

Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Zuzany Vavruškové s názvem: Vztahy vektor - patogen - hostitel na příkladu spirochét lymeské boreliózy (a viru klíšťové encefalidity)

Oponentka: RNDr. Helena Nejezchlebová, Ph.D., Přírodovědecká fakulta MU Brno

Předložená diplomová práce Bc. Zuzany Vavruškové je prací experimentální. Na 78 číslovaných stranách autorka zpracovává náročné téma vztahu vektor - patogen - hostitel na příkladu borélií a viru klíšťové encefalidity.

V krátké úvodní stati jsou klasicky uvedeny informace potřebné k pochopení tématu, postrádám jen přímou zmínku o významu práce a motivaci k výběru tématu. Následuje stručný a přehledný výčet stěžejních cílů práce, z nichž se ovšem nedozvíme, s jakými druhy klíšťat autorka hodlá pracovat.

Rešeršní část je přehledem odborných informací o klíšťatech, boréliích a viru klíšťové encefalidity, vhodně doplněným kapitolou o hostitelích klíšťat. Rozsah i hloubka přehledu jsou adekvátní. V kapitole 3 je pozornost věnována klíšťatům *Ixodes ricinus* a *Ixodes trianguliceps*. Proč právě těmto druhům a proč do výčtu nejsou pro úplnost alespoň stručně zařazeni další zástupci klíšťat, ovšem není zdůvodněno a čtenář si tuto informaci může vydedukovat až na straně 35 v kapitole 4 „Materiál a metody“.

V kapitole „Materiál a metody“ jsou uvedeny komplexní údaje o sběru, zpracování a identifikaci biologického materiálu, nechybí krátká podkapitola o použitých statistických testech, jejichž výběr považuji za odpovídající.

„Diskuze“, čítající 8 stran, rozebírá všechny relevantní aspekty práce. Stejně jako k posledním dvěma kapitolám („Závěr“ a „Seznam použité literatury“) k ní nemám výhrady.

Celkově je práce po obsahové a odborné stránce vyhovující a beze zbytku naplňuje úkoly vytčené zadáním. Také z formálního hlediska posuzuji práci kladně, je psána čtivě, přehledně. Text je téměř bez chyb a logicky plynoucí. Mám pouze připomínku ke grafickému zpracování, a sice v rešeršní části bych doplnila vybrané informace obrazovým materiálem, který zcela chybí a který by vhodně přiblížil údaje z textu (např. představil zástupce vektorů, patogenů, ...)

Závěrem práci posuzuji jako vysoce nadprůměrnou, po vědecké stránce hodnotnou a přínosnou. Autorka prokázala jak výbornou schopnost orientace v literatuře, tak schopnost zvládnout náročné experimentální úkoly. Práce vyhovuje požadavkům kladeným na diplomovou práci a **doporučuji ji k obhajobě**. I přes vyjmenované nedostatky, s ohledem na celkovou úroveň, navrhuji známku 1.

V Brně dne 15. 1. 2013

.....
nejezchlebova
.....
podpis oponentky

POSUDOK NA DIPLOMOVÚ PRÁCU

Bc. Zuzany Vavruškovej: Vztahy vektor - patogen - hostiteľ na príkladu spirochét lymeské boreliózy (a viru kliešťovej encefalitidy)

Predložená diplomová práca napísaná v českom jazyku má 78 strán a je členená do 8 kapitol: úvod, hlavné ciele práce, literárny prehľad, materiál a metódy, výsledky, diskusia, záver a zoznam použitej literatúry. V literárnom prehľade, pri popise metodických postupov, ako aj v diskusii využila autorka úctihodný počet literárnych prameňov – takmer 200. Musím zdôrazniť, že všetky citované práce úzko súvisia s témou diplomovej práce, z čoho vyplýva, že sa autorka v danej problematike dobre orientuje.

AKTUÁLNOSŤ ZVOLENEJ TÉMY: Diplomová práca je zameraná na aktuálnu problematiku dvoch najfrekvencovanejších kliešťami prenášaných patogénov, ako je komplex *Borrelia burgdorferi* s.l. a vírus kliešťovej encefalitidy (VKE). Časť práce sa zaoberá aj detekciou zvyškovej krvi hostiteľov v hladných kliešťoch pomocou molekulárno-biologickej metódy „bloodmeal“, ktorej výsledky sú veľmi cenné.

