

Prof. RNDr. Václav Hypša, CSc.
vedoucí Katedry parazitologie
Přírodovědecká fakulta JU
České Budějovice

Věc: Oponentský posudek na diplomovou práci Lenky Moravcové „Vnímavost různých kmenů myši domácí střeoevropské (*Mus musculus musculus*) a myši domácí západoevropské (*Mus musculus domesticus*) k infekci *Cryptosporidium* mouse genotype I“

Předložená diplomová práce Lenky Moravcové byla vypracována pod vedením RNDr. Bohumila Saka, Ph.D. a má klasické členění požadované pro diplomové práce vzniklé na PřF JU v Českých Budějovicích. Po úvodu v rozsahu 9 stran, který je spíše literárním přehledem, následují části Materiál a metodika (8 stran) část Výsledky (12 stran) a Diskuze (4 stran). Přehled literatury je uveden na 10 stranách.

Problematika řešená v rámci diplomové práce je velmi aktuální a klade si za cíl pomoci experimentálních přenosů popsat vnímavost a průběh infekce *Cryptosporidium* mouse genotype I u různých kmenů myši domácí střeoevropské (*Mus musculus musculus*) a myši domácí západoevropské (*Mus musculus domesticus*). Po pečlivém přečtení uvítám odpovědi/komentáře autorky diplomové práce na níže uvedené dotazy/komentáře:

Dotazy/komentáře směřované k autorce:

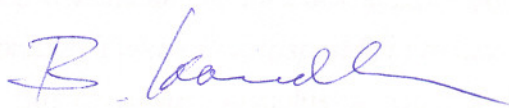
- na straně 2 jsou kryptosporidie zahrnuty do kmene Apikomplexa; jedná o jiný kmen než Apikomplexa?
- na straně 5 se hovoří o malých hlodavcích; které hlodavce považujete za velké?
- domnívám se, že „kritické zpracování literární rešerše o tématu“ není možno uvádět jako cíl diplomové práce
- uvedení detailního popisu zavedených metodik považuji za zbytečné; dostačují by byl odkaz na publikace
- kdo prováděl vyšetření 352 myší odchycených v terénu?
- infekce kmene myši PLOSSEN (*M. musculus domesticus*) nebyla úspěšná; jaké máte vysvětlení pro tento výsledek?
- jak bylo ověřováno/zajištěno, zda experimentálně infikované myši již před inokulací nepřišly do kontaktu s kryptosporidii
- diskuze je z velké části zaměřena na imunologii infekcí kryptosporidii; v kontextu s předchozí otázkou je celá část diskuze o imunologii kryptosporidiových infekcí problematická

V poděkování je uveden projekt Studentské grantové agentury PŘF JU SGA2010/005. Pohled do dostupných materiálů SGA PŘF JU však ukazuje, že pod uvedeným číslem byl řešen jiný projekt a byl zaměřen na problematiku mikrosporidií (Kotková - Průběh latentní mikrosporidiozy způsobené *Encephalitozoon ...*). Prosím o vysvětlení této situace.

Naproti tomu postrádám v projektu objasnění, jak se Lenka Moravcová dostala k testovaným izolátům kryptosporidií a k nepříliš dostupným experimentálním myším. Jinak řečeno, postrádám v poděkování zmínku o společném projektu/spolupráci s Ústavem pro biologie obratlovců AV ČR v.v.i.

Podle Studijního a zkušební řádu PŘF JU je diplomová práce publikovatelným vědeckým sdělením. V případě předložené diplomové práce jsou podle mého názoru získané výsledky pouze prvním krokem k hlubší analýze a v uvedené podobě nebudou lehce publikovatelné. Přesto považuji předloženou diplomovou práci za doklad schopnosti studentky zpracovat zadané téma (za významného využití zkušeností a podpory školitele) a získat zajímavé výsledky. Doporučuji proto diplomovou práci k obhajobě a hodnotím jí klasifikačním stupněm 3 (E).

V Brně dne 20. května 2011



Prof. MVDr. Břetislav Koudela, CSc.
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
Palackého 1-3
612 42 Brno
e-mail: koudelab@vfu.cz
telefon: 541 562 262
fax: 541 562 266
mobil: 724 272 922

**Oponentský posudek k diplomové práci Bc. Lenky Moravcové
„Vnímavost různých kmenů myši domácí střeoevropské (*Mus musculus musculus*) a myši
domácí západoevropské (*Mus musculus dooesticus*) k infekci *Cryptosporidium mouse*
genotype I“**

