

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH**

**ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

Studijní program: Speciální zemědělství

Studijní obor: Biologie a ochrana zájmových organismů

Katedra: Katedra zootechnických věd

Vedoucí katedry: doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

# **Hamster Polyomavirus**

**Tereza Vernerová**

vedoucí bakalářské práce

prof. Ing. Jindřich Čítek CSc.

České Budějovice, 2015

Prohlašuji, že jsem svou bakalářskou práci vypracovala samostatně, pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou - elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne .....

.....  
Tereza Vernerová

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu práce prof. Ing. Jindřichu Čítkovi CSc. za pomoc při zpracování této bakalářské práce a poskytnutí důležitých informací. Dále děkuji chovatelům a především předsedkyni Českého křeččího klubu Janě Svobodové za ochotnou spolupráci a také chovatelce Mgr. Markétě Flekové za poskytnutí fotografií nakažených křečků.

## **Anotace**

Bakalářská práce je zaměřena na virové onemocnění Hamster Polyomavirus vyskytující se u křečků syrských (*Mesocricetus auratus*). Nabízí souhrnný přehled příznaků choroby, způsobů testování, možnosti léčby, preventivní opatření a rady pro chovatele.

Klíčová slova: Hamster polyomavirus, HaPyV, HaPV, křeček syrský

## **Annotation**

Bachelor thesis is focused on viral disease Hamster Polyomavirus, occurring by syrian hamster (*Mesocricetus auratus*). It summarizes symptoms of the disease, methods of testing, cure possibilities, precautin and guidance for breeders.

Key words: Hamster polyomavirus, HaPyV, HaPV, syrian hamster

# Obsah

1. Úvod .....	9
2. Cíl práce.....	10
3. Viry .....	11
3.1. Stručná systematika virů .....	11
3.2. Biologie virů.....	12
4. Polyomaviry.....	13
4.1. Systematika polyomavirů .....	14
4.2. Polyomavirus struktura, genom a životní cyklus .....	15
5. Hamster Polyomavirus .....	16
5.1. Příznaky choroby.....	17
6. Polyomavirus SV40 a jeho účinky u křečků syrských .....	19
7. Diagnostika virů.....	20
7.1. Izolace infekčního viru .....	21
7.2. Identifikace virového antigenu pomocí specifických protilátek .....	21
7.2.1. Test neutralizace viru .....	21
7.2.2. Test ELISA .....	22
7.2.3. Test imunofluorescence .....	22
7.3. Identifikace virových proteinů .....	23
7.3.1. Imunodifúzní test .....	23
7.3.2. Elektoroforéza .....	24
7.3.3. Western blot (imunoblot).....	24
7.3.4. Imunodot .....	25
7.4. Detekce virové DNA nebo RNA.....	26
7.4.1. Polymerázová řetězová reakce (PCR).....	26

7.4.2.	Reverzně transkriptázová PCR (RT-PCR).....	27
7.4.3.	Kvantitativní PCR v reálném čase („real time PCR“)	28
7.5.	Znázornění virových částic v elektronovém mikroskopu .....	29
7.6.	Sérologické reakce .....	29
8.	Diagnostika HaPV .....	30
9.	Možnosti léčby .....	31
10.	Doporučení pro chovatele .....	32
11.	Závěr.....	34
12.	Použitá literatura.....	35

# 1. Úvod

Téma Hamster polyomavirus u křečků syrských jsem si vybrala, jelikož informace o tomto virovém onemocnění v České republice nejsou příliš rozšířené. Dokonce ani většina veterinárních lékařů o tomto viru nic neví a nádory na křečcích, které tento vir způsobuje, považují za rakovinové. Proto jsem se rozhodla vytvořit rešeršní práci, která může sloužit i jako studijní materiál k veterinárním účelům. Tato práce také poskytne informace současným chovatelům křečků jak virus v chovu poznat, jak proti němu bojovat a jak se vyvarovat případné nákaze.

Hamster polyomavirus je virové onemocnění z čeledi *Polyomaviridae* napadající křečky syrské (*Mesocricetus auratus*). Obecně je známo, že se vir přenesl na křečka syrského v německé laboratoři z křečka polního. Poté se šířil do Anglie a došlo k velkému propuknutí nákazy ve Švédsku. Po určitém období klidu se vyskytl v Holandsku, Německu a opět ve Švédsku. Ve Švédsku se vyskytoval ještě v roce 2014 a možná stále vyskytuje.

Práce byla vytvářena ve spolupráci s chovateli Českého křeččího klubu (ČKK), kterým způsobil tento virus velké problémy v chovech. Virus se poprvé vyskytl v ČR v roce 2006, kdy byl dovezen z Holandska komerčním prodejcem spolu s křečky nové kresby srsti – bílý spodek/bíle stříkaný. Díky těmto dovezeným křečkům se virus šířil chovy českých drobnochovatelů v průběhu následujících let. K prvnímu pozorování nákazy došlo počátkem roku 2007. Několik chovatelů muselo přerušit chov. Mělo se za to, že se nákaza podchytila včas. V roce 2012 byl Český křeččí klub nucen zrušit výstavu v květnu vzhledem k novému propuknutí infekce v chovech ČKK. Nicméně se již v roce 2013 v chovech členů ČKK virus běžně nevyskytoval. I přesto je velmi pravděpodobné, že se HaPyV v některých chovech stále nachází. Nedávno na 10. Mezinárodní výstavě ČKK, která se konala 26. 9. 2015 v Praze, bylo podezření na tuto nemoc u jedné samice importované z Maďarska. Tato samice měla nádor pod bradou. Chovatelka jí nechala testovat na HaPyV a toto podezření se naštěstí nepotvrdilo.



## 2. Cíl práce

Cílem práce je zpracovat kompletní literární studii zabývající se polyomavirem (HaPV, HaPyV) u křečků syrských (*Mesocricetus auratus*). Pozornost bude věnována genetickému pozadí choroby - mutace, genetické markery a dědičnost. Práce může sloužit i jako studijní materiál českým veterinárním lékařům, kteří o tomto onemocnění zatím příliš nevědí, ale i samotným chovatelům těchto zvířat. Součástí budou i nově stanovená chovatelská doporučení jak se vyhnout nákaze tímto virem a jak zabránit rozšíření nemoci do dalších chovů.

## 3. Viry

### 3.1. Stručná systematika virů

Tab. 1: Systematika virů (Campbell a Reece, 2006)

Nukleová kyselina	Viry	Příklady/choroby
dsDNA - Dvouřetězcová (double-stranded)	Papovaviry	<u>Papilomavirus</u> – bradavice, rakovina děložního hrdla
		<u>Polyomavirus</u> – tvorba nádorů
	Adenoviry	respirační choroby, tvorba nádorů
	Herpesviry	Herpes simplex typ I – opary na rtu
		Herpes simplex typ II – opary na genitáliích
		Virus varicella zooster – plané neštovice, pásový opar
		Virus Epstein a Barrové – mononukleóza, Burkittův lymfom
	Poxviry	Virus pravých neštovic
		Virus vakcinie
		Virus kravských neštovic
ssDNA - Jednořetězcová (single stranded)	Parvoviry	Rozeola – růžovka
		Rozmnožování většiny parvovirů je závislé na přítomnosti nějakého adenoviru
dsRNA – dvouřetězcová (double stranded)	Reoviry	průjem, lehké respirační choroby
ssRNA – jednořetězcová (single stranded), která může sloužit jako mRNA	Pikornaviry	Poliovirus
		Rinovirus – rýma
		Enterovirus
	Togaviry	Virus zarděnek
		Virus žluté zimnice Viry způsobující encefalitidu
ssRNA - jednořetězcová (single stranded), sloužící jako templát pro mRNA	Rabdoviry	Virus vztekliny
	Paramyxoviry	Virus spalniček Virus příušnic
	Ortomyxoviry	Influenza virus – chřipka
ssRNA - jednořetězcová (single stranded), sloužící jako templát pro syntézu DNA	Retroviry	RNA-onkoviry např. viry způsobující leukémii
		HIV – choroba AIDS

