

Posudek na diplomovou práci: "Genotypizace izolátů *Giardia intestinalis*" autorky Elišky Šrámové

Bakalářská práce se zabývá detekcí *Giardia intestinalis* koncentrační metodou ve vzorcích stolice, amplifikací genu TPI u pozitivních vzorků a jejich genotypizací.

Podstatná část úvodu je věnována charakteristice studovaného parazita. Tato část je napsána velmi dobře, přehledně čtenáře seznámí s objektem zájmu. Oproti tomu vlastní téma práce - genotypizace giardií - je zmíněno jen velmi stručně. Prakticky nic se čtenář nedozví o genu pro TPI, který je v práci používán jako molekulární marker pro genotypizaci. V úvodu mohly být zmíněny jeho výhody pro genotypizaci, jak se sekvence těchto genů liší u jednotlivých genotypů atd.

V metodice jsou velmi podrobně na čtyřech stranách popsány metody izolace DNA, PCR a gelové extrakce. Půl věty věnované metodě zjištění genotypů získaných sekvencí působí přinejmenším nevyváženě. Byly sekvence pouze blastovány s genovou databází nebo byly sekvence alignovány se sekvencemi určenými k jednotlivým genotypům?

V popisu extrakce z gelu chybí, zda byl použit pro tuto metodu komerční kit. Bez tohoto údaje jsou uvedené zkratky pufrů (QG, PE, EB) pro čtenáře nesrozumitelné.

Jakým způsobem byly získány cysty giardií pro infekční pokus? V metodice úplně chybí tato informace.

Ve výsledcích se dočteme, že vzorky ze sedmi pozitivních studentů, kteří pobývali na Papui Nové Guineji, byly analyzovány jako směsný vzorek. Proč byly tyto vzorky smíchány? Tím se podstata genotypizace úplně vytrácí!

Východní Asie je velká geografická oblast - při průkazu dvou genotypů ve vzorcích šesti cestovatelů by bylo zajímavé vědět přesnější polohu pobytu turistů. Máte k dispozici tyto údaje?

Ve výsledcích se dále dočteme, že byla provedena diagnostická metoda PCR na pozitivních vzorcích. Je tedy trochu zbytečné vzorky, které byly určeny mikroskopicky jako pozitivní, znovu testovat pomocí PCR. Výsledek tohoto testu musí být 100% pozitivní. Zjištěný jeden negativní vzorek je zákonitě metodickou chybou a ne skutečným průkazem negativního vzorku, jak vyplývá z textu. Čím si vysvětlujete negativní výsledek PCR při použití DNA izolované z trofozoitů z pískomila? Opakovali jste PCR za jiných podmínek?

Diskuze je nejslabším článkem bakalářské práce. Druhý odstavec polemizující o možnostech nákazy studentů giardiemi během pobytu na Paupui je sice zajímavý, ale do práce o genotypizaci vůbec nepatří. Věty jsou příliš dlouhé a "šroubované". V posledním odstavci je pokus o diskuzi problematiky genotypizace. Výsledkem je ale pouhý výčet literárních údajů bez jakéhokoli srovnání s výsledky vlastní práce. Zejména v diskuzi jsou citace nejednotného formátu, zhruba v polovině případů mají čárku před letopočtem a v polovině nemají.

Předloženou bakalářskou práci hodnotím známkou 3 (dobře).


Ivan Fiala

V Českých Budějovicích, 26. 5. 2009