



Fakulta rybnářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

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

Prevence vzniku koi herpesvirózy v chovech kapra a koi kapra

V. Piačková, D. Pokorová, T. Veselý, A. Čížek,
E. Zusková, A. Pospíchal, S. Reschová





Fakulta rybnářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

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

Prevence vzniku koi herpesvirózy v chovech kapra a koi kapra

V. Piačková, D. Pokorová, T. Veselý, A. Čížek,
E. Zusková, A. Pospíchal, S. Reschová

**Vydání publikace bylo uskutečněno za finanční podpory projektu:
OP Rybářství 2007–2013:**

Metodiky II (2014–2015); reg. č. CZ.1.25/3.1.00/13.00482



EVROPSKÁ UNIE
EVROPSKÝ RYBÁŘSKÝ FOND
„Investování do udržitelného rybolovu“

Obsahová část publikace byla zpracována za finanční podpory následujících projektů:

MŠMT projektu CENAKVA (CZ.1.05/2.1.00/01.0024) – 20 %,
a projektu CENAKVA II (LO1205 v rámci programu NPU I) – 20 %

Prevence závažných infekčních nemocí kaprovitých ryb
(NAZV QJ1210237) – 60 %

č. 161

Vodňany

ISBN 978-80-7514-030-2



1. CÍL METODIKY	6
2. POPIS METODIKY	6
2.1. Úvod	6
2.1.1. Historie výskytu koi herpesvirózy (koi herpesvirus disease; KHVD) ve světě	6
2.1.2. Historie koi herpesvirózy v České republice	8
2.2. Charakteristika CyHV-3	10
2.2.1. Klasifikace a morfologie	10
2.2.2. Teplotní limity	10
2.2.3. Přežívání viru v prostředí	11
2.3. Onemocnění vyvolané CyHV-3 – koi herpesviróza	12
2.3.1. Charakteristika onemocnění	12
2.3.2. Patogeneze	12
2.3.3. Klinické příznaky	13
2.3.4. Patologické změny	13
2.3.5. Vnímavé druhy ryb	14
2.3.6. Možnost přenosu CyHV-3 na jiné druhy ryb	15
2.3.7. Možnost přenosu CyHV-3 z potenciálních vektorů na vnímavé druhy	16
2.4. Diagnostika	17
2.5. Legislativní souvislosti	19
2.6. Povinnosti chovatelů při vzniku podezření na výskyt koi herpesvirózy nebo jiné nebezpečné nákazy	20
2.7. Postup KVS SVS (Krajské veterinární správy Státní veterinární správy) při podezření na výskyt nebezpečné nákazy ryb	21
2.8. Postup KVS SVS při potvrzení výskytu nebezpečné nákazy ryb	22
2.9. Preventivní opatření – ochrana chovů	24
2.9.1. Karanténa	24
2.9.2. Dezinfekce	25
2.9.3. Vhodný výběr obsádky	25
2.9.4. Vakcinace	26
3. ZÁVĚR	26
4. SROVNÁNÍ „NOVOSTI POSTUPŮ“	27
5. POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY	27
6. EKONOMICKÉ ASPEKTY	27
7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	28
8. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE	33

1. CÍL METODIKY

Cílem metodiky je poskytnout chovatelům ryb i praktickým veterinárním lékařům souhrn dosavadních vědomostí o koi herpesviróze a navrhnout opatření směřující k ochraně chovů ryb před tímto závažným infekčním onemocněním kaprovitých ryb.

2. POPIS METODIKY

2.1. Úvod

2.1.1. Historie výskytu koi herpesvirózy (koi herpesvirus disease; KHVD) ve světě

Na konci dvacátého století došlo v Izraeli a vzápětí také v USA k prvním výskytům onemocnění neznámé etiologie, které postihlo mnoho obsádek koi kapra (*Cyprinus carpio koi*) i konzumního kapra (*Cyprinus carpio carpio*) (Gilad a kol., 2002; Perelberg a kol., 2003). Během jarních a letních měsíců zde došlo k několika propuknutím onemocnění vyznačujícího se velmi vysokou mortalitou (80–90 %). Ekonomické ztráty izraelských a amerických chovatelů během prvních dvou let šly do miliónů dolarů (Perelberg a kol., 2003). V obou zemích byl z případů hynutí koi kaprů a kaprů izolován virus, který byl vzhledem ke svým vlastnostem zařazen mezi herpesviry a byl nazván koi herpesvirus (KHV) (Hedrick a kol., 2000; Gilad a kol., 2002; Gray a kol., 2002).

Původce onemocnění se zejména díky obchodování s okrasnými rybami postupně rozšířil do dalších asijských a evropských zemí (tab. 1). V roce 2001 bylo toto onemocnění zaznamenáno a potvrzeno i v Jihoafrické republice (Pokorová a kol., 2005).

Jižní Amerika, Austrálie a Antarktida se zatím jeví jako KHV prosté.

PREVENCE VZNIKU KOI HERPESVIRÓZY V CHOVECH KAPRA A KOI KAPRA

Tab. 1. Rozšíření koi herpesvirózy v Asii a v Evropě.

první potvrzený výskyt (rok)	stát	poznámka	reference
ASIE			
1998	Izrael		Gilad a kol. (2002)
	Korea	potvrzeno zpětně z archivovaných vzorků	Oh a kol. (2001)
2001	Čína		Pokorová a kol. (2005)
2002	Indonésie		Subasinghe (2003)
	Taiwan		Tu a kol. (2004)
2003	Japonsko		Sano a kol. (2004)
2006	Thajsko		Pikulkaew a kol. (2009)
EVROPA			
1998	Velká Británie	potvrzeno zpětně z archivovaných vzorků	Walster (1999)
2001	Holandsko		Haenen a kol. (2004)
2002	Belgie	podezření od r. 1999	Haenen a kol. (2004)
	Dánsko		Haenen a kol. (2004)
	Německo	podezření od r. 1999	Haenen a kol. (2004)
	Itálie		Engelsma a Haenen (2005)
2003	Rakousko		Haenen a kol. (2004)
	Francie	podezření od r. 2001	Haenen a kol. (2004)
	Lucembursko		Haenen a kol. (2004)
	Švýcarsko	podezření od r. 2001	Haenen a kol. (2004)
	Polsko		Bergmann a kol. (2006)
2005	Česká republika	potvrzeno z archivovaných vzorků	Pokorová a kol. (2007)
2006	Česká republika	vyšetřování v NRL*	Novotný a kol. (2010) Pokorová a kol. (2013)

*Národní referenční laboratoř pro virové nemoci ryb

2.1.2. Historie koi herpesvirózy v České republice

První zprávy o hromadných úhynech kaprů a koi kaprů v Izraeli byly podány v roce 1999 na konferenci EAAP na ostrově Rhodos. Hned v následujícím roce byli pracovníci Výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického ve Vodňanech požádáni izraelskými vědci o poskytnutí zmraženého spermatu Amurského sazana pro ověření možnosti využití této primitivní formy kapra k produkci hybridů rezistentních ke KHV. To byl náš první kontakt se zatím neznámým, exotickým onemocněním kapra a koi kapra.

V roce 2004 byl zahájen první český projekt financovaný Národní agenturou pro zemědělský výzkum, zaměřený na KHV. Cílem projektu bylo zavedení kultivace viru na buněčných liniích a detekce přítomnosti virové DNA pomocí PCR (*Polymerase Chain Reaction*) do praxe Národní referenční laboratoře pro virové nemoci ryb a její využití při monitoringu výskytu KHV v České republice. V letech 2005 a 2006 byly provedeny odběry vzorků konzumních kaprů a koi kaprů ze třinácti farem (celkem 138 ryb). Zároveň bylo vyšetřeno celkem 66 koi kaprů na žádost majitelů pro potvrzení bezinfekčnosti za účelem dovozu či vývozu (Pokorová a kol., 2007). Při prvním vyšetření byly všechny odebrané vzorky negativní, ale při opakovaném přešetření vzorků jinou metodikou (PCR s využitím jiné dvojice primerů) bylo 5 ze 7 lokalit odebraných v r. 2005 pozitivních (Pokorová a kol., 2007).

V roce 2008 byla koi herpesviróza na základě evropské legislativy přidána na seznam neexotických nálezů ryb povinných hlášením, který je jednou z příloh Zákona č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinárního zákona), ve znění pozdějších předpisů. Uvedením koi herpesvirózy na tento seznam převzala monitoring výskytu KHV v českých chovech Státní veterinární správa ČR. Vzorky ryb odebrané inspektory SVS ČR jsou vyšetřovány v laboratořích Státních veterinárních ústavů a v případě pozitivního výsledku jsou zasílány ke confirmaci (potvrzení) do Národní referenční laboratoře pro virové nemoci ryb, která je součástí Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně – Medlánkách.

Za posledních devět let, kdy bylo prováděno vyšetření kaprů a koi kaprů na přítomnost KHV, ať už v rámci grantového projektu, nebo v rámci monitoringu SVS ČR, bylo u nás, na rozdíl od sousedních zemí, zachyceno jen velmi málo pozitivních případů (tab. 2) (Pokorová a kol., 2013). Navíc zhruba polovina případů byla z lokalit bez klinických příznaků onemocnění či hynutí. Přesnou příčinu této relativně nízké incidence KHV v našich chovech zatím neznáme. Je pravděpodobné, že zde hraje svou roli více faktorů.

