



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**

**Lentiviry malých přežvýkavců – analýza prevalence onemocnění  
a distribuce genotypů SRLV v chovech ovcí a koz v ČR**

**Ing. Kateřina Vernerová**

---

**České Budějovice  
2022**

---

**Doktorand:** Kateřina Vernerová

**Studijní program:** Biotechnologie

**Studijní obor:** Zemědělské biotechnologie

**Název práce:** **Lentiviry malých přežvýkavců – analýza prevalence onemocnění a distribuce genotypů SRLV v chovech ovcí a koz v ČR**

**Školitel:** prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.

**Oponenti:** prof. MVDr. Daniela Lukešová, CSc.  
doc. MVDr. Josef Illek, DrSc.  
doc. MVDr. Pavel Novák, CSc.

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

---

## Abstrakt

Maedi-visna u ovcí a artritida a encefalitida u koz jsou celosvětově rozšířená, progresivní zánětlivá onemocnění způsobená retroviry, které patří do skupiny lentivirů malých přežvýkavců (SRLV). U postižených zvířat způsobují celoživotní infekce, které se vyznačují pomalou progresí až do zjevného onemocnění a končí vždy letálně. Cílem této práce bylo zjistit prevalenci onemocnění SRLV v ČR, pomocí fylogenetické analýzy zmapovat genotypové zastoupení SRLV a analyzovat *TMEM154*, jakožto vybraný kandidátní marker rezistence proti SRLV u ovcí a koz. Celkem bylo odebráno 3410 vzorků krve ovcí a koz z 21 stád. Zjištěná sérologická prevalence maedi visna u ovcí byla 19,9 % (556/2801) a séroprevalence artritidy a encefalitidy u koz byla 14,1 % (86/609). Všechna séropozitivní zvířata byla testována metodou nested polymerase chain reaction (nPCR) na přítomnost provirové DNA. Fylogenetická analýza identifikovala genotyp SRLV v 77 sekvencích, z nichž 60 vzorků ovcí a koz bylo genotypu A a 17 vzorků ovcí patřilo genotypu B. Zatímco všechny sekvence genotypu B byly klasifikovány jako subtyp B2, skupina izolátů genotypu A vykazovala vyšší variabilitu a byly příbuzné se subtypy A2 a A3. Dále bylo náhodně vybráno 40 séropozitivních vzorků a 50 séronegativních vzorků ovcí a koz cílem navrhnout metodiku pro LAMP diagnostiku SRLV u ovcí a koz. Séronegativita byla jednoznačně potvrzena metodou LAMP u všech vzorků, séropozitivní vzorky byly potvrzeny ve 31 případech ze 40 u ovcí i koz. Ke genotypizaci *TMEM154* bylo náhodně vybráno 605 vzorků ovcí a 60 vzorků koz. Nejvíce séropozitivních zvířat bylo heterozygotních EK (61 %), homozygotních EE bylo 58 % a homozygotních KK bylo 45 %. U ovcí byly identifikovány všechny tři genotypy, zatímco všechny kozy byly homozygotní o genotypu EE.

---

## **Small ruminant lentiviruses – analysis of disease prevalence and distribution of SRLV genotypes in sheep and goat farms in the Czech Republic**

### **Abstract**

Maedi-visna in sheep, and arthritis and encephalitis in goats, are globally widespread and progressive inflammatory diseases caused by retroviruses belonging to the small ruminant lentivirus (SRLV) group. They cause lifelong infections in affected animals, characterised by slow progression to overt disease and are always fatal. The aim of this study was to determine the prevalence of SRLV disease in the Czech Republic, to map the genotypic representation of SRLV using phylogenetic analysis, and to analyse TMEM154 as a selected candidate marker of SRLV resistance in sheep and goats. A total of 3 410 sheep and goat blood samples were collected from 21 flocks. The seroprevalence of maedi-visna in sheep was found to be 19.9% (556/2801), and the seroprevalence of arthritis and encephalitis in goats was 14.1% (86/609). All seropositive animals were tested by nested polymerase chain reaction (nPCR) for the presence of proviral DNA. Phylogenetic analysis identified the SRLV genotype in 77 sequences, of which 60 sheep and goat samples were genotype A and 17 sheep samples were genotype B. While all genotype B sequences were classified as subtype B2, the group of genotype A isolates showed higher variability and were related to subtypes A2 and A3. In addition, 40 seropositive and 50 seronegative sheep and goat samples were randomly selected to design a methodology for LAMP (loop-mediated isothermal amplification) diagnosis of SRLV in sheep and goats. Seronegativity was clearly confirmed by the LAMP method in all samples, and seropositivity was confirmed in 31 out of 40 cases in both sheep and goats. 605 sheep and 60 goat samples were randomly selected for TMEM154 genotyping. Most seropositive animals were heterozygous EK (61%), 58% were homozygous EE, and 45% were homozygous KK. In sheep, all 3 genotypes were identified, while all goats were homozygous EE.

---

# 1 Obsah

1	Úvod.....	6
2	Cíle práce .....	8
3	Komentáře k publikovaným výsledkům .....	9
4	Závěr .....	16
5	Použitá literatura .....	18
6	Publikace .....	23

