

# Lymfoproliferativní onemocnění u dvou hrozných královských spojené s retrovirovou infekcí

J. HNÍZDO,<sup>1</sup> O. HES,<sup>2</sup> L. CHYLÍKOVÁ,<sup>1</sup> I. NÁGL,<sup>3</sup> B. ŠMÍD<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Animal Clinic – Veterinární klinika, Praha

<sup>2</sup>Odd. spec. diagnostiky, ŠPAU, Fakultní Nemocnice University Karlovy, Plzeň

<sup>3</sup>Státní Veterinární Ústav Praha, Praha

<sup>4</sup>Výzkumný Ústav Veterinárního Lékařství, Brno

## SOUHRN

**Lymfoproliferativní onemocnění u dvou hrozných královských spojené s retrovirovou infekcí.**

Veterinární klinika 2008;5:

Článek popisuje dva případy hrozných královských (*Boa constrictor*) z jednoho chovu, prezentovaných s odlišnými symptomy. Samec vykazoval symptomatiku chronického renálního selhání a parézy. Samice uhynula perakutně bez předcházejících symptomů. U obou hadů bylo prokázáno z biopsií sleziny lymfoproliferativní onemocnění (maligní lymfom), u samice spojené s akutní lymfoblastickou leukémií. V ledvinách a játrech byly zjištěny intracytoplazmatické inkluze (Inclusion Body Disease). Ultrastrukturálně byla u obou zvířat prokázána retrovirová infekce. V diskusi jsou prezentovány možné souvislosti mezi retrovirovými infekcemi a lymfoproliferativním onemocněním u hrozných hadů.

## SUMMARY

**Lymphoproliferative disease in two boa constrictors associated with a retroviral infection.**

Veterinární klinika 2008;5:

This paper describes two cases of boa constrictors from one breeder, presented with different clinical symptoms. The male snake showed signs of chronic renal failure and paresis. The female died peracutely without previous clinical symptoms. In both boas malignant lymphoproliferative disease (lymphoma) was diagnosed from splenic samples. Intracytoplasmatic viral inclusions were detected in kidney and liver necrotic material (Inclusion Body Disease). Retroviral particles were detected with electron microscopy in both animals. The discussion presents possible association of retroviral infections with neoplastic disease in boid snakes.

## Úvod

Hroznýš královský (*Boa constrictor*) patří mezi nejčastěji chované druhy plazů. Zvláště v posledních letech se dočkaly velké popularity také různé barevné mutace těchto hadů. Díky rychlému rozšíření hybridních forem a barevných morf, ale i takzvaných čistokrevných poddruhů dochází současně k přesunům značných počtů jedinců z chovů v USA a jiných částí světa do Evropy. Tito hadi pochází většinou z velkých chovů. Poslední desetiletí zajímá odbornou veterinární i chovatelskou veřejnost problém retrovirových infekcí šířících se původně z chovů hrozných a krajů z USA do chovných zařízení po celém světě. Také v naší praxi pozoruje-

me nárůst pozitivních případů na retrovirovou infekci, takzvanou Inclusion Body Disease (IBD). Následující dvě kazuistiky popisují dva případy IBD u hrozných královských z jednoho chovu.

## Klinický případ 1:

**Nacionále:** V lednu 2008 byl na pracoviště prvního autora referován samec hroznýše královského (*Boa constrictor* -salmon), zhruba šest let starý, hmotnosti 3,2 kg, 170 cm celkové délky těla.

**Anamnéza:** Hroznýš pocházel z profesionálního velkochovu v USA, byl legálně importován jako mládě začátkem roku 2003 do Evropy a byl získán současným majitelem z jiného soukromého chovu před dvěma měsíci. Majitel je zkušeným chovatelem, hygienické a mikroklimatické podmínky v chovu byly optimální. Všichni hadi v chovu byli chováni v hygienicky zařízených teráriích jednotlivě. Do chovu nebyla kromě postiženého jedince v posledních letech přibírána jiná zvířata tohoto druhu. Ostatní hadi v chovu (různé druhy kraj a hroznýšovitých) byli chováni v oddělených místnostech a do té doby nevykazovali klinické symptomy.

Zpočátku nejevil pacient žádné potíže, několik týdnů dobře prospíval. Postupně došlo k odmítání potravy. Poslední pozřený potkan (čtyři týdny před vyšetřením) byl následující den vyzvracen. Had se začal častěji stahovat do nádrže s vodou, majitel pozoroval nadměrné pití. Během dvou měsíců došlo ke dvěma svlekům. Poslední tři týdny bylo pozorováno zvětšení objemu v kaudální čtvrtině těla. Poslední defekace proběhla před zhruba třemi týdny, stolice byla makroskopicky normální.

