



Fakulta zemědělská  
a technologická  
Faculty of Agriculture  
and Technology

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ**

**AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE**

**Genotypizace vybraných kandidátních markerů rezistence proti  
lentivirovým infekcím malých přežvýkavců**

**Ing. Barbora Farková**

---

**České Budějovice  
2022**

---

**Doktorand:** Ing. Barbora Farková

**Studijní program:** Biotechnologie

**Studijní obor:** Zemědělské biotechnologie

**Název práce:** **Genotypizace vybraných kandidátních markerů rezistence proti lentivirovým infekcím malých přežvýkavců**

**Školitel:** prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.

**Oponenti:** doc. MVDr. Pavel Novák, CSc.  
doc. MVDr. Josef Illek, DrSc.  
prof. RNDr. Aleš Knoll, Ph.D.

S disertační prací se lze seznámit na studijním oddělení Zemědělské a technologické fakulty Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích.

---

## Abstrakt

Lentivirové infekce malých přežvýkavců (SRLV – Small Ruminant Lentiviruses) známé jako onemocnění maede-visna u ovcí a virová artritida a encefalitida u koz jsou rozšířené po celém světě a způsobují značné ekonomické ztráty. Lentivirová onemocnění byla zahrnuta do aktuální Metodiky kontroly zdraví zvířat a nařízené vakcinace pro chovy zařazené v kontrole užitkovosti. Kontrolní programy jsou zpravidla založené na sérologickém screeningu a následně jsou sérologicky pozitivní zvířata vyřazena z chovu. V literárním přehledu uvádím významné lentiviry včetně těch, které nebyly předmětem analýz.

Cílem této práce byl screening výskytu lentivirových infekcí u malých přežvýkavců v České republice a dále pak genotypizace vybraného kandidátního markeru a nalezení genotypu souvisejícího s možností genové rezistence.

Celkem bylo odebráno přes 3200 vzorků krve ovcí a koz u chovatelů v rámci celé České republiky. Genotypizace byla provedena u stád, kde byl zachycen výskyt sérologicky pozitivních zvířat. Amplifikace zkoumané sekvence DNA byla prováděna pomocí PCR (Polymerase chain reaction) analýzy, při správné amplifikaci daného úseku následovala sekvenační analýza a výsledky byly statisticky vyhodnoceny.

V mé práci jsem došla k závěru, že v České republice byl dosud zachycen výskyt 2 z 5 možných genotypů SRLV (genotyp A a B) a distribuce různých subtypů u ovcí a koz. Největší rozdíly vykazovaly sekvence u genotypu A, kde jedna skupina izolátů vykazovala možnost zařazení do zcela nového subtypu.

U ovcí se podařilo identifikovat všechny tři genotypy genu *TMEM154*. Výskyt sérologicky pozitivních byl statisticky významně vyšší u zvířat s rizikovým genotypem. Z důvodu možné mutace viru a vzniku nového subtypu genotypu A je pravděpodobnost větší adaptace viru pro napadení a infekci jedinců s více rezistentním genotypem.

U koz byl prokázán pouze jeden genotyp, takže zde s největší pravděpodobností nelze najít marker související s rezistencí proti SRLV infekcím.

---

## **Abstract**

Small Ruminant Lentiviruses (SRLV) known as maedi-visna in sheep, and viral arthritis and encephalitis in goats are widespread worldwide and cause significant economic losses. Lentiviral diseases have been included in the current Animal Health Control and Vaccination Guidelines for Breeding Controls. Control programs are generally based on serological screening and subsequently serologically positive animals are removed from breeding. In the literature review I write about important lentiviruses, including those that have not been analysed.

The aim of this work was to screen for the occurrence of lentiviral infections in small ruminants in the Czech Republic and the genotyping of selected candidate markers and finding the genotype related to the possibility of gene resistance.