### 3.2. Biologie virů

Virus je infekční částice tvořená nukleovou kyselinou (DNA nebo RNA) uzavřená v bílkovinném obalu (kapsidě), občas obklopená ještě membránovým obalem (Campbell a Reece, 2006). Viry jsou infekční částice schopné replikace v živé buňce, ale ne mimo ni. Mimo buňku viry existují jako „neživé“ agregáty makromolekul obsahující určitý druh nukleové kyseliny (RNA nebo DNA), bílkoviny a lipidy. Bílkoviny neobalené virové částice neboli virionu tvoří podjednotky, které jsou uspořádané podle pravidel symetrie. U většiny virů tvoří strukturní proteiny pravidelný krystalický útvar zvaný kapsid. Kapsid může, ale nemusí, být obalen vnějším lipidovým obalem. Bílkoviny kapsidu, jakož i obalu jsou ve virionu přítomny ve větším počtu kopií, ale sekvence nukleové kyseliny, která je uložena v jádru virionu, je nejčastěji přítomna v jedné kopii, výjimečně ve dvou kopiích (Rajčáni a Čiampor, 2006). Bílkovinné podjednotky, ze kterých se skládá kapsid, se nazývají kapsomery (Campbell a Reece, 2006).

## 4. Polyomaviry

Dříve byli Polyomaviry a Papilomaviry řazené do jedné čeledě a to *Papovaviridae*. Obě tyto čeledě jsou malé neobalené viry DNA, které obsahují jeden dvouvláknový cirkulární DNA genom s ikosaedrální kapsidou. Kromě toho mají schopnost způsobovat maligní neoplazie a používají podobné strategie, převzít kontrolu nad hostitelské buňky DNA replikace a transkripce procesů (Howely, 1995). Později bylo potvrzeno, že se tyto dvě skupiny virů významně liší velikostí genomu (papilomaviry 8kb, polyomaviry 5kb) a organizací. Kódují také různý počet a typ strukturálních a non-strukturálních bílkovin a tak jsou v současné době klasifikovány jako dvě samostatné čeledi v Mezinárodním výboru na taxonomii virů - International Committee on the Taxonomy of Viruses – ICTV (Howley a Lowy 2001).

Polyomaviry (PyV) jsou malé, přenosné, hostitelsky přizpůsobivé viry, napadající člověka a různé druhy savců a ptáků. Od objevu myšího polyomaviru (PyV) v roce 1953, jsou tyto viry intenzivně studovány a pomohli lépe porozumět regulaci buněčného cyklu, onkogenům a tumor supresorových genů (Cole and Conzen 2001).

V čeledi *Polyomaviridae* a jejím jediném rodu *Polyomavirus* bylo 16 polyomavirů geneticky charakterizovaných a zapsaných v NCBI GenBank viz Tab. 2. Fylogenetická analýza sekvencí všech polyomavirů ukázala samostatné větvení savčích a ptačích polyomavirů, naznačující samostatné seskupení a fylogenetický vývoj těchto virů (Perez-Losada a kol. 2006, Johne a kol. 2006).

## 4.1. Systematika polyomavirů

**Tab. 2:** Genová charakteristika polyomavirů (Woolford, 2008)

Hostitelské druhy	Druh polyomaviru	GenBank přístupový kód	Kódované proteiny	Velikost genomu	Citace
Myši	Murine polyomavirus (MPyV)	<a href="#">NC 001515</a>	VP1,VP2, VP3, velký T antigen, střední T antigen, malý t antigen	5297 nt Párů bází	(Deninger a kol. 1980)
	Murine pneumotrophic disease virus (MptV)	<a href="#">NC 001505</a>	VP1,VP2, VP3, velký T antigen, střední T antigen, malý t antigen, malíček t antigen	4754	(Mayer a Dörries 1991)
Křečci	Hamster polyomavirus (HaPyV)	<a href="#">NC 001663</a>	VP1,VP2, VP3, velký T antigen, střední T antigen, malý t antigen	5366	(Delmas a kol. 1985)
Ptáci	Budgerigar fledgling disease virus (BFDV)	<a href="#">NC 004764</a>	VP1,VP2, VP3, agno-like protein, velký T antigen, malý t antigen	4981	(Muller a Nitschke 1986)
	Goose haemorrhagic disease virus (GHDV)	<a href="#">NC 004800</a>	Putative ORF-X, putative protein 2, putative protein, 3, putative protein 1, putative velký T antigen, putative malý t antigen	5256	(Johne a Muller 2003)
	Crow polyomavirus (CPyV)	<a href="#">NC 007922</a>	Putative ORF-X, putative VP1, putative VP2, putative VP3, putative velký T antigen, putative malý t antigen	5079	(Johne a kol. 2006b)
	Finch polyomavirus (FPyV)	<a href="#">NC 007923</a>	Putative ORF-X, putative VP1, putative VP2, putative VP3, putative velký T antigen, putative malý t antigen	5278	(Johne a kol. 2006b)
Skot	Bovine polyomavirus	<a href="#">NC 001442</a>	VP1, VP2, VP3, velký T antigen, malý t antigen, agnoprotein	4697	(Schuurman a kol. 1990)
Člověk	JC polyomavirus	<a href="#">NC 001699</a>	VP1, VP2, VP3, velký T antigen, malý t antigen, agnoprotein	5130	(Frisque a kol. 1984)
	BK polyomavirus	<a href="#">NC 001538</a>	VP1, VP2, VP3, velký T antigen, malý t antigen, agnoprotein	5153	(Seif a kol. 1979)
	WU polyomavirus	<a href="#">NC 009539</a>	VP1, VP2, VP3, velký T antigen, malý t antigen	5229	(Gaynor a kol. 2007)
	KI polyomavirus	<a href="#">NC 009238</a>	VP1, VP2, VP3, velký T antigen, malý t antigen	5040	(Allander a kol. 2007)
Primáti	African green monkey polyomavirus / Lymphotropic polyomavirus (LPyV)	<a href="#">NC 004763</a>	VP1, VP2, VP3, velký T antigen, malý t antigen	5270	(Pawlita a kol. 1985)
	Baboon polyomavirus/ Simian agent 12 (Sa12)	<a href="#">NC 007611</a>	VP1, VP2, VP3, velký T antigen, malý t antigen, agnoprotein, micro RNA precursor	5230	(Cantalupo a kol. 2005)
	Simian virus 40 (SV40)	<a href="#">NC 001669</a>	VP1, VP2, VP3, velký T antigen, malý t antigen, early leader protein, agnoprotein	5243	(Fiers a kol. 1978)
	Squirrel monkey polyomavirus	<a href="#">NC 009951</a>	VP1, VP2, VP3, velký T antigen, malý t antigen	5075	Nepublikováno

## 4.2. Polyomavirus struktura, genom a životní cyklus

Polyomaviry jsou malé, neobalené DNA viry s ikosahedralní proteinovou kapsidou přibližně 45nm v průměru (Woolford, 2008). Neobalená kapsida se skládá ze 72 kapsomer. Molekula dvouvláknové DNA má přibližně 5000 bázových párů a je cirkulární (kruhově uzavřená). Její rychlá oblast kóduje nestrukturní proteiny komplexu T-antigenů. Je to rychlý protein, který aktivuje transkripci v hostitelské buňce. U polyomavirů primátů se vyskytuje velký a malý T-antigen (T a *t*), zatímco u polyomavirů hlodavců se zjišťují tři T-antigeny (velký, střední a malý). Názvy těchto nestrukturálních proteinů vychází ze zjištění, že protilátky proti nim se vyskytují u zvířat, které mají nádory vyvolané polyomaviry. Pozdní oblast genomu polyomavirů kóduje kapsidové proteiny VP1 , VP2 , VP3 a protein *agno*. Protein *agno* je pozdní nestrukturální protein, který se podílí na morfogenezi neboli skladbě kapsidu. DNA SV40 má čtecí rámce kódující 5-7 proteinů, z nich nejméně dva jsou umístěny na opačném, komplementárním vlákně dsDNA.

