

Oponentský posudek na bakalářskou práci Veroniky Tomančové

Diverzita kryptosporidií parazitujících u divokých kachen

V Laboratoři veterinární a lékařské protistologie vznikla již řada diplomových prací o kryptosporidiích. Jejich kvalita je většinou na vysoké úrovni a posuzovaná práce z tohoto standardu na první pohled nevybočuje (velký objem práce, krásné obrázky, původní výsledky), i když hned při prvním letmém čtení jsem získal vtíravý pocit, že se z tématu (dokonce i ze získaného materiálu) dalo vytěžit ještě o dost více. Podrobnější kritické studium práce však odhalilo skutečnosti, které bude třeba při obhajobě vysvětlit.

Slovosled v názvu naznačuje, že půjde o kryptosporidie různých druhů divokých kachen (wild ducks), práce se však zabývá kryptosporidii kachny divoké (mallard). Studentka vyšetřila 298 obsahů střev kachny divoké, v 8 vzorcích našla oocysty *Cryptosporidium baileyi* a ve 32 prokázala specifickou DNA kryptosporidií. Izolovanou DNA molekulárně analyzovala a přiřadila k dosud známým ptačím druhům a genotypům; našla 1 dosud nepopsaný genotyp. Dvěma kachními genotypům pak věnovala další pozornost. Pomocí experimentálních infekcí prokázala hostitelskou specifitu obou kachních genotypů (infekční pro domácí kachny, neinfekční pro myši a andulky).

Studentka vyfotografovala (aspoň zatím doufám, že ona) kryptosporidie v histologických řezech a popsala nepřítomnost patologických změn. Kapitola 5.3 je sice nazvaná morfologie oocyst, ale kromě informace o tom, že jsou oocysty sférické a morfometricky druhově neodlišitelné se dozvídáme pouze to, že oba kachní genotypy mají výrazné reziduální tělísko. Na obrázku 9, který kapitolu dokumentuje, to ve srovnání s měřítkem vypadá, že oocysty všech nalezených druhů jsou kolem 3 μm v průměru. To je v rozporu s literárními údaji zejména v případě *C. baileyi* a *C. avium*, jejichž oocysty jsou dvojnásobné. Ve snaze vysvětlit si tento rozpor jsem srovnal obr. 9 s obr. 1 originálního popisu *Cryptosporidium avium* (Holubová et al. 2016) a byl jsem nepříjemně překvapen! Veronika nejen překopírovala části původního obrázku (*C. baileyi* a *C. avium*) do svého obr. 9, ale navíc oba druhy zaměnila! Aby toho nebylo málo, místo měřítka 10 μm uvedla z neznámých příčin hodnotu poloviční. Ke zdánlivému rozporu ve velikostech oocyst se pak ale nevrátila ani v diskusi, což zas není úplně překvapivé, protože ve výsledcích nějaké standardní měření (změření relevantního počtu oocyst, výpočet průměru a SD) uvedeno není. **Možná v původních vzorcích nebylo dost materiálu, ale proč nebyly proměřeny oocysty kachních genotypů z experimentálních infekcí?**

Prosím o vysvětlení dalších rozporů, tentokrát v popisu průběhu experimentálních infekcí (obr. 10). V metodice je uvedeno, že každým z obou genotypů bylo infikováno 5 myší; z obrázku se zdá, že **byly vyšetřovány vždy jen 3 myši?**

Diskuse je zaměřena především na hostitelskou specifitu, průběh infekce a (ne) přítomnost patologických příznaků. Zaujalo mne možné vysvětlení skutečnosti, že u kachen divokých nebyly (na rozdíl od řady jiných autorů) nalezeny pasážované oocysty savčích kryptosporidií.

Studentka to vysvětlila „omezeným kontaktem vyšetřovaných kachen s kontaminovanou vodou, zvláště v případě, že většina divokých kachen byla odchována za účelem odstřelu.“ Pokud jsem podobné chovy viděl, šlo vždy o oplocené malé (a velmi znečištěné) rybníčky nebo kousky větších rybníků s velkým nahromaděním ptáků a s možností proniknutí savců (třeba hlodavců) příživujících se na krmení. V takových chovech je kontakt s kontaminovanou vodou jistě mnohonásobně významnější, než třeba u bernešek, u kterých pasážované oocysty našli citovaní autoři. Na jednu stranu oceňuji snahu najít vysvětlení, na druhou stranu bych se chtěl **zeptat, jestli studentka podobný chov kachen viděla a jak vypadal.**

V práci jsem našel řadu chyb a překlepů Graczyk je důsledně uváděn jako Crazscyk, Checkley nedůsledně jako Checklay, pěvci jako Pesseriformes, Thailand jako Thailand, občas je do textu nakopírováno anglické slovíčko: “Sekvence SSU, actin **and** HSP70 kryptosporidií získané z experimentálně infikovaných kachen”. Citovaná literatura je nejednotná: v některých citacích jsou zkratky křestních jmen odděleny čárkou, jinde ne. Občas se vyskytují neohrabané formulace:

“U kachen infikovaných *Cryptosporidium* duck genotyp I a *Cryptosporidium* duck genotyp II nebyly pozorovány žádné příznaky infekce, zejména netrpěly průjmem a nevykazovaly příznaky kryptosporidiózy.” (jak by se líbila věta: “V místnosti není žádné zvíře, zejména ne kocour ani savec.”?).

Tyto všechny chybičky bych s radostí odpustil, ale před závěrem se musím chtít nechtě vrátit k překopírovaným obrázkům. Dát do výsledků cizí obrázky bez uvedení zdroje je prohřeškem proti vědecké etice samo o sobě. Oponent, který by si nevšiml neobvyklé velikosti, by bez nejmenšího podezření považoval fotky za studentčiny originály a pochválil je. Pokud je zdrojem publikovaná fotka, je to ještě horší (copyright). No, a záměna druhů a nesprávné měřítko to jen dovršují...

Nutí mne to vznést požadavek, aby při obhajobě studentka výslovně uvedla, které části práce dělala sama, u kterých byla aspoň přítomna a co dostala od kolegů. Ostatní dotazy jsou v textu vyznačeny tučně.

Přes uvedené drobné chyby a jednu závažnou se domnívám, že předložená práce splňuje požadavky na bakalářské práce kladené studijním řádem. Doporučuji ji k obhajobě. Známkou navrhu až po vyslechnutí obhajoby a vyjasnění problémů.

V Českých Budějovicích 10.1. 2018

Doc. RNDr. Oleg Ditrich. CSc

