

Oponentský posudek na magisterskou práci Bc. Štěpánky Smolenové: **Analýza infekčního potenciálu klonu evropského druhu *B. garinii* izolovaného ze severoamerických hlodavců s využitím laboratorních modelů infikovaných savců**

Předkládaná práce, o 73 stranách včetně příloh, je členěna do deseti kapitol. Členění ale bohužel nevytváří potřebný logický rámec práce. První kapitola s názvem Úvod sestává pouze ze dvou stran, tj. dvou odstavců, které postrádají jakoukoli návaznost. Zatímco první uvádí problematiku genetické variability patogenních bakterií, druhý zkratkovitě prezentuje epidemiologii Lymské boreliózy. Tento text neposkytuje čtenáři jakýkoli srozumitelný úvod k následujícím kapitolám.

Literární přehled, tj. druhá kapitola práce, je poměrně rozsáhlou sbírkou informací. Text ale postrádá snahu o jakoukoli syntézu. Některé odstavce odpovídají shrnutím jednotlivých vědeckých prací a nejsou vzájemně logicky propojeny. Velmi často jsou opomíjeny informační zdroje. Stejně jako ve zbytku práce se zde autorka bohužel nevyhnula gramatickým chybám a doslovnému překladu anglického textu.

Cíle práce jsou poměrně jasně definované, až na metodu *jištění* protilátek a pravděpodobnou snahu autorky o zdůraznění pátého cíle zkopírováním jeho obsahu do cíle šestého.

Ke kapitole Materiál a Metody mám dvě zásadní výhrady. Popis uvedených metod je extrémně nevyvážený. Autorka zbytečně popisuje některé rutinní protokoly velice podrobně, zatímco jiné jsou neopodstatněně stručné. Extrémní případ této stručnosti pak představuje naprostá absence fylogenetických metod, která ostře kontrastuje s obsahem kapitoly Výsledky, jejíž podstatnou část představuje fylogeneze. Interpretace fylogenetických stromů je ovšem bez metodiky použitých analýz zcela bezpředmětná. Vzhledem k anglickým popiskům některých stromů a absenci vysvětlení použitých barev pro jednotlivé uzly či číselných hodnot pro jednotlivé větve, vyvstává pochybnost, zda se opravdu jedná o autorčinu práci.

Na závěr prosím autorku o podrobné vysvětlení použitých fylogenetických metod a výsledků prezentovaných na obrázcích 15-18.

Vzhledem k výše popsaným skutečnostem navrhuji práci hodnotit stupněm „tři“.



RNDr. Eva Nováková, PhD.

Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Štěpánky Smolenové Analýza infekčního potenciálu klonu „evropského“ druhu *B. garinii* izolovaného ze severoamerických hlodavců s využitím laboratorních modelů infikovaných savců

Předložená diplomová práce se zabývá epidemiologií a identifikováním evropských druhů borélií, izolovaných z amerických hlodavců. Autorka se ve své práci zabývala otázkou, zda jsou kmeny *Borelia garinii* a *B. afzelii*, izolované z amerických hlodavců, infekční a mohou tedy způsobit Lymeskou boreliózu. Součástí experimentální práce byla izolace a identifikace bakteriálních kmenů ze vzorků amerických hlodavců, jejich fylogenetické zařazení a experimentální ověření jejich infekčnosti. Je zřejmé, že autorka věnovala vypracování i experimentální práci mnoho času, přesto práce nepůsobí zcela přesvědčivě.

Prvním, spíše formálním nedostatkem je dlouhá anotace. Anotace slouží k tomu, aby se v několika větách uvedlo, o čem práce je. Obvykle se neuvádí konkrétní výsledky ani podrobné postupy.

V úvodu jsem si všiml, jako už v několika jiných pracích, rozdělení na Úvod a Literární rešerši. Z mého pohledu by měl být úvod literární rešerší, nicméně pokud už je takovéto rozlišení provedeno, měl by úvod posloužit jako takový stručný přehled, o čem práce je, co jsou hlavní témata a hlavní výsledky. Mělo by tam být uvedeno něco, co umožní čtenáři podržet si v hlavě ideu, k čemu se autorka chce svou prací dostat. Takovýto úvod v práci chybí a to má dopad na srozumitelnost celé literární rešerše, z níž vlastně není jasné, co ze všech popsanych oblastí autorku zajímá – zda je to genetika borélií, epidemiologie nebo průběh nemoci způsobené jednotlivými kmeny. To se čtenář dozví až z cílů práce. Rešerše se proto podle mě zabývá příliš podrobně některými tématy, která pak nejsou pro samotnou experimentální práci relevantní a jako celek nepůsobí moc kompaktně. Navíc některé pasáže jsou velmi kostrbaté nebo přímo chybně přeložené – např. vektorová kompetence (v češtině se takto nepoužívá, spíše „schopnost přenosu“). „Bylo poznamenáno“ (it was noticed) – správně „bylo zaznamenáno nebo pozorováno“. Nepřípustné je citování zpravodajských nebo i populárně naučných webů, obzvláště, pokud je citován celý server (www.nytimes.com) a ne jen konkrétní článek.