Orientace přepisu časných a pozdních mRNA je protisměrná, je řízena regulačními sekvencemi, ze které se rozbíhá transkripce v obou směrech (ve směru hodinových ručiček u pozdních mRNA a proti směru hodinových ručiček u časných mRNA). Regulační sekvence obsahuje oblast Ori (pro vazbu T - antigenu a pro iniciaci replikace vDNA). Obsahuje promotor s TATA boxem (pro přichycení RNA - polymerázy) a několik dalších regulačních elementů (např. pro vazbu buněčného transkripčního faktoru SP1, pro zpětnou vazbu T-antigenu), které slouží na koordinaci časných a pozdních transkripce (Rajčáni a Čiampor, 2006).

## 5. Hamster Polyomavirus

Hamster polyomavirus poprvé popsal A. Graffi se svými spolupracovníky v roce 1967 jako virus spojený s nadměrným růstem kožního epitelu u syrských křečků. Nádory se samovolně objevovaly v křeččí kolonii chované v Berlín-Buch (kolonie označena Hab). Částice viru izolované z kožních nádorů vyvolávaly po injekční aplikaci do nově narozených mláďat z odlišné kolonie chované v Postupimi (kolonie označena Hap) lymfomy a leukemii. Genom viru byl kompletně sekvenován a genetické organizace označili Hamster polyomavirus (HaPV, HaPyV) jako zástupce polyomavirů (Scherneck a Ulrich, 2001). Genom HaPV se skládá z jedné uzavřené kruhové molekuly spojené histony dvouvláknové DNA složené z 5366 párů bází (Simmons a kol., 2001).

Inkubační doba infekce a rozvoj kožních uzlíků je čtyři až osmáct měsíců. A je pravděpodobné, že křeččí kolonie budou enzooticky nakaženy v době, kdy jsou pozorovány kožní léze. Neexistuje efektivní léčba infekce, a také nelze přesně diagnostikovat případy, které už jsou infikované nebo ty, kterým se teprve vyvinou kožní léze (Foster a kol., 2002).

**Obr. 1:** Nádory na hlavě (Foto: Fleková, 2012)



## 5.1. Příznaky choroby

Hamster polyomavirus je přirozeně se vyskytující, vysoce přenosné virové onemocnění syrských křečků (*Mesocricetus auratus*). Hlavním příznakem choroby je výskyt vícenásobného kožního epitelomu. Tyto kožní nádory se vyskytují především na bradě, hlavě, krku, zádech a často také kolem očí a ušních boltčích. Dále jsou patrné zduřelé uzliny. Objevují se ve více centrech rozložené po těle v kůži a podkoží, kde utváří masivní vrstvu. Histologicky je nádor způsoben proliferací (množením, šířením) nadměrného růstu buněk vlasového kořene, což utvoří cystám podobnou hmotu naplněnou zrohovatělým materiálem někdy obsahující melanin (Scherneck a kol., 2001).

**Obr. 2:** Nádor na zadní končetině (Foto: Fleková, 2012)



Částice viru se hojně vyskytují v (diferenciované) rohové vrstvě kůže, ale chybí v proliferujících buňkách *stratum basale* a *stratum spinosum*. Toto těsné propojení mezi ukončením produktivního cyklu viru a terminální diferenciací kožního epitelu nápadně připomíná infekci papillomavirem. Nicméně tyto dva patologické jevy se liší podle původu virem napadených buněk. Původem mohou být buď keratinocyty vlasových folikulů pro HaPV nebo mezifolikulární epidermis keratocytů pro papillomaviry. Vyšší výskyt epitelomu vlasových folikul byl zaznamenán mezi mnohačetnými epitelovými nádory vyvolanými infekcí



novorozených myší s vysoce tumorotvornými PTA kmeny polyomavirů (Scherneck a kol., 2001).

Zřejmý rozklad kožních uzlíků u jednoho křečka, který histologicky potvrdil výskyt „adnexálních“ nádorů je velmi neobvyklý, zejména proto, že spontální vývoj a regrese kožních nádorů je u křečků vzácný (Ghadially a Ghadially 1996). Trichoepiteliální nádory jsou považovány za benigní a ne metastázuující. Nicméně v některých případech se počet a velikost nádorů může stát velmi vysilující. Smrt několika zvířat v tomto stavu může být způsobena přidruženým onemocněním nebo stářím, ale může mít spojitost s velkým počtem kožních nádorů. Pitvu bychom měli zvážit u zvířat mladších jednoho roku, která náhle uhynula či akutně onemocněla, zvláště pokud máme podezření na lymfom. I když údaje jasně naznačují, že infekce HaPyV virem byla příčinou kožních nádorů u těchto zvířat ze zájmového chovu, původ takové infekce je neznámý. Má se za to, že se virus šíří močí a je odolný vůči dekontaminaci životního prostředí. Desinfekční látky používané pro parvovirové infekce by měly být účinné. V předchozích ohniscích s HaPyV infekcí byli všichni křečci vyřazeni, prostory byli dezinfikováni a pořízeny nové klece. Tyto postupy byly nezbytné, jelikož předchozí zamoření bylo spojeno s velkou mortalitou následkem vyvíjejících se lymfomů (Foster a kol., 2002).

**Obr. 3:** Rozsáhlé nádory na spodní straně těla (Foto: Anonymus 1)



## 6. Polyomavirus SV40 a jeho účinky u křečků syrských

Syrští křečci byli použiti jako malé zvířecí modely pro studium polyomaviru SV40 neboli Simian virus 40 (Zhang a kol., 2014). Je to opičí virus, který je patogenní i pro člověka. Tento virus byl kontaminantem vakcín proti obrně, protože se tato vakcína připravovala v primárních kulturách ledvinových buněk primátů z čeledi kočkodanovití - Makaků rhesus (*Macaca mulatta*), kteří jsou často přirozeně infikováni virem SV40. Tato vakcína byla používána od roku 1955 do roku 1963. Krátce po objevu viru SV40 se ukázalo, že je silným onkogenním DNA virem (Vilchez a kol., 2004).

