

## Oponentský posudek pro diplomovou práci Bc. Terezy Říhové " Střevní paraziti ze středověké lokality v Praze"

Předložená diplomová práce je zaměřena na výskyt parazitických organismů ve vzorcích získaných z lokality středověkého smetiště lokalizovaného na Alšově nábřeží v Praze.

Úvod práce je členěn do kapitol popisujících jednotlivá agens detekovaná v archeologických nalezištích ve světě i v Evropě. Autorka v úvodní části využívá starší, ale i novější literární zdroje. Čtenář je zde rovněž stručně seznámen s běžně užívanými technikami paleoparazitologie.

Práce si klade za cíl vyšetřit různými metodami vzorky odebrané z vybrané lokality a získaná data porovnat s literárními údaji. Dalším cílem byla identifikace protozoární DNA vybraných parazitů pomocí PCR.

V části Použitý materiál a metody je v úvodu zpracován popis zkoumané lokality, odběr vzorků a jejich skladování. Text je doplněn tabulkou zpracovaných vzorků, mapou vybrané lokality a ilustračními fotografiemi z archeologického výzkumu dané lokality.

V metodické části jsou přesné pracovní postupy koprologických metod, izolace DNA, přípravy PCR reakce a elektroforézy.

V první části kapitoly Výsledky jsou v tabulce uvedeny jednotlivé nálezy parazitů. Tato část je doplněna kvalitní fotodokumentací.

Metodou PCR byly testovány pouze tři vzorky z celkového počtu 22 vzorků s negativním výsledkem.

V části Diskuse autorka nejprve diskutuje kvalitu zkoumaného materiálu vzhledem k nálezu pylových analýz a dále porovnává své poznatky s daty v literatuře. Vysvětluje poměrně chudé nálezy během svého výzkumu.

### Připomínky a dotazy:

V části **Úvod** je ve větě o výrazném rozvoji paleoparazitologie zásluhou zavedení molekulárních technik v posledním desetiletí uveden jako zdroj tohoto tvrzení také Ruffer 1910. Myslím, že tento údaj je přinejmenším matoucí.

Na konci druhého odstavce je mezi hlístice řazena i čeleď Taeniidae.

V části Úvod je v textu jen okrajově zmíněn paleoparazitologický výzkum na našem území. Tato problematika je nastíněna až v kapitole Diskuse.

U některých skupin helmintů je vývojový cyklus popsán poměrně podrobně, u čeledi Schistosomatidae se čtenář dozvídá o zavrtání furkocerkárie do kůže hostitele a pak pokračujete až kladením otrněných vajíček.

**Otázka 1.:** Můžete popsat celý vývojový cyklus schistosom?

V popisu rodu *Plasmodium* je uvedeno, že infekce *P. knowlesi* vykazuje podobné klinické příznaky s *P. vivax* a *P. falciparum*.

**Otázka 2.:** Dokážete přesně vysvětlit podobnosti a odlišnosti v průběhu infekce působené *P. knowlesi* od infekcí působených *P. falciparum* a *P. vivax*?

V části **Použitý materiál a metody** je uvedeno, že na vybrané lokalitě probíhal archeologický výzkum v letech 1998-2000 a vzorky byly před samotným zpracováním uloženy v chladicí místnosti.

**Otázka 3.:** Kde byly odebrané vzorky uložené od odběru do doby před samotným zpracováním?

**Otázka 4.:** Byla pylová analýza, která je zmíněna v diskuzi, provedena v době vašeho výzkumu, nebo již dříve bezprostředně po jejich odběru? Byly nebo budou výsledky těchto analýz publikovány?

V této části nejsou uvedeny literární zdroje k použité PCR a primerům. Pozorný čtenář se o zdroji použitých primerů dozví až v polovině kapitoly Diskuze.

V části **Výsledky** v kapitole 4.3 v Tab. X Detekce protozoární DNA je uveden *Trichuris trichiura*, který mezi protozoa jistě nepatří.

Bylo vyšetřeno celkem 22 vzorků. Molekulární analýze byly podrobeny pouze tři mikroskopicky pozitivní vzorky. Vzhledem k unikátnosti archeologického materiálu považuji provedení PCR tří vzorků pro detekci pouze tří agens za nedostatečné. PCR je velice citlivá metoda a může zachytit i agens, která se mikroskopicky detekovat nepodaří.

Tato práce je i přes veškeré připomínky poměrně zdařilá a není zatížena množstvím pravopisných chyb a překlepů, které se žádné diplomové práci nevyhnou. Diplomantka zpracovala soubor vzorků z unikátní archeologické lokality několika metodami a získala jistě cenné výsledky, které doplní data paleoparazitologických výzkumů na našem území. Předloženou diplomovou práci doporučuji k obhajobě s hodnocením **velmi dobře**.

