

Oponentský posudek

Na disertační práci Ing. Pavly Wagnerové

Kryptosporidiové a mikrosporidiové infekce koní

Předložená disertační práce je zpracována na 90 stranách textu včetně seznamu literatury, který obsahuje úctyhodný počet 284 literárních pramenů. Formální uspořádání práce respektuje normu členění vědecké práce. Její součástí je pět samostatných publikací, které byly zveřejněny ve vědeckých časopisech a jedna práce, která je v oponentním řízení v časopise *Equine Veterinary Journal*.

Téma práce považuji za aktuální a velmi přínosné pro veterinární medicínu vzhledem k tomu, že informace o prevalenci, klinickém významu a zoonotickém potenciálu kryptosporidií a mikrosporidií infikujících koně jsou velice omezené. Hodnocení jednotlivých kapitol práce včetně formálních a věcných připomínek je následující:

Úvod práce jasně formuluje význam zvolené problematiky a důvody její realizace, kterými jsou zejména obavy z nárůstu prevalence parazitóz v České republice v souvislosti s importem koní ze zahraničí.

Cíle práce jsou srozumitelně formulovány v pěti bodech.

Literární přehled je dostatečně rozsáhlý a podrobný. Logicky je rozdělen do dvou podkapitol, v nichž jsou popsány taxonomie, vývojový cyklus, cesty přenosu infekce, klinické příznaky, terapie a zoonotický potenciál obou studovaných skupin parazitů.

Materiál a metodika jsou popsány přehledně a srozumitelně a jsou v souladu se stanovenými cíli.

Výsledky jsou formulovány jasně a srozumitelně, ke srozumitelnosti napomáhá jejich uspořádání do tabulek. Autorka v nich odkazuje na jednotlivé publikace ve vědeckých časopisech, které jsou součástí disertační práce.

Diskuse není uvedena jako samostatná kapitola disertační práce. Dílčí části diskuse jsou uvedeny v jednotlivých publikacích, které jsou její součástí.

Závěry jsou formulovány jasně a srozumitelně v několika bodech.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

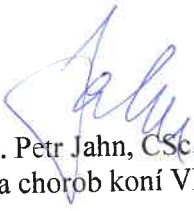
1. V části Materiál a metodika uvádí autorka, že odebrala 1300 individuálních vzorků. K přehlednosti práce by přispělo, kdyby zde bylo uvedeno, kolik z toho bylo vzorků trusu, krve, případně dalšího materiálu.
2. Jako jedna z lokalit, kde byly odebírány vzorky, uvádí autorka Alžír. Nejednalo se spíše o Alžírsko, jehož je Alžír hlavním městem?
3. Jak uvádí autorka na str. 58, u jednoho experimentálně infikovaného koně byl při pitvě zjištěn absces v mozku. Zajímalo by mne, zda tento kůň byl před porážkou podrobně neurologicky vyšetřen a zda postmortálně byla provedena bakteriologická kultivace obsahu abscesu. Domnívá se autorka, že existuje příčinná souvislost mezi vznikem abscesu a nálezem *Encephalitozoon cuniculi* v jeho obsahu?
4. Z čeho vychází autorka v posledním bodu závěru disertační práce (Koně jako hostitelé některých druhů kryptosporidií a mikrosporidií se zoonotickým potenciálem nepředstavují velké riziko v přenosu infekce a ohrožení zdraví lidské populace)? V rozporu s tímto tvrzením je závěr **publikace I** (Thus, horses could be considered to be a potential source of infection in humans).

5. V práci se zcela ojediněle vyskytují pravopisné chyby, nepřesnosti nebo nesprávné formulace (např. na str. 37 „mozková encefalitida“).

Přes uvedené drobné nedostatky považuji předloženou disertační práci za velice kvalitní vědeckou studii. Práce je sepsána vytříbeným jazykem, věcně, s dobrou formální úpravou. Jestliže jejím cílem bylo vyplnit některé mezery ve studované oblasti, jak autorka uvádí v úvodu, lze konstatovat, že tento cíl byl splněn.

Doporučuji, aby předložená práce byla přijata k obhajobě a po úspěšné obhajobě byl její autorce udělen titul „Ph.D.“.

V Brně dne 18. 9. 2015


MVDr. Petr Jahn, CSc.
Klinika chorob koní VFU Brno

72
Oponentský posudek na disertační práci Ing. Pavly Wagnerové

Kryptosporidiové a mikrosporidiové infekce koní

Téma práce je aktuální proveterinární i lékařskou parazitologii: údaje o výskytu kryptosporidií a mikrosporidií u koní byly kusé a ucelený pohled chyběl. Pavla Wagnerová se pokusila tuto mezeru ve znalostech vyplnit a tento pokus byl úspěšný. Dokladem toho je nejen 5 publikací v prestižních časopisech a další práce v recenzním řízení, ale i zdařilý úvodní text, který jednotlivé práce propojuje a zasazuje je do kontextu. Vyzdvihnout chci i velmi kvalitní vedení práce a systematickou práci celého týmu, v jehož rámci Pavla pracovala.

