



Posudek oponenta diplomové práce

Autor práce: Bc. Jan Kamiš

Název práce: Hlodavci jako rezervoár hantavirů

V předložené diplomové práci se Bc. Jan Kamiš zabývá molekulární detekcí hantavirů u volně žijících hlodavců v České republice. Po formální stránce je práce jasně a přehledně strukturovaná a splňuje běžnou formu (Titulní strana, Poděkování, Obsah, Úvod, Cíle práce, Metodika, Výsledky, Diskuze, Závěr a Literatura).

Autor v úvodu této práce podává ucelený přehled o hantavirech se zaměřením na historii jejich objevu, taxonomii, charakteristiku genomu, geografické rozšíření, spektrum hostitelů/rezervoárů, epidemiologii, klinické charakteristiky onemocnění a možnosti terapie. Oceňuji popis situace výskytu hantavirů u hlodavců a v populaci v České republice. Cíle práce jsou jasně definované. Vlastní práce je rozdělena do několika částí, které jasně kopírují stanovené cíle – od popisu odchytu zvířat, homogenizace vybraných orgánů, izolace RNA, přepisu do komplementární DNA, provedení PCR, práce se sekvencemi, tvorba fylogenetických stromů. Získané výsledky jsou sepsány v logické posloupnosti a srozumitelně, v následující kapitole jsou výsledky diskutovány. Pro sepsání této práce využil student 13 stran literárních zdrojů, které odpovídají citacím v textu. Po grafické stránce obsahuje text 9 obrázků a 7 tabulek, které jsou dobře vysvětlené, ale přikládala bych se k větším formátům obrázků pro lepší čitelnost. Po jazykové stránce je práce napsána dobře.

Jediné výhrady bych měla k většímu množství překlepů a pravopisných chyb, některé věty byly až moc „strojově“ překládané, obsahovaly i velké množství cizích/odborných výrazů, kdy si myslím, že je šlo jednoduše nahradit českými termíny. Další mé poznámky/dotazy jsem připojila k posudku níže.

Získané výsledky jsou zajímavé a přínosné, a věřím, že se dají využít k tvorbě publikace či k návrhu projektu. I proto k práci nemám žádné větší výhrady a doporučuji ji k obhajobě.

Dne 9.5. 2022, v Brně,

.....
Mgr. Petra Straková, PhD

Dotazy a připomínky:

- 1) Hned v obsahu (bod 1.2.3) uvádíte „další hostitelé jako rezervoáry hantavirů“, dále v textu přímo termín rezervoárový hostitel. **Mohl byste uvést, jaký je rozdíl v terminologii hostitel/rezervoár obecně a u hantavirů? Jak je to v případě spill-over infekce?**
- 2) Na str. 2 je podle mě nevhodná formulace ohledně diagnostiky hantavirů a jejich výskytu/objevu/popisu – v ČR se hantaviry taky běžně netestují, pouze v případě nějakých suspektních případů; možná by bylo lepší uvést přímo nějaké stále ne dobře prozkoumané oblasti např. Afriku/Austrálii, a volila bych spíše testování hlodavců, než přímo diagnostiku hantavirových infekcí u lidí.
- 3) V podkapitole 1.2.3 (Další hostitelé...) bych určitě více rozepsala nově popsané hantaviry u netopýrů, protože to je v současné době „hot topic“. Děkuji za citaci, ale myslím si, že výčet netopýřích hantavirů je mnohem větší a z hlediska geografického rozšíření i zajímavější a pestřejší.
- 4) V kapitole 1.1.4 Detekce hantavirů se Vám asi vloudila navíc věta (v závorce). Hned v navazující větě bych moc nedávala do souvislosti detekci hantavirové RNA a tvorbu specifických protilátek (většinou se takto diagnostikuje akutní infekce/na tvorbu protilátek tělo potřebuje nějaký čas).
- 5) Když už jste v textu zmínil terapii hantavirových infekcí (která je problematická), **jak je na tom prevence? Co byste doporučil? Existuje vakcína? Co využití rekonvalescentní plazmy při léčbě?**
- 6) V části Metodika velmi vyzdvihuji výběr lokalit, protože se tím určitě velmi zvýšila šance na pozitivní záchyt hantavirů u odchycených hlodavců. Taktéž urbánní oblasti jsou skvělé právě z toho důvodu, že se jedná o rizikové oblasti vzhledem k množství lidí a expozici infikovaných hlodavců. (zajímavost: ještě jsem se nesetkala s výrazem „živochytné pasti“, jen s výrazem živolovné pasti; taktéž jsem si musela vyhledat, co znamená slovo „vnadit“ – např. ve větě „....pasti byly vnazeny..“)
- 7) Při výčtu molekulárních metod jsem se chtěla zeptat, **jaký byl záměr návrhu vlastních primerů pro M segment?** TULV se běžně testuje s primery pro S segment (Essbauer et al. 2004). Omlouvám se, ale celý tento odstavec je pro mě trochu chaotický. Věta „Výběr primerů byl založen na výsledcích sekvenace nested-PCR produktu L segmentu“ je dost zavádějící – primery pro M segment jste asi nenavrhoval z částečné sekvence L segmentu. Rozumím tomu tak, že když Vám vyšel produkt v nested PCR pro L segment, určil jste ho jako Dobravu, tak pak dle alignmentu různých sekvencí pro M segment hantaviru Dobrava jste tvořil primery? Obdobně se záchytem TULV. Primery jste navrhoval dle alignmentu M segmentů TULV. Dále se v textu (výsledky, fylogenetické analýzy) zmiňujete o pokusech získání sekvencí M segmentu u SWSV a ASIV), bohužel o těchto návrzích v kapitole Metodika nepíšete. Anebo bylo Vaším cílem udělat nějakou pan-M segment hantavirovou PCR?
- 8) Velmi oceňuji využití molekulárních metod při určení druhu (cyt b), protože zvláště u juvenilů je druhové určení obtížné. I přes to, že výzkum/odchyt neprobíhal na



