



Oponentský posudek na bakalářskou práci

Autorka: Jana Müllerová

Název práce: Výskyt arbovirů v Grónsku a na Svalbardu

V bakalářské práci autorka předkládá literární rešerši o arbovirech v polárních oblastech a také shrnuje výsledky studie, jejímž cílem bylo vyšetřit vzorky klíšťat a komárů z polárních oblastí na výskyt arbovirů.

Výskyt arbovirů v polárních oblastech je velmi zajímavou a dosud ne zcela probádanou problematikou, proto velmi oceňuji zájem autorky o toto téma.

Práce je prezentována na 39 stranách, jednotlivé kapitoly jsou přehledně uspořádané, struktura textu odpovídá požadavkům na vypracování odborné práce. Po stránce typografické je práce zpracována velice pečlivě.

Autorka ve své literární rešerši shrnuje aktuální poznatky o arbovirech v polárních oblastech, zejména o jejich výskytu, taxonomii, fylogenezi a přenašečích. Pro vypracování této rešerše bylo použito velké množství literárních odkazů (celkem 80), které jsou tvořeny odbornými články z časopisů s IF v angličtině. Autorka tedy prokázala svoji schopnost pracovat s odborným textem. Literární rešerše působí kompaktním a uceleným dojmem, je příjemně čtivá. Velice oceňuji, že kvalita textu převážila nad kvantitou.

Část práce zabývající se výsledky vlastní studie je rozčleněna na kapitoly Cíle práce, Materiál a metody, Výsledky a Diskuze.

- K části Materiál a metody mám několik připomínek:

V tabulce shrnující použité primery pro RT-PCR (str. 20) chybí informace od jakých oblastí genomu jsou dané primery odvozeny. Dále není jasné, co jednotlivé primery umožňují detekovat, zda se jedná o univerzální či specifické primery. Tabulka je pouze nic neříkajícím výčtem názvů a sekvencí primerů. Navíc citace k jednotlivým primerům nejsou uvedeny v seznamu použitých zdrojů!

Tabulka shrnující přípravu RT-PCR reakce (str.23) bez uvedení koncentrací jednotlivých komponent je zcela bezcenná.

- K části výsledky mám několik připomínek:

Kapitola Výsledky začíná větou: *Podářilo se nám vyizolovat pozitivní kontroly pro rody Alphavirus (A) - SFV (Semliki Forest virus), Orthobunyavirus (B) - TAHV (Tahyňa virus), Flavivirus (F) - TBEV (virus klíšťové encefalidity), Phlebovirus (Ph) - UUKV (Ukuniemi virus) a Orbivirus (O) - TRIBEC (Tribeč virus) pro kontrolu správnosti PCR.* Až v kapitole výsledky se dozvídáme informaci o pozitivních kontrolách RT-PCR reakcí. Informace o pozitivních kontrolách patří spíše do části Metodiky, ve které není o pozitivních kontrolách žádná zmínka. Nejjí jasné, z čeho se podařilo vyizolovat pozitivní kontroly, co to bylo za vzorky, zda byla použita RNA či RNA transkript.

Z obrázku č.9 (str.25) se dozvídáme důležitou informaci o tom, že byla použita také pozitivní kontrola na přítomnost nukleových kyselin hostitele. Z popisu obrázku ale vůbec není jasné,



kde ji v obrázku máme hledat. Informace o této kontrole, kterou bych spíše nazvala vnitřní kontrolou reakce, než pozitivní kontrolou, zcela chybí, což je velká škoda.

Další úsek z kapitoly Výsledky by se hodil více do kapitoly Materiál a Metody.

Konečný počet vyšetřených klíšťat Ixodes uriae z ostrovů Bjørnøya, Spitzbergen a ostrova Jana Mayena je 89 a 377 komárů z druhu Aedes nigripes z Grónských oblastí. Mezi vzorky klíšťat byl počet dospělců 71, z toho 19 nasátých a počet nymf 28. Vzorky byly vyšetřeny na tyto arboviry: Bunyviridae (Orthobunyavirus, Phlebovirus), Reoviridae (Orbivirus), Flaviviridae (Flavivirus), Togaviridae (Alphavirus).

Autorka píše (str. 27), že aby mohli s jistotou vyloučit výskyt virů z rodu Orthobunyavirus, vložili DNA ze čtyř osekvenovaných vzorků do plasmidů. V tabulce č. 7 je však uvedeno, že celkem 10 vzorků bylo sekvenováno s cíle potvrdit či vyvrátit přítomnost Orthobunyaviru. Podle čeho jste dané 4 vzorky vybrali? U zbývajících 6 vzorků tedy s jistotou výskyt vyloučit nemůžete?

- Část Diskuze: Tato část práce je velice kvalitně zpracovaná.

K předložené bakalářské práci mám následující dotazy:

1. Můžete nám vysvětlit, pojmy **amplifikace a replikace virové RNA/DNA**?

Odkaz na věty:

- U savců, včetně člověka, je replikace a amplifikace arboviru z velké části asymptomatická. (str.3).
- Životní cykly jednotlivých druhů virů se liší zejména v odlišné amplifikaci a replikaci své virové RNA/DNA a zároveň v přenosu různými vektory. (str.3)
- To má pozitivní efekt na amplifikaci arbovirů a zvyšování jejich prevalence v těchto oblastech. (str.7).
- Následně je umožněna další amplifikace viru v konečném obratlovčím hostiteli. (str.11)

2. Můžete nám vysvětlit pojem **patogenní vektor**?

Odkaz na str. 11.

3. Víte, proč RNA viry vykazují vysoký stupeň mutací?

4. Od jakých oblastí genomu byly používané primery odvozeny?

5. Můžete shrnout informace o všech použitých kontrolách RT-PCR reakcí ve vaší studii?

Závěrem mohu konstatovat, že předložená práce splňuje všechny odborné náležitosti vyžadované pro tento typ práce a proto **doporučuji práci k obhajobě**. Práce je na velmi dobré úrovni, ale vzhledem k tomu, že mám nějaké připomínky, navrhuji hodnocení **velmi dobře**.

V Brně dne 14. 1. 2015


MVDr. Lucie Dufková, Ph.D.