

## Posudek na diplomovou práci: „Mikrosporidiové infekce lidí“ autorky Markéty Pelikánové

Předložená diplomová práce se zabývá výskytem mikrosporidií ve vzorcích lidské stolice. Mikrosporidie byly diagnostikovány pomocí světelného mikroskopu z nátěrů stolice a pomocí PCR. Práce je zaměřena na průkaz druhu *Enterocytozoon bieneusi* a druhů rodu *Encephalitozoon*. Je sledován jejich výskyt v závislosti na věku, pohlaví a konzistenci stolice. Zajímavé je porovnání klasické mikroskopické metody s metodou molekulární biologie. V bakalářské práci je zpracováno poměrně velké množství vzorků. Část z nich byla také podrobena sekvenční analýze ITS s pokusem o jejich fylogenetickou analýzu. Práce je psána dobrou a srozumitelnou češtinou.

Níže uvedený text se zabývá nedostatky, které se v práci vyskytly.

Poslední věta anglické **anotace** postrádá sloveso.

**Úvod** bakalářské práce je napsán velmi dobře zejména část o mikrosporidiových infekcích člověka. Je škoda, že autorka zvolila nevhodné názvy prvních dvou kapitol. První oddíl “Taxonomie” se nezabývá úplně taxonomií a druhý oddíl “Fylogeneze” podle mne také neodpovídá úplně obsahem. Konkrétně, v první kapitole se čtenář dozví, co jsou to mikrosporidie, následují informace o historii poznávání mikrosporidií, co mikrosporidie způsobují a nakonec až poslední věta se lehce dotkne taxonomie tím, že informuje o počtu popsáných druhů a rodů. Ve druhé kapitole “Fylogeneze” je popsána historie fylogenetických studií, které vedly k současnému fylogenetickému zařazení mikrosporidií. Poslední odstavec je stručný přehled taxonomie a měl být zařazen do předchozí kapitoly. Postrádám tu alespoň stručný současný pohled na fylogenezi v rámci mikrosporidií. V druhé kapitole také chybí dva odkazy na literaturu - a to za první větou prvního i druhého odstavce. Tedy např. informace “Podle posledních poznatků jsou mikrosporidie řazeny k houbám, přičemž se vyvinuly z hub po divergenci kmene Chytridiomycetes.” nemůže být ponechána bez odkazu na patřičný zdroj.

Vědecký název *Microspora* a *Microsporidia* se píše s “c” a ne s “k” jak milně autorka píše. Na straně 7 druhý odstavec začíná tvrzením, že “Vnitrodruhová genotypová variabilita *E. hellem* je založena na sekvenci ITS rRNA genů, dvou intergenických spacerů a v genu pro PTP”. Genotypová variabilita není založena na těchto genech (mimořádně ITS není gen), ale tyto markery slouží pro její detekci.

**Metodika.** Fylogenetický strom byl konstruován pomocí metody NJ v programu Paup\*. Zajímalo by mě jakým způsobem nastavila autorka práce v Paupu 10 replikací s náhodným pořadím sekvencí a také jak zadala výpočet bootstrapů. Osobně NJ nepoužívám a nejsem si jistý, jestli lze NJ strom v Paupu takto vypočítat. Navíc pro tento typ dat, kde se vyskytují ve stromě krátké větve, není vhodné použít bootstrapování za použití NJ. Proč byla použita beta verze Paupu číslo osm, když je dlouhou dobu k dispozici verze deset.

**Výsledky.** U popisu stromu na str. 20 je uvedeno, že strom byl konstruovaný na základě ITS sekvencí SSU rRNA genu. ITS nepatří k SSU rRNA genu, označení “ITS sekvence SSU rRNA genu” není přesné.

Není mi úplně jasný význam svorek u stromu. Např. označení lidé + zvířata je zvláštní. Některé svorky označují taxony, které netvoří skupinu. Jak to, že nově identifikovaný genotyp BEB4 je ve skupině označené skot, když byl identifikovaný nyní u člověka? Stejně tak i 4 nalezené genotypy ve skupině skot + prasata.

Jedním z hlavních výsledků je to, že celková prevalence mikrosporidií byla 44,8%. Podle mne je tento údaj chybný, protože byl vypočten bez ohledu na vzorky se smíšenými infekcemi. Jaká je skutečná prevalence mikrosporidií? Touto chybou jsou pravděpodobně ovlivněny všechny výsledky v tabulkách 8 a 9. Podle mého názoru by bylo vhodnější vyjádřit zvláště prevalenci pro *E. bienersi* a pro *Encephalitozoon* spp.

V práci jsem očekával výpočet prevalence výskytu mikrosporidií u cizinců žijících v České republice a českých občanech a porovnání těchto dvou výsledků. Byl by to také určitě zajímavý údaj.

**Diskuze.** V diskuzi jsou porovnávány získané výsledky s údaji z Kamerunu a Etiopie. Je hodnocena geografická poloha, sociální a ekonomická úroveň země na výskyt mikrosporidií. V bakalářské práci bylo ovšem zahrnuto velmi významné procento cizinců, proto toto srovnání není relevantní. Čtvrtý a pátý odstavec diskuze (str. 23) si odporují. Jeden říká, že geografická poloha, sociální a ekonomická úroveň země nemají vliv na výskyt mikrosporidií a následující odstavec sděluje pravý opak.

Bakalářská práce předkládá zajímavá data o prevalenci sledovaných mikrosporidií u lidí žijících v ČR. Její zpracování je dobré a hodnotím je na základě předložené tištěné verze známkou 2 (velmi dobře).



Ivan Fiala

V Českých Budějovicích

24. května 2009