

Oponentský posudek na diplomovou práci

Autor práce: Bc. Andrea Kašparová

Název práce: Prevalence střevního prvoka *Dientamoeba fragilis* v populaci lidí a zvířat v České republice.

Předložená diplomová práce Andrey Kašparové se zabývá problematikou prevalence prvoka *Dientamoeba fragilis* u lidí i různých druhů domácích zvířat. Práce se zabývá aktuálním tématem a rozšiřuje poznání o prvoku *D. fragilis* ve zdravé populaci s přihlédnutím k životnímu stylu lidí. Diplomová práce je dobře zpracovaná, čtivá a přehledná a odpovídá požadavkům kladeným na diplomové práce Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích. Část práce je již opublikována ve vědeckém článku Jirků *et al.* 2022, což značí vědecké kvality dosažených výsledků.

Práce je psána na 45 stranách včetně literatury. Je klasicky členěna a rozdělena do standardních částí. Úvod je přehledný, poskytuje dostatek informací o daném tématu a přehledně seznamuje čtenáře s danou problematikou.

Cíle práce jsou formulovány jasně a směřují k doplnění dat týkajících se prevalence prvoka *D. fragilis* ve zdravé populaci dobrovolníků a jejich domácích zvířat.

Materiál a metodika jsou sepsány přehledně, vytkl bych určitou nekonzistenci v dodaných informacích. Pro cPCR jsou uvedeny informace, které pro qPCR dostupné nejsou – konkrétně složení reakce.

Výsledky jsou sepsány také jasně.

Diskuse a závěr celkem na úctyhodných skoro 11 stranách dobře shrnují dosažené výsledky a diskutují je s dostupnou literaturou.

Z nedostatků práce bych upozornil na následující:

Ačkoliv jeden z cílů bylo optimalizovat qPCR protokol, nikde se nedozvíme, jak a proč byl optimalizován. Musíme se spokojit pouze s výslednými podmínkami, aniž je jasné proč autorka nakonec použila právě dané podmínky.

V rámci práce jsou průběžně zaměňovány termíny Evropa (např. str. 18, první odstavec) a EU (např. str. 24, první odstavec) a není tak jasné jakou zeměpisnou oblast konkrétně autorka měla na mysli v případě cestování účastníků studie.

První odstavec výsledků na straně 18 je jeden z mála s několika přešlapy: „140 respondentů Necestovalo v rámci Evropy“, předpokládám mělo být cestovalo, nikoli necestovalo. Autorka používá různé fonty pro symbol %.

Než se dostanu k dotazům, které jsou většinou doplňujícího rázu, bych rád konstatoval, že přes všechny mnou uváděné nedostatky je práce kvalitní a studentka odvedla kus dobré práce. Mé připomínky nejsou zásadního charakteru a práci doporučuji k obhajobě.

Nakonec si dovoluji požádat studentku o zodpovězení následujících otázek:

- 1) Myslíte si, že opakované odběry (např. několik dní za sebou, jako bylo uvedené v jedné Vámi citované studii) by vedly ke zvýšení pozitivitu ve Vámi sledované populaci? Očekávala byste více pozitivních výsledků?
- 2) qPCR vyšla jako jasně citlivější metoda. Nicméně pro cPCR byl přidán ještě další ověřovací krok – sekvenování. Bylo by nějak možné dále ověřit i výsledky a specifitu i pro qPCR?
- 3) Píšete, že všechny vzorky, konkrétně 23, pozitivní pro cPCR a ověřené pomocí sekvenování, vyšly pozitivně i pro qPCR. Jak na qPCR dopadly vzorky, které byly pozitivní pro cPCR, ale sekvenování je nepotvrdilo?
- 4) Máte nějakou hypotézu, či vysvětlení, proč je qPCR citlivější, respektive dokáže zachytit více pozitivních vzorků než cPCR?

- 5) V sekci Materiál a metodika, část klonování, píšete, že ampicilin byl použit pro zamezení růstu nežádoucích organismů. Jaké nežádoucí organismy máte na mysli? Neměla byste v této fázi pracovat, pokud možno, sterilně?
- 6) Následně píšete, že jste použila Xgal a IPTG, proč? Další odstavec začíná výběrem 3 bílých kolonií. Není ale vysvětleno, proč Vás zajímají bílé kolonie. Měla jste i nějaké jiné?
- 7) Na několika místech je zmiňována koinfekce *Dientaméby* s *Blastocystis* a *Giardií*. Vždy je ale poskytnuta informace pouze pro kombinaci *Dientaméby* a *Blastocystis* a poté pro všechny tři prvoky najednou. Nabízí se otázka, jaká byla situace pro *Dientamébu* dohromady pouze s *Giardií*? Objevila jste koexistenci jen těchto dvou druhů?
- 8) V Diskusi, na začátku třetího odstavce píšete, že vzhledem k malým cystám, které lze v preparátu snadno přehlédnout je tradiční mikroskopická diagnostika náročná. Mají tedy *Dientaméby* cysty nebo ne? V úvodu máte poměrně dlouhou pasáž věnovanou této problematice a pochopil jsem, že cysty stále nejsou stoprocentně potvrzeny.

V Českých Budějovicích dne 16.5.2023

RNDr. Jiří Týč, Ph.D.