

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele: doc. MVDr. Oto Melter, PhD.

Datum: 30.8.2017

Autor: Bc. Tereza Prokopová

Název práce: *In vitro* test buněčné imunitní odpovědi pro diagnostiku Lymeské boreliózy

Cíle práce

Hlavní cíle: 1. průkaz boreliové DNA v gDNA klišťat a stanovení detekčního limitu digital droplet PCR (ddPCR), 2. identifikace třech druhů borelií pomocí PCR a sekvenace genu pro 16S rRNA, 3. vizualizace konzervovaných úseků genů pro faktory virulence, 4. návržení primerů pro geny faktorů virulence (OspA a OspC) pro amplifikaci konzervovaných a variabilních úseků a analýza jejich variability, 5. aktivace imunitních buněk boreliovými faktory virulence a jejich kvantifikace průtokovou cytometrií

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO NE

Rozsah práce (počet stran): 73 včetně citací

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO NE

Je uveden seznam zkratek? ANO NE

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO NE

Je napsán srozumitelně? ANO NE

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO NE

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO NE

Literární přehled obsahuje 143 citací, z nichž velkou část tvoří výčet prací z posledních let včetně roku 2017. Reference 139. kluste.cz není podle mne z formálního důvodu vhodná do diplomové práce. Tato část komplexně a přitom mimořádně srozumitelně uvádí nejdůležitější fakta týkající se komplikovaného klinického kontextu LB, ekologie a molekulární struktury borelií, imunitní odpovědi u LB a molekulární diagnostiky.

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO NE

Kolik metod bylo použito? V práci bylo použito souhrnně 5 metod včetně moderních genotypových metod.

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO NE

Metodiky jsou přehledně a srozumitelně popsány.

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO NE

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO NE - v čem jsou nedostatky?

Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky?

ANO NE – co chybí, v čem je nedostačující?

Práce obsahuje dobře navržené experimenty důležité pro průkaz borelií v klišťatech a studium genů virulence. Scénář a podmínky experimentů jsou zvolené správně. Vzhledem k velkému počtu dat je provedeno i jejich patřičné bioinformatické zpracování a interpretace.

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO NE

Diskuze srovnává vlastní dosažené výsledky s výsledky jiných autorů, kdy někdy rozšiřuje poznání o nová fakta.

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO NE

Všechny důležité výsledky jsou srovnány s literaturou.

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO NE
Autorka uvádí, že kvantifikace boreliové DNA v klíšťeti, kterou rovněž analyzovala pomůže spolu s druhovou identifikací borélií a jejich faktorů virulence k zlepšení diagnostiky LB.

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO NE

Diplomová práce obsahuje jednoznačné závěry ke všem studovaným cílům práce.

Interpretace výsledků je v závěru uvedena správně vzhledem k předpokladům a uvedeny jsou i hypotézy, které z výsledků vyplývají.

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Název práce je úzce specifický a reprezentuje rozsahem i výsledky nejméně významnou část jinak velmi kvalitní diplomové práce. Obrazová dokumentace je přehledná, kvalitní a vhodně doplňuje experimentální výsledky. Legendy grafů a obrázku jsou výstižné a jasné. Text celé práce je jasně formulovaný a srozumitelný. Pouze zcela výjimečně se v textu vyskytují výrazy nebo slovné spojení, které se v laboratoři běžně používají, ale ve formálním textu lze použít lepší alternativu: např. "virulentní faktory" v češtině podle mého názoru raději "faktory virulence"; "transmitují původce" (str.2) raději „přenášejí původce, "bakterie kmene Anaplasma"(str.2) správně "bakterie rodu Anaplasma, "kmen specifické/kmenů borelií" (str.5) má být „druhově specifické/druhy borelií“, „mix farmakologicky aktivních proteinů“ (str.7) raději „směs aktivních proteinů“, „radiculomyelitida“(str.8) má být „radikulomyelitida“, „atb léčbu/Atb-rezistentní“ (str.8) raději rozepsat, „jsou mediována interakcí SNARE receptorů“ (str.13) raději „zprostředkována...“, „pacientských vzorků“ (str.15) raději „vzorků pacientů“, „Borelie“ (str.15) uprostřed textu raději „borelie“, str. 18: primery jsme dostali – raději testovali, interkalčním – správně interkalačním, rekční – reakční, str.43: „Supernatant jsme dekantovali“ raději „odstranili“,

Tyto formální nedostatky nesnižují úroveň práce.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Jednotlivé Cíle práce byly splněny. Studentka zavedla nebo použila metody, které vedly k druhově specifickému průkazu borelií v klíšťatech, jejich kvantifikaci a analýze genů pro faktory virulence. Slibné bylo využití průtokové cytometrie i když se nepodařilo získat pozitivní kontrolu a provést interpretaci dosažených výsledků této části práce. Jedinou výtku mám k názvu, který je velice úzký a nevystihuje komplexnost řešené problematiky.

Otázky a připomínky oponenta:

- 1) Je nějaký závěr z komparativních rozdílů genů pro faktory virulence (OspA a OspC) u jednotlivých druhů borelií, které by mohli mít význam v přenosu nebo symptomatologie infekce?
- 2) V diskuzi uvádíte, že gDNA z klíšťat obsahuje DNA mnoha živočišných druhů. Pokud myslíte i původců ko-infekcí pak nelze uvádět „živoč.druhů“, pokud myslíte hostitelů lze říci kolik jich bylo?
- 3) V diskuzi popisujete, že 70% klíšťat v průběhu letního tábora na Pardubicku bylo pozitivních, a že bylo provedeno v polních podmínkách. Použili jste přece negativní kontroly a tudíž „polní podmínky“ by neměli interferovat s pozitivními výsledky.

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

x výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: *Melcer*