Menší nedostatky: Je používáno zastaralé označení DNK, dnes se skoro výhradně používá DNA. Občas je místo reference použito „nepublikovaná data“. To je v pořádku, jen je třeba uvést, čím ta data jsou. Několikrát na jedné stránce se objevuje slovo BoRrelia – jedná se zřejmě o překlep, jen mě překvapuje, že se opakuje. V textu se vyskytuje i poměrně velké množství gramatických chyb (např. kriozkumavky, hostitelých).

Dotaz k literární rešerši: Je využíváno diagnostiky jednotlivých kmenů k úpravě léčby Lymeské boreliózy?

Cíle práce jsou definovány relativně podrobně, nicméně úplně neodráží výsledky – nebyla provedena detekce protilátek, body 5 a 6 jsou shodné.

Sekce Metody je velmi nevyrovnaná, co se detailů popisu jednotlivých technik týká, nejsou ani konzistentní ve formě popisu metody. PCR metody jsou popsány ve větách, western blot v bodech. Navíc velmi obšírně popsané imunodetekční techniky nebyly v práci vůbec využity, resp. není o nich nikde ani zmínka ve výsledcích. Co však považuji za největší a závažný nedostatek je absence popisu fylogenetické analýzy, která tvoří podstatnou část jak metod, tak výsledků.

Menší nedostatky: použitý filtr byl zřejmě 0,22um nikoliv 2,2 um

Výsledky shrnují několik experimentálních a analytických postupů. Autorka popisuje izolaci boreliové DNA, identifikaci jednotlivých kmenů pomocí sekvenace a PCR detekce specifickými primery.

Výsledky klonování jsou popsány relativně dobře, bohužel MLST analýza a fylogenetické stromy jsou velmi nepřehledné, není zřejmé, jakých konkrétních algoritmů bylo použito, obrázek 10 mi neříká vůbec nic, nevím, co z něj má být patrno. **Dále není jasné, zda fylogenetické stromy jsou výsledkem práce autorky nebo jsou odněkud převzaté (proč jsou popsány anglicky?),** jejich grafická kvalita je nedostatečná, popis jednotlivých klonů pomocí řady čísel je nesrozumitelný, alespoň pro někoho, kdo není obeznámen s principem MLST analýzy nebo možná práce s boréliovými kmeny obecně? Nikde nejsou zmíněny parametry jednotlivých analýz, jakým způsobem byla provedena podpora jednotlivých větví apod. Kombinace kladogramu, barevných obdélníků a barev v tabulce vůbec není vysvětlena a jen obtížně se v tom hledá systém. Zkratky jednotlivých zemí by také měly být vysvětleny, i když je zřejmé, že ITA je Itálie a RUS Rusko. Během prezentace je proto třeba všechny tyto nedostatky napravit.

Obrázek mnohonásobného transportu borélií mezi kontinenty je opět nedostatečně popsán, není vůbec jasné, co je jeho sdělením, kde se vzal – **je to výsledek nějaké analýzy nebo je převzatý z nějaké jiné práce?**

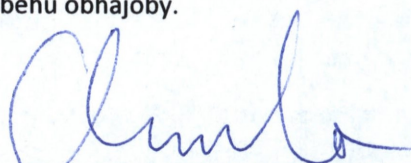
V diskuzi autorka rozebírá především epidemiologii a šíření kmenů mezi kontinenty. Z výsledků však podle mě nejde dělat takovéto dalekosáhlé závěry. Hlavní sdělení práce je dle mého názoru to, že v USA se vyskytuje *B. garini* a *afzelii*, které mohou způsobit onemocnění. Nejsem si jist, jak z výsledků, ani po srovnání s literaturou, může vyplynout rekonstrukce šíření patogenů po světě. Jedná se dle mého názoru maximálně o spekulace. **Pokud je analýza možná, prosím autorku o vysvětlení, jaká metoda a postup se k tomu používá a jaká data jsou potřeba.**

Práci bylo věnováno značné úsilí, jak při provádění experimentů, tak při psaní samotném, přesto se v ní vyskytuje mnoho závažných opomenutí a nedostatků, které její kvalitu významně snižují a činí ji až nesrozumitelnou. Tyto nedostatky jsou především:

- nevyváženost textu v rešerši i v metodách
- citování zpravodajských serverů
- detailní popis metod, které nebyly použity
- nulový popis metod, které tvoří podstatnou část výsledků
- nedostatečný popis obrázků a samotných výsledků.

Navrhuji známku 2-3, konečné hodnocení rozhodnu podle průběhu obhajoby.

V Českých Budějovicích, 16.5.2018



RNDr. Jindřich Chmelař, Ph.D.