

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Olga Kutišová**
Osobní číslo: **C15329**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Název tématu: **Africký mor prasat**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

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

1. Vypracujte literární rešerši. Charakterizujte toto vysoce infekční virové onemocnění. Věnujte se detekčním metodám a průkazu agens v biologickém materiálu.
2. Popište možnosti terapie a epidemiologická opatření.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Odborné články z databáze WoS, hlášení Veterinární zprávy ČR.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D.

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. února 2018**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2018

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2018

Olga Kutišová

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Africký mor prasat

Olga Kutišová

Bakalářská práce

2018

Prohlašuji:

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

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

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

V Pardubicích dne.....

Olga Kutišová

Poděkování

Dovoluji si poděkovat svému vedoucímu bakalářské práce paní doc. Ing. Marcele Pejchalové Ph.D. za cenné rady, odborné připomínky a za vstřícný přístup při vedení mé bakalářské práce.

ANOTACE

Cílem bakalářské práce na téma Africký mor prasat je charakterizovat toto vysoce infekční virové onemocnění. Jsou zde uvedeny různé detekční metody na průkaz virového onemocnění. V závěru práce je popsáno rozšíření Afrického moru prasat v České republice.

KLÍČOVÁ SLOVA

Africký mor prasat, Asfivirus, Ornithodoros moubata, diagnostika, ELISA, PCR

TITLE

African swine fever

ANNOTATION

Aim of the bachelor thesis entitled African swine fever is to characterize this highly infectious viral disease. Various detection methods for detecting viral disease are provided. At the end of the thesis is described the spread of African swine fever in the Czech Republic.

KEYWORDS

African swine fever, Asfivirus, Ornithodoros moubata, diagnostics, ELISA, PCR

Obsah

Seznam použitých zkratek	9
Seznam obrázků	10
Úvod	10
1. Vlastnosti viru	11
2. Zeměpisné rozšíření.....	13
3. Hostitelé a přenos moru	16
4. Klinické příznaky	19
5. Diagnostika.....	22
6. Léčba a preventivní opatření.....	29
6.1 Opatření v případech výskytu AMP v hospodářství.....	32
6.2 Opatření v případech výskytu AMP u divokých prasat.....	32
7. Africký mor prasat v České republice.....	33
7.1 Červen 2017.....	33
7.2 Červenec	34
7.3 Srpen.....	35
7.4 Září	36
7.5 Říjen	37
7.6 Listopad	37
7.7 Prosinec	37
7.8 Leden	38
7.9 Únor.....	38
7.10 Březen.....	39
7.11 Duben	39
7.12 Květen.....	39
7.13 Červen 2018.....	40
8. Závěr	41
9. Seznam použitých zdrojů	42

Seznam použitých zkratk

AMP – Africký mor prasat

KMP – Klasický mor prasat

PCR – Polymerázová řetězová reakce

FAR – Přímá fluorescenční metoda

ELISA – Enzyme- Linked ImmunoSorbent Assay

HAD – Hemadsorpční metoda

PRRS – Reprodukční a respirační syndrom prasat

ADNS – Animal disease notifikacation systém

IFT – Imunofluorescenční testy

CVET – Community Veterinary Emergency Team

KVS – Krajská veterinární správa

EU – Evropská unie

SVS – Státní veterinární správa

Seznam obrázků

Obr. 1: Asfarviridae- virion	12
Obr. 2: Mapa výskytu AMP u divokých prasat v Evropě ke dni 31. 12. 2017.....	14
Obr. 3: Mapa výskytu AMP u domácích prasat v Evropě ke dni 31. 12. 2017	15
Obr. 4: Ornithodoros moubata	18
Obr. 5: Krváceniny na kůži.....	21
Obr. 6: Schéma PCR.....	24
Obr. 7: Schéma detekce virové DNA pomocí biosenzoru.....	26
Obr. 8: Immunoblotting	28
Obr. 9: Metoda přenosu AMP ve východní Evropě	30
Obr. 10: Výsledky vyšetření uhynulých prasat ve Zlínském kraji ke dni 11. 6. 2018.....	40

Úvod

Africký mor prasat (AMP) je velmi nebezpečné a nakažlivé onemocnění domácích i divoce žijících prasat a to všech plemen i věkových kategorií. Je jedním z nejběžnějších nákaz u prasat. Onemocnění způsobuje virus, který vyvolává u postižených zvířat různé klinické příznaky. Nákaza vážně ovlivňuje obchod a socioekonomický dopad na zdroj obživy lidí.

Akutní forma onemocnění se projevuje vysokou horečkou, krvácením v játrech, slezině, na výstelce krevních cév, mízních uzlin a také vysokým počtem uhynulých zvířat. Zatím neexistují žádné vakcíny ani specifická léčba na tento mor. Pro člověka AMP nepředstavuje žádné zdravotní nebezpečí, protože se na něj ani nepřenáší. Je zapotřebí zajistit, aby oblasti prosté výskytu AMP zůstaly i nadále nezasázeny. Při výskytu musí být nastolena přísná karanténní opatření, opatření v oblasti biologické bezpečnosti a kontrola pohybu zvířat.

1. Vlastnosti viru

Virus, který prasata napadá, patří mezi obalené DNA viry a řadí se do rodu Asfivirus čeledi Asfarviridae. (Fakta o AMP, 2017)

Čeď Asfarviridae zahrnuje tento jediný virus. Viriony mají vnitřní jádro, vnitřní lipidovou membránu, ikosahedrální kapsid a vnější lipidovou obálku. (ICTV Virus Taxonomy Profile: Asfarviridae, 2018)

Jeho partikule s ikosahedrální strukturou mají průměrnou velikost 200nm a replikuje se v cytoplazmě infikovaných buněk. Genom viru obsahuje okolo 170 000-195 000 párů bází kódujících více než 125 proteinů. (African swine fever virus (ASFV) protection mediated by NH/P68 and NH/P68 recombinant live-attenuated viruses, 2018)

Je to jediný známý DNA vir, který je přenášen členovci. Kmeny viru se liší různou virulencí, ale různé sérotypy nemůžeme odlišit. (Infekční choroby zvířat II - Virové a prionové infekce, 2016)

Virus je vysoce odolný ve vnějším prostředí i v materiálech biologického původu jako například v trusu, krvi a tělesných tkáních. (Fakta o AMP, 2017)

V kontaminovaných výběžích zůstává infekční až jeden měsíc, v trusu při pokojové teplotě přežívá až 11 dnů a v krvi, která se uchovává při 4°C dokonce osmnáct měsíců. K nákaze proto velmi často dochází kvůli syrovým nebo nedostatečně tepelně upraveným výrobkům obsahujícím vepřové maso. (Fakta o AMP, 2017)

Virus už se může vylučovat exkremty či sekremty již 1-2 dny před klinickými příznaky, nejvíce v době septikémie. Septikémie je život ohrožující infekce, která se šíří v těle krevním oběhem. (AMP / Státní veterinární správa, 2016)

AMP je velmi pevný a odolný vůči širokému spektru různých fyzikálních a chemických faktorů. (African swine fever (ASF) and ticks. No risk of tick-mediated ASF spread in Poland and Baltic states, 2017)

Velmi stabilní je při pH prostředí v rozsahu 4-10 stupňů, v prostředí obsahujícím proteiny zůstává infekční tři dny při pH <3 a týden při pH 14. (Africký mor prasat - Státní veterinární ústav Jihlava, 2014)

Je velmi rezistentní vůči nízkým teplotám i vysušení, v chlazeném mase přežívají několik týdnů až měsíců, velmi odolný je i ve vlhkých výmětech. Nejen v mase, ale i v nakládaných nebo uzených masných výrobcích může přežít až několik měsíců. Například

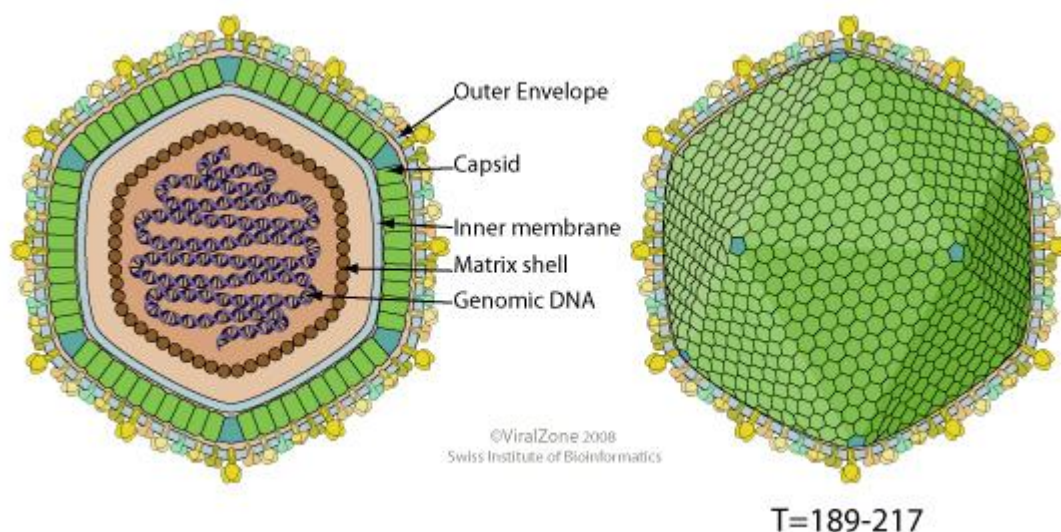
ve vepřovém mase, skladovaném při teplotě 4°C, zůstává infekční až 150 dní, 140 dnů v sušené šunce a v zmraženém mase až několik let. (Africký mor prasat, 2017)

Na rozdíl od nízkých teplot, při teplotě 56 °C je spolehlivě ničen za 70 minut, při 60 °C za pouhých 20 minut. Někdy se stane, že i při vysokých teplotách je odolný a může být pouze neaktivní. (African swine fever (ASF) and ticks. No risk of tick-mediated ASF spread in Poland and Baltic states, 2017)

V tepelně opracovaných výrobcích se doporučuje teplota 70 až 75 °C po dobu 30 minut pro bezpečnou inaktivaci. (Africký mor prasat - Státní veterinární ústav Jihlava, 2014)

