

ÚSTAV INFEKČNÍCH CHOROB A EPIZOOTOLOGIE
FAKULTA VETERINÁRNÍHO LÉKAŘSTVÍ
VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO
Palackého 1-3, 612 42 Brno

Přednosta ústavu:
Prof. MVDr. František Treml, CSc.

Tel: +420-541 56 23 07
Fax: +420-541 56 20 14
E-mail: tremf@vfu.cz

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta
Oddělení vědy a výzkumu
Studentská 13
370 05 České Budějovice

V Brně 12. listopadu 2009

Oponentský posudek

na disertační práci MVDr. Lucie Hasoňové, nazvanou „Význam paratuberkulózy v chovech dojeného skotu“.

Jen málokdy se stává, že se člověk při posuzování disertačních prací začte do spisu ne jako oponent, ale jako čtenář, který se dozvídá řadu zajímavých a mnohdy pozoruhodných informací, které v něm vyvolávají četné asociace a samozřejmě i mnohé otázky. Tak se stalo při posuzování práce MVDr. Lucie Hasoňové.

Autorka se v práci věnuje problematice paratuberkulózy skotu, která byla ještě před 20 lety předmětem zájmu jen několika specialistů a která tehdy z celkového hlediska u nás nepředstavovala žádný příliš významný zdravotní ani ekonomický problém.

V roce 1997 napsal ve Veterinářství o paratuberkulóze skotu prof. Jeřábek:“... Paratuberkulóza je imunologickou hádankou zdraví zvířat. Veterinární profese se patrně neseťkává s komplikovanější a vyzývavější bakteriální infekční chorobou. Jestliže někdy dojde k rozřešení problémů paratuberkulózy, pak budeme mít k dispozici více poznatků pro chápání buněčné a slizniční imunity a patogeneze intracelulárních infekcí při různých nákazách lidí a zvířat“.

A ke studiu tohoto nelehkého úkolu se rozhodla ve své disertační práci i dr. Hasoňová. Jejím zpracováním a výsledky dokládá, že je s celou širokou problematikou detailně seznámena. V literárním přehledu si zpočátku všímá celé škály momentů, které mohou vznik, průběh a ozdravování od nemoci komplikovat. Mimo výskytu *Mycobacteria avium*, *subsp. paratuberculosis* (MAP) v zevním prostředí a způsobu infekce se autorka zaměřuje i na další, nepříliš běžné faktory, jako je výskyt původců paratuberkulózy v ejakulátu, vztah původce paratuberkulózy a embryotransferu, chovatelská opatření proti paratuberkulóze, organizace odchovu telat z hlediska prevence infekce, vliv výživy na průběh paratuberkulózy, význam

kontaminace vnějšího prostředí apod. V dalších kapitolách literárního úvodu se autorka zaměřila na význam paratuberkulózy z chovatelského hlediska, na mléčnou produkci, plodnost zvířat, zvýšenou predispozici k jiným onemocněním a konečně na ekonomický význam paratuberkulózy.

Všechny tyto literární poznatky využila autorka ke splnění základního cíle práce, tj.

- vyhodnotit distribuci infekce původce paratuberkulózy dle věkových kategorií v chovu dojeného skotu a posoudit diseminaci původce paratuberkulózy v jednotlivých tkáních včetně jeho vylučování výkaly a mlékem

- posoudit význam paratuberkulózy v chovech dojeného skotu

- zhodnotit ozdravování vybraných chovů od paratuberkulózy

Již nyní lze říci, že autorka stanovené cíle splnila. Studie prováděla ve dvou vybraných chovech dojeného skotu; v jednom byl chován skot plemene Jersey, ve druhém skot plemene Holštýn.

Jelikož předpokládám, že „metodika a výsledky“ budou autorkou prezentovány při představení práce, uvedu jen stručně, že v chovu plemene Jersey, který byl vzhledem k vysokému promoření radikálně likvidován, bylo kultivací zjištěno 37.4 % pozitivních zvířat, přičemž nejčastější záchyty byly z tenkého střeva (98.0%), zatímco nejnižší pak ve slezině a mléčné žláze. V trusu bylo MAP zachyceno u 8.4 % zvířat. Nejvyšší prevalence MAP infekce (42.9 %) byla u zvířat od 1,6 do 3 roků stáří a nejnižší (6.1%) u zvířat starších 8 roků.

