

## Hodnocení bakalářské práce

Název práce: Molekulárně genetické metody a jejich uplatnění v současné mikrobiologické diagnostice (virové, bakteriální a mykotické infekce) - Stanovení virové rezistence na ganciclovir dané bodovými mutacemi v CMV fosfotransferáza genu *UL97*

Jméno autora: Jana Nedbálková

Jméno školitele: MUDr. Jana Matějková, Ústav lékařské mikrobiologie 2.LF a FN v Motole

Jméno oponenta: Mgr. Miroslav Zajac, Ústav lékařské mikrobiologie 2.LF a FN v Motole

Rozsah bakalářské práce: Bakalářská práce obsahuje 40 stran včetně jedné přílohy

Hodnocení aktuálnosti tématu: Ganciclovir je nejčastěji používaným antivirotikem, které se používá k léčbě infekce lidským cytomegalovirem (CMV) u osob v těžké imunosupresi jako jsou pacienti po transplantaci. Narůstající počet transplantovaných pacientů spolu se zavedením dlouhodobé profylaktické nebo preemptivní terapie ganciclovirem u těchto pacientů vede rovněž k nárůstu vzniku CMV kmenů rezistentních vůči gancicloviru, ale i jiným užívaným antivirotikům. Proto je nutné s tímto jevem počítat a zavést detekci rezistentních CMV kmenů do rutinní diagnostické praxe. Z tohoto hlediska je zvolené téma velmi aktuální a potřebné.

Hodnocení struktury bakalářské práce: Struktura hodnocené práce vychází z klasického schématu a obsahuje všechny potřebné části.

Hodnocení odborné úrovně bakalářské práce: V teoretickém úvodu autorka stručně popsala molekulárně biologické přístupy v diagnostice infekčních onemocnění. Tento přehled není a ani nemůže být na tak omezeném prostoru jakým je bakalářská práce detailní a vyčerpávající, nicméně jako úvod do problematiky je vhodný. Dále se autorka soustředila na popsání vlastností lidského cytomegaloviru a na charakterizaci virové rezistence na ganciclovir, což je v souladu s následující experimentální částí. Cílem práce bylo zvolit vhodnou polymerázovou řetězovou reakci (PCR) a odladit její reakční podmínky k amplifikaci vhodných úseků genu *UL97*. Autorka vychází z klasických prací Chou a spoluautorů. Zvolené dvě sady primerů amplifikují dva různé úseky genu *UL97*, které pokrývají místa, ve kterých je popsán nejčastější vznik ať již bodových mutací nebo delecí vedoucích k rezistenci

daného kmene CMV na ganciclovir. Po vyřešení tohoto dílčího úkolu následuje samotná detekce rezistentních kmenů CMV pomocí štěpení produktů PCR restričními endonukleázami. Zvolené tři enzymy (*TaqI*, *HhaI*, *HinIII*) štěpí tyto produkty v místech, ve kterých dochází k nejčastějšímu vzniku bodových mutací a tato místa patří také pochopitelně k nejdéle popsaným. Samozřejmě těchto míst je celá řada a objevují se stále nová, o čemž se autorka ve své práci rovněž zmiňuje. Volba daných enzymů je proto pro zahájení práce na detekci rezistentních kmenů CMV vhodná, i když do budoucna určitě není konečná. Pomocí zvolené metody bylo postupně vyšetřeno 21 pacientů (celkem 36 vzorků) ohrožených infekcí CMV, u kterých bylo na základě klinických poznatků stanoveno nebezpečí vzniku rezistentních kmenů CMV. Z tohoto souboru byl vznik rezistentních kmenů prokázán u 4 pacientů. V diskuzi se autorka rovněž zmiňuje o možnostech detekce rezistentních kmenů s využitím moderních technologií (sekvenace vhodných úseků genu *UL97*, DNA čipy). Celkově je předložená práce na dostatečně vysoké odborné úrovni, která je na bakalářskou práci zcela vyhovující.

#### Hodnocení formální stránky bakalářské práce:

Po formální stránce předložená práce vyhovuje požadavkům na bakalářskou práci.

Hodnocení přínosu bakalářské práce: Největším přínosem bakalářské práce je, že se jedná o definování nového problému a zavedení přístupu k jeho řešení. Tato problematika nebyla předtím na pracovišti řešena a nejedná se proto o uplatnění rutinně používaných metod. Na řešitelském pracovišti je proto nyní na co navázat a z předložené práce bude pracoviště do budoucna profitovat.

Doporučení: Jak již vyplývá z výše uvedeného, doporučuji pokračovat v nastoupené cestě detekce rezistentních kmenů CMV. Do budoucna doporučuji rozšířit počet detekovaných rezistentních kmenů (mutací), eventuálně zavést sekvenování vhodných úseků genu *UL97* a metodu s požitím restriční analýzy používat jako screeningovou.

Celkové vyjádření: Předloženou bakalářskou práci doporučuji k dalšímu řízení.

V Praze 2.5.2007



Mgr. Miroslav Zajac

Ústav lékařské mikrobiologie 2.LF a FN v Motole