---

# 1 Úvod

Maedi-visna (MV) ovcí a artritida a encefalitida koz (CAE) a jsou perzistentní onemocnění způsobená blízkými příbuznými viry ze skupiny lentivirů malých přežvýkavců (SRLV). Byl zaznamenán i mezidruhový přenos či koinfekce. Onemocnění jsou charakterizována celoživotním přetrváváním kauzálního agens v hostitelských monocytech a makrofázích a proměnlivou délkou doby mezi infekcí a indukcí sérologicky detekovatelné antivirové protilátkové odpovědi. Většina infikovaných zvířat nevykazuje klinické příznaky onemocnění, ale zůstává trvale infikována a je schopna přenášet virus. Přenos probíhá nejčastěji laktogenní a kapénkovou cestou. U určitého procenta se klinická choroba vyvine v jednom nebo několika cílových orgánech, přičemž nejčastěji jsou to plíce, klouby, vemeno či nervový systém. Existuje mnoho faktorů ovlivňujících patogenезi onemocnění, např. věk, plemeno, cesta expozice, možné sekundární infekce či podmínky chovu, nicméně onemocnění má vždy letální průběh. Vzhledem k celosvětovému výskytu onemocnění SRLV a jeho nezanedbatelnému socioekonomickému dopadu na mezinárodní obchod se zvířaty a jejich produkty, zařadila Světová organizace pro zdraví zvířat CAE a MV na seznam oznamovatelných chorob suchozemských a vodních živočichů. Ekonomické ztráty jsou způsobeny především sníženou fertilitou, nižší hmotností mláďat po porodu i po odstavu, sníženou laktací a přímými ztrátami v důsledku abortů, úhynu či nucené porážky. Kritickým parametrem pro kontrolu a eradikaci onemocnění je rychlá, včasná a přesná diagnostika SRLV. Většina současných kontrolních a eradikačních programů je založena na detekci protilátek proti viru a případné potvrzení průkazem provirové DNA (kyselina deoxyribonukleová). Hlavním nedostatkem kontrolních a eradikačních programů je skutečnost, že výše zmíněné diagnostické metody jsou limitovány především intermitentní protilátkovou odezvou, dlouhou sérokonverzí a antigenní heterogenitou. V případě průkazu provirové DNA je limitujícím faktorem virová genetická heterogenita a nedostatek spolehlivých univerzálních primerů či nízká virová zátěž. Výše uvedené diagnostické metody mohou dokonce občas poskytovat opačné výsledky, což s výše zmíněnými nevýhodami jednotlivých metod může vést k diagnostickým selháním a mnoho infikovaných zvířat zůstává nediodagnostikovanými přenašeči viru. Proti infekcím SRLV neexistuje vakcína ani léčba. Snížení ekonomických ztrát v důsledku rozvinutí onemocnění s klinickými příznaky lze podpořit kvalitním managementem, včetně

---

selektivního šlechtění s využitím genetických markerů. U některých plemen byla prokázána vyšší rezistence, či naopak vyšší vnímavost k infekci SRLV. Tyto meziplemenné rozdíly v prevalenci a koncentraci proviru naznačují silný genetický základ pro náchylnost k infekci SRLV. S využitím celogenomové asociační studie bylo identifikováno několik lokusů asociovaných s odolností malých přežvýkavců vůči lentivirovým infekcím, přičemž nejvíc nadějí je vkládáno do transmembránového proteinu 154 u ovcí. K účinné eradikaci onemocnění se jako nejefektivnější jeví využití kombinace genetické selekce s metodami časně a precizní diagnostiky SRLV. K dosažení optimálních výsledků je třeba dalších studií v oblasti geneticky podmíněné rezistence a imunogenetiky hostitele, dále pak v genetice viru a významná je i otázka vývoje preciznějších diagnostických metod.

---

## 2 Cíle práce

Cílem disertační práce je na základě genetického screeningu navrhnout program markery asistované selekce na rezistenci proti lentivirovým infekcím malých přežvýkavců (SRLV) a navrhnout systém prevence a profylaxe lentivirových infekcí malých přežvýkavců.

Dílčí cíle:

Analýza prevalence lentivirových onemocnění malých přežvýkavců v ČR

Analýza distribuce jednotlivých genotypů SRLV v populaci ovcí a koz v ČR

Analýza kandidátních markerů rezistence proti SRLV u ovcí a koz

Hypotézy:

HYPOTÉZA 1: V populaci ovcí a koz v ČR jsou zvířata séropozitivní na onemocnění maedi-visna ovcí a infekční artritida a encefalitida koz.

HYPOTÉZA 2: Lentiviry malých přežvýkavců se vyskytují v několika genotypech (A-E) a jejich zastoupení v ČR je obdobné jako v ostatních evropských státech.

HYPOTÉZA 3: Lze nalézt kandidátní selekční markery pro odolnost/vnímovost ovcí a koz k onemocnění maedi-visna.



---

### 3 Komentáře k publikovaným výsledkům

Výsledky disertační práce jsou publikované v následujících vědeckých a odborných periodikách a metodikách:

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(1), 19–26.

Stehlíková D., Vernerová K., Čurn V., Tonka T., Farková B., Vejčík A., Barták P., & Václavek, P. (2018). Využití metody LAMP (Loop Mediated Isothermal Amplification) pro molekulární diagnostiku lentivirů malých přežvýkavců. *Veterinářství*, 68(5), 340-345.

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.

Metodika odběru a zpracování vzorků, serologického a molekulárního stanovení lentivirového onemocnění ovcí a koz (certifikovaná metodika).

Metodika genotypizace ovcí a koz – detekce markerů geneticky podmíněné rezistence k SRLV (certifikovaná metodika).

Systém prevence a profylaxe lentivirových infekcí malých přežvýkavců (ověřená technologie).

V následující kapitole jsou shrnuty dosažené poznatky týkající se problematiky SRLV na území ČR.

Ministerstvo zemědělství ČR stanovuje povinné preventivní a diagnostické úkony k předcházení vzniku a šíření nákaz a nemocí přenosných ze zvířat na člověka, jakož i k jejich zdolávání a určuje, na které z nich a v jakém rozsahu se poskytují příspěvky z prostředků státního rozpočtu. Tato opatření shrnuje každoročně Metodika kontroly zdraví zvířat a nařízené vakcinace, kdy MV je do monitoringu zařazena od roku 2006 do současnosti a CAE od roku 2009 do současnosti. Do monitoringu jsou zařazena pouze hospodářství v kontrole užitkovosti (KU). Hospodářství musí být prosté na základě vyhodnocení laboratorního vyšetření z předešlého roku ze strany KVS (Krajská veterinární správa) anebo se jedná o nové hospodářství zařazené do KU, respektive již ozdravené hospodářství. Pozitivní hospodářství z předešlých let může

---

být do monitoringu zařazeno až po ozdravení a na základě rozhodnutí příslušné KVS. Vyšetření se provádí 1× ročně. Do reprezentativního počtu zvířat se zařazuje 25 % samičích zvířat (všech plemen) starších 12 měsíců nebo v laktaci, a to nejméně 50 samičích zvířat (je-li v hospodářství méně než 50 zvířat, musí být vyšetřena všechna starší 12 měsíců, nebo která jsou v laktaci) a všichni nekastrovaní samci starší 6 měsíců, vyjma jatečných beránků/kozlíků (SVSCR, 2022). Od roku 2010 je na základě požadavku a jednání se SCHOK (Svaz chovatelů ovcí a koz) součástí šlechtitelského programu ovcí kromě jiného i ověřování parentity plemenných zvířat. Potvrzení o parentitě musí mít chovatel při obchodování s plemeníky (především nákupní trhy beranů) a zatím je požadováno pouze u ovcí. Beránci vybraní pro stanovení parentity musí být z hospodářství zařazeného do KU a prostého MV na základě vyhodnocení laboratorního vyšetření z předešlých let. V případě, že se jedná o nové hospodářství v KU, je do parentity zařazeno až po negativním sérologickém vyšetření na MV. Pozitivní hospodářství na MV může být do parentity zařazeno až po ozdravení a na základě rozhodnutí příslušné KVS. Kritérium negativního hospodářství na MV se netýká hospodářství s chovem plemene Šumavská ovce (SVSCR, 2022).

