

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Zika virus
Barbora Kliková

Bakalářská práce
2017

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Barbora Kliková**
Osobní číslo: **C13337**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Zika virus**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

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

1. Charakteristika viru.
2. Epidemiologie.
3. Onemocnění, které virus vyvolává, včetně patogeneze.
4. Laboratorní diagnostika.
5. Možnosti terapie a prevence.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Markéta Vydržalová, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

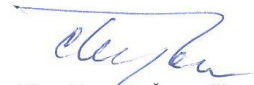
Datum zadání bakalářské práce: **28. listopadu 2016**

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



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2017

Prohlašuji:

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

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

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

V Pardubicích dne: 26. 6. 2017

Barbora Kliková

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěla poděkovat paní RNDr. Markétě Vydržalové, Ph.D., za podporu a odborné vedení při zpracovávání této bakalářské práce.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá informacemi o virech, zejména o rodu *Flavivirus*. Práce je zaměřena především na virus Zika, který se od roku 2015 nebezpečně rozšířil. Uvádí, kde byl virus objeven, jak se přenáší a zda se máme obávat jeho šíření. Práce také popisuje projevy nákazy, metody stanovení, terapii a prevenci.

KLÍČOVÁ SLOVA

virus, rod *Flavivirus*, komár *Aedes aegypti*, projevy, diagnostika, terapie

TITLE

Zika virus

ANNOTATION

This bachelor's thesis addresses information concerning viruses, particularly those of the *Flavivirus* genus. The thesis mainly focuses on the Zika virus that has spread dangerously since 2015. It describes where the virus was discovered, how it is transmitted and explains whether there is a good reason to be concerned about the Zika virus. Symptoms, laboratory methods, therapy and prevention of the Zika virus are also included in this thesis.

KEYWORDS

virus, *Flavivirus* genus, *Aedes aegypti* mosquito, symptoms, diagnostics, therapy

OBSAH

ÚVOD.....	12
1 OBJEV VIRU ZIKA.....	13
2 CHARAKTERISTIKA VIRU	17
2.1 Čeleď <i>Flaviviridae</i>	17
2.2 Rod <i>Flavivirus</i>	17
2.3 Virus Zika.....	18
3 EPIDEMIOLOGIE	19
3.1 Přenašeči a rezervoáry.....	19
3.1.1 Komáři	19
3.1.2 Primáti.....	20
3.1.3 Další druhy zvířat.....	21
3.2 Vliv vnějšího prostředí na šíření viru Zika	22
3.2.1 Ekologie a geografie	22
3.2.2 Globální oteplování.....	22
3.3 Molekulární epidemiologie	23
4 PATOGENEZE	24
5 ONEMOCNĚNÍ.....	26
5.1 Neurologické onemocnění	26
5.1.1 Mikrocefalie.....	26
5.1.2 Guillain-Barré syndrom	30
6 DIAGNOSTIKA	32
6.1 Sérologická diagnostika	33
6.1.1 ELISA	34
6.1.2 VNT	35
6.2 Molekulárně biologická diagnostika	37
6.2.1 RT-PCR	37

6.3	Výsledky národní referenční laboratoře.....	38
7	TERAPIE.....	41
8	PREVENCE.....	42
9	ZÁVĚR.....	43
10	POUŽITÁ LITERATURA.....	44

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1 – Mapa výskytu viru Zika	15
Obrázek 2 – 3D model viru Zika	18
Obrázek 3 – Dospělá samice komára <i>Aedes aegypti</i>	19
Obrázek 4 – Opice <i>Cercopithecus ascanius</i>	21
Obrázek 5 – Mikrocefalie	27
Obrázek 6 – Ultrazvukové vyšetření	28
Obrázek 7 – Mikrotitrační destička s VNT.....	36
Tabulka 1 – Doporučené diagnostické postupy	32
Tabulka 2 – Výsledky vyšetření pacientů s akutní infekcí virem Zika při prvním odběru	39

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

CASK	kalmodulin dependentní serinová kináza
cca	cirka, přibližně
CDC	Centra pro kontrolu a prevenci nemocí (z angl. Centers for Disease Control and Prevention)
cDNA	komplementární DNA
CFT	komplement fixační test
CNS	centrální nervový systém
CT	počítačová tomografie
DEET	diethyltoluamid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ECDC	Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí (z angl. European Centre for Disease Prevention and Control)
ELISA	enzymoimunoanalýza (z angl. Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)
EMG	elektromyografie
GBS	Guillain-Barré syndrom
HI	hemaglutinačně inhibiční test
IFA	imunofluorescenční test
IgG	imunoglobulin G
IgM	imunoglobulin M
IHC	imunohistochemická detekce
in vitro	ve skle
MRI	magnetická rezonance
mRNA	mediátorová RNA
NIF	nepřímá imunofluorescence

nm	nanometr
NRL	Národní referenční laboratoř
PCR	polymerázová řetězová reakce (z angl. Polymerase Chain Reaction)
RNA	ribonukleová kyselina
RTG	rentgenové vyšetření
RT-PCR	kvantitativní PCR reverzní transkripce
STD	sexuálně přenosné choroby
VNT	virus neutralizační test
WHO	Světová zdravotnická organizace (z angl. World Health Organization)
WNV	virus západonilské horečky

ÚVOD

S nástupem virologie se podařilo objasnit staré dohady a nepřesné informace o původu různých nebezpečných chorob. Nové poznatky vedly k zavedení specifické diagnostiky, prevence a léčby virových onemocnění. Byly prokázány hromadné virové nákazy zvířat. Samozřejmě nedošlo k úspěchům jen ve veterinární sféře, ale i v humánní oblasti. Velkým úspěchem byla eradikace pravých neštovic a zavedení očkování proti dětské obrně a žluté zimnici. Bohužel přes stále dokonalejší lékařskou péči, prevenci a diagnostiku se objevují nové virové infekce, které se nedaří zcela podchytit. K těmto infekcím lze zařadit také infekci virem Zika, která byla poprvé popsána již v roce 1947. Infekce byla doprovázena jen mírnými klinickými projevy a neměla spojitost se závažnějším onemocněním. Propuknutí epidemie ve vyspělých zemích se nepředpokládalo.

První velké šíření infekce bylo ohlášeno v roce 2007. Spojitost mezi virem Zika, Guillain-Barrého syndromem a mikrocefalií byla prokázána až v roce 2015 v Brazílii. Současným cílem je zamezit propuknutí infekce v dalších zemích. Proto je nezbytné znát způsoby přenosu viru Zika a klinické projevy infekce. Neméně důležitá je přesná diagnostika, možnosti léčby a prevence. Cílem této práce je ucelit veškeré poznatky o viru Zika.

1 OBJEV VIRU ZIKA

Virus Zika byl poprvé objeven v roce 1947 během usilovného pátrání po viru žluté zimnice v Ugandě v pralese s názvem Zika, který se rozkládá na břehu Viktoriina jezera nedaleko hlavního města Kampaly [1]–[3]. V místním jazyce slovo zika znamená „zarostlý“. Podle místa svého objevu byl virus pojmenován. Virus byl izolován jak od tamních opic tak i nezávisle z komárů rodu *Aedes africanus* [4]. Virus Zika se volně vyskytuje a je přenášen z jednoho živočišného hostitele na druhého. U lidí byla infekce virem Zika poprvé prokázána o 5 let později v Ugandě a Tanzanii a od této doby byly zaznamenány sporadické humánní infekce na různých místech Afriky a Asie [3]–[7].

Infekce virem Zika se prostřednictvím komárů šíří po celém světě. Virus Zika byl považován za relativně neškodný flavivirus, protože způsoboval pouze nezávažné horečnaté onemocnění. Nebyl mu připisován větší význam a zůstával dlouhá léta stranou zájmu lékařů, vědců i veřejnosti. Předpokládá se, že studiem tohoto viru lze získat cenné informace využitelné při sledování jiných vysoce virulentních virů [2], [8], [9].

Mezinárodní výbor pro klasifikaci virů popisuje několik opomíjených druhů přenášených komáry, z nichž některé jsou patogenní pro člověka. Jedná se například o západonilský virus a virus Usutu [10], [11].

V roce 1954 byl zjištěn virus Zika v Indii ve 38 lokalitách v 6 státech. Prokázáno bylo 15 arbovirů včetně žluté zimnice, Bwamba horečky, Bunyamwera viru, horečky dengue a viru západonilské horečky [12].

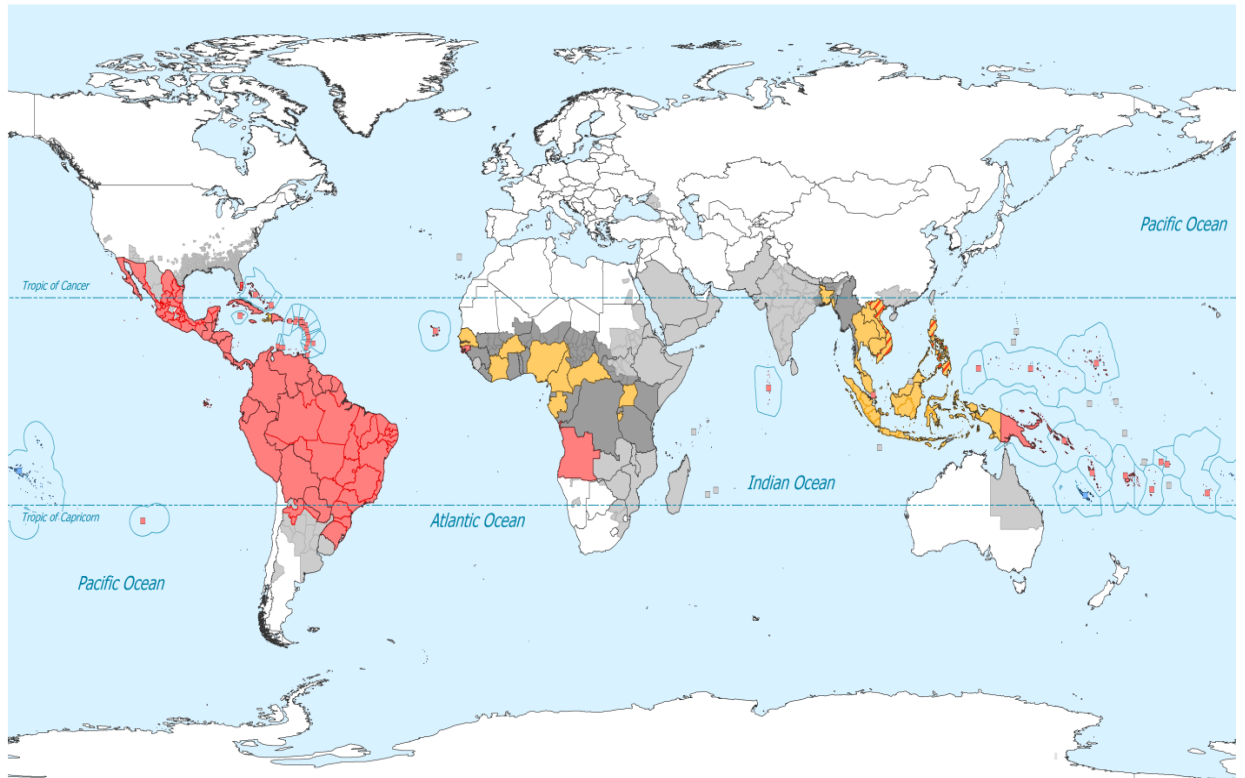
Od roku 1964 do roku 1970 bylo izolováno v Nigérii 15 druhů arbovirů z lidské populace. Většina izolovaných virů pocházela ze vzorků od dětí. Izolace byla prováděna ze všech věkových skupin. Virus Zika nebyl prokázán tak často jako virus žluté zimnice, Chikungunya, horečka dengue a Tataguine. Nález viru Zika se rovněž lišil dle sezóny. Nejvíce vzorků bylo izolováno v období dešťů (červen až srpen) a nejméně v suchém období (leden až únor) [6].

V letech 1977 a 1978 se v Malajsii a Indonésii na konci období dešťů objevily lokality s výskytem infekce virem Zika [13].

Další kmeny viru Zika byly izolovány v rámci studie, která proběhla v roce 1999 v Republice Pobřeží slonoviny. Převládajícími byly v lidské populaci viry žluté zimnice a horečky dengue [14].

