

SLOVENSKÁ POĽHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE
FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH
ZDROJOV

1131427

GENETICKÉ ASPEKTY SCRAPIE U OVIEC

2011

Martin Polák

SLOVENSKÁ POĽHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE
FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH
ZDROJOV

1131427

GENETICKÉ ASPEKTY SCRAPIE U OVIEC

(Bakalárska práca)

Študijný program: manažment živočíšnej výroby
Študijný odbor: 4179700 živočíšna produkcia
Školiace pracovisko: katedra genetiky a plemenárskej biológie
Školiteľ: Ing. Martina Miluchová, PhD.

Nitra 2011

Martin Polák

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA
V NITRE
FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH
ZDROJOV**

ZADANIE ZÁVEREČNEJ PRÁCE

Názov záverečnej práce: Genetické aspekty scrapie u oviec

Označenie záverečnej práce: bakalárska práca

Jazyk, v ktorom sa práca vypracuje: slovenský

Študent: Martin Polák

Študijný program: manažment živočíšnej výroby

Študijný odbor: 4179700 živočíšna produkcia

Školiace pracovisko: katedra genetiky a plemenárskej biológie

Školiteľ: Ing. Martina Miluchová, PhD.

Vedúci školiaceho pracoviska: Doc. Ing. Juraj Candrák, PhD.

Dátum schválenia:

.....

podpis vedúceho školiaceho pracoviska

ČESTNÉ VYHLÁSENIE

Podpísaný Martin Polák týmto vyhlasujem, že bakalársku prácu na tému “*Genetické aspekty scrapie u oviec*“ som vypracoval samostatne s použitím uvedenej literatúry.

Som si vedomý zákonných dôsledkov v prípade, ak hore uvedené údaje nie sú pravdivé.

V Nitre 9. mája 2011

.....

POĎAKOVANIE

Touto cestou by som veľmi rád poďakoval Ing. Martine Miluchovej, PhD., za cenné rady a nesmiernu trpezlivosť počas písania tejto práce.

ABSTRAKT

Táto bakalárska práca je zhrnutím doterajších poznatkov o priónoch, o chorobách ktoré prióny spôsobujú – transmisívnych spongiformných encefalopatiách. Je tu popísaný vznik patogénneho priónu. Prión sa vyskytuje vo fyziologickej forme v každej bunke. Jeho funkcia zatiaľ nie je známa. Sú tu spomenuté najznámejšie TSE u ľudí a zvierat, vznik jednotlivých ochorení, ako aj príznaky a priebeh. TSE sa vyznačujú dlhou inkubačnou dobou a smrteľným koncom. Medzi pomerne známe a často diskutované TSE patrí scrapie oviec, pre ktorú je charakteristickým príznakom svrbenie. U oviec sa zistilo 15 genotypov, ktoré sa delia do piatich skupín z hľadiska rizikovosti a vnímavosti oviec na infekčný prión scrapie. Existuje však už aj nový variant scrapie, nazývaný Nor98, ktorý má množstvo odlišností od klasickej scrapie.

Kľúčové slová: TSE, scrapie, prión

ABSTRACT

This bachelor work represents summary of what we currently know about prions, and the disease they are responsible for - transmissible spongiform encephalopathies. I have elaborated on the formation of a pathogenic prion. Prion in its physiologic form exists in each cell. It is currently not known to us how it properly functions. My work also contains the most known TSE affecting people and mammals, origin of individual diseases, its symptoms and behavior. The incubation period of TSE diseases is very long and often leads to a deadly end. Scrapie is one of several and mostly discussed TSE that affects the nervous system of sheep and goats. The disease symptom is an itching sensation in the animals. There are 15 scrapie genotypes existing by the sheep, which are divided into 5 categories depending on risk and responsiveness of the prion on the sheep. There have been discovered a new type of scrapie with unusual features and designation, called Nor98.

Key words: TSE, scrapie, prion

OBSAH

Úvod.....	9
1 Cieľ práce.....	11
2 Metodika práce.....	12
3 Výsledky práce.....	13
3.1 Prióny.....	13
3.2 TSE.....	18
3.3 Výskyt prionóz u ľudí.....	19
3.4 Výskyt prionóz u zvierat.....	23
3.5 Diagnostika.....	25
3.6 Scrapia.....	26
3.6.1 Atypická scrapia.....	30
4 Záver.....	32
5 Použitá literatúra.....	33
6 Prílohy.....	38

ZOZNAM SKRATIEK A ZNAČIEK

CNS – centrálna nervová sústava

ENS – enterický nervový systém

GA – Golgiho aparát

GER – granulované endoplazmatické retikulum

kDa – kiloDalton

PrP – prión

PrP^C – prión bunkový

PrP^{SC} – prión scrapie (patologický)

PRNP - priónový proteín

RNA – ribonukleová kyselina

SE – spongioformná encefalopatia

ÚVOD

Transmisívne spongiformné encefalopatie (TSE) sú ochorenia postihujúce zvieratá, ale aj ľudí, sú známe viac než 250 rokov, no aj napriek tomu nie sú ani v modernej dobe celkom jasne objasnené a patria medzi najväčšie záhady modernej biológie. Stále pretrvávajú množstvo otázok a neobjasnených odpovedí. V našej práci chceme na základe dostupných poznatkov a literatúry priblížiť jednotlivé ochorenia, ktoré sú vyvolávané infekčnými priónmi, priblížiť vznik patogénneho priónu z normálneho fyziologického priónu, a podrobnejšie rozobrať klusavku u oviec, nazývanú tiež scrapie, ktorá sa vyznačuje zmenami v správaní, stratou orientácie, trasením celého tela, intenzívnym svrbením a v konečnom štádiu končí paralýzou a smrťou. Prióny sú svojím chemickým zložením i spôsobom rozmnožovania zásadne odlišné od všetkých živých organizmov. Sú to infekčné glykoproteidy, ktoré sa však vyskytujú normálne v neurónoch zdravých jedincov. Za istých podmienok sa však môže zmeniť na patologický. Gén pre tento proteín sa u človeka nachádza na krátkom ramene chromozómu 20. Ak sa do zdravej bunky dostane patologický prión, dôjde k premene pôvodného normálneho, následne tento patogénny vytvára komplexy so zdravými, čo vlastne vedie k postihnutiu celej bunky. V súčasnosti existujú dva modely vysvetľujúce konverziu fyziologického proteínu na patologický, oba sú popísané v práci. U ľudí je najznámejšou TSE Creutzfeldt-Jakobova choroba (CJD), ktorá postihuje ľudí vo veku 55-75 rokov a má najvyššiu úmrtnosť spomedzi TSE. Najskôr sa prejavuje zmenami povahových vlastností, náladovosťou, nasledujú poruchy správania, zábudlivosť a v konečnom štádiu úplná paralýza a v priebehu niekoľkých mesiacov smrť. U zvierat je to bovinná spongiformná encefalopatia (BSE), ľudovo choroba „šialených kráv“, ktorá je prenosná na viaceré druhy zvierat a pravdepodobne aj na človeka. Ako prvá sa prejavila vo Veľkej Británii. V prvom štádiu sú príznaky všeobecné a postupne je postihnutá centrálna nervová sústava, v konečnom štádiu paralýza a smrť. Netreba však zabúdať ani na scrapie u oviec, ktorá vyvoláva v poslednej dobe časté diskusie. U oviec sa zistilo 5 haplotypov PrP génu, ktorých kombináciou vzniká 15 PrP genotypov jedinca, sú rozdelené do piatich skupín, pričom každá skupina má inú náchylnosť na vznik patologického proteínu. Napriek modernej dobe a očakávaniam potlačenia scrapie sa dokonca zistila aj nová varianta scrapie, tzv. Nor98, ktorá bola objavená v roku 1998 v Nórsku a má odlišnosti od klasickej scrapie. Názov scrapie je odvodený od hlavného príznaku tejto choroby – škriabanie sa.

Ďalšie príznaky sú podobné s ostatnými ochoreniami, priebeh ochorenia je chronický a samozrejme končí smrťou alebo odporazením.

1 CIEĽ PRÁCE

Na základe poznatkov z odbornej literatúry vypracovať štúdiu o priónoch – molekulový základ vzniku infekčných priónov, výskyt prionóz u ľudí a zvierat, ich klinická charakteristika a diagnostika.

Cieľom práce je:

- definovať prióny
- definovať molekulový základ vzniku infekčných priónov
- definovať transmisívne spongioformné encefalopatie
- stručne a prehľadne popísať výskyt prionóz u ľudí a zvierat, ich klinickú charakteristiku a diagnostiku
- definovať scrapie – genetickú podstatu, klinickú manifestáciu, diagnostiku a výskyt

2 METODIKA PRÁCE

Informácie použité k danej problematike boli čerpané z učebných textov, odbornej literatúry a internetových zdrojov.

