

## Posudek oponenta na disertační práci

Název: **Výskyt LA-MRSA a CA-MRSA v populaci s vyšším rizikem nosičství**

Autor: **MUDr. Kateřina Neradová**, Lékařská fakulta UK, Hradec Králové

Školitel: doc. MUDr. Helena Žemličková, Ph.D.

Datum: 29.7.2020

Autorka předkládá disertační práci na základě autorství 4 článků v impaktovaných časopisech včetně dvou publikací prvo-autorských, čímž nepochybně splňuje podmínky pro udělení titulu PhD. Tři z nich jsou tématicky zaměřené. Předkládaná práce shrnuje výsledky studie výskytu MRSA mezi účastníky veterinární konference. Mezi 134 respondenty bylo zachyceno 9 izolátů MRSA, které byly dále blíže analyzovány. Považoval bych také za vhodné přiložit originální znění prací, z nichž text dizertace vychází. Seznam těchto publikací je pouze uveden v autoreferátu. Je škoda, že autorka nezahrnula i výsledky dvou dalších tématických prací (obě Folia Microbiologica) do disertace, zejména když velká část teoretického úvodu popisuje nemocniční kmeny MRSA a terapie infekcí způsobených MRSA. Práce se tak podle mě zbytečně zredukovala pouze na analýzu jedné ekologické/epidemiologické situace, kterou byla konference veterinárních pracovníků. Název není dle mého mínění příliš vhodně zvolen – tematika CA-MRSA avizovaná v názvu článku není s výjimkou odstavce z přehledu literatury v disertační práci obsažena.

### TÉMA DISERTACE

Problematika MRSA patří již po desetiletí mezi nejaktuálnější témata lékařské bakteriologie. V posledních letech se do popředí dostává problematika kmenů MRSA pocházejících z hospodářských zvířat (LA-MRSA) a kmeny MRSA izolované od lidí v komunitě (CA-MRSA). V podmínkách ČR se problematikou posledně jmenovaných kmenů zabývá jen omezené množství mikrobiologů a představa o ekologii a roli v etiopatogenezi infekcí je proto omezená. Z těchto důvodů je téma disertační práce velice aktuální. Na začátku práce chybí jasná definice, co je rozuměno jako CA-MRSA a LA-MRSA, případně nemocniční MRSA.

### METODY ZPRACOVÁNÍ

Kmeny MRSA byly analyzované pomocí fenotypových a moderních genotypových metod, včetně sekvenačních, které se využívají při stanovení biologických vlastností a klonální příslušnosti kmenů *Staphylococcus aureus* včetně MRSA. Provedení řady těchto genotypových metod vyžaduje značnou laboratorní zkušenost a interpretace výsledků je rovněž poměrně náročná. Zvládnutí těchto metod je předpokladem k získání kvalitních výsledků disertace, případně základem pro další experimentální práci v laboratoři.

### VÝSLEDKY DISERTAČNÍ PRÁCE A JEJICH INTERPRETACE

Pomocí použitých metod byla provedena fenotypová a klonální analýza izolátů MRSA. Tvrzení autorky, že LA-MRSA detekovaná u respondentů se přenesla z psů a koček, je dle mého ne příliš pravděpodobné, vzhledem k tomu, že tato klonální linie nebyla u daných psů a koček izolována (str. 62) a odborná literatura to, pokud vím, rovněž nedokládá. Na základě izolace nemocniční linie MRSA od veterináře nelze usuzovat, že se mezi zvířaty vyskytuje humánní (myšleno asi spíše nemocniční) linie MRSA sporadicky (str. 63).

### CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Cíle práce byly splněny.

### DOPORUČENÍ PRÁCE K OBHAJOBĚ

**Práci doporučuji k obhajobě a získání titulu PhD.**

### OTÁZKY K OBHAJOBĚ

- Autorka avizuje, že výsledky studie budou použity pro tvorbu doporučených postupů – stalo se tak, a jak se postupy změnil?
- autorka uvádí, že výsledky MLST a PFGE (makrorestrikční analýzy) jsou srovnatelné, v jakém smyslu? V čem se tyto metod liší a co jsou jejich (ne)výhody?
- jaký je důvod spolehlivějšího detekce MRSA pomocí cefoxitinu v porovnání s oxacilinem?
- Proč je třeba imunochromatografický test konfirmovat dalšími metodami? (str.18)

## POZNÁMKY

- Str. 6 - Chybí zmínka o genu *mecB*.
- Str. 15 - Význam pojmu DNA netřeba vysvětlovat.
- Str. 16, obrázek 1. MSSA a MRSA na krevním agaru - autorka deklaruje, že nelze MRSA a MSSA odlišit. Na zvoleném obrázku je nicméně patrný rozdíl v pigmentaci a hemolýze srovnávaných kmenů.
- Str. 18 - Chybí zmínka o možnosti střevního nosičství *S. aureus*.
- Str. 19. Poslední odstavec neobsahuje žádnou citaci, která by dokládala uvedená tvrzení.
- Obrázek 7 - Není jasné, jestli mají velikosti kruhu pro jednotlivé kmeny nějaký význam.
- Str. 29, tab 4. - Pro genetické linie CA-MRSA již neplatí, že jsou rezistentní pouze k betalaktamům. V tabulce chybí také zmínka specifických genetických markerů jako je PVL, ACME, COMER, atd.
- Str. 30 – Pro experimentální část práce nemá tato kapitola význam, vhodnější by byla diskuze výskytů mechanismů rezistence k jednotlivým ATB.
- Str. 31, kapitola 8 – Kapitola se věnuje prevenci MRSA v nemocničním prostředí což s tématem práce nesouvisí.
- Str. 33 - Vatový (celulozový) tampon se již obvykle nedoporučuje, vata špatně uvolňuje zachycené mikroorganismy, navíc v případě přímého průkazu pomocí PCR působí jako inhibitor.
- Str. 35 – Postup zpracování vzorku není jasně vysvětlen. Konkrétně jestli byly vzorky před vyočkováním pomnoženy v tekutém médiu, nebo co bylo v tekutém médiu pomnožováno.
- Str. 36 - U softwaru by bylo vhodné napsat čemu se využil. Seznam přístrojů typu centrifug, mrazniček a vortexu a stejně tak materiálu typu inokulačních kliček a gumových rukavic by nemusel myslím být uveden.
- Str 45 - Uvádět poměr mužů a žen v souboru koláčovým grafem na půl strany je myslím zbytečné.
- Str 46 - Pro větší přehlednost bych volil sloupcové grafy.
- Str 48 - V textu chybně 8% (6/130).
- Str 50 a 51 - Bylo by vhodné odsazením textu a případně změnou velikosti písma dosáhnout toho aby tabulky byly v celku a nedělil je konec stránky.

doc. MVDr. Oto Melter, PhD.

Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK

V Úvalu 84

15006 Praha 5