Vzhledem k podmínkám monitoringu SRLV projeví někteří chovatelé zájem o kompletní sérologický screening ve svém hospodářství a dále pak o možnost testování případných markerů geneticky podmíněné rezistence k SRLV. Celkem bylo odebráno 3 410 vzorků krve ovcí a koz, z 21 stád. Ovce byly plemene Šumavská ovce, Valašská ovce, Cigája, Lacaune, Bergschaf, Východofříská ovce a kříženci Suffolk, kozy byly plemene Hnědá krátkosrstá a Bílá krátkosrstá. Odběr periferní krve probíhal jugulární venepunkcí v souladu se Zákonem o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů č. 166/1999 Sb. Od každého zvířete bylo odebráno 3 x 10 ml nesrážlivé krve, jako antikoagulant byla použita K<sub>3</sub>EDTA (tri-draselná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové) v koncentraci 1,5 mg/ml. Antikoagulant byl okamžitě promíchán s krví opakovaným překlápěním a následně byly vždy 2 zkumavky od každého vzorku umístěny do chladících boxů a svoznou linkou odeslány k další analýze do Státního veterinárního ústavu Jihlava. Jedna zkumavka s 10 ml krve od každého vzorku byla určena pro potřeby Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, kde byly vzorky skladovány v -20 °C.

Všechny vzorky byly vyšetřeny na přítomnost specifických protilátek proti SRLV, které byly detekovány u 642 zvířat (ze 7 hospodářství), což je 33 %. Zjištěná sérologická prevalence MVV u ovcí byla 19,9 % (556 z 2 801) a prevalence CAE

---

u koz 14,1 % (86 z 609). Provirová DNA byla pomocí PCR detekována u 410 vzorků z 631 séropozitivních zvířat (65 %). Výsledné rozdíly mezi výsledky průkazu protilátek a provirové DNA jsou v souladu s jinými studiemi, které poukazují na vyšší sensitivitu ELISA testu v porovnání s PCR (Celer et al., 2000; de Andrés et al., 2005; Extramiana et al., 2002; Muz et al., 2013). I v rámci jednotlivých testovacích sad ELISA od různých výrobců se vyskytuje určitý rozptyl sensitivity, ovlivněný především antigenní heterogenitou a úrovní protilátkové odezvy (Aalberts et al., 2021; Brinkhof & van Maanen, 2007). Např. Michiels et al. (2018) srovnávali sensitivitu několika ELISA testovacích sad (88 až 100 %) a nejlepších výsledků dosahovali se stejnými testovacími sadami, jako v naší studii i metodice – Elitest MVV/CAEV (Hyphen BioMed; Neuville-sur-Oise, Francie) 98 % a ID screen® MVV/CAEV indirect (IDVet; Grabels, Francie) 100 % (viz Metodika odběru a zpracování vzorků, sérologického a molekulárního stanovení původce lentivirového onemocnění ovčí a koz). Falešně pozitivní výsledky pak mohou sérologické testy poskytovat v důsledku zkřížené reaktivity protilátek s jinými viry ze stejné čeledi (Crespo et al., 2016; de Souza et al., 2015; Muz et al., 2013). Vzhledem k nízké virové zátěži v postsérokonverzní fázi infekce jsou PCR testy obecně méně citlivé než techniky ELISA, ale vykazují nepochybně vysokou specifitu a zdá se, že jsou schopné detekovat infikovaná zvířata ještě před sérokonverzí (Álvarez et al., 2006; de Andrés et al., 2005; Extramiana et al., 2002). Zajímavé informace pak lze najít ve studiích zaměřených na konfirmaci metod ELISA a PCR, kdy všechny vzorky jsou analyzovány pomocí obou metod a stupeň diagnostické shody obou metod může být velmi nízký (19 %) (Álvarez et al., 2006). Někdy dokonce obě metody poskytnou zcela opačné výsledky, kdy u sérologicky pozitivních vzorků nedojde k detekci provirové DNA, a naopak u vzorků s prokázanou DNA proviru nedojde i při opakovaném vyšetření k sérokonverzi (Álvarez et al., 2006; Echeverría et al., 2020; Extramiana et al., 2002). Leginagoikoa et al. (2006) zkoumali horizontální přenos MV u ovčí vystavených vysokému infekčnímu tlaku a zároveň míru shody ELISA a PCR ve stejném stádě. V průběhu 3letého experimentu 109 (ze 191) ovčí nebylo nikdy ELISA nebo PCR pozitivních, 78 bylo alespoň jednou ELISA a PCR pozitivních, 3 byly ELISA negativní a PCR pozitivní a 1 byla ELISA pozitivní a PCR negativní. Procento shody kumulativních výsledků ELISA a PCR tedy bylo 98 % a celkový stupeň shody  $k = 95,7 (\pm 0,07)$ , což je považováno za téměř dokonalé (Dohoo et al., 2009). Procento a míra shody mezi ELISA a PCR se však lišily podle věku zvířat. Procentuální shoda

---

byla po celou dobu > 88 % a míra shody (Cohenovo kappa) se s věkem zvyšovala z  $\kappa = 0,63$  (podstatná) v roce od jednoho roku ke  $\kappa = 0,94$  (téměř dokonalá) u čtyřletých. V naší studii byly pomocí PCR vyšetřeny pouze séropozitivní vzorky (631 z 642) a nelze tedy objektivně porovnat sensitivitu a specifitu obou použitých metod.