In total, over 3200 blood samples were collected from sheep and goats from breeders all over the Czech Republic. Genotyping was carried out in herds where serologically positive animals were detected. Amplification of the DNA sequence of interest was performed by PCR (Polymerase Chain Reaction) analysis, followed by genotyping by sequence analysis, and the results were statistically evaluated.

In my work, I came to the conclusion that in the Czech Republic the occurrence of 2 out of 5 possible SRLV genotypes (genotype A and B) and distribution of different subtypes in sheep and goats has been detected so far. The greatest differences were in the sequence of genotype A, where one group of isolates showed the possibility of classification into a completely new subtype.

In sheep, all three genotypes of the TMEM154 gene were identified. The incidence of serologically positive was statistically significantly higher in animals with a risk genotype. Because of the possible mutation of the virus and the emergence of a new subtype of genotype A, the virus is more likely to adapt to attack and infect individuals with a more resistant genotype.

Only one genotype has been demonstrated in goats, so most likely there is no marker associated with resistance to SRLV infections.

---

# 1 Obsah

1	Úvod.....	6
2	Cíle práce .....	8
3	Komentář k publikacím.....	9
4	Závěr .....	16
5	Seznam použité literatury.....	18

---

# 1 Úvod

Lentiviry patří do skupiny RNA virů, které jsou původci mnoha onemocnění. Společnými znaky těchto nemocí je například dlouhá inkubační doba, pomalý, často latentní průběh a dosud žádná známá léčba.

Napadají širokou škálu živočišných druhů, včetně člověka. U malých přežvýkavců se jedná o maedi-visna virus ovcí (MVV) a virus artritidy a encefalitidy koz (CAEV). Souhrnně se tyto lentiviry označují jako lentiviry malých přežvýkavců. Lentiviry dále například u koní způsobují infekční anémii a u skotu imunodeficienci. U lidí patří do skupiny lentivirů virus HIV způsobující onemocnění AIDS (syndrom získaného selhání imunity).

Lentiviry malých přežvýkavců (SRLV) způsobující onemocnění maedi-visnu ovcí (MV) a artritidu a encefalitidu koz (CAE), jsou rozšířeny po celém světě. Tyto choroby jsou neléčitelné a neexistují proti nim účinné vakcíny. Vzhledem k současné nálezové situaci jsou onemocnění MV a CAE významným problémem. Způsobují ekonomické ztráty a vytváří bariéru při obchodování s plemenným materiálem (nejen v EU) či při pořádání chovatelských akcí (výstavy, svody). Chovy v ČR zařazené v kontrole užitkovosti (KU) musí být MV a CAE prosté, výjimku má pouze šumavka.

Fylogenetická analýza odhalila, že MVV a CAEV jsou z velké části shodné. Přenos je možný jak mezi jednotlivci či chovy (přenos horizontální), tak z matky na potomky (přenos vertikální).

Zatímco výskyt MV je doložen téměř celosvětově, výskyt CAE je hlášen spíše z oblastí s intenzivním chovem koz. Faktorem, který poměrně komplikuje ozdravení chovů od tohoto onemocnění, je poměrně dlouhá, a ještě k tomu individuálně specifická délka mezi infekcí a sérologickou odezvou. V praxi to znamená, že zvíře, ač nakažené, může být sérologicky negativní.

Onemocnění se vyskytuje ve dvou formách, ve formě progresivní pneumonie (Maedi) a nervové formě (Visna). Výrazně častěji se na území ČR vyskytuje forma Maedi. Aktuálně se laboratorní diagnostika provádí na Státním veterinárním ústavu za použití metod ELISA (průkaz protilátek) a v případě pozitivního výsledku pak pomocí RT-PCR (real-time PCR) pro průkaz provirové DNA.

Nejčastěji přenos probíhá kapénkovou cestou. V běžných podmínkách prakticky nelze ve stádě zamezit šíření nákazy. V dřívějších dobách byl výrazným rizikovým

---

faktorem odběr vzorků krve ve stádě jednou jehlou, ale v dnešních dobách snad k tomuto již nedochází.