PREVENCE VZNIKU KOI HERPESVIRÓZY
V CHOVECH KAPRA A KOI KAPRA

Tab. 2. Pozitivní záchyty KHV v ČR metodou PCR (Polymerase Chain Reaction)
(Pokorová a kol., 2013).

rok	počet pozitivních lokalit		druh ryby	důvod vyšetření
2006	3	1	kapr obecný	hynutí
		1	kapr obecný	monitoring
		1	koi kapr	monitoring
2007	11	2	koi kapr	hynutí
		7	koi kapr	monitoring
		2	kapr obecný	monitoring
2008	2	2	koi kapr	hynutí
2009	6	1	kapr obecný	monitoring SVS
		2	kapr obecný	hynutí
		1	koi kapr	monitoring SVS
		2	koi kapr	hynutí
2010	1	1	kapr obecný	monitoring SVS
2011	1	1	koi kapr	monitoring SVS
2013	1	1	koi kapr	hynutí

2.2. Charakteristika CyHV-3

2.2.1. Klasifikace a morfologie

Původcem nákazy je koi herpes virus (**KHV**), dříve též nazývaný jako virus intersticiální nefritidy a nekrózy žaber (Carp interstitial Nephritis and Gill necrosis Virus; **CNGV**), který byl zařazen do rodu *Cyprinivirus*, čeledi Alloherpesviridae, jejímž je typovým druhem. V současné době platné označení Cyprinid herpesvirus 3 (**CyHV-3**) podle mezinárodní komise pro taxonomii virů (vydání z r. 2013) navazuje na nomenklaturu jiných kapřích herpesvirů: CyHV-1 (virus kapřích neštovic), CyHV-2 (virus hematopoetické nekrózy u zlatého karase) a navíc úhoří herpesvirus 1 (AngHV-1), který je zařazen do stejného rodu. Sekvenční analýzou části genomu byla prokázána značná příbuznost mezi virem CyHV-3 a viry CyHV-1 a CyHV-2. Porovnání genomů CyHV-3 izolátů z různých geografických oblastí jak restriktivní enzymovou analýzou, tak i nukleotidovou sekvenční analýzou, prokázalo vysokou shodu testovaných izolátů. Genom viru je tvořen dvouvláknitou DNA o velikosti 295 kbp, přesahující velikostně všechny známé zástupce řádu Herpesvirales. Virový genom je tvořen 156 otevřenými čtecími rámci (ORF) a je vysoce odlišný téměř od všech ostatních virů. Zralý virion obsahuje 40 virových a 18 celulárních proteinů. Virová kapsida má v průměru 100–110 nm a je obklopena obalem.

2.2.2. Teplotní limity

Chování CyHV-3 je velmi zásadně ovlivňováno teplotou. Vnímavé ryby onemocní, pokud se setkají s virulentním kmenem v rozmezí teplot 16–28 °C. Pro rozvoj onemocnění je nevhodnější tzv. **permissivní teplota**, tj. 23–24 °C. Při teplotě 16 °C je nástup klinických příznaků pomalejší a kumulativní mortalita má pozvolnější průběh, při teplotě 28 °C je nástup klinických příznaků v podstatě shodný s permissivní teplotou, ale kumulativní mortalita není tak vysoká. Teplota také ovlivňuje vylučování viru infikovanými rybami. Při teplotě 16 °C bylo prokázáno vylučování viru do prostředí minimálně 34 dní (7.–40. den po infekci; dpi), při teplotě 23 °C 14 dní (1.–14. dpi) a při teplotě 28 °C 12 dní (3.–14. dpi). Při nižších teplotách (16 °C) mohou začít infikované ryby vylučovat virus do prostředí dokonce o 14 dní dříve, než se objeví první úhyny (Yuasa a kol., 2008). Výše uvedené skutečnosti představují vážné riziko zavlečení CyHV-3 do chovu rybami, které byly infikovány a poté chovány při nízkých teplotách (13–16 °C). Je pravděpodobné, že tyto ryby po přechodu do teploty nad 16 °C začnou vylučovat virus dříve, než se u nich objeví klinické příznaky onemocnění.

PREVENCE VZNIKU KOI HERPESVIRÓZY V CHOVECH KAPRA A KOI KAPRA

Bylo zjištěno, že při teplotách nad 28 °C ustává replikace viru a že teploty 30 °C a více lze využít i k přirozené imunizaci infikovaných ryb (Ronen a kol., 2003). Zajímavé je, že tento mechanismus dokáže instinktivně využít i samotné ryby. Belgičtí virologové experimentálně prokázali, že kapři infikovaní CyHV-3 si z možností 24, 28 a 34 °C spontánně vybrali tu nejvyšší a v této teplotě přetrvávali tak dlouho, než onemocnění odeznělo. Neinfikovaní kapři, kteří měli k dispozici stejné možnosti teplot, se po celou dobu drželi převážně ve 24 °C. Autoři studie tento jev nazvali „behaviorální horečka“ (Rakus a kol., 2014).

2.2.3. Přežívání viru v prostředí

Koi herpesvirus si ve vodním prostředí zachovává schopnost vyvolat onemocnění minimálně 4 hodiny (Perelberg a kol., 2003). Dá se předpokládat, že přežití viru v prostředí je nepřímě závislé na teplotě – čím nižší teplota, tím déle trvá inaktivace viru. Teplota 50 °C po dobu 1 minuty virus spolehlivě likviduje (Kasai a kol., 2005). Teplota vody také ovlivňuje replikaci viru v hostitelských buňkách, takže ryby vystavené viru při 23 °C uhynou, zatímco při 13 °C nikoliv (Gilad a kol., 2003).

Při sanaci přírodních ekosystémů se uplatňuje také působení UV složky slunečního záření. Nejcitlivější se jeví jednovláknité DNA nebo RNA viry. Vzhledem k tomu, že CyHV-3 patří mezi dvouvláknité DNA viry, dala by se u něj předpokládat vyšší odolnost ke slunečnímu a UV záření než u některých jiných virů. Nicméně při laboratorních pokusech byl CyHV-3 kompletně inaktivován UV zářením v dávce $4 \times 10^3 \mu\text{WS}\cdot\text{cm}^{-2}$ (Kasai a kol., 2005). Není zde sice uvedena expoziční doba, ale při porovnání s citlivostí jiných dvouvláknitých DNA virů vůči UV záření se dá předpokládat, že by mohla být dostatečná expozice v délce 40 s (Gerba a kol., 2002).

Kromě UV záření a teploty se v přírodním prostředí uplatňují ještě další „anti-KHV“ faktory. Pokud se ve vodním prostředí nevyskytují žádné rezervoárové organizmy, je schopnost přežití viru méně než 3 dny v důsledku výskytu anti-KHV bakterií v neupravených povrchových vodách. Tato skutečnost byla zjištěna porovnáním přežití viru v neupravené a autoklávované (vysokou teplotou a tlakem sterilizované) povrchové vodě. Ve sterilizované vodě, bez přítomnosti živých bakterií, si virus zachoval svou infektivitu déle než 7 dní (Shimizu a kol., 2006).

Viry se mohou množit pouze uvnitř živé vnímavé hostitelské buňky. CyHV-3 se kromě kůže a žaber množí také v buňkách střevní sliznice (Gilad a kol., 2004) a je vylučován společně s fecés. Další osud viru je závislý na podmínkách prostředí. Navázání na pevné látky jej může chránit před působením degradačních enzymů i před UV zářením. To umožňuje nejen prostou perzistenci

viru v sedimentech, ale také jeho akumulaci v bentických organizmech, které pak mohou být významným zdrojem virové infekce (Matsui a kol., 2008).

Nejvýznamnějším rezervoárem viru jsou ryby, které přežily onemocnění. V přírodních podmínkách se ještě po dvou letech od propuknutí koi herpesvirózy mohou vyskytovat ryby, jejichž tkáň (žábry a mozek) jsou PCR pozitivní na KHV (Uchii a kol., 2009). Takové ryby mohou za určitých podmínek, jako je přechod do permissivní (pro replikaci viru příznivé) teploty nebo stres, znovu onemocnět (St-Hilaire a kol., 2005; Dishon a kol., 2007).

2.3. Onemocnění vyvolané CyHV-3 – koi herpesviróza

2.3.1. Charakteristika onemocnění

Koi herpesviróza je sezónní onemocnění. Objevuje se v letních měsících, kdy se teplota pohybuje mezi 18 a 28 °C. Je velmi nakažlivá a mortalita může dosáhnout 80–100 %. Úhyn je způsoben porušením osmotické regulace ve střevě, žábřích a ledvinách (Gilad a kol., 2004). Kromě toho jsou ryby infikované CyHV-3 náchylnější k sekundárním bakteriálním, parazitárním a mykotickým infekcím.

2.3.2. Patogeneze

Vstupní branou a místem počáteční replikace (pomnožení) viru je kůže (Costes a kol., 2009; Adamek a kol., 2013) nebo faryngeální periodontální mukóza (sliznice v okolí požerákových zubů) (Fournier a kol., 2012; Costes a kol., 2009). Po iniciální replikaci se virus šíří do celého organismu. Při experimentálních infekcích byl nalezen téměř ve všech vnitřních orgánech už 24 hodin po infekci (Gilad a kol., 2004). Toto rychlé šíření může být dáno silnou afinitou viru k bílým krvinkám (Costes a kol., 2009). Virové partikule pomnožené ve tkáni žaber, kůže a střeva jsou vylučovány do vody.

V organismu ryb, které přežily nákazu KHV, může přežívat virus v latentním (klidovém) stavu. Důkazy této schopnosti jsou pozitivní nálezy CyHV-3 v mozkové tkáni ryb bez klinických příznaků 1 rok po infekci (Yuasa a Sano, 2009), perzistence viru v divokých populacích minimálně 2 roky od počátečního propuknutí onemocnění (Uchii a kol., 2009) a potvrzená reaktivace onemocnění teplotním stresem u ryb po několika měsících od prodělané infekce (St-Hilaire a kol., 2005). Možnost reaktivace onemocnění stresem byla prokázána i několika dalšími studiemi (Eide a kol., 2011a,b; Xu a kol., 2013).

PREVENCE VZNIKU KOI HERPESVIRÓZY V CHOVECH KAPRA A KOI KAPRA

2.3.3. Klinické příznaky

Délka inkubační doby (období od infekce virem do manifestace prvních příznaků) závisí na teplotě vody. První příznaky onemocnění se při permissivní teplotě objevují 2.–7. den po infekci, při nižších teplotách je inkubační doba delší (7–21 dní). Ryby jsou letargické, nepřijímají potravu, leží na dně nádrže se staženou hřbetní ploutví. V rybnících se shromažďují ryby u přítoku nebo u břehů a lapají po vzduchu u hladiny. V terminální fázi onemocnění některé ryby vykazují neurologické příznaky – dezorientaci a ztrátu rovnováhy (Hedrick a kol., 2000; Haenen a kol., 2004; Perelberg a kol., 2003).