Spracované informácie sme rozdelili do týchto okruhov:

1. prióny – molekulový základ priónov, vznik infekčných priónov
2. transmisívne spongioformné encefalopatie (TSE)
3. scrapie (charakteristika – genetická podstata, klinická manifestácia, diagnostika, výskyt)

3 VÝSLEDKY PRÁCE – ŠTÚDIA O SÚČASNOM STAVE RIEŠENEJ PROBLEMATIKY DOMA A V ZAHRANIČÍ

3.1 Prióny – molekulový základ priónov, vznik infekčných priónov

Prióny

Prióny spôsobujú ochorenia nervovej sústavy cicavcov, napádajú prevažne šedú kôru mozgovú. Sú prenosné medzi jednotlivými organizmami a spôsobujú pomalú degeneráciu centrálnej nervovej sústavy, čo bezprostredne vedie k smrti chorého jedinca, je tu dlhá inkubačná doba, ale bohužiaľ nezvratný priebeh. Prióny sú jednoduché typy hydrofóbných proteínov, ktoré v cytoplazme agregujú do zhlukov tyčinkovitých častíc. Týmto spôsobom vznikajú amyloidné plaky, pozorované v tkanivách infikovaných zvierat. Prióny sú vysoko odolné voči teplote (ani teplota 100 °C ich dostatočne nedeaktivuje), voči chemickému pôsobeniu (rezistencia na bežné dezinfekčné prostriedky) a obtiažne sa biologicky rozkladajú, napríklad v pôde prežívajú veľa rokov. Prión (PrP) je jedným z veľa proteínov mozgových buniek, jeho gén sa nachádza na chromozóme 2 u myši a na chromozóme 20 u človeka. Vrodené dispozície pre priónové ochorenia sú spôsobené mutáciou génu, vďaka ktorému vzniká prión ľahšie prechádzajúci do škodlivého tvaru (odolnosť proteínu voči teplotám, proteázam a ďalším vplyvom), pozmenené prióny sa vzájomne spájajú a vytvárajú vlákna, ktoré ničia mozgovú bunku a zostane po nich len nefunkčný mechúrik. Do dnešného dňa sa nepodarilo úplne stanoviť zloženie priónov a spôsob ich rozmnožovania. Všeobecne sa prijíma možnosť syntézy priónov, ktorá spočíva v tom, že vnímavé bunky nesú gén, ktorý kóduje zodpovedajúci priónový proteín. Potom infekcia týchto buniek priónom spôsobí aktiváciu tohto génu (Ambrožová, 2008).

Prióny boli objavené ako pôvodcovia pomalých neurodegeneratívnych chorôb človeka i zvierat, ktoré dostali podľa nich spoločný názov prionózy. Pôvod prionózy je trojaký: prionózy môžu vzniknúť ako dôsledok infekcie, alebo spontánne, alebo hereditárne (po mutácii PRNP – génu pre prión PrP^C). Prióny sú svojím chemickým zložením i spôsobom rozmnožovania zásadne odlišné od všetkých živých organizmov. Sú to infekčné glykoproteíny, neobsahujú nukleové kyseliny a vyskytujú sa normálne v neurónoch zdravých jedincov - človeka a niektorých ďalších cicavcov. Ich funkcia zatiaľ nie je objasnená. Za istých okolností sa môže tento "zdravý" glykoproteín zmeniť na patologický, ktorý je rezistentný voči pôsobeniu proteolytických enzýmov. Preto sa nemôže v neurónoch fyziologicky odbúravať, čo vedie k ich degenerácii. Choroby týmto

spôsobené sa súhrnne označujú za *prionózy* alebo *prenosné špongioformné encefalopatie*. K ich symptómom patrí demencia, ataxia, myoklonus, kóma a smrť, spravidla po hypostatickej pneumónii. Charakteristický je neuropatologický obraz – smrť neurónov, špongiózne zmeny v tkanive mozgu, glióza a astrocytóza, avšak bez zápalu. Pre všetky prionózy je typická dlhá inkubačná doba, pomalý priebeh a postihnutie centrálného nervového systému. Prionózy sa zatiaľ nedajú liečiť a končia sa fatálne. Aj keď sa na niektorých prionózach zásadne podieľajú genetické faktory, je dokázaná aj ich infekčnosť (Albanese et al., 2008).

Gén pre priónový proteín PrP má človek na krátkom ramene chromozómu 20 vo všetkých jadrových bunkách. Konštitutívne sa však exprimuje len v neurónoch. Kóduje polypeptidový reťazec s 253-254 aminokyselinami a relatívnou molekulovou hmotnosťou 33-35 kDa. Tento proteín, označovaný ako PrP^C, je citlivý na pôsobenie proteáz a podobne ako iné proteíny v tele po uplynutí svojho funkčného času podlieha enzýmovému rozkladu proteázami, avšak jeho jadro s relatívnou molekulovou hmotnosťou asi 27-30 kDa odoláva týmto proteolytickým enzýmom a je považované za špecifický chorobný proteín PrP^{Sc}. Neodbúrateľnosť tejto formy proteínu vedie k jeho hromadeniu v neurónoch, zaplňa ich vnútro a vyraduje ich z činnosti, čo sa považuje za príčinu choroby. V mozgu dochádza k vakuolizácii - nadobúda špongiovitý výzor (Harris, 1999).

Prionózy majú dlhú latenciu a vyvíjajú sa pomaly, avšak doposiaľ nepoznáme ani účinnú terapiu, ani špecifickú prevenciu. Inkubačná doba je od 2 mesiacov do 30 rokov. Hoci existuje medzidruhová bariéra, nie je absolútne neprekonateľná a jej prelomenie má nedozerne následky. Príkladom je epidémia BSE, ktorá vznikla kŕmením dobytky mäso-kostnou múčkou pripravenou z oviec uhynutých na klusavku. Táto choroba dobytky je príčinou obrovských hospodárskych strát v postihnutých štátoch. Je však hrozbou aj pre človeka, lebo je dokázaný medzidruhový prenos na primáty a o možnom prekonaní medzidruhovej bariéry svedčí aj výskyt nového variantu CJD v krajinách s výskytom BSE (Prčina et al., 2009).

Etiológia ochorenia a molekulárny základ vzniku infekčných priónov

Mechanizmus premeny PrP^C (c-bunkový) na PrP^{Sc} (sc-scrapie) zatiaľ nie je potvrdený. Ak sa však do zdravej bunky dostane PrP^{Sc}, dôjde k premene normálneho

bunkového PrP^C na patologický PrP^{Sc}, čo vedie k prejavom infekcie. Rozdiely medzi oboma proteínmi nie sú v ich zložení, ale v štruktúre. Molekula PrP^C obsahuje 42 % α -helixu a len 3 % β -štruktúry, kým priestorové usporiadanie PrP^{Sc} predstavuje len 30 % α -helixu, ale až 43 % β -štruktúry, ktorá je odolnejšia voči proteolytickým enzýmom. Konformačná zmena fyziologickej formy PrP^C tohto proteínu na patologickú PrP^{Sc} sa vysvetľuje tým, že po preniknutí do neurónu vznikne komplex oboch izoform, v ktorom sa preformuje a po rozpade komplexu majú jeho obe zložky formu PrP^{Sc}. Tieto tvoria komplexy s ďalšími PrP^C a proces sa opakuje, pokiaľ nie je postihnutá celá bunka. Teda ide o zmenu terciárnej štruktúry a nie o vírusovú etiológiu, ako sa kedysi predpokladalo. Všeobecne sa predpokladá, že za konverziu PrP^C na PrP^{Sc} je zodpovedná konformačná zmena a nie kovalentná modifikácia, keďže obe izoformy majú rovnakú aminokyselinovú sekvenciu a zrejme aj posttranslačné zmeny. Zdá sa, že konverzia spočíva v zmene rozpustného monoméru PrP^C s prevahou α -helixov na nerozpustný multimér bohatý na β -štruktúry (Pan et al., 1993).

PrP^{Sc} je považované za špecifický chorobný proteín, má relatívnu molekulovú hmotnosť 27-30 kDa. Priestorové usporiadanie PrP^{Sc} predstavuje len 30 % α -helixu, ale až 43 % štruktúry β -skladaných listov PrP^{Sc}. Konformácia štruktúry β -skladaných listov dáva proteínu veľkú termodynamickú stabilitu a vysokú chemickú odolnosť, ako aj tendenciu sa zhlukovať a vytvárať tzv. amyloidné plaky. U PrP^{Sc} iba prvá tretina aminokyselinového reťazca je enzymaticky degradovaná proteázou K. Zvyšný reťazec je skutočne veľmi stály, pevný a je len čiastočne degradovaný enzýmom (Zahn et al., 2000).

Normálny proteín sa reprodukuje v ribozómoch, kým infekčná forma priónového proteínu len transferuje patologickú konformáciu do priónov syntetizovaných v bunkách. Podľa Kightleyho (2004) RNA, ktorá je genetickým kódom pre PrP^C je tvorená v jadre a prechádza cez póry karyolémy do cytoplazmy bunky. RNA potom prechádza okolo ribozómov naviazaných na granulované endoplazmatické retikulum (GER). Ribozómy na základe genetickej informácie z jadra syntetizujú vo vnútri cisterien GER proteíny. PrP^C nahromadený v GER je pevný. Z GER sa odškrcujú sekrečné vezikuly, ktoré obsahujú PrP^C proteín. Vezikuly sa postupne posúvajú až ku Golgiho aparátu (GA). Membrány sekrečných vezikúl (pochádzajúcich z GER) splynú s membránou GA, zároveň sa PrP^C dostáva do vnútra cisterien diktyozómov, kde dochádza k jeho hromadeniu a kondenzácii.

PrP^C sa hromadí na okrajoch cisterien, ktoré sa rozširujú a vytvárajú vezikuly. Tieto sa odškrucujú a postupujú k cytoplazmatickej membráne. Tu dochádza k spojeniu cytoplazmatickej membrány s vezikulami, ktoré vyprázdnia svoj obsah. Takýmto spôsobom PrP^C nasadá na povrch bunky.

PrP^C sa stretávajú s ničivými priónmi, ktoré sa nazývajú PrP^{SC}. Zdá sa, že ničivé prióny prinúti normálne proteíny k zmene ich formy. Oba typy proteínov, PrP^C a jemu zodpovedajúci PrP^{SC}, majú úplne rovnaké chemické zloženie, ale rozdielne tvary. K takejto tvarovej zmene môže prísť na povrchu bunky alebo v kaveolách. Reziduálny PrP^C nachádzajúci sa vo vezikulách oddelených od GER môže zmeniť svoj tvar pri kontakte s PrP^{SC}. PrP^C je odolný voči degradácii enzýmami obsiahnutými v lyzozómoch, v dôsledku toho sa PrP^{SC} nahromadia v bunke. Vezikuly obsahujúce PrP^{SC} môžu tiež prechádzať ku GA a ohraničiť PrP^C, ktorý tu je spracovaný. Touto cestou PrP^C častice môžu byť zmenené na ničivú formu skôr než sa dostanú na povrch bunky. Pri takýchto mechanizmoch PrP^C môže byť menený na PrP^{SC} na rôznych miestach v bunke i na bunke. TSE sa tak prenášajú prostredníctvom molekuly, ktorá nie je živým organizmom. Je to len sekvencia aminokyselín, teda veľmi jednoduchý peptid alebo bielkovina, ktorej hovoríme infekčná bielkovina. Ak sa dostane do živého organizmu, prenikne do každej bunky v tele. Vo väčšine buniek je ale infekčná bielkovina úplne neškodná. Postihnuté sú len tie tkanivá, v ktorých sa prepisujú prióny do bielkovín. Nazývame ich priónové bielkoviny, ktoré sú vlastné danému organizmu a majú svoju danú funkciu. Vtedy dochádza k molekulovej interakcii v zmysle silového pôsobenia medzi infekčnou bielkovinou a priónovou bielkovinou (Borsuk, 2001; Crowell, 2004).