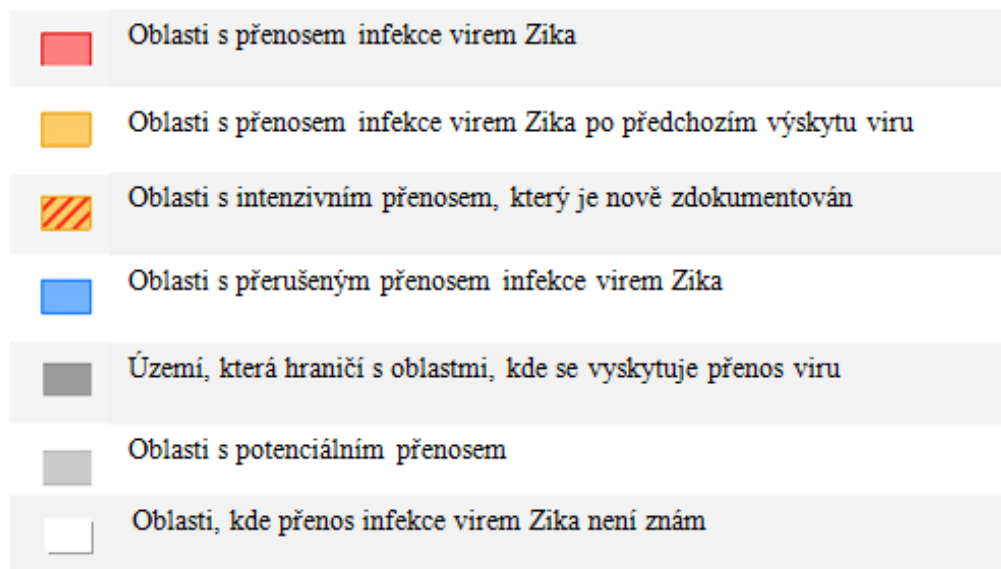
Lidé byli dlouho považováni za podružné hostitele. Tudíž od svého objevu až do roku 2007 virus Zika zůstal neznámým, komáry přenášeným virem, jehož výskyt byl původně omezen na oblast pásu rovníkové Afriky a Asie. Než se virus Zika rozšířil přes Indický oceán do Jihovýchodní Asie a Polynésie, bylo zaznamenáno přibližně 14 sporadických laboratorně potvrzených případů. Během epidemie na ostrově Yap v Mikronésii bylo nakaženo téměř 75 % populace, což představuje přibližně 5 000 nakažených při celkové populaci ostrova čítající 6 700 osob [9]. Další epidemie se vyskytla v roce 2013 ve Francouzské Polynésii, kde bylo nakaženo přibližně 60 % osob, tedy přes 30 000 obyvatel. Jednalo se o rozsáhlejší populaci než na ostrově Yap a odtud přišly první náznaky neurologického zasažení popisující syndrom Guillain-Barré a jiné neurologické komplikace [15].

V roce 2014 byl virus nalezen na západní polokouli na Velikonočním ostrově [16]. V květnu 2015 byl prokázán v Brazílii. Předpokládá se, že ve skutečnosti se zde vyskytoval již v roce 2014. V dalších letech se virus rozšířil do celé Latinské Ameriky, Karibiku, Nové Kaledonie a na další tichomořské ostrovy. Během roku 2016 se virus objevil v jihovýchodní Asii a v USA na Floridě [17]. Aktuální údaje o rozšíření viru Zika ve světě jsou uvedeny na obrázku 1. Tyto informace jsou umístěny na webu Evropského střediska pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC), kde jsou mapy s výskytem viru pravidelně aktualizovány. Informace o úrovni šíření viru Zika je užitečná pro pracovníky v oblasti veřejného zdraví, aby mohli vyhodnotit míru rizika pro lidi, kteří se chystají vycestovat do rizikových oblastí nebo se z těchto lokalit vracejí. Revidovaný režim byl vyvinut Světovou zdravotnickou organizací (WHO) ve spolupráci s Centry pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC) a ECDC pro rozčlenění epidemiologického profilu populace jednotlivých zemí [18].



Obrázek 1 – Mapa výskytu viru Zika [18]

Vysvětlivky k obr. 1:



Za pozornost ovšem stojí náhlý vzestup výskytu mikrocefalie u novorozěnat v Brazílii během roku 2015. Zdravotníci toto spojují s nákazou virem Zika během těhotenství kvůli podezření na teratogenní účinky tohoto viru [2].

Poznatky z Jižní Ameriky naznačují, že pouze jeden ze čtyř případů infekce dospělých osob je spojen s klinickými projevy onemocnění. Velkým problémem je posoudit, do jaké míry jsou zasaženy všechny endemické oblasti. Studie, které by potvrdily infekci virem Zika, se provádí obtížně, neboť prvotní příznaky infekce je možné zaměnit s horečkou dengue a Chikungunya. Tyto infekce jsou spojovány s horečkou, bolestí hlavy, svalů a vyrážkou, tedy se symptomy běžnými pro mnoho tropických onemocnění. Retrospektivní séroepidemiologické studie za použití specifických protilátek by mohla ukázat šíření viru v populaci. Stejně jako u mnoha nově se objevujících nálezů, tak i zde se podceňuje, do jaké míry se šíří virus v populaci zasaženou epidemií. Například před vypuknutím epidemie viru Ebola v roce 2014 byla zaznamenána zřejmá aktivita viru v západní Africe [19].

Fylogenetická data získaná z epidemií zasažených oblastí v Africe, Asii a Polynésii zřetelně ukazují, že se virus Zika vyvíjí uvnitř lidské populace. Byly identifikovány dvě hlavní genetické linie viru Zika a to africká a asijská na základě analýz všech virových sekvencí. Dle studií vyšlo najevo, že hlavní roli hrají dvě africké země, Senegal a Pobřeží slonoviny, v evoluci a genotypové divergenci viru Zika. Kromě toho výsledky naznačují, že genetická linie původem z jihovýchodní Asie přímo z Malajsie byla v roce 2007 zodpovědná za vypuknutí epidemie na ostrově Yap v Mikronésii. U virových proteinů se jeví, že v průběhu času ztratily glykosylační místa. Lze tedy říci, že virus Zika se šířil z Afriky, kde byl poprvé objeven, do jihovýchodní Asie, odkud se šířil dále. Výsledky poskytují vhled do geografických původů ohnisek viru Zika a jeho šíření, a také mohou přispět k lepšímu porozumění evoluce viru, což je důležité pro prevenci a kontrolu infekcí způsobené virem Zika [2], [20], [21].

2 CHARAKTERISTIKA VIRU

2.1 Čeleď *Flaviviridae*

Do čeledi patří více než 70 arborvirů náležících do rodů *Flavivirus*, *Pestivirus* a *Hepacivirus*. Mají sférický tvar a velikost asi 50 nm. Všechny tři rody jsou antigenně odlišné [22].

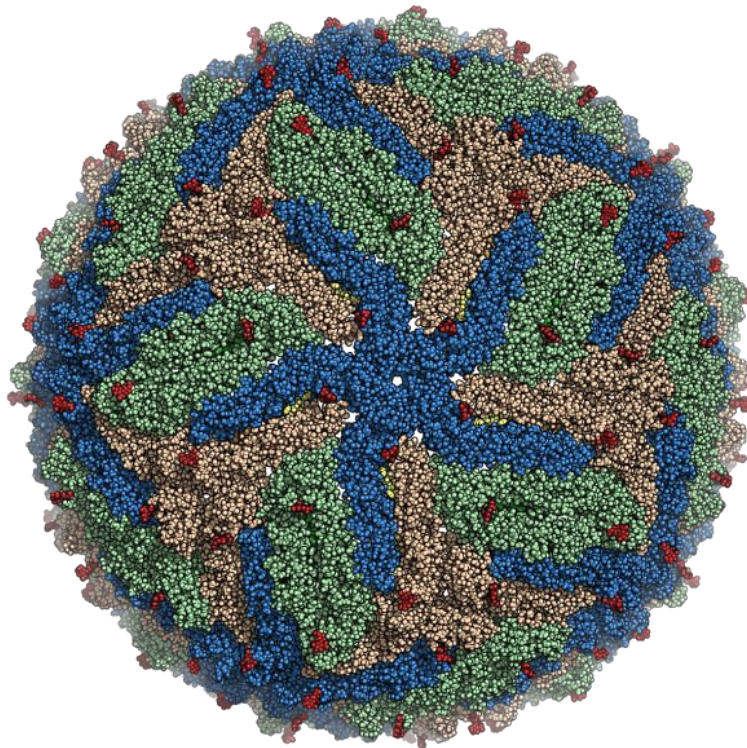
Čeleď *Flaviviridae* patří mezi viry obsahující jednovláknitou ribonukleovou kyselinu (RNA) s pozitivní polaritou, u nichž je lipidový obal pokryt několika peplomery. Jejich genomy hrají roli polycistronické mediátorové RNA (mRNA), proto se většinou budou replikovat přímo. Replikace viru probíhá v cytoplazmě a kompletace probíhá získáním obalu pučením buněčnými membránami. Genomy jsou překládány do jednoho polyproteinu. Tento polyprotein je štěpen na strukturální a nestrukturální proteiny. Příkladem takového proteinu je RNA dependentní RNA polymeráza. Zajišťuje replikaci virového genomu, přepisuje RNA do komplementární kopie. Tato kopie slouží jako templát pro syntézu pozitivního vlákna RNA [23], [22].

2.2 Rod *Flavivirus*

Všechny viry patřící do rodu *Flavivirus* jsou mezi obratlovci přenášeny členovci především moskyty nebo klíšťaty. Jsou citlivé k tukovým rozpouštědlům a éteru. Většinou ztrácejí infekční povahu při 56 °C za 15 min. Tyto viry se dobře množí v kuřecích embryích a také v určitých kulturách hmyzích nebo savčích buněk. Všechny flaviviry jsou částečně příbuzné, společně tak reagují zkříženě v testech inhibice hemaglutinace. Viry se dělí podle antigenní struktury na 4 skupiny – virus japonské encefalitidy, viry dengue, viry žluté zimnice a viry klíšťové encefalitidy. Mezi nově zařazené patří virus Zika [23].

2.3 Virus Zika

Virus Zika, který je znázorněn na obrázku 2, je přenášen především komáry egyptskými neboli *Aedes aegypti*. Symptomy infekce virem Zika jsou mírná horečka, která je doprovázena vyrážkou, zánětem spojivek, bolesti svalů a kloubů, nevolností a bolesti hlavy. Tyto symptomy obvykle netrvají déle než 2–7 dní. Vědecké důkazy potvrzují, že virus Zika je příčinou nejen mikrocefalie, ale i Guillain-Barrého syndromu. Odkazy na jiné neurologické komplikace jsou stále předmětem studií [24].



Obrázek 2 – 3D model viru Zika [25]

3 EPIDEMIOLOGIE

3.1 Přenašeči a rezervoáry

3.1.1 Komáři

Přenašečem viru z člověka na člověka je komár rodu *Aedes aegypti* [2], [8]. Dospělá samice komára je uvedena na obrázku 3.



Obrázek 3 – Dospělá samice komára *Aedes aegypti* [26]

V roce 1972 v Sierra Leone během entomologické studie a sérologického šetření séra bylo analyzováno na 12 antigeně odlišných virů včetně viru Zika, Chikungunya, západonilské horečky a žluté zimnice s použitím hemaglutinačně inhibičních testů (HI) a komplement fixačního testování (CFT). Entomologický průzkum ukázal, že kaluže vody s larvami komára *Aedes aegypti* byly přítomny ve větším množství v městských oblastech a blízko dolů než ve venkovských částech [27].

Stejně tak jako virus žluté zimnice, virus Zika cirkuluje v Africe mezi primáty, kde lidé jsou pouze náhodnými hostiteli. V oblastech, kde nejsou primáty hlavními nositeli viru, se jimi stali lidé [2]. Virus Zika se také šíří prostřednictvím stromových komárů *Aedes (stegomyia) africanus (Theobald)* v lese Zika v Ugandě. Mezi lety 1961 a 1963 bylo izolováno dvanáct kmenů viru Zika [28].

Pandemie viru Chikungunya v roce 2014 v oblasti Singapuru přispěla k dalším studiím komárů. Bylo zjištěno, že více než 20 arbovirů jsou přenášeny volně žijícími komáry *Aedes albopictus* (komáři tygří) v Singapuru a jeho okolí. Další studie prokázala, že komáři rodu *Aedes albopictus* byli schopni přenášet i virus Zika [29]–[31]. Důležitý je ale fakt, že přizpůsobení rodu *Aedes albopictus* může vést ke vzniku kmenů viru Zika se zvýšenou patogenitou, stejně tak jak tomu bylo u viru Chikungunya, kde jediná změna aminokyseliny přispěla k nárůstu výskytu viru se zvýšenou patogenitou u rodu *Aedes albopictus* [2], [8].

Metody zaměřené na snížení počtu komárů zahrnují použití insekticidů, geneticky modifikovaný sterilní hmyz a vypouštění bažin. Darbro et al. (2012) popisuje použití houby *Beauveria bassiana*. V laboratorních podmínkách tato houba redukuje dlouhověkost a plodnost komárů *Aedes aegypti*, zatímco velikost larev a životaschopnost nebyly ovlivněny. Tento přístup vyžaduje určité varování, protože houby mohou mutovat a poté napadený imunitní systém člověka může být náchylný k houbovým infekcím a infikování komáři mohou vyvinout rezistenci s nepředvídatelnými důsledky. Doposud nebyl popsán vliv této houby na lidské zdraví [32].