POUŽITÉ METÓDY SPRACOVANIA: Autorka vo svojej práci využíva viacero metodických postupov, ktoré sú prehľadne popísané na 12 stranách. Okrem terénnych prác a štandardných diagnostických metód, ako je PCR a RT-PCR amplifikácia DNA/RNA a metóda DNA-DNA hybridizácie (RLB) autorka použila aj metódu identifikácie hostiteľov, na ktorých cicali kliešte v predchádzajúcom vývojovom štádiu (metóda bloodmeal). Použité metodické postupy sú pomerne náročné nielen na čas a financie, ale aj na dodržiavanie prísnych pravidiel v laboratóriu (sterilné podmienky, oddeľovanie jednotlivých krokov a pod.). Ako ukazujú dosiahnuté výsledky, autorka zvolenú metodiku úspešne zvládla.

DOSIAHNUTÉ VÝSLEDKY A VYHODNOTENIE NOVÝCH POZNATKOV: Okrem preštudovania prevalencie a genetickej variability borélií na viacerých lokalitách autorka získala zaujímavé výsledky založené na molekulárnej identifikácii hostiteľov v kliešťoch zozbieraných z vegetácie. Úspešnosť identifikácie bola pritom vyššia, ako sa doteraz uvádza v literatúre. Najčastejšie detegovaným hostiteľom bola sviňa divá, hlodavce, ale aj lasica, líška, drozdy

a pod. Prevalencia infikovaných kliešťov sa na sledovaných lokalitách pohybovala od 11% do 27%. Medzi piatimi zistenými genospecies dominovala *Borrelia afzelii* a *Borrelia garinii*. Okrem kliešťov z vegetácie, vyšetrila autorka aj kliešte získané z odchytených hlodavcov. Prevalencia VKE bola 1,4%, pri boréliách 10,4%. Medzi zistenými genospecies dominovala *B. garinii*, čo je diskutabilný výsledok, keďže je tento genospecies viazaný na vtáky. Je pravdepodobné, že medzi vzorkami označenými ako *B. garinii* sú početne zastúpené vzorky pozitívne na *Borrelia bavariensis*, ktorá je „hlodavčím“ genospecies. Časť práce je venovaná aj vyhodnocovaniu co-feedingu, čo oceňujem, keďže sa tejto problematike v strednej Európe venuje len málo autorov. Autorka získala množstvo cenných dát, ktoré sú síce na niektorých miestach spísané trochu chaoticky, ale to neznižuje ich kvalitu.

Celková kvalita formálneho spracovania diplomovej práce je veľmi dobrá. Preklepy som v práci až na pár výnimiek nenašla, literárne zdroje sú citované jednotne. V zozname literatúry sú však uvedené aj práce, ktoré chýbajú v texte, čo sa však pri takom veľkom množstve citovaných prác stáva a nepovažujem to za veľkú chybu.

K práci mám niekoľko pripomienok a otázok:

1. Str. 2, Ciele práce. Ako 7. cieľ práce autorka uvádza: „relatívny význam co-feedingu“. Prečo relatívny? Co-feeding je predsa jedným z najvýznamnejších prenosov patogénov. V kap. Diskusia na str. 61 autorka píše, že na stanovenie miery uplatnenia co-feedingového prenosu by bol potrebný väčší súbor dát. Súhlasím. Na vyhodnotenie efektivity co-feedingu či už pri VKE alebo boréliách by bolo potrebné urobiť aj laboratórne pokusy. Nemyslím si, že je co-feeding pri boréliách menej efektívny ako pri VKE, ako uvádza autorka na str. 61, tretí odsek.
2. Str. 3, Literárny prehľad. Taxonomické kategórie sa nepíšu kurzívou. Autori a rok pomenovania druhov sa uvádza na prvom mieste kde sa druh spomína. *Ixodes ricinus* má zle uvedeného autora, namiesto „Linné“ je správne Linnaeus.
3. Str. 5-6, kap. 3.1.3 Kliešť *Ixodes trianguliceps*. Je naozaj *I. trianguliceps* vektorom patogénov? Formulácia vety, že je vektorom rady patogénov človeka a zvierat je nadsadená. Ďalej autorka uvádza podiel *I. trianguliceps* pri cirkulácii patogénov v prírode. V kapitole Diskusia (str. 60) však uvádza, že tento druh kliešť'a

pravdepodobne nezohráva významnú úlohu pri cirkulácii borélií. Existujú literárne zdroje uvádzajúce v akom percente dochádza reálne k prenosu patogénov v rámci co-feedingu *I. ricinus* s *I. trianguliceps*?