V chovech Holštýnského skotu, který byl ozdravován eliminací, bylo provedeno 14 opakovaných kultivačních vyšetření trusu od skotu staršího 18 měsíců a celkem bylo vyšetřeno téměř 3 000 vzorků. Na začátku vyšetřování bylo pozitivních více než 10 % vzorků a pozitivita během ozdravování výrazně klesala.

Pozoruhodné je, že v žádném z obou vyšetřovaných chovů chovu nebylo MAP kultivačně zjištěno v mléce.

Můj krátký výčet základních výsledků však nemůže postihnout nesmírné množství práce, které musela autorka pro jejich získání vynaložit. Proto bych se autorky rád zeptal, které metody či postupy prováděla skutečně sama. V metodice uvádí, že: „Metody molekulární biologie byly zajištěny pracovníky laboratoře molekulární biologie Oddělení bezpečnosti potravin a krmiv Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně“. I tak pro autorku zbylo nesmírné množství práce jak v terénu a laboratoři, tak i při zpracovávání 29 obsažných tabulek.

Předložená práce je tak nabitá fakty, že by se s mnohými dalo dlouze polemizovat, jiné vyvolávají řadu otázek.

Tak např. zajímavá je informace o tom, že opakovaná kultivační vyšetření mléka byla v obou chovech negativní. Naproti tomu při vyšetření molekulárními metodami bylo ze 13 vzorků mléka od vylučovatelek 9 vzorků pozitivních (str. 72 - individuální nebo směsné vzorky - nejasné?). Jelikož pomocí molekulárních metod lze detekovat i mrtvý antigen, zajímal by mne názor autorky na epidemiologicko-epizootologický význam tohoto nálezu s přihlédnutím i ke Crohnově chorobě.

Pozoruhodný je i kultivační průkaz MAP ze 2 plodů z chovu ozdraveného radikální likvidací. Ve druhém chovu autorka neprokázala vliv infekce paratuberkulózy na reprodukci. Bude tedy tento nález mít větší význam epizootologický než ekonomický?

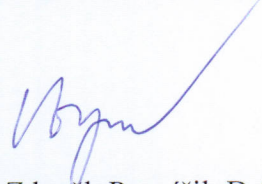
Na str. 21 autorka uvádí, že v České republice existoval do 4. března 2008 program tlumení paratuberkulózy. V současné době je veškerá činnost spojená s tlumením paratuberkulózy podle Metodického návodu SVS ČR č. 5/2008 ponechána v rukou chovatelů a chovatelských svazů. Zná autorka důvod této změny?

Zajímavá je rovněž informace na str. 99, že chovatelé dojeného skotu v současné době odevzdávají společně s žádostí o přidělení mléčných kvót také potvrzení o tom, že jejich chov je prostý paratuberkulózy. Znamená to tedy, že celá republika bude muset být kompletně prošetřena.

Rovněž v dodatku „Postsriptum“ je pozoruhodná informace, že pokud budou okolní země v ozdravování plynule pokračovat, staneme se pro ně z hlediska obchodu nevhodnými partnery. Zná autorka tamní ozdravovací postupy?

Závěr:

Autorka ve své dizertační práci prokázala jak značné vědomosti o širokých otázkách problematiky paratuberkulózy, tak především zkušenosti z laboratorní i terénní diagnostiky. Jejich využitím dosáhla pozoruhodných výsledků, z nichž mnohé lze považovat za prioritní. Doporučuji proto Oborové radě „Zoohygiena a prevence chorob hospodářských zvířat“ Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity disertační práci MVDr. Lucie Hasoňové přijat k obhajobě a po jejím úspěšném průběhu navrhnout podle zákona 111/1998 Sb. **přiznání titulu Ph.D.**



Prof. MVDr. Zdeněk Pospíšil, DrSc.
Ústav infekčních chorob a epizootologie

OPONENTSKÝ POSUDEK

na disertační práci „ Význam paratuberkulózy v chovech dojeného skotu“

Autor disertační práce - MVDr. Lucie Hasoňová

Oponent - Doc. MVDr. Josef Illek, DrSc. Dipl. ECBHM.

Disertační práce je vědecké dílo, které řeší velmi aktuální zdravotní problematiku u skotu. Paratuberkulóza je závažné bakteriální onemocnění přežvýkavců, které má chronický průběh, obtížně se diagnostikuje, po dlouhou dobu probíhá jako subklinické onemocnění a způsobuje značné přímé i nepřímé ztráty. Její výskyt v chovech skotu v ČR je dáván do souvislosti s dovozem skotu na počátku devadesátých let minulého století.