3.1.2 Primáti

V roce 1947 byl virus Zika izolován z opic v Ugandě během studie žluté zimnice [3]. K hromadné nákaze zvířat docházelo v lese Zika v západní Ugandě (Bwamba kraj) a také ve střední Ugandě přímo v pásnu savany. Po letech došlo k šíření infekce virem Zika v lese Zika u Entebbe ve dvou etapách. První etapa byla zaznamenána v roce 1969 s výskytem u neimunních opic, které byly náchylnější k onemocněním a druhá v roce 1970, kdy byla přítomna zvýšená hustota komárů *Aedes africanus*. Vědci se domnívají, že při následné nákaze zvířat žlutou zimnicí byla tlumena infekce virem Zika v přírodě u kočkodanů černolících *Cercopithecus ascanius* [33].

Na obrázku 4 je znázorněna opice *Cercopithecus ascanius*.



Obrázek 4 – Opice *Cercopithecus ascanius* [34]

V roce 1996 až 1998 v Malajsii ve státě Sabah byl virus Zika nalezen u některých orangutanů (*Pongo pygmaeus pygmaeus*). Byly vyšetřeny dvě skupiny – 60 zajatých a 84 volně žijících orangutanů. Kromě viru Zika bylo prokázáno i několik dalších virových druhů [35]. Výsledek koresponduje s dříve provedenou studií v Severních bornejských lesích, kde byly u divokých orangutanů prokázány viry čeledi *Flaviviridae*, *Alphaviridae* a *Bunyaviridae* [36].

3.1.3 Další druhy zvířat

Některé druhy zvířat jsou k virovým nákazám náchylnější a mohou plnit funkci potenciálního rezervoáru, což může souviset i s virem Zika. Například pro virus západonilské horečky může být rezervoárem kočka, pes, kůň, aligátor, jelen, primát, hlodavec, králík, plaz, vačice, pták nebo mýval; u viru žluté zimnice to může být především vačice, hlodavec, kynkažu (stromový mýval – savec s chápavým ocasem, ale ne primát), netopýr, ježek, divoký pes, husa, divoký pták, mravenečník nebo veverka [8].

Nedávná studie Bingham et al. (2012) uvádí, že rezervoárem viru koňské encefalomyelitidy v Severní Americe mohou být hadi. Tato informace vede k zamyšlení, zda rezervoárem flavivirů a toga virů nemohou být i jiné druhy zvířat [37].

3.2 Vliv vnějšího prostředí na šíření viru Zika

3.2.1 Ekologie a geografie

Během posledních 20 let se zintenzivnil výzkum v oblasti virologie, zejména co se týká nebezpečí onemocnění virového původu, která jsou přenášena vektory. Nejvíce je to patrné v Oceánii a v jihovýchodní Asii. K tomuto přispívají určité faktory – demografický a ekologický vývoj, zeměpisné rozložení, zvýšení obchodu a cestování či samotní přenašeči [38].

Důležitý je výzkum virů v Pacifiku a v jihovýchodní Asii včetně viru Zika, horečky dengue, Chikungunya či virů japonské encefalitidy. Stejně tak je nutné sledovat meziroční nárůst Ross River a Barmah virů v Austrálii, Nipah viru v jihovýchodní Asii a Lyssavirus včetně Kunjin a Murray Valley viru. Tyto příklady můžeme označit za důsledky ekologických a geografických změn [38].

Mnoho flavivirů způsobuje onemocnění u lidí, zvířat a volně žijících živočichů. Vektory nesoucí flaviviry se rozšířily po celém světě ve zvýšené míře v průběhu posledních dvou desetiletí. K tomu došlo mimo hranice tradičních zeměpisných lokalit těchto virů. Například jsou zde zvýšené případy zavlečení viru západonilské horečky do Nového světa a Velikonočních ostrovů v Tichomoří, ohniska horečky dengue v Nepálu, Argentině a Havaii, Usutu virus v Evropě, klíš'ová encefalitida ve Skandinávii či klíš'ový virus v Saúdské Arábii. Vyvstává otázka, zda se tyto události dějí v důsledku globálního oteplování či nikoliv [39].

3.2.2 Globální oteplování

Virus Zika je emergentní virus, proto je nezbytné popsat globální změny, které podporují šíření viru Zika a příbuzných virů [8]. Šíření virů prostřednictvím komárů do zeměpisných oblastí s mírným podnebím je zřejmě ovlivňováno globálním oteplováním [11].

Hlavními přenašeči arbovirů jsou komáři *Aedes aegypti* a *Aedes albopictus*. Jejich šíření stoupá v důsledku lidského chování včetně hospodářských vlivů a expanzí, globalizování obchodu a ekonomie či urbanizace v Latinské Americe a Asii. Zvýšení koncentrace lidské populace na jednom území vyvolává nejenom šíření přenašečů, ale i hygienické problémy. Arboviry odrážejí toto šíření napříč zeměmi, kupříkladu pandemie horečky dengue zasáhla 50 milionů lidí a nadále se šíří [40].

Globální oteplování vede ke zvýšené aktivitě přenašečů a šíření onemocnění. Se zvyšujícím se globálním oteplováním stoupá přenos onemocnění přenášené komáry [41]. Šíření infekčních nemocí může mít hluboký a neočekávaný účinek na ekologii, biologii a evoluci [42]. Průměrná globální teplota se zvýšila přibližně o 1 °C v průběhu posledních několik set let. Nicméně během následujících 20 let se předpokládá zvýšení o 2–3 °C [41].

3.3 Molekulární epidemiologie

Virus Zika byl již od roku 1950 rozšířen v Asii stejně tak jako v Africe. Pro fylogenetické analýzy kompletních genomů existují dvě genetické linie, které odpovídají africké a asijské geografické oblasti, jak bylo uvedeno výše. Byly zkoumány genetické vztahy a zdroje kmenů Zika, které se vyskytovaly ve Federativních státech Mikronésie (ostrov Yap) v roce 2007 a v Kambodži v roce 2010. V letech 1947 až 2010 byly nahromaděny izoláty z Nigérie, Senegalu, Ugandy, Kambodži a Malajsie. Kompletní genomové sekvence těchto izolátů a dalších publikovaných sekvencí byly použity pro fylogenetické analýzy [20].

Virus, který je rozšířen v Latinské Americe, je asijskou linií viru. K rozšíření viru do Ameriky pravděpodobně došlo z východního Pacifiku, kde je tato linie přítomna, stejně jako na Kapverdských ostrovech a na endemických územích Asie. Vědci se domnívají, že asijská linie viru je více virulentní než linie africká a častěji způsobuje nitroděložní infekce a následné vývojové postižení plodu [43], [44].

4 PATOGENEZE

O patogenezi virové infekce Zika zatím není zjištěno mnoho. Po inkubační době musí nastat značná virémie tak, aby byl možný přenos z člověka na komára a následně z komára na člověka, jak je patrné z epidemií. Než se potvrdí matematický model šíření nákazy, je nutné prokázat, zda jsou hladiny virémie u bezpříznakových nosičů stejné [42]. I když je virus Zika přenášen komáry, existují i důkazy o přenosu viru pohlavním stykem, což zřejmě souvisí s vysokou virémií. Infekci virem Zika lze zařadit mezi sexuálně přenosné choroby (STD). Sexuální přenos byl prokázán nejen z muže na ženu, ale i z ženy na muže a také při homosexuálním styku mezi dvěma muži. K nákaze může dojít při vaginálním, análním i orálním sexu. Zdrojem infekce může být člověk se symptomatickým i asymptomatickým průběhem nákazy. Významnou skutečností je dlouhá doba vylučování viru spermatem, kde byla zjištěna virová nálož až 100 000krát vyšší než v krvi [45]. Ačkoliv vylučování viru močí po dobu nejméně 10 dnů od nákazy představuje další riziko, přenos nákazy byl potvrzen zatím pouze prostřednictvím spermatu, cervikálního hlenu nebo krve při krevní transfúzi [44], [46].

Laboratorní studie ukazují, že virus roste zejména v kultivovaných kožních fibroblastech. Jak se nové poznatky projeví ve strategii léčby a regulaci šíření virové infekce je předmětem mnoha studií. Dále je třeba objasnit interakce mezi infikovanou tkání matky a vývojem plodu [46].

Další studie ukázala, že patologicko-neurologické účinky viru Zika na plod jsou způsobené schopností viru se přednostně vázat na nervový systém [47], [48]. Primární cesty potenciálních fetálních infekcí obecně zahrnují mateřskou virémii s přenosem z mateřské krve přes syncytiotrofoblasty fetálních cév v placentě nebo přímý přenos v místě implantace prostřednictvím trofoblastů [49]. Imunohistochemická detekce (IHC) viru Zika v mateřských leukocytech, Hofbauerových buňkách a fetálních endotelových buňkách spolu s demonstrací replikace viru Zika v primárních lidských placentárních makrofázích *in vitro* naznačuje přenos přes syncytiotrofoblasty jako hlavní cestu fetální infekce virem Zika [47], [50], [51].

Jakmile virus získá přístup k fetálnímu oběhu, předpokládá se následná virová replikace a perzistence v permisivních tkáních. Při kontrole případů s kongenitální infekcí virem Zika, byl virus detekován IHC v různých embryonálních tkáních (mozek, ledviny, plíce, játra, srdce, kůže). V patologických vzorcích z prvního trimestru embryí byl lokalizován virus IHC pouze na centrálním nervovém systému (CNS). Tyto nálezy podporují teorii počátečního

šíření infekce v rámci plodu se specifickým tropismem pro přetrvávající replikaci v nervových tkáních [52]–[54].

Ve studiích *in vitro* a na zvířatech se prokazuje u viru Zika neurotropismus či poškození CNS. Virus Zika se replikuje v lidských neurálních progenitorových buňkách *in vitro* a v lidských kmenových buněčných kultivačních systémech [52]–[54]. Navíc výsledky infekce v morfologických a architektonických změnách mozku byly pozorovány u vrozeně infikovaných kojenců s mikrocefalií včetně buněčné smrti a řídnutí komorové struktury [53], [54].

5 ONEMOCNĚNÍ

5.1 Neurologické onemocnění

Virus Zika není tak neškodný, jak se na počátku vědci domnívali. Inkubační doba od bodnutí infikovaným komárem může trvat 3–12 dní. Jen ve 20–25 % probíhá nákaza symptomaticky. Virémie koreluje s obdobím klinických příznaků, ale virus může být přítomen v krvi až 10 dní před nástupem symptomů. Při asymptotickém průběhu je přítomna virémie po dobu několika dní [44]. Většina případů infekce je provázena relativně mírnými obtížemi. Počáteční klinický projev infekce je náhlý vzestup teploty (většinou do 38,5 °C), bolest hlavy, bolest kloubů a svalů, únava a nevolnost. Projevy mohou být spojovány s chřipkovou infekcí. Z dalších příznaků se může objevit lymfadenopatie, edémy, retro-orbitální bolest, průjem, zvracení, makulopapulární svědivá vyrážka a zánět spojivek. Klinické projevy infekce virem Zika lze snadno zaměnit s projevy horečky dengue, což přispívá k podhodnocování infekce virem Zika. Dalšími příznaky mohou být únava, malátnost, bolest břicha, závratě, anorexie, zvětšená prostata, závrať, točení hlavy a může se objevovat i krev ve spermatu. Všechny uvedené příznaky by měly odeznít spontánně bez léčby zpravidla do 7 dní [6], [7], [10], [13], [20], [39].

V laboratorních testech byly inokulovány myši intracerebrálně virem Zika, u nichž byly poté objeveny zvětšené astrocyty a následně došlo ke zničení buněk v hipokampu. Viriony byly vytvořeny v rámci endoplazmatického retikula v neuronech a astrocytech [55].