**Klinické vyšetření:** Celková kondice a výživný stav hada byl dobrý. Nápadné bylo zvětšení objemu kaudálního úseku těla. Oblast byla měkká a fluktuující, bez rezistence. Svalový tonus kaudální třetiny těla byl nápadně ochablý (obr. 1). Obraccí reflex byl zpomalený.



**Obr. 1 – Paréza kaudální třetiny těla, nápadná náplň tekutinou**

Ostatní klinické vyšetření bylo bez patologického nálezu.

Krev byla odebrána kardiocentézou. Krevní obraz byl bez patologického nálezu. Krevní nátěry byly barveny standardně (Diff-Quick) a vyšetřeny na přítomnost intracytoplazmatických inkluzí s negativním výsledkem.

**Biochemickým vyšetřením** krve byly zjištěny: kyselina močová 1016 mmol/l, CB 76 g/l, albumin 32 g/l, fosfor 1,99 mmol/l, glukóza 12,6 mmol/l.



**Obr. 2 – Ultrasonografický nález stejného pacienta – srdce, perikardiální efuze (H = srdce, P = perikard)**



**Obr. 3 – Ultrasonografický nález stejného pacienta – výrazně heteroechoenní, zvětšená slezina**

Další vyšetření bylo provedeno v celkové narkóze. Do anestezie byl had uveden propofolem (5mg/kg bolus IV). Následně byl had intubován a napojen na řízenou ventilaci (isofluran a O<sub>2</sub>).

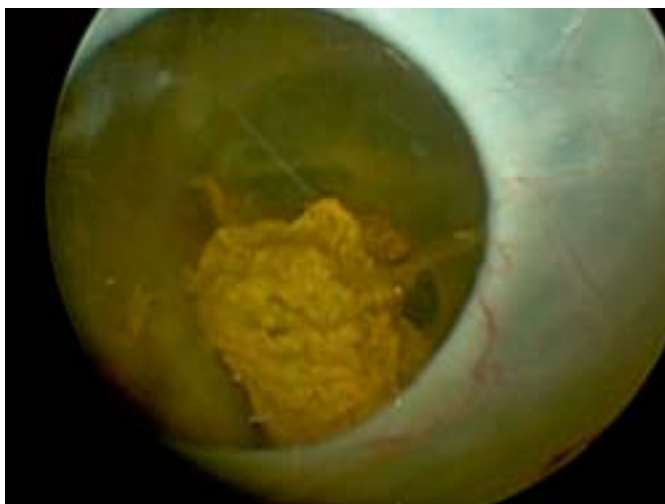
**Rentgenové vyšetření** kaudální dutiny tělní a kaudálních úseků páteře ve dvou projekčních úrovních bylo bez patologického nálezu. Na relaxovaném pacientovi byl ve střední části těla palpačně zjištěn tuhý, kulatý, poměrně volně pohyblivý útvar v dutině tělní.

Proto bylo v návaznosti provedeno **ultrasonografické vyšetření** (lineární sonda 10 až 14 MHz). Nápadná byla výrazná perikardiální efuze (obr. 2). Játra se jevila ultrasonograficky fyziologická. Kulatý útvar ve středním coelomu byl výrazně heteroechoenní, velikosti 33 mm x 15 mm x 18 mm. Nacházel se v bezprostřední blízkosti pankreatu a žlučníku. Suspektně se jednalo o patologicky změněnou slezinu (obr. 3). Kaudální úseky střeva byly naplněné anechoenní tekutinou a nepravidelnými shluky hyperechoenního materiálu.

**Endoskopickým vyšetřením** kloaky nebyla zjištěna obstrukce, celý konečník a velká část kolonu byly výrazně naplněny čirou tekutinou a velkými konglomeráty moči (kyseliny močové) (obr. 4).

Na základě nálezů byla majiteli navržena coelioskopická nebo chirurgická biopsie sleziny, případně ledviny. S ohledem na nejasnou prognózu, předpokládané náklady

a obavy, že se jedná o infekční onemocnění, byla majitelem vyžádána eutanázie (T61 intrakardiální aplikací).