Disertační práce je sepsána v rozsahu 119 stran, je požadovaným způsobem členěna a po formální i věcné stránce pečlivě zpracována.

V úvodní části autorka v obecné rovině upozorňuje na problematiku paratuberkulózy v chovech skotu v ČR a na ekonomickou závažnost tohoto onemocnění a rozvoj diagnostických postupů.

V přehledu literatury autorka charakterizuje uvedené onemocnění a jeho původce, pojednává o možných způsobech infekce a popisuje jednotlivé metody ozdravování skotu od paratuberkulózy. Značnou pozornost věnuje významu paratuberkulózy v chovech skotu v ČR, epidemiologickým otázkám a souvisejícím problémům jako je malabsorpce, NEB, poruchy imunity, dopad na produkci mléka a jeho kvalitu i plodnost. Zároveň upozorňuje na ekonomickou závažnost paratuberkulózy a přímé nepřímé ztráty, které onemocnění způsobuje. Podává přehled o diseminaci MAP v různých orgánech a tkáních i vylučování patogenů výkaly a mlékem a poukazuje na rozdíly v detekci patogenu při použití různých diagnostických metod. Literární přehled je zpracován fundovaně na základě studia domácí a zahraniční literatury. Autorka cituje 166 literárních pramenů.

Cíl práce je jasně formulovaný a spočívá – 1. Ve vyhodnocení distribuce infekce v jednotlivých věkových kategoriích skotu a v posouzení diseminace MAP v jednotlivých orgánech a vylučování patogenu výkaly a mlékem.

2. V posouzení významu paratuberkulózy u dojeného skotu.

3. Ve zhodnocení ozdravování chovů od paratuberkulózy v ČR.

Část materiálu a metodika je zpracována velmi podrobně a jednoznačně. Sledování probíhalo ve 2 farmách skotu plemene Jersey (chov S) a plemene Holštýn (chov C). Jednalo se o zvířata importovaná z Dánska, Holandska a Francie. V uvedených chovech byly použity různé ozdravovací metody – radikální metoda v chovu S a eliminační metoda v chovu C. Je popsán odběr vzorků pro vyšetření jsou stručně charakterizovány vyšetřovací metody i metody statistického vyhodnocení.

Výsledky sledování jsou členěny do jednotlivých kapitol a logicky seřazeny podle vytčeného cíle. Jsou uvedeny v přehledných tabulkách a grafech, jsou správně hodnoceny a komentovány.

Za významné považuji údaje o incidenci paratuberkulózy v jednotlivých věkových kategoriích a přehled o vylučování patogenu výkaly a mlékem u krav ve sledovaných chovech. Za velmi cenné považuji výsledky o diseminaci MAP v orgánech poražených krav a za průkaz patogenu ve sliznici střešní mladých telat. Za překvapivé považuji zjištění, že paratuberkulóza neměla významný vliv na užitkovost a plodnost krav.

Přínosné jsou výsledky hodnotící ekonomický dopad onemocnění. V diskusi autorka prokázala schopnost kriticky hodnotit dosažené výsledky a konfrontovat je s údaji jiných autorů i když byly používány rozdílné metody a diagnostické postupy. Tato skutečnost svědčí o zodpovědném přístupu autorky k řešení uvedené problematiky, o kvalifikovaném vedení a dobré spolupráci s renomovaným výzkumným pracovištěm.

Dotazy.

Jak lze vysvětlit, že paratuberkulóza byla diagnostikována u telete ve stáří 1 měsíce?

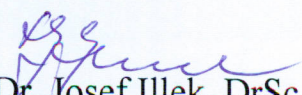
Uplatňuje se vliv technologie ustájení v procesu šíření paratuberkulózy u skotu?

Jaký diagnostický postup autorka považuje za nejvhodnější?

Závěr.

Disertační práci "Význam paratuberkulózy v chovech dojeného skotu", kterou zpracovala MVDr. Lucie Hasoňová hodnotím velmi kladně. Autorka prokázala výborné teoretické i praktické znalosti, klinickou i laboratorní diagnostiku dobrou orientaci ve vědecké a odborné literatuře a schopnost samostatné vědecké práce. Disertační práce má vysokou odbornou úroveň, rozšiřuje vědecké poznání oboru a přináší nové poznatky v oblasti řešení paratuberkulózy v chovech skotu. Práci doporučuji přijat k obhajobě a po úspěšném řízení doporučuji, aby byla MVDr. Lucii Hasoňové přiznána vědecká hodnost Ph.D.