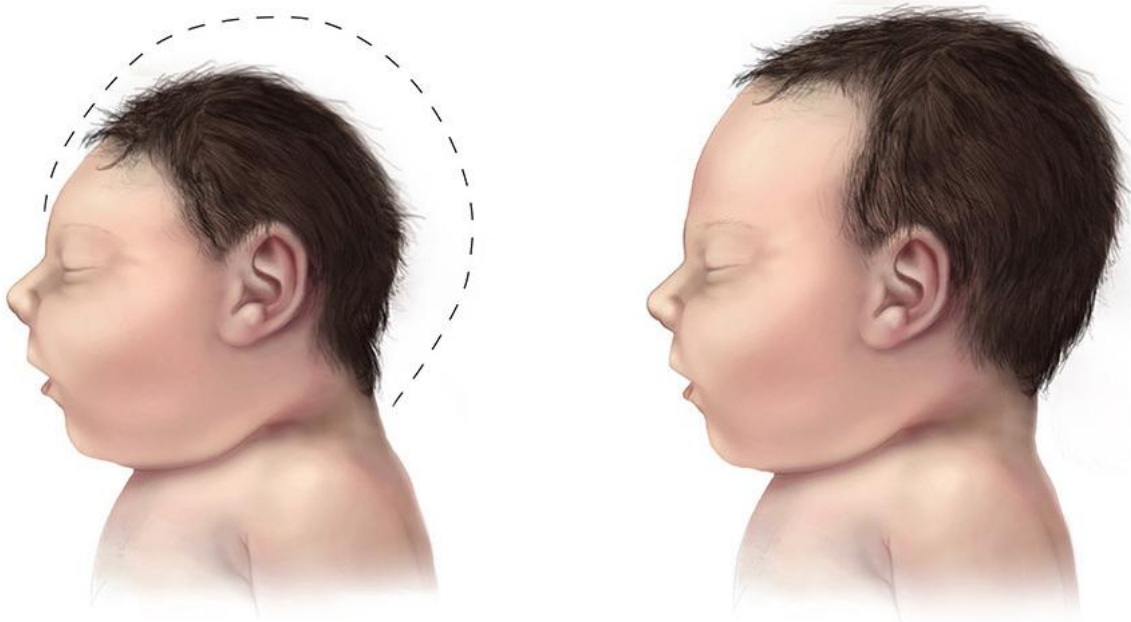
Virus Zika spolu s dalšími viry se může podílet na neurologické infekci a onemocnění včetně encefalitidy v důsledku japonské encefalitidy, meningitidy, viru západonilské horečky či viru Chikungunya. Zda virus Zika způsobuje nebo má schopnost způsobit závažná neurologická onemocnění u lidí, je stále nejasné [56], ale dle vědeckých důkazů z WHO je potvrzeno, že virus Zika je příčinou mikrocefalie a Guillain-Barrého syndromu [24].

5.1.1 Mikrocefalie

Velké obavy vzbuzuje virus Zika v případě infekce v období těhotenství, u kterých nitroděložní infekce vyvolává zvýšené riziko kongenitálních malformací, dokonce i v případě, že infekce má asymptomatický průběh. Bylo zjištěno, že virémie je u těhotných žen významně delší než u netěhotných. Virová RNA v krvi u gravidních žen byla sledována až 53 dní, zatímco u ostatních žen byla prokázána jen 7 dní [57]. Příčiny déle trvající virémie u gravidních žen ani její význam pro závažnost nitroděložní infekce nejsou zatím známy.

Riziko vzniku malformací u plodu nakažených žen v těhotenství se uvádí na 29 %. Dále bylo prokázáno, že riziko existuje při nákaze těhotné ženy v kterémkoliv trimestru těhotenství [58], [59]. Jako příčina poškození vyvíjejícího se mozku jsou uváděny morfologicky patrné důsledky infekce buňky virem, tak i imunitní reakce na infekci. Typickými projevy nitroděložní infekce virem Zika může být ventrikulomegalie, hypoplazie thalamů, mozečku, mozkového kmene, chorioretinitida, hypoplazie očního nervu, katarakta a také mikrocefalie [60].

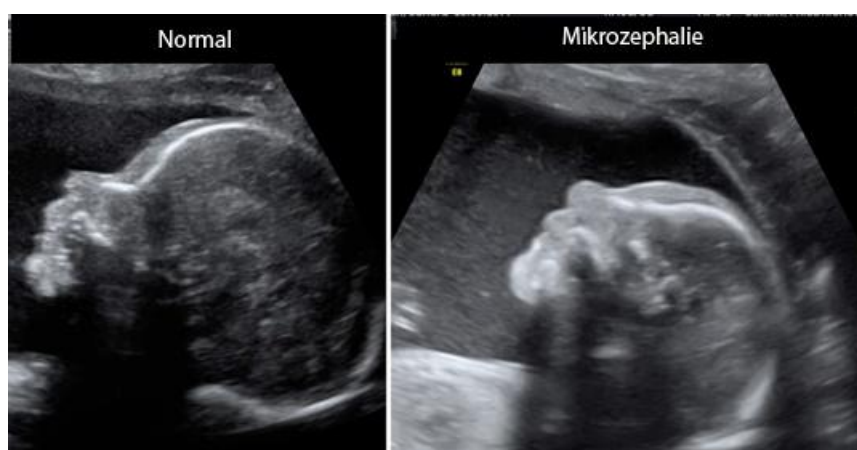
Mikrocefalii (obrázek 5) lze zařadit mezi neobvyklé vývojové vady. Může být geneticky zděděna nebo i vyvolána vnějšími vlivy při vývoji plodu. Nejzřetelnějším znakem je malý obvod lebky, který se projevuje během dalšího vývoje, kdy lebka neroste. Obvod hlavy může být až o 30 % menší než u ostatních jedinců. Děti poté vykazují některé tělesné a duševní vývojové vady. U daného jedince se objevuje opožděný vývoj řeči, motorická retardace a v důsledku poruch s polykáním mají problém s příjmem potravy, proto většina z nich trpí podváhou. Může se projevit i problém s rovnováhou, extrémní aktivitou (hyperaktivita), mimovolným pohybem (hyperkineze), epileptickými záchvaty či sníženou obranyschopností organismu. Nicméně existují také případy, kdy děti trpící mikrocefalií mají vývoj kognitivních a tělesných funkcí bez abnormalit [61].



Obrázek 5 – Mikrocefalie [62]

Hlavní příčinou mikrocefalie je dyscefalie, při které mozek dítěte roste pomaleji. Lebka se následně dále nerozšiřuje z důvodu nízkého tlaku. Za následek geneticky zděděné mikrocefalie je zodpovědný gen TUBB5, který produkuje protein zvaný tubulin. Tento protein je důležitý při výstavbě buněčné struktury a je zodpovědný za normální růst. Při mutaci genu dojde ke snížení rychlosti růstu mozku u embrya a následně může dojít k srůstu lebečních švů. Toto ale není jediný gen, který může být příčinou mikrocefalie. Další gen, který ovlivňuje vývoj mozku, je gen kalmodulin dependentní serinová kináza (CASK). Pomáhá regulovat expresi proteinů pro normální vývoj mozku [61].

Stanovení mikrocefalie u plodu je možné pomocí ultrazvukového vyšetření (obrázek 6) od 32. týdne těhotenství, ale tato porucha může být rozpoznána až mnohem později. Dalším možným způsobem je využití rentgenového vyšetření (RTG), magnetické rezonance (MRI) a počítačové tomografie (CT). Konečné potvrzení mikrocefalie plodu musí být vždy doloženo genetickým vyšetřením moče a krve od obou rodičů [61].



Obrázek 6 – Ultrazvukové vyšetření: vlevo správný vývoj mozku plodu a vpravo mikrocefalie [61]

V Brazílii se mikrocefalie stává velkým problémem veřejného zdravotnictví. V roce 2016 byl hlášen celkový počet novorozenců s mikrocefalií okolo 4000. Zprvu bylo poukazováno na několik původců včetně genetických poruch, které by mohly způsobit mikrocefalii. Jednalo se o autosomálně recesivní mikrocefalii, Aicardi-Goutières syndrom, chromozomální trisomii, Rettův syndrom, X-chromozomální mikrocefalii, mateřskou podvýživu, drogové a chemické intoxikace či transplacentární infekce virem nebo bakteriemi [63], [64]. V poslední době studie ukázala, že virus Zika vyvolává buněčnou smrt lidské nervové kmenové buňky a tím narušuje tvorbu neurosféry. Toto zjištění značí, že virus Zika je

hlavní příčinou nových případů mikrocefalie v Brazílii [65]. Uvnitř dělohy je plod obklopen plodovou vodou, což je tekutina, která obsahuje fetální a mateřské buňky stejně tak jako mikroorganismy [66]–[71]. Nejběžnější bakteriální druhy nalezené v plodové vodě ženy, které podstoupí předčasný porod s neporušenými membránami, jsou *Ureaplasma urealyticum*, *Fusobacterium* sp. a *Mycoplasma hominis*. U žen s předčasným porodem byly identifikovány v plodové vodě i další bakteriální kmeny rodů, jako jsou *Sneathia*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Streptococcus*, *Leptotrichia*, *Peptostreptococcus*, *Escherichia*, *Gardnerella*, *Bacillus*, *Bergeyella*, *Citrobacter*, *Delftia*, *Lactobacillus*, *Neisseria*, *Clostridiales* a *Staphylococcus* [68], [69].

Nedávná studie v Brazílii potvrdila přítomnost viru Zika v plodové vodě (odebrané v 28. gestačním týdnu) dvou těhotných žen nosící plody s mikrocefalií [72]. Virus Zika byl detekován metodou PCR, metagenomicky a metatranskriptomicky. Cílem této studie bylo analyzovat mikrobiální (prokaryotické a eukaryotické) a parazitární rozmanitost v plodové vodě v těchto dvou případech. Kromě toho došlo ke srovnávání těchto dvou případů s metatranskriptomickými sekvencemi ve vzorcích od 16 těhotných žen odebraných v různých časových úsecích v těhotenství. Byly odebrány čtyři prenatalní vzorky v 18.–24. týdnu, šest vzorků z 34.–36. týdne a dalších šest vzorků z období 39.–40. týdne [71].

Plodová voda a placenta obsahovala různé druhy bakterií, zejména ve vzorcích od žen, které předčasně porodily [70], [72], [73]. Byl pozorován placentárně bohatý mikrobiom u žen s normálním průběhem těhotenství. Tento mikrobiom je pravděpodobně důležitý pro metabolický a imunitní vývoj plodu [74]. Neurologicky poškozenému zárodku, který je infikován virem Zika, je znemožněn pohyb uvnitř dělohy, čímž se mění prostředí plodové vody, což může vést k sekundárním problémům. Infekce virem Zika by rovněž mohla vést k imunodeficitním stavům. V předběžné studii předčasně narozené děti s neonatální nekrotizující enterokolitidou vykazovaly nižší mikrobiální rozmanitost ve srovnání s kontrolami [75]. V této studii byla mikrobiální a parazitární rozmanitost plodové vody nižší u pacientek, které byly infikované virem Zika než u prenatalních kontrol. Bakterie rodu *Propionibacterium* byl nalezen u žen s předčasným protržením plodových obalů. Zástupci tohoto rodu byli častěji pozorováni u infikovaných pacientek, což naznačuje změnu prostředí pro vývoj plodu. Změna mikrobiálního složení během těhotenství může mít za následek škodlivé sekundární metabolity, které dále zhoršují fetální vývoj mozku. Tato studie byla prvním pokusem objasnit mikrobiální a parazitické rozmanitosti spojené s infekcí virem Zika

u infikovaných těhotných žen. Přítomnost různorodých mikrobiálních parazitů v plodové vodě naznačuje zhoršení zdravotního stavu nejen těhotných žen, ale i plodu [63], [69].

Komplexní léčba mikrocefalie zatím neexistuje. Rodiče, kteří již mají dítě s mikrocefalií, by měli při plánování dalších potomků podstoupit široké spektrum vyšetření pro odhalení příčin poruchy. Pokud by byli oba rodiče nosiči recesivní mutace genu, potom je 25% možnost přenosu na potomky [61].

5.1.2 Guillain-Barré syndrom

Guillain-Barré syndrom (GBS) je autoimunitní onemocnění vyznačující se různou mírou slabosti, těžkými chabými parézami, smyslovými abnormalitami a autonomní dysfunkcí v důsledku poškození periferních nervů [76]. Parézy jsou většinou reverzibilní, avšak u některých osob zůstávají reziduální parézy dlouhodobě. Jedná se o akutní zánětlivou demyelinizační polyneuropatii způsobenou probíhající infekcí [44]. Celosvětový roční výskyt onemocnění GBS je 1 až 2 případy na 100 000 obyvatel. K proměnlivosti dochází podle geografických poloh a věkových skupin [77], [78]. Uzdravování může trvat několik měsíců nebo i rok. U mnoha pacientů dochází k celkovému vyléčení, není však vyloučeno, že někdy nepřetržitě doživotní poruchy hybnosti. Pro některé může končit toto onemocnění dokonce trvalou invaliditou. Smrt je vzácná a je obvykle způsobena respiračním selháním, autonomní dysfunkcí nebo hlubokou žilní trombózou [79].

Onemocnění GBS je dáváno do souvislosti s různým infekčním agens včetně viru Zika [80]. Během let 2013 až 2014 se vyskytla ohniska ve Francouzské Polynésii a bylo nahlášeno 42 případů GBS v průběhu 7 měsíců. Pro srovnání lze uvést, že v minulých letech se ročně vyskytovalo 3 až 10 případů. Všichni pacienti s GBS během vypuknutí měli protilátky proti viru Zika [81].