V súčasnosti sa akceptujú dva modely vysvetľujúce konverziu PrP^C na PrP^{SC}. Prvý má v angličtine označenie „*refoldingmodel*“ (rozbal'ovací). Jeho podstatou je, že za určitých podmienok sa už spomínaná alfa závitnicová štruktúra čiastočne „rozbalí“ a práve v tom momente môže vstúpiť do hry „zvonku“ prichádzajúca molekula PrP^{SC}. Tá sa na takto čiastočne rozbalenú alfa molekulu naviaže a následne ju konvertuje už nie do alfa, ale do patologickej beta formy. Celý tento proces môže prebiehať v oboch smeroch. Predpokladom konverzie je prekonanie vysokej energetickej bariéry a tiež spoluúčasť ďalších molekúl (kofaktory), ako sú enzýmy a podobne. V prípade mutácií na géne pre priónový proteín, majú práve tie za následok, že molekula je vnímavejšia na „*refolding*“. Druhý model dostal označenie ako tzv. „*seedingmodel*“ (jadierkový). Tu sa predpokladá koexistencia oboch molekúl súčasne, avšak za fyziologických (normálnych) podmienok je

PrP^C dominantný a PrP^{SC} je ako monomér nestabilný. Ak sa spojí (agreguje) viacero molekúl PrP^{SC}, vytvorí sa určitá kryštalická forma (jadierko) a v tejto forme sa molekuly PrP^{SC} stabilizujú. Na vytvorenie stabilného jadierka treba niekoľko molekúl, čo je za normálnych okolností veľmi nepravdepodobné. Iná je situácia, keď dôjde k infekcii a počet prítomných PrP^{SC} molekúl sa značne zvýši. Ak už jadierko vzniklo, ostatné PrP^{SC} molekuly sa naň veľmi ľahko nabaľujú. Pri dosiahnutí určitej veľkosti sa jadierko rozpadá na menšie časti, tie na seba naväzujú ďalšie molekuly a celý proces sa značne urýchľuje. Konverzii napomáha kyslé prostredie, ktoré je v bunke v lyzozómoch, kde k nej pravdepodobne aj dochádza. Na samý proces konverzie, okrem už spomínaných bodových mutácií na géne, má vplyv aj homológia (podobnosť) medzi génmi pre priónový proteín v rámci jednotlivých živočíšnych druhov. Všeobecne platí, že čím vyššia homológia, tým ľahšie prebieha konverzia a možnosť ochorenia je vyššia. Samozrejme, sú tu aj ďalšie špecifické faktory, pretože ochorenie sa nemusí prejavíť u každého jednotlivca, ktorý sa nakazí (López-Herrera, 2002).

Možnosti prelomenia medzidruhovej bariéry pri prionózach začínajú objasňovať molekulovo-genetické práce, ktoré ukázali, že gén pre priónový proteín (PrP^C) kóduje nielen aminokyselinovú sekvenciu potenciálne infekčnej molekuly, ale určuje aj inkubačnú dobu a vnímavosť na agensy vyvolávajúce SE. Čím je aminokyselinová skladba PrP^C medzi jednotlivými druhmi živočíchov homológnejšia (príbuznejšia), tým väčšia je i pravdepodobnosť prenosu. Ovčie PrP^C sa líši od bovinného len v siedmych aminokyselinových jednotkách, kým ľudský sa od bovinného PrP^C líši až na 30 aminokyselinových pozíciách. Z toho vyplýva, že pravdepodobnosť prenosu BSE z dobytky na človeka je malá. Podľa Prusiner (1995) však za prekonanie medzidruhovej bariéry môže zodpovedať len určitá časť molekuly PrP^C. V tom prípade nebezpečenstvo prenosu by mohlo byť väčšie, ako by vyplývalo z jednoduchého porovnania aminokyselinových sekvencií (Vrtiak et al., 1997).

3.2 Transmisívne spongioformné encefalopatie (TSE)

Pojmom *transmisívna spongioformná encefalopatia* sa označuje skupina prenosných fatálnych neurodegeneratívnych ochorení ľudí a zvierat. Niekedy sa označujú ako priónové choroby, priónové demencie, prenosné degeneratívne encefalopatie a tiež infekčné mozgové amyloidózy. Za pôvodcu chorôb sa pokladá izoforma bunkového proteínu PrP. Gén, ktorý kóduje prión sa vyskytuje v jadre každej bunky ľudského organizmu. Prepisuje sa výhradne v nervovom tkanive, lymfatickom tkanive, či v tkanive vnútorných orgánov. Spoločným znakom týchto chorôb je dlhá inkubačná doba (až niekoľko rokov trvajúca symptomatická predklinická fáza), hubovité neurodegeneratívne zmeny mozgu bez pôvodných zápalových zmien, trvalo progresívny priebeh bez remisíí a letálne zakončenie. Typickým patologickým nálezom v mozgu (hlavne v sivej hmote) sú vakuolárna degenerácia neurónov, spongioformná degenerácia neurofilov, apoptóza, odumieranie neurónov a akumulácia amyloidných plakov pozostávajúcich zo zmeneného priónového proteínu, ktorý je zakódovaný v genetickej výbave hostiteľa (Miluchová et al., 2007).

Príčinou týchto chorôb sú prióny (Caughey a Chesebro, 1997).

Názov je odvodený od morfológického vzhľadu poškodeného mozgu postihnutých jedincov. Ide o fatálne ochorenia spojené so stratou koordinácie pohybov, demenciou a neodvratným smrteľným koncom. Prvým známym takýmto ochorením bola klusavka (scrapie) oviec a kôz opísaná v roku 1738, ale opis príznakov tejto choroby možno nájsť už v antickej literatúre (Narang, 1996).

Klusavka patrí medzi najrozšírenejšie TSE živočíchov. Okrem Austrálie a Nového Zélandu sa vyskytuje prakticky vo všetkých krajinách. Od r. 1947 je známa prenosná encefalopatia noriek, ktorá je prvým prípadom prekonania medzidruhovej bariéry. Vznikla skrmovaním krmiva pripraveného z oviec uhynutých na klusavku norkami domácimi. V súčasnosti sa najviac diskutuje o bovinej spongioformnej encefalopatii (BSE), ktorej prvé príznaky sa vyskytli v Anglicku r. 1985 a ktorá je ďalším príkladom prelomenia medzidruhovej bariéry, lebo príčinou jej vzniku bolo kŕmenie dobytku mäsovokostnou múčkou pripravenou zo zvierat uhynutých na klusavku (Dealer a Kemt, 1995).

Doteraz sa TSE zistila najmenej u 12 druhov prežúvavcov chovaných v zajatí alebo voľne žijúcich v prírode a u troch druhov mačkovitých šeliem (Vrtiak et al., 1997).

Z hľadiska vzniku nových foriem CJD alebo prenosu TSE na ďalší živočíšny druh je pozoruhodné, že veľmi často ide o zjavný následok zásahu človeka. Kuru na Novej Guinei je dôsledkom kanibalizmu, prenosná encefalopatia noriek (TEM) vzniká výlučne u noriek na chovných farmách (kŕmených mäsom a vnútornosťami nakazených oviec) a iatrogénna CJD, ktorá sa objavuje od roku 1985 u mladistvých v dôsledku dlhodobého liečenia rastovým hormónom, pripraveným z (CJD kontaminovaných) ľudských hypofýz (Koch et al., 1985).

3.3 Výskyt prionóz u ľudí

Kuru

Prvým známym priónovým ochorením centrálnej nervovej sústavy je choroba *kuru*, ktorá bola objavená u členov kanibalského kmeňa Foré v Papuy Novej Guiney. Najväčšia hustota infekčného agensu je v mozgu mŕtvych. Prenos na zdravých jedincov sa uskutočnil rituálnym endokanibalizmom a postihovala najmä ženy a deti, keďže po úmrtí príbuzného muži zjedli mäso a ženám a deťom pripadol mozog a vnútornosti (Gajdusek, 1977).

Inkubačný čas ochorenia bol 4 – 5 rokov u detí, ale u dospelých viac ako 20 rokov. Patogenéza spočíva v pomalej nezápalovej degeneratívnej deštrukcii nervových buniek *cerebellum* a tých častí mozgu, s ktorými je mozoček spojený nervovými dráhami. Ochorenie sa začína nenápadnými poruchami udržiavania rovnováhy v stoji a pri chôdzi. Ochorenie môže začať bolesťami končatín alebo hlavy. Neskôr sa objaví tremor pri cieľených pohyboch. Po týždňoch až mesiacoch sa objavujú hyperkinézy, myoklónie alebo dystonické poruchy provokované pohybom. V terminálnom štádiu ochorenia sa rozvíja demencia. V konečných fázach nastáva depresivita, anxieta, paranoja a agresivita. Priebeh ochorenia je progresívny a končí letálne za deväť mesiacov až tri roky. Pre diagnózu je rozhodujúca etnická príslušnosť a geografický pôvod, pretože ochorenie sa nevyskytuje nikde inde vo svete (Gibbs et al., 1980; Prusiner, 1993).

Gerstmann-Sträussler-Scheinkerov syndróm (GSS)

Prvá správa o dedičnej priónovej chorobe ľudí bola zverejnená na schôdzi Viedenskej neurologickej a psychiatrickej asociácie v roku 1912. Týkala sa

neurologických porúch, ktoré sa v rodine “H” vyskytovali po mnohé generácie (Gambetti et al., 1999).