2.3.4. Patologické změny

Na žábřácích bývá pozorována zpočátku změna zabarvení, skvrnitý vzhled a následně zvýšená sekrece hlenu a nekróza tkáně (obr. 1). V závislosti na stadiu infekce se objevují různé změny na kůži – překrvení, zvláště u bází ploutví a na břiše, na začátku infekce světlé nepravidelné skvrny v důsledku zvýšené tvorby



Obr. 1. Žábry s nekrotickými změnami u koi kapra postiženého koi herpesvirózou (hynutí koi kaprů v okrasném rybníčku – rok 2009) (Foto: T. Veselý).



Obr. 2. Enoftalmus u kapra obecného infikovaného CyHV-3. (Foto: T. Veselý).

hľenu, v pozdější fázi naopak nedostatek hľenu a odlupování odumřelého epitelu. Dalšími typickými příznaky KHVD je oboustranný enoftalmus (zapadlé oko) (obr. 2) a rozpad ploutví.

Kromě žaber a kůže bývají postiženy ledviny, zejména jejich krvevorné buňky (Miyazaki a kol., 2008). Peritubulární zánět, kongesce cév a degenerace tubulárního epitelu mají za následek poruchy vylučovací funkce ledvin. Drobné záněty je možno zaznamenat i v histologických řezech ze sleziny, hepatopankreatu a mozku (Pikarsky a kol., 2004).

2.3.5. Vnímavé druhy ryb

Přirozená vnímavost vůči koi herpesviróze byla zaznamenána pouze u kapra obecného (*Cyprinus carpio carpio*) a jeho barevné variety – koi (*Cyprinus carpio koi*) (Hedrick a kol., 2006). Tyto poddruhy jsou vnímavé k onemocnění od juvenilních stadií výše (Rakus a kol., 2013), přičemž mladší věkové kategorie se zdají být vnímavější než dospělé ryby (Perelberg a kol., 2003). Vnímavost larválních stadií koi kapra a kapra obecného donedávna nebyla potvrzena (Ito a kol., 2007), avšak v nejnovější studii byla luminiscenčně prokázána

PREVENCE VZNIKU KOI HERPESVIRÓZY V CHOVECH KAPRA A KOI KAPRA

přítomnost viru i u stadia embryonálního bezprostředně po oplození a u stadia larválního (Ronsmans a kol., 2014).

Některá výzkumná pracoviště se zaměřila na testování vnímavosti kříženců kapra obecného a koi kapra s jinými druhy kaprovitých ryb. Při experimentálních infekcích CyHV-3 se jako nejnímavější jeví hybrid koi kapra a karase obecného (*Carassius carassius*, kumulativní mortalita 91%), podstatně méně vnímaví byli hybrid koi kapra a karase zlatého (*Carassius auratus auratus*; 35% kumulativní mortalita) (Bergmann a kol., 2010a) a nejlepšího přežití dosáhli kříženci mezi kaprem obecným a karasem zlatým (5% kumulativní mortalita) (Hedrick a kol., 2006).

Světová organizace pro zdraví zvířat (World Organisation for Animal Health; OIE) uvádí mezi druhy vnímavými ke KHV pouze kapra obecného (*Cyprinus carpio*), jeho barevné variety (koi) a jeho křížence s karasem obecným a karasem zlatým.

2.3.6. Možnost přenosu CyHV-3 na jiné druhy ryb

Od samého začátku výzkumu nového virového onemocnění kaprů byla věnována pozornost také ověřování možnosti jeho přenosu na jiné, zejména kaprovité druhy ryb. Bylo provedeno mnoho experimentálních studií, při nichž byly přednostně infikovány druhy ryb, které reálně přicházejí do kontaktu s kaprem obecným nebo kaprem koi v akvakultuře. Následným PCR testováním byla prokázána přítomnost virové DNA u zlatého karase (*Carassius auratus auratus*), který vykazoval i slabé klinické příznaky onemocnění (Bergmann a kol., 2010b). Přítomnost virové DNA byla potvrzena také u dalších forem zlatého karase, jako je závojnátka „líví hlava“ a závojnátka „shubunkin“ (Bergmann a kol., 2009). Stejným způsobem byly testovány i další druhy využívané v rybníční akvakultuře. Přítomnost CyHV-3 DNA byla po experimentální infekci zjištěna ve tkáních amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*), jelce jesena (*Leuciscus idus*) (Bergmann a kol., 2009), plotice obecné (*Rutilus rutilus*), jelce proudníka (*Leuciscus leuciscus*), cejna velkého (*Abramis brama*), hrouzka obecného (*Gobio gobio*) (Kempter a Bergmann, 2007; Kempter a kol., 2012; Fabian a kol., 2013), lína obecného (*Tinca tinca*) (Kempter a kol., 2012; Fabian a kol., 2013; Radosavljević a kol., 2012), parmy obecné (*Barbus barbus*), podoustve říční (*Vimba vimba*), slunky obecné (*Leucaspis delineatus*), ostroretky stěhovavé (*Chondrostoma nasus*), karase obecného (*Carassius carassius*) (Kempter a Bergmann, 2007; Kempter a kol., 2012), tolstolobika bílého (*Hypophthalmichthys molitrix*) (Kempter a kol., 2012; Radosavljević a kol., 2012) a perlína ostrobřichého (*Scardinius erythrophthalmus*) (Fabian a kol., 2013).

U karase stříbřitého (*Carassius gibelio*), jelce tlouště (*Squalius cephalus*) a ježdíka obecného (*Gymnocephalus cernua*) někteří autoři uvádějí pozitivní nálezy virové DNA (Kempton a kol., 2012; Radosavljević a kol., 2012), jiným se infekce virem na tyto druhy nepodařila (Fabian a kol., 2013).

Výsledky výzkumů zaměřené na nekaprovité druhy ryb ukázaly, že DNA CyHV-3 lze nalézt u krunýřovce (*Ancistrus* sp.) (Bergmann a kol., 2009), sumečka amerického (*Ameiurus nebulosus*), koljušky tříostné (*Gasterosteus aculeatus*), candáta obecného (*Sander lucioperca*) (Fabian a kol., 2013), okouna říčního (*Perca fluviatilis*), štiky obecné (*Esox lucius*) (Kempton a kol., 2012; Fabian a kol., 2013), vranky obecné (*Cotus gobio*), sekavce písečného (*Cobitis taenia*) (Kempton a kol., 2012). Přítomnost DNA CyHV-3 byla také zaznamenána u jesetera atlantského (*Acipenser oxyrinchus*) a u jesetera ruského (*Acipenser gueldenstaedtii*), který údajně vykazoval i klinické příznaky onemocnění (Kempton a kol., 2009). Z ostatních druhů typických pro naši akvakulturu byl také testován sumec velký (*Silurus glanis*), u něhož vnímavost vůči viru a taktéž vůči onemocnění prokázána nebyla (Kempton a Bergmann, 2007).

Výsledky experimentálních infekcí hovoří převážně o následné detekci virové DNA ve tkáních testovaných ryb. Pouze u některých druhů (zlatý karas a jeseter ruský) byly zaznamenány i klinické příznaky onemocnění. U ostatních byla potvrzena pouze vnímavost k viru, nikoliv k onemocnění.

2.3.7. Možnost přenosu CyHV-3 z potenciálních vektorů na vnímavé druhy

Z pohledu chovatelů je více než pouhá přítomnost virové DNA ve tkáních různých druhů ryb významná otázka možnosti nakažení vnímavých druhů (kapra a koi kapra) kontaktem s těmito potenciálními přenašeči. Za účelem ověření této možnosti byly provedeny pokusy, kde byla infekce navozována kohabitací (chovem ve stejné nádrži) naivních koi kaprů s CyHV-3 DNA pozitivními rybami různých druhů.

Kohabitační experimenty naznačily přenos viru z kaprovitých i nekaprovitých vektorů na vnímavé druhy, avšak pouze asymptomaticky, to znamená bez klinických příznaků, bez propuknutí onemocnění. Přítomnost viru ve tkáních kohabitovaných ryb byla prokázána PCR. Možnost přenosu byla prokázána u karase zlatého (Bergmann a kol., 2010b; El-Matbouli a Soliman, 2011; Radosavljević a kol., 2012) a u lína obecného (Kempton a kol., 2012; Fabian a kol., 2013; Radosavljević a kol., 2012). Přenos byl dokázán i u amura bílého, tolstolobika bílého (Kempton a kol., 2012; Radosavljević a kol., 2012), cejna velkého, podoustve říčního (Kempton a kol., 2012), hrouzka obecného a perlína ostrobřichého (Fabian a kol., 2013).

PREVENCE VZNIKU KOI HERPESVIRÓZY V CHOVECH KAPRA A KOI KAPRA

Pozitivní přenos CyHV-3 byl potvrzen z nekaprovitých druhů u štiky obecné (Fabian a kol., 2013) a ježdíka obecného (Kempter a kol., 2012).

Některé druhy ryb zatím na možnost přenosu na vnímavé druhy testovány nebyly (jelec jesen, j. tloušť, karas obecný, parma obecná, slunka obecná, ostroretka stěhovavá, jeseter ruský, j. atlantský, sekavec písečný, vranka obecná a krunýřovec) (Rakus a kol., 2013).