V prostředí se virus může inaktivovat pomocí účinných dezinfekčních prostředků. (Fakta o AMP, 2017)

Vhodné jsou přípravky na bázi fenolu a jódu, chlornan sodný nebo kvartérní amoniové báze. Velmi citlivý je na činnidla rozpouštějící tuky jako éter a chloroform. (Africký mor prasat - Státní veterinární ústav Jihlava, 2014)



Obr. 1: Asfarviridae- virion

(převzato z https://viralzone.expasy.org/12?outline=all_by_species, staženo dne 5. 6. 2018)

2. Zeměpisné rozšíření

Africký mor prasat se dříve objevoval hlavně ve východní Africe na počátku 20. století jako choroba způsobující vysokou úmrtnost domácích prasat a jen občas se nákaza rozšířila na evropský a americký kontinent. Bylo zjištěno, že bradavice mohou být zdrojem infekce spolu s druhem měkkých klíšťat rodu *Ornithodoros*. Tento druh klíšťat žije v břečkách zvaných warthog a může být trvale infikován bez příznaků onemocnění. (African swine fever: A re-emerging viral disease threatening the global pig industry, 2018)

V posledních desetiletích mor propukl na Iberijském poloostrově a i v Evropě například v Belgii, Francii, Nizozemsku a Itálii. Všechna ohniska nákazy se kromě afrického kontinentu a dlouhodobého výskytu na Sardinii podařilo úspěšně zlikvidovat. (Fakta o AMP, 2017)

V letech 1995-2007 se mor šířil hlavně v afrických státech a objevil se na ostrovech Madagaskar a Mauritius. Nelze vyloučit, že tento nárůst AMP společně s globalizací, ekonomickou krizí a zkrmováním kontaminovaných živočišných odpadů prasaty mohl být hlavním důvodem opětovného zavlečení AMP na evropský kontinent a to v dubnu 2007. Nejdříve se objevil v Gruzii a odtud se šířil do Ruské federace, Arménie, Ázerbájdžánu, Ukrajiny, Běloruska, Estonska, Litvy, Lotyšska, Polska a v červnu 2017 propukl i v České republice. U nás se nikdy předtím nevyskytoval. (Fakta o AMP, 2017)

V roce 2008 byl AMP potvrzen v Azerbájdžánu a odtud se nákaza šířila na západ, od roku 2014 jen virus identifikován v pobaltských státech a Polsku, i přes zavedená opatření se nepodařilo chorobu zcela vymýtit. Od loňského roku jsou díky ADNS k dispozici data i z Ukrajiny. Zde se virus rodu *Asfarviridae* vyskytuje na celém území, kde poslední pozitivní nález divokého prasete byl pouhých 60 km od slovenských hranic. A tak od roku 2014 jsou všechna uhynulá divoká prasata vyšetřována na africký mor prasat. (AMP / Státní veterinární správa, 2016)

Do roku 2016 už bylo vyšetřeno 467 vzorků s negativním výsledkem na AMP. V roce 2017 k datu 27. 6. 2017 bylo vyšetřeno 87 vzorků a z toho u dvou byl potvrzen virus AMP u volně žijících prasat. Vyšetření se provádí ve Státních veterinárních ústavech metodou PCR k průkazu viru, konfirmaci zajišťuje Národní referenční laboratoř při SVÚ Jihlava. (AMP / Státní veterinární správa, 2016)

Tato situace je velkou hrozbou pro celou EU, především kvůli obtížně kontrolovatelným možným cestám zavlečení viru, jako jsou přirozené migrační trasy černé

zvěře, nelegální přesuny zvířat a jejich produktů a v neposlední řadě pohyb kontaminovaných dopravních prostředků a jiných předmětů či náradí. (Fakta o AMP, 2017)

Hlavními faktory urychlujícími šíření nákazy byla početná populace divokých prasat, ve které se virus šířil především přímým kontaktem a kontaktem mezi divokými a domácími prasaty. Zásadní vliv na rozšíření nákazy AMP měla především nízká efektivita zaváděných preventivních a kontrolních opatření a nedostatečný všeobecný zájem na eradikaci nákazy. (Africký mor prasat - Státní veterinární ústav Jihlava, 2014)



Obr. 2: Mapa výskytu AMP u divokých prasat v Evropě ke dni 31. 12. 2017

(převzato z <https://www.svscr.cz/zdravi-zvirat/africky-mor-prasat-amp/>, staženo dne 5.6.2018)



Obr. 3: Mapa výskytu AMP u domácích prasat v Evropě ke dni 31. 12. 2017

(převzato z <https://www.svscr.cz/zdravi-zvirat/africky-mor-prasat-amp/>, staženo dne 5.6 2018)

3. Hostitelé a přenos moru

Hlavní cestou infekce je oronazální cesta přes tonzily a sliznici hltanu k mandibulárním a retrofaryngeálním lymfatickým uzlinám. Šíření aerosolem má význam jen na malou vzdálenost při velmi blízkém kontaktu. (Africký mor prasat - Státní veterinární ústav Jihlava, 2014)

Africký mor prasat se objevuje jak u prasat divokých, u kterých se nákaza přenáší obtížněji, tak domácích a infikuje i specifického hmyzího přenašeče – klíšťáka rodu *Ornithodoros*, především druhy *Ornithodoros moubata* a *Ornithodoros erraticus*, kteří jsou rezervoárem viru AMP v přenosu nákazy. Klíšťáci rodu *Ornithodoros moubata* žijí v Africe a přichází do kontaktu jak s divokými, tak domácími prasaty. (Fakta o AMP, 2017)

Tzv. transovariální přenos (TOT) je běžný ve vztazích vektor / parazit. Jedná se o mechanismus používaný mnoha arboviry k zajištění přežití během nepříznivých podmínek. Příklady těchto buněk jsou buněčné viry kalifornské séroskupiny, které využívají TOT jako mechanismus prezimování. Viry z této skupiny jsou proto schopny přežít v mírných nebo arktických oblastech, kde klimatické podmínky brání celoročnímu přenosu. V případě vektorů klíšťat, které mají velmi dlouhou životnost a mohou přežít po značnou dobu bez krve, může TOT poskytnout mechanismus, kterým může virus přežít v populaci klíšťat v případě absence reinfekce z viremického hostitele. (Transovarial transmission of African swine fever virus in the argasid tick *Ornithodoros moubata*, 2001)

Aby se TOT objevila, musí virus infikovat reprodukční orgány klíštěte rodu ženského, zejména vaječníky. Avšak přesné cesty, kterými jsou tyto tkáně infikovány, nejsou známy. (Transovarial transmission of African swine fever virus in the argasid tick *Ornithodoros moubata*, 2001)

Za původního hostitele AMP se považuje prase savanové, u kterého nákaza probíhá bez jakýchkoliv příznaků onemocnění. Prase savanové bylo dříve poddruhem prasete bradavičnatého, ale dnes se pokládají za dva samostatné druhy. Tento druh prasete slouží pouze jako nosič infekce. U dalších tamních druhů jako Šetkoun šedý a africký nebyl přenos moru dosud objasněn. I u prasete pralesního je AMP epidemiologicky zanedbatelný. Dále některé místní africké druhy domácích prasat jsou infikovány bez vyvolání onemocnění. (Fakta o AMP, 2017)

Klíšťák *Ornithodoros erraticus* se poprvé objevil a byl identifikován jako vektor a rezervoár viru AMP ve Španělsku. Poté byly zahájeny další epidemiologické studie v Africe a bylo zjištěno, že v klíšťácích rodu *Ornithodoros moubata* se virus množí a jeho infekce je může i zahubit. (Fakta o AMP, 2017)

Virus AMP může dlouhodobě perzistovat a to až několik let v populaci klíšťáků *O. moubata* i bez fáze sání krve vertikálním přenosem na potomstvo. V Africe probíhá tzv. sylvatický cyklus přenosu, kdy je virus vzájemně přenášen mezi klíšťáky a vnímavými druhy afrických prasat divokých a to bez klinických příznaků onemocnění. Klíšťáci *O. moubata* infikují novorozená prasata bradavičnatá přímo v jejich doupatech. (Africký mor prasat - Státní veterinární ústav Jihlava, 2014)

Komáři, ovádi a ostatní krev sající hmyz jsou schopni přenášet virus pouze mechanicky. Např. Bodalka stájová může přenášet infekční virus pouze po dva dny. Klíšťata čeledi klíšťátovití, která se běžně vyskytují v České republice, nejsou přirozeným vektorem či rezervoárem viru AMP a mohou přenášet virus pouze mechanicky. (Africký mor prasat - Státní veterinární ústav Jihlava, 2014)

V Evropě jsou k viru AMP nejvíce vnímavá divoká i volně žijící a domácí prasata. Pokud dojde k umožnění kontaktu nakažených zvířat se zdravými nebo kontaminací prostředí může snadno docházet k propuknutí infekce. K přenosu nákazy tedy dochází přímým kontaktem zvířat či nepřímým a to zkrmováním odpadků obsahujících např. infikované maso, kontaktem s kontaminovanými předměty, náradím, dopravními prostředky, pracovní obuví či oblečením, pohybem jedinců v kontaminovaných prostorech a v neposlední řadě též prostřednictvím klíšťáků v oblastech jejich přirozeného výskytu. (Fakta o AMP, 2017)

Virus se může přenést i krmivem, které je kontaminováno virem AMP, semenem infikovaných kanců či močí a výkaly. (Infekční choroby zvířat II - Virové a prionové infekce, 2016)

Významný zdroj viru v prostředí představuje kadavér uhynulého prasete, který může obsahovat až 2×10^{13} infekčních jednotek. Virus je přítomen ve všech tkáních a tělních tekutinách infikovaného zvířete, nejvyšší hladiny viru jsou v kostní dřeni, krvi a lymfatických tkáních. (Africký mor prasat - Státní veterinární ústav Jihlava, 2014)



Obr. 4: *Ornithodoros moubata*

(převzato z: <http://www.faculty.ucr.edu/~legnerref/medical/ixodoidea.htm>, staženo dne 9. 6. 2018)

4. Klinické příznaky

Virus AMP se projevuje řadou klinických příznaků, které závisí na typu viru, plemeni zvířete, ale i na jeho momentální kondici. (Fakta o AMP, 2017)

Po průniku viru do krevního řečiště dochází k jeho rychlému množení. Přednostně je napadena retikuloendoteliální tkáň a výstelka krevních a lymfatických cév. Pokud dojde k nekróze buněk v lymfatické tkáni, dochází ke snížení počtu lymfocytů a leukocytů. (Infekční choroby zvířat II - Virové a prionové infekce, 2016)

Nákaza má hned tři formy průběhu, rychlý průběh s náhlým úhynem-perakutní forma, rychlý průběh s úhynem během několika dnů-akutní forma a pozvolný průběh-chronická forma.

