

Prevence vzniku a rozšíření edémové nemoci kaprů/spavé nemoci koi kaprů (CEVD/KSD) v chovech kapra a koi kapra

V. Piačková, M. Palíková, L. Pojezdal, E. Zusková, I. Papežíková, K. Matějčíková

č. 190

ISBN 978-80-7514-139-2

Vodňany

2021



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství

**Vydání a tisk publikace byly uskutečněny v rámci Operačního programu
Rybářství 2014–2020:**
„Metodika VII“ č. CZ.10.5.109/5.2/4.0/20_017/0001097

**Obsahová část publikace byla zpracována za finanční podpory
následujících projektů:**

Nová virová onemocnění v chovech kapra obecného – diagnostika a prevence
(NAZV QK 1710114) – 50%

Udržitelná produkce zdravých ryb v různých akvakulturních systémech – PROFISH
(OP VVV: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000869) – 30%

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

Obsah

1.	Cíl metodiky	3
2.	Popis metodiky	3
2.1	Úvod	3
2.1.1	Historie výskytu edémové nemoci kaprů/spavé nemoci koi kaprů (Carp Edema virus disease; CEVD/„koi sleepy disease“; KSD) ve světě	3
2.1.2	Historie výskytu edémové nemoci kaprů/spavé nemoci koi kaprů („koi sleeping disease“; CEVD/KSD) v České republice.....	4
2.2	Charakteristika carp edema viru (CEV)	5
2.2.1	Klasifikace a morfolgie	5
2.2.2	Teplotní limity	6
2.2.3	Přežívání viru v prostředí	6
2.3	Charakteristika onemocnění (CEVD/KSD)	6
2.3.1	Klinické příznaky	6
2.3.2	Patologické změny	7
2.3.3	Narušení vnitřního prostředí nemocných ryb	8
2.3.4	Možné koinfekce	9
2.3.5	Vnímavé druhy ryb a možnost přenosu CEV na jiné druhy	10
2.3.6	Možnost přenosu CEV z potenciálních vektorů na vnímavé druhy	11
2.4	Diagnostika.....	11
2.5	Legislativní souvislosti.....	13
2.6	Preventivní opatření – ochrana chovů	14
2.6.1	Izolace	14
2.6.2	Dezinfekce.....	15
2.6.3	Vhodný výběr obsádky.....	15
2.6.4	Vakcinace	15
3.	Srovnání „novosti postupů“	15
4.	Popis uplatnění certifikované metodiky	16
5.	Ekonomické aspekty.....	16
6.	Seznam použité literatury	16
7.	Seznam publikací, které předcházely metodice.....	19

1. Cíl metodiky

Cílem metodiky je poskytnout chovatelům ryb i praktickým veterinárním lékařům souhrn dosavadních vědomostí o chorobě vyvolávané kapřím edémovým virem (CEV) a navrhnout opatření směřující k ochraně chovů ryb před tímto závažným infekčním onemocněním kaprovitých ryb.

2. Popis metodiky

2.1 Úvod

2.1.1 Historie výskytu edémové nemoci kaprů/spavé nemoci koi kaprů (*Carp Edema virus disease*; *CEVD*/„*koi sleepy disease*“; *KSD*) ve světě

První zmínky o onemocnění koi kaprů, které bylo následně spojováno s identifikací kapřího edémového viru, byly publikovány v 70. letech 20. století v Japonsku. Zdejší chovatelé okrasné variety kapra – koi zaznamenali zejména v období dešťů (červen – červenec) případy vysoké mortality (až 80 %) za příznaků celkového edému a slepení žaberních lístků. Postižené ryby se shlukovaly u hladiny a u břehů. V těchto případech nebyl identifikován žádný ze známých patogenů, ale skutečnost, že onemocnění bylo možno přenést filtrovaným homogenátem z nemocných ryb na ryby zdravé, napovídala, že se pravděpodobně jedná o virového původce. V osmdesátých letech pak byly popsány virové partikule viditelné v buňkách žaber pomocí elektronové mikroskopie. Na základě svých morfologických vlastností byl tento virus zařazen do čeledi Poxviridae a podle edematózního charakteru patologických změn dostal název Carp Edema Virus (CEV) (Oyamatsu a kol., 1997). Jiní japonští autoři popisují v souvislosti s tímto původcem onemocnění koi kaprů, které se projevuje výraznou letargií a malátností ryb doprovázenou úhyny, zejména v jarních a podzimních měsících. Nazývají toto onemocnění „koi sleepy disease“ (KSD) – spavá nemoc koi kaprů (Miyazaki a kol., 2005). Kromě Japonska byl v Asii dosud hlášen výskyt CEV také v Indii (Swaminathan a kol., 2016), Iráku (Toffan a kol., 2020), Koreji (Kim a kol., 2018), Číně (Ouyang a kol., 2018) a Thajsku (Pikulkaew a kol., 2020).

Vzhledem k čilému mezinárodnímu obchodu s okrasnými rybami se dalo jistě očekávat, že se virový původce neomezí pouze na Japonsko či Asii. Od roku 1996 byl CEV diagnostikován na mnoha místech USA, vesměs u koi importovaných z Asie (Hesami a kol., 2015) a následně pak i u kaprů v přírodních jezerech (Tolo a kol., 2021). Na konci 80. a začátkem 90. let byly ve Velké Británii, konkrétně v Anglii a Walesu, zaznamenány případy až 90 % úhynů kaprů na jaře a v časném létě. Onemocnění neznámého původu, které postihovalo různé věkové kategorie kaprů, bylo označeno jako Spring Carp Mortality Syndrome (SCMS) – syndrom jarního úhynu kaprů (Armitage a kol., 2007). V letech 2009 a 2011 byl původce KSD diagnostikován u koi kaprů importovaných do Velké Británie. Zde byl také v březnu a poté v listopadu roku 2012 tento virus poprvé detekován v případech hynutí kaprů (Way a kol., 2013). Vyšetřením archivních vzorků z případů SCMS metodou „polymerase chain reaction“ (PCR) bylo zjištěno, že i zde byl tento virus přítomen (Way a kol., 2014).

Následovala řada hlášení případů stejné etiologie z Nizozemska (Haenen a kol., 2014), Německa (Jung-Schroers a kol., 2015), Rakouska (Lewisch a kol., 2015), Slovenska (Matějčková a kol., 2020), Maďarska (Adamek a kol., 2018), Polska (Matras a kol., 2017), Francie (Bigarré a de Ploufragan-Plouzané, 2016), Itálie (Pretto a kol., 2015), Švýcarska, Belgie (Way et al., 2017), Srbska (Radosavljevic a kol., 2018) a Chorvatska (Zrnčić a kol., 2020).

V současné době se CEV vyskytuje prakticky ve všech zemích, kde chovají kapra nebo koi (tab. 1).

Tab. 1: Rozšíření CEVD/KSD v Asii, Americe a v Evropě.