Charakteristickým patologickým prejavom je prítomnosť amyloidových plakov v cerebrálnom kortexe spojená s degeneráciou pyramídálneho traktu. Histopatologický obraz však závisí od typu bodovej mutácie pacienta. Môžu sa vyvinúť aj spongioformné zmeny, neurofibrilárne kľbká, alebo Lewyho telieska. Priemerná doba ochorenia je 5 rokov. Výskyt tohto ochorenia je zriedkavý, asi dva prípady na 100 miliónov obyvateľov. Ukázalo sa, že GSS je geneticky podmienené ochorenie. Je spôsobené bodovými mutáciami v géne pre ľudský priónový proteín. Mutácie v kodónoch 102, 117, 198, 217 sa našli u pacientov trpiacich týmto ochorením, pričom mutácia v kodóne 102 bola u členov všetkých desiatich testovaných rodín. Neskôr sa u pacientov s GSS identifikovali ďalšie bodové mutácie v kodónoch 105, 145, 180 a 232 (Ghetti et al., 2003).

Creutzfeldt-Jakobova choroba (CJD)

Táto choroba je snáď najznámejšou TSE ľudí. Bola diagnostikovaná v dvadsiatych rokoch 20. storočia ako smrteľná neurodegeneratívna choroba. Má celosvetovú úmrtnosť približne jeden prípad na milión ľudí ročne a väčšinou postihuje ľudí medzi 55-75 rokom veku. Priebeh choroby je veľmi rozmanitý. V prvom štádiu sú možné zmeny povahových vlastností, zmeny nálad, prejavy úzkosti, hovorí sa o depresívnom syndróme. V druhom štádiu sú charakteristické zábudlivosť, poruchy správania, niekedy halucinácie. Objavujú sa neželané mimovoľné pohyby ako reakcie na vonkajšie podnety. Vyskytujú sa poruchy koordinácie, dokonca aj poruchy reči. V konečnom štádiu sa stáva človek úplne nehybným a umiera v priebehu niekoľkých mesiacov od začiatku symptómov (Glatzel et al., 2003; Tilton, 2004).

Vyskytuje sa v troch hlavných formách: sporadickej (sCJD), dedičnej (fCJD) a iatrogénnej (iCJD). Navyše sa v nedávnej dobe vyskytli zvláštne prípady tzv. variantu CJD (vCJD)

Kamin a Patten (1984) v roku 1984 zaznamenali niekoľko prípadov s možnosťou prenosu CJD konzumáciou mozgu divých zvierat. Neskôr v roku 1996 bol identifikovaný *nový variant Creutzfeldt-Jakobovej choroby (nvCJD)*, ktorý by mohol byť v príčinnom vzťahu s epidémiou BSE, a vyslovila sa hypotéza, že táto choroba by mohla byť prenášaná na ľudí (Collinge et al., 1996).

Najnovšie molekulové analýzy dokázali, že priónový kmeň vyvolávajúci nvCJD je totožný s kmeňom, ktorý vyvoláva BSE (Bruce et al., 1997; Hill et al., 1997).

To znamená, že nvCJD je vlastne ľudskou BSE (Almond a Pattison, 1997).

Klinické symptómy pri nvCJD sa líšia od symptómov CJD. Zmyslové poruchy a zmeny správania sa (strach, depresia) patria k charakteristickým príznakom. Skoro sa vyvíja ataxia, ktorá sa vyskytuje vo všetkých prípadoch (pri sporadickej CJD len v 60 %-ách). V priebehu týždňov sa vyvíja progresívny cerebellárny syndróm so zúbydlivosťou a poruchami pamäte. Mnohí pacienti sa stávajú apatickí, chudnú a majú miernu insomniu. Progresívna demencia sa vyvíja vo všetkých prípadoch. Neskôr v priebehu choroby sa vyvinie myoklónus (Tan et al., 1999).

Fatálna familiárna insomniá (FFI)

Patria k menej známym TSE ľudí. Fatálna familiárna insomniá (FFI) je charakteristická ťažkou selektívnou atrofiou buniek talamu dojčiat. Klinické príznaky zahŕňajú zmeny v cykloch spánku a bdenia, typická je nespavosť a obdobia zasnenosti s halucináciami, nepravidelné dýchanie. Klinické príznaky homozygotov a heterozygotov sú odlišné. U homozygotov je priebeh rýchlejší, nespavosť a svalová triaška. U heterozygotov má chronickejší priebeh, ataxia a disartria (Montagna et al., 1998).

Alperov syndróm

Alperov syndróm je geneticky podmienenou TSE dojčiat (Heaphy, 2002).

Tabuľka 1 Mutácie v ľudskom géne PRNP spôsobujúce priónové ochorenia - zhrnutie podľa Prčinu, 2009

Mutácia	Klinické príznaky, výskyt
Pro-Leu 102	Klasický GSS.
Pro-Leu 105	Demencia, strata neurónov, plaky v mozgovej kôre, bez spongiózy. Identifikovaná u 4 pacientov z troch japonských rodín.
Ala-Val 117	Presenilná demencia, prítomnosť PrP plakov. Zistená u francúzskych, britských a amerických rodín.
Gly-Val	GSS bez spongioformnej degenerácie, trvanie ochorenia 9 rokov, jedna austrálska rodina.
Tyr-Stop 145	Tvorba skráteného PrP. Zaznamenaná u japonského pacienta s poruchami pamäti a progresívnou demenciou, prítomnosť amyloidných plakov v CNS.
Asp-Asn 178	V prítomnosti valínu v pozícii 129 vznik CJD so skorým nástupom, ak je 129 aminokyselina metionín, vyvinie sa klasická FFI.
Val-Ile 180	Subakútna demencia a svalové záškľby, spongioformné zmeny, strata neurónov, astrocytóza.
Thr-Ala 183	Rapidná progresívna demencia, agresívne správanie a často parkinsonické príznaky. Masívna spongióza a atrofia mozgovej kôry. Zaznamenaná u 9 členov brazílskej rodiny španielskeho a talianskeho pôvodu.
His-Arg 187	GSS bez spongioformnej degenerácie. Jedna britská rodina.
Phe-Ser 198	Odlíšná forma GSS. Neurofibrilárne kľbká podobné ako pri Alzheimerovej chorobe zložené z PrP. Zaznamenaná u veľkej rodiny v americkej Indiane.
Glu-Lys 200	CJD s rapidnou progresívnou demenciou, trvanie menej než 12 mesiacov, priemerný nástup v 55. roku života. Neobvykle vysoký výskyt u lýbijských Židov a obyvateľov Oravy. Vyskytuje sa tiež v Chile a USA.
Asp-Asn 202	GSS bez spongioformnej degenerácie. Jedna britská rodina.
Arg-His 208	Príznaky podobné ako pri sCJD. Jediný prípad.
Val-Ile 210	Spongióza, strata neurónov, astrocytóza. Jeden francúzsky prípad.
Gln-Pro 212	GSS. Dlhotrvajúce ochorenie s miernym priebehom. Jedna rodina.
Gln-Arg 217	GSS. Demencia poruchy chôdze dysfágia. Jedna švédka rodina.
Met-Arg 232	Demencia, spongioformné zmeny. strata neurónov, bez plakov. Traja japonský pacienti.
Met-Thr 232	GSS. Jedna poľská rodina.

3.4 Výskyt prionóz u zvierat

Bovinná spongioformná encefalopatia (BSE)

Patrí k najznámejším transmisívnym spongioformným encefalopatiám. Ide o afebrilnú, letálne končiacu chorobnú jednotku, ktorá je prenosná na viaceré druhy prežúvavcov, mäsožravcov a pravdepodobne aj na človeka. Vzniká v dôsledku degeneratívneho procesu centrálného nervového systému. Charakteristická je typickým histopatologickým nálezom – vakuolizáciou neurónov v centrálnej nervovej sústave postihnutých kráv. Vakuolizácia neurónov spôsobuje špongiovitý vzhľad mozgového tkaniva, od čoho je odvodený aj názov choroby (Levkut et al., 2001).

Prvá BSE, tiež známa ako choroba šialených kráv, prepukla vo Veľkej Británii v roku 1986. Bol to dôsledok kŕmenia dobytká proteínovým doplnkom mäso-kostnou múčkou z oviec, ktorá bola infikovaná scarpiau (Vrtiak et al., 2000).

Kvôli zamedzeniu rozširovania BSE z dobytká na ostatné domestikované zvieratá bol v roku 1988 vydaný vo Veľkej Británii zákaz obohacovať krmivo pre dobytok proteínmi pochádzajúcimi z prežúvavcov. Podobná regulácia bola kvôli prevencii rozširovania priónu zo zvieracích produktov na ľudí zavedená i v Európskych krajinách a v USA (Baron et al., 1999).

Podozrenie na prvý prípad výskytu BSE v Slovenskej republike bolo vyslovené 27. 9. 2001 na základe pozitívnych výsledkov rýchlych laboratórnych testov na BSE Štátnym veterinárnym ústavom vo Zvolene na oddelení veterinárnej laboratórnej diagnostiky BSE. Išlo o 6-ročnú kravu z domáceho chovu na farme Horná Ždaňa (okres Žiar nad Hronom), majiteľom ktorej bola Vtáčnik s.r.o., Dolná Trnávka. Po vyšetrení vzorky v Národnom referenčnom laboratóriu SRN v Tübingene sa toto podozrenie potvrdilo. Vyšetrenie bolo vykonané špecifickou diagnostickou metódou EÚ – Imunoblottom.

BSE je pomaly prebiehajúce ochorenie s dvojfázovým priebehom. Prvá fáza, tzv. *prodromálne štádium* je sprevádzané všeobecnými prejavmi ochorenia. Prejavuje sa postupným chudnutím pri dobrej žravosti, úbytkom laktácie až zasušením pri zmenšenom brušnom objeme, a afebrilite. Vegetatívny nervový systém v tomto období býva alterovaný vo forme brachykardie a hypomotoriky bachora. Sprievodná vagotónia je ovplyvniteľná atropínovou skúškou, kedy sa po aplikácii atropínu frekvencia srdca normalizuje (Bíreš et al., 2001).