2.4. Diagnostika

Pro diagnostiku KHV mohou být použity různé metody, ovšem většina z nich pouze jako metody presumptivní. Jedná se jmenovitě o:

posouzení klinických příznaků (na prvním místě nekróza žaber, enoftalmus a odlučování kožního hľenu) (Hedrick a kol., 2000; Haenen a kol., 2004; Perelberg a kol., 2003),

přímou světelnou mikroskopii a histopatologii (změny a eroze na primárních i sekundárních lamelách žaber, zvětšená jádra buněk žaberního epitelu a leukocytů s často se vyskytujícími difúzními eozinofilními intranukleárními inkluzemi a zánět, nekróza a nukleární inkluze i v dalších orgánech),

izolaci na buněčných liniích KF-1 a CCB (úspěšná pouze z klinických případů s výraznými typickými příznaky),

transmisní elektronovou mikroskopii (průkaz virových partikulí majících morfologický vzhled odpovídající herpesvirům),

metody založené na reakci specifických protilátek (ELISA, IF) (Dishon a kol., 2005; Pikarsky a kol., 2004) a *in situ* hybridizaci (Bergmann a kol., 2010b).

Prakticky jedinými v současnosti použitelnými metodami jak pro kvalitní presumptivní, ale hlavně pro konfirmační diagnostiku, jsou PCR metody založené na prvním místě na stanovení genu thymidin kinázy viru KHV v jedno či dvoukolové PCR, a nově také pomocí real-time PCR.

Kvalitativní primární a nested PCR metoda slouží ke stanovení přítomnosti či nepřítomnosti nukleové kyseliny (DNA) koi herpesviru ve vyšetřovaných vzorcích rybích tkání a opírá se o detekci genu kódujícího enzym thymidin kinázu (TK), který je součástí DNA u čeledi Herpesviridae. Navržené dvojice primerů, které umožňují specificky detekovat koi herpesvirus, vycházejí z publikace Bercovier a kol. (2005):

sekvence primerů pro primární PCR:

TK-F

5'- GGG TTA CCT GTA CGA G -3'

TK-R

5'- CAC CCA GTA GAT TAT GC - 3'

sekvence interních primerů pro nested PCR vychází z manuálu Cefas (*The Centre for Environment, fisheries and Aquaculture Science*), r. 2007.

Inter TK-F

5'- CGT CTG GAG GAA TAC GAC G- 3'

Inter TK-R

5'- ACC GTA CAG CTC GTA CTG G- 3'

Prvním krokem metody je extrakce DNA z vyšetřovaného materiálu pomocí kolonek se silikagelovou membránou (souprava QIAamp Viral DNA Kit, Qiagen).

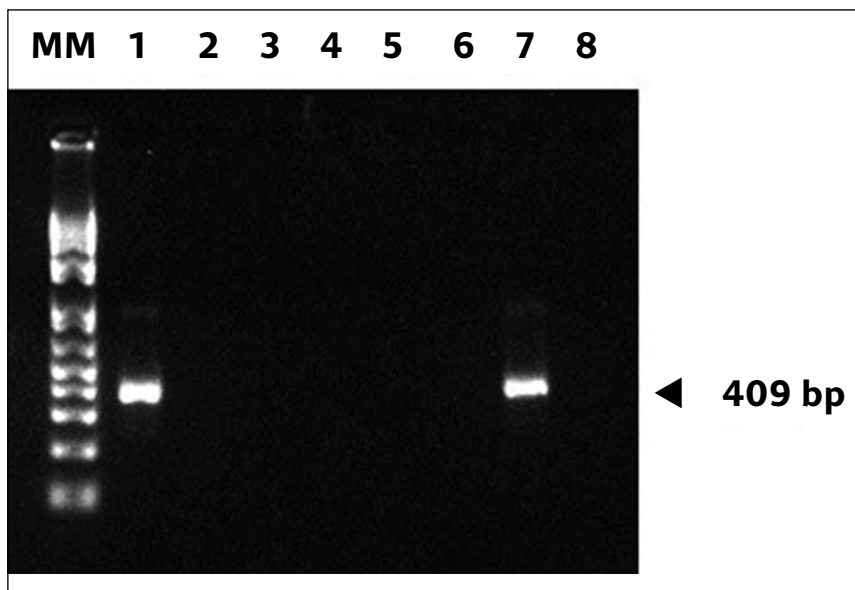
Druhým krokem metody je příprava amplifikační směsi podle počtu vyšetřovaných vzorků a vlastní PCR probíhající v termocykleru podle příslušného programu.

Třetím krokem metody je horizontální elektroforéza s produkty amplifikace v 2% agarózovém gelu s fluorescenční barvou (GelRed) a následná vizualizace produktů PCR na fotodokumentačním zařízení.

Závěrečným krokem metody je vyhodnocení vyšetřovaných vzorků, tj. stanovení přítomnosti či nepřítomnosti očekávaného PCR produktu v agarózovém gelu. Výsledkem s pozitivitou na přítomnost DNA KHV je dobře identifikovatelný pruh na elektroforetickém gelu o příslušné velikosti, tj. 409 bp u primární amplifikace a 348 bp u nested PCR (obr. 3).

Mohou být použity i jiné PCR metody mající vědecky doložitelnou srovnatelnou specifitu a senzitivitu.

PREVENCE VZNIKU KOI HERPESVIRÓZY V CHOVECH KAPRA A KOI KAPRA



Obr. 3. Elektroforetický snímek PCR KHV pozitivních a negativních vzorků (MM: molekulární marker (TrackIt™ 1 kb Plus DNA Ladder), 1: pozitivní kontrola, 2: negativní kontrola, 3–8: amplifikáty vyšetřovaných vzorků, 7: pozitivní vzorek) (Foto: NRL pro virové nemoci ryb).

2.5. Legislativní souvislosti

Koi herpesviróza (KHVD) je dle „Směrnice rady 2006/88ES ze dne 24. října 2006 o veterinárních požadavcích na živočichy pocházející z akvakultury a produkty akvakultury a o prevenci a tlumení některých nálezů vodních živočichů“ (dále jen Směrnice EU) zařazena na seznam neexotických nálezů podléhajících hlášení společně s virovou hemoragickou septikémií (VHS), infekční nekrotickou krvetvorné tkáně (IHN) a nakažlivou chudokrevností lososů (ISA).

KHV se vyšetřuje u vnímavých druhů ryb v souladu s přílohou č. 3, částí II vyhlášky č. 290/2008 Sb., tedy v chovech kapra obecného (*Cyprinus carpio carpio*), jeho barevné variety *Cyprinus carpio* koi a jejich kříženců. Povinnost a postup odběru vzorků vyplývá z Metodiky kontroly zdraví a nařízené vakcinace pro daný kalendářní rok (vydává každoročně Státní veterinární správa a je

přístupná na stránkách Ministerstva zemědělství ČR: <http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/zivocisne-komodity/metodika-kontroly-zdravi-zvirat-a/>). V této metodice je uvedeno, které povinné preventivní a diagnostické úkony k předcházení vzniku a šíření nálezů a nemocí přenosných ze zvířat na člověka, jakož i k jejich zdolávání, stanovuje MZe pro příslušný kalendářní rok a na které z nich a v jakém rozsahu se poskytují příspěvky ze státního rozpočtu. Pro rok 2014 byl mezi povinné úkony hrazené ze státního rozpočtu zařazen odběr vzorků na koi herpesvirózu. Vyšetření se provádí na celém území ČR. Ve vybraných hospodářstvích se odebere 30 kusů kapra obecného ve věkových kategoriích K1 a K2. Vyšetření se provádí 1x ročně, odběr vzorků probíhá v období od června do září.

V současnosti je připravován návrh prováděcího rozhodnutí Komise ke směrnici 2006/88/ES, který se týká požadavků na dozor a diagnostické metody k potvrzení onemocnění živočichů pocházejících z akvakultury a produkty akvakultury a o prevenci a tlumení některých nálezů vodních živočichů. Jedná se jmenovitě o dozor a metody na KHV, kromě dalších tří virových onemocnění ryb, dvou onemocnění měkkýšů a jednoho onemocnění korýšů (Annex I), a o detailní specifikaci diagnostických metod uvedených onemocnění (Annex II).

Je třeba uvést, že chovy kapra v ČR v rámci kategorizace vycházející ze Směrnice EU spadají do kategorie III, což jsou chovy se zdravotním statutem nedefinovaným. To znamená, že chov, či oblast není zamořená, ale také není zařazena do programu k získání statusu chovu či oblasti prosté nákazy. Podle platné legislativy se v těchto chovech provádí aktivní dozor včetně odběru vzorků, které nyní lze vyšetřovat.

2.6. Povinnosti chovatelů při vzniku podezření na výskyt koi herpesvirózy nebo jiné nebezpečné nákazy

Povinnosti chovatelů a dalších osob přicházejících do kontaktu s rybami jsou zakotveny v **Zákonu č. 166/1999 Sb. o veterinární péči** (veterinární zákon), Oddíl 3 (Nákazy a jejich zdolávání), **§ 11** a **§12**:

Chovatel a všechny další osoby, které přicházejí do styku s rybami při chovu, přepravě a prodeji a které vzhledem ke svému povolání, kvalifikaci a zkušenostem mohou rozpoznat příznaky nasvědčující podezření z výskytu nebezpečné nákazy, **jsou povinni neprodleně uvědomit krajskou veterinární správu nebo zajistit její uvědomění o tomto podezření.**

Chovatel, na jehož rybách se projevují příznaky nasvědčující podezření z výskytu nebezpečné nákazy, je povinen:

PREVENCE VZNIKU KOI HERPESVIRÓZY V CHOVECH KAPRA A KOI KAPRA

1) do příchodu úředního veterinárního lékaře zajistit, aby

- a) ryby podezřelé a vnímavé k příslušné nákaze neopustily svá stanoviště (nádrže),
- b) živočišné produkty, které pocházejí od podezřelých ryb, nebyly používány, jakkoli zpracovávány nebo uváděny do oběhu a aby byly ukládány odděleně,
- c) předměty, které mohou být nositeli původců nákaz (pomůcky, náradí, nádrže), nebyly vynášeny nebo vyváženy a používány jinde,
- d) nádrže, kde byly chovány ryby podezřelé z nákazy, byly dezinfikovány,
- e) osoby, které ošetřují ryby podezřelé z nákazy (tj. vykazující klinické příznaky) nebo ryby podezřelé z nakažení (tj. ryby, které zatím nevykazují klinické příznaky, ale je reálný předpoklad, že přišly do kontaktu s nakaženými), nepřicházely do styku s jinými rybami a aby do prostorů sloužících chovu podezřelých ryb nevstupovaly jiné osoby bez vážného důvodu,

2) po příchodu úředního veterinárního lékaře postupovat podle jeho pokynů a poučení.

