

# Oponentský posudek na diplomovou práci „Optimalizace přenosového modelu *Babesia microti*“.

**Autor diplomové práce:** Jiří Ťápal

**Vedoucí práce:** RNDr. Ondřej Hajdušek, Ph.D.

**Školitelka specialista:** RNDr. Marie Jalovecká

Předložená diplomová práce splňuje všechny formální a obsahové požadavky na tento typ práce. Text práce je psán čtivě s minimálním množstvím překlepů, avšak s řadou drobných formálních chyb, které by se neměly v diplomové práci již vyskytovat. Uvedu zde jen pár nejčastěji se opakujících nedostatků. Taxonomický název čeledi se nepíše v kurzivě, pokud věta končí zkratkou s tečkou, další tečka se za větu již nepřidává. Používání symbolu pro vyjádření procenta má v českém jazyce pevná pravidla, stejně tak jako použití jednotky pro stupně celsia. Vyjma výše uvedeného se autor dopustil řady odborných nepřesností. Na straně 5 uvádí, že infekční jednotkou zástupců kmene Apicomplexa je zoit. Věta „Jedná se o unikátní „buňku, která se vyskytuje u invazivních stádií“ je zavádějící, a lze z ní pochopit, že invazní stadia apikomplex mohou být mnohobuněčné. Taktéž klíšťata nepřenášejí nemoci, ale pouze původce onemocnění (str. 7). Na straně 27 nesouhlasí teploty z obrázku 9 s textem v kapitole atd.

Abych nebyl příliš kritický, musím konstatovat, že vytyčené cíle práce jsou jasné a všechny byly bezesbýtku splněny. Kapitola Materiál a Metodika je psána logicky a dostatečně podrobně tak, aby bylo možné experimenty zopakovat. Osobně bych přivítal spíše grafické znázornění designu experimentů. Bylo by to mnohem názornější a pro čtenáře přehlednější. Nicméně se nejedná o žádný prohřešek. Výsledky a diskuze jsou psány stručně a výstižně. Počet citací uvedených autorem práce je úctyhodný. Taktéž formální úprava citovaných prací je jednotná. Jen škoda, když už autor práce používá automatický citační manažer, nepohlídá si kurzivu u taxonomických názvů druhů a rodů.

Závěrem bych chtěl velmi vyzdvihnout a ocenit náročnost experimentů, které musel Jiří Ťápal provést, aby dosáhl stanovených cílů.

**Přes některé výtky uvedené shora, považuji předloženou práci za komplexní, kvalitní a vřele ji doporučuji k obhajobě.**

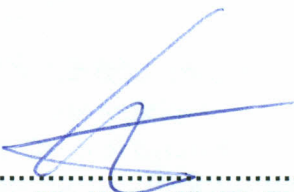
**Navrhuji práci klasifikovat známkou výborně.**

## Otázky a doporučení

- Pro případnou publikaci bych doporučoval zařadit statistickou analýzu. Dle mého názoru nejsou rozdíly uvedené v obrázku 15A statisticky významně odlišné a nelze tedy tvrdit, že teplota 30 °C měla největší vliv na vývoj infekce v klíštěti.
- Na straně 15 autor píše: „Pro správnou diagnostiku babesii je potřeba znát anamnézu pacienta .... Podle obeznámení všech těchto informací se zvolí vhodná detekční metoda.“ Z následujícího textu však není jasné, v jakých případech se volí ta která popisovaná metoda. Mohl by autor použití různých metod doplnit?

- Proč jsou mláďata zvířat do 1 roku více rezistentní než dospělí jedinci? Co to vlastně znamená být více rezistentní? Jaký je rozdíl mezi rezistencí, menší a větší rezistencí?
- Na straně 12 je popisováno 170 případů infekcí přenesených prostřednictvím transfuze krve. Kde byly tyto případy detekovány?
- Je babesióza opravdu Emerging infectious disease? Necelých šest set detekovaných případů na celém světě tomu příliš nenasvědčuje. Není nárůst počtu hlášených infekcí v posledních letech způsobeno spíše využíváním nových diagnostických metod a vyšší sledovaností těchto parazitů než vzrůstajícími riziky infekcí?
- Na straně 21 je popsáno, že před počátkem každého experimentu byla část snůšky larev molekulárně otestována na přítomnost babesií. Kolik larev bylo testováno. Je možné, že ne všechny larvy ze snůšky jsou pozitivní? Pokud ano, může tak dojít k falešně pozitivním výsledkům? Byly někdy testovány všechny larvy ze snůšky?
- Na tomto místě si neodpustím jednu otázku. Je termín snůška vajíček terminologicky správně.

V Českých Budějovicích 19.05.2016



---

**Doc. Ing. Martin Kváč, Ph.D.**  
Biologická centrum AV ČR, v.v.i.  
Parazitologický ústav  
České Budějovice

## Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Jiřího Āápala

### Optimalizace přenosového modelu *Babesia microti*

Předložená diplomová práce se zabývá jednobuněčným parazitem *Babesia microti*, studiem průběhu jeho experimentální infekce u laboratorních BALB/c myši, jeho detekcí, a možnostech jeho experimentálního přenosu z infikovaných myši na klíšťata *Ixodes ricinus*.