- vybraných lokalitách nijak systematicky, počet odchycených/vyšetřených jedinců je dostačující a jsem vlastně příjemně překvapena vysokým počtem pozitivních zvířat.
- 9) U fylogenetických stromů bych se asi přikláněla pro vkládání jednoho stromu – jeden segment a jeden hantavirus (zvlášť pro DOBV/TULV/ASIV/SWSV). Je to mnohem přehlednější. Ve Vašem případě – jeden strom ale všechny hantaviry, se v tom dost špatně hledají sekvence, je to dost nepřehledné. I v počítači si to musím dost zvětšit, abych se podívala, které sekvence jste vůbec použil. I celkově popis těchto výsledků bych se snažila držet pohromadě – když máte strom k L segmentu a DOBV, tak popsat o co se jedná. U výčtu TULV sekvencí Vám chybí v odstavci uvést, o který se jedná segment (předpokládám, že L, protože u DOBV to tak v předchozím odstavci máte). Tady bych přece jen zmínila, že je škoda, že jste se nevěnoval i S segmentu, protože právě u TULV se dělají v literatuře zajímavé studie ohledně shlukování různých linií TULV s různou linií hraboše (např. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00705-016-2762-6>), ale třeba se na to zaměříte příště, pokud budete v tématu pokračovat.
- 10) U tkáňového tropismu mě napadá jedna otázka – **dá se podle nálezu hantaviru v orgánu určit, zda se jedná o infekci akutní, perzistentní?** Jsem ráda, že se dále v textu zabýváte problematikou kontaminací např. právě během pitev. To taktéž nelze úplně vyloučit.
- 11) V diskuzi bych hned na začátku upozornila na chybu v rešerši, u *A. flavicollis* se vyskytl genotyp Dobrava (Zelená et al. 2019).
- 12) Dlouho jsem přemýšlela, jak je možné, že se ve Vaší práci vyskytuje tolik spill-over infekcí (neboli výskyt jiného hantaviru než by se druhově očekávalo). Myslím si, že se tyto události stávají, neberu to jako nic podezřelého, může to být dáno i tím, že se zvířata opravdu nacházejí v jednom prostředí. Nevím, jestli se může např. stát, že v případě sklapovacích pastí by jedno zvíře „vyžírало“ to druhé (další možný způsob nákazy). Nesetkávám se s tím tak často, ale v naší publikaci Zelená et al. 2019 taktéž uvádíme SWSV virus u myšic (moje další poznámka k Vaší rešerši, kde uvádíte, že jediná dostupná sekvence L segmentu je z publikace Schlegel et al. 2012).
- 13) Výsledky jsou diskutovány správně, nicméně mi trochu chybí nějaké srovnání s okolními státy. S kterými sekvencemi se ty Vaše nejvíce shlukují? Víím, že by to asi tuto kapitolu dost rozšířilo, ale je možná škoda, že jste někde přímo nerozebíral ty pozitivní lokality s výčtem pozitivních druhů. Je hodně těžké se dívat na mapku (kterou bych možná rozdělila na jednu mapku v kapitole odchvyty a pak druhou mapku v kapitole výsledky, kde bych uvedla i zastoupení pozitivních zvířat) a pak hledat pozitivní jedince v obří tabulce v Příloze.
- 14) Otázky do diskuze: **Kam podle Vás směřuje výzkum hantavirů ve světě/v ČR? Proč je důležité se těmito viry zabývat? Proč je takový rozdíl ve výskytu/počtu nakažených mezi ČR a např. Německem (k zamyšlení – různé druhy hostitelů/různé druhy (genotypy) hantavirů/geografie/diagnostika)? Co podle Vás přispívá k šíření hantavirů v přírodě (počasí/potrava/migrace)? Je možné, že by se někde vyskytl nějaký nový super patogenní hantavirus (jako se nově objevil covid-19)?**