



BIOLOGY CENTRE CAS

Institute of Parasitology

address: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

IBAN – CZ24 0800 0000 0000 0606 3942 | SWIFT CODE – GIBACZPX | VAT No.: CZ60077344

phone: +420 387 775 403 | fax: +420 385 310 388 | www.paru.cas.cz | e-mail: paru@paru.cas.cz

České Budějovice, 15th of May, 2019

Oponentský posudek

Diplomová práce: Studium střevních prvoků rodu *Blastocystis* v mikrobiomu člověka

Bylo mi potěšením vypracovat oponentský posudek na diplomovou práci Zuzany Lhotské. Oponovaná práce je dobře a jasně napsaná a studovanou tématiku rozebírá do odpovídající šíře. Podařilo se mi najít pouze malé množství překlepů a chyb, které jsou ale vzhledem k rozsahu práce nesignifikanční. Předkládaná diplomová práce má 64 stran textu a odkazuje na 125 referencí.

Tématem práce je prevalence střevního prvoka *Blastocystis* v České Republice u lidí a domácích zvířat a zabývá se mnoha aspekty epidemiologie tohoto prvoka. Studium střevních mikrobiomů se dnes víceméně stalo "mainstreamem", ale vliv a význam mikrobiálních eukaryot pro střevní mikrobiom zůstává naneštěstí více či méně ignorován, a proto jsou studie jako je tato diplomová práce velmi užitečné. *Blastocystis* je velmi zajímavý organizmus z mnoha důvodů, ale to, že je dodnes nejasné, zda se jedná o organizmus pro člověka patogenní či prospěšný (anebo obojí v závislosti na subtypu, či momentální zdraví hostitele) jej činí skutečně unikátním druhem. Předkládané výsledky tedy mají velkou hodnotu, neboť ukazují, že tyto organizmy jsou poměrně časté u zdravých lidí, a to i v západním světě.

Autorka nashromáždila a zanalyzovala přes 360 fekálních vzorků z lidí a zvířat a u každého provedla PCR a kultivační diagnostiku na *Blastocystis* sp. Sám mám s kultivací prvoků zkušenosti a vím tedy jak ohromné množství úsilí autorka do své práce investovala. Navíc byla autorka schopná od dobrovolných dárců vzorků získat i vyplněné dotazníky o jejich životním stylu (což je dle mého názoru, také obrovský úspěch). Výsledky práce jsou velmi zajímavé a více méně odpovídající nepočtem studiím provedeným v ostatních Evropských zemích. Je důležité podotknout, že podobná studie dosud nebyla v České Republice provedena a má tedy nesporný význam i pro pochopení rozšíření *Blastocystis* sp. v české populaci. Podle mého názoru autorka plně splnila požadavky na Diplomovou práci na Přírodovědecké Fakultě Jihočeské Univerzity, a proto ji s radostí doporučuji k obhajobě s hodnocením výborná.

Mgr. Martin Kolisko, PhD
Laboratory of Genomics and Diversity of Protists
Institute of Parasitology, Biology Centre, CAS
Branišovská 31, České Budějovice, 370 05
Czech Republic
kolisko@paru.cas.cz
+420387775478



Otázky a komentáře pro autorku:

1. Na několika místech v práci je uvedeno, že některé výsledky a analýzy budou provedeny v blízké budoucnosti, před skutečnou publikací těchto výsledků v odborném časopise, což je vzhledem k velikosti datasetu naprosto v pořádku. Předpokládám, že budou také provedeny podrobnější statistické analýzy vztahu mezi pozitivitou na *Blastocystis* a některých charakteristik hostitele (např.: cestování mimo EU). Zajímalo by mne, jaké statistické metody bude autorka pro tyto testy používat.
2. Mohla by autorka stručně vysvětlit, jak bude provádět fylogenetické analýzy osekvenovaných SSU rRNA. Je možné, že ony tři neidentifikované subtypy představují nové doposud nepopsané subtypy?
3. Autorka se soustředila pouze na *Blastocystis*, při použití dvou diagnostických metod. Bylo by možné použít metody environmentální PCR a „amplicon sequencing“ a získat tak data i pro ostatní eukaryotické mikroorganismy.
4. Jaké téma by bylo pro autorku nejzajímavější jako pokračující studie nasbíraných vzorků?

Oponentský posudek na diplomovou práci

Autor práce: Bc. Zuzana Lhotská

Název práce: Studium střevních prvoků rodu *Blastocystis* v mikrobiomu člověka

Předložená diplomová práce odpovídá požadavkům kladeným na tento typ práce na Jihočeské univerzitě v Českých Budějovicích. Je psána na 73 stranách včetně předpisy stanovených částí.