V místech, kde se virus ještě nikdy nevyskytoval, působí perakutně nebo akutně. (Fakta o AMP, 2017)

Klinické příznaky, úmrtnost i průběh nákazy se nijak neliší u prasat divokých ani domácích. Infikovaná zvířata mohou být pouze přenašeči bez jakéhokoliv projevu viru. (Fakta o AMP, 2017)

Virémie nastává 2-8 dní po infekci a to z důvodů chybějících neutralizujících protilátek. K vylučování viru dochází slinami, sekretem z očí a nosu a aerosolem. (Infekční choroby zvířat II - Virové a prionové infekce, 2016)

Inkubační doba do projevu nákazy trvá většinou čtyři až devatenáct dní. (Fakta o AMP, 2017)

V terénních podmínkách mohou být klinické příznaky znát, až za několik týdnů po vniknutí viru a u málo virulentních kmenů dokonce ještě po delší době. Kmeny viru s vyšší virulencí způsobují perakutní a akutní formy, které jsou doprovázeny vysokými horečkami a to 40-42°C, depresí, ztrátou chuti přijímat potravu, zažívacími potížemi, zácpou, zvracením, krvavým průjmem, zrychleným či obtížným dýcháním, výtokem z očí, nosu a krváceninami v kůži a vnitřních orgánech. Kvůli vysokému překrvení je kůže narůžovělá až purpurová nebo jsou na ní nepravidelné modrofialové skvrny a to především na končetinách, uších, bříše a hrudníku. (Fakta o AMP, 2017)

Jedinci s akutní AMP měli vysoký počet bílých krvinek a zejména lymfocytů. Lymfocyty z nátěrů byly morfologicky hodnoceny na základě velikosti jako reaktivní, se zvýšenou celkovou velikostí, cytoplasmou a atypicky zvýšenou velikostí štěpených jader. (Characterization of the atypical lymphocytes in African swine fever, 2016)

Dále postižená prasata trpěla akutní anorexií a depresí před smrtí. (Identification of a New Genotype of African Swine Fever Virus in Domestic Pigs from Ethiopia, 2016)

Prasata se pohybují nekoordinovaně a shlukují se. Samice mohou dokonce zmetat a to ve všech stádiích březosti. Před úhynem, ke kterému dochází během čtyř až deseti dnů, může nastat i kóma. (Infekční choroby zvířat II - Virové a prionové infekce, 2016)

Při akutní formě zvíře hyne velmi záhy, ještě před projevením prvních klinických příznaků. Úmrtnost dosahuje v chovu až 100%. (Fakta o AMP, 2017)

Postmortální změny jsou tvořeny typickým hemoragickým syndromem s celkovým překrvením kadáveru, krvavě zbarvenou tekutinou v hrudní a břišní dutině, zvětšenou tmavou slezinou, překrvenými mízními uzlinami, které připomínají krevní sraženiny (zvláště mízní uzliny renální a gastrohepatické), petechiálními krváceninami v ledvinách (v korových a dřevných pyramidách a pánvičce ledvinné), na abdominálních serózách, na sliznici žaludeční a střevní a v srdci (na epikardu a endokardu), a také hydrothoraxem a petechiálními krváceninami na pleuře. (Diagnostická příručka afrického moru prasat - Státní veterinární správa, 2003)

Méně virulentní kmeny se projevují mírnějšími příznaky a to zvýšená teplota, snížená chuť k jídlu a celková skleslost. Tyto mírné příznaky nemusí vůbec budít podezření na AMP a začínající nákaza může být často podceňována nebo zaměňována za jiné onemocnění. (Fakta o AMP, 2017)

Nízkovirulentní kmeny nezpůsobují viditelné příznaky, jen příležitostně jsou zjišťovány skryté změny například v plicích. Smrt může nastat i v důsledku selhání srdce. Prasata, která neuhynou při akutní či chronické formě viru, mohou být velmi nebezpečné, protože mohou sloužit jako tzv. perzistentní nosiči viru a představují tak největší hrozbu v boji s nákazou. (Fakta o AMP, 2017)

Virémie u nich přetrvává čtyřicet až šedesát dní. Virus AMP byl izolován z prasat-nosičů viru dokonce i za šest měsíců po překonané nákaze. (Infekční choroby zvířat II - Virové a prionové infekce, 2016)



Obr. 5: Krváceniny na kůži

(převzato z: <https://www.svscr.cz/zdravi-zvirat/africky-mor-prasat-amp/>, staženo dne 9. 6. 2018)

5. Diagnostika

Africký mor prasat nelze na základě klinických příznaků rozpoznat od klasického moru prasat. S KMP mají naši chovatelé a myslivci zkušenosti už z nedávné minulosti. Pokud se objeví podezření na nákazu, vždy je nezbytně nutné ho nahlásit příslušné veterinární správě a dát provést laboratorní vyšetření. Dále je velmi důležité věnovat pozornost jakémukoliv horečnatému onemocnění prasat doprovázenému krváceninami. (Fakta o AMP, 2017)

Ve státech, kde se AMP nevyskytuje, ale jeho výskyt se nedá vyloučit, je třeba provést laboratorní diagnostiku na izolaci viru, průkaz antigenu v otiskových preparátech či tkáních IFT a průkaz virové nukleové kyseliny molekulárně biologickými metodami například PCR. (Fakta o AMP, 2017)

V prvé řadě je nezbytné diagnosticky odlišit klasický mor prasat a dále všechna ostatní onemocnění prasat, která jsou doprovázena vysokou horečkou a krváceninami (PRRS, červěnka, salmonelóza, pasterelóza). (Infekční choroby zvířat II - Virové a prionové infekce, 2016)

Prasata, která přežijí přirozenou formu infekce, si vytvoří po sedmi až deseti dnech protilátky proti AMP, které mohou přetrvávat poměrně dlouhou dobu. Tyto protilátky je možné zjišťovat v krevních sérech zvířat či extraktech z jejich tkání. (Fakta o AMP, 2017)

K detekci virového antigenu se používá přímá fluorescenční metoda (FAR) nebo ELISA. Principem fluorescenční metody je detekce virového antigenu v otiskových preparátech či tenkých řezech zmrazeného materiálu z orgánů prasat. Vhodnými orgány jsou ledviny, slezina a různé mízní uzliny, u divokých prasat je možné použít i nátěry buněk z kostní dřeně. Intracelulární antigen je detekován při použití specifických protilátek konjugovaných s fluorescein isothiokyanátem. V cytoplazmě infikovaných buněk se objevují inkluzivní fluoreskující tělíčka nebo zrnka. Test trvá přibližně dvě hodiny. Vzorky orgánů mohou být použity pouze z mrtvých zvířat a proto je možnost použití testu pro účely screeningu omezena. (Diagnostická příručka afrického moru prasat - Státní veterinární správa, 2003)

Při akutní formě moru je fluorescenční metoda vysoce citlivá. U subakutní a chronické formy je citlivost 40% kvůli přítomnosti komplexu antigen-protilátka, které blokují reakci s konjugovanou protilátkou proti AMP. Spolehlivost výsledků se snižuje i kvůli nespecifickému barvení především, když vyšetřované orgány byly v rozkladu. (Diagnostická příručka afrického moru prasat - Státní veterinární správa, 2003)

Metoda ELISA je doporučována pouze u akutní formy nákazy, protože v přítomnosti komplexu antigen-protilátka má nízkou citlivost. Izolovat můžeme i samotný virus a identifikovat ho hemadsorpční metodou (HAD). (Diagnostická příručka afrického moru prasat - Státní veterinární správa, 2003)

U metody ELISA vhodně naředěné vyšetřované sérum napipetujeme do jamek mikrotitrační destičky, kde je výrobcem navázána protilátka proti hledanému antigenu. Ta antigen ze vzorku zachytí. Antigen pak reaguje s následně přidanou značenou protilátkou. Do zvláštních jamek pipetujeme negativní a pozitivní kontrolní sérum. Poté vzorek inkubujeme v termostatu, který zajistí řádné proběhnutí reakce. Vzorek je třeba promýt v automatické promývačce, kde se zajistí dokonalé odstranění všech látek, které nejsou vázány na stěně mikrotitrační destičky. Po promytí následuje přidání látky značené peroxidázou, tzv. konjugát. Konjugát se váže na antigen, jehož prostřednictvím je fixován na stěně jamky. Dále se připraví a rozplní enzymový substrát s chromogenem, který je v pozitivním případě měněn za vznik modrého zbarvení. Inkubace probíhá při pokojové teplotě a v temnu. Reakci zastavíme přidáním kyseliny sírové a modrý produkt se změní na stabilní žlutý. Hodnocení výsledků se provádí měřením optické denzity při vlnové délce chromogenu 450 nm. (ELISA – Univerzita Karlova, 2011)

Izolace viru je založena na inokulování materiálu vzorku na vnímavé prasečí primární buněčné kultury a na buňky monocytů a makrofágů. Virus se izoluje především z vzorků celé krve, leukocytů z nesražené krve a z vzorků orgánů. Pokud se virus AMP ve vzorcích vyskytuje, množí se v infikovaných buňkách a tvoří charakteristický cytopatický efekt. (Diagnostická příručka afrického moru prasat - Státní veterinární správa, 2003)