**Obr. 4 – Endoskopický nálezn:** tlusté střevo naplněné močí (polyurie)

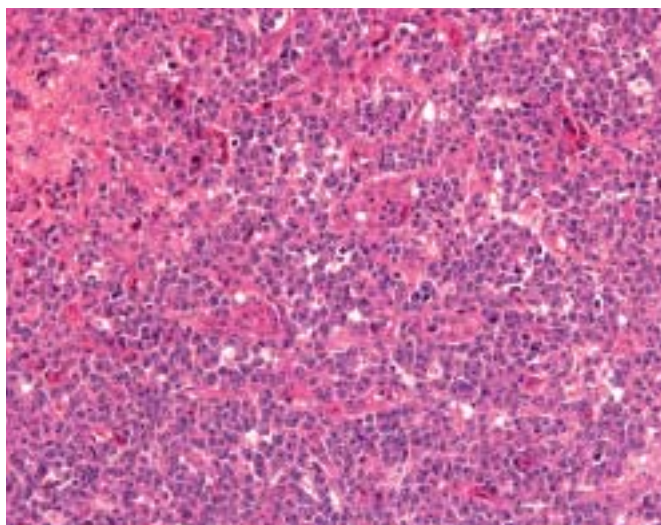
**Pitva:** Výživný stav hada byl dobrý. Nápadné pitevní nálezy zahrnovaly zvláště zvětšené esofageální tonzily, perikardiální efuzi s kalnou tekutinou, játra normální velikosti s miliárními šedobílými nodulárními změnami v jaterním parenchymu a výraznou splenomegalií (obr. 5). Subjektivně byly mírně zvětšené ledviny, ojediněle se nacházela žlutobílá depozita v parenchymu ledvin. Vzorky na histologické vyšetření byly odebrány z jater, pankreatu, ledvin a sleziny a zaslány na histopatologické vyšetření.



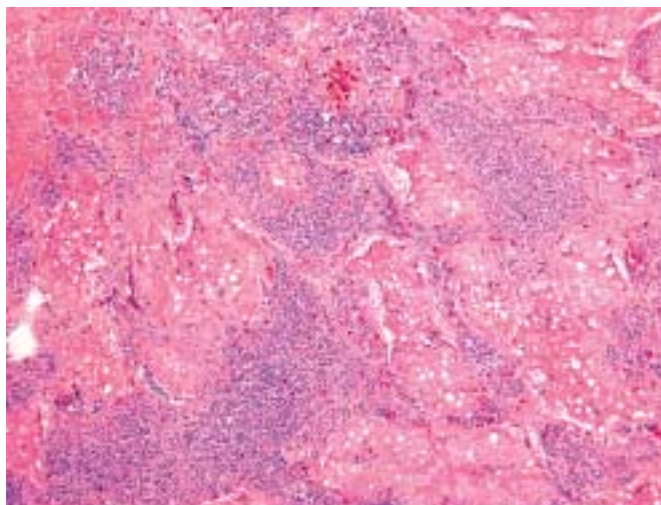
**Obr. 5 – Slezina – splenomagalie, difuzně nodulární změny**

**Histopatologické vyšetření:** Tkáň sleziny byla infiltrována high-grade maligním lymfomem (obr. 6 a 7). Nádor přerůstal přes pouzdro sleziny. Tvořen byl difúzně rostoucím high grade lymfomem z velkých buněk. Játra a pankreas: bez výraznějšího nálezu. Myokard neobsahoval žádné maligní struktury.

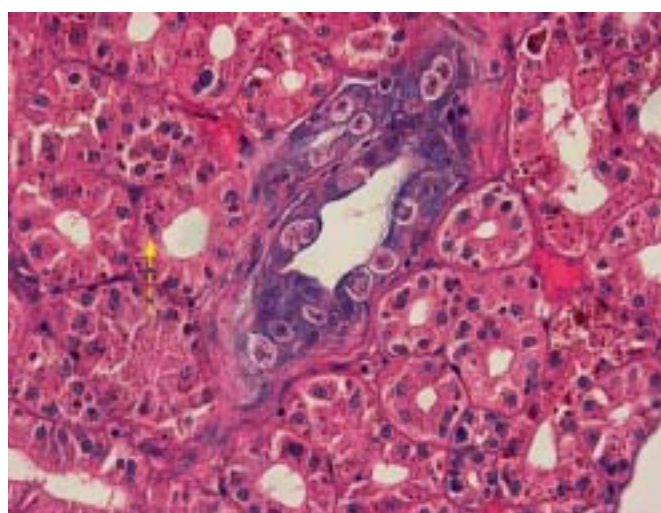
V ledvinách byl přítomen obraz těžké tubulointerstiální nefritidy. V epitelu kanálků byly četné PAS pozitivní i PAS negativní intracytoplazmatické inkluze, depozita lipofuscinu a hemosiderinu (obr. 8). V kůře ledviny byl zachycen drobný fokus, který byl tvořený metastázou téhož lymfomu, který infiltroval slezinu.