S pokrokem technik molekulární biologie bylo vyvinuto množství PCR protokolů, jelikož kvůli nestabilitě genomu SRLV je obtížné používat stejné primery v různých geografických oblastech. Některé protokoly jsou založeny na amplifikaci vysoce konzervovaných retrovirových sekvencí LTR (Álvarez et al., 2006; Extramiana et al., 2002; Leginagoikoa et al., 2006), zatímco jiné využívají k amplifikaci specifické geny SRLV, jako jsou oblast *pol*, *gag* či *env* (Echeverría et al., 2020; Grego et al., 2002; Leroux et al., 1997; Michiels et al., 2018). V naší studii byl použit protokol nested PCR s amplifikací úseku *gag* ke confirmaci výsledků sérologie a k determinaci virových genotypů (Barták et al., 2018; Grego et al., 2002).

Předchozí studie využila snPCR protokolu k sekvenační analýze konzervované oblasti *gag* MVV s cílem získat přehled o fylogenetické distribuci MVV na území České republiky. V souladu s použitými metodikami byly výsledky sekvenační analýzy přiřazeny sekvencím izolátů K1514 (Braun et al., 1987), EV1 (Sargan et al., 1991) a SA-OMV (Querát et al., 1990) bez určení genotypů dle v současnosti používaného klasifikačního systému (Celer et al., 2000). V naší studii bylo náhodně vybráno 77 vzorků a u všech byl identifikován genotyp, z toho 60 genotypů A u ovcí i koz a 17 genotypů B u ovcí. Zatímco všechny sekvence genotypu B se jasně shlukovaly v podtypu B2, skupina izolátů genotypu A vykazovala vyšší variabilitu a příbuznost se subtypy A2 a A3. Nicméně k přesné identifikaci jednotlivých subtypů by byla nezbytná podrobnější sekvenační analýza s využitím delších úseků *gag-pol*, *env* či *rev*. Geografická distribuce subtypu A2 je doložena v Kanadě (Fras et al., 2013), Finsku (Laamanen et al., 2007), Polsku (Olech & Kuźmak, 2021), Švýcarsku (Schäer et al., 2022), Turecku (Muz et al., 2013) a USA (Dickey et al., 2021), A3 ve Španělsku (Ramírez et al., 2013), Švýcarsku (Cardinaux et al., 2013) a Turecku (Muz et al., 2013) a B2 ve Francii (Rachid et al., 2013), Itálii (Bazzucchi et al., 2021), Polsku (Olech et al., 2018), Slovinsku (Kuhar et al., 2013), Švýcarsku (Cardinaux et al., 2013) a Španělsku (Glaría et al., 2009). Subtypy A2, A3 i B2 byly prokázány jak u ovcí, tak u koz (Fras et al., 2013; Ramírez et al., 2013), zatímco v naší studii skupina izolátů vykazující příbuznost se subtypem B2 pocházela ze vzorků ovcí. Otázkou zůstává, zda

---

by výsledek byl stejný, pokud by byly osekvenovány všechny sérologicky pozitivní vzorky koz s prokázanou provirovou DNA.

I přes rychlý vývoj diagnostických metod a dostupnost vysoce spolehlivých testovacích sad ELISA, ale i PCR testů, zůstává problematika přesné diagnostiky SRLV stále nedořešena (Echeverría et al., 2020). Obecné doporučení použít kombinaci minimálně dvou metod rapidně zvyšuje náklady eradikačních programů, přičemž ani tak není zaručen 100% výsledek. A naopak, snaha snížit náklady na diagnostiku použitím pouze jednoho diagnostického testu (nejčastěji ELISA) vede k přetrvávání neodhalených přenašečů onemocnění, a snižuje se tak účinnost eradikačních programů. Proto je vývoj přesné, finančně nenáročné diagnostické metody stále vysoce aktuální.

Jednu z možností rychlé diagnostiky virových onemocnění nabízí i metoda LAMP. Jedná se o snadnou, rychlou metodu nenáročnou na provedení, jejíž použití nevyžaduje nákladné přístrojové vybavení, je možné v tzv. polních podmínkách a s použitím ověřené metodiky poskytuje vyšší sensitivitu v porovnání s PCR. Přístroj na tuto metodu je malý, snadno přenosný a na rozdíl od PCR termocyklérů probíhá reakce za izotermických podmínek. Jednoduché ovládání nabízí např. aplikace dostupná pro smartphone, což bylo úspěšně ověřeno v diagnostice SARS-CoV-2 u lidí (Heithoff et al., 2022). Ze séropozitivních vzorků s prokázanou provirovou DNA jsme náhodně vybrali 40 vzorků (8 koz ze 2 stád a 32 ovcí z 8 stád) a 50 vzorků negativních. Séronegativita byla jednoznačně potvrzena metodou LAMP u všech vzorků. Z vybraných SRLV pozitivních vzorků byla pozitivita pomocí LAMP potvrzena u 31 ze 40 vzorků, a to u ovcí i koz. Dle dostupné literatury byla metoda LAMP dosud použita pouze v případě CAE (Enache et al., 2019). Předpoklad vyšší rozpoznávací schopnosti oproti PCR nebyl naplněn, pro což se nabízí několik vysvětlení. Část projektu, zabývající se metodou LAMP, lze považovat za pilotní studii, byla tedy provedena v malém měřítku za účelem ověření proveditelnosti. Nebyly navrženy a ověřeny jiné sady primerů, nebyla provedena opakovaná analýza s použitím nově izolované DNA s ověřenou koncentrací a čistotou a nebyly využity další metody izolace DNA. A právě kvalita a přístupnost DNA je v případě LAMP křížovým aspektem. Tato metoda je úspěšně využívána v diagnostice významných nákaz hospodářských zvířat. Je třeba dalších výzkumů a optimalizací, a především pak zvýšení „přístupnosti“ provirové DNA, aby LAMP byla využitelná i pro screening SRLV (Mansour et al., 2015).