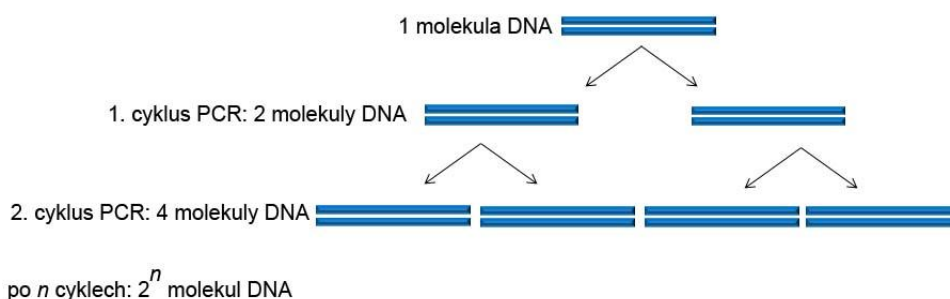
Hemadsorpční metoda se používá pro identifikaci izolátů viru AMP pro svou vysokou citlivost a specifčnost. Virus se namnoží v prasečích makrofázích a projevuje se hemadsorpcí v přítomnosti prasečích erytrocytů. Kolem infikovaných makrofágů se vytvářejí charakteristické „rosety“ erytrocytů. Malý počet terénních kmenů viru AMP nezpůsobuje hemadsorpci, ale vytváří cytopatický efekt. Tyto kmeny jsou identifikovány použitím přímé imunofluorescenční metody v sedimentech buněčných kultur nebo PCR. Izolace viru a jeho identifikace metodou HAD jsou doporučovány jako ověřovací metody pro potvrzení pozitivních výsledků u antigenů nalezených metodami ELISA, PCR nebo FAR. (Diagnostická příručka afrického moru prasat - Státní veterinární správa, 2003)

Izolace samotného viru se používá k vyšetřování vzorků od malého množství zvířat. Metoda je pracná a výsledky lze získat za jeden až tři dny. Pokud je viru ve vzorku malé množství může se prodloužit doba vyšetřování až na deset dní. Vzorky rozkládajícího se

materiálu mohou být pro buněčné kultury cytotoxické, a proto nejsou použitelné. (Diagnostická příručka afrického moru prasat - Státní veterinární správa, 2003)

Polymerázová řetězová reakce je metoda rychlého zmnožení vybraného úseku DNA. Množený (amplifikovaný) úsek DNA je ohraničen tzv. primery (oligonukleotidy), což jsou fragmenty DNA o 20 – 25 nukleotidech, které si díky své komplementaritě přisedají právě ke koncům vybraného úseku. Od přisedlých primerů probíhá syntéza DNA. Samotnou syntézu provádí termostabilní DNA polymeráza, izolovaná nejčastěji z bakterie *Thermus aquaticus*, odtud označení Taq polymeráza. Jelikož je tento enzym termostabilní, uchovává si svou aktivitu i přes několikeré působení teploty blížíící se teplotě varu při probíhající reakci. Při reakci je využíváno cyklických změn teplot, které umožňují denaturaci DNA, přisedání primerů a syntézu DNA. (PCR | LabGuide.cz – Průvodce laboratoří, 2014)

Při PCR je využíváno podobného principu, na jakém dochází k syntéze DNA během replikace DNA v buňce. DNA polymeráza přisedá k jednořetězcovému (templátovému) úseku DNA. Podle templátového úseku DNA polymeráza syntetizuje druhý, komplementární řetězec. DNA polymeráza se při svém startu potřebuje „odrazit“ od krátkého oligonukleotidu (primeru), který je díky své komplementaritě navázán na templátový, jednořetězcový úsek. Syntéza probíhá od místa navázaného primeru. Při syntéze vzniká z jednořetězcové molekuly dvouřetězcová. Dvouřetězcová molekula je následnou denaturací separována na dvě jednořetězcové molekuly, které jsou v dalším kole syntézy DNA polymerázou opět doplněny na dvouřetězcové. Tyto kroky se při PCR cyklicky opakují, takže teoreticky např. z původně jedné molekuly DNA po 32 cyklech vzniká 1 miliarda molekul DNA. (PCR | LabGuide.cz – Průvodce laboratoří, 2014)



Obr. 6: Schéma PCR

(převzato z <http://labguide.cz/metody/pcr/>, staženo dne 10. 6. 2018)

Další metody, které slouží k identifikaci viru AMP, byly použity v Keni a západní Ugandě. Metody jsou celkem tři: DNA izolace a detekce, genetická analýza viru AMP a fylogenetická analýza. (Multi- locus sequence typing of African swine fever viruses from endemic regions of Kenya and Eastern Uganda (2011–2013) reveals rapid *B602L* central variable region evolution, 2017)

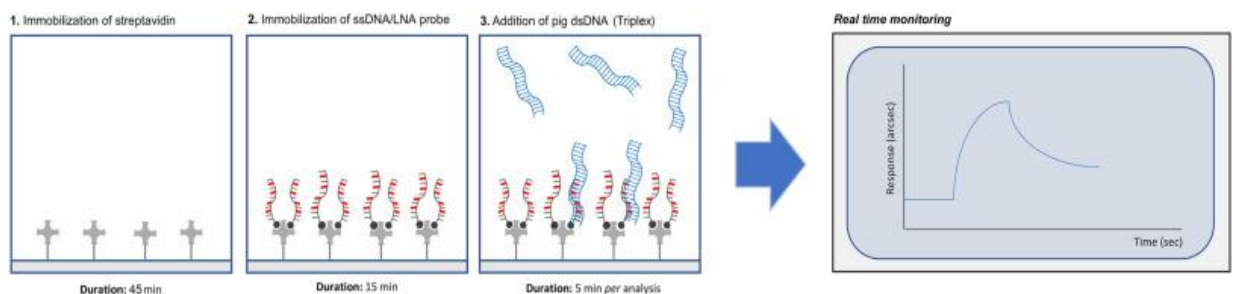
DNA byla extrahována z 200 µl každého vzorku krve, séra a tkáňového moku, dle pokynů výrobce testu. Aby byl test úspěšný, byly do testu zahrnuty pozitivní (PEC) a negativní (NEC) reakce pro srovnání se vzorkem. PEC se skládá ze známého krevního vzorku pozitivního na AMP a NEC ze sterilního fosfátového pufru obsahující solný roztok o pH 7. Kvantifikace DNA každého vzorku byla stanovena za použití spektrofotometru Nanodrop 1000. (Multi- locus sequence typing of African swine fever viruses from endemic regions of Kenya and Eastern Uganda (2011–2013) reveals rapid *B602L* central variable region evolution, 2017)

Genetická analýza AMP byla provedena za použití PCR amplifikace ze čtyř polymorfních lokusů s jedinečnými sady primerů k určitým místům. Diskrétní pásy měli každý své místo, které bylo purifikováno z agarózových gelů za použití QIAquick, což je gelová extrakční sada a byla použita podle pokynů výrobce. Vzniklé a vyčištěné produkty byly potom přímo sekvenovány metodou Sanger. Sangerova metoda využívá v klasické podobě dideoxynukleotidů a následné elektroforézy. Primární sekvenční data byla analyzována za použití BIOEDIT a MEGA verze 6.06, která byla použita k porovnání odpovídajících referenčních sekvencí na čtyři polymorfní lokusy získané od Gen-bank. Převod nukleotidových sekvencí na aminokyselinu a to sekvenci pro tymidinkinázu a geny *B602L* byly získány pomocí softwaru RevTrans 2.0. Zarovnání aminokyselinových sekvencí bylo provedeno za použití nástroje pro publikování, které je k dispozici v databázi sekvencí HIV s cílem identifikovat varianty. ElimDupes také k dispozici v sekvenci HIV databáze byla použita k odstranění duplicitních sekvencí a k identifikaci jedinečných sekvencí. (Multi- locus sequence typing of African swine fever viruses from endemic regions of Kenya and Eastern Uganda (2011–2013) reveals rapid *B602L* central variable region evolution, 2017)

Poslední použitou metodou je fylogenetická analýza každého lokusu tzv. MEGA verze 6.06 a fylogenetické stromy, které byly postaveny pomocí algoritmu Minimum Evolution.

Počáteční stromová konstrukce byla využita s použitím metody sousedního spojování. P-vzdálenost a definovaný nukleotidový substituční model měly svou úlohu především při konstrukci fylogenetických stromů. Dále byly znovu odebrány údaje z každého lokusu 1000krát za použití metody bootstrap. Bayesovská evoluční analýza vzorkování stromů (BEAST) byla použita pro odhad původu variant AMP. Výstup získaný z BEAST byl dále analyzován pomocí prostorové fylogenetiky. Rekonstrukce Evolutionary Dynamics (SPREAD), což je klíčem k implementaci fylogeografické analýzy pomocí BEAST. Pro vizualizaci odvozených epidemiologických vztahů viru afrického moru prasat v Keni, byl načten výstup z SPREADu v Google Earth. (Multi-locus sequence typing of African swine fever viruses from endemic regions of Kenya and Eastern Uganda (2011–2013) reveals rapid *B602L* central variable region evolution, 2017)

Další metoda je založena na biosenzoru pro detekci virové DNA AMP v krvi prasat. Biosenzor využívá jednovláknovou DNA sondu s uzamčenými substitucemi nukleotidových nukleotidů (LNA) jako komplementární rozpoznávací prvek pro konzervovanou oblast genu. Biosenzor je kalibrován pomocí qPCR kvantifikované virové DNA extrahované z krve prasat experimentálně infikovaných. Globálně navrhovaný biosenzor vykazuje dobrou citlivost a specificitu s limity detekce (LOD) a kvantifikace (LOQ). Reverzibilní povaha interakce mezi sondou a cílovou DNA sekvencí umožňuje několik rychlých analýz. Tato metoda představuje slibný screeningový test pro předběžnou diagnózu AMP, který má hlavní výhody v relativní rychlosti, snadnosti použití, opakované použitelnosti snímací plochy a nízké náklady na jeden test. (Chimeric DNA/LNA-based biosensor for the rapid detection of African swine fever virus, 2018)