**Obr. 6 – Záběr na polymorfni velké blasty difuzně rostoucího lymfomu, barveno HE, zvětšení 200x**



**Obr. 7 – Přehled ukazuje difuzně rostoucí lymfom z velkých buněk, HE, 100x**



**Obr. 8 – Záběr na výsek ledvinných tubulů. Patrné je množství inkluzí, šipkou je označen typ inkluze, který je suspektní z retrovirové etiologie, HE, 200x**

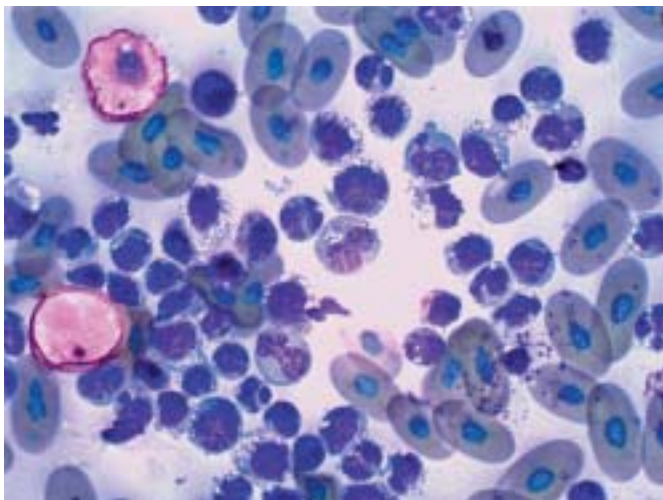
**Ultrastruktura:** intracytoplazmatické inkluze byly tvořeny jednak organelami, depozity pigmentu a dále viriony, které byly identifikovány jako retrovirové částice.

## Klinický případ 2:

**Nacionále:** Ze stejného chovu byla v květnu 2008 na kliniku převezena dospělá, zhruba sedmiletá samice hroznýše královského (*Boa constrictor constrictor*) délky 255 cm, hmotnosti 12,5 kg.

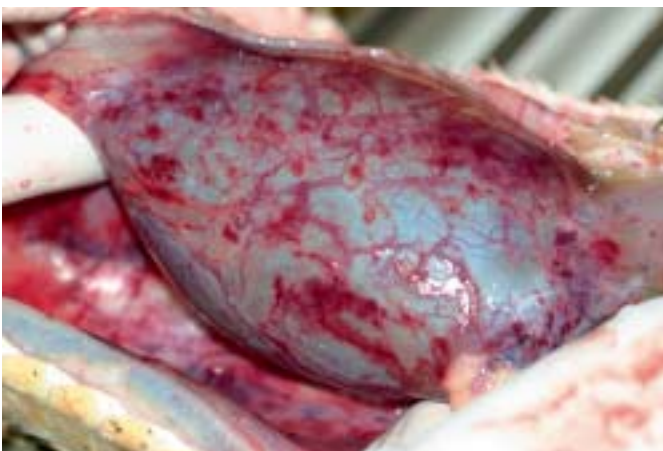
**Anamnéza:** Samice uhynula zhruba tři hodiny před převezením na kliniku. Had byl ještě několik hodin před úhynem zcela nenápadný, poslední příjem potravy byl pozorován před měsícem. Nápadné bylo pouze, že samice během dvou měsíců prodělala dva svleky. Během posledních tří týdnů došlo k zvětšení objemu kaudální třetiny těla, což majitel považoval za graviditu. Samice byla chována asi 14 dní ve stejné místnosti jako samec (případ 1), fyzický kontakt obou zvířat byl ovšem vyloučen. Krátce před smrtí vykazovala křeče a opistotonus.