Klinický obraz u nemocných zvířat je spíše neurčitý, často si chovatel ani nevšimne, že je zvíře nemocné.

U koz se onemocnění vyskytuje stejně jako u ovcí ve dvou formách, ve formě artritické, která je výrazně častější a formě encefalitické, jejíž výskyt je nízký a zdokumentovaný spíše u mladších zvířat.

Mnohé výzkumy se zabývaly možností genetické rezistence ovcí k onemocnění MV. Díky stále vzrůstajícímu zájmu o chov ovcí a také díky vývoji metod molekulární biologie byl vyvinut speciální čip pro ovce Ovine SNP50 BeadChip (Illumina Inc.; San Diego, CA USA), který analyzuje 50 tisíc jednonukleotidových polymorfismů (SNP). S použitím tohoto bylo vytipováno několik nadějných lokusů s předpokládanou asociací s geneticky podmíněnou rezistencí. Nejsilnější afinitu k odolnosti vykazoval polymorfismus v genu pro transmembránový protein TMEM154.

Maedi-visna virus má 5 genotypů (A, B, C, D a E) a součástí práce bude i analýza distribuce virových genotypů v České republice.

Pokud by se opravdu prokázal vztah určitého genotypu k větší odolnosti nebo naopak náchylnosti k lentivirovým onemocněním, mohlo by to vést k efektivnější plemenitbě a rychlejšímu ozdravení chovů.

---

## 2 Cíle práce

Vzhledem k poměrně četnému výskytu nákazy SRLV v České republice vznikl na žádost chovatelů výzkumný projekt, jehož cílem bylo zpracování programu pro zdravotní kontrolu infekcí způsobovaných lentiviry u malých přežvýkavců. Konkrétně se pak jednalo o metodu časně detekce infekce MV a CAE a také genetické selekce na základě markerů genetické rezistence k infekci.

Cílem této práce byla genotypizace vybraného kandidátního markeru geneticky podmíněné rezistence k onemocnění SRLV u ovcí a koz a analýza distribuce variant tohoto markeru na území ČR. Na základě výsledků pak doporučení vhodných chovatelských opatření ve šlechtitelském programu ovcí a koz.



---

### 3 Komentář k publikacím

Tato kapitola shrnuje a rozširuje poznatky uvedené v následujících publikacích:

Článek v periodiku s impakt faktorem:

- Barták, P., Šimek B., Václavek P., Čurn V., Plodková H., Tonka T., Farková B., Vernerová K., Vejčík A. (2018). Genetic characterisation of small ruminant lentiviruses in sheep and goats from the Czech Republic. *Acta Veterinaria Brno*. 87:19-26. DOI:10.2754/avb201887010019. ISSN 0001-7213. Dostupné z: <https://actavet.vfu.cz/87/1/0019/>

Články v recenzovaném periodiku:

- Tonka T., Čurn V., Šoch M., Vejčík A., Vernerová K., Farková B., Štoidl P., Barták P., Šimek B., Václavek P., Plodková H. (2019). Srovnání incidence lentivirových infekcí u ovcí a koz s rozdílným genotypem genu transmembránového proteinu TMEM154. *Veterinářství*, 69(5):377-380.
- Stehlíková, D., Vernerová K., Čurn V., Tonka T., Farková B., Vejčík A., Barták P., Václavek P. (2018). Využití metody LAMP pro molekulární diagnostiku lentivirů malých přežvýkavců. *Veterinářství*, 5:340-345.