  
RNDr. Marie Fialová

V Českých Budějovicích 21. 5. 2016

## Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Terezy Říhové

### **Střevní paraziti ze středověké lokality v Praze**

Předložená diplomová práce čítající 52 stran se zabývá parazitologickou analýzou archeologického materiálu ze středověké lokality v oblasti současného Alšova nábřeží v Praze.

Práce je členěna standardním způsobem, je psána srozumitelně a přehledně. Úvod se na 19 stranách zabývá charakteristikou jednotlivých skupin a druhů parazitů, které lze nejčastěji nalézt při analýzách archeologického materiálu. Je trochu na škodu, že kapitoly zabývající se popisem samotných parazitů nebyly pojaty jednotným stylem - někde jsou uvedeny velikosti parazitů či jejich stádií, jinde ne, někde celý vývojový cyklus, jinde pouze jeho část, někde výskyt parazita, jinde ne... Ucelené uspořádání popisů by práci jistě prospělo. Naopak oceňuji zdařile zpracované pasáže o výskytu nálezů jednotlivých druhů parazitů v archeologickém materiálu ve světě, které přinášejí mnoho zajímavých informací a čtenáře doslova vtáhnou do atmosféry oné doby, stejně tak jako kapitola 1.3. popisující charakter zkoumané lokality. Čtyři cíle práce jsou formulovány velice stručně. Přestože se jedná o diplomovou práci, jedním z cílů je i vypracování literární rešerše na dané téma. To bych čekala spíše v práci bakalářské. Materiál a metodika jsou zpracovány dostatečně podrobně a srozumitelně. Výsledky na 6 stranách obsahují zejména mikrofotografie nalezených parazitů rodu *Trichuris*. Přijde mi velká škoda, když autorka měla pro paleoparazitologické analýzy k dispozici poměrně malé množství vzorků, že na protozoa vyšetřila pouze tři, a ne všech 22, jako to udělala u hlístic rodu *Trichuris*. Za velice zdařilou považuji kapitolu Diskuse, která na 5 stranách vhodně srovnává získané poznatky s dosud dostupnými informacemi a daty a diskutuje důvody nízkého zachytu parazitů v autorčině práci. Závěr srozumitelně shrnuje dosažené výsledky a naplnění cílů.

K práci mám následující připomínky:

- Střevní protista (kapitola 1.1.4.) nepatří mezi střevní helminty (tj. do nadřazené kapitoly 1.1.).
- V kapitole 7. Seznam literatury jsou citace uvedeny nejednotným stylem (někde celý název časopisu, jindy jeho zkratka, některé údaje kurzívou či v závorce, jindy bez nich).
- V celé práci chybí odkazy na obrázky (tj. obr. 1-19).
- Po první zmínce celého názvu druhu organismu v textu se tento již dále píše zkratkou (tj. např. *Fasciola hepatica*, dále pak už jen *F. hepatica* apod.).
- užívání některých termínů, např. „skořápka vajíčka“ u roupů (namísto obal vajíčka), nebo „zkumavka Ependorf“ (namísto mikroskopická zkumavka) není právě nejšťastnější.
- u Tabulek č. III a VI s názvem Průběh PCR chybějí časy u jednotlivých kroků PCR. Fáze PCR, při které dochází k prodlužování řetězce, se nazývá elongace, nikoliv prolongace.
- Tag polymeráza se píše Taq polymeráza (z organismu *Thermus aquaticus*).
- Z textu na straně 28 není zřejmé, zda byla pro průkaz *T. trichiura* použita nested PCR nebo pouze klasická PCR? Ačkoliv popis metodiky jednotlivých kroků je poměrně detailní, popis podstaty nested PCR zcela chybí.

Ráda bych na závěr autorce položila několik otázek:

1. Jakou hustotu měl použitý flotační roztok dle Kozáka a Mágrové? Myslíte, že by použití jiného flotačního roztoku (např. Sheatherova, Brezova, Faustova, Darlingova aj.) mohlo ovlivnit výsledky vyšetření, jakým způsobem a proč?
2. Existují záznamy o nálezech škrkavky *Toxascaris leonina* v archeologickém materiálu? (mám tím na mysli kdekoliv ve světě)
3. Neuvažovali jste vyzkoušet v poskytnutém materiálu i PCR detekci giardií? Z jakého důvodu ano/ne?
4. Existuje prokázaná pozitivní korelace mezi přítomností hlístic rodu *Trichuris* a přítomností mikrosporidií? Pokud jste měla celkově k dispozici tak málo vzorků k paleoparazitologické analýze, proč nebyly na přítomnost protozoárních agens otestovány všechny?
5. V úvodu jste často zmiňovala nálezy parazitů v odpadní jámě z období středověku a raného novověku v ulici Hradební v Chrudimi. Jak to bylo na této lokalitě s výskytem trichurů (myslím tím jejich prevalenci) a protozoí?

I přes výše uvedené výhrady práci **doporučuji** k obhajobě.

V Českých Budějovicích, 19. května 2016

*Kvičera!*  
MVDr. Jana Kvičerová, Ph.D.