



POSUDEK OPONENTA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Michaela Barlatovová: Bakteriální kontaminace ejakulátů mužů v asistované reprodukci

V předložené diplomové práci se diplomantka zabývá studiem bakteriální kontaminace ejakulátů mužů vyšetřovaných pro neplodnost. Celkem autorka vyšetřila 40 vzorků, u kterých stanovila celkový počet mikroorganismů a zjistila výskyt jednotlivých druhů. Pro stanovení celkového počtu mikroorganismů autorka použila dvě metodiky – stanovení roztěrem na krevní agar a ředící metodu. Na základě zjištěných výsledků pak navrhla modifikaci roztěrové techniky tak, aby při zpracování ejakulátů bylo dosaženo lepších a spolehlivějších výsledků.

Vlastní práce je zpracována na 57 stránkách, obsahuje 10 tabulek a 1 graf. Fotografie uvedené v příloze diplomové práce vhodně doplňují získané výsledky. Po formální stránce obsahuje předkládaná práce všechny předepsané kapitoly, má pěknou úpravu a obsahuje jen velmi málo pravopisných chyb.

K diplomové práci mám následující připomínky či dotazy:

- V anglické verzi souhrnu se vyskytuje několik gramatických i odborných nepřesností. Například pro techniku roztěru na krevní agar by bylo vhodnější použít formulaci „spread plating technique“. Pro ředící metodu pak „pour plate technique“. Tyto výrazy se běžně používají v odborných publikacích zabývajících se stanovováním celkového počtu mikroorganismů.
- Název pracoviště, které poskytovalo vzorky není uváděno jednotně.
- Názvy bakteriálních rodů a druhů by měly být psány kurzívou bez ohledu na to, zda se vyskytují v nadpisech nebo v textu.
- Slovo mikroorganismus je jednou psáno se „z“, jednou se „s“. Mělo by se sjednotit.
- Na str. 13 tvrzení: „Pro přítomnost antigenních mimiker u této bakterie reagují protilátky proti jejím antigenům se spermii.“ Podobná tvrzení také na str. 18, 21 a 55. Jako mimikry bývá označována povrchová podobnost mezi dvěma blíže nepříbuznými druhy. Mimikry tedy nejsou konkrétní struktury, ale spíše vlastnost daného mikroorganismu.
- Na str. 19 tvrzení: „Tento mikroorganismus způsobuje záněty zejména močové trubice, příp. jiných systémů – konečníku, nosohltanu, mandlí, disseminovaná gonokoková infekce.“ Doporučila bych přehodnotit použití slova „systém“ v této větě.
- Na str. 23 diplomantka uvádí v souvislosti s patogenitou *Corynebacterium glucuronolyticum* citaci knihy Lékařská mikrobiologie speciální od Votavy et al. (2003). Bylo by vhodnější pro tyto účely použít citace odborných publikací zabývajících se touto problematikou.
- Na str. 24 tvrzení: „*Pseudomonas putida* je častějším původcem urogenitálních infekcí než se předpokládá.“ Proč tomu tak je, však diplomantka neuvádí.
- Výraz „hygienická minimalizace kontaminace“ zní poněkud kostrbatě a jistě by se dala nahradit např. formulací „zábrana kontaminace ejakulátu při jeho odběru“, příp. jinými dle kontextu.