Metodiky:

- Šoch M., Čurn V., Vejčík A., Tonka T., Vernerová K., Farková B., Šimek B., Václavek P., Plodková H., Barták P. (2018). Ověřená technologie: Systém prevence a profylaxe lentivirových infekcí malých přežvýkavců. České Budějovice, Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta.
- Šoch M., Čurn V., Vejčík A., Tonka T., Vernerová K., Farková B., Šimek B., Václavek P., Plodková H., Barták P. (2018). Certifikovaná metodika: Metoda odběru a zpracování vzorků, serologického a molekulárního stanovení lentivirového onemocnění ovcí a koz. České Budějovice. Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta. ISBN 978-80-7397-671-5.
- Šoch M., Čurn V., Vejčík A., Tonka T., Vernerová K., Farková B., Šimek B., Václavek P., Plodková H., Barták P. (2018). Certifikovaná metodika: Metodika genotypizace ovcí a koz – detekce markerů geneticky podmíněné rezistence k SRLV. České Budějovice, Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta.

---

Příspěvky ve sborníku:

- Vejčík A., Farková B., Vernerová K. (2018). Lentivirová onemocnění malých přežvýkavců. Zpravodaj SCHOK, 4:60.
- Vejčík A., Farková B., Vernerová K. (2017). Možnosti ozdravování od Meadi-Visny ovcí a infekční artritidy a encefalitidy koz. Zpravodaj SCHOK, 4.

Konference (aktivní účast):

- Mezinárodní konference chovatelů ovcí a koz, Ledec nad Sázavou, 2017  
Téma přednášky: Meadi-visna: současná nákazová situace v ČR a geneticky podmíněná rezistence k onemocnění.

Výzkumný projekt:

- MZe NAZV QJ 1610096 Program zdravotní kontroly lentivirových infekcí malých přežvýkavců s využitím nových metod časně laboratorní diagnostiky a markerů geneticky podmíněné rezistence k infekci jako selekčního kritéria.

Lentiviry malých přežvýkavců (SRLV) způsobující onemocnění maedi-visnu ovcí (MV) a artritidu a encefalitidu koz (CAE), jsou rozšířeny po celém světě. Tyto choroby jsou neléčitelné a neexistují proti nim účinné vakcíny. Vzhledem k současné nákazové situaci jsou onemocnění MV a CAE významným problémem. Způsobují ekonomické ztráty a vytváří bariéru při obchodování s plemenným materiálem (nejen v EU) či při pořádání chovatelských akcí (výstavy, svody). Chovy v ČR zařazené v kontrole užitkovosti (KU) musí být MV a CAE prosté, výjimku má pouze šumavka.

Současný kontrolní systém prováděný dle Metodiky kontroly zdraví zvířat a nařízené vakcinace na rok 2022, sleduje četnost nálezů pozitivních zvířat v jednotlivých chovech v KU, nejsou však stanovena opatření pro eradikaci nákazy. Dalším problémem znesnadňujícím chovatelům ozdravení je fakt, že do monitoringu je zahrnuto pouze 25 % zvířat u hospodářství s více než 50 zvířaty. Zbylá zvířata by chovatel musel nechat testovat na vlastní náklady, čímž by mu vznikaly další výdaje. Situaci též nenahrává průběh onemocnění, kdy detekovatelné množství protilátek se může u zvířete objevit až měsíce po nákaze.

Sami chovatelé primárně projevují zájem o vývoj markerů geneticky podmíněné rezistence. Stejně jako u eradikace klusavky (scrapie) na základě selekce rezistentních

---

genotypů se i v případě maedi-visny nabízí možnost zavedení eradikačního programu spojujícího časnou a přesnou diagnostiku společně s asistovanou selekcí podmíněnou markery genetické rezistence.

Jako reakce na tuto problematiku vznikl výzkumný projekt, jehož cílem je vyvinutí programu zdravotní kontroly SRLV s využitím nových metod časně detekce onemocnění MV a CAE a genetické selekce na základě markerů geneticky podmíněné rezistence k infekci. V rámci projektu byly do monitoringu zařazeny chovy v KU a vybrané chovy mimo KU, chovy s neznámou nakažovou situací nebo historií výskytu onemocnění a stáda šumavské ovce.

