

Oponentský posudek na diplomovou práci

Autor práce: Bc. Zlata Limpouchová

Název práce: Kryptosporidie a kryptosporidíóza chovaných a zdivočelých nutrií

Na začátek je možné konstatovat, že předložená diplomová práce studentky Zlata Limpouchové odpovídá požadavkům kladeným Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích.

Práce je psána na 63 stranách a náležitě rozdělena do předepsaných částí. Úvodní kapitola je zaměřena na popis problematiky kryptosporidií zahrnující popis jejich životního cyklu, taxonomii a hostitelskou specifitu. Čtenáře dále přehledně seznamuje s problematikou kryptosporidií u hlodavců s důrazem na nutrie. Tato část práce je psána přehledně a čtivě, s ojedinělými překlepy či gramatickými chybami. Přesto, s ohledem na poměrně složitou problematiku v taxonomicko-fylogenetických analýzách kryptosporidií a využití různých genů, by bylo vhodné pro neznalého čtenáře zařadit stručnou kapitolu na toto téma. V následujících sekcích si tyto informace čtenář musí najít a poskládat dohromady sám.

Cíle práce jsou formulovány jasně a směřují k doplnění dat týkajících se kryptosporidií u nutrií a jejich diverzité na území České republiky.

Kapitola „materiál a metody“ je zpracována opět přehledně na úctyhodných 16 stranách zahrnujících široké spektrum použitých metod. Tady se ovšem již začínají překlepy objevovat častěji a některé formulace by zasloužily větší péči. Některé nedostatky jsou shrnuty níže. Ještě si jen dovoluji poznamenat, že tabulka 2 by mohla být předložena formou standardní tabulky, nikoli textu. Zároveň by u uváděných genů mohlo být zmíněno pro jaké účely byly v této práci využity. Pracovní postupy, které jsou uvedeny u všech použitých metod, a zpracované formou bodů, by měly být uvedeny malým písmenem za odrážkou a ponechané bez tečky na konci, popřípadě ukončeny středníkem.

Kapitola „výsledky“ je zpracována výstižně, jsou zařazeny pěkně graficky provedené fylogenetické stromy, obrázky a tabulky. Hned v úvodní části se čtenář již zčásti dozví, proč byly použity dané geny, ale v případě genu gp60 je jeho účel již naznačen. Zde bych si dovolila ještě jednu poznámku k formulaci, která se opakuje v různých obměnách napříč celou prací a to: „Všechny vzorky trusu pozitivní na přítomnost oocyst kryptosporidií byly současně pozitivní i na přítomnost specifické DNA.“ Myslím, že druhá polovina věty by mohla být výstižněji formulována. Dále studentka píše, že „...ze všech vzorků byly získány sekvence genů SSU, aktin, HSP70 a gp60.“ Formulace by opět mohla být zdařilejší, ale zároveň zkratka SSU není použita zcela správně. (podobně je tomu i v posledním odstavci diskuse). Tady si dovoluji první dotaz – mohla by studentka vysvětlit správné označení tohoto genu? Navíc používání označení tohoto genu se v průběhu práce liší, například v popisu obrázku 2.

Diskuse je psána na čtyřech stranách, kde studentka porovnává zjištěné výsledky s údaji publikovanými v dosavadní literatuře.

Závěrem mohu s radostí konstatovat, že přes všechny mé výše uvedené poznatky, studentka odvedla velký kus práce. Za povšimnutí stojí zejména využití širokého spektra metod od morfologických, přes diagnostické až k molekulárně-fylogenetickým, a také zahrnutí experimentální práce. Jsem přesvědčena, že předložená práce splnila svůj účel a je zpracována kvalitně, což dokládá i následně opublikovaný článek v *Microorganisms*. Moje připomínky nejsou zásadního charakteru a doporučuji k obhajobě s hodnocením výborně.

Nakonec si dovoluji studentku požádat o zodpovězení následujících otázek:

- Práce je zaměřena na problematiku kryptosporidií u nutrií a zahrnuje jejich experimentální testování. Není zde zcela zřejmé, proč pro experimentální testování byly využity i další druhy experimentálních zvířat a to pískomilů, SCID a BALB/c myši a kuřat? U některých byly navíc použity i různé věkové kategorie. Můžete vysvětlit proč?
- Proč byla kuřata vyšetřena na přítomnost kryptosporidií v den líhnutí?
- Co myslíte formulací na straně 39 (dole): „Nálezy těchto druhů u jiných hostitelů představují spíše ojedinělé případy nebo mechanický průchod než adaptaci na hostitele. Jde mi o formulaci „mechanický průchod“. Lze použít jiný výstižnější termín?
- Existuje hypotéza, která by osvětlila prodlužování mikrokloků kolem vývojových stádií *Cryptosporidium* coypu genotypu na enterocytech?

- V práci popisujete použití genu gp60 (glykoproteinu hmotnosti 60 kDa) – není ovšem zcela jasně vysvětlen důvod jeho konkrétního použití. Můžete tento fakt stručně ujasnit a doplnit?
- V diskusi (strana 39) píšete, že gp60 *C. ubiquitum* genotyp se zdá být kromě jiného hostitelsky specifický také pro nutrie v Evropě. Je známé, který hostitel je pro tento genotyp „dominantní“? To znamená, zda se adaptoval na nutrii nebo případně byl s nutrií zavlečen do Evropy?
- Na straně 8 mě zaujal popis klinických příznaků infekce kryptosporidií u telat, kde kromě jiného je uvedena i deprese? Pokusila byste se najít výstižnější termín, který je vhodnější používat u veterinárních nálezů zvířat?
- Existují nějaké údaje o velikosti populace nutrií v ČR či v Evropě?
- Poslední dotaz vyplývá čistě z mojí zvědavosti – jak obtížné je infikování nutrií? Byla tato zvířata ochotna spolupracovat?

Dále jen shrnutí drobných formulačních záležitostí:

- Strana 1: „obtěžující druhy“ není správný termín, najdete vhodnější?
- Strana 4:
 - formulace – „infekce hlášené v extraintestinálních místech“
 - osmi jaderní – dohromady
- Strana 6: „pasená hospodářská zvířata“ – lepší termín „pastvinná hospodářská zvířata“ nebo „hospodářská zvířata na pastvě“.
- Strana 33: formulace od konce řádku 5. Nutrie mohou vylučovat oocysty, ale v případě specifické DNA by mělo být formulováno lépe.

