

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra biochemických věd

Studijní program: Zdravotnická bioanalýtika

Posudek oponenta diplomové práce

Rok obhajoby: 2023

Autor/ka práce: **Bc. Kristýna Bezdíčková**

Vedoucí práce: doc. Ing. Petra Matoušková, Ph.D.

Konzultant/ka:

Oponent/ka: PharmDr. Thuy Linh Nguyen, Ph.D.

Název práce: **Zavedení diagnostiky gastrointestinálních hlístic pomocí RT-PCR**

Rozsah práce: 75 stran, 32 obrázků, 11 tabulek, 49 citací

Hodnocení práce:

- | | |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: | výborná |
| b) Náročnost použitých metod: | výborná |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): | velmi dobré |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat: | výborná |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): | velmi dobré |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: | výborné |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: | výborná |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: | výborná |
| i) Splnění cílů práce: | výborné |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: | výborné |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): | velmi dobrá |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | výborná |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Práce diplomantky Bc. Kristýny Bezdíčkové se zabývala možností využití metody real-time PCR pro stanovení infekce hlavních ekonomicky významných gastrointestinálních nematod (GIN) ze vzorků trusu ovce, popř. dospělců hlístic. Aktuálnost zvoleného tématu potvrzuje i skutečnost, že vybrané GIN, s největším důrazem na *H. contortus*, jsou významnou skupinou parazitů, které způsobují závažné, v některých případech i život ohrožující infekce u malých přežvýkavců, jako jsou ovce. Přesná a včasná diagnostika je důležitá pro zahájení vhodné léčby anthelmintiky.

Teoretická část je přehledná, obsažná a opírá se o řadu adekvátních zdrojů. Shrnuje biologii vybraných parazitů a také přehled aktuálních metod určených pro jejich diagnózu. Pracovní postupy v experimentální části jsou sepsány přehledně, ale na základě jednotlivých kapitol bych očekávala na to navazující výsledky, které v nějakých částech chybí (viz připomínky a dotazy). V diskusi oceňuji komentáře ke třem publikacím, které se jako jediné obdobně zabývaly diagnostikou infekce GIN přímo z trusu pomocí molekulárních metod.

Dotazy a připomínky:

Připomínky:

1) Práce je psaná čtivě, ale autorka mnohdy opakuje informace (např. v kapitole 2.2.5.3 je poslední souvětí redundantní)

2) Text obsahuje místy překlepy; pro příklad udávám: v abstraktu a v několika případech v textu překlep *Teladorsagia circumcincta* - *circumcincta*, v nadpisu kapitoly *Vlasovka* - *vlasovka*, za tohoto klima - klimatu, *sporoindoly* - *spiroindoly*, str. 17 *in vitro* - s kurzívou, obrázek 3 *vajíčka* - *vajíčko*, 10ti dnů - 10 dnů, 50 ml *zkumavek* - 50ml, str. 26 *hmotnostmi* - *hustotami*, obrázek 6 *FEMACHA* - *FAMACHA*, *Erlenmayerovy baňky* - *Erlenmeyerovy*, *Edinburg* - *Edinburgh*, str. 39 1 200 *Genomic Lysis Buffer* - předpokládám μ l, kvantifikační metoda - kvantitativní, dále využívání činného místo trpného rodu se zvláštním nekonzistentním střídání nevyjádřeného podmětu str. 40 ředily, str. 43 jsme využily, str. 51 jsme použily versus abstrakt zaměřili, str. 45 jsme využili, str. 45 jsme použili, nepřesná vyjádření str. 48 "trus č. 1" znamená tedy že byl i trus č. 2 a navíc toto označení předtím nebylo vysvětleno, překlepy ve zdrojích *Reslova* x *Reslová*, *Höglund* x *Höglunda*, *mrazící* x *mrazící*, str. 22 "ne všechna anthelmintika jsou účinná na všechna larvální stádia" - na všechna stádia životního cyklu.

3) V diskusi diplomantka cituje publikace *Skorpikova et al., 2020*; *Pafčo and Modrý, 2021*; *Rashid et al., 2019*, které chybí v seznamu zdrojů.

4) Kapitola 4.3.10 uvádí metodu stanovení EPG, kterou zmiňuje i v kapitole 4.3.4 v prvním odstavci, kdy autorka píše o účinnosti odčervení. Výsledky jsem bohužel nenašla.

5) Seznamy chemikálií, přístrojů, ale zejména zkratk jsou nekompletní nebo naopak jsou vyčteny, ale v experimentální práci jsem pro ně nenašla využití.

6) Zkratky nejsou jednotně užívané a mnohé z nich nejsou vysvětleny. Pokud se zkratka zavede, je nutné ji používat dále v textu, včetně zkracování rodového jména u parazitů. V seznamu zkratk chybí mj. *FAM*, *FARB*, *NCBP*, *GAPDH*, *ITS1*, *ITS2*, *SSU*, *qPCR*.

7) Chybná finální koncentrace v tabulce 6 pro vzorky templát 4, 5 a 6 (stejně ředění je i na str. 54).

Dotazy:

1) Na str. 39 diplomantka uvádí, "zbytek izolace probíhal za sterilních podmínek". Jaké podmínky to byly, protože v seznamu přístrojů není uveden např. laminární box? Je sterilní práce v tomto případě potřebná?

2) K čemu byly využity UV transluminátor a horizontální elektroforéza?

3) Experimentální práce zahrnuje využití *TaqMan* sondy. Můžete specifikovat, na jakém konci (5' a 3') se nacházejí fluorofor či zhášec? Jak se specificky nazývá aktivita DNA polymerasy, která je zapotřebí k hydrolyzaci sondy?

4) V experimentální části v kapitole 4.3.9 autorka popisuje primery pro *A. sidemi* a *N. battus*, avšak ve výsledkové části jsem je nenašla. Byly tedy měřeny, když v diskusi na str. 63 je psáno, že jste se jimi tolik nezabývali? Proč sekvence primerů *Ash ITS1* a *Nem SSU* chybí v příloze?

5) Jaký byl počet larev L1 ve vzorku? Byla gDNA z larev použita pro nějaké experimenty?

6) Zkratka mRNA je použita poprvé na str. 32 bez vysvětlení a dále se nachází na str. 58. Je mRNA vážně míněna jako mitochondriální RNA, jak vysvětlujete v seznamu použitých zkratk?

hodnocení, práce je: výborná

k obhajobě: doporučuji

V Montpellier

24. května 2023

podpis oponenta/ky