Soudobé poznatky ukazují, že používané diagnostické metody nejsou vždy zcela spolehlivé vzhledem ke složité patogenezi onemocnění. Nejspolehlivější je kombinace imunologických a molekulárně biologických metod, přičemž s přihlédnutím ke kmenové variabilitě je třeba metody molekulárně biologické diagnostiky nadále zdokonalovat. Virologickou a sérologickou diagnostiku v rámci projektu prováděl SVÚ Jihlava.

Díky předchozím výzkumům založeným především na genomové analýze s použitím 50k SNP čipů pro ovce bylo identifikováno několik kandidátních genů pro odolnost proti onemocnění MV. Nejsilnější vztah k odolnosti vykazují polymorfizmy v genu *TMEM154*, konkrétně pak polymorfismus *E35K*. U koz není tato problematika blíže probádána, nicméně nově vyvinutý 52k SNP mikročip dává naději k identifikaci a následné analýze kandidátních genů pro odolnost i u koz.

Jedním z cílů projektu bylo na základě diagnostického nálezu provést identifikace genetických variant ovlivňujících geneticky podmíněnou vnímavost/odolnost ovcí k onemocnění MV a analýza možných kandidátních markerů u koz.

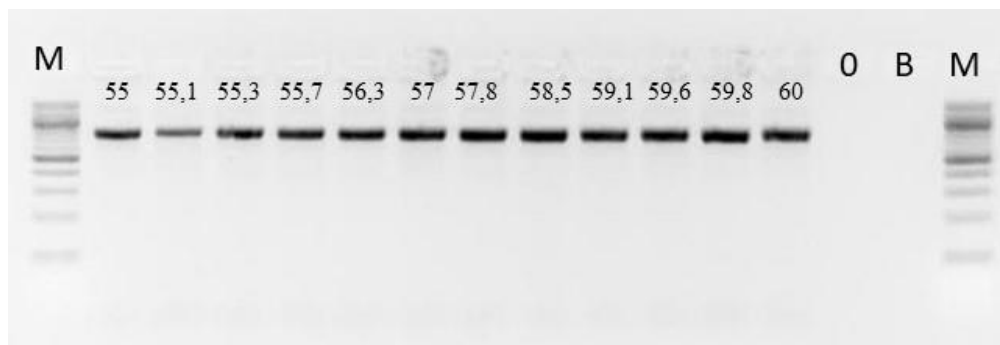
Vzorky krve byly primárně vyšetřeny pomocí ELISA testu za účelem průkazu specifických protilátek. Suspektní vzorky byly dále potvrzovány alternativními imunologickými metodami – imunodifuzním testem, popř. imunoblotem. Sérologicky pozitivní vzorky a vybrané negativní vzorky byly dále testovány na přítomnost provirové DNA metodou real-time PCR (qPCR) s cílem vyloučit falešnou pozitivitu.

Celkem bylo v rámci projektu sérologicky vyšetřeno 2801 vzorků ovcí a 609 vzorků koz. Z celkového počtu ovcí bylo 496 vzorků pozitivních na MVV, tedy 17,71 % prevalence onemocnění. U koz byl výskyt pozitivních na CAEV 89 s 13,79 % prevalencí.

---

Pro diagnostické účely byla odebírána periferní krev zvířat (věková kategorie: minimálně 4 měsíce po odstavu) dle metodiky SVÚ Jihlava. Krev byla odebírána do plastových zkumavek s objemem 10 ml, jako antikoagulant byla použita K<sub>3</sub>EDTA. Ihned po odběru byla krev ve zkumavce důkladně promíchána s antikoagulantem a dále uchována při +4 °C. Pro potřeby sérologické analýzy a průkazu provirové DNA byly vzorky krve dále zpracovávány. Separovaná plazma byla použita pro sérologické vyšetření, „buffy coat“ pro průkaz provirové DNA.

