

## Posudek oponenta na diplomovou práci

x <input type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: doc. MVDr. Oto Melter, PhD.
	Datum: 17.8.2015
Autor: Bc. Licie Kubištová	
Název práce: Studium fenoménu perzistence u <i>Staphylococcus aureus</i>	
<b>Cíle práce</b> Hlavní cíle (1. zavedení metody sledování perzistorů, 2. sledování tolerance k antibiotikům, 3. spojitost mezi stresem, expresí <i>sigB</i> a perzistencí, 4. stanovení fyziologického stavu průtokovou cytometrií) jsou uvedeny v Úvodu a jednotlivě ve Výsledcích na začátku každé experimentální části.	
<b>Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? <u>ANO</u> NE</b> Rozsah práce (počet stran): 95 včetně citací Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, <u>ANO</u> NE Je uveden seznam zkratk? <u>ANO</u> NE	
<b>Literární přehled:</b> Odpovídá tématu? <u>ANO</u> NE Je napsán srozumitelně? <u>ANO</u> NE Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? <u>ANO</u> NE Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? <u>ANO</u> NE Literární přehled nebývale velkého rozsahu obsahuje 243 citací, z nichž velkou část tvoří výčet prací z posledních let včetně roku 2015. Práce popisují jak historii tak samotný fenomén perzistence u různých druhů mikroorganismů, včetně průvodních fenoménů jako jsou rezistence a tolerance k antibiotikům, dormance, biofilm, auxotrofní a jiné fenotypy bakterií sehrávající roli v perzistenci. Jde o velmi kvalitní část diplomové práce.	
<b>Materiál a metody:</b> Odpovídají použité metody experimentální kapitole? <u>ANO</u> NE Kolik metod bylo použito? V práci bylo použito souhrnně 7 metod včetně moderních genotypových metod. Jsou metody srozumitelně popsány? <u>ANO</u> NE Metodiky jsou přehledně a srozumitelně popsány.	
<b>Experimentální část:</b> Je vysvětlen cíl experimentů? <u>ANO</u> NE Je dokumentace výsledků dostačující? <u>ANO</u> NE - v čem jsou nedostatky? Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky? <u>ANO</u> NE – co chybí, v čem je nedostačující? Práce obsahuje zásadní experimenty důležité pro vhléd do znovuobjevené problematiky perzistence. Podmínky experimentů a bakteriální kmeny jsou zvolené správně vzhledem k velkému počtu faktorů, které mohou perzistenci ovlivňovat.	
<b>Diskuze:</b> Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? <u>ANO</u> NE Diskuze srovnává vlastní dosažené výsledky s výsledky jiných autorů, kdy někdy potvrzuje jejich výsledky, nebo vyvrací, či rozšiřuje (např. oxidativní stres u <i>S. aureus</i> na rozdíl od <i>E. coli</i> (Wu et al.2012) neovlivňuje citlivost k fluorochinolonům). Jsou výsledky porovnávány s literaturou? <u>ANO</u> NE	

Všechny důležité výsledky jsou srovnány s literaturou.

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? **ANO** NE  
Autorka vyslovuje hypotézu, že aktivita *sigB* za podmínek osmotického stresu u *S. aureus* se může podílet na zvýšené toleranci k antibiotikům a že je nutné tuto hypotézu dále testovat.

**Závěry (Souhrn) :**

Jsou výstižné? **ANO** NE

Z povahy tématu není možné aby tato diplomová práce obsahovala zcela jednoznačné závěry. Interpretace výsledků je v závěru uvedena správně vzhledem k předpokladům a uvedeny jsou i hypotézy, které z výsledků vyplývají.

**Formální úroveň práce** (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Obrazová dokumentace poskytuje přehlednou orientaci ve vlastních experimentálních výsledcích. Legendy grafů a obrázku jsou výstižné a jasné. Text celé práce je jasně formulovaný a srozumitelný. Pouze zcela výjimečně se v textu vyskytují výrazy nebo slovné spojení, které se v laboratoři běžně používají, ale ve formálním textu lze použít lepší alternativu: např. "perzister" v češtině podle mého názoru raději "perzistor"(od slovesa perzistovat); "panuje mezi vědci"(str.18), "vědci veskrze shodují"(str.21) a pod. raději nahrazovat "jiní autoři" s doplněním citace; spojení "noční kultura"(str.22, 40-42) vzniklé pravděpodobně z "overnight culture" se nejčastěji vyjadřuje v klinické mikrobiologii jako "24-hodinová mikrobiální kultura" ( i když jde o kultivaci obvykle v intervalu 16-24 hodin), u spojení "beznukleázová voda", "těnkostěnné PCR zkumavky" a "standartní PCR" lze první zbytečná slova vynechat. Tyto formální nedostatky nesnižují úroveň práce.

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

Jednotlivé Cíle práce byly splněny. Diplomová studentka zavedla metody sledování perzistorů a tolerance k antibiotikům. Podařilo se prokázat spojitost mezi stresem určitým stresovým faktorem, expresí *sigB* a perzistencí. Rovněž slibné bylo využití průtokové cytometrie i když se nepodařilo kvantifikovat minoritní dormantní část populace a odlišit je od živých metabolizujících buněk.

**Otázky a připomínky oponenta:**

- 1) Jakým způsobem bylo možné usuzovat na přítomnost biofilmu v tekuté kultuře (str. 50, poslední věta)?
- 2) Je v literatuře u stafylokoků popisované zvýšení přežití působením antibiotik po předchozím vystavení osmotickým stresem, jak uvádíte ve vašich výsledcích?
- 3) Jsou stresové faktory a mechanismus vzniku perzistorů ke každému antibiotikům jiný a nelze v podmínkách in-vivo předpokládat za určitých podmínek (např. minimalizace stresových podmínek) lepší účinek vybraných antibiotik?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

x  výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