První potvrzený výskyt (rok)	Stát	Poznámka	Literatura
ASIE			
1974	Japonsko		Oyamatsu a kol. (1997)
2015	Indie		Swaminathan a kol. (2016)
2016	Čína		Zhang a kol. (2017)
2019	Thajsko		Pikulkaew a kol. (2020)
	Korea		Radosavljevic a kol. (2018)
EVROPA			
2007	Švýcarsko	Potvrzeno z archivních histologických vzorků	T. Wahli (osobní sdělení)
2009	Velká Británie		Way a Stone (2013)
2013	Rakousko		Lewisch a kol. (2015)
	Polsko		Matras a kol. (2016)
	Francie		Bigarré a kol. (2016)
	Česká republika		Matějčíčková a kol. (2020)
	Nizozemsko		Haenen a kol. (2013, 2014)
2014	Německo	podezření od r. 2009	Jung-Schroers a kol. (2015)
2015	Itálie		Preto kol. (2015)
2016	Maďarsko		Adamek a kol. (2018)
	Chorvatsko		Zrncic a kol. (2020)
2017	Srbsko		Radosavljevic a kol. (2018)
2019	Slovensko		Matějčíčková a kol. (2020)
AMERIKA			
2017	USA		Lovy a kol. (2018)

2.1.2 Historie výskytu edémové nemoci kaprů/spavé nemoci koi kaprů („koi sleeping disease“; CEVD/KSD) v České republice

Je pravděpodobné, že původce KSD se na naše území dostal už koncem 20. století. Tu a tam byly zaznamenávány případy zvýšeného hynutí kaprů v jarních měsících, což bylo mnohdy přičítáno jarní virémii kaprů, ale není vyloučeno, že se zde někdy uplatňoval už i tento nový poxvirus. Na jaře 2013 bylo vyšetřováno několik případů úhynů kaprů, kteří vykazovali klinické a patologické příznaky podobné příznakům koi herpesvirózy (KHV), ale PCR vyšetření na přítomnost DNA kapřího herpesviru 3 (původce KHV) mělo negativní výsledek. Na základě přednášky dr. Keithe Wayne, která zazněla na 16. mezinárodní konferenci rybích patologů v Tampere (Way a kol., 2013) a která popisovala první zachycené případy KSD u kaprů ve Velké Británii, byly zamražené vzorky z jara znovu vyšetřeny a v jednom z případů byl detekován původce KSD. Od té doby jsou takto vyšetřovány všechny zaznamenané případy zvýšené mortality kaprů nebo koi v jarních a podzimních měsících a téměř každý rok je odhaleno několik CEV-pozitivních lokalit (viz tab. 2).

Tab. 2: Pozitivní záchyty CEV v ČR metodou PCR (z angl. Polymerase Chain Reaction).

Rok	Počet lokalit		Druh ryby		Důvod vyšetření
	Vyšetřených PCR	CEV pozitivních	Kapr	Koi	
2013	6	2	1	1	hynutí
2014	2	1	0	1	hynutí
2015	11	2	2	0	hynutí
2016	22	3	3	0	hynutí
2017	21	13	9	4	hynutí
2018	22	4	2	2	hynutí
2019	31	14	12	2	hynutí
	121	3	3	0	Monitoring KHV* (SVS**)
2020	30	4	2	2	hynutí
	96	2	2	0	Monitoring KHV (SVS)

* koi herpesviróza

** Státní veterinární správa

2.2 Charakteristika carp edema viru (CEV)

2.2.1 Klasifikace a morfologie

Původcem nákazy je carp edema virus (CEV). Oficiální český název zatím nemá, je nazýván kapřím edémovým virem, nebo prostě jen zkratkou CEV. Na základě své morfologie byl zařazen do čeledi Poxviridae. Virové partikule mohou být vizualizovány pomocí elektronové mikroskopie v cytoplasmě hypertrofovaných buněk žaberního epitelu jako 250-280 nm velká

tělíska morušovitého tvaru (Ono a kol., 1986) nebo kulovité útvary o průměru cca 400 nm (Miyazaki a kol., 2005).

Na základě molekulárně-genetické podobnosti izolátů získaných z mnoha různých případů onemocnění kaprů a koi kaprů bylo zjištěno, že existují pravděpodobně 2, ne-li tři genoskupiny tohoto viru (I, IIa a IIb), z nichž skupina I vyvolává onemocnění u kapra, skupina IIa u koi kapra a skupina IIb byla izolována z některých případů hynutí kaprů v Polsku a Maďarsku (Adamek a kol., 2018).

2.2.2 Teplotní limity

Výskyt onemocnění je velmi zásadně ovlivňován teplotou. I zde jsou však rozdíly mezi kapry a koi kapry, respektive mezi genoskupinami viru, které onemocnění vyvolávají. Podle našeho pozorování se u kaprů onemocnění začíná projevovat již při teplotách 6–10 °C a při oteplení vody na cca 18 °C úhyny i příznaky mizí, zatímco u koi kaprů bývají projevy onemocnění zaznamenány až při vyšších teplotách (kolem 15 °C) a přetrvávají až do 25 °C. Podobné teplotní limity uvádějí i někteří zahraniční autoři, jako např. Hedrick a kol. 1997, Miyazaki a kol. (2005) a Jung-Schroers a kol. (2015).

2.2.3 Přežívání viru v prostředí

O schopnosti viru perzistovat v prostředí toho zatím není mnoho známo. Vzhledem k tomu, že se na některých lokalitách toto onemocnění objevilo opakovaně, je velmi pravděpodobné, že vymizení příznaků a zastavení úhynů neznamená vymizení viru z prostředí.

2.3 Charakteristika onemocnění (CEVD/KSD)

2.3.1 Klinické příznaky

Většina případů je kromě zvýšeného množství uhynulých ryb doprovázena i změnou chování ryb několik dní před úhynem. Rychlost nástupu, klinické příznaky a průběh se u kaprů a koi kaprů poněkud liší.

U koi kaprů jsou výrazné příznaky „usínání“ - ryby bezvládně klesají ke dnu, kde leží na boku, ale při vyrušení se opět „probouzejí“, chvíli plavou normálně a pak zase klesají ke dnu (Miyazaki a kol., 2005). U juvenilních koi je patrné edematózní zduření podkoží (odtud název „edema virus“ nebo „viral edema of carp“ - VEC) (Oyamatsu a kol., 1997), u starších ryb ulcerózní změny v okolí úst a na bocích (Jung-Schroers a kol., 2015). Úhyny mohou zejména u juvenilních koi kaprů dosáhnout během 2–3 dní 75–100 % (Hedrick a kol., 1997).

U kaprů je nástup pozvolnější a průběh onemocnění zdlouhavější, s nižším procentem úhynů (Way a Stone, 2013). Nemocné ryby se pohybují u hladiny nebo u přítoku, často vykazují příznaky dušení (nouzové dýchání – „troubení“), přestože nasycení vody kyslíkem je dostatečné. Bývá u nich pozorována také malátnost, ryby plavou velmi pomalu, někdy se kladou

na bok, uléhají na dno (Lewisch a kol., 2015) a lze je poměrně snadno vylovit podběrákem nebo i rukou (obr. 1).



Obr. 1: Nemocní kapři ztrácejí únikový reflex, shromažďují se u břehů a je možné je snadno vylovit (Foto: V. Piačková).

2.3.2 Patologické změny

Na povrchu kůže jsou u kaprů a koi viditelné změny zapříčiněné abnormální tvorbou povrchového slizu. Zmnožený, mléčně zbarvený hlen vytváří nepravidelné okrsky, hrudky, někdy mramorování, zejména na hlavě a skřelích, ale většinou také na hřbetní části těla. Na břišní části je zase patrný výrazný nástřik cév, obzvláště zřetelný u lysých kaprů. U juvenilních koi je patrné edematózní zduření podkoží, u starších ryb ulcerózní změny v okolí úst a při bázi ploutví a zánět kolem řitního otvoru. Oko bývá zapadlé (enofthalmus), někdy pokryté hustým hlenem nebo i plísní. Vzhledem k tomu, že postižené ryby polehávají na dně, bývá jejich kůže osídlena pijavkami a kapřivci.