Identifikace genotypů *TMEM154* byla provedena u stád s výskytem sérologicky pozitivních i negativních zvířat zjištěných dle ELISA testu. Pro stanovení genotypů *TMEM154* u ovcí a koz byla použita plná krev. Izolace DNA proběhla především s využitím Chelexu 100. Jedná se o levnou, rychlou a nenáročnou metodu izolace s uspokojivým výtěžkem a s vyšším stupněm znečištění výsledného produktu. Pro analýzu PCR a amplifikace potřebné sekvence byly navrženy specifické primery s využitím programu Primer3 a zvolen teplotní profil nejvíc vyhovující pro amplifikaci s danými primery dle výsledků gradientové PCR (obrázek 1).



**Obrázek 1 Gradientová PCR: na základě intenzity signálu zvolena nasedací teplota  $T_A=58,5$  °C. M – velikostní marker, 0 – kontrolní vzorek s  $H_2O$  místo DNA, B – blank: pouze voda (foto autorky)**

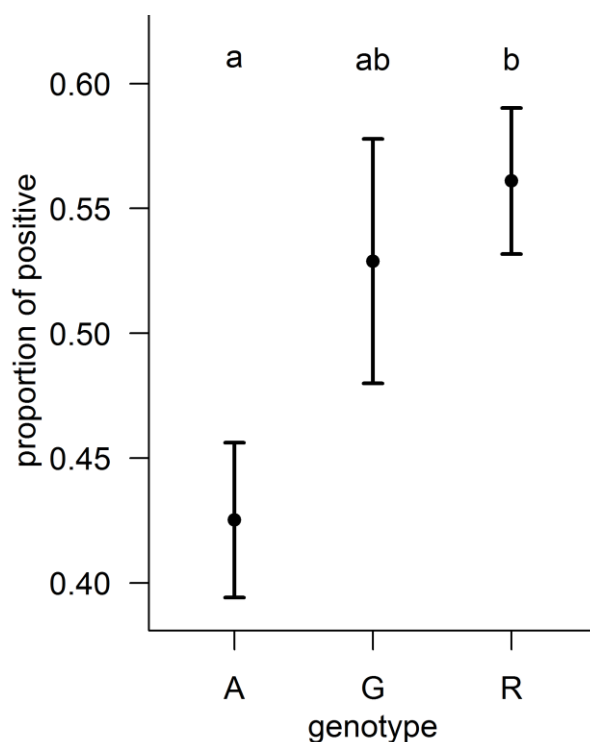
Po potvrzení amplifikace produktu gelovou elektroforézou byly vzorky přečištěny a zaslány do externí laboratoře pro účely sekvenační analýzy. Získané sekvence cílového úseku *TMEM154* byly analyzovány pomocí programu MEGA 10 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 10; Pennsylvania USA) a statisticky vyhodnoceny. Genotyp *TMEM154* byl analyzován u 645 vzorků ovcí a 60 vzorků koz. Bylo úspěšně osekvenováno všech 645 vzorků krve. Výsledky sekvenační analýzy jsou uvedeny v tabulce 1.

**Tabulka 1 Podíl jednotlivých genotypů *TMEM145***

SNP	genotyp	počet
G	E35	104
A	K35	254
R	E35K	287

**Zdroj: Vlastní zpracování v programu Excel (Microsoft, 2020)**

Graf 1 Podíl pozitivních v jednotlivých genotypech



Zdroj: Vlastní zpracování v programu R (RStudio, 2020)

Statistická analýza byla provedena v počítačovém programu R (RStudio, Boston, USA). Podíl pozitivních v jednotlivých genotypech ovcí byl u genotypu A 42,5 %, u genotypu G 52,9 % a u genotypu R činil podíl pozitivních 56,1 % a z grafu je patrný větší podíl rizikových genotypů G a R u séropozitivních zvířat.