Obr. 7: Schéma detekce virové DNA pomocí biosenzoru

(převzato

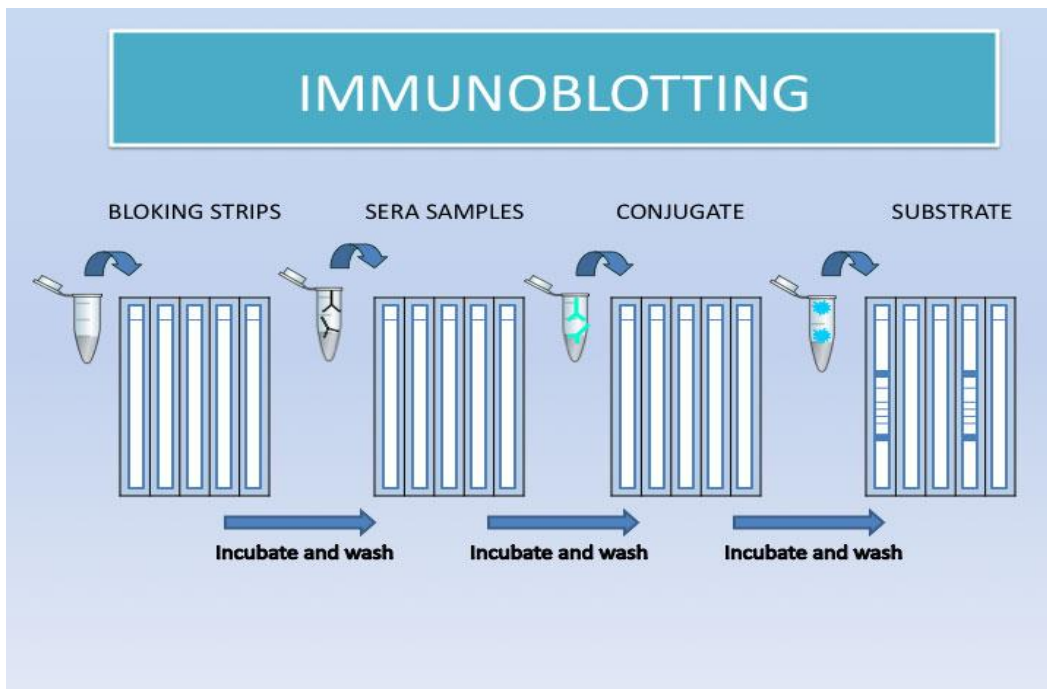
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914018302121?via%3Dihub>, staženo dne 9. 6. 2018)

Z

Jedna z dalších používaných metod pro diagnostiku afrického moru prasat je imunoblotting, tzv. metoda otisků, je analytická metoda, která umožňuje přenos molekul z mobilní fáze (např. agarózový nebo polyakrylamidový gel, ale také běžný roztok) do pevné fáze, na kterou jsou fixovány. Tuto pevnou fázi může představovat např. nitrocelulóza membrána. Přenos se může uskutečnit běžnou difúzí přiložením membrány na gel, což připomíná odsávání skvrn pomocí savého papíru a odtud také název blotting. Molekuly přenesené a fixované na pevné fázi se zviditelňují přímo po fixaci různými barevnými reakcemi nebo autoradiografií nebo až po reakci se specifickými protilátkami = immunoblotting. Otiskové metody se používají především pro přenos molekul DNA, RNA, proteinů a glykoproteinů po jejich předcházející separaci elektroforézou nebo izoelektrickou fokusací na gelových nosičích a umožňují tak průkaz několika specifických antigenů v jednom vzorku najednou. (Immunoblotting, 1989)

Vývoj a hodnocení imunoblotovacího testovacího systému pro sérologickou diagnostiku afrického moru prasat na základě vysoce purifikovaného rekombinantního p30 kmene AMP. Hlavní etapy projektu jsou následující: (i) klonování centrální hydrofilní oblasti genu AMP (p30) do prokaryotického vektoru - zkoumaná směs antigenů se rozdělí pomocí jednorozměrné nebo dvourozměrné elektroforézy nebo izoelektrickou fokusací na agarózovém nebo polyakrylamidovém gelu nebo se purifikované antigeny nebo protilátky naředí na vhodnou koncentraci ve vhodném pufru, (ii) exprese a chromatografické čištění rekombinantního produktu p30 s thio-redoxinem a poly-histidinovým místem - pomocí vhodné blotovací aparatury se přenesou antigeny z gelu na vhodnou membránu (matrici), (iii) vývoj imunoblotovacího testovacího systému (Rec p30-IB) za použití vysoce purifikovaného rekombinantního p30 - po imobilizaci antigenů na membránu se membrána opračuje blokujícím agens, čímž se vysytí (zablokují) nespecifická vazebná místa, aby v následných krocích nedocházelo k nespecifickým interakcím mezi detekční sondou a matricí. Detekčními sondami mohou být protilátky, specifické vazebné proteiny nebo jiné ligandy a (iv) hodnocení Rec p30-IB s použitím vzorků séra a orgánů z domácích prasat a divokých kanců experimentálně nebo přirozeně infikovaných africkým morem prasat - posledním krokem je vizualizace použitím detekční sondy (např. autoradiograficky, barevnou reakcí, fluorescenčně apod.), která může mít také několik kroků. (Recombinant Protein p30 for Serological Diagnosis of African Swine Fever by Immunoblotting Assay, 2017)

Testování Rec p30-IB ukázalo, že diagnostická specifická a citlivost testu jsou 98,75% a 100,00%. Vysoká citlivost přípravku Rec p30-IB umožnila detekci protilátek specifických pro AMP ve vzorcích orgánů imunitního systému a krevních sér odebraných z domácích prasat a divočáků od 6 do 8 dnů po infekci bez ohledu na virulenci viru a zeměpisný původ vzorků. (Recombinant Protein p30 for Serological Diagnosis of African Swine Fever by Immunoblotting Assay, 2017)



Obr. 8: Immunoblotting

(převzato z: <http://www.sanidadanimal.info/cursos/asf/caps/cap8.html>, staženo dne 25. 6. 2018)

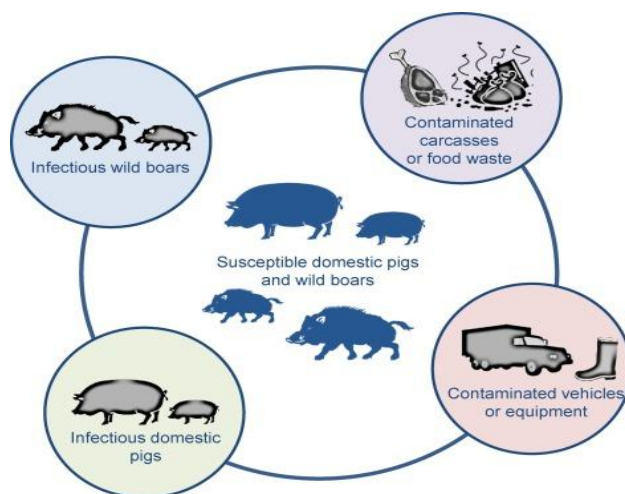
6. Léčba a preventivní opatření

Ačkoli byl AMP poprvé popsán téměř před sto lety, kontrola této nemoci se ukázala jako výzva, zejména proto, že žádná vakcína není k dispozici. Po zavedení do zemí bez afrického moru prasat jsou k dispozici pouze kontrolní opatření, přísné karantény a biologické bezpečnosti, omezení pohybu zvířat a zabíjení postižených nebo exponovaných zvířat. (African swine fever: A re-emerging viral disease threatening the global pig industry, 2018)

Mezi další opatření patří zákaz prodeje vepřového masa v infikované oblasti a vyřazování prasat z nakažených prostorů a těch, které se považují za "nebezpečné kontakty", se zničením jatečně upravených těl hlubokým pohřbem nebo spálením. (The African swine fever epidemic in West Africa, 1996-2002, 2018)

Opatření ke zmírnění rizika šíření AMP v různých komerčních produkčních systémech chovu a hospodářstvích ve dvorech byla analyzována Bellini, což je integrovaný zdravotnický systém. Rovněž je třeba vzít v úvahu úlohu divokých prasat při šíření a udržování AMP; například v letech 2015 až 2017 bylo v Polsku a pobaltských zemích zjištěno téměř 8000 pozitivních divokých prasat. Bylo dokázáno, že AMP dlouhodobě přežívá v prostředí bohatém na bílkoviny, a to i za nepříznivých podmínek. (African swine fever: A re-emerging viral disease threatening the global pig industry, 2018)

Evropská komise, proto doporučila postupy pro kontrolu AMP u domácích prasat a populací divokých prasat. Ty zahrnují hlášení všech nalezených mrtvých divokých prasat a testování lovených v kontrolních zónách. (African swine fever: A re-emerging viral disease threatening the global pig industry, 2018)



Obr. 9: Metoda přenosu AMP ve východní Evropě

(převzato

Z:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S109002331730268X?via%3Dihub>, staženo dne 25. 6. 2018)

Léčba jako taková vůbec neexistuje. Při výskytu nákazy je potřeba okamžitá a radikální likvidace celého chovu, aby nedocházelo k jejímu rozšíření. (Fakta o AMP, 2017)

Očkování je jedním z nejlepších kontrolních opatření pro infekční onemocnění; avšak vývoj vakcín proti AMP byl odrazen velkými mezerami v znalostech o infekci a imunitě afrického moru prasat. Zatím nebyla stanovena přesná povaha ochranných odpovědí a nebyly dosud identifikovány ochranné antigeny, které by omezovaly racionální konstrukci vakcín. Navíc mechanismy, kterými virus ovlivňuje reakci hostitele na infekci, jsou špatně pochopeny. Jakmile by byly identifikovány ochranné antigeny, mohly by být vyvinuty široce účinné a křížově chránící racionální vakcíny proti příslušným kmenům. (African swine fever: A re-emerging viral disease threatening the global pig industry, 2018)

V současnosti se intenzivně pracuje na přípravě takovéto vakcíny proti viru, ale doposud nikde ve světě ještě není k dispozici, na rozdíl od klasického moru prasat. (Fakta o AMP, 2017)

K zabránění zavlečení AMP na území států EU je třeba dodržovat pár zásad. Chránit území před dovozem zvířat, masa a tepelně neošetřených výrobků z oblastí, kde se nákaza vyskytuje, zamezit vniknutí volně žijících zvířat do hospodářství. Je třeba čistit, dezinfikovat a deratizovat stáje, technologická zařízení a vozidla, kde jsou zvířata chována i převážena. Dále je zapotřebí včasné odstranění těl uhynulých zvířat, zamezit vstup nepovolaným osobám

do hospodářství, pravidelně kontrolovat zdravotní stav zvířat, příjem vody a krmiva. (Fakta o AMP, 2017)