Typické je poškození žaber různé intenzity v závislosti na průběhu infekce – od edematózního zduření, světlého zbarvení a zvýšeného zahlenění, (obr. 2) až po těžké nekrotické změny, někdy doprovázené povrchovým zaplísněním (obr. 3). Histologickým vyšetřením je možno prokázat hyperplazii žaberních epiteliálních buněk vedoucí k adhezi tyčinek v apikální části až ke splývání sousedních lístků. Orgány dutiny tělní nevykazují žádné makroskopické změny, střevo bývá v důsledku inapetence prázdné a žlučový měchýř naplněný.



Obr. 2: Žábra s počínajícími nekrotickými změnami a zvýšeným zahleněním u kapra pozitivního na CEV (případ hynutí kaprů v rybníku – rok 2017) (Foto: V. Piačková).



Obr.3: Pokročilejší nekróza žaber se sekundárním zaplísněním u kapra obecného infikovaného CEV (Foto: V. Piačková).

2.3.3 Narušení vnitřního prostředí nemocných ryb

Případová studie – masivní hynutí nebarevných forem kapra s diagnostikovaným CEV

V rámci jedné případové studie byly porovnávány zdravé ryby (n = 9) s nemocnými (n = 13), včetně hematologického a biochemického vyšetření. Masivní hynutí ryb bylo zaznamenáno několik týdnů po transportu ryb z vody o teplotě 10–13 °C do chovného zařízení, kde teplota vody byla okolo 17 °C. Hynoucí/uhynulé ryby o hmotnosti 2 200 – 2 500 g vykazovaly typické

klinické příznaky a patologické změny pro CEVD (letargie, shromažďování ryb u hladiny nebo přítoku, enoftalmii, kožní léze a okrsky na kůži se zvýšeným zahleněním, nekrotické změny na žábrech různého rozsahu). Přítomnost viru byla prokázána virologickým vyšetřením metodou PCR.

V době odběru vzorků krve byla teplota vody 4,2 °C. Zdravé i nemocné ryby pocházely ze stejné lokality. U nemocných ryb byly v porovnání se zdravými zaznamenány výrazné změny v hodnotách některých krevních parametrů (u 19 ze 30 vyšetřovaných), a to zejména pokles koncentrace sodíkových (Na^+) a chloridových (Cl^-) iontů, (tj. hyponatrémie a hypochlorémie), zvýšení pH krve, zvýšení hodnoty krevního albuminu (hyperalbuminémie) a fosforu (hyperfosfatémie), krevní bílkoviny (hyperproteinémie), hematokritové hodnoty (poměr objemu červených krvinek k celkovému objemu krve) a amoniaku. Analýza těchto změněných parametrů naznačuje, jak narušené respirační, vylučovací a osmoregulační funkce žaber spolu se souvisejícím poškozením osmotického tlaku, iontovou dysbalancí a narušením acidobazické rovnováhy nepříznivě ovlivňují schopnost ryb udržet si stále vnitřní prostředí a základní tělesné funkce. Za snížení koncentrace Na^+ a Cl^- v krevní plazmě může snížení aktivního příjmu a ztráty iontů díky poškození žaber, které mají zásadní význam pro výměnu iontů mezi rybou a prostředím. Projevem této hyponatrémie a hypochlorémie může být právě výše uvedená letargie (netečnost, neaktivita), únava, ztráta chuti k jídlu, svalová slabost, snížené vědomí nebo kóma jako důsledek edému mozku. K enoftalmii dochází následkem ztráty tekutin spojené s těžkou ztrátou iontů v kombinaci s hyperproteinémií a hyperalbuminémií a projeví se, mimo jiné, i zvýšenou hodnotou hematokritu. Rovněž zvýšená koncentrace amoniaku při vyšším pH krve nemocných ryb má více nepříznivých účinků díky vyššímu podílu toxického amoniaku v krvi, který negativně ovlivňuje centrální nervovou soustavu (Pikula a kol., 2021).

V jaké míře se na rozvoji těchto změn podílí virus a v jaké přidružené infekce, není zatím zcela známo. V několika případech však hynutí ryb ustalo po terapeutickém zásahu, který byl namířen právě proti přidružené ko-infekci. Vzhledem ke skutečnosti, že edémová nemoc kaprů je virového původu, a nemáme zatím účinné prostředky pro jeho eliminaci z chovu, jeví se prevence ko-infekcí spolu s omezením stresové zátěže jako jediný možný zásah.

V závislosti na výše uvedených ztrátách iontů je patrné, že přídavek NaCl (0,5 %) do vody, který je již po desetiletí používán japonskými chovateli koi kaprů, rybám prospěje, neboť přispěje ke zlepšení iontových poměrů vnitřního prostředí ryby. Jeho použití je však, s ohledem na tuzemské chovné podmínky, limitované a může být uplatňován spíše v menších odchovných barevných variant koi kaprů.

2.3.4 Možné koinfekce

V přirozených podmínkách jsou ryby vystavovány řadě negativních vlivů včetně patogenních nebo potenciálně patogenních organismů a stresové zátěže. Často dochází k souběhu více činitelů a jejich současné působení může mít výrazný dopad na zdravotní stav ryb. Toto spolupůsobení více patogenních činitelů bývá označováno jako ko-infekce. Zatímco jednotlivá zátěž nemusí způsobit závažné poškození organismu, při působení více činitelů najednou bývá poškození takového rozsahu, že dochází k vyčerpání organismu a ke smrti. V těchto případech však často bývá problém určit primární příčinu hynutí. S přidruženými infekcemi (ko-infekcemi) se setkáváme rovněž u CEVD/KSD. Zde je nutno konstatovat, že ve většině případů přímého dovozu koi kaprů byla prokázána pouze infekce CEV. V případech hynutí nebarevných forem kapra obecného se naopak většinou jednalo o smíšené infekce. Nejčastěji byly přidružené bakteriální infekce, zejména bakteriemi rodu *Aeromonas* a/nebo

Flavobacterium (Adamek a kol., 2018b), parazitární infekce (zejména jednobuněční původci chorob ryb včetně amfizoických améb, monogenea či arthropoda), ale rovněž jiná virová onemocnění (jarní virémie kaprů – SVC). Někteří ektoparazitové mohou nejen zhoršovat kondiční stav ryb a porušením ochranné bariéry zvyšovat riziko infekce ryb virovými patogeny, ale mohou být přenašeči či rezervoáry těchto patogenů. Příkladem může být kapřivec obecný (*Argulus foliaceus*), u něhož byla prokázána přítomnost DNA viru CEV, a tudíž je možné ho pokládat za potenciální vektor. Často došlo k propuknutí onemocnění v souvislosti se stresovou zátěží způsobenou převozem ryb spolu se změnou teploty prostředí. K prvním projevům onemocnění doprovázeným zvýšeným hynutím ryb docházelo 2 – 6 týdnů po transportu. V jaké míře se na rozvoji patologických změn podílí virus a v jaké přidružené infekce, není zatím zcela známo. V několika případech však hynutí ryb ustalo po terapeutickém zásahu, který byl namířen právě proti přidružené ko-infekci. Vzhledem ke skutečnosti, že edémová nemoc kaprů je virového původu a nemáme zatím účinné prostředky pro eliminaci původce z chovu, jeví se prevence ko-infekcí spolu s omezením stresové zátěže jako jediný možný zásah.