Zatímco u ovcí byly prokázány všechny 3 genotypy, u koz byl také amplifikován a osekvenován stejný úsek genu *TMEM154* (vysoce homologní s ovčí DNA), nicméně u všech analyzovaných vzorků koz byl identifikován pouze jeden genotyp (E35) jak u sérologicky pozitivních, tak u sérologicky negativních zvířat. Takže u koz se nepředpokládá polymorfismus a nalezení markeru rezistence v této sekvenci genu *TMEM154*.

Při genetické charakteristice lentivirů malých přežvýkavců v České republice byly detekovány 2 kmeny A a B. Kmen A byl nalezen u ovcí i koz, s největší pravděpodobností ho lze přiřadit k subtypu A2 (výskyt v Kanadě, Finsku, Turecku a USA) nebo k subtypu A3 (výskyt ve Španělsku, Švýcarsku a Turecku). Kmen B byl nalezen pouze u jednoho stáda a byl s jistotou identifikován jako subtyp B2. Tento subtyp se vyskytuje ve Francii, Itálii, Polsku, Španělsku a Švýcarsku. S velkou

---

pravděpodobností se kmen B dostal do České republiky nákupem chovných jedinců ze zahraničí.

Genetická analýza polymorfismu v kandidátním genu *TMEM 154* potvrdila výskyt všech 3 genotypů. Nepotvrdila se ale 100% vazba příslušného polymorfismu na odolnost či vyšší náchylnost k onemocnění pravděpodobně z důvodu mutací SRLV a překonání dříve publikované vazby polymorfismu K35 k rezistenci k lentivirovým onemocněním. Nicméně v rámci této skupiny genotypů je patrný trend vyšší odolnosti k onemocnění. Nejvyšší podíl séropozitivních zvířat byl zjištěn u zvířat v polymorfismu obsahujícím vnímavou alelu projevující se inkorporací glutaminu do struktur transmembránového proteinu, tedy heterozygotů s genotypem E35K. Zjištěné frekvence výskytu polymorfismu odpovídají dříve publikovaným zjištěním. Srovnání podílu genotypů není zcela relevantní, protože zvířata vnímavého genotypu nemusí být vždy infikována.

Kromě geneticky podmíněné rezistence se v patogenezi infekce SRLV uplatňuje řada dalších faktorů, a to především genotyp a možná mutace viru, stáří zvířat, plemeno, podmínky chovu a další vlivy prostředí.

U koz se sekvence genu s očekávaným výskytem polymorfismu též podařila amplifikovat. Ale u všech analyzovaných vzorků byl potvrzen výskyt pouze jednoho genotypu (E35), takže se předpokládá, že zde nedochází k mutacím a vzniku polymorfismu, který by mohl mít souvislost s vyšší odolností vůči lentivirovým infekcím.

---

## 4 Závěr

Pro včasnou, rychlou a přesnou detekci onemocnění SRLV u ovcí a koz se použité postupy prokázaly jako vhodný nástroj pro včasnou diagnostiku a prevalenci onemocnění ve stádu. V některých analyzovaných chovech se ukázala vysoká prevalence onemocnění s vysokým procentem séropozitivních zvířat. Molekulární analýza polymorfismu v kandidátním genu *TMEM154* prokázala výskyt všech tří genotypů, vazba na příslušný genotyp potvrzující vyšší rezistenci nebo náchylnost k onemocnění se ale neprokázala s očekávanou přesností pravděpodobně z důvodu dalších mutací viru a překonání dříve publikované vazby genotypu K35 s rezistencí k SRLV. Nicméně v této skupině genotypů se genotyp K35 jeví jako potenciální marker, jelikož v analyzované skupině se projevuje trend vyšší odolnosti proti onemocnění způsobeným SRLV u jedinců s tímto polymorfismem. Na základě těchto zjištění bych doporučila zařadit genotypizaci *TMEM154* do šlechtitelských programů ovcí.