Ve studii byly popisovány účinky SV40 mikroRNA a vliv struktury regulační oblasti na dynamiku úrovní SV40 DNA *in vivo*. Mladí jedinci byli naočkováni intrakardiální cestou čtyřmi variantami SV40. Intrakardiální cesta byla použita k bezpečné distribuci viru v celém těle a zjistila tak citlivé tkáně (Zhang a kol., 2014). Způsob očkování viru významně ovlivnil frekvenci protilátkových odpovědí na SV40 antigeny. Intravaskulární naočkování vyvolávalo častější reakce protilátek než intraperitoneální. Toto zjištění naznačuje, že zavedení viru SV40 přímo do krevního řečiště je velice účinné, zatímco absorpce viru peritoneální cestou je méně účinná (Swain a kol., 2012). Zvířata byla utrácena v rozmezí 3 až 270 dnů po vakcinaci a testovala se přítomnost SV40 DNA pomocí real-time PCR testů. Nejčastější nález byl v játrech a ledvinách, vlastně vzorky všech jater a ledvin odebraných do 45. dne, kromě dvou výjimek, byly pozitivní. V ledvinách se virus vyskytoval i po 270. dni. Slezina, plíce a mozek obsahovaly detekovatelnou virovou DNA méně často a virus mizel rychleji. Vzorky svalů a lícních toreb z patnácti zvířat, naočkované 776 viry, byly testovány 3., 7., a 45. den po naočkování a u všech byly nálezy virální DNA negativní (Zhang a kol., 2014).

Z těchto výsledků vyplývá, že nejde zaměnit křečka infikovaného polyomavirem SV40 s křečkem napadeným Hamster polyomavirem, protože se u něho tvoří kožní nádory především na bradě, hlavě, krku, zádech a často také kolem očí a ušních boltců, zatímco vir SV40 u křečků postihuje především vnitřní orgány.

## 7. Diagnostika virů

Při diagnostice virů je typické, že specifický agens určí až laboratorní vyšetření. Klinicky lze diagnostikovat třeba virový zápal dolních cest dýchacích či stanovit encefalitidu virového původu, ale z takové diagnózy nevíme, jaký virus je příčinou příslušného onemocnění. Určení původce virové infekce vyžaduje virologické vyšetření. Klasické virologické metody jsou časově náročné. Jde hlavně o dobu potřebnou pro inkubaci materiálu před odčítáním testů, což se dělá nejčastěji na buněčných kulturách. Úspěšnost virologické diagnostiky je závislá na dodržení zásad odběru, uchovávání, transportu materiálu a také na čase a místě odběru z postiženého organismu (pro izolaci viru je nutné odebrat vzorek zpravidla nejpozději do pátého až šestého dne od vypuknutí příznaků). Současně je potřeba odebrat vzorek časného ale i pozdního séra, ve kterých se liší hladina a druh protilátek (Rajčáni a Čiampor, 2006).

Interpretace výsledků virologických vyšetření vyžaduje zkušeného virologa spolupracujícího s infektologem. Některé protilátky totiž mohou být v nízké hladině přítomny i u většiny zdravých jedinců. Obezřetné interpretace je proto třeba při izolaci virů, které sice mohou mít souvislost s příznaky choroby, ale nemusí být průkazné u konkrétního případu. Dlouhá doba potřebná pro diagnostiku vyplývá z doby potřebné na izolaci viru a je přímo úměrná době replikace viru v infikovaných buňkách nebo v kuřecích zárodcích. Tento problém dnes řeší moderní metody molekulové biologie, které jsou sice rychlejší, ale neprokazují virus jako infekční agens, který je schopný replikace mimo tělo hostitele. Tyto techniky totiž dokazují nejčastější nukleové kyseliny či jen jejich fragmenty, nebo proteiny jako komponenty virů. Komponenty virů je možné v příslušném materiálu přesně a rychle identifikovat (Rajčáni a Čiampor, 2006).

## **7.1. Izolace infekčního viru**

Inokulace - přenos disperzních jednotek patogena na hostitele nebo do hostitele přirozeným nebo umělým způsobem buněčné kultury, se stala základní diagnostickou metodou od objevu rozmnožování viru dětské obrny a mnoha dalších pikornavirech v primokulturách opičích a lidských buněk. Buňky se kultivují za přítomnosti antibiotik na pečlivě upraveném skleněném či častěji používaném plastovém povrchu. Práce s kulturami vyžaduje přísně sterilní podmínky (box s laminárním prouděním sterilního vzduchu). Za 24-48 hodin od inkubace při teplotě 37°C (u některých virů 33-34°C) se objeví cytopatické změny (CPE), které lze nejlépe pozorovat v inverzním optickém mikroskopu (Rajčáni a Čiampor, 2006).

## **7.2. Identifikace virového antigenu pomocí specifických protilátek**

### **7.2.1. Test neutralizace viru**

Klasický a velmi oblíbený je test neutralizace viru. Může být použitý podobně jako ELISA test jak na identifikaci antigenu v kombinaci se známým specifickým antisérem naředěným na předem určenou optimální koncentraci, tak na testování protilátek při známém specifickém antigenu. Test neutralizace viru je zaměřený na biologický efekt interakce antigen protilátka, jejíž účinek měříme na živém detekčním systému, rozmnožujícím virus. Kromě buněčné kultury se v klasické diagnostice používal i jiný živý detekční systém (snížení letální dávky LD<sub>50</sub> pro myši holata, test redukce infekčnosti pro kuřecí zárodek). Při testu redukce infekčnosti pro kuřecí zárodek byl na identifikaci poxvirů rozpracován test redukce počtu zánětlivých ložisek vytvořených na chorioalantoidní bláně po očkování kuřecího embrya neboli pock reduction test (Rajčáni a Čiampor, 2006).

### **7.2.2. Test ELISA**

ELISA patří do skupiny EIA testů. Jedná se o analytické metody, u kterých je možné díky imunochemické reakci s enzymatickou detekcí stanovit ve vzorku koncentraci antigenu nebo protilátky. Indikátorem je enzymový konjugát (Bartůňková a kol., 2005). Test ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) je nejrozšířenější test, který se používá na identifikaci viru jako antigenu (při použití referenčního séra), stejně tak i jako na stanovení protilátek proti referenčnímu antigenu. Na identifikaci solubilního antigenu v testu ELISA se nejčastěji používá referenční hyperimunní sérum nebo z něj získaný imunoglobulin, dodaný výrobcem tak, že byl předem navázán v optimálním ředění na detekční plotýnku. Na takto připravený povrch aplikujeme roztok testovaného antigenu respektive jeho pozitivní a negativní kontrolu. Po inkubaci se v jamce zachytí antigen, nezachycené kontaminující složky odstraníme promýváním. Další postup se podobá testování protilátky (Rajčáni a Čiampor, 2006). Na polystyrenové mikrotitrační destičce s 96 jamkami je na stěny jamek navázána protilátka proti vyšetřovanému antigenu. Většina protilátek je navázána chemicky pomocí různých vazeb např. kovalentních, ale může být navázána jen pomocí absorpce. Místa na polystyrenu, která nejsou obsazena, se blokují albuminem nebo jinou inertní bílkovinou. Naředěný vzorek obsahující antigen se přidá do jamky a inkubuje se určitou dobu. Nenavázané složky se poté odmyjí a přidá se druhá protilátka s nenavázaným enzymem (konjugát). Opět se inkubuje a promývá, poté se reakce vizualizuje přidáním substrátu štěpeného enzymem navázaným na druhou protilátku. Vznikne barevná reakce, která je měřena fotometricky (Bartůňková a kol., 2005).