Proti viru se nechá bojovat také jednorázovým naskladňováním a vyskladňováním turnusů, ale pouze tehdy pokud to umožní provozní podmínky chovu. V neposlední řadě také nahlásit zvýšený nebo hromadný úhyn zvířat či zvýšený výskyt zmetajících prasnic. (Fakta o AMP, 2017)

Další možnou prevencí je ochranná imunitní odpověď, která zahrnuje buněčnou i humorální imunitu. Prasata, která nezemřou v prvních dnech infekce, produkují vysoké hladiny specifických protilátek proti africkému moru prasat, které jsou detekovatelné po dlouhou dobu, ale které nejsou zcela neutralizující. Přesto je pozorována jistá ochrana související s imunitou zprostředkovanou protilátkou. Protilátky mohou také chránit hostitele pomocí protilátky závislé cytotoxicity. Zatím bylo zjištěno, že minimálně padesát virových proteinů je imunogenních, ale jak tyto proteiny vyvolávají účinnou imunitní odpověď u přeživších zvířat neznámý. (Gaps in African swine fever: Analysis and priorities, 2017)

6.1 Opatření v případech výskytu AMP v hospodářství

U všech prasat různých kategorií v hospodářství je třeba provést soupis, který uvádí počet prasat již nemocných, uhynulých či pravděpodobně nakažených. Prasata musí být držena či ustájena na místech, kde je umožněna jejich karanténa. Do hospodářství nesmí vstupovat ani ho opouštět žádná prasata. Krajská veterinární správa může dokonce nařídit zákaz přemísťování i jiných druhů zvířat a požadovat vhodná opatření k hubení hlodavců nebo hmyzu. (Myslivost - Africký mor prasat, 2017)

Pokud se AMP u domácích prasat potvrdí, musí být pod úředním dozorem všechna utracena. Aby se postupovalo dle souladu s diagnostickou příručkou, je třeba při utrácení prasat odebrat dostatečný počet vzorků, které pomohou zjistit způsob zavlečení viru do chovu a délku doby, po kterou mohl být virus ještě před nahlášením nákazy přítomen v hospodářství. Uhynulá a utracená prasata musí být zpracovány pod dohledem úředního veterinárního lékaře. Maso poražených prasat, sperma, vaječné buňky nebo embrya musí být vysledovány, zpracovány či zlikvidovány pod úředním dohledem. (Myslivost - Africký mor prasat, 2017)

6.2 Opatření v případech výskytu AMP u divokých prasat

V případě podezření či potvrzení AMP u divočáků musí být ustanovena odborná skupina, která se skládá z veterinářů, lovců, epizootologů a odborníků na volně žijící zvířata. Tato odborná skupina asistuje KVS při analýze epizotologické situace, definování infikované oblasti a v neposlední řadě i při realizaci ozdravovacího programu. Do devadesáti dní od potvrzení prvního případu, musí být zaslán Komisi plán opatření k eradikaci onemocnění v infikované oblasti. K eradikačním opatřením patří zákaz lovu a zákaz krmení divočáků. V plánu musí být zahrnut monitoring nákazy, který je v platnosti nejméně 12 měsíců po posledním případě a aby bylo území prohlášeno za prosté dalších 12 měsíců. (Myslivost - Africký mor prasat, 2017)

7. Africký mor prasat v České republice

V celé České republice je neustále otázkou jak se AMP dostal až k nám, při velké vzdálenosti od nejbližšího živého ohniska. A další otázka plyne z toho, jak je možné, že se nákaza za celé měsíce ze Zlínska nikam jinam nerozšířila. Například nákaza v Pobaltí a Polsku se rozšířila i na další území. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

7.1 Červen 2017

První historicky potvrzený výskyt afrického moru prasat v populaci prasat divokých se objevil u dvou uhynulých kusů, nalezených ve dnech 21. a 22. 6. v katastrálním území Příluky u Zlína. Vyšetření provedly a potvrdily Státní veterinární ústavy v Olomouci a Jihlavě. Dále bylo prohlášeno, že morem se mohou nakazit všechny věkové kategorie prasete domácího i divokého. Na člověka a další živočišné druhy nákaza přenosná není. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

Krajskou veterinární správou Státní veterinární správy pro Zlínský kraj byla nařízena mimořádná veterinární opatření k zamezení šíření nebezpečné nákazy. Dále byla vymezena tzv. zamořená oblast a stanovena opatření v této oblasti. Uživatelé honiteb mají zakázáno lovit a krmit divoká prasat. Všechna uhynulá divoká prasat musí být hlášeny na příslušnou krajskou veterinární správu. Chovatelé domácích prasat museli provést soupis všech kategorií prasat chovaných na hospodářství a dodržet všechna opatření, která souvisí s ochranou chovu před zavlečením této nákazy. Domácí porážky prasat musí být hlášeny KVS. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

Představitelé Státní veterinární správy dne 28. 6. 2017 jednali se všemi dotčenými subjekty, aby je informovali o problematice AMP a domluvili se na dalším postupu k zamezení rozšíření této nákazy. Mezi subjekty patří – Ministerstvo zemědělství, Státní veterinární ústavy, Českomoravská myslivecká jednota, Svaz chovatelů prasat, asanační podniky, Agrární komora, Komora veterinárních lékařů a další. Na jednání byla ustanovena tzv. Celostátní krizová centra tlumení nákazy, která mají za úkol vypracovat program o vymýcení nákazy afrického moru prasat. Především je potřeba uvést informace o pravidlech případného odlovu divokých prasat, který je v současné době zakázán a dále stanovit detailní postup, jak se bude nakládat s odlovenými těly, která budou vyšetřována ve Státních veterinárních ústavech. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

Ve Zlíně – Lužkovicích bylo nalezeno uhynulé sele prasete divokého, u něž byla potvrzena přítomnost AMP referenční laboratoří Evropské unie pro africký mor prasat. Nadále byla zahájena i základní genetická charakterizace viru AMP. Pozitivní zprávu poskytl Státní veterinární ústav Olomouc, který potvrdil, že vzorky odebrány ve dvou chovech Zemet Tečovice jsou negativní na přítomnost viru AMP. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

Dne 30. 6. 2017 proběhlo jednání Celostátního krizového centra tlumení nákazy, kde byly stanoveny požadavky na vytvoření Programu eradikace nákazy afrického moru prasat. Jednání se zúčastnil expert z CVET Vittorio Guberti., který předložil principy biologické bezpečnosti při lovu, aby došlo k minimalizaci rizika šíření nákazy. Důležitým bodem jednání bylo stanovení parametrů, které by umožnily případný odlov divokých prasat i v zóně zamoření. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

Všechny obce ze zamořené oblasti musí poskytnout soupis zvířat SVS, jak jim ukládá mimořádné opatření. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

7.2 Červenec

Od 3. 7. 2017 byla rozšířena zamořená oblast na celý okres Zlín. Mezi veterinární opatření, která se vztahují na celý okres Zlín, patří: zákaz lovu a krmení divokých prasat, monitoring divokých prasat a vyšetření evidovaných chovů prasat domácích v této zóně. K dnešnímu dni bylo nalezeno 17 uhynulých těl prasat divokých. Všechna těla byla nalezena v zamořené oblasti. Čtyři kusy byly vyšetřeny pozitivně. Uhynulá těla divokých prasat se musí z terénu odstraňovat, neboť kadavéry jsou zdrojem nákazy až do šesti měsíců od úhynu. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

Počet nalezených i pozitivně testovaných uhynulých divokých prasat stále roste. K 13. 7. 2017 Státní veterinární správa eviduje 49 uhynulých a 30 pozitivně potvrzených nálezů prasat divokých. Dále krajská veterinární správa pro Zlínský kraj vydala mimořádná opatření týkající se prasat určených k domácí porážce. Chov domácích prasat je možný, ale pouze pokud dodrží, následující podmínky: bezpečné a spolehlivé vyloučení jakýkoliv kontaktů s divokými prasaty, chov v ustájovacím místě bez výběhu, nezkrmování zelené píče, nepodestýlání slámou a k ošetření prasete používat výhradně vyčleněný pracovní oděv a pracovní obuv. Při nedodržení těchto podmínek by musela být všechna prasata poražena do

31. 7. 2017. Veškeré suroviny z domácí porážky musí být spotřebovány pouze v domácnosti chovatele. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

K 19. 7. 2017 byla vydána další mimořádná veterinární opatření. Uživatelé honiteb musí do tzv. vysoce rizikové oblasti afrického moru prasat instalovat pachové ohradníky účinné proti divokým prasatům. Do zařízení se neustále musí doplňovat účinná látka, tak aby byla v souladu s výrobcem aktivní. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

Dále se všem uživatelům honiteb nebo oprávněným účastníkům lovu v rámci celé ČR zakazuje přikrmovat prasata divoká vyjma obor uznaných pro chov prasete divokého. Uživatelé mají dovoleno pouze vnašení. Na vnašení se nesmí nacházet více než 5 kg krmiva a jedno vnašení smí být umístěno na 100 ha honitby. V oblastech, kde je dovolen intenzivní odlov prasete divokého, je povinnost předávat všechny vedlejší živočišné produkty- kůže, kosti, lebky či vývrhy osobě oprávněné k nakládání s živočišnými produkty. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

Počet nalezených uhynulých divokých prasat ve Zlínském kraji dosáhl ke konci července čísla 115, AMP byl potvrzen u 72. V oblasti s intenzivním odlovem bylo uloveno 992, nejvyšší odstřel byl zaznamenán v okresech Uherské Hradiště a Kroměříž, ale ani u jednoho z nich nebyl AMP potvrzen. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

7.3 Srpen

Na začátku srpna byla vydána další mimořádná veterinární opatření. Ve vymezené oblasti se zakazuje zemědělským podnikům a to až do konce roku 2017, sklízet zemědělské plodiny z důvodu poskytnutí úkrytu pro divoká prasata. Účelem tohoto nařízení je minimalizovat migraci divokých prasat z katastrů, kde byl opakovaně prokázán AMP. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