Podarilo se tedy identifikovat všechny tři známé polymorfismy vztahující se k rezistenci a odolnosti k lentivirovým infekcím. Práce dává představu o možném rozložení genotypů u sérologicky pozitivních zvířat.

Dle dřívějších výzkumů je rezistence nebo naopak vnímavost k onemocnění spojena s polymorfismem na 35. pozici genu *TMEM154*.

Výsledky potvrzují větší výskyt rizikových genotypů E35 a E35K u sérologicky pozitivních zvířat. Naopak genotyp K35 (dle dřívějších výzkumů související s odolností) se u pozitivních zvířat vyskytoval nejméně. Ale jeho větší podíl u pozitivních zvířat ukazuje na možnou mutaci viru a adaptaci na napadení zvířat s genotypem, který byl považován za rezistentní.

Vzhledem ke 100% homologii amplifikovaného úseku *TMEM154* se vzorky ovcí byl předpoklad obdobné distribuce genotypů, nicméně tento předpoklad nebyl naplněn. U analyzovaných vzorků koz se vyskytl pouze genotyp E35, takže zde pravděpodobně nelze předpokládat možnost polymorfismu a nalezení markeru pro rezistenci. Z tohoto důvodu zatím nelze doporučit genotypizaci *TMEM154* u koz pro šlechtitelské účely.

Program prevence a profylaxe onemocnění dle navržených metod sérologické a molekulární analýzy lze efektivně aplikovat pro ozdravení stád a pomáhá zvýšit celkové povědomí o prevalenci onemocnění způsobených SRLV v českých chovech.



---

Tento program je založen na vyšetřování symptomatických zvířat, identifikaci nemocných zvířat na základě sérologické nebo sérologické a molekulární analýzy a v případě potvrzení výskytu infekce tyto jedince vyřadit z chovu bez ohledu na jejich genotyp (v případě genových rezerv do míry neohrožující genetickou základnu chovu). Dále pak provést molekulární analýzu chovných jedinců a do chovu zařazovat jedince s potenciálně odolnějším genotypem. Při obchodu se zvířaty dbát na důslednou kontrolu zdravotního stavu a využití sérologické a molekulární analýzy pro prevenci výskytu infikovaných zvířat a pro výběr jedinců s potenciálně odolnějším genotypem. Tento program by měl pomoci ke snížení výskytu onemocnění způsobených lentiviry u malých přežvýkavců a snižování počtu stád s infekcí a onemocněním MV/CAE. Tento systém pomáhá dále zamezit introdukci viru a onemocnění infikovanými jedinci ze zahraničí při obchodování se zvířaty. Při genetické charakteristice lentivirů malých přežvýkavců v České republice byly detekovány kmeny A a B. Kmen B byl detekován pouze v jednom chovu a do České republiky se pravděpodobně dostal nákupem plemenných zvířat ze zahraničí. Důležité je samozřejmě dbát i na biosekuritu a správnou chovatelskou praxi jako nástroj prevence zavlečení onemocnění do chovu.

Vzhledem k rostoucímu zájmu o chov ovcí a koz v ČR je potřeba podporovat rozvoj chovu těchto zvířat, včetně ohrožených domácích plemen, z hlediska zdravotního stavu zvířat, šlechtění i podpory obchodu s plemenným materiálem. Ozdravovací program od lentivirových infekcí malých přežvýkavců založený na kombinaci přesné a rychlé diagnostiky onemocnění a použití sérologických a molekulárních metod se jeví jako možné východisko pro řešení současné nálezové situace a vedoucí k postupnému ozdravování chovů v České republice.

---

## **5 Seznam použité literatury**

Disertační práci jsem vypracovala samostatně s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů uvedených v seznamu použité literatury v disertační práci, která je veřejně přístupná v databázi STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích a na jejích internetových stránkách.