- V Experimentální části diplomantka uvádí u některých firem i zemi, ze které firma pochází. Mělo by mít jednotnou formu.
- Na str. 34 a 36 diplomantka píše ve slově „Gramovo“ dvě „m“, což je chyba.
- Na str. 39 diplomantka uvádí, že ze 3 vzorků izolovala v čisté kultuře stafylokoky. Mnohem větší vypovídací hodnotu by mělo uvedení konkrétních druhů stafylokoků.
- Výsledky Kapitola 4.1 Bakteriální nálezy obsahuje příliš mnoho tabulek, takže se jejich vypovídací hodnota snižuje. Myslím, že by postačovalo získaná data uvést pouze do tří tabulek. Tabulka 1 by vypovídala o četnosti vzorků podle počtu izolovaných mikroorganismů. V tabulce 2 by byla zaznamenána četnost výskytu jednotlivých mikroorganismů ve vzorcích. Tabulka 3 by pak dokumentovala zastoupení mikroorganismů v jednotlivých vzorcích. U tabulky 2 a 3 by bylo vhodné uvést konkrétní druhy stafylokoků. U streptokoků pak použít členění na beta-hemolytické, viridující a nehemolytické streptokoky.
- V tabulce 4 diplomantka uvádí, že některé kmeny streptokoků byly zařazeny do skupiny „ostatní streptokoky“. Z diskuze je pak patrné, že se jedná o nehemolytické streptokoky. Toto označení má také pro potencionálního čtenáře – mikrobiologa mnohem větší vypovídací hodnotu.
- Na str. 56 diplomantka doporučuje jako alternativní postup kvalitativního a kvantitativního stanovení mikroorganismů v ejakulátu použití systému URICULT®. Předpokládám, že si je diplomantka vědoma toho, že by se při vyšetřování ejakulátů musel vytvořit systém zcela nový, který by umožnil rovněž stanovení gram-pozitivních a kultivačně náročnějších bakterií.
- Statistické hodnocení výsledků stanovení celkového počtu mikroorganismů by mělo své opodstatnění v případě, že by jednotlivé skupiny obsahovaly větší počet vzorků.
- V kapitole Literatura by měl být sjednocen styl psaní názvu časopisů. Buď by měly být použity zkratky nebo plné názvy.

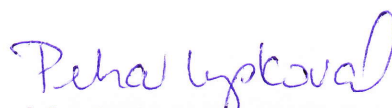
Při obhajobě diplomové práce by mohla studentka zodpovědět tyto dotazy:

- **Na str. 12 diplomantka uvádí, že výskyt mikroorganismů je přibližně stejný u mužů vyšetřovaných pro neplodnost a kontrolní skupiny. U některých bakteriálních druhů (např. *Gardnerella vaginalis*, *Corynebacterium seminale*) pak ale uvádí, že se vyskytují častěji u mužů vyšetřovaných pro neplodnost. Mohla by autorka rozdílná tvrzení vysvětlit?**
- **V kapitole Rod *Neisseria* na str. 19 diplomantka zmiňuje skupinu tzv. ústních neisserií. Našla autorka nějaké informace o výskytu těchto mikroorganismů v genitálním traktu mužů?**
- **Na str. 20 tvrzení: „Cottell et al. (2000) zjistili *U. urealyticum* v 10-40 % vyšetřených ejakulátů neplodných mužů.“ Uvedené procentuální rozmezí spíše budí dojem, že k němu autoři dospěli na základě studia odborné literatury zabývající se výskytem *U. urealyticum* v ejakulátech než vlastní výzkumnou činností. Jak to tedy je?**
- **V kapitole 1.6. Celkové počty mikroorganismů postrádám informace o jednotlivých metodách, které lze použít, včetně jejich výhod a nevýhod. Má diplomantka představu o tom, které metody autoři ke stanovení počtu používali nejčastěji?**

- Na str. 36 tvrzení: „Čisté kultury izolovaných kmenů jsme identifikovali na základě růstových, morfologických, antigenních, fyziologických a biochemických vlastností.“ Může autorka vysvětlit, co si představuje po pojmem fyziologická vlastnost?
- Na str. 37 diplomantka uvádí, že u vzorků s malým objemem stanovovala celkový počet mikroorganismů pouze roztěrem na krevní agar. Z uvedeného není zcela jasné, zda byl roztěr prováděn na 1 nebo 2 krevní agary.
- Z výsledků uvedených na str. 41 vyplývá, že diplomantka některé stafylokoky z mnoha důvodů neurčila a byly zařazeny do skupiny „ostatní stafylokoky“. Mohla by uvést dle jakého klíče se rozhodovalo, které kmeny stafylokoků se dále určí a které nikoliv?
- Na str. 54 diplomantka uvádí, že hemolysiny produkované enterokoky mohou narušovat integritu membrán spermii. Byl kmen enterokoka, který izolovala diplomantka hemolytický?

Přes uvedené nedostatky a připomínky lze konstatovat, že vytčené cíle práce byly splněny. Diplomovou práci Bc. Michaely Barlatovové doporučuji přijmout k obhajobě a navrhuji její klasifikaci stupněm **velmi dobře**.

V Pardubicích 24.5.2010


Mgr. Petra Lysková, Ph.D.