

Abstrakt

Tato práce se zabývá bariérami a kritickými faktory při vývoji virů, leishmanií a gregarin během vývoje ve flebotomovi.

Nejdříve jsme se zaměřili na vývojový cyklus virů přenášených flebotomy, jelikož dodnes není jasné, jak tyto viry dokážou kolovat v přírodě. Pro studium této problematiky jsme si zvolili Massilia virus (MASV), který je blízce příbuzný Toscana viru, hlavnímu původci meningitidy v Mediteránu během letních měsíců. Zkoušeli jsme různé způsoby nákazy Massilia virem u různých vývojových stádií flebotoma druhu *Phlebotomus perniciosus* a to infekci: (i) prvního a čtvrtého larválního instaru z larvální potravy, (ii) samic krví a (iii) obou pohlaví cukrem. Infekce larev z potravy a následný transstadiální přenos MASV na dospělé byl neefektivní; celkem se z larev vyvinulo 875 dospělců a pouze tři z nich byli MASV pozitivní. Po nákaze samic z krve jsme sice na počátku získali vysoké procento infikovaných jedinců, nicméně po defekaci došlo k eliminaci infekce a počet infikovaných samic poklesl na 5 z 27. Jako nejúčinnější způsob infekce MASV jsme prokázali nákazu z cukru; 72 % samic (88 ze 122) a 51 % samců (58 ze 113) bylo MASV pozitivní. Navíc, takto infikovaní flebotomové kontaminovali virem cukr, který díky tomu sloužil jako zdroj nákazy pro naivní jedince během následujících 24 hodin; téměř 30 % flebotomů se nakazilo. Domníváme se, že cukr, na němž společně sají infikovaní a neinfikovaní jedinci, může být u flebovirů v přírodě důležitým zdrojem infekce.

Flebotomové jsou významnými přenašeči leishmanií a peritrofická matrix flebotoma byla u některých druhů, zejména *Sergentomyia schwetzi*, považována za důležitou bariéru pro vývoj leishmanií. Tuto teorii jsme potvrdili experimentálně přidáním chitinázy *Beauveria bassiana* do krve s leishmaniami. Díky tomu došlo u *S. schwetzi* k vytvoření slabší PM, která se dříve rozpadla a *Leishmania major* a *Leishmania donovani* tak měly dostatek času uniknout do ektoperitrofického prostoru, vyvinout pozdní infekci s metacykly a kolonizovat stomodeální valvu. U kontrolní skupiny byly leishmanie eliminovány během defekace.

U komárů bylo dříve prokázáno, že teplota během larválního vývoje i během dospělosti může ovlivnit vektorovou kompetenci. Proto jsme testovali vliv různých teplot (27 °C and 32 °C) během larválního vývoje *Phlebotomus sergenti* na následnou vnímavost dospělců vůči nákaze *Leishmania tropica*. Larvy se ve vyšší teplotě vyvíjely rychleji a produkovaly menší dospělé, ale procento infikovaných samic a intenzita infekce *L. tropica* se mezi experimentálními skupinami nelišily. Vyšší teplota ale překvapivě vedla k eliminaci gregarin; všichni flebotomové, kteří se vyvinuli z larev chovaných v 27 °C byli nakaženi a průměrný počet gamontů na jedince byl 29.5, zatímco z dospělců, kteří se vylíhli z larev držných ve vyšší teplotě, byli nakaženi pouze tři ze 120.

V přírodě se mohou gregariny přirozeně vyskytovat ve flebotomech nakažených leishmaniami. U komárů bylo prokázáno, že gregariny mohou ovlivňovat vývoj ostatních patogenů

přítomných ve vektorovi. Proto jsme se rozhodli otestovat, zda může mít přítomnost gregariny *Psychodiella sergenti* vliv na vývoj *L. tropica* ve flebotomech *P. sergenti*. Nicméně jsme prokázali, že procento infikovaných samic i intenzita infekce byly stejné, bez ohledu na přítomnost či absenci gregarin.