**Hematologické vyšetření** u této pacientky prokázalo výraznou leukocytózu (leukocyty  $64,2 \times 10^9/l$ ) a hraniční anemii (erytrocyty  $0,54 \times 10^{12}/l$ ). Nátěr byl silně buněčnatý s extrémním množstvím nezralých lymfoblastů střední a velké velikosti (obr. 9) splňující četná kritéria



**Obr. 9 – Krevní nátěr – leukemie s převažující populací nezralých lymfoblastů**

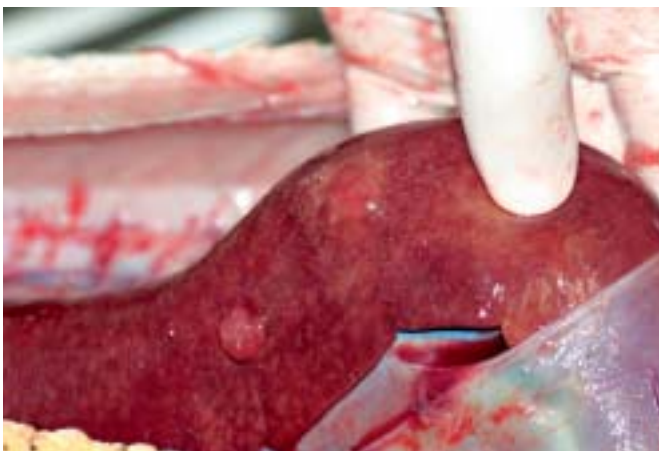
malignity (mitózy, výrazná anisocytóza, anisonukleóza, polynukleóza a kondenzovaný chromatin). Nález byl hodnocen jako lymfoproliferativní onemocnění bílé krevní složky (akutní leukémie). Dále byly prokázány ojedi-



**Obr. 10 – Perikard – výrazná distenze tekutinou, petechie**



**Obr. 11 – Srdce, fibrinové nálepy a zánětlivé změny na epikardu**



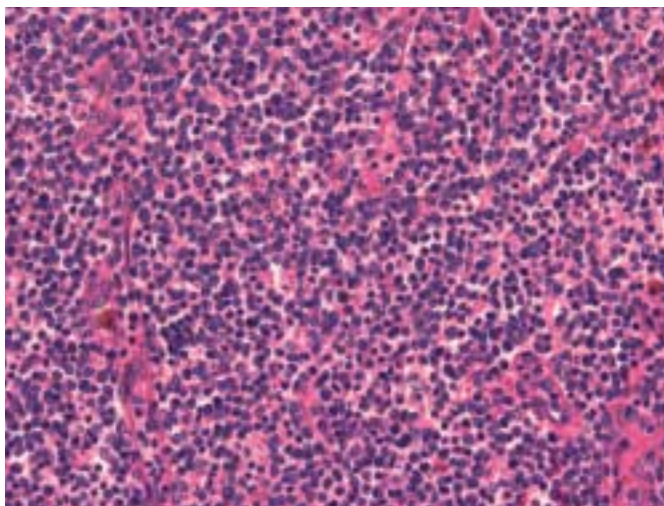
**Obr. 12 – Hepatomegalie, difúzně nodulární změny**

nělé bazofilní intracytoplazmatické inkluze v lymfocytech.

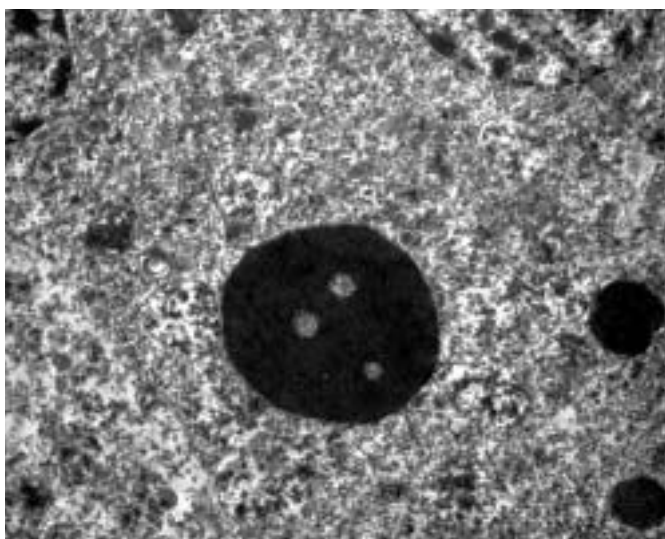
**Pitva:** výživný stav samice byl velice dobrý. Nápadné pitevní nálezy zahrnovaly petechiální krvácení do všech sliznic a serózních povrchů a do plicních vaků, zvětšené esofageální tonzily, v perikardu 40 ml šedozelené tekutiny s fibrinem (obr. 10) a nálepy na epikardu (obr. 11). Makroskopicky byly pozorovány zánětlivé změny, nápadná hepatomegalie (obr. 12), fokálně nodulární změny v parenchymu, splenomegalie, difúzně bílé, nodulární změny v parenchymu sleziny, mírně zvětšené ledviny, žlutobílá depozita v parenchymu. Tlusté střevo bylo naplněno nažloutlou tekutinou.