Kapitola úvod se zabývá popisem vývojových forem blastocyst a jejich vývojových cyklem. Dále je čtenář seznámen s historií popisu blastocyst, prevalencí a výskytem různých subtypů v rámci zvířecích a lidské populace a metodami detekce. Text této části práce je psán s malým počtem překlepů. Velmi často se v textu objevuje slovo „objevuje“, pro lepší čtivost textu by bylo vhodnější využít bohatosti českého jazyka. Také s ohledem na poměrně složitou problematiku v genotypizaci blastocyst, by bylo vhodné pro neznalého čtenáře uvést ilustrační fylogenetický strom jednotlivých subtypů. Také přehledová tabulka s uvedením subtypu a hostitelem/lů by byla pro čtenáře více informativní než několika stránkový text.

Cíle práce jsou jasně formulovány, směřující k doplnění chybějících dat o výskytu a prevalenci *Blastocystis* spp. v České republice.

Kapitola Materiál a Metody je formulována na 7 stranách a psána chronologicky tak, jak jednotlivé práce v diplomové práci na sebe navazovaly. V této části textu se opakovaně vyskytují typografické chyby, kterých by se již autorka po zkušenostech z bakalářské práce měla vyvarovat (nesprávně uváděná procenta, mezery v uvádění jednotek SI, nejednotnost v citování původu materiálu ...).

V kapitole Výsledky jsou velmi podrobně prezentována zjištěná data, řada z nich formou koláčových grafů s procentuálním zastoupením nebo formou tabulek. Je zřejmé, že si studentka dala velkou práci s prezentací získaných dat. K této kapitole bych měl několik poznámek. První poznámkou je prezentace výsledků převážně formou procentuálního zastoupení. Tento způsob nikterak nezpochybňuji, ale nutí čtenáře k neustálému přepočítávání a není tedy příliš komfortní. Druhou připomínkou je nesoulad mezi výsledky prezentovanými v textu a tabulkách či grafech. Například v tabulce 3 studentka uvádí 116 vyšetřených vzorků trusu zvířat, zatímco v textu na straně 27 je uvedeno 118 vzorků trusu zvířat nebo tabulka 9 uvádí 37 negativních osob bez kontaktu se zvířaty, zatímco v grafu 10 jich je uvedeno jen 31. Tímto se dostávám k třetí

připomínce, kterou je nepotřebné opakování výsledků. Graf 10 i tabulka 9 v podstatě ukazují tytéž výsledky. Graf 10 je tedy nadbytečný. Navíc jsou data kompletně okomentována v textu. Čtvrtou připomínkou je absence statistického zpracování výsledků. Kapitola 4.5 je nazvaná „Korelace výskytu ...“, ale v kapitole Materiál a Metody jsem nenalezl žádnou zmínku o použitých statistických metodách. Například pomocí Chí kvadrát testu jsem si z dostupných dat velmi snadno a rychle spočítal, že rozdíl v prevalenci *Blastocystis* spp. u lidí s kontaktem a bez kontaktu se zvířaty (22 % vs 16 %, graf 10) je statisticky nevýznamný ($p = 0,5698$).

Diskuze je psána na úctyhodných 11 stranách. Studentka porovnává zjištěné výsledky s údaji publikovanými ve světě. Pro snazší orientaci čtenáře je diskuze rozdělena na samostatné kapitoly.

Závěrem mohu konstatovat, že studentka odvedla velký kus práce. V porovnání s řadou jiných studií vyšetřila poměrně velké množství vzorků. Jsem přesvědčen, že předložená práce splnila svůj cíl a přes některé výhrady je kvalitně vypracována. Moje připomínky nejsou zásadního charakteru. Práci doporučuji jako podklad k obhajobě s hodnocením výborně.

Žádám studentku o zodpovězení následujících otázek:

- U kterých zvířat byl detekován subtyp ST3, ST6 a ST7 (strana 5). Dále v textu, jak je uvedeno, to není zmíněno.
- Co znamená pojem „hostitelsky specifitější“ (strana 5)?
- Jaký subtyp byl použit jako kontrola pro PCR reakce (strana 23)?
- Jaký je rozdíl v používání označení SSU rRNA a SSU rDNA?
- Jaká je vnitro-subtypová variabilita *Blastocystis* spp.? Kolik je známo alel v rámci jednotlivých subtypů?
- Jaké statistické metody by bylo vhodné použít pro vyhodnocení získaných výsledků?
- Je známo něco o rozdílné patogenitě jednotlivých subtypů *Blastocystis* spp.?
- Jak si studentka vysvětluje relativně vysoký výskyt subtypu ST7 v lidské populaci v České republice?

V Českých Budějovicích 23. dubna 2019

prof. Ing. Martin Kyáč, Ph.D.
Parazitologický ústav BC AV ČR, v.v.i.