### **7.2.3. Test imunofluorescence**

Test imunofluorescence (IF) je nejčastěji používaná metoda detekce antigenu v buňkách a v tkáních, v kterých se rozmnožil virus. Princip je podobný jako při ELISA testu. Označená protilátka (konjugát/FITC) se aplikuje přímo, nebo nepřímo. Konjugátem pro přímý test je specifický imunoglobulin proti příslušnému viru nebo jeho jedinému proteinu, na který bylo navázané fluorescenční barvivo,

nejčastěji FITC, Fluorescein isothiokyanat. Alternativním fluoreskujícím barvivem je Rhodamin. FITC fluoreskuje zeleně a Rhodamin dodává červenou fluorescenci. Při nepřímé metodě je fluorescenční barvivo vázané na antisérum proti imunoglobulínu některého zvířecího druhu, z kterého se připravují antiséra proti různým virům nebo proti lidskému imunoglobulínu. Během samotného barvení postupujeme tak, že infikované a kontrolní buňky (při objevení CPE na infikovaných buňkách) fixujeme, a to nejčastěji v acetonu (Rajčáni a Čiampor, 2006).

### **7.3. Identifikace virových proteinů**

#### **7.3.1. Imunodifúzní test**

Imunodifúzní test nabízí nejjednodušší uspořádání, při kterém lze určit identitu virového proteinu (nebo virionu) ve vyšetřovaném vzorku pomocí známého (referenčního) antiséra. Je to klasická metoda na detekci bílkovinných komponentů virionů, které reagují s vhodnými monovalentními séry. Před imunodifúzí čištěné viriony nebo virový extrakt, pocházející z buněk nebo ze sedimentu kultivačního média, opracujeme ultrazvukem nebo solubilizujeme neiontovým detergentem. Po odstranění nerozpustných zbytků odstředěním, jednotlivé vzorky antigenu rozložíme do jamek v tenké vrstvě agarózy, které jsou pravidelně uspořádány kolem centrální jamky. Do centrální jamky nakapeme diagnostické antisérum. V agaróze proti sobě difunduje virový antigen a protilátka, přičemž v místě pozitivní reakce se vytvoří jemný precipitát. Ten lze zvýraznit jako jemný proužek barvením methylenovou modří. Metoda imunodifúze se osvědčila zejména v diagnostice obalových komponent viru chřipky, neboť umožňuje dobře identifikovat antigenové rozdíly mezi hemaglutininem a neuraminidázou u různých sérotypů tohoto viru. Určení typu hemaglutininu a neuraminidázy patří mezi základní metody charakterizace každého izolátu viru chřipky (Rajčáni a Čiampor, 2006).

### 7.3.2. Elektoroforéza

Elektroforéza je metodou analýzy izolovaných virů, kdy určení strukturních bílkovin virionu probíhá na základě jejich molekulové hmotnosti, která se projevuje jejich odlišnou pohyblivostí v elektrickém poli (Rajčáni a Čiampor, 2006). Nejde tedy o metodu založenou na reakci antigen-protilátka, ale tyto metody na ní dále navazují (Bartůňková a kol., 2005). Elektroforéza s cílem rozdělit strukturní proteiny purifikovaného viru probíhá v polyakrylamidovém gelu při standardním napětí, zpravidla v přítomnosti laurylsulfátu sodného (SDS, sodium dodecyl sulfates) (Rajčáni a Čiampor, 2006). Polyakrylamidový gel je hydrofilním gelem homogenního složení s vynikajícími mechanickými vlastnostmi, nízkou absorpcí a elektroosmózou. Látky se dělí podle elektrického náboje i velikosti molekul (Bartůňková a kol., 2005). Proteiny se vzdalují od místa společného startu, přičemž nejvyšší pohyblivost vykazují molekuly s nejmenší hmotností. Gel lze připravit v hustotním gradientu podle stupně polymerace a zesítnění, což usnadňuje rozdělení látek podle velikosti molekul při elektroforéze (Bartůňková a kol., 2005). Po ukončení dělení lze gel obarvit barvivem *Commassie brilliant blue* nebo sraženinou stříbra. Nevýhodou této metody je potřeba purifikace viru (Rajčáni a Čiampor, 2006). Elektroforézy se využívá k základní orientaci v zastoupení bílkovin v krvi (albumin, alfa 1, alfa 2, beta a gamaglobuliny). Pro imunologii je nejvýznamnější gamafrakce obsahující imunoglobuliny. Elektroforézou zachytíme jen hrubé změny, jakými jsou například hypergamaglobulinemie (zvýšená koncentrace všech imunoglobulinů), hypogamaglobulinemie (snížení či absence imunoglobulinů) či monoklonální gamapatie (deformace gamafrakce v úzký proužek za přítomnosti monoklonálního imunoglobulinu, tzv. peak). Při patologických nálezech v gamafrakci se dále využívá podrobnějších metod – kvantitativní stanovení imunoglobulinů a imunoelektroforéza (Bartůňková a kol., 2005).

### 7.3.3. Western blot (imunoblot)

Při dělení nepurifikovaného extraktu infikované buňky je potřeba mít k dispozici imunní sérum na identifikaci virových proteinů. Tato metoda se označuje Western

blot nebo imunoblot. Je kombinací elektroforetického přenosu proteinů z gelu na membránu s následnou aplikací podobných činidel jako při testu ELISA. Sérum a protilátku označenou enzymem (konjugát) aplikujeme na nylonovou membránu, na které se po ukončení elektroforézy v gelu přichytily oddělené difundované proteiny. Přenos na membránu se obvykle dosahuje v elektrickém poli. Na závěr membránu obarvíme protilátkou a enzymem značenou protilátkou a nakonec reakci vyvoláme přidáním činidel detekujícím enzym. Na membráně budou znázorněny pouze ty bílkoviny, se kterými reaguje příslušné sérum, přičemž nebudou viditelné ostatní přítomné proteiny, zejména ty, co nejsou virového původu. Jak již bylo řečeno, tento test se často používá i v opačném uspořádání, tedy jako sérologický test. Při takovém uspořádání se zjišťuje, se kterými bílkovinami prototypových viru použitými při elektroforéze reaguje testované sérum, například sérum od pacientů pozitivních v testu ELISA na protilátky anti-HIV-1 reaguje s více strukturní bílkovinami viru HIV (Rajčáni a Čiampor, 2006).

#### 7.3.4. Imunodot

Jednoduchou, v terénu často používanou metodou detekce virových proteinů je technika imunitní skvrny (imunodot). Při této metodě je antigenem *in vitro* celý purifikovaný a solubilizovaný virus, jehož vzorek spolu s příslušnými kontrolami (negativní a pozitivní) navážeme na vhodný nosič (nylonovou membránu). Jako protilátka se obvykle používá monospecifické antisérum, které reaguje s jediným důležitým proteinem příslušného viru. Některé testovací proužky detekují jak virový antigen, tak protilátku v stejném vzorku krevní plazmy. Testovací vzorek krevní plazmy nebo séra se aplikuje do jamky ležící na jedné straně detekčního proužku. Do jamky ležící z druhé strany detekčního proužku se aplikuje označený antigen (na reakci s protilátkou), a také označena protilátka (na reakci s antigenem). Směs těchto reagensů dodává výrobce. Na konci proužku je aktivátor, který spustí enzymovou reakci na identifikaci případné positivity detekční skvrny. Proužek na odečítání výsledku má 4 skvrny: pozitivní kontrolu, negativní kontrolu, výsledek na protilátku a výsledek na antigen. Když je pozitivní jen pozitivní kontrola, výsledek testu je negativní. Když je pozitivní negativní kontrola, nebo je negativní