Prodromálne štádium po neurčitej dobe prechádza do postupných odchýlok v chovaní a nervových porúch. Druhá fáza, klinicko-manifestačné štádium má zreteľné

prejavy postihnutia centrálnej nervovej sústavy. Ide o systémový prejav, sprevádzaný alteráciou vedomia (oddeľovanie sa od skupiny, samotárstvo, ťažká manipulácia pri dojení, presunoch, premiestňovaní, hrabanie a kopanie končatinami, zvýšená dráždivosť a ľakavosť, vzpurnosť až zúrivosť, pričom pokojné a dráždivé obdobia sa môžu striedať), psychomotorickými poruchami (zvíra stojí meravo, má rozkročený postoj, chôdza je kymáca, strnulá, má hypermetrický krok predných a zadných končatín, zvíra podkopáva pod brucho, strihá ušami, krúti krkom a potriasa hlavou, olizuje sa, vyhŕňa mulec, občas bučí a vydáva neprirodzené zvuky, škripe zubami, ťažko vstáva a zakrátko uľahne), hypersenzibilitou a v paralytickom prejave nevyhnutne končí letálne (Casalone et al., 2004).

Choroba chronického chradnutia (CWD)

Choroba chronického chradnutia je jediné doteraz známe priónové ochorenie, ktoré postihuje voľne žijúce, nie domestikované zvieratá. Postihuje zástupcov čeľade jeleňovité, najmä jeleníka čiernochvostého a jeho poddruhov (Dagleish et al., 2008).

Spongiformná encefalopatia mačkovitých šeliem (FSE)

Priónové ochorenie mačkovitých šeliem chovaných v zoologických záhradách v Anglicku sa vyvinulo pravdepodobne kvôli kŕmeniu šeliem hovädzím mäsom z dobytky nakazeného BSE. FSE bola popísaná u geparda, pumy, ocelota a tigra. Navyše sa FSE vyvinula u niekoľkých domácich mačiek v Anglicku. Po zákaze pridávania hovädzej sleziny a CNS do krmiva pre domáce zvieratá sa nové prípady neobjavili (Kirkwood, Cunningham, 1994).

Prenosná encefalopatia norkov (TME)

TME sa sporadicky vyskytuje u norkov chovaných v USA, Kanade, Fínsku, Rusku a Nemecku. Predpokladalo sa že choroba vznikla ako dôsledok kŕmenia norkov mäsom infikovaným klusavkou, avšak zdá sa že pôvodcom by mohla byť skôr BSE. Klinicky sa TME prejavuje podobne ako iné TSE, zmenou správania, zvýšenou agresivitou, ataxiou, triaškou, hryzením vlastného tela. Neuronálna degenerácia a astrocytóza, predovšetkým v mozgovej kôre, talame, hypotalame, menej v strednom mozgu a predĺženej mieche (Marsh a Bessen, 1993).

3.5 Diagnostika

Diagnostika priónových chorôb vychádza z klinických príznakov, overuje sa na základe typického histopatologického nálezu v centrálnej nervovej sústave a dôkazom prítomnosti patologického priónového proteínu buď imunohistochemicky, alebo izolovaním a znázornením pomocou elektrónového mikroskopu. Dôkaz sa zvyčajne hľadá až po smrti, pitvou sa zisťuje, či sú v mozgu prítomné vakuoly, amyloidné proteínové sedimenty a astroglia (Tilton, 2004).

Dnes už existujú aj rýchlejšie diagnostické testy (Prionoc-check test, Platelia BSEtest, Enfer TSEtest), ktoré sú schopné rozlíšiť zdravý hovädzí dobytok od dobytka postihnutého BSE za predpokladu, že je starší ako 30 mesiacov. Diagnostické rozlíšenie medzi infekčnými a neinfekčnými priónmi sa dosahuje pomocou enzýmu proteáza K. Tento enzým je schopný natrihať proteínový reťazec neinfekčného priónu bezo zvyšku na krátke fragmenty tzv. oligopeptidy. Teda pôsobením proteázy je normálna forma PrP rozložená, zatiaľ čo pri formách PrP^{Sc} a PrP^{BSE} dochádza k zmene pôvodných z 32 – 35 kDa na 27 – 30 kDa. Zostávajúci fragment odolný proti proteáze sa označuje PrP 27 - 30. Tento fragment je vizualizovaný pomocou monoklónovej protilátky (Novák et al., 2001).

Súčasný test sa nedajú použiť na intravitálnu sérologickú diagnostiku ochorenia BSE. Avšak je snahou využiť na zostavenie sérologického testu objav, že zymogén v krvi človeka a myši, tzv. plazminogén, sa špecificky viaže s infekčnými priónmi, ale neviaže sa so zdravými priónmi (Fischer, 2000).

Príčinou javu, že sa prióny nedajú detegovať prostredníctvom imunitného systému je skutočnosť, že ich “neškodná” forma je v tele prítomná už od narodenia (Prusiner, 1995).

3.6 Scrapie

Scrapia

Scrapie (klusavka), patriaca medzi transmisívne spongiformné encefalopatie (TSE), je ochorenie oviec a kôz. V súčasnosti predstavuje dôležitý a významný zdravotný problém aj na území Slovenska. Scrapie patrí do skupiny ochorení známych ako prenosné spongiformné encefalopatie (TSE) alebo aj prionózy. Pre tieto choroby je typický pomalý progresívny priebeh, postihnutie centrálného nervového systému, zatiaľ sa nedajú liečiť a vždy končia smrteľne. Scrapie spôsobuje premena normálne sa vyskytujúceho priónového proteínu PrP na abnormálny PrP^{Sc}, často nazývaný aj ako scrapie priónový proteín. Tento sa hromadí v organizme a spôsobuje degeneratívne zmeny nervového tkaniva. Táto choroba sa medzi vnímavými zvieratami šíri niekoľkými spôsobmi: orálne, požitím infekčného materiálu, cez poškodenú kožu alebo spojivku, prenosom z matky na jahňa alebo sprostredkovaným prenosom prostredníctvom vektora. Najčastejšou vstupnou bránou je tráviaci aparát. K masívnej kontaminácii prostredia dochádza aj počas pôrodu, vzhľadom na prítomnosť priónového proteínu PrP^{Sc} v plodových obaloch. Pre scrapie, ako aj ostatné prionózy, je typická dlhá inkubačná doba, ktorá sa pohybuje od 3 do 5 rokov. Priebeh choroby je chronický a trvá od 6 týždňov až 6 mesiacov. Najčastejšie sa ochorenie vyskytuje vo veku 3,5 roka. Toto ochorenie sa prejavuje rôznymi klinickými príznakmi. Počiatočné štádium sa prejavuje najmä zmenami v správaní. Choré ovce zaostávajú za stádom, stavajú sa reaktívnejšie voči ostatným zvieratám a ľuďom, sú nepokojné, charakteristickým príznakom je silné svrbenie, ktoré začína na chrbte a šíri sa aj na hlavu a ostatné časti tela a niekedy je tak progresívne, že znemožňuje zvieratú prijímať krmivo a odpočívať. Okrem toho je možné pozorovať škrípanie zubami, olizovanie pyskov, triašku končatín, lokálnu a celkovú stratu srsti spôsobenú škrabaním sa, ospalosť, strach, triašku, neprirodzenú chôdzu, slabosť panvových končatín, uľahnutie, stratu telesnej hmotnosti až úhyn. Avšak choré zviera nemusí prejavovať všetky opísané klinické príznaky, tieto sa môžu postupne vyvíjať a prejavovať sa v rôznej intenzite. Doposiaľ neexistuje žiadny rutinný test na diagnostiku ochorenia živých zvierat ani možnosť vakcinácie zdravých alebo liečenia chorých zvierat (Bíreš, 2005).

So *scrapiou* je dôvodne spájaný vznik BSE. Scrapia ako jediná transmisívna spongiformná encefalopatia vykazuje existenciu viac ako dvadsiatich rozdielnych kmeňov patogénnych priónov (Baron et al., 1999).

Je to degeneratívne ochorenie oviec a kôz, ktoré postihuje centrálnu nervovú sústavu. Názov pochádza zo snahy chorých oviec škriabať sa (Holko et al., 2001).

Toto ochorenie bolo potvrdené už pred sto rokmi, no nebola známa príčina jeho vzniku. Najnovší pokrok v molekulovej biológii umožnil identifikovať gén, ktorý sa dáva do súvislosti s vnímavosťou voči scrapii. Označuje sa PrP priónový gén. Priónový gén PrP sa vyskytuje vo viacerých variantoch – alelách, ktoré sa líšia tromi kodónmi. Alela PrP génu sa skladá z 256 kodónov. Zistilo sa, že schopnosť priónového proteínu zmeniť sa na patologickú formu závisí najmä od jeho primárnej štruktúry, konkrétne od kombinácie aminokyselín na troch miestach molekuly priónového proteínu. Tieto tri aminokyseliny sú kódované na kodónoch 136, 154 a 171, pričom práve varianty týchto troch aminokyselín sú podstatou polymorfizmu PrP génu, ktorý nesporne súvisí s vnímavosťou na scrapii (Goldman et al., 1991).

Mozog postihnutých zvierat vykazuje degeneráciu neurónov, intenzívnu vakuolizáciu a astrocytózu. Prvou postihnutou oblasťou je dorzálne jadro nervu *vagus* v predĺženej mieche. Toto jadro je cez *nervus vagus* spojené s enterickým nervovým systémom (ENS). Keďže ENS vo všetkých prípadoch scrapie vykazuje prítomnosť PrP^{sc}, predpokladá sa, že práve ENS je iniciálnym miestom replikácie PRP^{sc} a odtiaľto sa ďalej šíri do CNS (Wood et al., 1997).