Publikované práce zahrnují celé spektrum přístupu, od posouzení možného vlivu typu chovu koní na prevalenci až po molekulární analýzy izolátů. Ocenit bych chtěl zejména zcela ojedinělou práci o experimentálních infekcích koní mikrosporidiiemi a dále práci o kryptosporidiových a mikrosporidiových infekcích zdivočelých koní - nikoliv divokých, jak je v českém textu nepřesně uvedeno: i v češtině v odborné literatuře odlišujeme zdivočelá (feral) zvířata od divokých (wild).

Publikované práce prošly náročným recenzním řízením a o jejich vědecké úrovni netřeba diskutovat. Chtěl bych se zaměřit především na úvodní text.

Literární přehled je napsán čtivě a je velmi ucelený. Velmi bych se přimlouval, aby z něj vznikly 2 publikované review: od zdařilé review o kryptosporidiosis koní (Xiao a Herd 1994) uplynulo 21 let a nových poznatků za tu dobu přibylo mnoho a souhrnná práce o mikrosporidiosis koní chybí úplně.

Velmi užitečná je i část popisující metodiku: byl dostatek prostoru pro popis pracovních postupů v plné šíři. Zdařilé je Shrnutí nejvýznamnějších výsledků disertační práce, odkazující na výsledky jednotlivých publikovaných prací.

V podstatě všechny mé kritické připomínky se tak týkají kapitoly 6. Závěry. Někdy je obtížné nalézt rozumný kompromis mezi zobecněním (které se zu závěrů očekává) a konkrétní informací (jež by měla být v každém závěru obsažena bez nutnosti vracet se k předchozímu

textu). Podle mého názoru Pavla závěry zobecnila příliš. Je též užitečné závěry číslovat, nejen oddělit odrážkami (právě kvůli diskusím o nich). Dovolil jsem si závěry průběžně očíslovat a u některých navrhnout přeformulování:

1. Zdivočelí koně jsou kryptosporidii promořeni více (prevalence nad 30 %) než koně domestikováni (prevalence o celý jeden řád nižší).
2. Kromě kryptosporidii s širokým hostitelským spektrem (*C.parvum*) a kryptosporidii pro koně typických (Horse genotype) jsou koně vnímaví i pro druhy úzce zaměřené na jiné hostitele (*C.erinacei*, *C. muris*, *C. hominis*).
3. --
4. Kryptosporidiové infekce koní a oslů nezpůsobují klinické příznaky onemocnění (v současnosti naužívaný výraz „jsou spojeny“ nezahrnuje kauzalitu a měli bychom se mu v odborném textu pokud možno vyhýbat).
5. Vliv stájové technologie chovu na **vyšší** výskyt mikrosporidii byl prokázán pouze u koní v ČR.
6. Infekce *E. cuniculi* koní v českých v českých chovech je vyšší u dospělých koní (10%) než u koní mladších (4 %).
7. – 10. –
11. Nejrozšířenějším genotypem *E. cuniculi* je v chovech koní genotyp II. (pokud se použije příslovce více, mělo by být uvedeno více než co).
12. Akutní fáze mikrosporidiiózy působené *E.cuniculi* byla u experimentálně infikovaných koní zjištěna ve 28.- 42.DPI.
13. a 14. -

Práce je psána dobrou a srozumitelnou češtinou, použití nevhodných výrazů (např. hostitelská nespecificita místo nízká specificita a gramatických chyb (např. Příznaky, které by vypovídaly - str.57) se objevily vzácně.

Dotazy:

1. V tabulce 5 jsou uvedeny velmi rozdílné prevalence infekcí v zemích z různých geografických oblastí. Velmi nápadný je vysoký výskyt mikrosporidií a nízký výskyt kryptosporidií v ČR. Do jaké míry je to podle názoru autorky ovlivněno geografickou oblastí a do jaké míry jinými vlivy, jako převažující typ chovu apod?
2. Domnívám se, že velmi zajímavé by bylo vyšetření populací koní Przewalského v Mongolsku. Kromě genotypů, které se tam jistě dostaly při reintrodukcích by se tam mohly vyskytovat i genotypy původní. Neuvažujete o jejich vyšetření?
3. Ukazuje se, že mikrosporidie jsou u koní běžně rozšířeny u ^u jeinců bez příznaků onemocnění, podobně jako u jiných hostitelů včetně lidí. Z této představy o neškodnosti pro imunokompetentní jedince poněkud vybočuje nález mozkového abscesu u experimentálně infikované kobyly. V diskusi je tento nález srovnáván s podobným nálezem *E. cuniculi* v mozkovém abscesu imunokompetentního člověka, který jsme před časem popsali. Vzhledem ke koinfekcím jsme tehdy nemohli s určitostí tvrdit, že mikrosporidie tam byla primárním patogenem. Domníváte se, že ve vašem případě primárním patogenem byla? Je velká škoda, že u experimentální infekce není výsledek podpořen histologickým nálezem, čím mohla být absence histologické reakce (u abscesu dost těžko představitelná) způsobena?