Selekce na základě genetické rezistence k onemocnění byla úspěšně využita nejen v ČR, ale i v mnoha zahraničních eradikačních programech. Typickým příkladem úspěšného ozdravení chovů, založeném na genetické rezistenci k onemocnění, jsou programy na utlumení scrapie ovcí a koz. Např. v Holandsku se vlivem zavedení šlechtitelského programu na utlumení scrapie výrazně snížila prevalence onemocnění, zvýšil podíl geneticky odolných jedinců, přičemž se podařilo prokázat, že účinek šlechtitelského programu na utlumení onemocnění byl vyšší než účinek dalších opatření, jako je utrácení postižených chovů (Hagenaars et al., 2010). Cílem naší studie bylo zjistit distribuci genotypů *TMEM154* v ČR, porovnat je se sérologickým statutem a vyvrátit či potvrdit případnou zvýšenou vnímavost či odolnost k infekci SRLV. Teplotní profil, složení reakce a primery pro PCR byly navrženy a optimalizovány na našem pracovišti. Z vybraných 605 vzorků ovcí a 60 vzorků koz došlo u všech k úspěšné amplifikaci PCR produktu o předpokládané délce. V místě předpokládaného SNP G/A nebylo nalezeno místo restrikce pro žádnou dostupnou restrikční endonukleázu a po zvážení přínosů jiných metod (kompetitive allele specific PCR; KASP) bylo pro konečnou analýzu zvoleno sekvenování. Naše výsledky (tab. 4) potvrdily předpoklad rizikové alely, kdy nejvíce séropozitivních zvířat bylo heterozygotních EK (61 %) a nejméně homozygotních KK – rezistentní haplotyp 1. Podařilo se prokázat významnou závislost mezi sérologickým statutem a genotypem. Dále bylo potvrzeno (tab. 5), že sérologický status se liší dle typu alely (přítomnost alely E zvyšuje šanci séropozitivoty 1,6krát oproti alele K). U ovcí byly identifikovány všechny tři genotypy, zatímco všechny kozy byly homozygotní s rizikovou alelou (genotyp EE).

Tab: 4: Kontingenční tabulka: distribuce genotypů *TMEM154* E35K ve vztahu k sérologickému statusu

Situace	Genotyp			Celkem	
	KK	EE	EK		
Sérologicky pozitivní	n	107	54	167	328
	% ze sloupců	45 %	58 %	61 %	54 %
Sérologicky negativní	n	129	39	109	277
	% ze sloupců	55 %	42 %	39 %	46 %
Celkem	n	236	93	276	605
	% ze sloupců	100 %	100 %	100 %	100 %

Zdroj: vlastní zpracování v programu Jamovi (Jamovi project; 2021)

Tab. 5: Výpočet poměru šancí a relativního rizika séropozitivit alely E oproti alele K

	Hodnota	95% Interval spolehlivosti	
		Dolní hranice	Horní hranice
Poměr šancí (OR)	1,67	1,03	2,71
Relativní riziko (RR)	1,28	1,03	1,60

Zdroj: vlastní zpracování v programu Jamovi (Jamovi project; 2021)

Ačkoliv možná rezistence/vnímavost v závislosti na genotypu *TMEM154* E35K u ovcí byla jednoznačně prokázána (tab. 5), rozdíl nebyl tak výrazný, jak prezentuje např. Heaton et al. (2013), kdy prokázali 2,8krát vyšší riziko SRLV pozitivivity při výskytu aspoň jedné alely E. Příčina může být v neprokázané séropozitivitě. Vzorky použité ve studii Heaton et al. (2013) pocházely od ovcí starších 4 let a zároveň vystavených významné expozici infekčnímu agens v rámci jednoho stáda. Lze tedy předpokládat, že případná vnímavost či rezistence k onemocnění měla v těchto podmínkách větší šanci se projevit než v podmínkách extenzivních chovů, kdy neodchází k tak úzkému kontaktu mezi zvířaty. Sérologická odezva byla již tedy na úrovni dostatečné pro spolehlivou diagnostiku. Kritériem pro zvířata vybraná pro naši studii byla věková kategorie minimálně 4 měsíce po odstavu, což zahrnovalo i jedince relativně mladé, u kterých, vzhledem ke krátké době infekce, nemuselo dojít k požadované sérologické odezvě. Sérologicky tak mohla být tato zvířata považována za negativní, ačkoliv tomu tak ve skutečnosti nemuselo být. Na základě našich zjištění lze doporučit zařazení polymorfismu *TMEM154* do šlechtitelských programů ovcí.

---

## 4 Závěr

Disertační práce se zabývala problematikou lentivirových infekcí malých přežvýkavců. V práci jsou shrnuty výsledky analýzy prevalence onemocnění maedi-visna (MV) ovcí a infekční artritidy a encefalitidy koz (CAE) a podává první zprávu o distribuci genotypů SRLV na území ČR. Dalším výstupem je přehled o zastoupení haplotypů *TMEM154* E35K v českých chovech ovcí a analýza vztahu haplotypu k vnímavosti, resp. odolnosti k SRLV. K praktickým výsledkům patří výstup pilotní studie metody LAMP jakožto možného diagnostického nástroje SRLV a ověřená metodika genotypizace *TMEM154*.

Celkem bylo odebráno 3410 vzorků krve ovcí a koz z 21 stád. Vzorky byly vyšetřeny na přítomnost specifických protilátek proti SRLV, které byly detekovány u 642 zvířat (ze 7 hospodářství), což je 33 %. Zjištěná sérologická prevalence MVV u ovcí byla 19,9 % a prevalence CAE u koz 14,1 %. Všechny séropozitivní a suspektní vzorky byly dále podrobeny analýze real time PCR ke confirmaci výsledku imunochemických stanovení. Provirová DNA byla detekována u 410 vzorků z 631 séropozitivních (65 %). Dále bylo náhodně vybráno 77 séropozitivních vzorků, kde byl u všech identifikován genotyp SRLV. Z toho 60 genotypů (u ovcí i koz) patřilo do skupiny A a 17 genotypů do skupiny B (pouze ovce). Fylogenetickou analýzou byl orientačně stanoven i subtyp obou genotypů, kdy všechny sekvence genotypu B se jasně shlukovaly v podtypu B2. Skupina genotypu A vykazovala vyšší variabilitu a příbuznost se subtypy A2 a A3.

Ze séropozitivních vzorků s prokázanou provirovou DNA bylo náhodně vybráno 40 vzorků (8 koz ze 2 stád a 32 ovcí z 8 stád) a 50 negativních vzorků s cílem navrhnout metodiku pro LAMP diagnostiku SRLV u ovcí a koz. Séronegativita byla metodou LAMP jednoznačně potvrzena u všech vzorků. Séropozitivní vzorky byly potvrzeny ve 31 případech ze 40. Podle výsledků analýzy dostupných literárních pramenů byla LAMP diagnostika k potvrzení SRLV u ovcí poprvé úspěšně použita v naší studii.