2.7. Postup KVS SVS (Krajské veterinární správy Státní veterinární správy) při podezření na výskyt nebezpečné nákazy ryb

Postup KVS je uveden v **§ 13 Veterinárního zákona** a v **§ 19 – § 21 Vyhlášky 290/2008 Sb.**

Krajská veterinární správa, která byla uvědoměna o podezření z výskytu nebezpečné nákazy nebo je zjistila při plnění svých úkolů, prověří neodkladná opatření provedená chovatelem (viz kap. 2.6.) a neprodleně učiní a podle potřeby nařídí **mimořádná veterinární opatření** za účelem potvrzení nebo vyloučení tohoto podezření a za účelem ochrany proti možnému šíření nákazy a stanoví způsob provedení těchto opatření, zejména:

- 1) je-li to technicky možné, nařídí uzávěru objektu, kde vzniklo podezření na nákazu (sádky, líhně, intenzivní recirkulační chovy atd.),
- 2) odebere vzorky k laboratornímu vyšetření a provede další úkony za účelem potvrzení nebo vyloučení přítomnosti nákazy v hospodářství,
- 3) nařídí zákaz vstupu nepovolaným osobám,
- 4) sleduje nadále toto hospodářství a zahájí epizootologické šetření zaměřené na zjištění možného původu a zdroje nákazy, doby jejího výskytu v hospodářství, přítomnosti a rozmístění jejích původců a vektorů a určí další hospodářství, jejichž poloha, uspořádání nebo

styky s hospodářstvím, v němž vzniklo podezření z výskytu nebezpečné nákazy, odůvodňují podezření z výskytu této nákazy i v těchto hospodářstvích (dále jen „kontaktní hospodářství“),

- 5) nařídí chovateli
 - a) držení ryb vnímavých na příslušnou nákazu v nádržích odděleně od ryb podezřelých (pokud je to technicky možné) a zakáže přemístování ryb, jiker a mlíčí z hospodářství nebo do hospodářství,
 - b) pořízení soupisu ryb vnímavých na příslušnou nákazu, která jsou v hospodářství, a vedení a průběžné aktualizování evidence ryb živých, uhynulých, nakažených nebo podezřelých,
 - c) neškodnou likvidaci uhynulých ryb v souladu s platnou legislativou,
- 6) stanoví způsob a pravidla použití vhodných dezinfekčních prostředků
- 7) poučí chovatele zejména o povaze nákazy a možnostech jejího šíření a o dalším zacházení s podezřelými rybami, pohlavními produkty, předměty, materiály a látkami, které mohou být nositeli původců nákaz.

Chovatel je povinen podrobit se opatřením nařízeným KVS a poskytovat k jejich provedení nezbytnou součinnost.

KVS ukončí mimořádná veterinární opatření, jestliže podezření z výskytu nebezpečné nákazy bylo vyloučeno; o ukončení těchto opatření vyhotoví KVS záznam, jehož opis předá chovateli, kterého se opatření týkala.

2.8. Postup KVS SVS při potvrzení výskytu nebezpečné nákazy ryb

Postup KVS při potvrzení výskytu nebezpečné nákazy ryb vychází z **§ 15 veterinárního zákona a § 27 a § 28 vyhlášky 290/2008 Sb.**

Byl-li laboratorním vyšetřením vzorku ryb potvrzen výskyt nebezpečné nákazy nebo hrozí-li nebezpečí jejího šíření, nařídí příslušný orgán odpovídající mimořádná veterinární opatření ke zdolání této nákazy a ochraně před jejím šířením (dále jen „ochranná a zdolávací opatření“). Tato opatření zahrnují několik dílčích aktivit a nařízení:

- 1) Vymezení **ohniska nákazy** a jeho **výstražné označení**. Za ohnisko nákazy se vyhláší epizootologická jednotka s jednoznačným nakažovým statutem ve vztahu k naze (nemusí zahrnovat jedno celé hospodářství, ale např. pouze sádky, jeden rybník nebo celou soustavu rybníků).

PREVENCE VZNIKU KOI HERPESVIRÓZY V CHOVECH KAPRA A KOI KAPRA

Označení se provádí výstražnou tabulkou „Nebezpečná nákaza – vstup zakázán“ na všech místech hospodářství, která jsou uznána za vhodná vzhledem k typu chovu.

- 2) Zřízení **ochranného pásma** a **pásma dozoru**, v případě potřeby i dalšího pásma s omezením. Do uzavřeného (ochranného) pásma se především zahrnou hospodářství, u kterých není vyloučeno možné šíření nákazy vodou z ohniska vzhledem k chovanému druhu ryb. Dále se zohlední, zda jsou tato hospodářství v dalším kontaktu se zasaženým hospodářstvím (společní zaměstnanci, vybavení, pomůcky, vozidla, apod.).
- 3) Stanovení pravidel pro **nakládání s rybami** v ohnisku a v uzavřeném pásmu:
 - a) ryby v ohnisku vykazující klinické příznaky nákazy musí být bez zbytečného odkladu utraceny a neškodně zpracovány v asanačním podniku,
 - b) ryby tržní hmotnosti v ohnisku bez klinických příznaků mohou být sloveny, na místě usmrceny a prodány konečnému spotřebiteli nebo zpracovány v oprávněném zpracovatelském zařízení.
 - c) ryby nesmí být přemísťovány z a do ohniska. Z uzavřeného pásma smí být přemísťovány z vnímavých druhů ryb pouze klinicky zdravé ryby se souhlasem KVS SVS a to výhradně k přímému zpracování ve schválených zpracovatelských zařízeních ryb.
- 4) Provedení **mechanické očisty a dezinfekce** pomůcek, zařízení, dopravních prostředků a případně nádrží v ohnisku nákazy (sádky, líhně apod.). Pokud to je možné, provede se vypuštění rybníků a následná dezinfekce vymrznutím nebo vymrznutím.
- 5) Na základě epizootologického šetření a analýzy rizika stanovení **pozorovací doby** v uzavřeném pásmu. V pozorovací době probíhá v uzavřeném pásmu aktivní dozor v následujícím rozsahu:
 - a) kontrola zdraví ryb, především posouzení výskytu klinických příznaků dané nákazy, a to během pozorovací doby na každém hospodářství v uzavřeném pásmu minimálně dvakrát v období příznivém pro klinickou manifestaci dané nákazy.
 - b) během pozorovací doby nemohou opustit uzavřené pásmo ryby určené pro další chov mimo uzavřené pásmo bez souhlasu KVS SVS.

Po splnění podmínek, stanovených rozhodnutím o mimořádných veterinárních opatřeních, je ohnisko zrušeno, není-li stanovena pozorovací doba, je zrušeno i uzavřené pásmo. V případě stanovení pozorovací doby je po splnění podmínek stanovených rozhodnutím o mimořádných veterinárních opatřeních zrušeno jen ohnisko, uzavřené pásmo je odvoláno až po uplynutí pozorovací doby.

2.9. Preventivní opatření – ochrana chovů

Základním předpokladem prevence propuknutí koi herpesvirózy je **zabránění zavlečení původce do chovu**. Z výše uvedených charakteristik CyHV-3 a onemocnění, které vyvolává, vyplývá, že **i klinicky naprosto zdravé ryby mohou být zdrojem infekce**. Buď jsou to ryby v inkubační době, nebo ryby, které infekci prodělaly a v jejich tkáních je přítomen latentní virus, k jehož reaktivaci a vylučování může dojít po vystavení ryb stresoru (změna teploty, manipulační a transportní stres,...). Zvláště nebezpečné jsou z tohoto pohledu „nevnímavé“ druhy, o jejichž roli v šíření infekce CyHV-3 zatím není mnoho známo.

Kromě živých ryb mohou být zdrojem infekce také jiní vodní živočichové, jako je například plankton, bentos, měkkýši a koryši.

Virus si do určité míry zachovává svou virulenci i ve vodě bez hostitelů. V přírodních podmínkách je pravděpodobně během tří dnů likvidován bakteriemi, ale na tuto informaci nelze stoprocentně spoléhat. Onemocnění se může šířit vodou po proudu, nezodpovědnou manipulací při vypouštění vody z transportních beden atd. Prokázáný je také přenos infekce rybolovným nářadím a spekuluje se i o možnosti přenosu onemocnění rybožravými predátory.

Všechny tyto rizikové faktory je třeba mít na zřeteli a dbát důsledně na ochranu chovů před možným zavlečením nákazy.

2.9.1. Karanténa

Každý chovatel ryb by měl mít k dispozici karanténní nádrž. Tato nádrž by měla mít vlastní zdroj vody a odtok mimo ostatní nádrže hospodářství. Na odtoku by měla být umístěna dezinfekční jednotka (UV lampa, ozonizátor, chlorace,...). Velikost nádrže závisí na velikosti hospodářství a předpokládaných nákupech ryb. Do karantény by měly být umísťovány všechny nově nakoupené ryby. Zvláště důležitá je karanténa při dovozech ryb ze zahraničí. Během karantény by měly být kaprovité ryby pokud možno drženy v permissivní teplotě, to znamená kolem 24 °C. Délka trvání by měla být minimálně 3 týdny. Během této

PREVENCE VZNIKU KOI HERPESVIRÓZY V CHOVECH KAPRA A KOI KAPRA

doby musí být ryby pečlivě sledovány a zaznamenávány jakékoliv odchylky od fyziologického stavu. Pro vyloučení možné latentní infekce by měl být během karantény odebrán vzorek ryb pro vyšetření na KHV. Nad průběhem karantény by měl mít dohled veterinární lékař, který rozhodne o ukončení karantény.