Závěr: mé připomínky jsou marginální a nijak nesouvisejí s vysokou kvalitou posuzované práce, která je podle mého názoru nadprůměrná. Doporučuji ji nejen k úspěšné obhajobě, ale, pokud to možnosti na fakultě dovolují, k mimořádnému ocenění (cena děkana apod.).

Doc. RNDr. Oleg Ditrich, CSc



23. 9. 2015

Oponentský posudek na disertační práci

autor disertační práce: Ing. Pavla Wagnerová

Katedra zootechnických věd, Zemědělská fakulta, Jihočeská
univerzita v Českých Budějovicích

název práce: Kryptosporidiové a mikrosporidiové infekce koní

oponent: doc. Ing. Jaroslav Vadlejš, Ph.D.

Katedra zoologie a rybářství, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních
zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze

Disertační práce Ing. Pavly Wagnerové předložená k oponentnímu řízení představuje soubor šesti publikovaných prací, jejichž je kandidátka hlavní nebo druhou autorkou. Vlastní práce je standardně řazena na kapitoly Úvod, Cíl práce, Literární přehled, Materiál a metodika, Shrnutí nejvýznamnějších výsledků a Závěry. Postrádám však kapitolu hypotézy, která by měla být standardní součástí každé disertace. Na konci práce jsou pak vloženy separáty pěti publikovaných článků a jednoho článku v oponentním řízení. Tyto články byly publikovány ve vědeckých časopisech, které patří, podle současně platných mezinárodních pravidel, mezi význačné v daném oboru. Disertační práce po formální stránce splňuje všechny požadavky na ni kladené. Písemný projev autorky je kultivovaný, bez zbytečných překlepů, či jiných formálních chyb.

Literární přehled poskytuje základní informace o studovaných parazitech a infekcích, které vyvolávají. Rozsahem a hloubkou zpracování, i počtem použitých literárních zdrojů, autorka prokázala značnou orientaci ve studované problematice. V první části přehledu, který je zaměřený na kryptosporidie, však chybí kapitola zaměřená na patogenitu. V části zabývající se mikrosporidii tato problematika zmiňována již je. V kapitole Závěry pak postrádám začlenění závěrů studií do obecnější roviny současného pojetí studovaného tématu a např. i vlastní názory autorky na budoucnost řešené problematiky.

Přestože kryptosporidiózy a mikrosporidiózy patří mezi významná onemocnění, zejména imunodeficitních humánních i veterinárních pacientů, o kryptosporidiích a mikrosporidiích, respektive o infekcích, které vyvolávají u koní, bylo dosud publikováno minimum prací. Tyto skutečnosti svědčí o tom, že zvolené téma je nejen aktuální, ale i potřebné.

Po pečlivém prostudování disertační práce i přiložených publikovaných prací lze konstatovat, že stanovené cíle práce byly splněny.

V práci byly použity především moderní, molekulární metody a postupy, které jsou v dané oblasti výzkumu široce akceptované. Vzhledem k tomu, že každá z autorčiných publikací prošla přísným oponentním řízením, lze předpokládat, že použité metodiky zpracování jsou vhodné k získání výsledků, které umožňují formulovat relevantní a využitelné závěry. Nicméně k této části disertační práce mám následující otázky. Existuje celosvětově platná standardizovaná metodika pro diagnostiku kryptosporidióz a mikrosporidióz? Jak se stanovuje intenzita jmenovaných infekcí? Byly vzorky výkalů koní vyšetřovány i na přítomnost jiných parazitů?

Z článků, které jsou součástí této práce, vyplývají skutečnosti, které osvětlují některé aspekty biologie studovaných parazitů a infekcí, které vyvolávají. V této souvislosti mám následující připomínky. Pokud není stanovena intenzita infekce daného onemocnění, nelze s jistotou tvrdit, že neexistuje vztah mezi výskytem parazita a průjmem. Ze stejného důvodu není zcela pravdivé tvrzení, že kryptosporidiové infekce koní nejsou spojeny s klinickými příznaky.

K autorce disertační práce mám následující otázky:

1. Jaká je citlivost jednotlivých metod pro diagnostiku kryptosporidiózy a mikrosporidiózy?
2. Je známý vliv exogenních faktorů na výskyt kryptosporidióz, či mikrosporidióz v průběhu roku?

Po celkovém zhodnocení považuji předloženou disertační práci Ing. Pavly Wagnerové za kvalitní doklad její vědecké práce. Doporučuji práci podstoupit obhajobě a po zodpovězení výše uvedených otázek a připomínek jmenované udělit akademicko-vědecký titul doktor (Ph.D.).

V Praze, 20. 9. 2015



.....
doc. Ing. Jaroslav Vadlejch, Ph.D.