2.3.5 Vnímavé druhy ryb a možnost přenosu CEV na jiné druhy

Výše uvedené příznaky doprovázené mortalitou bývají pozorovány výhradně u kaprů obecných a jejich okrasné variety koi. Právě u těchto druhů bylo doposud spolehlivě popsáno množení viru ve tkáni žaber a vnitřních orgánů. Všechny dostupné studie popisují druhově specifické úhyny kapra či koi i v lokalitách se smíšenou obsádkou ryb (Swaminathan a kol., 2016).

Týká se to nejen rybníčních chovů, ale i přírodních ohnisek např. v jezerech (Tolo a kol., 2021; Marsella a kol., 2021) nebo řekách (Toffan a kol., 2019).

Tolo a kol (2021) zkoumali přítomnost viru u severoamerických druhů ryb a obojživelníků v jezeře, v kterém došlo k masivnímu úhynu kaprů v důsledku infekce CEV. Molekulárně byli vyšetřeni jeleček velkohlavý (*Pimephales promelas*), koljuška říční (*Culaea inconstans*), slunečnice zelená (*Lepomis cyanellus*), slunečnice pestrá (*Lepomis gibbosus*) a skokan levhartí (*Lithobates pipiens*), avšak přítomnost viru nebyla potvrzena u žádného z těchto druhů (Tolo a kol., 2021).

V evropských podmínkách byla pozornost zaměřena také na invazivního hlaváče černotlamého (*Neogobius melanostomus*), opět bez průkazu přítomnosti viru (Jin a kol., 2020).

Možnost nákazy jiných druhů ryb byla studována v experimentálních podmínkách kohabitací s nemocnými kapry. Ouklej obecná (*Alburnus alburnus*), karas stříbřitý (*Carassius gibelio*), karas obecný (*Carassius carassius*), lín obecný (*Tinca tinca*), plotice obecná (*Rutilus rutilus*) a okoun říční (*Perca fluviatilis*) vykazovali přítomnost malého množství viru na žábrech a v kůži až 42 dní po ukončení kohabitace s infikovanými kapry. U žádného z těchto druhů ryb se však neprojevovaly klinické příznaky nemoci či mortalita. Tato studie také nesledovala množení viru na žábrech a nepotvrdila přítomnost viru ve vnitřním prostředí ryb. Spíše, než druhy vnímavé je proto vhodnější tyto druhy označit jako druhy potenciálně vektorové, tzn. schopné mechanicky přenést původce nákazy mezi vnímavými kapry (Matras a kol., 2019). Naopak, ani

pouhá přítomnost viru na žábrech po kohabitaci nebyla prokázána u labea avanského (*Labeo rohita*) (Sahoo 2020).

Na základě výsledků prvních experimentů lze usuzovat, že vnímavost k CEV je ovlivněna také genetickým původem chovaných populací kapra. Podobně jako u KHV, i zde se jako nejodolnější jeví amurský sazan, a také plemena, která ve svém rodokmenu mají tohoto původního divokého kapra, vykazují vůči onemocnění vyvolaném CEV vyšší rezistenci (Adamek a kol., 2017).

2.3.6 Možnost přenosu CEV z potenciálních vektorů na vnímavé druhy

Z pohledu chovatelů je více než pouhá přítomnost virové DNA ve tkáních různých druhů ryb významná otázka možnosti nakažení vnímavých druhů (kapra a koi kapra) kontaktem s těmito potenciálními přenašeči.

Přímý kontakt nakažených a vnímavých kaprů je odpovědný za převážnou většinu pozorovaných ohnisek nemoci. V experimentálních podmínkách bylo také možné infekci vyvolat aplikací homogenizované tkáně nemocných ryb do vody nebo přímo intraperitoneální injekcí infekčního materiálu. (Sahoo, 2020).

Riziko pro chovatele představují latentní bezpříznakové infekce, které mají tendenci vyvolat onemocnění u naivních ryb, nebo projevit známky onemocnění až v případě zvýšeného stresu (jarní období, přesuny a manipulace s rybami) (Pikula a kol., 2021). Rozhodně lze proto doporučit kontrolu zdravotního stavu nakupovaných ryb, preventivní karanténu po převozu alespoň 14 dní a virologické vyšetření před smícháním obsádky.

Kromě infikovaných kaprů a koi a druhů ryb s popsanou schopností udržení viru na žábrech a kůži (ouklej, karas, lín, plotice, okoun) byla přítomnost CEV molekulárně potvrzena také v trávicím traktu, ve vývrzcích a v trusu kormorána ušatého (*Phalacrocorax auritus*) na lokalitách, kde prokazatelně docházelo k lovu CEV pozitivních kaprů. Role tohoto a dalších rybožravých predátorů, zejména ptáků, jakožto přenašeče nákazy, se v této chvíli jeví pravděpodobně (Tolo a kol., 2021).

Malé množství virové DNA bylo detekováno také uvnitř trávicího traktu kapřivce obecného parazitujícího na povrchu těla CEV pozitivních kaprů. Tato skutečnost, v kombinaci s přímým poškozením povrchu kůže působením kapřivců, otevírá možnost přenosu infekce právě v těle parazitů (Palíková a kol. , v tisku).

2.4 Diagnostika

2.4.1 Odběr, skladování a přeprava vzorků

Nejvhodnější pro vyšetření jsou ryby vykazující klinické či patoanatomické příznaky infekce CEV. V případě, že tyto v chovu nejsou přítomny, je vhodné odebrat reprezentativní zástupce všech věkových kategorií.

Žábry jsou orgánem s nejvyšší koncentrací viru a představují proto ideální cíl pro diagnostiku (Adamek a kol., 2017). Při závažných infekcích je virus možné detekovat taky v kůži a ve vnitřních orgánech, zejména slezině, játrech a kraniální ledvině.

Míchání vzorků z několika kusů ryb (pooling) je aplikovatelné, ale pro zachování citlivosti vyšetření by počet ryb na jeden vzorek neměl přesáhnout 5.

Pro vyloučení či potvrzení nákazy je možné odebrat materiál z živé ryby bez závažného narušení zdravotního stavu vyšetřovaného jedince. Pro PCR vyšetření postačí 50 mg bioptát tkáně žaber (cca 2 žaberní lístky). Materiál je možné krátkodobě (do 7 dnů) skladovat a přepravovat při pokojové teplotě za použití konzervace v 96% ethanolu, nebo roztoku RNA-later, bez ztráty citlivosti. Dlouhodobé skladování při teplotách kolem $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ nelze z důvodu postupné degradace virové DNA ve vzorcích doporučit, optimální je teplota alespoň $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Pojezdal a kol., 2018).

Další neletální metodou, která je ve fázi ověření, je stěr materiálu ze žaber. Navzdory přítomnosti viru v tomto materiálu není zatím možné stěry žaber doporučit pro jejich nižší citlivost (Cano a kol., 2021).

2.4.2 Molekulární diagnostika

Klinické a patoanatomické příznaky CEVD/KSD jsou typické, ne však patognomické, a jako takové nestačí pro definitivní diagnózu infekce. Rovněž mikroskopické a histologické změny na žábrech neposkytují dostatek informací pro identifikaci viru, možná s výjimkou transmisivní elektronové mikroskopie, pomocí které je možné sledovat přímo virové částice tvaru typického pro poxviry.

Virus není možné kultivovat na běžných buněčných liniích a chybí také sérologické metody jeho potvrzení. Veškerá diagnostika se proto opírá o molekulární metody, zejména konvenční a real-time PCR (Bergmann a kol., 2020).

První konvenční PCR pro diagnostiku viru byla vyvinuta již v 90. letech v Japonsku (Way a kol., 2017), tyto primery však nedetekují „evropské“ genoskupiny CEV. Stejný problém má navzdory své vysoké citlivosti také PCR podle Adamek a kol. (2016).