Ke genotypizaci *TMEM154* bylo náhodně vybráno 605 vzorků ovcí a 60 vzorků koz. U všech vzorků proběhla amplifikace PCR produktu předpokládané délky. Následně byl sekvenováním určen genotyp všech vzorků. U ovcí bylo 93 vzorků o genotypu EE, 236 vzorků KK a 276 vzorků EK. Nejvíce séropozitivních zvířat bylo heterozygotních EK (50,9 %). Homozygotních EE bylo 16,5 % a homozygotních KK



---

32,6 %. Všechny vzorky koz byly homozygotní EE v analyzovaném polymorfismu genu *TMEM154* patřily tedy k haplotypu s vyšším rizikem infekce SRLV.

Na základě výsledků disertační práce je možné navrhnout doporučení jak pro výzkum a optimalizaci laboratorních metod, tak pro praktické využití v chovech malých přežvýkavců. Vzhledem k tomu, že „zlatý standard“ laboratorní diagnostiky SRLV nebyl stále nalezen, bylo by vhodné pokračovat ve vývoji co nejpřesnějších nástrojů rané diagnostiky bez navyšování finančních nákladů na vyšetření vzorků. Kromě návrhu univerzálnějších primerů pro spolehlivější výsledky PCR používané pro konfirmaci séropozitivních vzorků, lze vzít v potaz i orientační diagnostiku. S úspěchem již byla otestována analýza ELISA s využitím bazénových vzorků mléka. Vyloučení celých chovů bez nálezu SRLV by mohlo částečně snížit finanční náklady na monitoring nákazy v ČR. Jedním z možných řešení by také mohla být optimalizace metody LAMP a její následné použití coby orientačního screeningu v „provozních podmínkách“ a teprve na základě výsledků LAMP přistoupit odpovídajícím způsobem k testování jednotlivců. V tomto případě je klíčová optimalizace izolace DNA. Pro přesnější asociační analýzu vztahu genotypu *TMEM154* u ovcí by bylo žádoucí provést podrobnější sekvenační analýzu virových genotypů tak, aby mohly být zařazeny do fyloskupin s doloženou afinitou k *TMEM154*. Na základě našich zjištění lze doporučit genotypizaci *TMEM154* u chovných beranů k zařazení do šlechtitelských programů, jakožto účinný a finančně nenáročný nástroj pro snížení rizikové alely v chovech.

---

## 5 Použitá literatura

- Aalberts, M., Peterson, K., Moll, L., Vellema, P., & van Maanen, C. (2021). Evaluation of five SRLV ELISAs for fitness for purpose in sheep and goat accreditation schemes in the Netherlands. *Small Ruminant Research*, 202. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106452>
- Álvarez, V., Daltabuit-Test, M., Arranz, J., Leginagoikoa, I., Juste, R. A., Amorena, B., de Andrés, D., Luján, L. L., Badiola, J. J., & Berriatua, E. (2006). PCR detection of colostrum-associated Maedi-Visna virus (MVV) infection and relationship with ELISA-antibody status in lambs. *Research in Veterinary Science*, 80(2). <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2005.05.008>
- 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(1), 19–26. <https://doi.org/10.2754/avb201887010019>
- Bazzucchi, M., Pierini, I., Gobbi, P., Pirani, S., Torresi, C., Iscaro, C., Feliziani, F., & Giammarioli, M. (2021). Genomic epidemiology and heterogeneity of SRLV in Italy from 1998 to 2019. *Viruses*, 13(12). <https://doi.org/10.3390/v13122338>
- Braun, M. J., Clements, J. E., & Gonda, M. A. (1987). The visna virus genome: evidence for a hypervariable site in the env gene and sequence homology among lentivirus envelope proteins. *Journal of Virology*, 61(12), 4046–4054. <https://doi.org/10.1128/jvi.61.12.4046-4054.1987>
- Brinkhof, J., & van Maanen, C. (2007). Evaluation of five enzyme-linked immunosorbent assays and an agar gel immunodiffusion test for detection of antibodies to small ruminant lentiviruses. *Clinical and Vaccine Immunology*, 14(9), 1210–1214. <https://doi.org/10.1128/CVI.00282-06>
- Cardinaux, L., Zahno, M. L., Deubelbeiss, M., Zanoni, R., Vogt, H. R., & Bertoni, G. (2013). Virological and phylogenetic characterization of attenuated small ruminant lentivirus isolates eluding efficient serological detection. *Veterinary Microbiology*, 162(2–4), 572–581. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.11.017>
- Celer, V., Celer, V., Nejedlá, E., Bertoni, G., Peterhans, E., & Zanoni, R. G. (2000). The detection of proviral DNA by semi-nested polymerase chain reaction and phylogenetic analysis of Czech Maedi-Visna isolates based on gag gene

- 
- sequences. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 47(3).  
<https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.2000.00330.x>
- Crespo, H., Bertolotti, L., Proffiti, M., Cascio, P., Cerruti, F., Acutis, P. L., de Andrés, D., Reina, R., & Rosati, S. (2016). Low proviral small ruminant lentivirus load as biomarker of natural restriction in goats. *Veterinary Microbiology*, 192, 152–162. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.07.008>
- de Andrés, D., Klein, D., Watt, N. J., Berriatua, E., Torsteinsdottir, S., Blacklaws, B. A., & Harkiss, G. D. (2005). Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. *Veterinary Microbiology*, 107(1–2).  
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.01.012>
- de Souza, T. S., Pinheiro, R. R., Costa, J. N., de Lima, C. C. V., Andrioli, A., de Azevedo, D. A. A., dos Santos, V. W. S., Araújo, J. F., de Sousa, A. L. M., Pinheiro, D. N. S., Fernandes, F. M. C., & Costa Neto, A. O. (2015). Interspecific transmission of small ruminant lentiviruses from goats to sheep. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(3). <https://doi.org/10.1590/S1517-838246320140402>
- Dickey, A. M., Workman, A. M., Smith, T. P. L., Clawson, M. L., & Heaton, M. P. (2021). Classification of small ruminant lentivirus subtype A2, subgroups 1 and 2 based on whole genome comparisons and complex recombination patterns. *F1000Research*, 9. <https://doi.org/10.12688/f1000research.27898.2>
- Dohoo, I., Martin, W., & Stryhn, H. (2009). *Veterinary Epidemiologic Research* (2nd ed.). Charlottetown (Prince Edward Island): VER, Inc. 865 s. ISBN 978-0919013605
- Echeverría, I., de Miguel, R., de Pablo-Maiso, L., Glaria, I., Benito, A. A., de Blas, I., de Andrés, D., Luján, L., & Reina, R. (2020). Multi-Platform Detection of Small Ruminant Lentivirus Antibodies and Provirus as Biomarkers of Production Losses. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 182.  
<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00182>
- Enache, D. A., Baraitareanu, S., Dan, M., Gurau, M. R., & Danes, D. (2019). Methods of Lentiviral Infection Surveillance and Diagnosis in Sheep and Goats Farms: Review. *Journal of International Scientific Publications: Agriculture & Food*, 7, 143-159. <https://www.scientific-publications.net/en/article/1001838/>
- Extramiana, A. B., González, L., Cortabarría, N., García, M., & Juste, R. A. (2002). Evaluation of a PCR technique for the detection of Maedi-Visna proviral DNA in
-