**Histopatologické vyšetření:** K histologickému vyšetření byly dodány vzorky z jater, sleziny, pankreatu, plic a ledvin. V játrech byla přítomna masivní infiltrace intermediálními a velkými blasty vycházejícími z bílé složky. Slezina byla infiltrovaná high-grade maligním lymfomem (obr. 13). V sinusoidách pankreatu a v kapilárách plic byly patrné obdobné blastické elementy. V ledvinách byl přítomen obraz těžší tubulointerstiální nefritidy s mikrokalcifikacemi ve sběrných duktech. V epitelu tubulární části nefronu byly opět patrné četné PAS pozitivní i negativní inkluze, lipofuscin a hemosiderin. V peritubulárních kapilárách byly nalezeny blastické elementy stejné stavby jako ve výše zmíněných orgánech.

Tubulární aparát ledvin byl vyšetřen ultrastrukturálně pomocí elektronové mikroskopie. Kromě obvyklých organel



Obr. 13 – Detailní záběr na blastický infiltrát, HE, 200x



Obr. 14 – Záběr z elektronového mikroskopu představuje virionovou partikuli typu retroviru, pacient 2

byly zastiženy jasné viriony, které svojí morfologií a velikostí odpovídaly retrovirům (obr 14).

## Diskuse

Retroviry tvoří klinicky významnou skupinu a celá řada retrovirů byla popsána u různých skupin obratlovců. Podrobná diskuse jejich klasifikace je uvedena na jiném místě.<sup>1,2</sup> Ne všechny tyto viry způsobují klinické onemocnění.

Společným znakem retrovirů je způsob replikace. Virová RNA je nejdříve přepsána specifickým enzymem, takzvanou reverzní transkriptázou do cDNA, která je následně integrována do DNA hostitelské buňky. Ta je dále využívána pro transkripci virové RNA.

Zvláště u hroznýšovitých (*Boidea*) hraje v posledních letech eminentní epizootologickou roli retroviróvá infekce označovaná jako Inclusion Body Disease (IBD). První registrované případy pochází z USA, kde byly suspektně retroviróvé infekce u hroznýšovitých zaznamenány již v sedmdesátých letech.<sup>3,4</sup> Díky mezinárodnímu obchodu se

zvířaty, který dosáhl teprve v posledních dvou desetiletích svého největšího rozsahu, se infekce následně rozšířila do jiných zemí po celém světě. Ještě v devadesátých letech minulého století byly ovšem zprávy o IBD spíše sporadické.<sup>3,5</sup> Posledních několik let narůstá počet případů hadů s podezřením na IBD infekci i u nás.<sup>6,7</sup>

Jako vektor pro přenos infekce se v literatuře uvádí roztoč *Ophionyssus natricis*. Je ovšem velice pravděpodobné, že dochází k přenosu infekce i přímou cestou ať už fyzickým kontaktem zvířat a venericky (horizontálně), či ze samice na mláďata (vertikálně). Velký problém představují latentně infikovaní nosiči, zde se zvláště zvažuje role subklinicky infikovaných hroznýšů, kteří představují v chovech zdroj infekce pro jiné hady (krajty i hroznýše).<sup>4,7</sup>

Zpočátku byla infekce častěji pozorována jako primárně neurologické, akutní onemocnění u krajt, teprve v posledních letech převažuje počet infikovaných hroznýšů.<sup>3,7</sup> U těchto hadů jsou známy nejen protrahované, chronické infekce, ale i poměrně rychlé průběhy onemocnění. Na rozdíl od krajt nejsou často u infikovaných hroznýšů dominantními symptomy poruchy CNS (opistotonus, křeče, paralýzy), ale například gastrointestinální (zvracení, regurgitace) a respirační symptomy (pneumonie) nebo jejich kombinace. Existují i dlouhodobě asymptomatické nositelé infekce. Dále se pozorují stomatitidy, případně kožní změny (dermatitidy). Postižení CNS (stargazing, křeče) je registrováno u hroznýšů vzácněji a to spíše ve finální fázi onemocnění. Častějším neurologickým projevem infekce u této skupiny hadů jsou parézy těla, tremor, nekoordinované pohyby a s tím spojené dysekdyse.<sup>4</sup>