V předložené práci se autorka věnuje zejména infekčním pokusům na rozsáhlém souboru myších kmenů, jejich vyhodnocení a interpretaci. V literárním úvodu k práci představuje studované parazity – prvoky rodu *Cryptosporidium*. Literární rešerši je málo co vytknout. Je psána jasně a srozumitelně, obsahuje jen několik nepodstatných překlepů (např. „exystace“ místo „excystace“, str. 3, „parazitoformní“ místo „parazitoformí“, tamtéž, „baleyí“ místo „baileyí“, str. 4) a chybek v interpunkci (např. zapomenutá čárka mezi „morfologie oocyst“ a „lokalizace“, str. 2). Snad bych si jen dovolil upřesnit, že nepřítomnost apikoplastu sama o sobě nepodporuje bazální pozici kryptosporidií v rámci apikomplex, jak se uvádí na str. 2. Jde totiž, pokud se nepletu, o odvozený znak, je nicméně pravda, že je sdílen kryptosporidii a gregarinami. Tvzení o tom, že „*C. mouse* genotype I je nejbližší *C. parvum* podtypu IIFA6, a to z 97,2 %“, vyznívá poněkud zvláštně – autorka by měla uvést, čeho se uvedená procenta týkají. Hovězí dobytek se nepěstuje, ale chová (str. 1). Nepovažuji za vhodné používat v souvislosti s *C. mouse* genotype I a *C. mouse* genotype II označení „druh“ (str. 6). Nepochybuji o tom, že by bylo možné je jako samostatné druhy popsat, to však dosud nikdo neučinil. Opakuji, že uvedené připomínky považuji za nepřilíš podstatné a že literární přehled má spíše nadprůměrnou kvalitu.

Jsem však nucen poněkud hůře hodnotit kapitolu „Výsledky“. První výtka směřuje k formální úpravě – výsledky jsou uvedeny málo přehlednou formou. Přinejmenším by prospělo v tabulkách 4 a 5 vyznačit poddruhovou příslušnost myších kmenů, stálo by za to uvést přehledně porovnání infekčnosti obou izolátů kryptosporidií pro jednotlivé kmeny myši i pro oba poddruhy bez ohledu na kmeny. K tomu by se výborně hodily např. kumulativní hodnoty plochy pod křivkou vyjadřující průběh infekce u sledovaných myší. Sem právě směřuje má druhá, závažnější výtka: přestože autorka tuto metodu zmiňuje v kapitole „Materiál a metody“ (str. 19), v práci jsem žádné výsledky této statické analýzy nenašel. Stejně tak chybí explicitní uvedení výsledků neparametrického U-testu, jímž měla autorka porovnat rozdíly v průběhu infekce, jak uvádí v téže kapitole. Přitom např. mezipohlavní rozdíly ve vnímavosti k infekci ve výsledcích pravidelně komentuje – např. „je jasně patrné, že samci tohoto kmene jsou vnímavější k infekci ...“ (str. 25, graf 1) nebo „byla nepatrně vyšší intenzita infekce u samců“ (str. 27, graf 4). S těmito výroky mimochodem nesouhlasím – v prvním případě podle mě nic není jasně patrné, v druhém byla intenzita u samců zřetelně vyšší. Není ale podstatné, zda a komu případnou rozdíly jasné a patrné, důležité je, zda jsou statisticky průkazné – a na jaké hladině významnosti byla případně zamítna nulová hypotéza. Mám všechny výroky uvedené v práci, podobné těm dvěma citovaným, považovat za vyjádření statisticky významného výsledku? (To není řečnická otázka, rád bych na ní znal odpověď.)

Nejsem si jist, co přesně má vyjadřovat věta „V jediném případě, a to u myší kmene SIN (M.m. d.), byla vyšší intenzita infekce pozorována u izolátu HZ206 („muskuloidní“ izolát)“. Totéž přeci platí i pro další kmeny M. m. d., konkrétně SCHUNT, PWD a STRA – u nich izolát HZ117 vůbec nevyvolal infekci detekovatelnou mikroskopicky. S tím souvisí otázka, na základě čeho autorka vyvozuje závěr, že „byla prokázána hostitelská adaptace použitých izolátů [...] na odpovídající poddruhy myši domácí“ (str. 37)?

Předloženou práci **doporučuji k obhajobě**, navrhuji hodnotit ji známkou „**velmi dobře**“.

K práci mám několik dotazů:

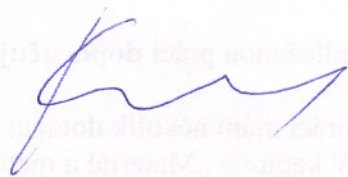
1. V kapitole „Materiál a metodika“ mne zaujala poznámka o tom, že přečištěné oocysty se mají uchovávat ve tmě a chladu. Má na ně světlo výrazně negativní vliv? Je známo něco bližšího o

hynutí oocyst na světle?

2. Na str. 11 se píše, že z „352 vyšetřených zvířat byly získány dva odlišné izoláty ...“. Znamená to, že byla pouze dvě vyšetřovaná zvířata nakažená kryptosporidii, nebo byla prevalence kryptosporidií u myší vyšší? Jaká?

3. Připomínám již uvedenou otázku: mám považovat všechny výroky uvedené v práci, které se vztahují k mezipohlavnímu nebo „mezikmenovému“ porovnání vnímavosti k oběma izolátům, za vyjádření statisticky významného výsledku?

4. Na základě jakého kritéria porovnávala autorka vnímavost myší k oběma izolátům? Tak jak se o ní mluví např. v posledním odstavci na str. 36. Neboli: jaký údaj podepírá např. tvrzení, že kmeny STRB a STUF jsou vnímavější k izolátu HZ206? Podobně ... opět připomínám již položenou otázku ... na základě čeho autorka vyvozuje závěr, že „byla prokázána hostitelská adaptace použitých izolátů [...] na odpovídající poddruhy myši domácí“ (str. 37)?



18.5.2011 v Českých Budějovicích

Mgr. Martin Kostka, Ph.D.