2.9.2. Dezinfekce

Pro snížení pravděpodobnosti zavlečení viru do rybochovných zařízení je vhodné použití dezinfekčních prostředků.

UV záření v dávce $4,0 \times 10^3 \mu\text{Ws.cm}^{-2}$ virus spolehlivě likviduje, stejně jako působení **teploty** vyšší než $50 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 1 minuty.

Pomůcky, náradí a nádrže lze dezinfikovat roztoky dezinfekčních přípravků. Účinné je např. dvacetiminutové působení **jodoforu** v koncentraci 200 mg.l^{-1} , **benzalkonium chloridu** v koncentraci 60 mg.l^{-1} , **30% etylalkoholu** a **preparátů na bázi chloru** v koncentraci 3 mg.l^{-1} . Obecně lze říci, že KHV nevykazuje vyšší odolnost vůči dezinfekčním látkám než jiné viry, a proto je možno používat i další virucidní přípravky v koncentracích a délkách expozice předepsaných výrobcem.

2.9.3. Vhodný výběr obsádky

Hned na samém začátku výzkumu zaměřeného na KHV byla v Izraeli testována odolnost různých plemen a meziplenných hybridů kapra vůči onemocnění. Pokusným infekcím byla vystavena plemena Dor-70 (plemeno vyšlechtěné v Izraeli), Našice (plemeno pocházející z bývalé Jugoslávie), Amurský sazan (*Cyprinus carpio haematopterus*) a jejich vzájemní kříženci. Jednoznačně nejvyšší přežití měli kříženci domestikovaných plemen se sazanem (Shapira a kol., 2005).

V České republice bylo do testování odolnosti vůči KHV zařazeno celkem 16 skupin ryb, mezi něž byla zahrnuta plemena kapra obecného a jejich kříženci, kteří jsou využíváni v českém produkčním rybařství, a také Amurský sazan a koi kapr (Piačková a kol., 2013). Jednoznačně nejvyšší přežití při experimentální infekci KHV bylo zaznamenáno u sazana (97–100 %), nejnižší očekávaně u koi kapra (0–20 %). Mezi těmito dvěma skupinami bylo rozptýleno zbývajících 14 plemen a kříženců. Téměř všechna plemena a kříženci s větším či menším podílem sazana vykazovali přežití nad 70 %. Nejlepších výsledků dosáhl **Ropšínský šupinatý kapr** (95 %) a z lysých nově vyšlechtěné plemeno **Amurský lysec** a jeho kříženci (70–87 %). Výběr plemen, respektive kříženců, s podílem krve amurského sazana, je výhledově jednou z možností ochrany chovů kapra před propuknutím koi herpesvirózy.

2.9.4. Vakcinace

Velmi brzy po identifikaci CyHV-3 jako původce nebezpečného onemocnění kaprů a koi kaprů byl vyvinut originální protokol přirozené imunizace kaprů (Ronen a kol., 2003). Využívá skutečnosti, že CyHV-3 je schopen vyvolat fatální infekce pouze při teplotách 18–28 °C. Zdravý plůdek kapra je vystaven působení viru třídní kohabitací s nemocnými rybami v permissivní teplotě (22–23 °C). Poté jsou ryby převedeny do teploty 30 °C a více, kde jsou chovány 25–30 dní. Během této doby se v jejich organismu vytvoří protilátky, které je ochrání při příštím kontaktu s virem. Nevýhodou této metody je to, že sice 60 % obsádky přežije nové vzplanutí infekce, ale pravděpodobně se z nich stávají **latentní nosiči viru**, kteří představují potenciální zdroj infekce pro naivní kapry.

Lepším řešením se zdá být atenuovaná (oslabená) živá vakcína. Původně virulentní virus je oslaben mnohonásobnými pasážemi na buněčných liniích a poté působením UV záření (Perelberg a kol., 2005). Takovouto vakcínu produkují v Izraeli – je to vakcína KV3 firmy KoVax Ltd. Nevýhodou tohoto způsobu imunizace ryb je obtížné určování stupně atenuace (snížení virulence) a také možnost reverze viru k patogennímu. I oslabený virus si zachovává část své virulence a může být pro část vakcinovaných ryb (zvláště mladších věkových kategorií) letální (Perelberg a kol., 2008). Byl zaznamenán i případ nakažení naivních ryb od vakcinovaných (Preto a kol., 2013).

Kromě izraelské je známa také japonská lipozomová vakcína, která se aplikuje perorálně (Yasumoto a kol., 2006).

Žádná z výše uvedených ani jiná vakcína proti KHV není v České republice registrovaná k použití u ryb a tudíž by jejich použití bylo v rozporu s platnou legislativou.

3. ZÁVĚR

Koi herpesviróza je infekční onemocnění postihující především kapra a koi kapra, ale nelze vyloučit možnost onemocnění a vironosičství i jiných druhů ryb.

Největší riziko zavlečení této nákazy představují dovozy ryb ze zahraničí. Proto je v zájmu chovatelů při nákupu ryb ze zahraničí požadovat od prodávajícího osvědčení o vyšetření ryb na KHV s negativním výsledkem a prohlášení o tom, že ryby nebyly vakcinovány.

V případech podezření na výskyt koi herpesvirózy v chovu je chovatel povinen uvědomit o svém podezření Krajskou veterinární správu. Na našem území bylo zatím v porovnání se sousedními zeměmi zaznamenáno poměrně málo klinických případů onemocnění a jedním z možných vysvětlení tohoto stavu

PREVENCE VZNIKU KOI HERPESVIRÓZY V CHOVECH KAPRA A KOI KAPRA

je snaha chovatelů vyhnout se nepříjemnostem spojeným s ohlášením nákazy (a následnými předběžnými a zdolávacími opatřeními). V praxi to znamená, že se uhynulé ryby likvidují, aniž by o podezřelém úhynu byla uvědoměna Státní veterinární správa. Tento postup chovatelů nelze schvalovat a je pravděpodobné, že může přispět k rozšíření nebezpečné nákazy na našem území a ke snížení důvěryhodnosti českých ryb na mezinárodním trhu.

4. SROVNÁNÍ „NOVOSTI POSTUPŮ“

Metodika obsahuje souhrn dosavadních vědomostí o koi herpesviróze a jejím původci. Takto komplexní přehled v češtině, zahrnující popis klinických příznaků, patologických změn, diagnostických postupů, preventivních opatření a současně legislativy dosud chovatelé k dispozici neměli. Popis onemocnění a vlastností jejího původce je velmi důležitý pro pochopení závažnosti dodržování zásad a opatření směřujících k zabránění zavlečení nákazy do našich chovů ryb.

5. POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY

Metodika je určena pro chovatele ryb a pro praktické veterinární lékaře působící v chovech ryb. Slouží k informování osob nakládajících s rybami o možném riziku vyplývajícím z nedodržování principů ochrany chovů před zavlečením nákazy.

6. EKONOMICKÉ ASPEKTY

Při dodržování zásad naznačených v metodice je možné zabránit ztrátám v důsledku úhynu ryb na koi herpesvirózu a následné nucené likvidace celé obsádky. Za předpokladu, že s využitím informací obsažených v metodice bude zabráněno ztrátě 5% roční produkce kapra (tj. cca 850 t), znamená to při průměrné ceně 50 Kč.kg⁻¹ úsporu 42 500 000 Kč. A to je zahrnuta jen tržní ryba a nikoliv plůdek a násada.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Adamek, M., Syakuri, H., Harris, S., Rakus, K., Brogden, G., Matras, M., Irnazarow, I., Steinhagen, D., 2013. Cyprinid herpesvirus 3 infection disrupts the skin barrier of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Veterinary Microbiology* 162: 456–470.
- Bercovier, H., Fishman, Y., Nahary, R., Sinai, S., Zlotkin, A., Eynigor, M., Gilad, O., Eldar, A., Hedrick, R.P. 2005. Cloning of the koi herpesvirus (KHV) gene encoding thymidinekinase and its use for a highly sensitive PCR based diagnosis. *BMC Microbiology* 5: 13.
- Bergmann, S.M., Kempster, J., Sadowski, J., Fichtner, D., 2006. First detection, confirmation and isolation of koi herpesvirus (KHV) in cultured common carp (*Cyprinus carpio* L.) in Poland. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists* 26: 97–104.
- Bergmann S.M., Schütze H., Fischer U., Fichtner D., Riechardt M., Meyer K., Schrudde D., Kempster J., 2009. Detection KHV genome in apparently health fish. *Bulletin of European Fish Pathologists* 29: 145–152.
- Bergmann, S.M., Sadowski, J., Kielpinski, M., Bartolomiejczyk, M., Fichtner, D., Riebe, R., Lenk, M., Kempster, J., 2010a. Susceptibility of koi x crucian carp and koi x goldfish hybrids to koi herpesvirus (KHV) and the development of KHV disease (KHVD). *Journal of Fish Diseases* 33: 267–272.
- Bergmann, S.M., Lutze, P., Schütze, H., Fischer, U., Dauber, M., Fichtner, D., Kempster, J., 2010b. Goldfish (*Carassius auratus auratus*) is a susceptible species for koi herpesvirus (KHV) but not for KHV disease (KHVD). *Bulletin of European Fish Pathologists* 30: 74–84.
- Costes, B., Raj, V.S., Michel, B., Fournier, G., Thirion, M., Gillet, L., Mast, J., Liefbrig, F., Bremont, M., Vanderplasschen, A., 2009. The Major Portal of Entry of Koi Herpesvirus in *Cyprinus carpio* Is the Skin. *Journal of Virology* 83: 2819–2830.
- Dishon, A., Perelberg, A., Bishara-Shieban, J., Ilouze, M., Davidovich, M., Werker, S., Kotler, M., 2005. Detection of carp interstitial nephritis and gill necrosis virus in fish droppings. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 7285–7291.
- Dishon, A., Davidovich, M., Ilouze, M., Kotler, M., 2007. Persistence of cyprinid herpesvirus 3 in infected cultured carp cells. *Journal of Virology* 81: 4828–4836.
- Eide, K., Miller-Morgan, T., Heidel, J., Bildfell, R., Jin, L., 2011a. Results of total DNA measurement in koi tissue by Koi Herpesvirus real-time PCR. *Journal of Virological Methods* 172: 81–84.
- Eide, K., Miller-Morgan, T., Heidel, J.R., Kent, M.L., Bildfell, R.J., LaPatra, S., Watson, G., Jin, L., 2011b. Investigation of koi herpesvirus latency in koi. *Journal of Virology* 85: 4954–4962.