Krajská veterinární správa pro Zlínský kraj vydala souhlas s umístěním 30 kafilerních boxů. Uložení uloveného kusu divokého prasete do kafilerního boxu se musí hlásit asanačnímu podniku AGRIS spol. s r. o. Tento podnik vyčlenil speciální vozidlo pro svoz ulovených prasat, které bude vyjíždět denně sedm dní v týdnu. Informovat asanační podnik po vložení uloveného kusu do boxu musí být 48 hodin po odlovu, nejpozději však 60 dní. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

9. 8. 2017 proběhlo další jednání Celostátního krizového centra tlumení nákazy. Účastníci se shodli, že navýší zástřelné pro myslivce na 2000 Kč, kvůli zvýšení motivace myslivců lovit divočáky. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

V mimořádných veterinárních opatřeních týkajících se oblastí s intenzivním odlovem došlo k novele. Opatření se týká nakládání s vedlejšími živočišnými produkty. Všem uživatelům honiteb nebo oprávněným účastníkům lovu se nařizuje předat veškeré vývrhy osobě oprávněné k nakládání s vedlejšími živočišnými produkty a to asanačním podnikům, kompostárnám a dalším. Vývrhy nesmí být ponechány volně v místě, kde byl divočák uloven. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

V srpnu bylo nalezeno 177 uhynulých divokých prasat, z toho u 95 byl potvrzen AMP. Bylo odloveno 2422 divokých prasat, ale ani u jednoho se AMP nepotvrdilo. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

7.4 Září

V září došlo k úpravě pravidel pro zacházení s vývrhy v oblasti s intenzivním odlovem. Lovci už si mohou sami nakládat s vedlejšími živočišnými produkty a nemusí je předávat oprávněným osobám. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

8. 9. 2017 proběhlo další jednání Národního centra pro tlumení nákazy. Ustanovil se omezený počet proškolených lovců pro odlov divokých prasat v tzv. vysoce rizikové oblasti. Lovit se v této oblasti mohou pouze dospělé kusy divokých prasat. Ulovená prasata budou muset být, co nejdříve umístěna do kafilerního boxu a následně zlikvidována v asanačním podniku. Všechny ulovené kusy musí být vyšetřeny na AMP. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

Stále platí nařízení, které zakazuje zemědělským podnikům sklízet do konce roku zemědělské plodiny. Nesklizená pole mají sloužit jako úkryt pro zbylé divočáky. Na těchto pozemcích je lov přísně zakázán. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

V tzv. červené zóně zamořené oblasti bylo uloveno první divoké prase. Jednalo se o sele, které bylo uloveno vně pachových ohradníků. Počet ulovených divokých prasat i nadále roste, ale zatím ani u jednoho africký mor prasat nebyl potvrzen. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

V září bylo odloveno 19 divokých prasat a odchyceno 11 kusů do odchyťového zařízení. Pouze u jednoho divočáka se AMP potvrdil. U 105 případů nalezených uhynulých divočáků se africký mor prasat také potvrdil. V oblasti s intenzivním odlovem bylo odloveno celkem 4206 divokých prasat, AMP se ani u jednoho z nich nepotvrdil. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

7.5 Říjen

V říjnu nevyšla v platnosti žádná nová nařízení. V červené zóně zamořené oblasti bylo doposud uloveno 95 divokých prasat a odchyceno do odchyťového zařízení 30 kusů. Všechny kusy, u kterých se AMP potvrdil, pocházejí z tzv. vysoce rizikové oblasti v rámci červené zóny oblasti zamoření. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

7.6 Listopad

Státní veterinární správa vydala další mimořádné opatření, ve kterém uložila obcím ve vyjmenovaných oblastech provést soupis všech hospodářství s chovem domácích prasat a dalších zařízení s chovem druhů z čeledi prasatovitých. Neregistrované chovy v oblasti uvnitř ohradníků musí do začátku prosince provést porážku. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

Hlavní prioritou je, aby se nákaza nedostala do chovů prasat domácích. Chovatelé musí dodržovat tato kritéria biologické bezpečnosti: nekrmit prasata odpady z veřejného stravování nebo kuchyňskými odpady, zamezit styku domácích prasat s divokými, zajistit výměnu oblečení při vstupu i výstupu do/z chovu, domácí porážky je nutné hlásit tři dny předem na krajskou veterinární správu, pro všechny přesuny prasat je potřeba mít veterinární osvědčení, je zakázáno používat na zkrmování čerstvou trávu a podestýlat slámou a hospodářství zabezpečit oplocením, které zamezí vstupu zvířat z okolního prostředí. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

7.7 Prosinec

V tzv. červené zóně bylo odloveno či odchyceno 540 divokých prasat. SVS eviduje u 15 divočáků africký mor prasat. U 179 nalezených uhynulých divočáků se AMP potvrdil, ale všechny kusy pocházejí z vysoce rizikové oblasti. V oblasti s intenzivním odlovem bylo odloveno již 10608 divokých prasat, ale nákaza se u žádného zvířete nepotvrdila. (AMP / Státní veterinární správa, 2017)

7.8 Leden

Na začátku roku 2018 SVS eviduje první případy potvrzené nákazy AMP v oblasti vně ohradníků, ale stále ještě v červené zóně zamořené oblasti zhruba 1,5 až 2,5 kilometrů za ohradníky. Nákaza byla potvrzena u šesti kusů divokých prasat různých věkových kategorií a pohlaví. (AMP / Státní veterinární správa, 2018)

KVS vydala 9. 1. 2018 nová mimořádná opatření. Vysoce riziková oblast se zvětšila o obce Jaroslavice u Zlína, Kudlov, Lípa nad Dřevnicí a Želechovice nad Dřevnicí. Tyto obce musejí provést soupis všech hospodářství s chovem prasat. Chovatelé domácích prasat z neregistrovaných hospodářství musejí do konce ledna všechna prasata porazit a od 1. 2. 2018 mají zakázáno prasata chovat. (AMP / Státní veterinární správa, 2018)

V obci Želechovice má chovatelka vietnamské prase chované jako domácího mazlíčka. Prase je čipované a registrované u Českého klubu chovatelů prasátek chovaných v domácnosti. Po prověření zdravotního stavu zvířete a poučení majitelky o zásadách biologické bezpečnosti byla udělena majitelce výjimka. (AMP / Státní veterinární správa, 2018)

7.9 Únor

Krajská veterinární správa pro Zlínský kraj vydala nová mimořádná opatření, která reagují na zmenšení zamořené oblasti. Doposud to byl celý okres Zlín. Změny se týkají vztahu k vyplácení zástřelného a nálezného. Honitby, které již nejsou součástí zamořené oblasti, mohou nárokovat zástřelné odpovídající oblasti s intenzivním odlovem. Po vyšetření na přítomnost cizopasníka svalovce, mohou maso z ulovených divokých prasat konzumovat či uvádět na trh. Dále nemohou nárokovat kompenzace za ušlý zisk v důsledku likvidace ulovených těl. (AMP / Státní veterinární správa, 2018)

Od 1. 2. 2018 SVS ve Zlínském kraji eviduje 12 nalezených uhynulých divokých prasat. AMP byl potvrzen pouze u bachyně nalezené ve vysoce rizikové oblasti. (AMP / Státní veterinární správa, 2018)

22. 2. 2018 bohužel zase došlo k rozšíření zamořené oblasti a to v reakci na nedávné pozitivní nálezy a odlovy divokých prasat, které se přiblížily k jižní hranici zamořené oblasti. Druhým opatřením jsou nařízené porážky prasat v neregistrovaných chovech v nově vymezené zamořené oblasti. Nařízené porážky se týkají 103 domácích prasat v 54

neregistrovaných chovech. Za nesplnění či porušení povinnosti může správní orgán uložit pokutu až 100 tis. Kč. (AMP / Státní veterinární správa, 2018)

7.10 Březen

SVS vyhlásila nová mimořádná opatření. Všechny přesuny do neregistrovaných chovů v ČR je nutné evidovat a do Zlínského kraje jsou zakázány, dovoleny jsou pouze ty do registrovaných chovů. Každý registrovaný chovatel prasat, jehož hospodářství je evidované dle plemenářského zákona, je povinen vést evidenci prasat, která prodá či přemístí do neregistrovaného chovu. Evidence musí obsahovat počet přemísťovaných prasat, datum, jméno a adresu dopravce i chovatele. Evidence prasat určených pro domácí porážku se musí uchovávat nejméně jeden rok od přemístění. Uvedená opatření mají zlepšit kontrolu nad přemísťováním prasat a zabránit případnému šíření AMP. Tato opatření přijaly všechny státy EU i ty, kde se zatím africký mor prasat nevyskytl. (AMP / Státní veterinární správa, 2018)

7.11 Duben

Státní veterinární správa ukončila mimořádná opatření, která zakazují použití antiparazitárních přípravků u spárkaté zvěře. V honitbách antiparazika znemožňovala konzumaci zvěřiny a negativně to ovlivňovalo lov divokých prasat, což bylo klíčové při maximálním zintenzivnění lovu černé zvěře na celém území ČR. Uživatelé honiteb, kteří měli již zakoupená antiparazika pro letošní rok a nemohli je z důvodu uvedeného nařízení použít, mohou nyní požadovat náhradu. (AMP / Státní veterinární správa, 2018)

Od začátku února až do konce dubna se eviduje ve Zlínském kraji 101 nalezených uhynulých divokých prasat. Pouze u 12 kusů se AMP potvrdil. V zamořené oblasti bylo odloveno celkem 398 divočáků, u jednoho z nich se AMP potvrdil. V oblasti s intenzivním odlovem bylo zastřeleno 2726 divokých prasat a to nejvíce v okresech Uherské Hradiště, Kroměříž a Hodonín, ale ani u jednoho se africký mor prasat nepotvrdil. (AMP / Státní veterinární správa, 2018)