- 
- blood, milk and tissue samples of naturally infected sheep. *Small Ruminant Research*, 44(2), 109–118. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(02\)00044-5](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(02)00044-5)
- Fras, M., Leboeuf, A., Labrie, F. M., Laurin, M. A., Singh Sohal, J., & L'Homme, Y. (2013). Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses in mixed flocks: Multiple evidence of dual infection and natural transmission of types A2 and B1 between sheep and goats. *Infection, Genetics and Evolution*, 19. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.06.019>
- Glaria, I., Reina, R., Crespo, H., de Andrés, X., Ramírez, H., Biescas, E., Pérez, M. M., Badiola, J., Luján, L., Amorena, B., & de Andrés, D. (2009). Phylogenetic analysis of SRLV sequences from an arthritic sheep outbreak demonstrates the introduction of CAEV-like viruses among Spanish sheep. *Veterinary Microbiology*, 138(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.002>
- Grego, E., Profiti, M., Giammarioli, M., Giannino, L., Rutili, D., Woodall, C., & Rosati, S. (2002). Genetic heterogeneity of small ruminant lentiviruses involves immunodominant epitope of capsid antigen and affects sensitivity of single-strain-based immunoassay. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 9(4), 828–832. <https://doi.org/10.1128/CDLI.9.4.828-832.2002>
- Hagenaars, T. J., Melchior, M. B., Bossers, A., Davidse, A., Engel, B., & van Zijderveld, F. G. (2010). Scrapie prevalence in sheep of susceptible genotype is declining in a population subject to breeding for resistance. *BMC Veterinary Research*, 6. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-6-25>
- Heithoff, D. M., Barnes, L. v., Mahan, S. P., Fox, G. N., Arn, K. E., Ettinger, S. J., Bishop, A. M., Fitzgibbons, L. N., Fried, J. C., Low, D. A., Samuel, C. E., & Mahan, M. J. (2022). Assessment of a Smartphone-Based Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Detection of SARS-CoV-2 and Influenza Viruses. *JAMA Network Open*, 5(1), e2145669–e2145669. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.45669>
- Kuhar, U., Barlič-Maganja, D., Zadnik, T., & Grom, J. (2013). Molecular and genetic characteristics of small ruminant lentiviruses in Slovenia. *Acta Veterinaria Hungarica*, 61(1), 135–146. <https://doi.org/10.1556/AVet.2012.057>
- Laamanen, I., Jakava-Viljanen, M., & Sihvonen, L. (2007). Genetic characterization of maedi-visna virus (MVV) detected in Finland. *Veterinary Microbiology*, 122(3–4), 357–365. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.02.002>
-

- 
- Leginagoikoa, I., Daltabuit-Test, M., Álvarez, V., Arranz, J., Juste, R. A., Amorena, B., de Andrés, D., Luján, L. L., Badiola, J. J., & Berriatua, E. (2006). Horizontal Maedi-Visna virus (MVV) infection in adult dairy-sheep raised under varying MVV-infection pressures investigated by ELISA and PCR. *Research in Veterinary Science*, *80*(2), 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2005.05.003>
- Leroux, C., Chastang, J., Greenland, T., & Mornex, J. F. (1997). Genomic heterogeneity of small ruminant lentiviruses: Existence of heterogeneous populations in sheep and of the same lentiviral genotypes in sheep and goats. *Archives of Virology*, *142*(6). <https://doi.org/10.1007/s007050050147>
- Mansour, S. M. G., Ali, H., Chase, C. C. L., & Cepica, A. (2015). Loop-mediated isothermal amplification for diagnosis of 18 World Organization for Animal Health (OIE) notifiable viral diseases of ruminants, swine and poultry. *Animal Health Research Reviews*, *16*(2), 89–106. <https://doi.org/10.1017/S1466252315000018>
- Michiels, R., van Mael, E., Quinet, C., Adjadj, N. R., Cay, A. B., & de Regge, N. (2018). Comparative analysis of different serological and molecular tests for the detection of small ruminant lentiviruses (Srlvs) in Belgian sheep and goats. *Viruses*, *10*(12). <https://doi.org/10.3390/v10120696>
- Muz, D., Oğuzoğlu, T. Ç., Rosati, S., Reina, R., Bertolotti, L., & Burgu, I. (2013). First molecular characterization of visna/maedi viruses from naturally infected sheep in Turkey. *Archives of Virology*, *158*(3), 559–570. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1518-1>
- Olech, M., & Kuźmak, J. (2021). Molecular characterization of small ruminant lentiviruses in polish mixed flocks supports evidence of cross species transmission, dual infection, a recombination event, and reveals the existence of new subtypes within group a. *Viruses*, *13*(12). <https://doi.org/10.3390/v13122529>
- Olech, M., Valas, S., & Kuźmak, J. (2018). Epidemiological survey in single-species flocks from Poland reveals expanded genetic and antigenic diversity of small ruminant lentiviruses. *PLoS ONE*, *13*(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193892>
- Querat, G., Audoly, G., Sonigo, P., & Vigne, R. (1990). Nucleotide sequence analysis of SA-OMVV, a visna-related ovine lentivirus: phylogenetic history of lentiviruses. *Virology*, *175*(2), 434–447. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(90\)90428-T](https://doi.org/10.1016/0042-6822(90)90428-T)
-