Klinickými príznakmi scrapie sú bojzlivosť, ktorá sa strieda s nadmernou dráždivosťou až agresivitou, nepokoj, niektoré zvieratá manifestujú demenciu, tremor hlavy, krku a postupne celého tela, škriabanie kože, nekoordinovaný pohyb, slintanie a potenie. Priemerná dĺžka klinických prejavov je asi 4 mesiace (Holko et al., 2001).

Rozsiahlymi genetickými štúdiami sa dokázalo, že rezistentnosť resp. vnímavosť oviec na scrapie možno zistiť testovaním krvných vzoriek, ktoré obsahujú deoxyribonukleové kyseliny (DNA). Tento test sa nazýva „genotypizácia priónového proteínu (PrP)“ a výsledkom testu je stanovenie PrP genotypu ovce. Ovčí PrP gén má 2 alely, z ktorých jahňa po jednej získava od svojich rodičov. U oviec bolo identifikovaných 5 haplotypov PrP génu (ARR, ARQ, ARH, AHQ, VRQ) a ich kombináciou vzniká PrP genotyp jedinca. Doteraz je známych 15 genotypov, ktoré sú zaradené do nasledovných rizikových skupín:

I. skupina R1 genotyp ARR/ARR

II. skupina R2 genotypy ARR/ARQ, ARR/AHQ a ARR/ARH

III. skupina R3 genotypy ARQ/ARQ, ARQ/AHQ, ARQ/ARH, AHQ/AHQ, AHQ/ARH a ARH/ARH

IV. skupina R4 genotyp ARR/VRQ

V. skupina R5 genotypy ARQ/VRQ, AHQ/VRQ, ARH/VRQ a VRQ/VRQ.

V krajinách EÚ sa v súčasnosti realizujú národné programy, ktorých cieľom je postupne vyselektovať jedince a plemená oviec, ktoré budú rezistentné proti tomuto nebezpečnému ochoreniu. V plemenitbe sa prioritne používajú barany genotypu ARR/ARR a postupne eliminujú jedince nesúce alelu VRQ v homozygotnom alebo heterozygotnom stave - skupina R4 a R5 (Čapistrák et al., 2008).

V roku 2004 sa začal realizovať aj na Slovensku chovateľský a šľachtiteľský program, ktorého cieľom je vytvoriť postupne populácie oviec v rámci jednotlivých plemien, ktoré budú rezistentné proti scrapie. V tomto programe bolo uvedené, že v plemenitbe sa nebudú používať ovce IV. a V. skupiny a od r. 2008 by sa z plemenitby mali vylúčiť jedince genotypu 3. skupiny ARQ/ARQ. Zároveň podľa tohoto programu sa malo začať aj s genotypizáciou bahníc v šľachtiteľských chovoch (ŠCH), čo nebolo zrealizované.

Z doteraz získaných výsledkov genotypizácie PrP plemenných baranov bolo zistené, že medzi jednotlivými plemenami chovanými na Slovensku sú relatívne veľké rozdiely čo sa týka zastúpenia alely ARR a alely VRQ. Ďalej boli zistené veľké rozdiely v zastúpení alely ARR, resp. VRQ medzi jednotlivými chovmi v rámci plemena. Plemená romanovské a východofrízske by mohli byť ohrozené, ak by sa v plemenitbe využívali iba jedince 1. až 3. rizikovej skupiny, preto im boli udelené výnimky (neboli zaradené do 1. základnej skupiny).

Na základe frekvencie alely ARR v danej populácii sa plemená rozdeľujú do 3 základných skupín:

1. Plemená s vysokou frekvenciou alely ARR (nad 25%).
2. Plemená so stredne vysokou frekvenciou alely ARR (menej ako 25% a viac ako 10%).
3. Plemená s nízkou frekvenciou alely ARR (pod 10%). (Čapistrák et al., 2008).

Tabuľka 2 Infekčnosť tkanív a telesných tekutín pri scrapie oviec a kôz
(upravené podľa EEC Regulatory Document, 1992).

Kategória I Vysoká infekčnosť	mozog, miecha, oči
Kategória II Stredná infekčnosť	Ileum, lymfatické uzliny, proximálna časť hrubého čreva, slezina, tonzily, dura mater, epifýza, placenta, cerebrospinálna tekutina, hypofýza, nadoblička
Kategória III Nízka infekčnosť	distálna časť hrubého čreva, nosová sliznica, sedací nerv, kostná dreň, pečeň, pankreas, týmus
Kategória IV Zatiaľ nedokázaná infekčnosť	krvná zrazenina, srdce, obličky, mliečna žľaza, mlieko, ovárium, sliny, slinná žľaza, infekčnosť a seminálne vezikuly, sérum, kostrové svalstvo, semeníky, tyroidea, uterus, fetálne tkanivo, kosť, chrupkovité tkanivo, spojivové tkanivo, chlpy, koža, moč

3.6.1 Atypická scrapie

V roku 1998 bol v Nórsku popísaný prvý prípad tzv. atypickej klusavky, tento priónový kmeň dostal názov Nor98. Na rozdiel od klasickej klusavky sa v oblasti obexu nachádza len veľmi málo alebo žiadna vakuolizácia a imunohistochemická analýza tu nezaznamenáva prítomnosť PrP^{SC}, avšak vakuolizácia aj depozícia PrP^{SC} sa v zvýšenej miere vyskytuje v kôre mozgu a mozočku. Nor98 sa odlišuje od ostatných priónových kmeňov nezvyčajne malou molekulovou hmotnosťou po natrávení proteinázou K (12 kDa). Atypická klusavka postihuje aj ovce s genotypom zabezpečujúcim rezistenciu ku klasickej klusavke. Ochorenie sa ukázalo ako neprenosné na myši, avšak bolo prenosné na transgénne myši exprimujúce VRQ alelu ovčieho priónového proteínu (Benestad et al., 2003).

Tabuľka 3 Porovnanie klasickej scrapii a Nor98 variantu
(http://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_diseases/scrapie)

	Atypická scrapie	Klasická scrapie
Prenos	Nor98 atypická scrapie sa buď neprenáša alebo sa prenáša slabo, v prirodzených podmienkach, pri ich expozícii k infikovaným zvieratám na farmách. Mnoho vedcov verí, že Nor98 atypická scrapie je miesto toho spôsobená náhodnou konverziou (často označovaná ako „sporadická“) normálneho priónového proteínu do abnormálnej formy.	Klasická klusavka je infekčné ochorenie, ktoré je prenášané na iné ovce a kozy v prirodzených podmienkach.
Distribúcia	Nor98 atypická scrapie bola nájdená vo všetkých krajinách, kde bolo extenzívne sledovanie vykonané použitím citlivých testovacích metód. Prípady Nor98 atypickej scrapie sa vyskytujú izolovane v mnohých rozdielnych stádach a zdajú sa byť náhodne rozptýlené.	Klasická scrapie nebola hlásená v niektorých krajinách kde bola pozorovaná Nor98 atypická scrapie. Klasická scrapie sa často objavujú v zhlukoch.
Počet postihnutých oviec alebo kôz v čriedach	Nor98 atypická scrapie je zriedka nájdená vo vyššom počte ako jedno zviera v čriede, v ktorej je zvyčajne viac ako 500 oviec.	Klasická scrapie zvyčajne postihne dve alebo viac oviec alebo kôz v infikovanej čriede.
Priemerný vek kedy sa u zvierat objavujú prvé klinické príznaky	Pri Nor98 atypickej scrapie sú klinické príznaky len zriedka zdokumentované a zvieratá sú za normálnych okolností diagnostikované až pri porážke, keď sa odoberajú vzorky, zvyčajne vo vyššom veku ako 5 rokov.	V prípade klasickej scrapie, klinické príznaky sa zvyčajne objavujú prvé a vedú k úmrtiu zvierat, ktoré sú vo veku 3-5 rokov veku.
Klinické príznaky asociované s ochorením	Pri prípadoch Nor98 atypickej scrapie sú klinické príznaky popísané len zriedka. Okrem toho, v prípade Nor98 atypickej scrapie nebolo pozorované intenzívne trenie tela o pevné objekty.	Intenzívne trenie tela o pevné objekty je často vyskytujúci sa klinický príznak klasickej klusavky.
Rozdiely v ochrane proti chorobe riadené genotypom	U Nor98 atypickej scrapie nie je žiadna genotypom riadená ochrana.	Niektoré ovce majú genotypy, ktoré sú odolné voči klasickej scrapie, ale sú stále náchylné na Nor98 atypickú scrapie.

4 ZÁVER

Na záver by som chcel zhrnúť, že okrem tradičných infekčných agensov ako sú napríklad viroidy, vírusy, baktérie, prvoky a mnohé iné, existujú ďalšie, ktoré vznikajú transformáciou už existujúcich proteínov. Pod pojmom transmisívna spongiformná encefalopatia sa označuje skupina prenosných fatálnych neurodegeneratívnych ochorení ľudí a zvierat. Niekedy sa označujú ako priónové choroby, priónové demencie, prenosné degeneratívne encefalopatie a tiež infekčné mozgové amyloidózy. Pôvodcovia týchto chorôb sú patogénne proteíny. Všetky TSE majú relatívne rovnaké príznaky a sú charakteristické dlhou inkubačnou dobou, sú neliečiteľné a všetky končia smrťou. Taktiež neexistujú žiadne protilátky a zabrániť vzniku môžeme len prísnymi bezpečnostnými a preventívnymi opatreniami v chovoch, pravidelnou kontrolou a preventívnymi zabitiami. Stále nevieme, či sa prióny vyskytujú len u cicavcov, pretože máme poznatky, že proteíny s podobnou funkciou sa vyskytujú aj u vtákov a nižších organizmov. Môžeme taktiež konštatovať, že z hľadiska rozdelenia genotypov do piatich skupín sa už v plemenitbe nepoužívajú genotypy zo skupiny R4 a R5, a tiež sa neodporúča používať jedince s genotypmi R3 skupiny. Základom je eliminovať jedince s alelou VRQ. Ďalej môžeme konštatovať, že jednotlivé orgány, telesné tekutiny a časti tela majú rôznu infekčnosť pri scrapie. Od roku 2003 sa doposiaľ zistilo na Slovensku 97 prípadov scrapie, pričom najviac ich bolo v roku 2008. V roku 2010 to boli prevažne prípady už nového variantu Nor98, ktorý sa na Slovensku našiel po prvý krát v roku 2006. Nor98 sa vyznačuje najmä slabo sledovateľnými príznakmi, takmer vôbec nesledujeme svrbenie a ochorenie sa zistí až po smrti, taktiež na rozdiel od klasickej scrapie neexistuje ochrana oviec na základe genotypu. Nie je dokonca ani tak infekčná ako klasická, pretože sa vyskytuje akoby náhodne. Ani v súčasnosti neexistuje žiadny test, pri ktorom by sme nemuseli ovce usmrcovať. Avšak vieme zistiť vnímavosť oviec na scrapie testovaním krvných vzoriek. Taktiež nebola doposiaľ objavená žiadna protilátka, respektíve vakcína na prevenciu. Možno len dúfať, že sa to niekedy niekomu podarí.

