

Oponentský posudek na bakalářskou práci Anny Mynářové „Vliv blízkého kontaktu člověka s lidoopy na mikrosporidiové a kryptosporidiové infekce“

Při převzetí výtisku bakalářské práce jsem se okamžitě trochu zhrozil nad její tloušťkou, což pro oponenta znamená mnohem víc práce při čtení a posuzování kvality. Vzápětí jsem se uklidnil, protože při letmém pročtení úvodu jsem zjistil, že rozsáhlý úvod je psán skvělou češtinou s dobrou formulační schopností, kde věty na sebe plyně navazují a překlepy a gramatické chyby jsem snad ani nenašel. Propracovaný úvod odráží počet citací, který odhadem čítá 270 prací, což je na bakalářskou práci neuvěřitelné číslo a popravdě se mi opravdu nechtělo uvěřit, že autorka všechny práce alespoň viděla. K úvodu bych snad měl jen drobnou výtku a to tu, že jsem postrádal autory popisu jednotlivých mikrosporidií na str. 10 a 11, které jsou zde podrobně charakterizovány.

Nadšení z literárně dobře odvedeného úvodu se pravděpodobně přeneslo i do oddílu Materiál a metodika, což ale je trochu na škodu. Několikrát jsem se v první kapitole metodiky musel přesvědčit, že opravdu nečtu úvod ale metodiku, protože např. celá strana 26 (až na krátký odstavec) by mohla být jednoduše vkopírována do úvodu, kde by jí to slušelo mnohem víc. Týká se to ovšem podstatné části celé první kapitoly na stranách 25 až 29(!). Nicméně ještě jednu výtku bych měl k první kapitole: je zde text trochu nešťastně formulován tak, že z něj může vyplývat, že autorka práce se podílela na velmi náročném několikaletém sběru vzorků a že vzorky byly sbírány primárně pro účel studia mikrosporidií a kryptosporidií u lidoopů. Jinak řečeno, měla zde být informace, kdo konkrétně vzorky poskytl a v rámci jakého projektu. Toto by určitě kvalitu bakalářské práce nesnížilo, ba naopak by bylo zřejmé, že je součástí většího projektu a spolupráce více laboratoří.

V práci byly analyzovány dva markery - SSU rDNA a ITS. Používání názvu prvního markeru - genu pro RNA malé ribosomální podjednotky je prakticky ve všech případech rozdílné a vždy nepřesné. Běžně hovorově používaná fráze, že „PCR byla provedena na malé ribosomální podjednotce“ by se v textu diplomové práce objevit neměla, jako je tomu na straně 30. Navíc poprvé uvedená zkratka SSU rRNA na straně 30 se v následném textu moc neujala, název genu je znovu psán buď celý anebo je použita jiná zkratka jako 18S rRNA – např. na str. 34 a 37 nebo je zavedena další zkratka „SSU“ na straně 38. Rovněž i název „ITS malé ribosomální podjednotky“ není správný.

Poznámka k použitým metodám fylogenetické analýzy. Dovedu si představit obrovské úsilí a spoustu práce se zpracováním velkého počtu vzorků a získání poměrně velkého počtu sekvencí. Fylogenetická analýza by měla být třešničkou na dortu celého úsilí a kvalitně vyhodnotit dosažené výsledky. Je tedy škoda, že nebyla zvolena více sofistikovanější metoda rekonstrukce fylogeneze (respektive metody), než je Neighbor-Joining, která se dnes již prakticky nepoužívá.

Byly primery uvedené v metodice navrženy autorkou anebo jsou převzaty z literatury (str. 31)? Jestli je správně zadruhé, tak zde chybí odkazy na literaturu.

Výsledky jsou zpracovány pečlivě a co do objemu analyzovaných dat určitě dostačující pro bakalářskou práci. Všechny výsledky PCR analýzy jsou v přehledných tabulkách a fylogenetické analýzy ve stromech, které ovšem mohly být určitě lépe graficky znázorněny.

K tomuto oddílu mám několik následujících dotazů a připomínek:

V textu je uvedeno, že mikrosporidie *Encephalitozoon* spp. byly detekovány u 16 goril – v tabulce je uvedeno u 15 goril.

Na straně 35 popisujete statistické analýzy výskytu parazitů u habituovaných a nehabituovaných lidoopů. Proč se v testu zohledňuje opakované vzorkování u habituovaných a polohabituovaných? A proč se vlastně opakovaně vzorkovalo u těchto skupin a ne u nehabituovaných? V metodice jsem tuto informaci nenašel.

Proč nebyl ukázán na obrázku výsledný strom z fylogenetické analýzy mikrosporidií rodu *Encephalitozoon*?

Moc nerozumím fylogenetickému stromu na obrázku 9. V textu je psáno, že bylo osm jedinců PCR pozitivních na přítomnost *E. bieneusi*. Ve stromě je ale označeno více než 30 sekvencí nových v této studii. Proč se v textu věnuje pozornost hlavně genotypům Gorilla 1, 2 a 3 a ne dalším např. Gorilla 4, 5, 6?

Vaše studie prokázala pouze v jediném případě nákazu mikrosporidií u člověka (z celkového počtu zhruba 50 odebraných vzorků). Je tedy otázka od koho se vlastně habituování lidoopi nakazili, když lidé nemají vysokou prevalenci mikrosporidií (?).

U kryptosporidií se používá k fylogenetickým analýzám SSU rDNA a u mikrosporidií ITS. Proč u každého taxonu jiný genetický marker? V práci jsem toto vysvětlení postrádal.

Výsledky jsou stručně a jasně shrnuty ve čtyřech bodech v kapitole Závěr. Nejsm si jistý, jestli není přehnané tvrzení, že habituování lidoopi jsou infikovány kryptosporidiiemi častěji a to na základě jediného pozitivního nálezu z 201 testovaných vzorků gorilího trusu.

Přes uvedené připomínky nemám nejmenších pochyb, že je práce kvalitní. Zatím navrhuji známku velmi dobře (2), ovšem při výborném výkonu při prezentaci a odpovědích na otázky velmi rád hodnocení změním.

V Českých Budějovicích 25. května 2012


Ivan Fiala