V Portoriku v prosinci roku 2015 byl Ministerstvem zdravotnictví hlášen lokální výskyt infekce virem Zika [82]. Poté začátkem roku 2016 byl prvně nahlášen případ GBS spojen s virem Zika. Během ledna až července roku 2016 bylo hlášeno celkem 56 případů GBS a spojitost s infekcí virem Zika byla nalezena u 34 (61 %) případů [83].

Byl spočítán základní výskyt onemocnění GBS v Portoriku s použitím údajů shromážděných prostřednictvím lékařského posouzení pacientů s podezřením na GBS [84], [85]. V roce 2013 se onemocnění vyskytovalo cca ve 2 případech na 100 000 obyvatel. Při absenci přenosu infekce virem Zika bylo odhadnuto, že 1 případ nastane každý týden a více než 59 případů se vyskytne za každý rok [86].

Během dalšího roku se odhaduje, že v průměrném týdnu přenosu infekce virem Zika by mohlo nastat asi 5 případů onemocnění GBS. Jsou zde zahrnuty případy spojené s různými nebezpečnými onemocněními, ale i s infekcí virem Zika. Podobně jako v předchozím propuknutí jiných virových onemocnění by mohl být vrcholný výskyt 2–4krát vyšší než v průměrném týdnu [84].

Pro zjištění GBS je důležité neurologické vyšetření, které může prokázat obrnu svalstva. Vyšetřením elektromyografií (EMG) lze získat mnoho informací o funkci nervů a svalů. Další možností je vyšetření mozkomíšního moku prostřednictvím lumbální punkce, při němž může být nalezena proteinocytologická disociace, kde je zvýšené množství celkové bílkoviny s normálním nálezem buněčných elementů [87].

Dosud neexistuje žádná účinná prevence, avšak léčba je možná. Pomáhá očišťování krevní plazmy pomocí přístroje. Tento proces se nazývá plazmaferéza, při které dochází k odstranění protilátek útočících na tkáň. Další možností může být podání velkého množství imunoglobulinů, kde ale zatím není znám přesný účinek [87].

6 DIAGNOSTIKA

Průkaz infekce virem Zika je obtížný, neboť klinické projevy infekce lze zaměnit za jinou velmi podobnou infekci, jako je infekce virem Chikungunya nebo horečka dengue. V diagnostice jsou důležité molekulární a imunologické metody. Poprvé v roce 2010 byl virus Zika potvrzen u dítěte v Kambodži prostřednictvím imunologických metod a PCR. Vyloučena byla horečka dengue, virus západonilské horečky a virus žluté zimnice. Infekce virem Zika má podobné projevy jako jiné infekce způsobené arboviry, může jít o závažné hemoragické horečky, bolesti hlavy, vyrážku, bolesti kloubů, meningitidu a encefalitidu. Lékaři si toho musí být vědomi a měli by využít další potvrzující testy pro stanovení diagnózy u pacientů, kteří žijí nebo nedávno navštívili endemické oblasti [88].

V diagnostice infekcí virem Zika jsou v současné době využívány metody kvantitativní PCR rezervní transkripce (RT-PCR), PCR k přímému důkazu virové RNA, metody enzyimoimunoanalýzy (ELISA) k průkazu protilátek IgG, IgM a metody virus neutralizačního testu (VNT) k průkazu neutralizačních protilátek. Prostřednictvím PCR lze diagnostikovat infekci Zika z pacientovy krve v období virémie. Metodou PCR lze virovou RNA detekovat i v moči pacienta. K průkazu protilátek existuje řada různých metod, nejběžněji používané jsou metody na principu ELISA nebo metoda nepřímé imunofluorescence (NIF). Je nutné znát cestovatelskou a očkovací anamnézu každého pacienta a přesné údaje o akutním onemocnění, aby došlo k správnému výběru vyšetřovací metody [89].

V tabulce 1 jsou uvedeny doporučené diagnostické postupy.

Tabulka 1 – Doporučené diagnostické postupy [44]

Situace	Vyšetření
≤ 7 dní od nástupu příznaků	RT-PCR (krev, moč), VNT (IgG, IgM)
8–14 dní od nástupu příznaků	RT-PCR (moč), VNT (IgG, IgM)
> 15 dní od nástupu příznaků	VNT (IgG, IgM)
asymptomatické osoby	VNT (IgG, IgM), odběr krve nejdříve za 3 týdny od návratu z endemické oblasti
muž s prokázanou infekcí	RT-PCR (sperma)

6.1 Sérologická diagnostika

Lanciotti et al. (2007) popisuje genetické a imunogenní vlastnosti viru Zika během epidemie na ostrově Yap v Mikronésii. Cenným zjištěním studie na ostrově Yap bylo, že IgM protilátky měly křížovou reaktivitu proti jiným flavivirům. To by naznačovalo, že imunitní odezva byla pod určitým omezením. Z toho vyplývá, zde mohlo dojít ke změně viru Zika, což mohlo vést k vyšší patogenitě [90].

Klinickými projevy infekce virem Zika na ostrově Yap byla vyrážka, zánět spojivek a bolest kloubů. Metodou ELISA byl za původce epidemie označen virus horečky dengue. Vzorky byly odeslány do diagnostické laboratoře CDC za účelem potvrzení. Metodou ELISA byla infekce horečky dengue potvrzena. Sekvenací původce epidemie však byla zjištěna 90% shoda s virem Zika [8], [90].

Virus Zika, virus žluté zimnice, Chikungunya virus a virus dengue typu 2 byly identifikovány jako arboviry s nejvyšší prevalencí u lidí v Nigérii. Protilátky proti arbovirům byly vyšetřeny ve 267 lidských sérech z regionu jezera Kain v Nigérii. Celkem 158 sér (59 %) obsahovalo flaviviry hemaglutinačně-inhibiční protilátky a 139 (52 %) mělo alfavirové hemaglutinačně-inhibiční protilátky. Prevalence protilátek proti viru Zika byla 56 %, proti viru dengue 46 %, proti viru žluté zimnice 31 % a proti Chikungunya viru 45 % [91].

Séra náhodně vybraná od 446 jednotlivců napříč různými věkovými skupinami v Nigérii byla testována na flaviviry IgM protilátky s použitím HI. V sérech 314 (69 %) pacientů byly prokázány protilátky proti viru Zika, západonilské horečky, Potiskum, Uganda S a žluté zimnice. Nejvíce pozitivních vzorků bylo prokázáno u mladší generace [92].

Detekce sérových IgM protilátek proti viru Zika (metodou ELISA) je indikativní 2–5 měsíců. Tato metodologie byla použita společně s izolací viru od komárů pro porovnávání mezi některými vesnicemi v jihovýchodním Senegalu mezi léty 1988 a 1990. K infekci virem Zika u lidí zde došlo v roce 1990, ale epizootická ohniska se každoročně rozšiřovala. Kromě toho v průběhu vědeckých studií byl z komárů izolován i virus dengue typu 2, ale nebyl to jediný flavivirus, který byl zde nalezen. Byly izolovány i jiné flaviviry včetně Wesselsbron viru, Chikungunya viru, Krymsko-konžské hemoragické horečky a viru horečky údolí Rift [93].

V okrese Karamoja v Ugandě bylo v roce 1984 shromážděno 132 vzorků séra dospělé populace. Tyto vzorky byly podrobeny analýze metodou HI a imunofluorescence (IFA). Zjištěno bylo 47 % pozitivních vzorků na Chikungunya virus a 16 % na ostatní flaviviry

(virus západonilské horečky, virus Zika a Wesselsbron virus). Několik jedinců ale mělo také protilátky proti virům Marburg, Ebol, Lassa a Krymsko-konžské hemoragické horečky. Protilátky proti virům žluté zimnice a viru dengue typu 2 chyběly [94].

V jihovýchodním Gabonu bylo shromážděno 197 vzorků sér dospělé populace, 28 sér matek a jejich novorozenců a 34 opičích sér. Protilátky byly prokazovány metodami HI a IFA. Celkem 88 % vzorků obsahovalo protilátky proti viru žluté zimnice z důvodu očkování, 58 % proti viru Orungo a 20 % proti viru Chikungunya (byl prokázán pomocí CFT). U zbylých vzorků byly prokázány protilátky proti viru Zika a Chikungunya viru především v opičích sér [95].

K průkazu infekce virem Zika je důležité serologické vyšetření a průkaz viru, což je časově náročné. Kromě toho sérologie často ukazuje křížovou reaktivitu a není specifická. Proto je nutné využít testy, které jsou specifičtější [96].

6.1.1 ELISA

Tato metoda se používá k nepřímé diagnostice infekce u osob, u nichž je podezření na probíhající či dříve prodělanou infekci virem Zika. Protilátky lze vyšetřit i u těhotných žen, které neměly žádné klinické příznaky, ale pobývaly v období gravidity v rizikových oblastech. Jako materiál se zde používá srážlivá krev nebo sérum [89].

Výsledná pozitivita IgM i IgG může značit akutní fázi infekce virem Zika či nedávno prodělanou infekci. Může jít ale i o zkříženou reakci s jinými flaviviry. Pokud bude IgM negativní a IgG stále pozitivní, pak se může jednat o přítomné protilátky po dříve prodělané infekci či opět se může jednat o zkříženou reakci s jinými flaviviry. Pokud bude výsledek opačný, jedná se o časnou fázi infekce či o nespecifickou reakci. Při jakémkoliv pozitivním výsledku protilátek by se měla provést i vyšetření na další flaviviry, jelikož se může jednat o zkříženou reakci, která představuje v sérologii flavivirů velký diagnostický problém. U viru Zika nejde vyloučit, že nebude docházet ke zkříženým reakcím s jinými flaviviry. Pokud pacient v minulosti prodělal například klíšťovou encefalitidu nebo byl proti některému flaviviru očkovan, je možné, že sérum tohoto pacienta bude zkříženě (nespecificky) reagovat s antigenem viru Zika a tento test může dát pozitivně falešný výsledek [89].

6.1.2 VNT

Virus neutralizační test je metoda, která umožňuje rozlišit, zda se jedná skutečně o specifické protilátky proti viru Zika nebo zkříženě reagující protilátky proti jinému viru. Tento test detekuje i velmi nízké hladiny specifických protilátek. Pro VNT je důležité mít k dispozici živý virus a pro množení buněčnou kulturu [89].

VNT se provádí na mikrotitrační destičce, přičemž na 1 destičce lze vyšetřit 8 vzorků. Každý řádek je pro vyšetření 1 vzorku a ten je postupně nařazen ve dvojnásobcích. Jako kontrola růstu buněk slouží první 3 jamky každého řádku, musí být červeně zbarveny. Od další jamky se provádí vlastní VNT. Zde červeně zbarvené jamky vykazují, že jejich dno je prorostlé buňkami. V bezbarvých jamkách žádné buňky nejsou, protože u nich působením viru nastal cytopatický efekt. Pokud jsou ve vzorku přítomny specifické neutralizační protilátky, poté tyto protilátky působí proti viru a dojde k jeho neutralizaci, čímž ochrání buňky před napadením a zabrání jeho infekčnosti. V takovýchto jamkách buňky vyrostou. Tímto jsou prokázány protilátky ve vzorku [89].

Na obrázku 7 je mikrotitrační destička, na které bylo vyšetřeno 8 vzorků pomocí VNT s virem západonilské horečky (WNV). Všechny vzorky byly předtím vyšetřeny metodou ELISA, kde u každého z nich byl zjištěn pozitivní výsledek na protilátky proti WNV. Po provedení VNT bylo prokázáno, že pouze 2 vzorky skutečně obsahovaly protilátky proti WNV. Jsou to vzorky na řádce 4 a 8. U ostatních bylo možné vyhodnotit, že se jednalo o zkříženě reagující protilátky v testu ELISA, které byly ve skutečnosti protilátkami proti klíšťové encefalitidě. Tato skutečnost byla potvrzena dalším VNT s virem klíšťové encefalidity [89].



Obrázek 7 – Mikrotitrační destička s VNT [89]

6.2 Molekulárně biologická diagnostika

6.2.1 RT-PCR

Metoda RT-PCR může být použita, pokud je potřeba namísto deoxyribonukleové kyseliny (DNA) zmnožit mRNA. Nutná je izolace celkové RNA či mRNA ze vzorku. Následuje převedení mRNA na komplementární DNA (cDNA) pomocí reverzní transkriptázy polymerázové řetězové reakce postupem RT-PCR. I když vlastní přepis RNA do cDNA není zvlášť náročný, je metoda obtížnější než samotné zmnožení DNA, protože RNA rychle degraduje účinkem ribonukleas, které kontaminují vzorky či pomůcky. Je proto nutné pomůcky ošetřit inhibitory ribonukleasy [97].

