

Zemědělská
fakulta
Faculty
of Agriculture

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

PROTOKOL O OBHAJOBĚ DISERTAČNÍ PRÁCE DSP

Jméno studenta: Ing. Michaela HORČÍČKOVÁ
Narozen(a): 1. 10. 1989 v Českých Budějovicích
Studijní program: Zootechnika
Studijní obor: Zoohygiena a prevence chorob hosp. zvíř.
Forma studia: Prezenční
Školící pracoviště: KZVE ZF JU v Č. Budějovicích
Datum a místo konání zkoušky: 12. 10. 2018, ZF JU v Č. Budějovicích
Zkušební termín č.: 1.

Název disertační práce:

Diverzita a biologie kryptosporidií hrabošovitých (Arvicolinae)

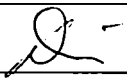
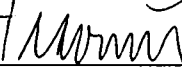
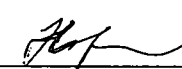
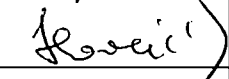
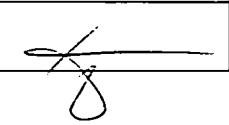
Výsledek obhajoby:

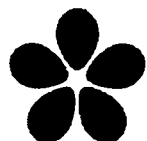
Prospěl (a)

Neprospěl (a)

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	prof. MVDr. Daniela Lukešová, CSc.; ČZU v Praze, FTZ	
Členové:	doc. RNDr. Oleg Ditrich, CSc.; PřF JU v Č. Budějovicích (oponent)	
	doc. Ing. Naděžda Kernerová, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích	
	prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích	
	MVDr. Lada Hofmannová, Ph.D.; VFU Brno, FVL (oponent)	
	doc. Dr. Ing. Zdeněk Havlíček; Mendelova univer. v Brně, AF	
	doc. Ing. Jaroslav Vadlejch, Ph.D.; ČZU v Praze, FAPPZ (oponent)	
Školitel:	prof. Ing. Martin Kváč, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích	



Zemědělská
fakulta
Faculty
of Agriculture

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

OBHAJOBA DISERTAČNÍ PRÁCE DSP PROTOKOL O HLASOVÁNÍ

Jméno studenta: Ing. Michaela HORČIČKOVÁ
Narozen(a): 1. 10. 1989 v Českých Budějovicích
Studijní program: Zootechnika
Studijní obor: Zoohygiena a prevence chorob hospodářských zvířat
Forma studia: Prezenční

Výsledek hlasování:

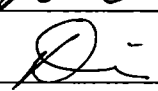
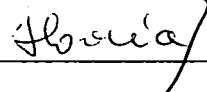
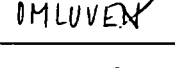
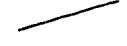
Počet členů komise: 7
počet platných hlasů: 6

počet přítomných členů komise: 6
kladných: 6
záporných: 0

počet neplatných hlasů: 0

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	prof. MVDr. Daniela Lukešová, CSc.; ČZU v Praze, FTZ	
Členové:	doc. RNDr. Oleg Ditrich, CSc.; PŘF JU v Č. Budějovicích	
	doc. Ing. Naděžda Kernerová, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích	
	prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích	
	MVDr. Lada Hofmannová, Ph.D.; VFU Brno, FVL	
	doc. Dr. Ing. Zdeněk Havlíček; Mendelova univer. v Brně, AF	
	doc. Ing. Jaroslav Vadlejch, Ph.D.; ČZU v Praze, FAPPZ	
Školitel:	prof. Ing. Martin Kváč, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích	

Státní doktorská zkouška Ing. Michaely Horčíčkové 12. 10. 2018

MVDr. Lada Hofmannová, Ph.D.

Trichinella spiralis – svalovec stočený

Parazitická hlístice, hostitelem jsou savci včetně člověka. Člověk se nakazí konzumací syrového nebo tepelně nedostatečně opracovaného masa.

Vývojový cyklus: Přímý životní cyklus (biohelminté), chybí exogenní fáze (nevyskytuje se mimo tělo hostitele). Zvíře, popřípadě člověk pozře svalovou tkáň obsahující vitální larvy. V žaludku dochází k uvolnění larev díky trávicím šťávám žaludku, larvy přecházejí do tenkého střeva, kde pohlavně dospívají. Oplodněné samičky pronikají do střevní sliznice a produkují larvy L1. Tyto larvy vstupují do lymfatické a krevní soustavy a jsou roznášeny po celém těle. Nakonec pronikají do příčně pruhované svaloviny. Narušují myofibrily svalů, rostou, postupně se opouzdří a přeměňují svalovou buňku. Takto změněná buňka se nazývá nurse cell, která vyživuje larvy trichinell. Po půl roce dochází k postupné kalcifikaci opouzdřených larev, které jsou infekceschopné až 10 let.

doc. RNDr. Oleg Ditrich, CSc.

Fasciola hepatica – prevence a léčba

Prevence představuje komplex opatření zaměřených na ničení dospělých parazitů, přerušení vývojového cyklu parazita, opatření na pastvinách (meliorace), kontrola nezávadnosti zdrojů vody, provádět koprobiologická vyšetření, aplikace Albendazolu a Ivermectinu.