PREVENČE VZNIKU KOI HERPESVIRÓZY V CHOVECH KAPRA A KOI KAPRA

- El-Matbouli, M., Soliman, H., 2011. Transmission of Cyprinid herpesvirus-3 (CyHV-3) from goldfish to naive common carp by cohabitation. *Research in Veterinary Science* 90: 536–539.
- Engelsma, M.Y., Haenen, O.L.M., 2005. KHVD, Diagnosis, Control, Research and Future in the Netherlands and Europe. *Bulletin of Fisheries Research Agency (Suppl. 2)*: 13–14.
- Fabian, M., Baumer, A., Steinhagen, D., 2013. Do wild fish species contribute to the transmission of koi herpesvirus to carp in hatchery ponds? *Journal of Fish Diseases* 36: 505–514.
- Fournier, G., Boutier, M., Stalin Raj, V., Mast, J., Parmentier, E., Vanderwalle, P., Peeters, D., Lieffrig, F., Farnir, F., Gillet, L., Vanderplasschen, A., 2012. Feeding *Cyprinus carpio* with infectious materials mediates cyprinid herpesvirus 3 entry through infection of pharyngeal periodontal mucosa. *Veterinary Research* 43: 6.
- Gerba, C.P., Gramos, D.M., Nwachuku, N., 2002. Comparative inactivations of enteroviruses and adenovirus 2 by UV light. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 5167–5169.
- Gilad, O., Yun, S., Andree, K.B., Adkison, M.A., Zlotkin, A., Bercovier, H., Eldar, A., Hedrick, R., 2002. Initial Characteristics of Koi Herpesvirus and Development of a Polymerase Chain Reaction Assay to Detect the Virus in Koi, *Cyprinus carpio* koi. *Diseases of Aquatic Organisms* 48: 101–108.
- Gilad, O., Yun, S., Adkison, M.A., Way, K., Willis, N.H., Bercovier, H., Hedrick, R.P., 2003. Molecular comparison of isolates of an emerging fish pathogen, koi herpesvirus, and the effect of water temperature on mortality of experimentally infected koi. *Journal of General Virology* 84: 2661–2667.
- Gilad, O., Yun, S., Zagmutt-Vergara, F.J., Leutenegger, C.M., Bercovier, H., Hedrick, R.P., 2004. Concentrations of a koi herpesvirus (KHV) in tissues of experimentally infected *Cyprinus carpio* koi as assessed by Real-time TaqMan PCR. *Diseases of Aquatic Organisms* 60: 179–187.
- Gray, W.L., Mullis, L., LaPatra, S.E., Groff, J.M., Goodwin, A., 2002. Detection of koi herpesvirus DNA in tissues of infected fish. *Journal of Fish Diseases* 25: 171–178.
- Haenen, O.L.M., Way, K., Bergmann, S.M., Ariel, E., 2004. The emergence of koi herpesvirus and its significance to European aquaculture. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists* 24: 293–306.
- Hedrick, R.P., Gilad O., Yun S., Spangenberg J.V., 2000. A Herpesvirus Associated with Mass Mortality of Juvenile and Adult Koi, a Strain of Common Carp. *Journal of Aquatic Animal Health* 12: 44–57.

- Hedrick, R.P., Waltzek, T.B., McDowell, T.S., 2006. Susceptibility of Koi Carp, Common Carp, Goldfish, and Goldfish × Common Carp Hybrids to Cyprinid Herpesvirus-2 and Herpesvirus-3. *Journal of Aquatic Animal Health* 18: 26–34.
- Ito, T., Sano, M., Kurita, J., Yuasa, K., Iida, T., 2007. Carp Larvae Are Not Susceptible to Koi Herpesvirus. *Fish Pathology* 42: 107–109.
- Kasai, H., Muto, Y., Yoshimizu, M., 2005. Virucidal effect of ultraviolet, heat treatment and disinfectants against koi herpesvirus (KHV). *Fish Pathology* 40: 137–138.
- Kempton, J., Bergmann, S. M., 2007. Detection of koi herpesvirus (KHV) genome in wild and farmed fish from Northern Poland. *Aquaculture* 272: S275.
- Kempton, J., Kielpinski, M., Panicz, R., Sadowski, J., Myslowski, B., Bergmann, S.M., 2012. Horizontal transmission of koi herpes virus (KHV) from potential vector species to common carp. *Bulletin of European Fish Pathologists* 32: 212–219.
- Kempton, J., Sadowski, J., Schütze, H., Fischer, U., Dauber, M., Fichtner, D., Panicz, R., Bergmann, S.M., 2009. Koi herpesvirus: do acipenserid restitution programs pose a threat to carp farms in the disease-free zones? *Acta Ichthyologica Et Piscatoria* 39: 119–126.
- Matsui, K., Honjo, M., Kohmatsu, Y., Uchii, K., Yonekura, R., Kawabata, Z., 2008. Detection and significance of koi herpesvirus (KHV) in freshwater environments. *Freshwater Biology* 53: 1262–1272.
- Miyazaki, T., Kuzuya, Y., Yasumoto, S., Yasuda, M., Kobayashi, T., 2008. Histopathological and ultrastructural features of koi herpesvirus (KHV) – infected carp *Cyprinus carpio*, and the morphology and morphogenesis of KHV. *Diseases of Aquatic Organisms* 80: 1–11.
- Novotný, L., Pokorová, D., Reschová, S., Vicenová, M., Axmann, R., Veselý, T., Mikler, J.R., 2010. First clinically apparent koi herpesvirus infection in the Czech Republic. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists* 30 (3): 85–91.
- Oh, M.J., Jung, S.J., Choi, T.J., Kim, H.R., Rajendran, K.V., Kim, Y.J., Park, M.A., Chun, S.K., 2001. A Viral Disease Occurring in Cultured Carp *Cyprinus carpio* in Korea. *Fish Pathology* 36: 147–151.
- Perelberg, A., Smirnov, M., Hutoran, M., Diamant, A., Bejerano, I., Kotler, M., 2003. Epidemiological Description of a New Viral Disease Afflicting Cultured *Cyprinus carpio* in Israel. *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgah* 55: 5–12.
- Perelberg, A., Ronen, A., Hutoran, M., Smith, Y., Kotler, M., 2005. Protection of cultured *Cyprinus carpio* against a lethal viral disease by an attenuated virus vaccine. *Vaccine* 23: 3396–3403.

PREVENCE VZNIKU KOI HERPESVIRÓZY V CHOVECH KAPRA A KOI KAPRA

- Perelberg, A., Ilouze, M., Kotler, M., Steinetz, M., 2008. Antibody response and resistance of *Cyprinus carpio* immunized with cyprinid herpesvirus 3 (CyHV-3). *Vaccine* 23: 3396–3403.
- Piačková, V., Flajšhans, M., Pokorová, D., Reschová, S., Gela, D., Čížek, A., Veselý, T., 2013. Sensitivity of common carp, *Cyprinus carpio* L., strains and crossbreeds reared in the Czech Republic to infection by Cyprinid herpesvirus 3 (CyHV-3; KHV). *Journal of Fish Diseases* 36: 75–80.
- Pikarsky, E., Ronen, A., Abramowitz, J., Levavi-Sivan, B., Hutoran, M., Shapira, Y., Steinetz, M., Perelberg, A., Soffer, D., Kotler, M., 2004. Pathogenesis of acute viral disease induced in fish by carp interstitial nephritis and gill necrosis virus. *Journal of Virology* 78: 9544–9551.
- Pikulkaew, S., Meeyam, T., Banlunara, W., 2009. The Outbreak of Koi Herpesvirus (KHV) in Koi (*Cyprinus carpio koi*) from Chiang Mai Province, Thailand. *Thai Journal of Veterinary Medicine* 39: 53–58.
- Pokorová, D., Piačková, V., Čížek, A., Reschová, S., Hůlová, J., Vicenová, M., Veselý, T., 2007. Test for the presence of koi herpesvirus (KHV) in common carp (*Cyprinus carpio carpio*) and koi carp (*Cyprinus carpio koi*) in the Czech Republic. *Veterinarni Medicina* 52: 562–568.
- Pokorová, D., Veselý, T., Piačková, V., Reschová, S., Hůlová, J., 2005. Current knowledge on koi herpesvirus (KHV): a review. *Veterinarni Medicina* 50: 139–147.
- Pokorová, D., Reschová, S., Piačková, V., Veselý, T., 2013. Koi herpesvirové onemocnění kapra a jeho prevalence v ČR. *Veterinářství* 12: 938–941.
- Preto, T., Manfrin, A., Ceolin, C., Dalla Pozza, M., Quartesan, R., Abbadi, M., Panzarin, V., Toffan, A., 2013. First isolation of KHV in Italy from imported koi (*Cyprinus carpio koi*). *Abstract Book of the 16th International Conference of Diseases of Fish and Shellfish*, Tampere, Finland, September 2–6, 2013, P-036: 190.
- Radosavljević, V., Jeremić, S., Ćirković, M., Lako, B., Milićević, V., Potkonjak, A., Nikolin, V., 2012. Common fish species in polyculture with carp as cyprinid herpesvirus 3 carriers. *Acta Veterinaria (Beograd)* 5–6: 675–681.
- Rakus, K., Ouyang, P., Boutier, M., Ronsmans, M., Reschner, A., Vancsok, C., Jazowiecka-Rakus, J., Vanderplasschen, A., 2013. Cyprinid herpesvirus 3: an interesting virus for applied and fundamental research. *Veterinary Research* 44: 85.
- Rakus, K., Ronsmans, M., Forlenza, M., Boutier, M., Jazowiecka-Rakus, J., Penaranda, M., Vancsok, C., Farnir, F., Becco, C., Wiegertjes, G., Vanderplasschen, A., 2014. Common carp (*Cyprinus carpio carpio*) express salutary behavioral fever in response to cyprinid herpesvirus 3 infection. *Abstract Book of 9th International Symposium on Viruses of Lower Vertebrates*, Malaga 2014, Spain: 141.