RT-PCR je využívána pro detekci RNA viru Zika. Test je zaměřený na kódování proteinu a je hodnocena citlivost, specifická a reprodukovatelnost. Kromě toho metoda byla používána pro svou schopnost detekovat virus Zika v průběhu předchozích 40 let z různých hostitelů z několika afrických zemí. Metoda RT-PCR může být klinicky užitečná k detekci infekce viru Zika v oblastech, kde společně cirkulují i jiné klinicky související arboviry včetně horečky dengue a Chikungunya viry. Test je 100% reprodukovatelný v séru pacientů a v buněčných kulturách. Díky tomu byly odhaleny i další flaviviry [96].

Byl vyvinut rychlý jednořadový RT-PCR test, který lze provést za méně než 3 hodiny s použitím sekvencí z kódujících proteinů afrického viru Zika. Tato metoda je schopna detekovat 37 sér. Pro klinické použití je zbývá jen ověřit. Je zapotřebí shromáždit více vzorků od pacientů, které mohou být studovány. V tomto ohledu je třeba poznamenat, že virus Zika může být těžko odhalitelný [98], [99].

Tento přímý důkaz je vhodný pouze u pacientů, kteří se nacházejí v akutní fázi onemocnění. Nejvhodnější období k odběru vzorků je maximálně 7 dní od prvních příznaků. Týká se osob, které přicestovaly z oblastí, kde se vyskytuje infekce virem Zika. Toto vyšetření se dá provádět z nesrážlivé krve, popřípadě srážlivé krve nebo séra, z moči v období 1–2 týdny následující bezprostředně po akutní infekci virem Zika, bohužel zde ani negativní výsledek nevylučuje možnost infekce. Dále se dá využít i materiál jako je likvor, sperma, plodová voda či jiný materiál [89].

6.3 Výsledky národní referenční laboratoře

V období od února do října 2016 bylo v Národní referenční laboratoři (NRL) pro arboviry vyšetřeno celkem 227 vzorků metodou RT-PCR na detekci RNA viru Zika. Z toho 163 vzorků bylo z krve, 57 vzorků z moči, 6 vzorků ze spermatu a 1 vzorek z pitvy. Pozitivní výsledky byly prokázány v případě 12 vzorků (4 vzorky z krve, 6 vzorků moče a 2 vzorky spermatu) od 8 pacientů [44].

Za stejné období bylo prostřednictvím metody ELISA vyšetřeno 769 vzorků krve na stanovení protilátek IgG a IgM proti viru Zika. Z toho bylo ve třídě IgM pozitivních 25 vzorků, 9 hraničních a 735 negativních. Ve třídě IgG bylo nalezeno 26 pozitivních vzorků, 13 hraničních a 730 negativních. Metodou VNT bylo za stejné období zkontrolováno 733 vzorků. Pozitivní výsledek byl stanoven ve 44 případech, 38 vzorků bylo hraničních a 651 negativních [44].

Akutní infekce virem Zika byla doposud prokázána u 16 pacientů. Celkem 7 z nich se podařilo diagnostikovat na základě RT-PCR z krve nebo z moči, přičemž 5 pacientů mělo současně již při prvním odběru pozitivní protilátky. U 2 pacientů byla nalezena pozitivní IgM i VNT, 3 měli pouze pozitivní VNT a zbývajících 2 měli VNT hraniční, IgM i IgG negativní [44].

U 9 pacientů byla akutní infekce virem Zika diagnostikována pouze na základě sérologie. Výsledky pacientů při prvním odběru jsou shrnuty v tabulce 2 [44].

Tabulka 2 znázorňuje výsledky vyšetření pacientů s akutní infekcí virem Zika při prvním odběru.

Tabulka 2 – Výsledky vyšetření pacientů s akutní infekcí virem Zika při prvním odběru [44]

Číslo vzorku	Pohlaví	Věk	PCR (krev)	PCR (moč)	ELISA (IgM)	ELISA (IgG)	VNT
1.	F	38	N	X	P	N	P
2.	F	43	N	X	H	N	H
3.	F	49	P	P	N	N	H
4.	M	58	N	P	P	N	P
5.	M	44	N	N	P	H	P
6.	M	41	N	X	P	P	P
7.	F	42	X	X	P	P	P
8.	M	33	N	N	P	H	P
9.	F	64	P	X	P	N	P
10.	F	43	N	P	N	N	P
11.	M	41	P	N	N	N	P
12.	M	31	N	X	P	P	P
13.	M	26	N	N	P	N	P
14.	F	31	N	N	N	N	P
15.	F	23	N	N	P	P	P
16.	M	Neuvedeno	P	X	N	N	H

Vysvětlivky k tabulce 2: P – pozitivní, H – hraniční, N – negativní, X – nevyšetřeno

Dosavadní výsledky potvrzují, že je nutností, aby laboratorní diagnostika infekce virem Zika byla komplexní a opírala se o přímé i nepřímé metody průkazu infekce. Metoda RT-PCR je vyhrazena pouze pro akutní symptomatické případy a musí být doplněna o VNT. Metoda ELISA má vysokou specificitu, avšak potvrdila se nižší citlivost, proto musí být také doplněna o VNT, který je citlivější metodou ve srovnání s testy ELISA [44].

U hraničních výsledků je nejasná interpretace, proto je požadován další odběr vzorku, avšak v praxi je druhý vzorek zaslán jen u malého počtu osob, proto nelze jednoznačně určit,

zda je hraniční výsledek odrazem nízké hladiny protilátek či jde o nespecifickou reakci. Hraniční výsledky se také objevují u konfirmačních testů VNT, v těchto případech je důležité znát údaje o absolvovaném očkování proti jiným flavivirům a o prodělaných flavivirových infekcích. Tyto okolnosti mohou způsobit křížovou reaktivitu. Hraniční výsledek u osoby s negativní anamnézou z předchozího působení flavivirů představuje větší pravděpodobnost, že se skutečně jedná o nízkou hladinu protilátek proti viru Zika. Toto bylo potvrzeno u několika pacientů v časně fázi infekce. Zatím je stále nejasné, zda při asymptomatickém průběhu infekce virem Zika je virémie nižší než u symptomatického průběhu a zda je i snížené množství vytvořených protilátek u těchto osob. To by vysvětlovalo nízký pozitivní až hraniční výsledek VNT u některých asymptomatických průběhů u osob vracející se z endemických oblastí [44].

7 TERAPIE

Infekci virem Zika není možné v současnosti nijak léčit [100], [101]. Pro pacienty, kteří mají projevy infekce virem Zika, CDC doporučuje odpočinek a zvýšený příjem tekutin, aby se předešlo dehydrataci. Případné bolesti a horečky mohou být tlumeny např. paracetamolem. Pokud ale pacient užívá léky na jiné chorobné stavy, je nutné, aby se poradil s lékařem před použitím dalších léků. Dokud není vyloučeno, že se nejedná o horečku dengue, nesmí být kvůli riziku hemoragií použity k léčbě aspirin ani nesteroidní antiflogistika. Kvůli obavám ohledně mikrocefalie dětí, CDC doporučuje monitorování růstu plodu matek nakažených virem Zika každé 3–4 týdny [100].

Rovněž se řeší otázka vývoje vakcíny proti viru Zika, která je bezpochyby podpořena rychlým nasazením experimentálních vakcín proti Ebole během nedávné virové epidemie v západní Africe. Avšak před vypuknutím této epidemie se již vakcíny proti tomuto viru vyvíjely, tudíž optimistické výhledy, že by mohla být vakcína proti viru Zika vyvinuta během jednoho roku, nejsou na místě. Neměli bychom opomenout, že vývoj vakcíny proti čtyřem sérotypům viru dengue byl plný obtíží. Na druhou stranu probíhající vývoj vakcín, například chimérické vakcíny, kde byla použita vakcína proti viru žluté zimnice 17D jako „backbone“, byl úspěšně použit pro vývoj vakcíny proti flaviviru na západním Nilu, který se objevil v roce 1999. Ale i když bude vakcína k dispozici, nepředvídatelná povaha vývoje viru Zika a nutnost očkování vysokého počtu lidí žijících v zasažených oblastech by znamenalo, že plošná vakcinace nebude nákladově efektivní, zejména pokud je současná nákaza u dospělých jedinců relativně nízká nebo bez příznaků. Možná by bylo efektivnější zavést očkování proti jakémukoliv viru Zika u žen v plodném věku. Nicméně i zde bude nutné zavést jistá opatření, aby nedošlo k nechtěným vedlejším účinkům [102].

8 PREVENCE

Klíčovým opatřením v šíření infekce virem Zika je zvýšená ochrana proti bodnutí komárem. Lidé by měli více chránit holou kůži a zakrývat ji co nejvíce zejména světlým oblečením. Může to být provedeno také pomocí fyzické bariéry, jako je používání okenních sítí proti hmyzu či časté zavírání dveří a oken. Dalším důležitým prostředkem je využívání repelentů s obsahem diethyltoluamidu (DEET), IR3535 nebo icaridinu. Zvláštní pozornost by měla být věnována těm, kteří nemusí být schopni se chránit předešlými způsoby. Toto se týká především malých dětí, nemocných či starších osob [24].

Virus Zika může být přenášen také pohlavním stykem. Infekce virem Zika má nepříznivý vliv na průběh těhotenství a vývoj plodu. V regionech s aktivním přenosem viru Zika by měly být dostupné informace (zejména pro těhotné ženy) o rizicích přenosu viru Zika při pohlavním styku. WHO doporučuje sexuálně aktivním mužům a ženám používání vhodných antikoncepčních prostředků a přesunutí těhotenství na vhodnější dobu, aby se zabránilo možnému nepříznivému účinku na průběh těhotenství. Těhotné ženy by měly praktikovat bezpečný sex (včetně správného a důsledného používání kondomů), nebo se zdržet sexuální aktivity nejméně po celou dobu těhotenství. Pro regiony, kde není znám aktivní přenos viru Zika, WHO doporučuje informovat o bezpečnějším sexu nebo abstinenci po dobu šesti měsíců pro muže a ženy, kteří se vrací z oblastí aktivního přenosu [24].

Dále je důležité snižovat populace komárů rodu *Aedes aegypti* a zamezit tak dalšímu šíření flavivirů. Je nutné překonat stávající odpor veřejnosti vůči insekticidům a vést obyvatele v zasažených oblastech k tomu, aby zakrývali i ta nejmenší místa se stojatou vodou. Vzorovým příkladem, jak může být takováto kontrola zavedena, je stát Singapur, který ke zvýšení informovanosti veřejnosti pořádá kampaně ohledně nebezpečnosti infekce a nutnosti používání repelentů či jiných účinných prostředků. Rovněž se můžeme poučit z historie: v roce 1900 vedla velmi přínosná práce Waltera Reeda a jeho kolegů k drastické redukci výskytu žluté zimnice na Kubě, jakmile byl jako hlavní přenašeč potvrzen *Aedes aegypti*. Panamský průplav byl dokončen poté, co vyhubení komárů výrazně snížilo riziko nákazy. Je nezbytně nutné, aby se vláda snažila implementovat efektivní strategie [2].

To, že virus Zika následoval expanzi viru Chikungunya po celém světě, by nás všechny mělo varovat před možnými riziky, stejně jako před možnou expanzí ostatních afrických virů, například alfaviru O'nyong nyong [2].

9 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout informace o viru Zika. Zabývá se charakteristikou viru Zika, jeho epidemiologií, onemocněními, která virus vyvolává, včetně patogeneze, diagnostiky, možností léčby a prevence.

Důležitým prvkem v terapii je správná diagnostika, která není snadná, protože prvotní symptomy infekce virem Zika mohou být lehce zaměněny za příznaky jiných velmi podobných infekcí, které jsou také doprovázeny horečkou a jinými mírnými obtížemi.

Virus Zika po dlouhou dobu zůstával v pozadí zájmu vědců až do situace, která ukázala, že virus není tak neškodný, jak se zprvu jevílo. Navzdory stále se vyvíjející medicíně, infekce virem Zika může vyvolat závažná neurologická onemocnění, která se nedaří zcela podchytit. Mezi tato onemocnění patří Guillain-Barré syndrom. Prodělání této nemoci může u některých pacientů způsobit doživotní poruchy hybnosti. Dalším velkým problémem zůstává nárůst novorozenců s mikrocefalií, která se navenek projevuje závažnými duševními a tělesnými vadami. Zatím neexistuje komplexní léčba ani možnost vakcíny. Její vyvinutí bude nesnadným úkolem. Tudíž je důležité v zasažených oblastech předcházet propuknutí infekce zvýšenou ochranou před komářími bodnutími pomocí moskytiér nebo repelentů. Znepokojujícím faktem je také možnost přenosu infekce virem Zika sexuálním stykem, proto je nezbytné poučit obyvatele o nutnosti používání ochranných pomůcek, pokud žijí v oblasti aktivního přenosu nebo v této oblasti nedávno pobývali.

Do budoucna lze předpokládat, že studiem tohoto viru bude možné získat cenné informace využitelné při sledování jiných vysoce virulentních virů.

