1346-1351. ISSN 09609822
172. ZHANG, Ya-Nan, Xiao-Dan LI, Zhe-Rui ZHANG, et al. A mouse model for SARS-CoV-2 infection by exogenous delivery of hACE2 using alphavirus replicon particles. *Cell Research* [online]. 2020, 25 August 2020, 30(11), s. 1046-1048. ISSN 1748-7838
173. ZHANG, Yong-Zhen a Edward C. HOLMES. A Genomic Perspective on the Origin and Emergence of SARS-CoV-2. *Cell* [online]. Cellpress, 2020, 16 April 2020, 181(2), s. 223-227. ISSN 00928674
174. ZHAO, Xinbin, Yuecheng DING a Jing DU. The taxonomy of the order Nidovirales. In: 2020 update on human coronaviruses: One health, one world [online]. *Medicine in Novel Technology and Devices*, 2020, December 2020 [cit. 2021-04-14]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590093520300175#fig1>
175. ZHAO, Xinbin, Yuecheng DING, Jing DU a Yubo FAN. 2020 update on human coronaviruses: One health, one world. *Medicine in Novel Technology and Devices* [online]. 2020, December 2020, 8 [cit. 2021-04-14]. ISSN 25900935. Dostupné z: doi:10.1016/j.medntd.2020.100043
176. ZHONG, NS, BJ ZHENG, YM LI, et al. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *THE LANCET* [online]. 2003, 25. October 2003, 362(9393), s. 1353-1358. ISSN 1474-547X
177. ZHOU, Peng, Hang FAN, Tian LAN, et al. Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin. *Nature* [online]. 2018, 04 April 2018, 556(7700), s. 255-258. ISSN 1476-4687
178. ZUMLA, Alimuddin, David S HUI a Stanley PERLMAN. Middle East respiratory syndrome. *The Lancet* [online]. 2015, June 03, 2015, 386(9997), s. 995-1007. ISSN 01406736