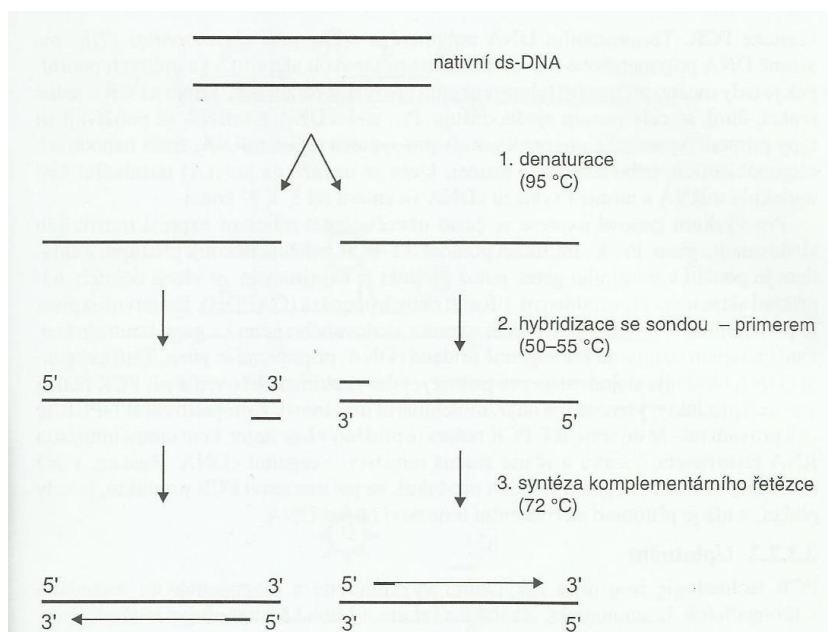
pozitivní kontrola, test je neplatný. Při pozitivním testu na antigen je pozitivní skvrna pro odčítání přítomnosti antigenu a pozitivní kontrola, zatímco při pozitivním testu na protilátku je pozitivní skvrna pro odečítání přítomnosti protilátky a skvrna pro pozitivní kontrolu. Platný je i takový test, kde je pozitivní skvrna pro přítomnost i antigenu i protilátky, pokud negativní kontrola zůstala nezabarvená (Rajčáni a Čiampor, 2006).

## **7.4. Detekce virové DNA nebo RNA**

### **7.4.1. Polymerázová řetězová reakce (PCR)**

PCR je jednou z nejdůležitějších metod molekulární biologie. Metoda je založena na principu, kdy je dvouvláknová DNA schopna denaturovat za vysoké teploty a opět renaturovat při snížení teploty a to za zachování si pravidla komplementarity bází (Bartůňková a kol., 2005). Při klasickém uspořádání reakce PCR se začíná pomocí krátkých syntetických oligonukleotidů, určujících začátek kopírované sekvence v obou směrech (tzv. primery). Po přichycení primerů na příslušnou shodnou sekvenci určující začátek a konec amplifikovaného fragmentu, začíná syntéza fragmentu DNA. Uskutečňuje se při teplotě vyšší, než byla teplota potřebná na přichycení primerů (Rajčáni a Čiampor, 2006). Syntézu nových vláken urychluje termostabilní DNA polymeráza, která je nejčastěji izolovaná z bakterie *Thermus aquaticus* žijící v horkých pramenech a označuje se jako Taq polymeráza. Vlákná DNA jsou tímto enzymem prodlužována směrem od obou primerů (Bartůňková a kol., 2005). Během jednoho cyklu, který trvá přibližně 3 minuty, probíhá denaturace (94°C), přichycení primeru (52-56°C) a nakonec zdvojení (amplifikace) příslušného fragmentu DNA (Rajčáni a Čiampor, 2006). Opakováním těchto cyklů je cílová sekvence DNA rychle namnožena. Po každém cyklu je zdvojnásoben počet kopií úseku mezi nasedlými primery. Jejich množství tedy roste logaritmičtě, zatímco zbývající úseky původní DNA se neamplifikují. K tomu, aby reakce proběhla úspěšně je potřeba vzorek DNA obsahující zkoumaný úsek, syntetické oligonukleotidy (primery), směs čtyř deoxynukleotidtrifosfátů,  $Mg^{2+}$  ionty, Taq polymerázu a PCR pufr (Bartůňková a kol., 2005).

**Obř. 4:** Schéma reakce PCR (Bartůňková a kol., 2005)



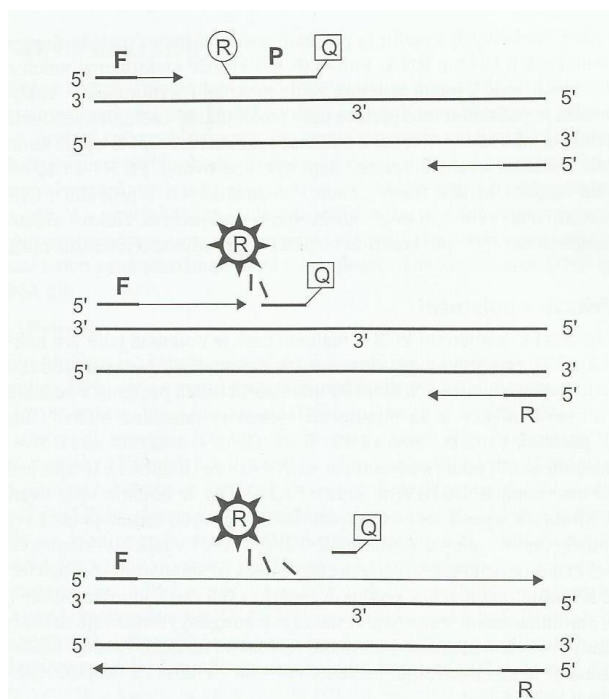
#### 7.4.2. Reverzně transkriptázová PCR (RT-PCR)

Tato reakce se dá připodobnit k umělé líhni nukleových kyselin. Při této reakci, která je v současnosti uplatňována nejen při konstrukci expresních vektorů, ale také v diagnostice, se virová nukleová kyselina, původně přítomna v nepatrném množství, uměle kopíruje do velkého počtu molekul. Před kopírováním dsDNA je třeba provést její denaturaci, čímž se oddělí obě vlákna dvoušroubovice. Před kopírováním vRNA je třeba připravit její DNA kopii (Rajčáni a Čiampor, 2006). Pro tento účel se nejčastěji používá některá reverzní transkriptáza (RT) pocházející z viru ptačí myeloblastózy (AVM), nebo z Molonyho viru myší leukémie (MLV) (Bartůňková a kol., 2005). Enzym reverzní transkriptázy na templátové vlákno RNA syntetizuje komplementární DNA. Pomocí něho připravená kDNA má sekvenci opačné polarity (s tím rozdílem, že namísto báze U obsahuje bázi T). Další postup PCR kombinované s reverzní transkripcí (RT-PCR) je identický se standardní PCR (Rajčáni a Čiampor, 2006).