Cryptosporidium spp. – prevence a léčba

Ochrana zdrojů vody, nasadit antibiotika parazitovaným telatům k zabránění rozvinutí bakteriálních chorob, léčba neexistuje.

Giardia intestinalis – prevence a léčba

Molekulárními metodami zjistit o jaký typ asambláže jde, ve výběhu oplotit rozbahněná a zamokřená místa, kontrola zdrojů vody.

prof. MVDr. Daniela Lukešová, CSc.

Ochrana zdraví zvířat z pohledu zákona

Zákon na ochranu zvířat proti týrání 246/1992 Sb., Vyhláška o ochraně pokusných zvířat 419/2012 Sb.

prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

Chovy laboratorních zvířat

Otevřený chov – vstup osob a zvířat volný, bezbariérový, při dodržování zoohygienických podmínek, spektrum mikroflóry u konvenčních zvířat je širší.

Izolátorový chov – jsou v něm chována zvířata zcela prostá všech mikrobů tzv. GF (germ free). Ty mohou být celý život udržovány ve sterilním prostředí, nebo mohou být použita k založení kolonie gnotobiotických zvířat (zvířata osazená určitým počtem vybraných druhů nepatogenních mikroorganismů).

Bariérový chov – jsou v něm chována zvířata prostá specifických patogenů, tzv. zvířata SPF (specific pathogen free).

doc. RNDr. Oleg Ditrich, CSc.

Co předurčuje zvířecímu druhu stát se druhem laboratorním?

Laboratorní zvíře je zvíře s přesně známými vlastnostmi genetickými, fyziologickými a jinými, které je speciálně chované pro experimentální účely.

Vlastnosti laboratorního zvířete: je určeno pro laboratorní výzkum, podléhá přesně stanoveným podmínkám chovným a rozmnožovacím, je definována z hlediska genetického a zdravotního stavu, definované vlastnosti a životní podmínky jsou standardizovány v čase a má vhodné vlastnosti, které jej předurčují pro určitý výzkumný úkol.

Plasticita druhu

Schopnost přizpůsobit se vnějším podmínkám. Fenotypová plasticita je schopnost jednoho genotypu produkovat různé fenotypy v závislosti na podmínkách prostředí.

doc. Ing. Naděžda Kernerová, Ph.D.

Jaký druh laboratorních zvířat se nejčastěji používá?

Laboratorní myši, potkani, morče, křeček

doc. RNDr. Oleg Ditrich, CSc.

Čím je unikátní pískomil z pohledu infekce živými trofozoity?

V žaludku pískomila není přítomna kyselina chlorovodíková, pH žaludku kolem 6.

pH žaludeční šťávy člověka – kyselé, s hodnotou 1,4 až 4.

Obhajoba disertační práce Ing. Michaely Horčíčkové 12. 10. 2018

Téma: Diverzita a biologie kryptosporidií hrabošovitých (Arvicolinae)

MVDr. Lada Hofmannová, Ph.D.

1. Jak byste charakterizovala pojmy „prepatentní perioda“ a „patentní perioda“?

Prepatentní perioda – doba od infekce do prvního zachytu infekčních stádií

Patentní perioda – doba, po kterou jsou infekční stadia vylučována z hostitele

2. Ve své práci popisujete čtyři nové druhy kryptosporidií z hlodavců, ke kterým nechybí ani rozsáhlé fylogenetické analýzy, v těchto analýzách není zahrnut nedávno popsáný nový druh *C. homai* z morčat, který několikrát zmiňujete v disertační práci. Mohla byste stručně charakterizovat tento druh, porovnat jeho popis s vašimi popisy nových druhů a uvést, zda může být chybějící informace o prepatentní periodě *C. homai* v nějakém ohledu významná?

Cryptosporidium homai je střevní druh detekovaný u morčat s prevalencí 24,1 % (7/29). Pro genotypizaci byly zvoleny geny rRNA SSU, actin a HSP70. Histologickými analýzami byla zjištěna minimální zánětlivá reakce hostitele, lamina propria byla rozšířena mírným až středním lymfocytoplasmodocytovým zánětlivým infiltrátem s občasnou přítomností neutrofilů, eozinofilů a nekrotických buněk. Trofozoiti a meronti *C. homai* měří <5 µm. Oocysty nebyly mikroskopicky detekovány. Není známa prepatentní a patentní perioda, hostitelská specifita, patogenita a zoonotický potenciál.

Chybějící informace o prepatentní periodě mi zde nepřijde významná. Z důvodu chybějícího popisu morfometrie a morfologie oocyst by tento druh neměl být považován za platný podle Mezinárodních pravidel zoologické nomenklatury.

3. Nakolik jste se podílela na terénních pracích a odchycích volně žijících hlodavců?

Na odchycích v rámci ČR jsem se podílela 100 %.

4. Odkud pocházeli experimentální hraboši a myšice, jednalo se o dlouhodobě laboratorně chované linie nebo to byli jedinci přímo z odchytů (resp. rodičovská generace z odchytů)?