V současné době nejrozšířenější jsou primery vyvinuté v britském CEFAS (Way a kol., 2017). Konvenční PCR v úpravě nested pcr a také real-time PCR dosahují citlivosti na úrovni desítek molekul cílového genu pro protein P4a a jsou také vysoce specifické pro carp edema virus. Mezilaboratorní test z Německa prokázal také vysokou robustnost těchto testů s dobrými výsledky bez ohledu na použitou metodu extrakce nebo polymerázu pro samotnou PCR (Bergmann a kol., 2020). Sekvence všech dosud publikovaných primerů jsou uvedeny v tab. 3.

Tab. 3: Primery a sondy pro molekulární diagnostiku CEV pomocí PCR (Polymerase Chain Reaction). Podle Adamek a kol (2016).

Název primeru	Sekvence (5´-3´)	Literatura
CEFAS_F	ATG GAG TAT CCA AAG TAC TTA G	Way a kol., 2017
CEFAS_R	CTC TTC ACT ATT GTG ACT TTG	Way a kol., 2017
CEFAS_nF	GTT ATC AAT GAA ATT TGT GTA TTG	Way a kol., 2017
CEFAS_nR	TAG CAA AGT ACT ACC TCA TCC	Way a kol., 2017
CEFAS_qF	AGT TTT GTA KAT TGT AGC ATT TCC	Way a kol., 2017
CEFAS_qR	GAT TCC TCA AGG AGT TDC AGT AAA	Way a kol., 2017
CEFAS_q_Probe	[FAM] AGA GTT TGT TTC TTG CCA TAC AAA CT [BHQ1]	Way a kol., 2017
TiHo_qF	TTT AGG AGG ACA AGT AAA GTT ACC A	Adamek a kol. (2016)
TiHo_qR	GCA AGT TAT TTC GAT GCC AAC C	Adamek a kol. (2016)
TiHo_q_Probe	[FAM] CCA GCT CCT ACA AGG AAA GCA ATT GA [BHQ1]	Adamek a kol. (2016)
TiHo_Sybr_qF	CAT TTC CTA GTT TGT ATG GCA AG	Adamek a kol. (2016)
TiHo_Sybr_qR	TGA TGA TTG GAA TAA GAT GTC TGT C	Adamek a kol. (2016)
Oyamatsu_F	GCT GTT GCA ACC ATT TGA GA	Oyamatsu a kol. (1997)
Oyamatsu_R	TGC AGG TTG CTC CTA ATC CT	Oyamatsu a kol. (1997)
Oyamatsu_nF	GCT GCT GCA CTT TTA GGA GG	Oyamatsu a kol. (1997)
Oyamatsu_nR	TGC AAG TTA TTT CGA TGC CA	Oyamatsu a kol. (1997)

Molekulární metodou vyznačující se zejména vyšší rychlostí vyšetření a možností nasazení v terénu je tzv. LAMP (loop-mediated isothermal amplification). Britští autoři real-time fluorescence LAMP pro diagnostiku CEV deklarují citlivost 10^3 kopií genu pro protein P4a, nasazení této metody v praxi však bude ještě nutné ověřit (Cano a kol., 2021).

2.5 Legislativní souvislosti

Onemocnění vyvolané CEV, ačkoliv svými klinickými příznaky, patologickými změnami a hostitelskou specifičností velmi připomíná obávanou koi herpesvirózu, **v České republice nepatří na seznam nálezů povinných hlášení** a po jeho laboratorním průkazu v chovu tedy

nenásledují žádná mimořádná veterinární opatření. Informace o přítomnosti viru v chovu je však cenná pro chovatele, kteří na základě této znalosti mohou svým zodpovědným přístupem, zejména k přesunům ryb a dezinfekci náradí a pomůcek, zabránit dalšímu šíření této virové choroby. Jiná situace je ovšem **na Slovensku**, kde je spavá nemoc kaprů podle nařízení vlády **vedena na seznamu nález povinných hlášení**, na která se při potvrzení výskytu vztahují mimořádná veterinární opatření (stejně jako u KHV) (Bíreš, 2019). Chovatelé ryb vyvážející kapry na Slovensko se proto mohou setkat s požadavkem negativního výsledku PCR vyšetření na CEV.

2.6 Preventivní opatření – ochrana chovů

Základním předpokladem prevence propuknutí CEVD/KSD je **zabránění zavlečení původce do chovu**. Je pravděpodobné, že **i klinicky naprosto zdravé ryby mohou být zdrojem infekce**. Propuknutí onemocnění a vylučování viru do prostředí bývá u takto latentně nemocných ryb vyvoláno stresem v důsledku manipulace, transportu, změny prostředí, vysoké hustoty obsádky atd. Svou roli v šíření nákazy mohou hrát i nevnímavé druhy ryb v roli mechanických vektorů.

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

O schopnosti viru přežít ve vodním prostředí zatím nejsou žádné informace. Vodu z lokality, kde byl výskyt CEV potvrzen, je však třeba pokládat za potenciálně infekční. Onemocnění se může šířit vodou po proudu, nezodpovědnou manipulací při vypouštění vody z transportních beden atd. Pravděpodobný je také přenos infekce rybolovným náradím a spekuluje se i o možnosti přenosu onemocnění rybožravými predátory (Tolo a kol., 2021).

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

2.6.1 Izolace

V ideálním případě by každý chovatel ryb měl mít k dispozici izolační nádrž, kam by bylo možno umístit ryby nově nakoupené před vysazením do rybníční soustavy. Tato nádrž by měla mít vlastní zdroj vody, pokud možno dezinfikovatelný povrch dna a stěn a odtok mimo ostatní nádrže hospodářství. V ideálním případě by na odtoku měla být umístěna dezinfekční jednotka (UV lampa, ozonizátor, chlorace). Velikost nádrže závisí na velikosti hospodářství a předpokládaných nákupech ryb. Do izolace by měly být umístěny všechny nově nakoupené ryby. Zvláště důležitá je izolace při dovozech ryb ze zahraničí. Během izolace pro zabránění zavlečení CEV do chovu by měly být kaprovité ryby, pokud možno, drženy v permissivní teplotě, to znamená 10–16 °C. Délka trvání by měla být minimálně 4 týdny. Během této doby musí být ryby pečlivě sledovány a zaznamenávány jakékoliv odchylky od fyziologického stavu. Pro vyloučení možné latentní infekce by měl být během izolace odebrán vzorek ryb pro vyšetření na CEV DNA. Izolační nádrže zatím bohužel nejsou v rybářských provozech standardem, ale vzhledem k rostoucímu nebezpečí zavlečení infekčních původců nemocí do chovu (a to se týká nejen CEV) by bylo vhodné s nimi začít při výstavbě nových zařízení počítat.

2.6.2 Dezinfekce

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

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

2.6.3 Vhodný výběr obsádky

Stejně jako v případě koi herpesvirózy, i u CEVD/KSD se předpokládá rozdílná vnímavost plemen a hybridů kapra obecného. Vzhledem k tomu, že virus zatím není možno kultivovat na standardních buněčných liniích, a proto je obtížné navodit definovanou experimentální infekci, nebyly zatím studie zaměřené na testování odolnosti plemen a meziplenných hybridů kapra realizovány v takovém rozsahu jako před lety s koi herpesvirem. První studie, založené na infekci kohabitací s infikovanými rybami z terénu, však naznačují i zde významně vyšší odolnost amurského sazana (*Cyprinus rubrofuscus*) a jeho kříženců (Adamek a kol., 2017).

