

Posudek oponenta diplomové práce

Autor práce: Bc. Tomáš Kašpar

Název práce: Detekce a charakterizace kmenů viru Usutu (*Flaviviridae*, *Flavivirus*) v populaci kosa černého (*Turdus merula*)

	Point scale ¹	Points
(1) FORMAL REQUIREMENTS		
Extent of the thesis (for bachelor theses min. 18 pages, for masters theses min. 25 pages), balanced length of the thesis parts (recommended length of the theoretical part is max. 1/3 of the total length), logical structure of the thesis	0-3	3
Quality of the theoretical part (review) (number and relevancy of the references, recency of the references)	0-3	3
Accuracy in citing of the references (presence of uncited sources, uniform style of the references, use of correct journal titles and abbreviations)	0-3	3
Graphic layout of the text and of the figures/tables	0-3	3
Quality of the annotation	0-3	3
Language and stylistics, complying with the valid terminology	0-3	2
Accuracy and completeness of figures/tables legends (clarity without reading the rest of the text, explanation of the symbols and labeling, indication of the units)	0-3	3
Formal requirements – points in total		20
(2) PRACTICAL REQUIREMENTS		
Clarity and fulfillment of the aims	0-3	3
Ability to understand the results, their interpretation, and clarity of the results, discussion, and conclusions	0-3	3
Discussion quality – interpretation of the results and their discussion with the literature (absence of discussion with the literature is not acceptable)	0-3	3
Logic in the course of the experimental work	0-3	3
Completeness of the description of the used techniques	0-3	3

¹ Mark as: 0-unsatisfactory, 1-satisfactory, 2-average, 3-excellent.

Experimental difficulty of the thesis, independence in experimental work	0-3	3
Quality of experimental data presentation	0-3	3
The use of up-to-date techniques	0-3	3
Contribution of the thesis to the knowledge in the field and possibility to publish the results (after eventual supplementary experiments)	0-3	3
Practical requirements – points in total		27

POINTS IN TOTAL (MAX/AWARDED)	48	47
-------------------------------	----	----

Dotazy a připomínky:

V předložené diplomové práci se Bc. Tomáš Kašpar zabývá novými kmeny viru Usutu, které získali z kadáverů kosů nalezených na třech lokalitách v ČR. Po formální stránce je práce jasně a přehledně strukturovaná a splňuje předepsanou formu (Titulní strana, Poděkování, Obsah, Úvod, Vlastní práce (cíle práce, materiál a metodika, výsledky a diskuze), Závěr a Literatura).

Autor v úvodu této práce podává ucelený přehled o flavivirech se zaměřením především na virus Usutu (taxonomické zařazení a morfologie, geografické rozšíření, popis hostitelů a vektorů, nastiňuje možnosti léčby či prevence). Vlastní práce je rozdělena do několika částí s jasně definovanými cíli. Zde bych chtěla vyzdvihnout velké množství různých metodik využitých v této práci – od izolace nukleových kyselin, po kultivaci a izolaci viru. Některé z těchto metod lze považovat za pokročilé, celkově pak přesahují úroveň běžné DP. Výsledky jsou sepsány v logické posloupnosti a srozumitelně, v následující kapitole jsou výsledky diskutovány.

Pro vypracování student využil 11 stran literárních zdrojů, které odpovídají citacím v textu. Vyzdvihla bych správné dodržení jednotného stylu citací. Po grafické stránce práce obsahuje 10 obrázků a 12 tabulek, které jsou přehledné a dobře vysvětlené. Po jazykové stránce je předložená práce napsána dobře a srozumitelně.

Vzhledem k tomu, že výsledky získané v této DP byly použity pro sepsání publikace „Hönig a kol. (2019): Multiple lineages of Usutu virus in blackbirds and mosquitoes in the Czech Republic (2016-2019)“, která vyšla v časopise *Microorganisms* s výborným IF 4,167 (2018), nezbývá mi než pogratulovat ke skvělé práci a celkově k práci nemám žádné velké výhrady a doporučuji ji k obhajobě.

Nicméně bych měla ještě pár dotazů/postřehů/věcí k zamyšlení pro studenta:

1) Vyšetřovaný vzorek kosů byl z mého pohledu docela malý, navíc z různých let a různých lokalit. Nijak tím nechci snižovat skvělé výsledky, ale má otázka: hodláte v budoucnosti ve screeningu kosů (či jiných druhů ptáků) pokračovat? Budete se snažit získat také data i z mezepizootického období, kdy USUV „nekosi“ kosy, a najít i další pozitivní druhy? Je možné zjistit, jaké % kosů se s USUV

setkalo a přežilo? Tím by se potvrdilo to, co popisujete v DP, že kosi většinou takhle masivně hynou při zánosu nové linie.

Uvažoval jste o využití sérologických metod? Přestože je známo, že ELISA úplně nerozliší zkřížené reakce mezi dalšími flaviviry, uvažoval jste použití virus neutralizačního testu?

Co je v ČR důležitější z hlediska šíření USUV, komáři či ptáci? V tomto ohledu by bylo skvělé vyšetřit ve Vašich pozitivních lokalitách i komáry (např. Praha).

2) Lze nějak okomentovat společný výskyt WNV a USUV? Z oblasti jižní Moravy existují publikované výsledky – je mezi těmito viry nějaká shoda, co se týče výskytu, vektorů, rezervoárů? Myslíte si, že může být mezi těmito viry nějaká kompetence? Liší se nějak tyto viry – např. délka virémie, která by usnadňovala přenos na komáry či ptáky?

U WNV bych se nebála použít termín endemický virus pro tuto oblast (máme dlouhodobá data nejen pro komáry, ale i např. dravce + sérologie u lidí a bohužel jeden lidský smrtelný případ), ale co si myslíte o USUV v této oblasti? Opravdu lze použít termín endemický (uvádíte to na str. 40, první odstavec)? Jací ptáci, dle Vašeho názoru, by hráli roli v udržení tohoto viru v sylvatickém cyklu? Existují pro to nějaká data? Zde bych si dovolila zmínit naši publikaci o možné roli např. lysek (Straková et al. 2015: The common coot as sentinel species for the presence of West Nile and Usutu flaviviruses in Central Europe).

3) Pár dotazů k různým liniím USUV: existuje taky nějaká paralela mezi linií a virulencí viru nejen pro ptáky ale i pro lidi (např. jako tomu je u WNV – neurotropní linie)? Jak často dochází k novým „zánosům“ linií do Evropy? Jsou na všechny tyto linie nejcitlivější kosi (když se bavíme o Evropě)? Dal by se využít kos jako sentinelové zvíře?

4) Poslední otázku bych měla, co si student myslí o nebezpečí USUV pro lidi? Je nutný vývoj vakcín? Jen pro doplnění: v ČR byl USUV detekován u lidí, ale diagnostika se zde opírala o virus-neutralizační test, kdy se musel pacient zároveň testovat na TBEV a WNV a až dle titru byl USUV potvrzen. Nicméně pacient nikdy neměl žádné závažné projevy (osobní konzultace s dr. Hanou Zelenou, ZÚ Ostrava, NRL pro arboviry).

Závěr: Práci doporučuji k obhajobě a navrhuji známku 1.

V Brně dne: 6.1. 2020

Podpis oponenta

VÝZKUMNÝ ÚSTAV
VETERINÁRNÍHO LÉKAŘSTVÍ
V Brně
Věd. zpr. 12/2020
12.1.2020