Brno, 10.11. 2009


Doc. MVDr. Josef Illek, DrSc.
VFU Brno



STÁT N Í V E T E R I N Á R N Í Ú S T A V P R A H A

Sídlištní 136/24, 165 03 PRAHA 6 – Lysolaje

tel.:+420 251 031 111 fax:+420 220 920 655 e-mail: svu.praha@svscr.cz www.svupraha.cz

Jihočeská universita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta
Oddělení vědy a výzkumu
Studentská 13
370 05 České Budějovice

V Praze 23.11.2009

Oponetský posudek

Na disertační práci MVDr. Lucie Hasoňové, „Význam paratuberkulózy v chovech dojného skotu“

Práci MVDr. Lucie Hasoňové jsem si přečetla s velkým zájmem. Podílela jsem se řadu let na laboratorní diagnostice paratuberkulózy a seznámila se se zootechnickými podmínkami některých chovů v České republice. Chovy, které si autorka vybrala ke studiu a podrobila rozsáhlému zkoumání, jsou typickými představiteli chovů s paratuberkulózou skotu.

Do roku 1989 byla paratuberkulóza diagnostikována v České republice jen ojediněle. Po roce 1990 se s dovozem plemenného materiálu ze zemědělsky vyspělých zemí paratuberkulóza skotu rozšířila do našich chovů a způsobila nemalé problémy našim chovatelům. Některé chovy se zapojily do ozdravovacího programu, který byl v roce 2008 přerušen též v práci zmiňovaným nově zavedeným Metodickým návodem č. 5/2008.

V literárním přehledu autorka podává velmi široký pohled na problematiku paratuberkulózy a uvádí práce týkající se všech oblastí, na které má a může mít toto chronické onemocnění vliv.

Cíl práce je shrnut do tří bodů :

- 1) Vyhodnotit distribuci infekce v jednotlivých věkových kategoriích stáda dojeného skotu a posoudit diseminaci *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) v různých orgánech, včetně jeho vylučování výkaly a mlékem.
- 2) Posoudit význam paratuberkulózy u dojeného skotu.
- 3) Zhodnotit ozdravování chovů od paratuberkulózy v České republice.

Autorka prováděla studie na dvou chovech. Chov plemene Jersey byl ozdraven radikální metodou a autorka získala dostatek materiálu pro posouzení diseminace MAP v různých orgánech. U druhého chovu plemene Holštýn byla použita k ozdravení eliminační metoda a během let 2004 – 2007 byl vyšetřen velký počet vzorků (2899), který umožňoval objektivní posouzení dopadu paratuberkulózy skotu na produkci a tím i na ekonomiku chovu. Autorka v práci upozornila na nedostatek posuzování pozitivních zvířat s kontrolní skupinou, ve které je určité procento subklinicky nemocných zvířat s negativní kultivací trusu, která ovlivňuje výsledek. Tento fakt spolu s předčasným vyřazováním nemocných dojnic po první a druhé laktaci s největší pravděpodobností zabránil prokázat jednoznačný negativní vliv paratuberkulózy na mléčnou užitkovost. I přes tento výsledek studie je ekonomický dopad paratuberkulózy nesporný

Práce obsahovala pro mne překvapující výsledky negativní kultivace mléka od krav masivně vylučujících MAP. Nicméně pozitivní průkaz MAP metodou PCR svědčí o riziku z hlediska bezpečnosti potravin.

V části práce Materiál a metody chci upozornit na metodickou nepřesnost v kapitole 4.4.1. Kultivační vyšetření:

- při zpracování orgánů v popisu metodiky vypadl krok odstranění supernatantu po odstředění
- při vyšetření výkalů se nepřenáší do roztoku HPC 5 ml sedimentu, ale 5 ml tekutiny ze střední vrstvy

Předložená disertační práce obsahuje mnoho údajů a zjištěných výsledků a svědčí o hlubokých znalostech autorky k dané problematice, která není jednoduchá, a též o množství vykonané práce. Stanovené cíle práce byly splněny.

Závěr:

Doporučuji oborové radě Zoohygienu a prevence chorob hospodářských zvířat Zemědělské fakulty Jihočeské university, aby disertační práce MVDr. Lucie Hasoňové byla přijata k obhajobě.

MVDr. Ilona Parmová
Státní veterinární ústav Praha, NRL