10 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] DICK, G. W. Zika virus II. Pathogenicity and physical properties. *Trans R Soc Trop Med Hyg* [online]. 1952, **46**(5), 521-34 [cit. 2016-04-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12995441>.
- [2] HOWARD, C. R. Aedes mosquitoes and Zika virus infection: an A to Z of emergence? *Emerging Microbes and Infections* [online]. 2016, **5**, e16 [cit. 2016-11-28]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26905027>.
- [3] DICK, G. W., S. F. KITCHEN, A. J. HADDOW. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* [online]. 1952, **46**, 509-520 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12995440>.
- [4] MACNAMARA, F. N. Zika virus: a report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* [online]. 1954, **48**(2), 139-45 [cit. 2016-04-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13157159>.
- [5] SMITHBURN, K. C. Neutralizing antibodies against certain recently isolated viruses in sera of human beings residing in East Africa. *J Immunol* [online]. 1952, **69**, 223-34 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14946416>.
- [6] MOORE, D. L., O. R. CAUSEY, D. E. CAREY, et al. Arthropod-borne virus infections of man in Nigeria 1964–1970. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* [online]. 1975, **69**, 49-64 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1124969>.
- [7] SIMPSON, D. I. H. Zika virus infection in man. *Trans R Soc Trop Med Hyg* [online]. 1964, **58**, 335-8 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14175744>.
- [8] SHAPSHAK, P., et al. Zika virus. *Global Virology I - Identifying and Investigating Viral Diseases*. USA: Springer, 2015. s. 477-500. DOI 10.1007/978-1-4939-2410-3_18.
- [9] DUFFY, M. R., T. H. CHEN, W. T. HANCOCK, et al. Zika virus outbreak on Yap island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med* [online]. 2009, **360**, 2536 [cit. 2016-04-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19516034>.

- [10] HAYES, E. B. Zika Virus Outside Africa. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 2009, **15**(9), 1347-1350 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19788800>.
- [11] WEISSENBOECK, H., Z. HUBÁLEK, T. BAKONYI, N. NOWOTNY. Zoonotic mosquito-borne flaviviruses: worldwide presence of agents with proven pathogenicity and potential candidates of future emerging diseases. *Vet Microbiol* [online]. 2010, **140**(3-4), 271-80 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19762169>.
- [12] SMITHBURN, K. C., J. A. KERR, P. B. GATNE. Neutralizing antibodies against certain viruses in the sera of residents of India. *J Immunol* [online]. 1954, **72**(4), 248-57 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13163397>.
- [13] OLSON, J. G., T. G. KSIAZEK, et al. Zika virus, a cause of fever in Central Java, Indonesia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* [online]. 1981, **75**(3), 389-93 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6275577>.
- [14] AKOUA-KOFFI, C., S. DIARRASSOUBA, V. B. BÉNIÉ, et al. Investigation surrounding a fatal case of yellow fever in Côte d'Ivoire in 1999. *Bulletin de la Société de pathologie exotique* [online]. 2001, **94**(3), 227-30 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12244930>.
- [15] CAUCHEMEZ, S., M. BESNARD, P. BOMPARD, et al. Association between Zika virus and microcephaly in French Polynesia, 2013–15: a retrospective study. *Lancet* [online]. 2016, **387**, 2125 [cit. 2016-04-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4909533/>.
- [16] GATHERE, D., A. KOHL. Zika virus: a previously slow pandemic spreads rapidly through the Americas. *J Gen Virol* [online]. 2016, **97**, 269 [cit. 2016-04-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26684466>.
- [17] FARIA, N. R., Rdo S. AZEVEDO, M. U. KRAEMER, et al. Zika virus in the Americas: Early epidemiological and genetic findings. *Science* [online]. 2016, **352**, 345 [cit. 2016-04-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27013429>.
- [18] ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control. *Current Zika transmission* [online]. © 2005-2017, revised 13 April 2017 [cit. 2016-04-01]. Dostupné z:

http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/zika_virus_infection/zika-outbreak/Pages/Zika-countries-with-transmission.aspx.

[19] SCHOEPP, R. J., C. A. ROSSI, et al. Undiagnosed Acute Viral Febrile Illnesses, Sierra Leone. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 2014, **20**, 1176-1182 [cit. 2016-11-28]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4073864/>.

[20] HADDOW, A. D., A. J. SCHUH, C. Y. YASUDA, et al. Genetic characterization of Zika virus strains: geographic expansion of the Asian lineage. *PLoS Neglected Tropical Diseases* [online]. 2012, **6**, e1477 [cit. 2016-11-28]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3289602/>.

[21] SHEN S., J. SHI, J. WANG, S. TANG, et al. Phylogenetic analysis revealed the central roles of two African countries in the evolution and worldwide spread of Zika virus. *Virology* [online]. 2016, **31**(2), 118-30 [cit. 2016-04-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27129451>.

[22] CELER, V., V. CELER ml. *Obecná virologie*. 1. vydání. Praha: Nucleus HK, 2010. s. 7-135. ISBN 978-80-87009-70-3.

[23] BEDNÁŘ, M., et al. *Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie, Virologie, Parazitologie*. 2. publikace. Praha: Marvil, 1996. s. 346-478. ISBN 859-4-315-0528-0.

[24] WHO. World Health Organization. *Zika virus* [online]. © 2017, revised 6 September 2016 [cit. 2016-11-15]. Dostupné z: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/zika/en/>.

[25] ROSSMANN, M. G., R. KUHN, T. PIERSON. Structure of Zika Virus Revealed. *Protein Data Bank in Europe, Bringing Structure to Biology* [online]. 2016 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <http://www.ebi.ac.uk/pdbe/about/news/structure-zika-virus-revealed>.

[26] ZETTEL, C., P. KAUFMAN. *Aedes aegypti* (Linnaeus). *Featured Creatures, University of Florida* [online]. 2008 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: http://entnemdept.ufl.edu/creatures/aquatic/aedes_aegypti.htm.

[27] ROBIN, Y., J. MOUCHET. Serological and entomological study on yellow fever in Sierra Leone. *Bull Soc Pathol Exot Filiales* [online]. 1975, **68**(3), 249-58 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1243735>.

- [28] HADDOW, A. J., M. C. WILLIAMS, J. P. WOODALL, D. I. SIMPSOM, et al. Twelve isolations of Zika virus from *Aedes (stegomyia) africanus (theobald)* taken in and above a Uganda forest. *Bulltein of the World Health Organization* [online]. 1964, **31**, 57 [cit. 2016-11-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14230895>.
- [29] LI, M. I., P. S. WONG, L. C. NG, C. H. TAN. Oral susceptibility of Singapore *Aedes (Stegomyia) aegypti (Linnaeus)* to Zika virus. *PLoS Negl Trop Dis* [online]. 2012, **6**(8), e1792 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22953014>.
- [30] WONG, P. S., M. Z. LI, C. S. CHONG, L. C. NG, et al. *Aedes (Stegomyia) albopictus (Skuse)*: a potential vector of zika virus in Singapore. *PLoS Negl Trop Dis* [online]. 2013, **7**, e2348 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23936579>.
- [31] BALM, M. N., C. K. LEE, H. K. LEE, L. CHIU, et al. A diagnostic polymerase chain reaction assay for Zika virus. *Journal of Medical Virology* [online]. 2012, **84**(9), 1501-5 [cit. 2016-11-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22825831>.
- [32] DARBRO, J. M., P. H. JOHNSON, M. B. THOMAS, et al. Effects of *Beauveria bassiana* on survival, blood-feeding success, and fecundity of *Aedes aegypti* in laboratory and semi-field conditions. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* [online]. 2012, **86**, 656-64 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22492151>.
- [33] McCRAE, A. W., B. G. KIRYA. Yellow fever and Zika virus epizootics and enzootics in Uganda. *Trans R Soc Trop Med Hyg* [online]. 1982, **76**(4), 552-62 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6304948>.
- [34] HOULE, A. Primate Factsheets Image Gallery. *Primate Info Net: National Primate Research Center, University of Wisconsin - Madison* [online]. 2011 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <http://pin.primate.wisc.edu/factsheets/image/310>.
- [35] KILBOURN, A. M., W. B. KARESH, N. D. WOLFE, E. J. BOSI, et al. Health evaluation of free-ranging and semi-captive orangutans (*Pongo pygmaeus pygmaeus*) in Sabah, Malaysia. *Journal of Wildlife Diseases* [online]. 2003, **39**(1), 73-83 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12685070>.
- [36] WOLFE, N. D., A. M. KILBOURN, W. B. KARESH, H. A. RAHMAN, et al. Sylvatic transmission of arboviruses among Bornean orangutans *The American Journal of*

Tropical Medicine and Hygiene [online]. 2001, **64**(5-6), 310-6 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11463123>.

[37] BINGHAM, A. M., S. P. GRAHAM, N. D. BURKETT-CADENA, et al. Detection of eastern equine encephalomyelitis virus RNA in North American snakes. *Am J Trop Med Hyg* [online]. 2012, **87**, 1140-4 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3516089/>.

[38] BARBOZA, P., et al. Emerging viral infections in South East Asia and the Pacific region. *Médecine et Maladies Infectieuses* [online]. 2008, **38**(10), 513-23 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18771865>.

[39] KUNO, G., G. J. CHANG. Full-length sequencing and genomic characterization of Bagaza, Kedougou, and Zika viruses. *Arch Virol* [online]. 2007, **152**(4), 687-96 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17195954>.

[40] SIMMONS, C. P., J. J. FARRAR, V. NGUYEN, B. WILLS. Dengue. *N Engl J Med* [online]. 2012, **366**(15), 1423-32 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22494122>.

[41] SHUMAN, E. K. Global climate change and infectious diseases. *The New England Journal of Medicine* [online]. 2010, **362**, 1061-3 [cit. 2016-12-06]. Dostupné z: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMp0912931>.

[42] KHASNIS, A. A, M. D. NETTLEMAN. REVIEW ARTICLE global warming and infectious disease. *Arch Med Res* [online]. 2005, **36**, 689-96 [cit. 2017-02-09]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16216650>.

[43] LANCIOTTI, R. S., A. J. LAMBERT, M. HOLODNIY, S. SAAVEDRA, et al. Phylogeny of Zika Virus in Western Hemisphere, 2015. *Emerg Infect Dis* [online]. 2016, **22**(5), 933-5 [cit. 2017-04-09]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4861537/>.

[44] ZELENÁ, H., J. MRÁZEK. Zika virus – současné poznatky a laboratorní diagnostika. *Labor Aktuell* [online]. 2016 [cit. 2017-04-09]. Dostupné z: <http://www.roche-diagnostics.cz/home/casopis/LaborAktuell0416.html>.

- [45] MANSUY, J. M., M. DUTERTRE, C. MENGELLE, et al. Zika virus: high infectious viral load in semen, a new sexually transmitted pathogen? *Lancet Infect Dis* [online]. 2016, **16**, 405 [cit. 2017-04-09]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26949027>.
- [46] HAMEL, R., O. DEJARNAC, S. WICHIT, et al. Biology of Zika virus infection in human skin cells. *Journal of Virology* [online]. 2015, **89**, 8880-8896 [cit. 2016-11-28]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4524089/>.
- [47] MARTINES, R. B., J. BHATNAGAR, et al. Pathology of congenital Zika syndrome in Brazil: a case series. *Lancet* [online]. 2016, **388**(10047), 898-904 [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(16\)30883-2/abstract](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(16)30883-2/abstract).
- [48] WIWANITKIT, V. Placenta, Zika virus infection and fetal brain abnormality. *Am J Reprod Immunol* [online]. 2016, **76**(2), 97-8 [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27207189>.
- [49] ROBBINS, J. R., A. I. BAKARDJIEV. Pathogens and the placental fortress. *Curr Opin Microbiol* [online]. 2012, **15**(1), 36-43 [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3265690/>.
- [50] NORONHA, L. D., C. ZANLUCA, M. L. AZEVEDO, K. G. LUZ. Zika virus damages the human placental barrier and presents marked fetal neurotropism. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [online]. 2016, **111**(5), 287-293 [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27143490>.
- [51] QUICKE, K. M., J. R. BOWEN, E. L. JOHNSON, et al. Zika virus infects human placental macrophages. *Cell Host Microbe* [online]. 2016, **20**(1), 83-90 [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27247001>.
- [52] TANG, H., C. HAMMACK, S. C. OGDEN, et al. Zika virus infects human cortical neural progenitors and attenuates their growth. *Cell Stem Cell* [online]. 2016, **18**(5), 587-590 [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26952870>.
- [53] GARCEZ, P. P., E. C. LOILA, et al. Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids. *Science* [online]. 2016, **352**(6287), 816-818 [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27064148>.

