

POSUDEK OPONENTA DISERTAČNÍ PRÁCE

Studium bakteriální a mykotické mikrobioty člověka a domácích zvířat jako možného zdroje rezistence k antibiotikům

Autor DP: RNDr. Jan Wipler

Posouzení předložené disertační práce:

Disertační práce (DP) s názvem „Studium bakteriální a mykotické mikrobioty člověka a domácích zvířat jako možného zdroje rezistence k antibiotikům“, kterou předkládá student DSP RNDr. Jan Wipler, je zaměřena na základní cíl, kterým je porovnat druhové složení a početnosti druhů oportunně patogenních bakterií a kvasinek u chovatelů a jejich domácích zvířat, následně pak vyhodnotit vliv intimity jejich kontaktu a doby soužití na spektrum a počet izolovaných mikroorganismů. Zároveň autor hodnotí výskyt sdílených izolátů mikroorganismů a porovnává jejich rezistencí na antibiotika (ATB). Z pohledu oponenta bych obecně jako cíl předkládané DS označil analýzu rizik soužití člověka s domácími zvířaty v oblasti možnosti přenosu patogenních mikroorganismů a mikroorganismů s nebezpečným rozsahem rezistence k ATB.

Zvolené téma DS pokládám za aktuální, svým zaměřením zapadá do současného konceptu řešení zoonóz „*One Health*“. Lidské zdraví, zdraví zvířat a zdravý ekosystém jsou neoddělitelně spojeny. Koncept „*One Health*“ se snaží podporovat, zlepšovat a chránit zdraví člověka a zvířat, včetně prostředí, ve kterém žijí. Pro lepší posouzení a zvládnutí rizik přenosu onemocnění mezi lidmi a zvířaty je potřeba více vzájemné komunikace a užší spolupráce mezi humánními a veterinárními lékaři. Tato otázka je obzvláště důležitá pro osoby s chronickými poruchami imunitního systému, kterým současně záleží na zvířatech jako společnicích a/nebo jako zdroji obživy. Domácí mazlíčci (tzv. pets) představují dnes významný prvek rozvoje psychosomatické oblasti dětí a mnohdy jsou nepostradatelným společníkem starých i nemocných osob. Platí zde zásada „*Healthy pets, healthy people*“.

Ze svého úhlu pohledu pokládám předloženou DP práci za významnou. Autor se snaží o objektivní analýzu skutečných rizik infekce člověka patogenní mikroflórou a/nebo jeho kolonizace mikroflórou s nebezpečným rozsahem rezistence k ATB ze zvířat. V současné době jsme konfrontováni s řadou nepodložených teorií, které tato rizika vycházející ze zvířat vysloveně demonizují. Nejedná se pouze o problematiku soužití s domácími mazlíčky, ale také o hospodářská zvířata a potraviny živočišného původu (maso, mléko, vejce „jsou plná antibiotik, hormonů“ atp...). Je s podivem, kolik lidí z řad laické, ale bohužel i odborné veřejnosti tomu věří. Důsledkem těchto procesů jsou pak např. snahy nátlakových skupin v rámci Evropské unie legislativně výrazně omezit a nejlépe úplně zakázat používání antibiotik u zvířat. Proto práce přinášející objektivní analýzu rizik soužití člověk - zvíře, a to nejen z pohledu závažnosti rizika, ale také z pohledu frekvence výskytu těchto rizik, jsou vždy přínosem.

Práce má 154 stran textu včetně příloh a je rozčleněna do dvou částí (teoretická a experimentální), které pak čítají 17 základních kapitol. Členění DP odpovídá obecnému

konceptu biomedicínských prací. Z formálního hlediska k celkovému rozsahu a členění práce nemám připomínky. Předpokládám, že autorem fotografií v příloze (obrázek č. 13 – 26) je předkladatel DP, přesto by tato skutečnost měla být v popisu k foto uvedena.

Metody aplikované v DP lze obecně rozdělit na metody použité ke sběru dat a materiálu, metody použité k laboratorním analýzám získaného materiálu a metody použité k vyhodnocení a interpretaci získaných výsledků.

V případě sběru klinického materiálu lidí a zvířat pokládám použité metodiky i rozsah materiálu za adekvátní. Soubor zdrojů vyšetřovaného materiálu (chovatelé, kontrolní skupiny i zvířata) a následný počet 1156 získaných vzorků je ke statistickému zpracování výsledků dostatečný. Odběr klinického materiálu, zejména výtěr z nosní sliznice, představuje přece jenom určitý diskomfort pro člověka i zvíře. Proto je třeba soubor členů 200 domácností, které materiál poskytli ocenit. Sběr anamnestických dat o majiteli i jeho zvířeti byl prováděn pomocí dotazníků (dotazníkové šetření), použité vzory uvádí kapitola 11.4. DP. Jedním ze sledovaných parametrů byl také tzv. Kontaktní index (CI), který měl zhodnotit míru intimity kontaktu člověk – zvíře v rozmezí hodnot 1 – 8 (vyšší číslo – „větší/blíží“ kontakt). Z textu kapitoly 11.4. však nevyplývá, jakým způsobem byla tato míra kontaktu hodnocena. Vychází tato hodnota z odpovědi majitele na bod 6. dotazníku? Míru intimity kontaktu také jistě ovlivní, zda-li se jedná o pracovní nebo společenské plemeno psa.