Je třeba rovněž připomenout, že byly zatím identifikovány tři genoskupiny viru, které se liší svou hostitelskou specifičností (viz kap. 1.2.1), a v důsledku toho výsledná mortalita záleží především na tom, jaká genoskupina se v chovu vyskytuje.

2.6.4 Vakcinace

Vzhledem k tomu, že zatím není k dispozici „čistý“ virus izolovaný na buněčné linii, nebyl ještě zahájen vývoj vakcíny.

2.6.5 Vyrovnání iontové dysbalance

Jak již bylo zmíněno v kap. 1.3.3, jedním ze závažných důsledků působení CEV v organismu, a pravděpodobně i hlavní příčinou úhynů v souvislosti s tímto původcem, je významný metabolický rozvrat a iontová dysbalance (Píkula a kol., 2021; Adamek a kol., 2021). Tento stav může být do určité míry sanován přidávkem 5 g NaCl na 1 l vody. Toto preventivní opatření úspěšně aplikují japonští chovatelé koi, když na konci sezóny přesouvají své ryby ze zemních rybníků do betonových bazénů (Seno a kol., 2003).

3. Srovnání „novosti postupů“

Metodika obsahuje souhrn dosavadních vědomostí o carp edema viru a onemocnění, které vyvolává. Takto komplexní přehled v češtině, zahrnující popis klinických příznaků,

patologických změn, diagnostických postupů a preventivních opatření dosud chovatelé k dispozici neměli. Popis onemocnění a vlastností jejího původce je velmi důležitý pro pochopení závažnosti dodržování zásad a opatření směřujících k zabránění zavlečení nákazy do našich chovů ryb.

4. Popis uplatnění certifikované metodiky

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

5. Ekonomické aspekty

Při dodržování zásad naznačených v metodice je možné zabránit ztrátám v důsledku úhynu ryb na CEVD/KSD. Za předpokladu, že s využitím informací obsažených v metodice bude zabráněno ztrátě 1 % roční produkce kapra (tj. cca 170 t), znamená to při průměrné ceně 50 Kč/kg úsporu 8 500 000 Kč.

6. Seznam použité literatury

- Adamek, M., Jung-Schroers, V., Hellmann, J., Teitge, F., Bergmann, S.M., Runge, M., Kleingeld, D.W., Way, K., Stone, D.M., Steinhagen, D., 2016. Concentration of carp edema virus (CEV) DNA in koi tissues affected by koi sleepy disease (KSD). *Diseases of Aquatic Organisms* 119: 245–251.
- Adamek, M., Ochilewski, A., Wohlsein, P., Jung-Schroers, V., Teitge, F., Dawson, A., Gela, D., Piačková, V., Kocour, M., Adamek, J., Bergmann, S.M., Steinhagen, D., 2017. Experimental infections of different carp strains with the carp edema virus (CEV) give insights into the infection biology of the virus and indicate possible solutions to problems caused by koi sleepy disease (KSD) in carp aquaculture. *Veterinary Research* 48: 12.
- Adamek, M., Baska, F., Vincze, B., Steinhagen, D., 2018a. Carp edema virus from three genogroups is present in common carp in Hungary. *Journal of Fish Diseases* 41 (3): 463–468.
- Adamek, M., Teitge, F., Jung-Schroers, V., Heling, M., Gela, D., Piačková, V., Kocour, M., Steinhagen, D., 2018b. Flavobacteria as secondary pathogens in carp suffering from koi sleepy disease. *Journal of Fish Diseases* 41: 1631–1642.
- Adamek, M., Teitge, F., Baumann, I., Jung-Schroers, V., Rahman, S.A.E., Paley, R., Piačková, V., Gela, D., Kocour, M., Rakers, S., Bergmann, S.M., Ganter, M., Steinhagen, D., 2021. Koi sleepy disease as a pathophysiological and immunological consequence of a branchial infection of common carp with carp edema virus. *Virulence* 12: 1855–1883.
- Armitage, J., Denham, K., Hewlet, N., Snow, J., 2007. Spring Carp Mortality Syndrom (SCMS) transmission study. Science report of Environment Agency, Almondsbury, Bristol: 4 pp.
- Bergmann, S.M., Klafack, S., Jin, Y., Jung-Schroers, V., Kappe, A., Nardy, E., Bornstein, S., Scuda, N., Kilwinski, J., Runge, M., Prüfer, T.L., Hamann, H.P., Bock, W.I., Siempelkamp,

- T., Engelhardt, A., Salditt, A., Alex, M., Semmelmann, S., Wonnemann, H., Steinhagen, D., Stone, D., Way, K., Adamek, M., 2020. Assessment of genetic tools for detection of carp edema virus (CEV) by a laboratory comparison test in Germany. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 40 (6): 221–228.
- Bigarré, L., de Ploufragan-Plouzané, L., 2016. [Maladie du sommeil de la Carpe: État des lieux des connaissances et situation épidémiologique en France.] *Bulletin Épidémiologique, Santé Animale Et Alimentation* 76: 12–13, (in Frech).
- Bíreš, J., 2019. Národný pohotovostný plán pre prípad podozrenia a výskytu chorôb rýb na území Slovenskej republiky.
<https://www.svps.sk/dokumenty/zvierata/2020/1559_001.pdf>. Navštíveno 30. srpna 2021. Odkaz v textu: Bíreš, 2019
- Cano, I., Worswick, J., Mulhearn, B., Stone, D., Wood, G., Savage, J., Paley, R., 2021. A Seasonal Study of Koi Herpesvirus and Koi Sleepy Disease Outbreaks in the United Kingdom in 2018 Using a Pond-Side Test. *Animals* 11: 459.
- Haenen, O., Way, K., Stone, D., Engelsma, M., 2014. Koi sleepy disease by Carp edema virus (CEV): first detection in the Netherlands. In: Abstract book of 9th. International Symposium on Viruses of Lower Vertebrates, Malaga, October 1–4, 2014: s. 19.
- Hedrick, R.P., Antonio, D.B., Munn, R. J., 1997. Poxvirus like agent associated with epizootic mortality in juvenile koi (*Cyprinus carpio*). *FHS Newsletter* 25: 1–3.
- Hesami, S., Yanong, R.P.E., Shelley, J., Goodwin, A., Kelley, K.L., Spears, S., Thompson, P.M., Groff, J, Francis-Floyd, R., Haenen, O.L.M., Waltzek T.B., 2015. Carp edema virus disease (CEVD)/ Koi Sleepy Disease (KSD). University of Florida EDIS Publication FA18900. <http://edis.ifas.ufl.edu/fa189>.
- Jin, Y., Adamkowska, N., Kiełpińska, J., Bergmann, S.M., 2020. Detection of koi herpesvirus (KHV) and carp oedema virus (CEV) in invasive round goby, *Neogobius melanostomus* Pallas, 1814, from Poland and Germany. *Journal of Veterinary Research* 64: 247–251.
- Jung-Schroers, V., Adamek, M., Teitge, F., Hellmann, J., Bergmann, S. M., Schütze, H., Kleingeld, D. W., Way, K., Stone, D., Runge, M., Keller, B., Hesami, S., Waltzek, T., Steinhagen, D., 2015. Another potential carp killer? Carp Edema Virus disease in Germany. *BMC Veterinary Research* 11: 114.
- Kim, S. W., Jun, J. W., Giri, S. S., Chi, C., Yun, S., Kim, H. J., Kim, S. G., Kang, J. W., Park, S. C., 2018. First report of carp oedema virus infection of koi (*Cyprinus carpio* haematopterus) in the Republic of Korea. *Transboundary and Emerging Diseases* 65 (2): 315–320.
- Lewis, E., Gorgoglione, B., Way, K., El-Matbouli, M., 2015. Carp Edema Virus/Koi sleepy disease: An emerging disease in central-East Europe. *Transboundary and Emerging Diseases* 62 (1): 6–12.
- Lovy, J., Friend, S.E., Al-Hussine, L., Waltzek, T.B., 2018. First report of carp edema virus in the mortality of wild common carp *Cyprinus carpio* in North America. *Diseases of Aquatic Organisms* 131: 177–186.
- Marsella, A., Pretto, T., Abbadi, M., Quartesan, R., Cortinovis, L., Fiocchi, E., Manfrin, A., Toffan, A., 2021. Carp edema virus-related mortality in wild adult common carp (*Cyprinus carpio*) in Italy. *Journal of Fish Diseases* 44: 939–947.
- Matějčíková, K., Pojezdal, L., Pokorová, D., Reschová, S., Piačková, V., Palíková, M., Veselý, T., Papežíková, I., 2020. Carp oedema virus disease outbreaks in Czech and Slovak aquaculture. *Journal of Fish Diseases* 43 (9): 971–978.
- Matras, M., Borzym, E., Stone, D., Way, K., Stachnik, M., Maj-Paluch, J., Palusińska, M., Reichert, M., 2017. Carp edema virus in Polish aquaculture – evidence of significant