### 7.4.3. Kvantitativní PCR v reálném čase („real time PCR“)

Narůstání počtu fragmentů DNA lze vidět jako přibývajících křivek pomocí inkorporace příslušného luminiscenčního barviva při "real time PCR", kdy se znázorní skutečný průběh PCR v reálném čase. Na kopírování nového vlákna DNA se pro tento účel používá speciálně syntetizovaný primer označený fluorescenčním barvivem (light upon extension = LUX primer). Používají se chromogeny, které vyzařují záření o vyšší vlnové délce, než bylo budivé záření, které fluorescenci vyvolalo. Budivé záření účinkuje jen velmi krátce (milisekundy), zatímco fluorescence vyzařuje po dobu několika sekund. Měřením intenzity vyzařované fluorescence lze monitorovat tempo syntézy nových vláken DNA v jednotlivých časových intervalech, jako i v cyklech postupujících za sebou. Vzhledem k počátečnímu množství kopií DNA při prvním cyklu se zaznamenává kinetika syntézy dalších fragmentů formou sigmoidních křivek. Ty se od sebe liší polohou, neboť při každém cyklu je počáteční počet fragmentů vyšší. Maximální počet fragmentů DNA se dosáhne při rozdílném počtu cyklů. Metoda "real time PCR" umožňuje přesně změřit počet výchozích, jakož i nově syntetizovaných kopií DNA fragmentů. Je natolik citlivá, že se určí počáteční minimální počet DNA molekul (30 - 100) potřebných pro zmnožení, jakož i jejich nárůst, což průměrně znamená desetimiliónnásobný nárůst počtu kopií (Rajčáni a Čiampor, 2006).

Obr. 5: Princip reakce RT-PCR (Bartůňková a kol., 2005)



## **7.5. Znázornění virových částic v elektronovém mikroskopu**

V optickém mikroskopu nejsou viry viditelné, jelikož neodrážejí světelné vlny. V elektronovém mikroskopu jsou viditelné na principu odrazu elektronů od částic, které byly opracované solemi těžkých kovů (uranu a wolframu). V ultratenkých řezech buněk jsou viditelné částice zvýrazněné roztokem uranylacetátu a citrátu olova. Na zahuštění částic přítomným v roztoku nebo v tělesných výměšcích se nejčastěji používá ultracentrifugácia například v gradientu sacharózy, nebo metoda imunoagregace, imunitní shlukování (Rajčáni a Čiampor, 2006).

## **7.6. Sérologické reakce**

Při sérologické reakci je zjišťována humorální imunitní odpověď na příslušný virový antigen. V klasickém sérologickém testu vystupuje virus jako jeden celek, ačkoli sám o sobě představuje mozaiku antigenů. Účinek protilátek při určité koncentraci vyjádřené ředěním séra na biologický efekt infekčnosti nebo hemaglutinační schopnosti virů je měřen v reakci neutralizace viru nebo v reakci inhibice hemaglutinace. Interakce protilátky s virem jako antigenem se měří při reakci EIA (enzyme immunoassay), ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) nebo RIA (radio-immuno assay), neměří se pokles nebo ztráta infekčnosti. Předností těchto metod je vazba antigenu se všemi druhy imunoglobulinů v séru, jejichž rameno Fab (fragment antibody inging) rozpozná specifickou konformaci antigenu. Vhodné uspořádání testu umožňuje detekovat nejen aktivitu protilátek, ale i jejich příslušnou aktivitu v třídách IgM, IgG, a IgA. Při použití monovalentních sér, či monoklonální protilátky se zjišťuje pokles infekčnosti v testu neutralizace viru jen při určitých sérech. Srovnání výsledků testu EIA (ELISA) a testu neutralizace viru pak napomáhá identifikovat komponenty virionu, které jsou rozhodující z hlediska infekčnosti, nebo určují, že vazba některých protilátek snižuje infekčnost, zatímco při vazbě jiných tomu tak není (Rajčáni a Čiampor, 2006).

## 8. Diagnostika HaPV

Graffi a kol. 1967 jako první objevil částice HaPV elektronovým mikroskopem v primární vrstvě kůže. Od spontánního objevení epitheliomu v křeččí kolonii v Berlíně (HaB) před třiceti lety byla enzootická infekce prokázána skrze masivní horizontální přenos.

H. Prokoph (nepublikované výsledky) hledal hlavní zásobníky viru u odstavených zvířat (HaB) před výskytem epitheliomu a hybridizace na celém těle zvířat *in situ* prokazuje, že brzlík a slezina představují nejaktivnější zásobníky viru. V souladu s tím byla akumulace virových částic objevena na elektronovém mikroskopu na brzlíku HaB křečků. Absence detekovatelného virového genomu v celé tkáni embrya podporuje model horizontálního přenosu. V kontrastu s epitheliomem primární kůže, transplantované kožní nádory nevykazují pod elektronovým mikroskopem virové částice, ale obsahují virovou DNA (Scherneck a kol., 2001).

V současné době jsou vzorky krve na testování posílány do Německa, kde je testují metodou PCR. Jeden vzorek vychází přibližně na 1500 Kč. V České republice podobné testování zatím není k dispozici v žádné laboratoři.

**Obr. 6 a 7:** Nádor u oka (foto: Fleková, 2012)



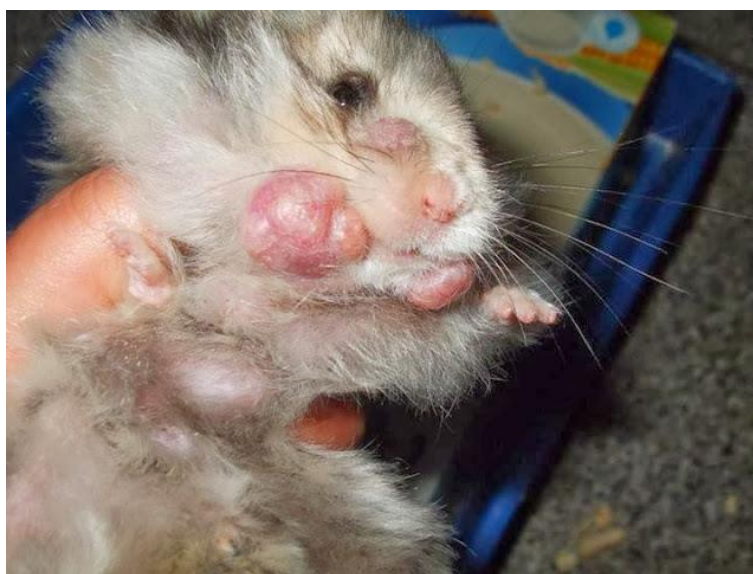
## 9. Možnosti léčby

Není známa žádná účinná léčba tohoto onemocnění. Přestože nádory nemocných křečků mohou někdy samovolně zmizet, neznamená to, že je křeček zdravý. Tento křeček je stále přenašečem choroby, a proto je nezbytné dodržování karantény a samozřejmě vyřazení z chovu. I v případě, že bude připravena účinná vakcína, pro většinu chovatelů to nebude vhodné řešení, a to zejména z ekonomických důvodů vzhledem k poměrně krátkému životu křečků, dožívají se obvykle kolem 2 let. Nejlepší ochranou proti viru je tedy dodržovat preventivní opatření.

**Obr. 8:** Nádory na bradě - vlevo a velký nádor za uchem - vpravo (Foto: Anonymus 2)



**Obr. 9:** Rozsáhlé nádory na hlavě a břichu (Foto: Anonymus 1)



## 10. Doporučení pro chovatele

HaPyV je smrtelnou a snadno přenosnou chorobou křečků syrských. Dlouhá inkubační doba viru 3-6 měsíců (podle některých zdrojů až 18 měsíců) znemožňuje účinnou karanténu chovu s ohledem na to, že se křečci v průměru dožívají dvou let a samičky by měly mít první vrh do 7 měsíců věku, jinak u nich hrozí zdravotní komplikace. U chovatelů je takto dlouhá karanténa těžko proveditelná, téměř nemožná.

