

Oponentský posudek na diplomovou práci

Název práce: Průzkum výskytu oportunního prvoka, *Giardia intestinalis*, u zdravých lidí a jejich zvířat v ČR s použitím qPCR

Autor práce: Bc. Kristýna Brožová

Školitel: MVDr. Kateřina Jirků, Ph.D.

Školitel specialista: RNDr. Milan Jirků

Instituce: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta

Zvolené téma diplomové práce zaměřené na detekci *Giardia intestinalis* pomocí qPCR je velmi zajímavé. Giardióza se klinicky projevuje zejména jako průjemové onemocnění, avšak ne vždy dojde její manifestaci, a ne vždy (i v případě klinických příznaků) dochází k dostatečnému a rovnoměrnému vylučování cyst trusem. Tím pádem je běžná diagnostika v laboratořích znesnadněna, často se stává, že jsou vzorky trusu falešně negativní. Proto vítám snahu využití qPCR diagnostiky při detekci giardií.

V předkládané magisterské práci v úvodní části autorka důkladně popisuje vývojový cyklus, klinické příznaky, problematiku mikrobiomu a důkladně se také věnuje zoonotickému potenciálu, výskytu giardií u lidí i zvířat a uvádí také možnou diagnostiku. Tato úvodní část je zpracována adekvátně, uvítala bych malou zmínku k léčbě onemocnění, když studentka rozvádí problematiku mikrobiomu a použití probiotických kmenů bakterií jako podpůrnou léčbu.

Hlavním cílem práce bylo detekovat střevního prvoka u zdravých dobrovolníků s použitím qPCR diagnostiky, s jednotlivými dílčími úkoly (optimalizovat qPCR protokol pro detekci *G. intestinalis*, zjistit prevalenci *G. intestinalis* na souboru dobrovolníků a jejich zvířat v ČR, porovnat citlivost qPCR a konvenční PCR, zjistit korelace mezi přítomností *G. intestinalis* a specifickými faktory). Všechny výše zmíněné cíle práce jsou formulovány srozumitelně.

Metodická část se zaměřuje na techniky detekce formou PCR, qPCR a flotace, tato kapitola je zpracována adekvátně.

Výsledky jsou uvedeny pomocí 5 tabulek a dalšího doprovodného textu, vše je popisováno jasně a pochopitelně. Studentce se podařilo prakticky zavést qPCR diagnostiku a porovnala její citlivost s dalšími výše zmíněnými metodami. Kristýna zjistila poměrně vysokou prevalenci *G. intestinalis* u lidí (7%) a zvířat (19 %). Nicméně bohužel některé věkové skupiny lidí a některé druhy zvířat jsou reprezentovány poměrně malým počtem vzorků a tak by se teoreticky dalo očekávat, že by číslo mohlo být i vyšší (hlavně u malých dětí). Z důvodu nízkých intenzit infekcí se autorce nepodařilo ve velké většině získat dostatečné množství sekvencí pro určení asambláží (byly určeny pouze 2 vzorky), tuto část výzkumu tedy nelze hodnotit. Jsem ráda, že se Kristýně podařilo porovnat senzitivitu diagnostických metod a již poněkolkáté potvrdit nedostatečnou citlivost konvenční PCR. Studentka dále zjistila specifickou korelaci výskytu parazita u lidí s kontaktem se zvířaty. Ostatní dílčí faktory (cestování, život ve městě x život na venkově, pohlaví) nebyly statisticky významné. Problematika věku nebyla v určitých věkových kategoriích zcela jasná z důvodu neproporcionálního zastoupení některých věkových kategorií, což však nebylo chybou studentky.

Formální stránka:

Práce je formulována jasně a přehledně celkem na 51 stranách. V práci jsem narazila pouze na několik drobných chyb (tečka navíc, špatné skloňování, použití jednotného/množného čísla), kvalitu práce tyto drobnosti nesnižují. Chtěla bych studentku pochválit za bezchybné reference, žádné nechybí ani nepřebývají, a jsou čerpány z aktuálních a kvalitních zdrojů. Počet referencí je adekvátní pro tento typ práce. Autorka se drží se citační normy.

Závěr:

Závěrem lze říci, že předložená diplomová práce je napsána přehledně, studentka zpracovala dostatečně velké množství vzorků na to, aby z práce šly vyvodit přínosné závěry. Kristýna prokázala schopnost formulovat kvalitní ucelený odborný text a podařilo se jí splnit jak hlavní cíl práce (zavedení a použití qPCR diagnostiky na prvoka *Giardia intestinalis*) tak i ty dílčí. Zvolené téma diplomové práce je velmi zajímavé, a tudíž jsou výsledky dále využitelné pro další výzkumné, tak rutinně diagnostické účely.

Tímto doporučuji magisterskou práci k obhajobě. Navrhuji hodnocení A v případě kvalitní obhajoby.

Otázky oponenta:

Je možné metodu qPCR využít v běžné humánní nebo veterinární diagnostice *G. intestinalis*?

Jaké jsou požadavky na čerstvost vzorku pro metodu qPCR pro detekci giardií?

Jaký je názor studentky na léčení bezpříznakových pacientů s pozitivním záchytem *G. intestinalis* u lidí i zvířat? Jakou případnou terapii by studentka volila (použití metronidazolu X probiotika)?

V Brně 5.1. 2022

Podpis.....

Mgr. Helena Stříbrná, Ph.D.

Mgr. Helena Stříbrná, Ph.D.

Ústav patologické morfologie a parazitologie

Veterinární univerzita Brno

Palackého 1946/1

612 42 Brno

e-mail: stribrnah@vfu.cz