Klinická manifestace infekce u obou hroznýšů v této kazuistice byla v mnohém odlišná. Společným jevem u obou zvířat byly opakované svleky v krátké době. Samec prezentoval chronický průběh onemocnění spojený s regurgitací, anorexií a polydypsí. Polydypsie a polyurie zřejmě souvisely s postižením ledvin, což naznačoval i výsledek laboratorního vyšetření s navýšením kyseliny močové v séru. Následné hromadění moči v kloace a tlustém střevě považujeme za projev neurologického postižení. Z klinického vyšetření vyplývá podezření na parézu kaudální třetiny těla s hyporeflexií (tedy spíše postižení dolních motoneuronů). Samec nevykazoval CNS symptomatiku. Samice neprojevovala po celou dobu žádné zjevné symptomy, majitel se dokonce domníval, že je gravidní. Zhruba dvouměsíční odmítání potravy proto nepovažoval za patologické. Perakutní symptomy spojené s opistotonem a křečí celého těla byly pozorovány až v den smrti hada, vznikající pravděpodobně v rámci kardiovaskulárního selhání a hypoxie v agonii, případně následkem sekundární systémové bakteriální infekce.

Společným znakem pitevních nálezů obou pacientů byly makroskopické změny na slezině a perikardiální efuze (mnohem nápadnější u samice). Petechiální krvácení do serozních povrchů a sliznic a hepatomegalie byly nálezem pouze u samice. Ledviny byly makroskopicky změněné zvláště u samce.

U části retrovirů obratlovců je prokázána asociace infekce a vzniku nádorových onemocnění.<sup>1,2</sup> U plazů se také hromadí případy naznačující, že mohou být jiná nádorová onemocnění asociovaná s onkovirální infekcí.<sup>7-12</sup> Lymfoprolifera-

tivní onemocnění v souvislosti s retrovirovou infekcí je známé nejen u savců ale i u plazů. Akutní průběh retrovirové infekce spojený s maligním lymfomem byl u hrozných popsán i jinými autory.<sup>8</sup> Také v našem případě lze vidět souvislost se vznikem high-grade maligního lymfomu, akutní leukemie a infekcí retroviru. Nápadná leukocytóza s převládající lymfocytózou patří k častým hematologickým nálezům u hrozných s probíhající retrovirovou infekcí, u pacienta č. 2 byla ovšem leukocytóza způsobena převládající populací nezralých lymfoblastů (leukémie).

Zatím není jasné, zda se u všech hadů s diagnostikovaným IBD jedná vždy o infekci stejným retrovirem, respektive zda není část těchto pacientů infikována zcela odlišnými viry (reovirus, adenovirus), způsobujících podobné inkluze.<sup>3,13</sup>

Pokud jsou podrobně vyšetřovány tkáně plazů, je možné zastihnout velmi četné a různorodé inkluzní hmoty lokalizované jak intracytoplazmaticky, tak intranukleárně. Je evidentní, že žádným histologickým či histochemickým způsobem není absolutně možné stanovit diagnózu IBD. Je možné vyslovit pouze podezření, objektivní diagnózu těmito technikami ne získáme. Je tedy zřejmé, že diagnostika IBD pomocí základních histochemických metodik je non-lege artis, jelikož patologické inkluze lze zaměnit např. za četné inkluze například v sex-segmentu ledvinových tubulů, za dilatované endoplazmatické retikulum a mitochondrie např. při septickém stavu zcela odlišné etiologie apod.

Existují komerčně dostupné imunohistochemické protilátky, kterými lze detekovat některé viriony (cytomegalovirus, polyomavirus, Epsteinové-Barrové virus, apod.), ovšem proti retrovirům typu IBD zatím žádná protilátka vyráběna není. Jedinou v současné době použitelnou metodikou pro objektivní průkaz retrovirových virionů v parafinové tkáni tak zůstává elektronová mikroskopie se všemi svými nevýhodami a limity. V našem souboru pacientů byla diagnóza **IBD in sensu stricto** potvrzena elektronovou mikroskopií přímým zobrazením virionů jen u zde popsaných dvou jedinců.

Velice problematické je v rámci in-vivo diagnostiky hodnocení intracytoplasmatických inkluzí v krevních nátěrech. Pozitivní nález intracytoplasmatických inkluzí je sice pomocným diagnostickým kritériem, ale negativní nález neznamena, že hroznýš nemůže být infikovaný.<sup>3</sup>

Jedná-li se o *individuálně* chované hady vykazujících některé ze symptomů IBD, doporučujeme na našem pracovišti v současnosti následující diagnostický postup:

vyšetření krevních nátěrů, endoskopická biopsie esofageálních tonzil, případně současně tenkojehelná aspirační nebo "tru-cut" biopsie z jater, sleziny a pankreatu pod ultrasonografickou kontrolou.<sup>7</sup> V nejasných případech indikujeme coeloskopické odběry biopátů z těchto orgánů. Genová ani serologická diagnostika není v současnosti použitelná, protože nelze bezpečně odlišit jiné (apatogenní) retroviry.<sup>3,14</sup> To také znamená, že není možné bezpečně z chovů vyselektovat infikované jedince.