4. Str. 9 – posledný odsek. Autorka mylne uvádza, že *B. valaisiana* sa v Európe vyskytuje v menšom zastúpení. Aj citovaný prameň (Rauter a Hartug 2005) vysvetľuje dôvody, prečo je v literatúre uvádzané nízke percentuálne zastúpenie *B. valaisiana*. Tento genospecies je v Európe pomerne častý.
5. Str. 10, Tab. I, str. 59, kap. Diskusia. Našla autorka v nejakom literárnom prameni informáciu, že hlodavce sú kompetentnými hosťiteľmi *B. lusitaniae* ako píše v Tab. I a na str. 59, kde cituje Le Fleche et al. 1997 a Margos et al. 2009?
6. Str. 18 – Autorka uvádza rôzne skupiny hosťiteľov kliešťov. Zo skupiny vtákov uvádza ako významného hosťiteľa napr. *Streptopelia decaoct*, *Dendrocopos major*, *Sturnus vulgaris* a pod. Je si autorka istá, že práve tieto spomenuté druhy sú často zaklieštené? Ktoré vtáky z radu Passeriformes prichádzajú najčastejšie do kontaktu s kliešťami, teda sú najviac zaklieštené? Autorka práve tieto druhy neuvádza.
7. Str. 33-35, Tab. IV. Latinské názvy živočíchov by mali byť písané kurzívou.
8. Str. 37, kap. Výsledky. Autorka uvádza, že vyšetrila celkovo 642 nýmfi a 27 imág kliešťov. Ako si vysvetľuje autorka taký nízky počet imág?
9. Str. 47, kap. 5.3 Vzťah druhu hosťiteľa a genospecií borélií. Autorka uvádza spojenie *B. garinii* s drobnými hlodavcami. V kapitole Diskusia vysvetľuje, že v skupine *B. garinii* môže byť zastúpená aj *B. bavariensis* (pôvodne *B. garinii* OspA sérotyp viazaný na hlodavce). V budúcnosti by sa autorka mohla pokúsiť tento genospecies identifikovať, pretože poznanie percentuálneho zastúpenia tohoto patogénneho genospecies by bolo z hľadiska epidemiológie a ekológie borélií významné. Informácie o výskyte *B. bavariensis* sú zatiaľ mizivé.
10. Str. 55, kap. Diskusia. Neskúšala autorka, príp. tím pracujúci na tejto téme porovnať úspešnosť identifikácie hosťiteľa v hladných kliešťoch porovnaním izolačných metód

(Chelex vs. alkalická hydrolýza), aby sa potvrdilo, či je práve rozdielna izolácia dôvodom vyššej záchytnosti DNA hostiteľa v hladných kliešťoch?

11. Autorka na viacerých miestach (napr. str. 18,) v práci uvádza, že rod *Myodes* alebo druh *Myodes glareolus* je imúnny voči kliešťom, a preto je u neho aj nižšia prevalencia kliešťov infikovaných boréliami. Poznám autorka publikáciu Hanincová et al. 2003: Association of *Borrelia afzelii* with rodents in Europe. *Parasitology*, 126, 11–20? Uvedená práca potvrdzuje, že *M. glareolus* je významným hostiteľom kliešťov a podieľa sa na cirkulácii *B. afzelii*.
12. Zoznam citovanej literatúry. Kvôli lepšej orientácii čitateľa, odporúčam autorke v budúcnosti uvádzať zoznam citovaných prameňov chronologicky.

CELKOVÉ ZHODNOTENIE: Predložená diplomová práca „Vzťahy vektor – patogén – hostiteľ na príklade spirochét lymeské boreliózy (a viru kliešťové encefalitidy)“ dokazuje schopnosť autorky samostatne a na výbornej úrovni riešiť problematiku závažnú ako z teoretického, tak aj praktického hľadiska. Získané výsledky práce sú originálne a práca je kvalitná aj po formálnej stránke.

Záverom konštatujem, že Bc. Zuzana Vavrušková splnila všetky stanovené ciele práce a predložila diplomovú prácu vysokých odborných kvalít, preto ju odporúčam prijať k obhajobe a hodnotím ju známku: 1.

V Bratislave, dňa 14. 1. 2013



Mgr. Veronika Taragel'ová, PhD.

Ústav zoológie SAV, Dúbravská cesta 9, 845 06 Bratislava