V tejto práci sú najnovšie poznatky o priónových ochoreniach ľudí a zvierat, ich výskyt a príznaky.

5 POUŽITÁ LITERATÚRA

ALBANESE, V.- LAWSON, V.A.- HILL, A.F.- CAPPALÀ, R.- DI GUARDO, G.- STAIKOPOULOS, V.- THACKER, M.- FURNESS, J.B.- CHIOCCETTI, R. 2008. Evidence for prion protein expression in enteroglial cells of the myenteric plexus of mouse intestine. In *Neuro. Sci.* vol. 140, 2008, p. 17-23.

ALMOND, J. – PATTISON, J. 1997. Human BSE. In *Nature*, vol. 389, 1997, p. 437-438.

BARON, T. G. M. – MADEC, J. Y. – CALAVAS, D. 1999. Similar signature of the prion protein in scrapie and bovine spongiform encephalopathy linked disease. In *J. Clin. Microbiol.*, vol. 11, 1999, p. 3701-3704.

BENESTAD, S. J.- SARRADIN, P.- THU, B.- SHONHEIT, J.- TRANULIS, M. A.- BRATBERG, B. 2003. Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type, Nor98. In *Vet. Rec.*, vol. 153, 2003, p. 202-208.

BÍREŠ, J. – SLANINA, Ľ. – VAJDA, V. 2001. Klinická diferenciálno diagnostická štúdia BSE a suspektných klinických ochorení v podmienkach SR. In *Slov. Veter. Čas.*, roč. 26, 2001, č. 4, s. 210-213.

BÍREŠ, J. 2005. *Príručka pre chovateľov oviec a kôz*. Bratislava, 2005. 40 s.

BORSUK, B. 2001. Prionózy – princíp vzniku a účinku. In *Slov. Veter. Čas.*, roč. 26, 2001, č. 4, s. 221-222.

BRUCE, M.E. – WILL, R.G. – IRONSIDE, J.W. – McCONNELL, I. – DRUMMOND, D. – SUTTLE, A. – McCARDLE, L. – CHREE, A. – HOPE, J. – BIRKETT, C. – COUSENS, S. – FRASER, H. – BOSTOCK, C. J. 1997. Transmissions to mice indicate that “new variant” CJD is caused by the BSE agent. In *Nature*, vol. 389, 1997, p. 448-501.

CASALONE, C.- ZANUSSO, G.- ACUTIS, P.- FERRARI, S.- CAPUCCI, L.- TAGLIAVINI, F.- MONACO, S.- CARAMELLI, M. 2004. Identification of a second

bovine amyloidotic spongiform encephalopathy: Molecular similarities with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. In *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 101, p. 3065-3070.

CAUFHEY, B. - CHESEBRO, B. 1997. Prion protein and the transmissible spongiform encephalopathies. In *Trends Cell. Biol.*, vol. 7, 1997, p. 56 - 62.

COLLINGE, J. – SIDLE, K. C. L. – MEADS, J. – IRONSIDE, J. – HILL, A. F. 1996. Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of “new variant” CJD. In *Nature*, vol. 383, 1996, p. 685-690.

CROWELL, S. 2004. How Now, Mad Cow. [online]. [cit. 2011-03-03], dostupné na internete: <http://www.rit.edu/~sbib350/posters/prions.htm>

ČAPISTRÁK, A. – MARGETÍN, M. – ŠPÁNIK, J. – APOLEN, D. 2007. *Analýza genotypizácie oviec na scrapie: výskumná správa*. Nitra : SCPV, 2007. 8 s.

DEALER, S.F. - KEMT, T.J. 1995. BSE an update on the statistical evidence. In *Brit. Food J.*, vol. 97, 1995, s. 3-19.

EEC REGULATORY DOCUMENT. 1992. Note for Guidance. Guidelines for Minimizing the Risk of Transmitting Agents Causing Spongiform Encephalopathy via Medicinal Products. In *Biologicals*, vol. 20, 1992, s. 155.158.

FISCHER, M. B. – ROECKL, CH. – PARIZEK, P. – SCHWARZ, H. P. – AGGUZI, A. 2000. Binding of disease-associated prion protein to plasminogen. In *Nature*, vol. 408, 2000, p. 479-483.

HARRIS, D.A. 1999. Cellular biology of prion diseases. In *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 12, 1999, p. 429-444.

HOLKO, I. – NOVAČKOVÁ, A. – KANTÍKOVÁ, M. – KMEŤ, V. 2001. Eradikácia scrapie metódou genetickej selekcie vnímavých zvierat vo svete a na Slovensku. In *Slov. Veter. Čas.*, roč. 26, 2001, č. 4, s. 206-209.

GAJDUSEK, D.C. 1977. Unconventional viruses and the origin and disappearance of kuru. In *Science*, vol. 197, 1977, p. 943-960.

GAMBETTI, P. – PETERSEN, R. B. – PARCHI, P. – CHEN, S. G. – CAPLLARI, S. 1999. *Inherited prion diseases*. p. 509 – 584. In Prusiner, S.B., Prion biology and diseases. New York: Cold SpringHarbour Laboratory Press, 1999, p. 930. ISBN 0-87969-693-1

GHETTI, B.- TAGLIAVINI, F.- TAKAO, M.- BUGIANI, O.- PICCARDO, P. 2003. Hereditary prion protein amyloidoses. In *Clin. Lab. Med.*, vol. 23, 2003, p. 65-68.

GIBBS, D. J. jr. – AMYX, H. L. – BACOTE, A. – MASTERS, C. – GAJDUSEK, D. C. 1980. Oral transmission of kuru, Creutzfeldt-Jakob disease, and scrapie to non-human primates. In *J. Infect. Dis.*, vol. 142, 1980, p. 205-208.

GLATZEL, M. G. 2003. Extraneural pathologic prion protein in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. In *New Engl. J. Med.*, vol. 349, 2003, p. 1812-820.

GOLDMANN, W. - HUNTER, N. - BENSON, G. - FOSTER, J. D. - HOPE, J. 1991. Different scrapie-associated fibril proteins (PrP) are encoded by lines of sheep selected for different alleles of the Sip gene. In *J. Gen. Virol.*, vol. 72, 1991, p. 2411-2417.

HEAPHY, S. 2002. „Prion Disease.“ [online]. [cit. 2011-11-03], dostupné na internete: [http:// www. micro. msb. le. ac. uk/335/Prions.html](http://www.micro.msb.le.ac.uk/335/Prions.html).

HILL, A. F. – DESBRUSLAIS, M. – JOINER, S. – SIDLE, K. C. L. – GOWLAND, I. – COLLINGE, J. - DOEY, L. J. – LANTOS, P. 1997. The same prion strain causes nvCJD and BSE. In *Nature*, vol. 389, 1997, p. 448-450.

KIRKWOOD, J.K. - CUNNINGHAM, A. A.1994. Epidemiological observations on spongiform encephalopathies in captive wild animals in the British Isles. In *Vet. Rec.*, vol. 135, 1994, p. 296-303.

LEVKUT, M. – LEVKUTOVÁ, M. – REVAJOVÁ, V. 2001. Patologicko-anatomická a histologická diagnostika bovinnej špongioformnej encefalopatie (BSE). In *Slov. Veter. Čas.*, roč. 26, 2001, č. 4, s. 214-216.

LÓPEZ-HERRERA, A. – HAENN, A. – URCUQUI-INCHIMA, S. 2002. The challenge of prion diseases, an emergency in humans and bovines. In *Veter. Méx.*, vol. 33, 2002, no 4, p. 421-442.

MARSH, R. F. - BESSEN, R. A. 1993. Epidemiologic and experimental studies on transmissible mink encephalopathy. In *Dev. Biol. Stand.*, vol. 80, 1993, p. 111-118.

MILUCHOVÁ, M - TRAKOVICKÁ, A - KULÍŠEK, V – BUJKO, J. 2007. Molekulový základ priónov, výskyt priónóz u ľudí a zvierat a ich klinická charakteristika a diagnostika. In *Slovak J. Anim. Sci.*, vol. 40, 2007, no. 2, p. 105 – 112.

MONTAGNA, P. - CORTELLI, P. - AVONI, P. - TINUPER, P. - PLAZZI, G. - GALLASSI, R. - PORTALUPPI, F. - JULIEN, J. - VITAL, C. 1998. Clinical features of fatal familial insomnia: Phenotypic variability in relation to a polymorphism at codon 129 of the prion protein gene. In *Brain. Pathol.*, vol. 8, 1998, p. 515-520.

NARANG, H. 1996. Origin and implications of bovine spongioform encephalopathy. In *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, vol. 211, 1996, p. 306-322.

NOVÁK, M. – HLINKA, D. – MAGIC, D. 2001. Rýchla diagnostika bovinnej špongioformnej encefalopatie (BSE). Súčasná situácia na Slovensku a vo svete. In *Slov. Veter. Čas.*, roč. 26, 2001, č. 4, s. 200-205.