U *hadů z velkochovů* s vážným podezřením na IBD (například CNS symptomy) provádíme eutanázii a diagnostickou pitvu.

Terapie není možná a proto doporučujeme u jedinců s prokázanou infekcí eutanázii. U subklinicky infikovaných hadů lze zvážit chov v celoživotní separaci. Toto doporučení považujeme s ohledem na další šíření infekce za velice problematické. Spontánní remise nejsou dosud popsány, podle našich zkušeností infikovaní hadi dříve či později uhynou.

Jedinou ochranou je prevence ve formě dlouhodobé karantény nově přikoupených hadů. Zde doporučujeme v současnosti s ohledem na dlouhou inkubační dobu, karanténu až 12 měsíců. Během této doby by se měly opakovaně (minimálně 3x v odstupu několika měsíců) provádět rozbor krevních nátěrů. Také doporučujeme individuální chov v hygienických teráriích, hroznější by neměli být chováni s krajtami v jedné místnosti. Absolutní prevence ovšem není možná.

#### Literatura:

- Liebermann, H. Lehrbuch der veterinaermedizinischen Virologie, Stuttgart; Gustav Fischer Verl., 1992:304.
- Mayr, A. Medizinische Mikrobiologie Infektions- und Seuchenlehre fuer Tieraerzte, 6. Ed. Stuttgart; Ferdinand Enke Verl., 1997:1030.
- Jacobson, E. Infectious Diseases and Pathology of Reptiles, New York; Taylor and Francis Group, 2007:716.
- Schumacher, J. Inclusion Body Disease in Mader D. (Ed) Reptile Medicine and Surgery. St. Louis; Saunders, 2006:836-840.
- Schumacher, J., Jacobson, E., Homer, B., Gaskin, J. M. Inclusion Body Disease of Boid Snakes. J Zoo Wildl Med 1994;25:511-524.
- Knotek, Z., Jekl, V., Dorrestein, G. M., Blahak, S., Knotkova, Z. Presumptive viral infections in captive populations of Boa constrictor in the Czech Republic. Veterinarni Medicina 2007;52(11):512-520.
- Hnízdo, J. Krankheiten von Riesenschlangen in: Hes, O. Duda, Z., Hnízdo J., Pantchev N., Bulantova J., Vrabec V. Boa constrictor - Biologie, Pflege, Zucht und Erkrankungen. Offenbach; Herpetonverlag 2007:99-208.
- Ippen, R., Mladenov, Z., Konstantinov, A. Leukosis with viral presence proven by means of electron microscope in two boa constrictors. Schweiz Arch Tierheilk 1978;120:357-368.
- Lunger, P. D., Hardy, W. D., Clark, H. F. C-type virus particles in a reptilian tumor. J Nat Cancer Inst 1974;43:1097-1102.
- Chandra, A. M. S., Jacobson, E. R., Munn, R. J. Retroviral particles in neoplasms of Burmese pythons (Python molurus bivittatus). Vet Path 2001;38:561-564.
- Oros, J., Lorenzo, H., Andrada, M., Reccuero, J. Type A-like retroviral particles in a metastatic intestinal adenocarcinoma in an Emerald tree boa (Corallus caninus). Vet Pat 2004;41:515-518.
- Zeigel, R. F., Clark, H. F. Electron microscopic observations on a C-type virus in cell cultures derived from a tumor-bearing viper. J Nat Cancer Inst 1969;43:1097-1102.
- Marschang, R. E., Hetzel, U., Schwarz, D. Isolation of viruses from Boa constrictors with IBD in Europe. Proceedings of the American Assoc of Zoo Veterinarians, Assoc of Rept and Amph Veterinarians. Nat Assoc of Wildl Veterinarians, Joint Conference Orlando, FL 2001:30-33.
- Lock, B. A., Green, L. G., Jacobson, E. R., Klein, P. A. Enzyme-linked immunosorbent assay for detecting the antibody response in Argentine Boa constrictors (Boa constrictor occidentalis). Amer J Vet Res 2003;388-395.

Adresa autora:

MVDr. Jan Hnízdo

Animal Clinic – Veterinární klinika

Čistovická 44

106 00 Praha 6

www.animalclinic.cz