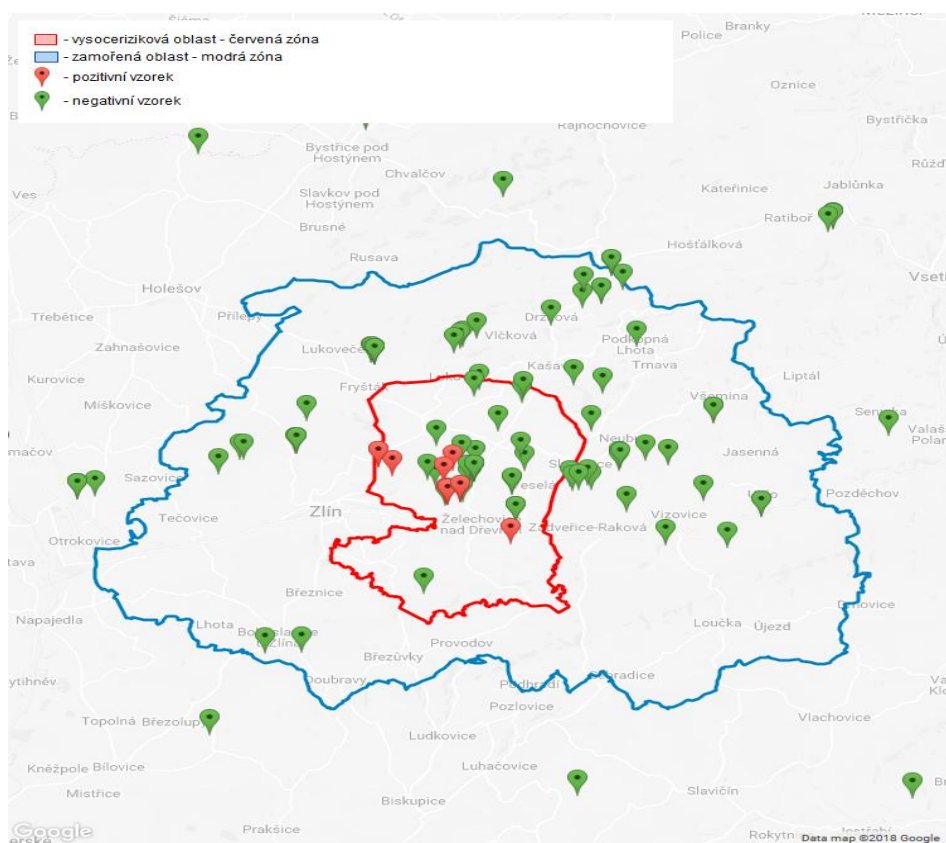
7.12 Květen

Na konci měsíce května SVS eviduje ve Zlínském kraji 126 nalezených uhynulých prasat. Africký mor prasat (AMP) byl potvrzen u 12 kusů nalezených ve vysoce rizikové oblasti. Během stejného období lovci v zamořené oblasti odlovili celkem 538 divočáků. Vyšetření AMP prokázalo pouze u jednoho kusu odloveného v katastrálním území Lužkovice

uvnitř ohradníků. V oblasti s intenzivním odlovem bylo od začátku února zastřeleno 3674 divokých prasat. Z toho nejvíce v okresech Uherské Hradiště (645), Kroměříž (592) a Hodonín (559). Ani jedno z prasat ulovených v oblasti s intenzivním odlovem AMP nemělo. (AMP / Státní veterinární správa, 2018)

7.13 Červen 2018

Přesně rok poté, co nákaza propukla i v České republice. Za měsíc červen eviduje SVS ve Zlínském kraji 137 nalezených uhynulých divokých prasat. AMP byl potvrzen u 12 kusů nalezených ve vysoce rizikové oblasti. Ve stejném období lovci v zamořené oblasti odlovili 653 divočáků. V oblasti s intenzivním odlovem bylo od začátku února zastřeleno 4305 divokých prasat. Z toho nejvíce v okresech Uherské Hradiště (747), Kroměříž (683) a Hodonín (641). Ani jedno z prasat ulovených v oblasti s intenzivním odlovem AMP nemělo. (AMP / Státní veterinární správa, 2018)



Obr. 10: Výsledky vyšetření uhynulých prasat ve Zlínském kraji ke dni 11. 6. 2018

(převzato z <https://www.svscr.cz/amp-mapy/>, staženo dne 20. 6. 2018)

8. Závěr

Bakalářská práce se zaměřila na vysoce infekční virové onemocnění africký mor prasat. V práci jsem se shrnula základní informace o DNA viru rodu Asfivirus, čeledi Asfiviridae, který toto onemocnění způsobuje. Dále jsem popsala situaci v rozšíření nákazy jak v Evropě, tak i v České republice. Mor propukl už v letech 1995-2007 na ostrovech Mauricius a Madagaskar a šířil se dál do evropských zemí. Do České republiky se dostal až v červnu 2017 a to v Zlínském kraji, odtud se s podivem nikam jinam nerozšířil.

Mor mezi sebou přenáší nakažená prasata a to oronazální cestou. Významným rezervoárem viru je také klíšťák rodu Ornithodoros. Na člověka se tento vir nepřenáší a nepředstavuje pro něj žádné nebezpečí.

K zabránění nákazy je potřeba dodržovat předepsaná hygienická pravidla. Především chránit území před dovozem zvířat, masa a tepelně neošetřených výrobků z oblastí, kde se nákaza vyskytuje a zamezit vniknutí volně žijících zvířat do hospodářství.

Velká část mé práce se věnuje detekčním metodám a průkazu AMP v biologickém materiálu. Mezi nejrozšířenější metody patří FAR, ELISA a PCR. Přímá fluorescenční metoda se používá k detekci v otiskových preparátech či zmraženém biologickém materiálu, polymerázová řetězová reakce je založena na zmožení vybraného úseku DNA a v neposlední řadě ELISA slouží k detekci viru afrického moru prasat při akutní formě.

9. Seznam použitých zdrojů

Fakta o AMP / Africký mor prasat [online]. 2017 [cit. 2018-01-12] Dostupné z: <http://www.africkymorprasat.cz/fakta-o-amp>

Africký mor prasat (AMP) | Státní veterinární správa [online]. 2016 [cit. 2018-01-24] Dostupné z: <https://www.svscr.cz/zdravi-zvirat/africky-mor-prasat-amp/>

ČMMJ – Africký mor prasat [online]. 2009 [cit. 2018-01-31] Dostupné z: <http://www.cmmj.cz/Aktuality/Aktuality/Africky-mor-prasat/>

Myslivost - Africký mor prasat – historie a současnost [online]. 2017 [cit. 2018-01-31] Dostupné z: <http://www.myslivost.cz/Casopis-Myslivost/Myslivost/2017/Cerven-2017/>

Africký mor prasat – veterinární opatření [online]. 2014 [cit. 2018-02-10] Dostupné z: <http://www.chovservis.cz/>

Infekční choroby zvířat II - Virové a prionové infekce [online]. 2014 [cit. 2018-02-17] Dostupné z: <http://www.vfu.cz/inovace-bc-a-navmgr/realizovane-klicove-aktivity/skripta/ls-2013-2014/infekcni-choroby-zvirat-ii.-virove-a-prionove-infekce.pdf>

Diagnostická příručka afrického moru prasat - Státní veterinární správa [online]. 2003 [cit. 2018-02-25] Dostupné z: http://www.svscr.cz/wp-content/files/pohoda-zvirat/Diagnostick_pruka_africkho_moru_prasat.pdf

ONZERE, C. K. **Multi- locus sequence typing of African swine fever viruses from endemic regions of Kenya and Eastern Uganda (2011–2013) reveals rapid B602L central variable region evolution.** *Virus genes*. 2018, 54 (1), 111 – 113

Africký mor prasat - Státní veterinární ústav Jihlava [online]. 2014 [cit. 2018-06-05] Dostupné z: <https://www.svujihlava.cz/intranet/publikace/2014.Bartak.Vaclavek1.PDF>

ELISA - Univerzita Karlova [online]. 2011 [cit. 2018- 06-08] Dostupné z: <http://mikrobiologie.lf3.cuni.cz/bak/uceb/obsah/elisa/elisa.htm>

PCR | LabGuide.cz – Průvodce laboratoří [online]. 2014 [cit. 2018- 06-10] Dostupné z: <http://labguide.cz/metody/pcr/>

CUCCIOLINI, M. **Chimeric DNA/LNA-based biosensor for the rapid detection of African swine fever virus.** *Talanta*. 2018, 184, 35 - 41

Africký mor prasat [online]. 2017[cit. 2018- 06-08] Dostupné z: http://www.agris.cz/lesnictvi/africky-mor-prasat-mesic-druhy-zastaveni-nakazy-?id_a=197169

REVILLA, Y. **African swine fever virus (ASFV) protection mediated by NH/P68 and NH/P68 recombinant live-attenuated viruses.** *Vaccine*. 2018, 36 (19), 2694-2704

ARIAS, M. **Gaps in African swine fever: Analysis and priorities.** *Transboundary and emerging diseases*. 2018, 65, 235 - 247

KARALYAN, Z. A. **Characterization of the atypical lymphocytes in African swine fever.** *Veterinary world*. 2016, 9 (7), 792 - 800

ALONSO, C. **ICTV Virus Taxonomy Profile: Asfarviridae.** *Journal of general virology*. 2018, 99 (5), 613 - 614

FRANT, M. **African swine fever (ASF) and ticks. No risk of tick-mediated ASF spread in Poland and Baltic states.** *Journal of veterinary research*. 2017, 61 (4), 375 - 380

ACHENBACH, J. E. **Identification of a New Genotype of African Swine Fever Virus in Domestic Pigs from Ethiopia.** *Transboundary and emerging diseases*. 2017, 64 (5), 1393 – 1404

DIXON, L. K. **African swine fever: A re-emerging viral disease threatening the global pig industry.** *Veterinary journal.* 2018, 233, 41 – 48

KAZAKOVA, A.S. **Recombinant Protein p30 for Serological Diagnosis of African Swine Fever by Immunoblotting Assay.** *Transboundary and Emerging diseases.* 2017, 64 (5), 1479 - 1492

RENNIE, L. **Transovarial transmission of African swine fever virus in the argasid tick *Ornithodoros moubata*.** *Medical and veterinary entomology.* 2001, 15 (2), 140 – 146

Immunoblotting [online]. 1989 [cit. 2018 – 06 - 25] Dostupné z: <http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/cd/hypertext/ILACJ.htm>

BELTRAN – ALCRUDO, D. **The African swine fever epidemic in West Africa, 1996-2002.** *Transboundary and emerging diseases.* 2018, 65 (1), 64 – 76