- sequence divergence and a new lineage in common carp *Cyprinus carpio* (L.). *Journal of Fish Diseases* 40 (3): 319–325.
- Matras, M., Stachnik, M., Borzym, E., Maj - Paluch, J., Reichert, M., 2019. Potential vector species of carp edema virus (CEV). *Journal of Fish Diseases* 42: 959–964.
- Miyazaki, T., Isshiki, T., Katsuyuki, H., 2005. Histopathological and electron microscopy studies on sleepy disease of koi *Cyprinus carpio* koi in Japan. *Diseases of Aquatic Organisms* 65 (3): 197–207.
- Ono, S.I., Nagai, A., Sugai, N., 1986. A histopathological study on juvenile colorcarp *Cyprinus carpio*, showing edema. *Fish Pathology* 21: 167–175.
- Ouyang, P., Yang, R., Chen, J., Wang, K., Geng, Y., Lai, W., Huang, X., Chen, D., Fang, J., Chen, Z., Tang, L., Yin, L., 2018. First detection of carp edema virus in association with cyprinid herpesvirus 3 in cultured ornamental koi, *Cyprinus carpio* L., in China. *Aquaculture*, 490: 162–168.
- Oyamatsu, T., Matoyama, H., Yamamoto, K.Y., Fukuda, H., 1997. A trial for the detection of carp edema virus by using polymerase chain reaction. *Aquaculture Science* 45 (2): 247–251.
- Palíková, M., Pojezdal, L., Dávidová-Geržová, L., Nováková, V., papežíková, I., Minářová, H., Mikulíková, I., Dyková, I., submitted. The gill pathobiome of CEV-positive common carp. *Diseases of Aquatic Organisms*.
- Pikula, J., Pojezdal, L., Papezikova, I., Minarova, H., Mikulikova, I., Bandouchova, H., Blahova, J., Bednarska, M., Mares, J., Palikova, M., 2021. Carp Edema Virus Infection Is Associated With Severe Metabolic Disturbance in Fish. *Frontiers in Veterinary Science* 8: 679970.
- Pikulkaew, S., Phatwan, K., Banlunara, W., Intanon, M., & Bernard, J. K., 2020. First evidence of carp edema virus infection of Koi *Cyprinus carpio* in Chiang Mai Province, Thailand. *Viruses* 12 (12): 1400.
- Pojezdal, L., Piackova, V., Matejickova, K., Palikova, M., Pokorova, D., Vesely, T., 2018. Molecular Diagnostic of CEV Infections. Workshop New Viral Diseases in Aquaculture of Cyprinid Fish. Vodňany, 23.-24.10. 2018.
- Pretto, T., Abbadi, M., Panzarin, V., Quartesan, R., Manfrin, A., Toffan, A., 2015. Carp edema virus (CEV): First detection in Italy. In: 17th International Conference on Diseases of Fish and Shellfish, Abstract and Poster, pp. 343.
- Radosavljevic, V., Adamek, M., Milicevic, V., Maksimovic-Zoric, J., Steinhagen, D., 2018. Occurrence of two novel viral pathogens (CEV and CyHV-2) affecting Serbian cyprinid aquaculture and ichthyofauna. *Journal of Fish Diseases* 41 (5): 851–854.
- Sahoo, P. K., Pattanayak, S., Anirban, P., Sahoo, M.K., Kumar, P.R., 2020. Carp edema virus in ornamental fish farming in India: A potential threat to koi carps but not to co-cultured Indian major carp or goldfish. *Indian Journal of Experimental Biology* 58 (4): 254–262.
- Swaminathan, T. R., Kumar, R., Dharmaratnam, A., Basheer, V. S., Sood, N., Pradhan, P. K., Sanil, N. K., Vijayagopal, P., Jena, J. K., 2016. Emergence of carp edema virus in cultured ornamental koi carp, *Cyprinus carpio* koi, in India. *Journal of General Virology* 97 (12): 3392–3399.
- Toffan, A., Marsella, A., Abbadi, M., Abass, S., Al-Adhadh, B., Wood, G., Stone, D.M., 2020. First detection of koi herpesvirus and carp oedema virus in Iraq associated with a mass mortality in common carp (*Cyprinus carpio*). *Transboundary and Emerging Diseases* 67 (2): 523–528.
- Tolo, I.E.; Padhi, S.K., Hundt, P.J., Bajer, P.G., Mor, S. K., Phelps, N.B.D., 2021. Host Range of Carp Edema Virus (CEV) during a Natural Mortality Event in a Minnesota Lake and Update of CEV Associated Mortality Events in the USA. *Viruses* 13: 400.

- Way, K., Stone, D., 2013. Emergence of carp edema virus-like (CEV-like) disease in the UK. *Finfish news* 15: 32–34.
- Way, K., Stone, D., Stinton, N., Gardiner, R., Wood, G., Feist, S., 2013. Detection of Carp Edema-like Virus during Disease Outbreaks in Koi and Common Carp (*Cyprinus carpio*) in the UK. In: Book of abstracts of 16thEAFP International Conference on Diseases of Fish and Shellfish, Tampere, 2.-6.9., 2013, pp. 39.
- Way, K., Martin, P., Mölkänen, S., Wood, G., Reading, A., Williams, C., Stone, D., 2014. Detection of Carp Edema-like Virus during Disease Outbreaks in Koi and Common Carp (*Cyprinus carpio*) in the UK and examination of archive samples. In: Abstract book of 9th. International Symposium on Viruses of Lower Vertebrates, Malaga, October 1–4, 2014: pp. 167.
- Way, K., Haenen, O., Stone, D., Adamek, M., Bergmann, S.M., Bigarré, L., Diserens, N., El-Matbouli, M., Gjessing, M., Jung-Schroers, V., Leguay, E., Matras, M., Olesen, N., Panzarin, V., Piačková, V., Toffan, A., Vendramin, N., Veselý, T., Waltzek, T., 2017. Emergence of carp edema virus (CEV) and its significance to European common carp and koi *Cyprinus carpio*. *Diseases of Aquatic Organisms* 126 (2): 155–166.
- Zrnčić, S., Oraić, D., Zupičić, I. G., Pavlinec, Ž., Brnić, D., Rogić, Ž. A., Sućec, I., Steinhagen, D., Adamek, M., 2020. Koi herpesvirus and carp edema virus threaten common carp aquaculture in Croatia. *Journal of Fish Diseases* 43 (6): 673–685.