Předložený text je zřetelně výsledkem velkého množství odvedené práce. Diplomová práce je členěna standardním způsobem, je psána srozumitelně a přehledně, a po formální stránce jí není co vytknout. Obsahuje pouze malé množství jazykových chyb či překlepů. Úvod se na 19 stranách zabývá charakteristikou babesii, jejich patogenitou, diagnostikou a interakcí s klíšťaty; jeho závěrečná část je věnována studovanému modelu, *B. microti*. Pět cílů práce je formulováno velice stručně, ale jasně a výstižně. Kapitoly Materiál a metodika a Výsledky jsou zpracovány pečlivě, a vhodně doplněny obrazovou dokumentací; ta je velmi zdařilá, pouze fotografie na obr. 10B, C, a D mohly být lepší (ostřejší). Šestistránková diskuse je dobře strukturovaná a opírá se o vlastní výsledky. Závěr srozumitelně shrnuje dosažené výsledky a naplnění cílů. Práce s odbornou literaturou je dobře zvládnutá, a seznam použité literatury čítá rovných 170 publikací. Za vysoce hodnotné považuji zejména závěry týkající se stanovení citlivosti nested PCR pro *B. microti*, a přenosu *B. microti* do hostitele pouze při plném nasátí klíšťat, které mají potenciál využití v humánní medicíně, a doufám, že je autor a jeho školitelé plánují opublikovat.

K práci mám následující drobné připomínky:

- názvy čeledí (např. Babesiidae) se nepišou kurzívou, stejně tak názvy skupin (např. Piroplasmida).
- skupina Apicomplexa se píše s „c“, nikoliv s „k“.
- latinské názvy rodů i druhů se píšou kurzívou i v seznamu citované literatury (kap. 7).
- „...bez typických hořčnatých periodicit“ – patrně bylo myšleno „horečnatých periodicit“ (str. 11).

Znamená tabulka č. I na str. 10, že u jmenovaných druhů klíšťat byl prokázán přímo přenos na konkrétní hostitele, nebo byla prokázána pouze přítomnost vývojových stádií babesii v daném druhu klíštěte? Pokud se jedná o první případ, bylo by vhodné tabulku doplnit i o seznam hostitelských organismů.

V diplomové práci mne trochu dráždilo používání některých až hovorových výrazů, které dle mého názoru zbytečně snižují kvalitu jinak výborné předložené práce. Jednalo se například o: kmen Peabody užívaný naší laborkou (str. 18); pomocí fotek pořízených kamerou (str. 23); ...se exprimuje spousta antimikrobiálních proteinů (str. 9), existuje spousta článků (str. 41); je známo jen pár proteinů (str. 9); u případů, které má na svědomí *B. divergens* (str. 12)...

Jelikož se jedná o práci v tomto případě zaměřenou nejen čistě biologicky, ale i s jasným medicínským významem, mám výhrady k používání některých odborných termínů či medicínských výrazů, na něž by bylo vhodné dát si do budoucna pozor.

Zejména se jedná o následující slovní spojení:

- ve fázi poklesu růstové křivky byl zaznamenán vyšší výskyt bílých krvinek (str. 31), všimli jsme si vyššího výskytu bílých krvinek (str. 38). → používá se termín „zvýšení počtu“ nebo ještě lépe „elevace“ bílých krvinek/leukocytů.

- prozatím nebyla nalezena žádná vakcína (str. 12), nalezení účinné vakcíny (str. 19). → používá se termín „vyvinuta“ vakcína, „vývoj“ vakcín.
- parazitémie se držela stále na nízké úrovni (str. 36) → používá se termín na nízké „hladině“.
- přenos skrze krevní transfuzi (str. 17) → přenos „krevní transfuzí“.
- ke smrti pacienta na selhání důležitých orgánů (str. 11) → ke smrti pacienta „z důvodu“ selhání „životně“ důležitých orgánů.
- tarzální článek předních nohou (str. 7) → tarzální článek předních „končetin“.
- medicínská či veterinární onemocnění (str. 1) → „medicínsky či veterinárně významná onemocnění“.
- onemocnění se projevuje akutním selháním rektu (str. 13) – zde prosím o vysvětlení, co tím bylo míněno.

K práci mám následující dotazy:

1. Jaký je základní rozdíl mezi přímým a nepřímým průkazem infekčních agens?
2. Některé babesie, např. *Babesia rodhaini*, nebo právě *Babesia microti*, se dříve nazývaly *Nuttallia*. Kdy došlo k používání pouze rodu *Babesia* a proč?
3. Proč byly BALB/c myši infikovány babesiemi právě intraperitoneálně? Z jakého důvodu byla provedena intraperitoneálně i anestezie (zde patrně myšleno euthanazie) myši? Nebyla by vhodnější intramuskulární aplikace anestetik/i.m. euthanazie? Opravdu bylo do jediné myši aplikováno intraperitoneálně celkem 20ml směsi anestetik? Jakým způsobem byla myš vykrvena (punkcí oční pleteně, srdce, nebo ještě jiným způsobem)? Byla myšim aplikována anestezie i před i.p. injekcí rozmražené krve s babesiemi?
4. V diskusi na str. 38 je uvedeno, že „jste si všimli vyššího výskytu bílých krvinek“. O které typy leukocytů se konkrétně jednalo? (Ize z krevních nátěrů snadno zjistit). Dále je zde uvedeno, že v latentní fázi se „bílé krvinky již objevují minimálně“. Znamenalo to, že v dané fázi byla myš prakticky bez leukocytů?
5. Zajímalo by mě, zda jsou vůbec známy nějaké klinické příznaky babesiosy u hlodavců?
6. U skotu se úspěšně využívá vakcína proti *B. bovis* a *B. bigemina*, úspěšně byla rovněž testována i vakcína proti *B. divergens*. U psů a lidí tomu tak zatím není. Co je příčinou? Pokud je skot vakcinován v optimálním stáří (tj. ve stáří 3-9 měsíců), je nutná jeho pozdější revakcinace, případně v jakých intervalech?

Předloženou diplomovou práci považuji za velice kvalitní a jednoznačně ji **doporučuji** k obhajobě.

V Českých Budějovicích, 20. května 2016

*Kvičarová*  
MVDr. Jana Kvičarová, Ph.D.