- [54] QIAN, X., H. N. NGUYEN, M. M. SONG, et al. Brain-region-specific organoids using mini-bioreactors for modeling ZIKV exposure. *Cell* [online]. 2016, **165**(5), 1238-1254 [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27118425>.
- [55] BELL, T. M., E. J. FIELD, H. K. NARANG. Zika virus infection of the central nervous system of mice. *Arch Gesamte Virusforsch.* [online]. 1971, **35**, 183-93 [cit. 2017-02-09]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5002906>.
- [56] BALIN, B. J., C. J. HAMMOND. Emerging viral and bacterial infections of the central nervous system. *Neurobehav HIV Med* [online]. 2012, **4**, 35-44 [cit. 2017-02-09]. Dostupné z: <https://doi.org/10.2147/NBHIV.S24201>.
- [57] MEANEY-DELMAN, D., T. ODUYEBO, K. N. POLEN, J. L. WHITE, et al. Prolonged detection of Zika virus RNA in pregnant women. *Obstet Gynecol* [online]. 2016, **128**(4), 724-30 [cit. 2017-04-09]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27479770>.
- [58] BRASIL, P., J. P. PEREIRA, L. DAMASCENO, M. WAKIMOTO, et al. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro – Preliminary Report. *N Engl J Med* [online]. 2016, **375**, 2321-2334 [cit. 2017-04-09]. Dostupné z: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1602412>.
- [59] SOARES de SOUZA, A., et al. Fetal Infection by Zika Virus in the Third Trimester: Report of 2 Cases. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 2016, **63**(12), 1622-1625 [cit. 2017-04-09]. Dostupné z: <https://academic.oup.com/cid/article-abstract/63/12/1622/2645588/Fetal-Infection-by-Zika-Virus-in-the-Third?redirectedFrom=fulltext>.
- [60] KLASE, Z. A., S. KHAKINA. A. D. B. SCHENIDER, M. V. CALLAHAN, et al. Zika Fetal Neuropathogenesis: Etiology of a Viral Syndrome. *PLoS Negl Trop Dis* [online]. 2016, **10**(8), e0004877 [cit. 2017-04-09]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4999274/>.
- [61] ANAMNÉZA.CZ. *Mikrocefálie, Zika Virus, malá hlava způsobená špatným vývojem plodu* [online]. © 2003-2017 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <http://www.anamneza.cz/nemoc/Mikrocefalie-Mikrocefalie-Zika-Virus-mala-hlava-zpusobena-spatnym-vyvojem-plodu-11002>. ISSN 1802-8489.
- [62] MACHALA, L. Máme se bát viru Zika? *Vesmír* [online]. 2016 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <http://vesmir.cz/2016/02/02/mame-se-bat-viru-zika/>.

- [63] TSCHOEKE, D. A., L. S. DE OLIVEIRA, L. LEOMIL, et al. Pregnant women carrying microcephaly fetuses and Zika virus contain potentially pathogenic microbes and parasites in their amniotic fluid. *BMC Medical Genomics* [online]. 2017, **10**, 5 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5225515/#>.
- [64] HAGEN, M. von der, M. PIVARCSI, J. LIEBE, H. von BERNUTH, et al. Diagnostic approach to microcephaly in childhood: A two-center study and review of the literature. *Dev Med Child Neurol* [online]. 2014, **56**, 732-41 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24617602>.
- [65] GARCEZ, P. P., E. C. LOIOLA, R. MADEIRO da COSTA, L. M. HIGA, et al. Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids. *Science* [online]. 2016, **352**, 816-8 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27064148>.
- [66] DIGIULIO, D. B., R. ROMERO, H. P. AMOGAN, J. P. KUSANOVIC, et al. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: A molecular and culture-based investigation. *PLoS One* [online]. 2008, **3**, 1-10 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2516597/>.
- [67] FUNKHOUSER, L. J., S. R. BORDENSTEIN. Mom knows best: the universality of maternal microbial transmission. *PLoS Biol* [online]. 2013, **11**, 1-9 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3747981/>.
- [68] ZHOU, X., R. M. BROTMAN, P. GAJER, Z. ABDO, et al. Recent advances in understanding the microbiology of the female reproductive tract and the causes of premature birth. *Infect Dis Obstet Gynecol* [online]. 2010, **2010**, 737425 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3004384/>.
- [69] DIGIULIO, D. B. Diversity of microbes in amniotic fluid. *Semin Fetal Neonatal Med* [online]. 2012, **17**, 2-11 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22137615>.
- [70] PAYNE, M. S., S. BAYATIBOJAKHI. Exploring preterm birth as a polymicrobial disease: an overview of the uterine microbiome. *Front Immunol* [online]. 2014, **5**, 595 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4245917/>.
- [71] KAMATH-RAYNE, B. D., Y. DU, M. HUGHES, E. A. WAGNER, et al. Systems biology evaluation of cell-free amniotic fluid transcriptome of term and preterm infants to

detect fetal maturity. *BMC Med Genomics* [online]. 2015, **8**, 67 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4619218/>.

[72] CALVET, G., R. S. AGUIAR, A. S. O. MELO, S. A. SAMPAIO, et al. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *Lancet Infect Dis* [online]. 2016, **16**, 653-660 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26897108>.

[73] CHO, I., M. J. BLASER. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet* [online]. 2012, **13**, 260-70 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3418802/>.

[74] ROMANO-KEELER, J., J-H. WEITKAMP. Maternal influences on fetal microbial colonization and immune development. *Pediatr Res* [online]. 2015, **77**, 189-95 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4289016/>.

[75] WANG, Y., J. D. HOENIG, K. J. MALIN, S. QAMAR, et al. 16S rRNA gene-based analysis of fecal microbiota from preterm infants with and without necrotizing enterocolitis. *ISME J* [online]. 2009, **3**, 944-54 [cit. 2017-02-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2713796/>.

[76] YUKI, N., H. P. HARTUNG. Guillain-Barré syndrome. *N Engl J Med* [online]. 2012, **366**, 2294-304 [cit. 2017-03-30]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22694000>.

[77] SEJVAR, J. J., A. L. BAUGHMAN, M. WISE, O. W. MORGAN. Population incidence of Guillain-Barré syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Neuroepidemiology* [online]. 2011, **36**, 123-33 [cit. 2017-03-30]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21422765>.

[78] MCGROGA, A., G. C. MADLE, H. E. SEAMAN, C. S. de VRIES. The epidemiology of Guillain-Barré syndrome worldwide. A systematic literature review. *Neuroepidemiology* [online]. 2009, **32**, 150-63 [cit. 2017-03-30]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19088488>.

[79] HUND, E. F., C. O. BOREL, D. R. CORNBLATH, D. F. HANLEY. Intensive management and treatment of severe Guillain-Barré syndrome. *Crit Care Med* [online]. 1993, **21**, 433-46 [cit. 2017-03-30]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8440115>.

- [80] Dos SANTOS, T., A. RODRIGUEZ, M. ALMIRON, A. SANHUEZA, et al. Zika virus and the Guillain-Barré syndrome—case series from seven countries. *N Engl J Med* [online]. 2016, **375**(16), 1598-1601 [cit. 2017-03-30]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27579558>.
- [81] CAO-LORMEAU, V. M., A. BLAKE, S. MONS, S. LASTERE, et al. Guillain-Barré syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. *Lancet* [online]. 2016, **387**, 1531-9 [cit. 2017-03-30]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26948433>.
- [82] THOMAS, D. L., T. M. SHARP, J. TORRES, P. A. ARMSTRONG, et al. Local Transmission of Zika Virus—Puerto Rico, November 23, 2015-January 28, 2016. *Morb Mortal Wkly Rep* [online]. 2016, **65**, 154-8 [cit. 2017-03-30]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26890470>.
- [83] DIRLIKOV, E., C. G. MAJOR, M. MAYSHACK, N. MEDINA, et al. Guillain-Barré syndrome during ongoing Zika virus transmission—Puerto Rico, January 1–July 31, 2016. *Morb Mortal Wkly Rep* [online]. 2016, **65**, 910-4 [cit. 2017-03-30]. Dostupné z: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/65/wr/mm6534e1.htm>.
- [84] DIRLIKOV, E., K. KNISS, CH. MAJOR, D. THOMAS, et al. Guillain-Barré Syndrome and Healthcare Needs during Zika Virus Transmission, Puerto Rico, 2016. *Emerg Infect Dis* [online]. 2017, **23**(1), 134-136 [cit. 2017-03-30]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5176211/>.
- [85] SEJVAR, J. J., K. S. KOHL, J. GIDUDU, A. AMATO, et al. Guillain-Barré syndrome and Fisher syndrome: case definitions and guidelines for collection, analysis, and presentation of immunization safety data. *Vaccine* [online]. 2011, **29**, 599-612 [cit. 2017-03-30]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20600491>.
- [86] CHIU, C. Y., V. BRES, G. YU, D. KRYSZTOF, et al. Genomic assays for identification of chikungunya virus in blood donors, Puerto Rico, 2014. *Emerg Infect Dis* [online]. 2015, **21**, 1409-13 [cit. 2017-03-30]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4517739/>.
- [87] AMBLER, Z., J. BEDNAŘÍK, E. RŮŽIČKA, et al. *Klinická neurologie*. 1. publikace. Praha: Triton, 2010. s. 1430. ISBN 978-80-7387-389-9.

- [88] HEANG, V., C. Y. YASUDA, L. SOVANN, A. D. HADDOW, et al. Zika virus infection, Cambodia, 2010. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 2012, **18**(2), 349-51 [cit. 2017-02-09]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22305269>.
- [89] ZELENÁ, H. Aktuální informace k možnostem diagnostiky viru Zika v NRL pro arboviry. *Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě* [online]. 2016 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://zuova.cz/Home/Clanek/diagnostika-zika-viru>.
- [90] LANCIOTTI, R. S., O. L. KOSOY, J. J. LAVEN, et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 2008, **14**(8), 1232-9 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18680646>.
- [91] ADEKOLU-JOHN, E. O., A. H. FAGBAMI. Arthropod-borne virus antibodies in sera of residents of Kainji Lake Basin, Nigeria 1980. *Trans R Soc Trop Med Hyg* [online]. 1983, **77**(2), 149-51 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6306872>.
- [92] BABA, S. S., A. H. FAGBAMI, C. K. OJEH. Preliminary studies on the use of solid-phase immunosorbent techniques for the rapid detection of Wesselsbron virus (WSLV) IgM by Haemagglutinationinhibition. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* [online]. 1999, **22**(1), 71-9 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10099030>.
- [93] MONLUN, E., H. ZELLER, B. le GUENNO, M. TRAORÉ-LAMIZANA, et al. Surveillance of the circulation of arbovirus of medici interest in the region of eastern Senegal. *Bull Soc Pathol Exot* [online]. 1993, **86**(1), 21-8 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8099299>.
- [94] RODHAIN, F., J. P. GONZALEZ, E. MERCIER, B. HELYNCK, et al. Arbovirus infections and viral haemorrhagic fevers in Uganda: a serological survey in Karamoja district, 1984. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* [online]. 1989, **83**(6), 851-4 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2559514>.
- [95] SALUZZO, J. F., B. IVANOFF, G. LANGUILLAT, A. J. GEORGES. Serological survey for arbovirus antibodies in the human and simian populations of the South-East of Gabon. *Bull Soc Pathol Exot Filiales* [online]. 1982, **175**(3), 262-6 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6809352>.

- [96] FAYE, O., A. DUPRESSOIR, M. WEIDMAN, M. DAYE, et al. One-step RT-PCR for detection of Zika virus. *Journal of Clinical Virology* [online]. 2008, **43**(1), 96-101 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18674965>.
- [97] ŠMARDA, J., et al. *Metody molekulární biologie*. 1. vydání. Brno: Masarykova univerzita, 2005. ISBN 80-210-3841-1.
- [98] FAYE, O., O. FAYE, D. DIALLO, M. DIALLO, et al. Quantitative real-time PCR detection of Zika virus and evaluation with field-caught Mosquitoes. *Virology Journal* [online]. 2013, **10**(1), 311-20 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24148652>.
- [99] BALM, M. N., C. K. LEE, H. K. LEE, L. CHIU, et al. A diagnostic polymerase chain reaction assay for Zika virus. *Journal of Medical Virology* [online]. 2012, **84**(9), 1501-5 [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22825831>.
- [100] CDC. Centers for Disease Control and Prevention. *Zika virus: Symptoms, Testing and Treatment* [online]. 2017, revised 31 January 2017 [cit. 2016-04-01]. Dostupné z: <https://www.cdc.gov/zika/symptoms/treatment.html>.
- [101] SMITH, L. BSN MSN CRNP. Zika Virus: Symptoms, Facts, Diagnosis. *Medical News Today* [online]. MediLexicon, Intl. 2016 [cit. 2016-04-01]. Dostupné z: <http://www.medicalnewstoday.com/articles/305163.php>.
- [102] DAYAN, G. H., K. PUGACHEV, J. BEVILACQUA, et al. Preclinical and clinical development of a YFV 17 D-based chimeric vaccine against West Nile virus. *Viruses* [online]. 2013, **5**, 3048-3070 [cit. 2016-11-28]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3967160/>.