7. Seznam publikací, které předcházely metodice

- Adamek, M., Teitge, F., Jung-Schroers, V., Heling, M., Gela, D., Piačkova, V., Kocour, M., Steinhagen, D., 2018. Flavobacteria as secondary pathogens in carp suffering from koi sleepy disease. *Journal of Fish Diseases* 41: 1631–1642.
- Adamek, M., Oschilewski, A., Wohlsein, P., Jung-Schroers, V., Teitge, F., Dawson, A., Gela, D., Piačková, V., Kocour, M., Adamek, J., Bergmann, S. M., Steinhagen, D. 2017. Experimental infections of different carp strains with the carp edema virus (CEV) give insights into the infection biology of the virus and indicate possible solutions to problems caused by koi sleepy disease (KSD) in carp aquaculture. *Veterinary Research* 48: 12.
- Machát, R., Pojezdal, L., Piačková, V., Faldyna, M., 2021. Carp edema virus and immune response in carp (*Cyprinus carpio*): Current knowledge. *Journal of Fish Diseases* 44: 371–378.
- Matějčíková, K., Pojezdal, L., Pokorová, D., Reschová, S., Piačková, V., Palíková, M., Veselý, T., Papežiková, I., 2020. Carp oedema virus disease outbreaks in Czech and Slovak aquaculture. *Journal of Fish Diseases* 43: 971–978.
- Piačková, V., 2020. Viróza v chovech kaprů. *Veterinářství* 70 (8): 490–493.
- Piačková, V., Zusková, E., Kocour Kroupová, H., Máchová, J., Veselý, T., Matějčíková, K., Pojezdal, L., Papežiková, I., Syrová, E., Palíková, M., 2019. Diagnostika jarních úhynů kaprů. *Edice Metodik, FROV JU, č. 181, 49 s.*
- Pikula, J., Pojezdal, L., Papežiková, I., Minářová, H., Mikulíková, I., Bandouchová, H., Blahová, J., Bednarska, M., Mareš, J., Palíková, M., 2021. Carp Edema Virus Infection Is Associated With Severe Metabolic Disturbance in Fish. *Frontiers in Veterinary Science* 8: 679970.

Way, K., Haenen, O., Stone, D., Adamek, M., Bergmann, S. M., Bigarré, L., Diserens, N., El-Matbouli, M., Gjessing, M.C., Jung-Schroers, V., Leguay, E., Matras, M., Olesen, N. J., Panzarin, V., Piačková, V., Toffan, A., Vendramin, N., Veselý, T., Waltzek, T., 2017. Emergence of carp edema virus (CEV) and its significance to European common carp and koi *Cyprinus carpio*. *Diseases of Aquatic Organisms* 126: 155–166.

Dedikace

Metodika je výsledkem řešení výzkumných projektů MZe č. QK1710114 – „Nová virová onemocnění v chovech kapra obecného – diagnostika a prevence“ (50 %), projektu OP VVV č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000869 – „Udržitelná produkce zdravých ryb v různých akvakulturních systémech – PROFISH“ (30 %) a projektů MŠMT CENAKVA (CZ.1.05/2.1.00/01.0024) a CENAKVA II (LO1205 v rámci programu NPU I) – 20%

Interní odborný oponent

prof. MVDr. Zdeňka Svobodová, DrSc.

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

Externí odborný oponent

RNDr. Antonín Prouza

Státní veterinární ústav Jihlava, pracoviště České Budějovice, dolní 2, 370 04 České Budějovice

Oponent za státní správu

Ing. Petr Chalupa, Ph.D.

Ministerstvo zemědělství ČR, Odbor státní správy lesů, myslivosti a rybářství, Oddělení rybářství a včelařství, Těšnov 65/17, 110 00 Praha 1

Osvědčení o uplatněné certifikované metodice č. MZE-55997/2021-16232 ze dne 22. 10. 2021

vydalo Ministerstvo zemědělství ČR, Odbor státní správy lesů, myslivosti a rybářství, Oddělení rybářství a včelařství, Těšnov 65/17, 110 00 Praha 1

Adresa autorského kolektivu

MVDr. Veronika Piačková, Ph.D. (piackova@frov.jcu.cz), 55%

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

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

MVDr. Lubomír Pojezdal, Ph.D. (pojezdal@vri.cz) 15%

Ing. Kateřina Matějčková, Ph.D. (matejickova@vri.cz) 5%

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

doc. MVDr. Miroslava Palíková, Ph.D. (palikovam@vfu.cz) 15%

MVDr. Ivana Papežíková, Ph.D. (papezikovai@vfu.cz) 5%

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

V edici Metodik (technologická řada) vydala Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Vodňany, www.frov.jcu.cz; přidělený editor: dr hab. Ing. Josef Velíšek, Ph.D.; redakce: Zuzana Dvořáková; náklad: 200 ks, 1. vydání; metodika uplatněna v roce 2021; vytištěna v roce 2021; grafický design a technická realizace.

v y d á v á

OSVĚDČENÍ

č. j. MZE-55997/2021-16232

N_{met} - Certifikovaná metodika

o uznání metodiky v souladu s podmínkami Metodiky hodnocení výzkumných organizací a programů účelové podpory výzkumu, vývoje a inovací, schválené usnesením vlády dne 8. února 2017, číslo 107 a její samostatné přílohy č. 4 schválené usnesením vlády dne 29. listopadu 2017 č. 837.

Název metodiky: **Prevence vzniku a rozšíření edémové nemoci kaprů/spavé nemoci koi kaprů (CEVD/KSD) v chovech kapra a koi kapra**

Autor / autoři: **MVDr. Veronika Piačková, Ph.D., MVDr. Eliška Zusková, Ph.D., MVDr. L'ubomír Pojezdal, Ph.D., Ing. Kateřina Matějčková, Ph.D., doc. MVDr. Miroslava Palíková, Ph.D., MVDr. Ivana Papežíková, Ph.D.**

Název organizace: **Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz a Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický**

Místo vydání: Vodňany
Rok vydání: 2021

Metodika byla vypracována v rámci výzkumného projektu/podpory na rozvoj výzkumné organizace Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky – projekty NAZV QK 1710114 Nová virová onemocnění v chovech kapra obecného – diagnostika a prevence – 50 %; OP VVV: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000869 Udržitelná produkce zdravých ryb v různých akvakulturních systémech – PROFISH 30 %; CZ.1.05/2.1.00/01.0024 MŠMT projekt CENAKVA a projekt LO1205 v rámci programu NPU I projektu CENAKVA II – 20 %.

Využívá projekt „Pravidla pro odvětví zemědělství, lesnictví, rybolov“? ANO

V případě, že projekt využívá „Pravidla pro odvětví zemědělství, lesnictví a rybolovu“, je výsledek typu N_{met} zdarma k dispozici všem zájemcům na webové stránce: www.frov.jcu.cz

V Praze dne 22. 10. 2021


Jméno zástupce odborného útvaru státní správy:
Funkce zástupce odborného útvaru státní správy:



Ing. Martin Žížka, Ph.D.
ředitel odboru

Potvrzení ředitele Odboru vědy, výzkumu a vzdělávání MZE:

V Praze dne 22. 11. 2021



Mgr. Jan Radoš