**Obr. 10:** Nádor na uchu (Foto: Fleková, 2012)



Chovatel, který má podezření, že se u něho tento virus vyskytl, by měl svůj chov uzavřít. Což znamená, že by neměl nabízet zvířata k prodeji, a zároveň si ani pořizovat nová, která by se mohla nakazit. Při manipulaci se zvířaty je třeba dbát zvýšených hygienických opatření. Přestože se virus přenáší močí, je možný i přenos prašnou podestýlkou z jedné ubikace do druhé, zvláště jsou-li blízko u sebe. Ke zvířatům v chovu podezřelém z nákazy, by se mělo přistupovat, jako by byla nakažena všechna. Zvláště pokud nebyla dodržena dostatečně dlouhá karanténa, či nebyla prováděna desinfekce rukou mezi manipulacemi s jednotlivými zvířaty. Pak je totiž vysoká pravděpodobnost, že budou nakaženi všichni. Zvířatům by se mělo podestlat bezprašnou podestýlkou. Při manipulaci se zvířaty je třeba

používat jednorázové rukavice - na každé zvíře nové, nebo si ruce mezi jednotlivými křečky desinfikovat. Doporučuje se Virkon nebo Spiroderm. Je nutné sledovat možné přenašeče a příznaky nemoci, ale pokud se virus v chovu objeví, není možné na zvířatech chovat, pokud se má nemoc vymýtit.

**Obr. 11 a 12:** Nádory na zadní končetině – vlevo a nádor na přední končetině (Foto: Fleková, 2012)



U mnoha zvířat probíhá nemoc bez příznaků, a přesto jsou přenašeči. Křečci s příznaky, pokud mají jeden nádor nebo několik málo lymfomů po těle a neomezují je to v běžném životě, mohou bez problémů dožít. Křečky s velmi rozsáhlými nádory, které je omezují v normálním životě, je lepší utratit, viz např. Obr. 3 a Obr. 9. Někteří chovatelé utratí celý chov. Před nákupem nových zvířat by se mělo vše řádně vydesinfikovat. V případě ubikací, jimiž bývají nejčastěji klece, je třeba je důkladně omýt, řádně vydesinfikovat např. Virkonem a nechat několik měsíců prázdné. Ale jsou známé i případy, kdy se i po řádné desinfekci zvířata znovu nakazila, proto se doporučuje pořídit vše nové.

Nehrozí přenos viru na člověka ani na domácí zvířata. Vzhledem k tomu, že vir je mezidruhově nepřenositelný, tak nehrozí nákaza ani jiným druhům křečků, jakými jsou např. křečík džungarský, křečík čínský, křečík Roborovského či křečík Campbellův.



## 11. Závěr

Bakalářská práce je věnována Hamster polyomaviru. Toto onemocnění se vyskytuje pouze u křečků syrských (*Mesocricetus auratus*), není přenosné na žádné jiné druhy včetně člověka. Vzhledem k tomu, že není známý způsob léčby, je jedinou ochranou proti tomuto viru dodržování přísných preventivních opatření. Proto by měla být zvířata nakupována pouze z ověřených, nejlépe oficiálně registrovaných chovů. Není vhodné nakupovat použité chovatelské potřeby, případně je nezbytné před jejich použitím provést důkladnou desinfekci.

V současné době není známo, že by se Hamster polyomavirus v českých chovech vyskytoval.

**Obr. 13:** Zdravá samice s mláďaty (Foto: Vernerová)



## 12. Použitá literatura

Anonymus 1. *HAPV*. Chomikisweet [online]. [cit. 2015-10-05]. Dostupné z: <http://chomikisweet.blogspot.cz/>

Anonymus 2. HaPV – Papova. SVENSKA HAMSTERFÖRENINGEN [online]. [cit. 2015-11-03]. Dostupné z: <http://www.hamsterforeningen.se/guldhamster/sjukdomar/hapv-papova-7900983>

Bartůňková J. a Paulík M. (2005): *Vyšetřovací metody v imunologii*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 176 s. ISBN 80-247-0691-1.

Campbell N. A. a Reece J. B. (2006): *Biologie*. 1. vyd. Brno: Computer Press, 1332 s. ISBN 80-251-1178-4.

Cole C. N., Conzen S. D. (2001): Polyomaviridae: the viruses and their replication. *Field's Virology*. D. M. Knipe and P. M. Howley. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins. 2: 2141-74.

Fleková M. (2012): *HaPV – Hamstery Polyoma Virus*. CHS von Schtaubing [online]. [cit. 2014-03-15]. Dostupné z: <http://kreculky.webnode.cz/chov/hapv-hamster-polyoma-virus/>

Foster A. P., Brown P. J., Jandrig B., Grosch A., Voronkova T., Scherneck S., Ulrich R. (2002): Polyomavirus infection in hamster and trichoepitheliomas/cutaneous adnexal tumours. *Vet Rec*, 151(1): 13-17.

Ghadially F. N. a Ghadially R. (1996): Tumours of the skin. V: Turusov V. S., Mohr U. (1996) : *Pathology of Tumours in Laboratory Animals*. Vol 3. Lyon, IARC Scientific Publications 1-44.

Howely P. M. (1995): Viral carcinogenesis. The molecular basis of cancer. J. Mendelsohn, P. M. Howely, M. A. Israel and L. A. Liotta. Philadelphia, W. B. Saudenders Company: 38-58.

Howley P. M., Lowy D. R. (2001): Papillomaviruses and their replication. *Field's Virology*. D. M. Knipe and P. M. Howley. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins. 2: 2197-230.

Johne R., Wittig W., Fernandez-de-Luco D., Hofle U., Muller H. (2006): Characterisation of two novel polyomaviruses of birds by using multiply primed rolling-circle amplification of their genomes. *Journal of Virology*. 80(7): 3523-31.

Perez-Losada M., Christensen R. G., McClellan D. A., Adams B. J., Viscidi R. P., Demma J. C., Crandall K. A. (2006): Comparing phylogenetic codivergence between polyomaviruses and their hosts. *Journal of Virology*. 80(12): 5663-9.

Rajčáni J. a Čiampor F. (2006): *Lekárska virológia*. 1. vyd. Bratislava: Veda, 573 s., 8 s. obr. príl. ISBN 80-224-0911-1.

Scherneck S., Ulrich R., Feunteun J. (2001): The hamster polyomavirus - a brief review of recent knowledge. *Virus Genes*, 22(1): 93-101.

Simmons J. H., Riley L. K., Franklin C. L., Besch-Williford C. L. (2001): Hamster polyomavirus infection in a pet Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*). *Vet Pathol*, 38(4): 441-446.

Swain J. L., Sroller V., Wong C., Zhang S., Halvorson S. J., Herron A. J., Kozinetz C. A., Butel J. S. (2012): Effects of Route of Inoculation and Viral Genetic Variation on Antibody Responses to Polyomavirus SV40 in Syrian Golden Hamsters. *Comparative Medicine*, 62(5): 400-408.

Vilchez R. A., BUTEL J. S. (2004): Emergent Human Pathogen Simian Virus 40 and Its Role in Cancer. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(3): 495-508.

Woolford, L. (2008): Papillomatosis and Carcinomatosis in the Western Barred Bandicoot (*Perameles bougainville*). *Doktorská disertační práce*. Murdoch University.

Zhang S., Sroller V., Zanwar P., Chen C. J., Halvorson S. J., Ajami N. J., Hecksel C. W., Swain J. L., Wong C., Sullivan C., Butel J. S. (2014): Viral MicroRNA Effects on Pathogenesis of Polyomavirus SV40 Infections in Syrian Golden Hamsters. *PLOS Pathogens*, 10(2): Article Number: e1003912. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003912