- Ronen, A., Perelberg, A., Abramowitz, J., Hutoran, M., Tinman, S., Bejerano, I., Steinitz, M., Kotler, M., 2003. Efficient vaccine against the virus causing a lethal disease in cultured *Cyprinus carpio*. *Vaccine* 21: 4677–4684.
- Ronsmans, M., Boutier, M., Rakus, K., Farnir, F., Desmecht, D., Ectors, F., Vandecan, M., Lieffrig, F., Melard, C., Vanderplasschen, A., 2014. Sensitivity and permissivity of *Cyprinus carpio* to cyprinid herpesvirus 3 during the early stages of its development: importance of the epidermal mucus as an innate immune barrier. *Veterinary Research* 45: 100.
- Sano, M., Ito, T., Kurita, J., Yanai, T., Watanabe, N., Miwa, S., Iida, T., 2004. First Detection of Koi Herpesvirus in Cultured Common Carp *Cyprinus carpio* in Japan. *Fish Pathology* 39: 165–167.
- Shimizu, T., Yoshida, N., Kasai, H., Yoshimizu, M., 2006. Survival of Koi Herpesvirus (KHV) in Environmental Water. *Fish Pathology* 41: 153–157.
- Shapira, Y., Magen, Y., Zak, T., Kotler, M., Hulata, G., Levavi-Sivan, B., 2005. Differential resistance to koi herpesvirus (KHV)/carp interstitial nephritis and gill necrosis virus (CNGV) among common carp (*Cyprinus carpio* L.) strains and crossbreds. *Aquaculture* 245: 1–11.
- St-Hilaire, S., Beevers, N., Way, K., Le Deuff, R.M., Martin, P., Joiner, C., 2005. Reactivation of koi herpesvirus infection in common carp *Cyprinus carpio*. *Diseases of Aquatic Organisms* 67:15–23.
- Subasinghe, R., 2003. Koi Herpes Virus (KHV): an Asian problem? *FAO Aquaculture Newsletter* 30: 15–16.
- Tu, C., Weng, M.C., Shiau, J.R., Lin, S.Y., 2004. Detection of Koi Herpesvirus in Koi in Taiwan. *Fish Pathology* 39: 109–110.
- Uchii, K., Matsui, K., Iida, T., Kawabata, Z., 2009. Distribution of the introduced cyprinid herpesvirus 3 in a wild population of common carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Diseases* 32: 857–864.
- Walster, C.I., 1999. Clinical observations of severe mortalities in koi carp, *Cyprinus carpio*, with gill disease. *Fish Veterinary Journal* 3: 54–58.
- Xu, J.R., Bently, J., Beck, L., Reed, A., Miller-Morgan, T., Heidel, J.R., Kent, M.L., Rockey, D.D., Jin, L., 2013. Analysis of koi herpesvirus latency in wild common carp and ornamental koi in Oregon, USA. *Journal of Virological Methods* 187: 372–379.
- Yasumoto, S., Kuzuya, Y., Yasuda, M., Yoshimura, T., Miyazaki, T., 2006. Oral immunization of common carp with a liposome vaccine fusing koi herpesvirus antigen. *Fish Pathology* 41: 141–145.
- Yuasa, K., Sano, M., 2009. Koi herpesvirus: status of outbreaks, diagnosis, surveillance and research. *Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgah* 61: 169–179.

PREVENCE VZNIKU KOI HERPESVIRÓZY V CHOVECH KAPRA A KOI KAPRA

Yuasa, K., Ito, T., Sano, M., 2008. Effect of Water Temperature on Mortality and Virus Shedding in Carp Experimentally Infected with Koi Herpesvirus. *Fish Pathology* 43: 83–85.

8. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

- Piačková, V., Veselý, T., Pokorová, D., 2005. Potenciální ohrožení našich chovů kapra koi herpesvirem (KHV). *Veterinářství* 55: 564–566. (dedikace: 1B44016)
- Piačková, V., Pokorová, D., Reschová, S., Veselý, T., 2008. KHV – přehled publikovaných výsledků výzkumu. *Bulletin VÚRH Vodňany* 44: 90–94. (dedikace: QH71057, MSM6007665809, MZE0002716201)
- Piačková, V., Flajšhans, M., Pokorová, D., Reschová, S., Gela, D., Čížek, A., Veselý, T., 2013. Sensitivity of common carp, *Cyprinus carpio* L., strains and crossbreeds reared in the Czech Republic to infection by Cyprinid herpesvirus 3 (CyHV-3; KHV). *Journal of Fish Diseases* 36: 75–80. (dedikace: QH71057, MZE0002716202; GAJU 047/2010/Z; CENAKVA CZ.1.05/2.1.00/01.0024)
- Piačková, V., Pokorová, D., Čížek, A., Flajšhans, M., Pospíchal, A., Veselý, T., 2014. Vnímavost vybraných českých plemen kapra ke koi herpesviróze. *Veterinářství* 64: 57–60. (dedikace: QJ1210237, MZE0002716202, CENAKVA CZ.1.05/2.1.00/01.0024)
- Pokorová, D., Veselý, T., Piačková, V., Reschová, S., Hůlová, J., 2005. Current knowledge on koi herpesvirus (KHV): a review. *Veterinari Medicina* 50: 139–147. (dedikace: 1B44016)
- Pokorová, D., Piačková, V., Čížek, A., Reschová, S., Hůlová, J., Vicenová, M., Veselý, T., 2007. Test for the presence of koi herpesvirus (KHV) in common carp (*Cyprinus carpio carpio*) and koi carp (*Cyprinus carpio koi*) in the Czech Republic. *Veterinari Medicina* 52: 562–568. (dedikace: MZE1B44016; MZE0002716201)
- Pokorová, D., Reschová, S., Hůlová, J., Vicenová, M., Veselý, T., Piačková, V., 2010. Detection of Cyprinid Herpesvirus-3 in Field Samples of Common and Koi Carp by Various Single-Round and Nested PCR Methods. *Journal of the World Aquaculture Society* 41: 773–779. (dedikace: QH71057; MZE0002716201)
- Pokorová, D., Reschová, S., Piačková, V., Veselý, T., 2013. Koi herpesviróvé onemocnění kapra a jeho prevalence v ČR. *Veterinářství* 63: 938–941. (dedikace: QJ1210237, MZE0002716202, CENAKVA CZ.1.05/2.1.00/01.0024)
- Veselý, T., Piačková, V., Pokorová, D., 2005. Koi herpesvirus (KHV) – rozšíření ve světě a možnosti diagnostiky. *Bulletin VÚRH Vodňany* 41: 47–52. (dedikace: 1B44016)

Externí odborný oponent

doc. MVDr. Miroslava Palíková, Ph.D.

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny
a ekologie, Ústav ekologie a chorob zvířete, ryb a včel, Palackého 1/3, 612 42 Brno

Interní odborný oponent

prof. MVDr. Zdeňka Svobodová, DrSc.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod,
Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz a Výzkumný
ústav rybářský a hydrobiologický, Zátíší 728/II, 389 25 Vodňany

Oponent za státní správu

MVDr. Marie Vágnerová

Státní veterinární správa

Odbor ochrany zdraví a pohody zvířat

Oddělení ochrany zdraví zvířat, Slezská 7 – 120 56, Praha 2

Osvědčení o uplatnění certifikované metodice č. SVS/2015/012280

ze dne 5. 2. 2015

vydala Ústřední veterinární správa Státní veterinární správy,
Slezská 100/7, 120 56 Praha 2

Adresa autorského kolektivu

MVDr. Veronika Piačková, Ph.D., (piackova@frov.jcu.cz) – 40 %

MVDr. Eliška Zusková, Ph.D., (zuskova@frov.jcu.cz) – 5 %

Mgr. Aleš Pospíchal (pospia00@frov.jcu.cz) – 5 %

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod,
Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz a Výzkumný
ústav rybářský a hydrobiologický, Zátíší 728/II, 389 25 Vodňany, www.frov.jcu.cz

Ing. Tomáš Veselý, CSc., (vesely@vri.cz) – 20 %

MVDr. Dagmar Pokorová, (pokorova@vri.cz) – 20 %

MVDr. Stanislava Reschová (reschova@vri.cz) – 5 %

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 296/70, 621 00 Brno

prof. MVDr. Alois Čížek, CSc., (cizeka@vfj.cz) – 5 %

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Fakulta veterinárního lékařství, Ústav
infekčních chorob a mikrobiologie, Palackého 1-3, 612 42 Brno, www.vfj.cz

V edici Metodik (technologická řada) vydala Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Vodňany, www.frov.jcu.cz;
odborný editor: MVDr. Jitka Kolářová, Ing. Antonín Kouba, Ph.D.,
redakce: Ing. Blanka Vykusová, CSc., Zuzana Dvořáková;
náklad: 200 ks, 1. vydání; metodika uplatněna v roce 2015; vytištěna v roce 2015;
grafický design a technická realizace: Profi-tisk group, s.r.o.



Fakulta rybnářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

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



ISBN 978-80-7514-030-2

Vydání a tisk metodiky je uskutečněno za finanční podpory projektu
OP Rybnářství 2007–2013:
Metodiky II (2014–2015), reg. č. CZ.1.25/3.1.00/13.00482



EVROPSKÁ UNIE
EVROPSKÝ RYBNÁŘSKÝ FOND
„Investování do udržitelného rybolovu“