Analytické metody, použitý materiál a přístroje popisované v DS pokládám za standardní a vyhovující pro daný účel. V případě testování rezistence bakterií na antibiotika bych však jako vhodnější viděl použití diluční metody stanovující minimální inhibiční koncentrace ATB. Nenalezl jsem v metodice informaci o interní kontrole testování rezistence na ATB za pomoci sbírkových kmenů s definovaným rozsahem rezistence. Obrázky č. 9, 10 a 11, které ukazují záznamy naměřených spekter MALDI TOF MS pokládám v kapitole Metodika za zbytečné. Rovněž popis teoretického principu metody MALDI – TOF MS je v popisu Metodiky asi přebytečný. Naopak postrádám informaci o tom jaké identifikační skóre (rozsah) dosažené na hmotnostním spektrometru bylo považováno za dostatečné pro uzavření druhové, případně rodové identifikace testovaného izolátu. K uvedenému zhodnocení výhod metody MALDI-TOF MS: „hlavní výhodou je přesnost, rychlost a cena“, podotýkám, že „cena“ musí reflektovat i mnohamiliónovou vstupní investici na pořízení přístroje.

Pro statistické zpracování a interpretaci výsledků práce autor stanovil 6 nulových hypotéz, které po konfrontaci se získanými daty vyhodnotil statistickými metodami v programu NCSS 2021 v 21.0.4. Nejsem odborník v oblasti statistického zpracování dat, nicméně popis použitých metod a jejich aplikace mi připadá pro daný účel vhodná.

Výsledky práce jsou dokumentovány na řadě tabulek a grafů. Statistické zpracování dat dokladují protokoly zpracované SW, které autor následně komentuje. Jedná se o relativně složitý text, ve kterém se laik v oblasti matematických statistických analýz někdy složitě orientuje. Na základě výsledků práce autor dokládá, že sdílení domácnosti a blízký kontakt člověka s domácím mazlíčkem nepředstavuje z epidemiologického hlediska riziko pro zdravého člověka. Tento závěr je definován na základě relativně velkého souboru vzorků a podrobné statistické analýzy výsledků. Komplexní, detailně statisticky zpracovaná analýza tohoto problému nebyla v tomto rozsahu doposud v ČR publikována. Nepochybně jsou také

zajímavá zjištění, která svědčí o tom, že absence zvířat v domácnosti může znamenat vyšší úroveň kolonizace člověka kvasinkami. Výsledky pokládám za přínosné pro humánní i veterinární lékaře. Získaná zjištění jsou následně diskutována v kapitole 13. Diskuse bývá nejobtížnější částí většiny spisů a je trošku škoda, že výsledky autor diskutuje, v porovnání s ostatními částmi práce, v relativně kratším rozsahu.

Po prostudování výsledků práce a formulace jejích závěrů lze konstatovat, že autor základní cíle DP splnil.

Na autora DP mám následující dotazy:

1. U zvířete i jeho majitele byl izolován MRSA. Byl tento izolát podroben dalším analýzám (např. spa typizace) s cílem prověřit, zda-li se jedná o typ vyskytující se spíše u zvířat nebo typ vyskytující se běžně u lidí? Jinak souhlasím s hypotézou autora, že pravděpodobným primárním zdrojem byl člověk, který následně zvíře kolonizoval.
2. Z čeho vycházel a jak byl kvantifikován kontaktní index člověk – zvíře?
3. Uvažuje autor o dalším pokračování tohoto projektu s přechodem z „analýzy rizik“ soužití člověk – zvíře do „analýzy benefitů“ tohoto soužití pro člověka? Viz např. práce o pozitivním vlivu úzkého kontaktu dětí (ale i těhotných matek) se zvířaty na následnou prevalenci alergií, diabetu či obezity u dětí.

Závěrečné hodnocení doktorské disertační práce:

Po posouzení předložené disertační práce mohu konstatovat, že předložená práce *splňuje* požadavky kladené zákonem o vysokých školách, a proto ji *doporučuji* přijmout k obhajobě jako jeden z předpokladů pro udělení akademického titulu „*doktor*“ ve zkratce Ph.D.

Datum: 12. 3. 2023

Podpis oponenta práce:

Doc. MVDr. Jan Bardoň, Ph.D., MBA