

**Posudek na magisterskou práci Bc. Martiny Šloufové na téma
„qPCR diagnostika střevního prvoka *Blastocystis* sp. v souboru vzorků od zdravých lidí“**

Předložená magisterská práce úzce souvisí s úspěšně obhájenou magisterskou prací Zuzany Lhotské „Studium střevních prvoků rodu *Blastocystis* v mikrobiomu člověka“, jejíž výsledky byly následně publikovány v impaktovaném časopise *Frontiers in cellular and infection microbiology* (Lhotská et al. 2020) a zabývající se studiem prevalence *Blastocystis* sp. pomocí konvenční PCR. Předložená práce Martiny Šloufové plně zapadá do komplexní studie střevních parazitů člověka řešené na pracovišti školitele.

Magisterská práce je tradičně rozdělena do hlavních kapitol úvod, cíle, materiál a metodika, výsledky, diskuze, závěr a seznam použité literatury, které obsahují celou řadu podkapitol. Celkový rozsah práce činí 51 stran.

Úvodní část diplomové práce seznamuje čtenáře s životním cyklem *Blastocystis*, výskytem a prevalencí, genetickou diverzitou a klinickým významem s důrazem na ovlivňování mikrobiomu střeva. Posledním oddílem úvodu je soupis a porovnání konvenčních a molekulárních metod používaných v diagnostice *Blastocystis*.

Cíl práce je jasně formulován do jednoho hlavního bodu, jmenovitě zavedení a optimalizace qPCR protokolu pro diagnostiku střevního prvoka *Blastocystis* sp. v souboru vzorků od zdravých lidí. Tento hlavní cíl je následně rozdělen do tří dílčích chronologicky řazených bodů, jejichž postupné splnění bylo nezbytné ke splnění hlavního cíle.

Kapitola materiál a metody obsahuje soupis použitého materiálu a metod používaných během řešení vytyčené problematiky, přičemž největší pozornost je věnována metodě qPCR.

Výsledky jsou podrobně zpracovány, odpovídají členěním vytyčeným dílčím cílům.

V diskuzi autorka hodnotí své výsledky a konfrontuje je s výsledky ostatních autorů zabývajících se prevalencí *Blastocystis* u lidí, přičemž porovnává senzitivitu použitých metod s důrazem na možnost detekce smíšených infekcí pomocí NGS.

Závěr shrnuje nejdůležitější výsledky, které odpovídají jednotlivým vytyčeným cílům práce.

K autorce mám několik věcných dotazů:

1. **Jaká kategorizace stupně kolonizace je správně nastavena?** V kapitole 3.2.1. autorka uvádí kategorie 10^0 - 10^1 (nízká intenzita), 10^2 - 10^3 (střední intenzita) a 10^4 - 10^5 (vysoká intenzita), přičemž dále ve výsledcích, diskuzi a závěrech používá autorka vždy o jeden řád vyšší.
2. **Má autorka informace u lidí pozitivních na „zoonotické subtypy“ ST6 a ST7 o potenciálním kontaktu těchto lidí se zvířaty?**
3. **Poslední otázka se týká rutinní laboratorní praxe v oblasti *Blastocystis*. Chtěl bych se zeptat na doporučení autorky ohledně nejlepší kombinace metod pro laboratorní vyšetření s ohledem na jejich senzitivitu, specifitu, ale i finanční a časovou náročnost?**

Závěr: Předložená magisterská práce splňuje vytyčené cíle. Svědčí o schopnosti autorky pracovat s vědeckou literaturou, provádět řadu laboratorních postupů a ze získaných výsledků vyvozovat závěry.

Předložená diplomová práce Bc. Martiny Šloufové splňuje veškeré požadavky kladené na diplomové práce na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích a přes veškeré mé výtky **ji doporučuji k obhajobě.**

V Českých Budějovicích, 4. 5. 2022

RNDr. Bohumil Sak, Ph.D.