- 
- Rachid, A., Croisé, B., Russo, P., Vignoni, M., Lacerenza, D., Rosati, S., Kužmak, J., & Valas, S. (2013). Diverse host-virus interactions following caprine arthritis-encephalitis virus infection in sheep and goats. *Journal of General Virology*, 94(PART3), 634–642. <https://doi.org/10.1099/vir.0.044768-0>
- Ramírez, H., Reina, R., Amorena, B., de Andrés, D., & Martínez, H. A. (2013). Small ruminant Lentiviruses: Genetic variability, tropism and diagnosis. *Viruses*, 5(4). <https://doi.org/10.3390/v5041175>
- Sargan, D. R., Bennet, I. D., Cousens, C., Roy, D. J., Blacklaws, B. A., Dalziel Watt, R. G. N. J., & McConnell, I. (1991). Nucleotide sequence of EV1, a British isolate of maedi-visna virus. *Journal of General Virology*, 72(8), 1893–1903. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-8-1893>
- Schaer, J., Cvetnic, Z., Sukalic, T., Dörig, S., Grisiger, M., Iscaro, C., Feliziani, F., Pfeifer, F., Origgi, F., Zanoni, R. G., & Abril, C. E. (2022). Evaluation of Serological Methods and a New Real-Time Nested PCR for Small Ruminant Lentiviruses. *Pathogens*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/pathogens11020129>
- SVSCR. Státní veterinární správa. (2022). Metodiky kontroly zdraví zvířat a nařízené vakcinace. [online]. [cit. 10.07.2022]. Dostupné z: <https://www.svscr.cz/category/dokumenty-a-publikace/prehled-podle-temat/metodiky-kontroly-zdravi-zvirat-a-narizene-vakcinace/>

---

## 6 Publikace

### Periodikum s IF

- Kouba, F., Vernerová, K., Šoch, M., Hanzal, V., Filášová, L., Semerád, Z., Svoboda, F., & Rosmus, J. (2022). Radiocaesium in wild boars in Novohradské (Gratzen) Mountains. *Acta Veterinaria Brno*, 91(1). <https://doi.org/10.2754/avb202291010087>
- Hosnedlova, B., Vernerova, K., Kizek, R., Bozzi, R., Kadlec, J., Curn, V., Kouba, F., Fernandez, C., Machander, V., & Horna, H. (2020). Associations between IGF1, IGFBP2 and tgfb3 genes polymorphisms and growth performance of broiler chicken lines. *Animals*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/ani10050800>
- 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(1), 19–26. <https://doi.org/10.2754/avb201887010019>
- Brzáková, M., Hosnedlová, B., Svitáková, A., Vernerová, K., Veselá, Z., & Čítek, J. (2016). Effect of the FGF2 SNP11646 on milk production and fertility traits of Holstein cattle. *Czech Journal of Animal Science*, 61(8), 377–382. <https://doi.org/10.17221/61/2015-CJAS>
- Hanusová, L., Míková, A., Večerek, L., Schroeffelová, D., Řehout, V., Tothová, L., Vernerová, K., Hosnedlová, B., & Čítek, J. (2014). Effect of DGAT1 polymorphisms on the estimated breeding values of Czech Simmental sires. *Czech Journal of Animal Science*, 59(8), 365–373. <https://doi.org/10.17221/7587-cjas>
- Vernerova, K., Tothova, L., Mikova, A., Vodrazka, P., Simek, B., Hanusova, L., & Citek, J. (2014). BSE-associated polymorphisms in the prion protein gene: An investigation. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 131(5), 403–408. <https://doi.org/10.1111/jbg.12090>

### Recenzované články

- 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 (Loop Mediated Isothermal Amplification) pro molekulární diagnostiku lentivirů malých přežvýkavců. *Veterinářství*, 68(5), 340-345.

Kouba, F., Cipínová, E., Drápal, J., Hanzal, V., Malena M., & Vernerová, K. (2013). The radioactivity monitoring of wild boars in the South Bohemian Region. *Maso International*, 2: 151-154.

Kouba, F., Cipínová, E., Drápal, J., Hanzal, V., Malena, M., & Vernerová, K. (2013). Monitoring radioaktivity u černé zvěře v jihočeském regionu. *Maso*, 6: 40-42.

### **Metodiky**

Metodika odběru a zpracování vzorků, serologického a molekulárního stanovení lentivirového onemocnění ovcí a koz (certifikovaná metodika).

Metodika genotypizace ovcí a koz – detekce markerů geneticky podmíněné rezistence k SRLV (certifikovaná metodika).

Systém prevence a profylaxe lentivirových infekcí malých přežvýkavců (ověřená technologie).

### **Skripta**

Kouba, F., Vobr, J., Maršálek, M., Vernerová, K., & Baštýřová Brutovská, A. (2020). Veterinární péče – studijní text pro obor zootechnika“ Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, Katedra zootechnických věd.

Čítek, J., Hanusová, L., Míková, A., Tothová, L., Vernerová, K., & Hosnedlová, B. (2014). Vybrané návody k laboratorním cvičením z molekulární biologie. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 64 s. ISBN: 978-80-7394-443-8.

### **Sborníky**

Vejčík, A., Farková, B., & Vernerová, K. (2018). Lentivirová onemocnění malých přežvýkavců. Zpravodaj SCHOK, (4).

Vejčík, A., Farková, B., & Vernerová, K. (2017). Možnosti ozdravování od Meadi-Visny ovcí a infekční artritidy a encefalitidy koz. Zpravodaj SCHOK, (4).

Kouba, F., Bílý, R., Malena, M., Drápal, J., Hanzal, V., & Vernerová, K. (2015). Sledování aktivity radiocesia Cs 137 ve zvěřině divočáků v jihozápadní části



---

České republiky. In: Hygiena alimentorum XXXVI, Medzinárodná vedecká konferencia: Bezpečné a kvalitné produkty hydiny, rýb, voľne žijúcej a farmovej zveri. 1. Bratislava: Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky, s. 57-59. ISBN 978-80-8077-458-5.

Vernerová, K., & Pešinová, P. (2014). Polymorfizmy *PRNP* genu v asociaci k BSE. In: Zootechnika 2014, Sborník z konference mladých vědeckých pracovníků. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, s. 85-93. ISBN 978-80-7394-454-4.

Kouba, F., Cipínová, E., Drápal, J., Hanzal, V., Malena, M., & Vernerová, K. (2013). Monitoring radioaktivity u černé vře v jihočeském regionu. In: Sborník přednášek a posterů, Hygiena a technologie potravin XLIII Lenfeldovy a Höklovy dny. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, s. 50-53.