Zvířata pro experimentální infekce pocházela z vlastního chovu - F1 až F3 generace.

5. Jak si vysvětlujete nevnímavost hrabošů k infekci žaludečními kryptosporidii *C. muris* a *C. proliferans*?

Nevnímavost může být způsobena mezidruhovou bariérou, koevolucí kryptosporidií, evolucí hrabošů či nedostatečným výzkumem.

6. Hrabošoviti představují na základě vašich výsledků nízké riziko přenosu kryptosporidií na člověka, kteří hlodavci by z tohoto pohledu naopak mohli představovat nejvyšší riziko?

Stromové veverky (chipmunk genotyp I, skunk genotyp)

Myš domácí (*C. muris*, *C. tyzzeri*, *C. parvum*)

Potkan obecný (*C. muris*, *C. occultus*)

7. Jaká diagnostická metoda se Vám jeví jako nejvhodnější pro detekci kryptosporidií u hlodavců a proč?

Molekulární metody (PCR) – možnost genotypizace kryptosporidií, vysoká senzitivita a specifita.

Imunochromatografické testy – omezené znalosti o senzitivě a specifitě pro různé druhy a genotypy kryptosporidií.

doc. Ing. Jaroslav Vadlejš, Ph.D.

1. Jaká je odolnost oocyst kryptosporidií vůči podmínkám vnějšího prostředí a existuje sezónnost ve výskytu kryptosporidiózy u hlodavců?

Oocysty jsou vysoce odolné ve vnějším prostředí, mají dlouhou dobu životaschopnosti a jsou plně infekce schopné, ve vodě a vhodných klimatických podmínkách jsou schopny přežít mnoho dní, hlavním faktorem, který přežívání oocyst ovlivňuje je teplota.

Z mých výsledků není patrný sezónní výskyt kryptosporidií. Z výsledků publikací (Torres et al. 1997, Chalmers et al. 1997, Bajer et al. 2001, Qui et al. 1999) je znatelný sezónní výskyt kryptosporidií, který může být zapříčiněn mnoha faktory (struktura populace, populační dynamika, hustota populace oscilující od jarního minima k podzimnímu maximu, klimatické podmínky, předchozí kontakt s kryptosporidiovými infekcemi u odchyceného jedince).

2. Jak vysvětlíte fakt, že určité druhy kryptosporidií se vyvíjí pouze u hrabošů, zatímco pro jiné skupiny hlodavců infekční nejsou?

Koevoluce parazit-hostitel, existence hostitelské specifity kryptosporidií (úzká x široká).

3. Za jakých okolností lze organismus považovat za nový druh?

Druh je soubor populací s jedinečným vývojovým původem a historií, tvořený navzájem si podobnými jedinci, kteří se mezi sebou mohou plodně křížit a jsou reprodukčně izolováni od jiných podobných skupin.

Druh se určuje na základě biologické, genetické a taxonomické odlišnosti.

doc. RNDr. Oleg Ditrich, CSc.

1. Je něco známo o kryptosporidiích hryzců a nestálo by za to (přes obtíže s lovením hryzců) se jimi podrobněji zabývat?

Publikace: Gelling M., Macdonald DW., Telfer S., Jones T., Bown K., Birtles R., Mathews F. 2012: Parasites and pathogens in wild population of water voles (*Arvicola amphibius*) in the UK. Eur J Wildl Res. 58:615–619. Metodami imunofluorescenční mikroskopie byla zjištěna přítomnost *Cryptosporidium* spp. s prevalencí 13,8 % (15/109) u hryzců vodních (*Arvicola amphibius*).

Do laboratoře veterinární a medicínské protistologie byl dodán vzorek hryzce vodního a byla z něj získána sekvence genu kódující aktin. Na základě fylogenetické analýzy byla prokázána přítomnost hostitelsky specifického genotypu kryptosporidie.

2. Pokoušeli jste se vytěžit z materiálu (publikace o kryptosporidiích z myšic, potkanů a veverek) informace o možné koevoluci hlodavců a kryptosporidií?

Nezabývala jsem se touto problematikou.

Diskuze k obhajobě disertační práce Ing. Michaely Horčíčkové 12. 10. 2018

Téma: Diverzita a biologie kryptosporidií hrabošovitých (Arvicolinae)

Přežitelnost oocyst ve vnějším prostředí: ve vhodných klimatických podmínkách vydrží až 100 dní, v dichromanu draselném oocysty střevních druhů až 1 rok, oocysty žaludečních druhů kolem 6 měsíců.

Teploty pro přežití oocyst: oocysty jsou ničeny při vysokých teplotách (65 °C po dobu 20 minut nebo vroucí voda po dobu 1 minuty), stejně jako při teplotách hluboko pod bodem mrazu (devitalizace oocyst při -70 °C). Oocysty inhibuje UV záření.

Podle čeho byly zvoleny odchytové lokality? Pro odchty hrabošů byly zvoleny louky a pole většinou z mě známých a dobře dostupných míst.