PAN, K.M. - BALDWIN, M. - NGUYEN, J. - GASSET, M. - SERBAN, A. - GROTH, D. - MEHLHORN, I. - HUANG, Z. - FLETTERICK, R.J. - COHEN, F.E. - PRUSINER, S.B. 1993. Conversion of α -helices into β -sheet features in the formation of the scrapie prion protein. In *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 90, 1993, p. 10962-10966.

PRUSINER, S. B. 1993. Genetic and infectious prion diseases. In *Arch. Neurol.*, vol. 50, 1993, p. 1129-1153.

PRUSINER, S.B. 1995. The prion diseases. In *Sci. Amer.*, vol. 272, 1995, p. 48-57.

TAN, L. – WILLIAMS, M. A. – KHAN, M. K. – HUNTER, C. 1999. Risk of transmission of bovine spongiform encephalopathy to humans in the United States. In *J. Amer. Med. Assoc.*, vol. 281, 1999, no. 24, p. 2330-2339.

TILTON, D. 2004. Decontaminating the indestructible prion. [online]. [cit. 2011-03-03], dostupné na internete: [http:// www. Wild Iris Medical Education](http://www.WildIrisMedicalEducation)

VRTIAK, O.J. - CABADAJ, R. - MIKULA, I. - SOKOL, J. 1997. Špongiformné encefalopatie (prionózy) živočíchov. In *Bratisl. lek. Listy*, vol. 98, 1997, s. 212-216.

VRTIAK, O. J. – NOVÁK, M. – MIKULA, I. – TKÁČIKOVÁ, Ľ. – SOKOL, J. 2000. Genotypovanie pri scrapie. In *Slov. Veter. Čas.*, roč. 25, 2000, č. 5, s. 267-270.

[online]. [cit. 2011-03-04], dostupné na internete: http://www.svssr.sk/zvierata/choroby_scrapie.asp

[online]. [cit. 2011-01-02], dostupné na internete: http://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_diseases/scrapie/

6 PRÍLOHY

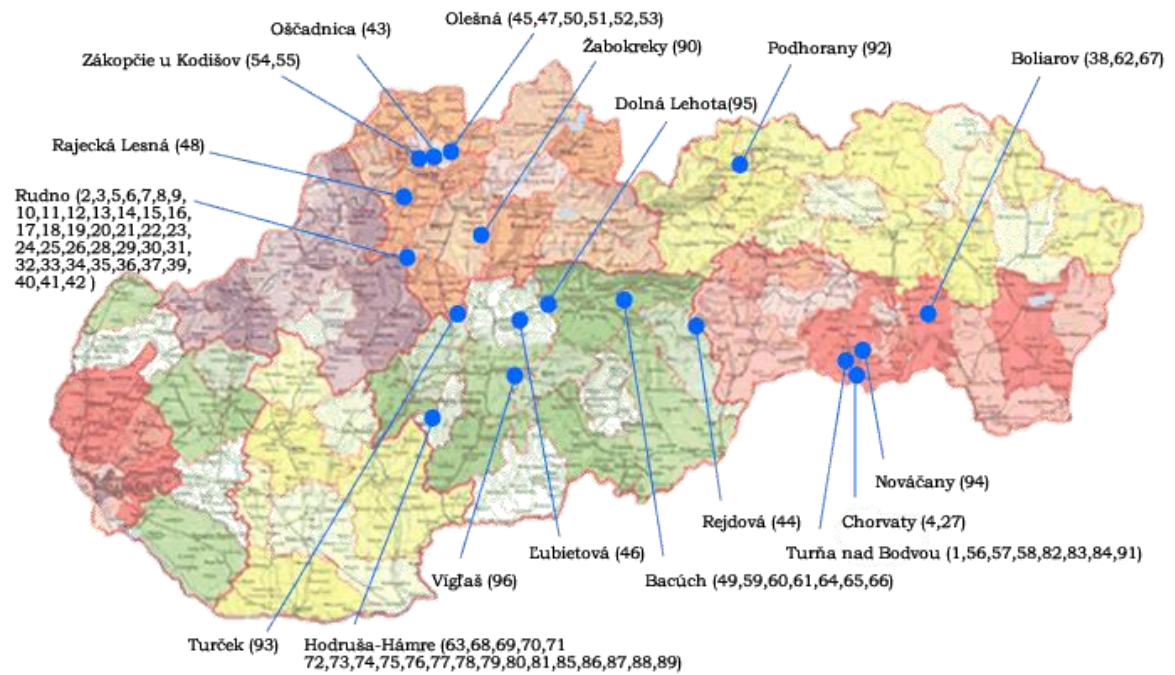
- Príloha č. 1 Lokality s výskytom scrapie na Slovensku
- Príloha č. 2 Chronologický prehľad scrapie na Slovensku
- Príloha č. 3 Výsledky laboratórneho vyšetovania scrapie u oviec za obdobie
od 1.1.2010 do 31.12.2010

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
1131427

Bakalárska práca: Genetické aspekty scrapie u oviec

Príloha č. 1 Lokality s výskytom scrapie na Slovensku

(http://www.svssr.sk/zvierata/choroby_scrapie.asp)



Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
1131427

Bakalárska práca: Genetické aspekty scrapie u oviec

Príloha č. 2 Chronologický prehľad scrapie na Slovensku

(http://www.svssr.sk/zvierata/choroby_scrapie.asp)

- Prípad č. 97 – 48 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ALRQ/ALRQ, (zo dňa 22.02.2011)
- 2011** • Prípad č.96 - 35 mesačná samica plemena Cigája, **Šiesty atypický prípad scrapie v SR.** (zo dňa 07.02.2011)

- Prípad č. 95 - 74 mesačná samica plemena Zošľachtená valaška, (zo dňa 03.12.2010)
- Prípad č. 94 - 105 mesačná samica plemena Zošľachtená valaška, (spotrebu) genotyp ALHQ/ALRQ. **Piaty atypický prípad scrapie v SR** (zo dňa 18.11.2010)
- 2010** • Prípad č. 93 - 92 mesačná samica plemena Zošľachtená valaška, **Štvrtý atypický prípad scrapie v SR** (zo dňa 08.10.2010)
- Prípad č.92 - 101 mesačná samica plemena Zošľachtená valaška, genotyp AHQ/ARR. **Tretí atypický prípad scrapie v SR.** (zo dňa 13.08.2010)
- Prípad č.91 - 78 mesačná samica plemena Merino/Fleisch - Merino, genotyp ARR/ARQ (zo dňa 15.06.2010)

- 2009** • Prípad č.90 - 128 mesačná samica plemena "Zošľachtená valaška genotyp AHQ/ARR. **Druhý atypický prípad scrapie v SR.** (zo dňa 25.11.2009)

- Případ č.89 - 112 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/VRQ (zo dňa 22.05.2008)
- Případ č.88 - 99 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/VRQ. (zo dňa 22.05.2008)
- Případ č.87 - 62 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARQ. (zo dňa 22.05.2008)
- Případ č.86 - 136 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/VRQ. (zo dňa 22.05.2008)
- Případ č.85 - 63 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARQ. (zo dňa 15.05.2008)
- Případ č.84 - 76 mesačná samica plemena Merino, genotyp ARQ/ARQ. (zo dňa 25.04.2008)
- Případ č.83 - 62 mesačná samica plemena kríženec Suffolk + Merino (50/50), genotyp ARQ/ARQ. (zo dňa 25.04.2008)
- Případ č.82 - 28 mesačná samica plemena Merino, genotyp ARQ/ARQ. (zo dňa 25.04.2008)
- Případ č.81 - 26 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARQ. (zo dňa 28.02.2008)
- Případ č.80 - 121 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARQ. (zo dňa 28.02.2008)
- Případ č.79 - 60 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARQ. (zo dňa 14.02.2008)
- Případ č.78 - 96 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARQ (zo dňa 14.02.2008)
- Případ č.77 - 96 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARQ. (zo dňa 14.02.2008)
- Případ č.76 - 59 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARQ. (zo dňa 14.02.2008)
- Případ č.75 - 143 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARQ. (zo dňa 30.01.2008)
- Případ č.74 - 143 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARQ

2008

(zo dňa 30.01.2008)

- Prípád č.73 - 85 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARH.
(zo dňa 30.01.2008)
- Prípád č.72 - 120 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARQ.
(zo dňa 30.01.2008)
- Prípád č.71 - 58 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARQ.
(zo dňa 18.01.2008)
- Prípád č.70 - 59 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/VRQ
(zo dňa 18.01.2008)
- Prípád č.69 - 59 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/VRQ.
(zo dňa 18.01.2008)
- Prípád č.68 - 59 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARQ.
(zo dňa 18.01.2008)
- Prípád č.66 - 47 mesačná samica plemena Zošľachtená valaška, genotyp ARQ/ARQ. (zo dňa 10.01.2008)
- Prípád č.65 - 84 mesačná samica plemena Zošľachtená valaška, genotyp ARQ/ARQ. (zo dňa 10.01.2008)
- Prípád č.64 - 23 mesačná samica plemena Zošľachtená valaška + Cigája, genotyp ARQ/ARQ. (zo dňa 10.01.2008)
- Prípád č.63 - 58 mesačná samica plemena Cigája, genotyp ARQ/ARH.
(zo dňa 07.01.2008)

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
1131427

Bakalárska práca: Genetické aspekty scrapie u oviec

Príloha č. 3 Výsledky laboratórneho vyšetřovania scrapie u oviec za obdobie od 1.1.2010 do 31.12.2010 (http://www.svssr.sk/zvierata/choroby_scrapie.asp)

Cieľová skupina zvierat	Počet vyšetřených vzoriek	
	Vyšetřené	Pozitívne
Uhynuté	1641	0
Núdzovo zabité	5	0
S klinickými príznakmi pri <i>ante mortem</i> vyšetření	0	0
Zdravé	293	1
Zabité z dôvodu eradikácie	75	0
Podozrivé	0	0
Spolu	2014	1