

v Brně dne: 16. 10. 2013

**Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Kláry Vilimovské Dědečkové „Molekulární a epidemiologická charakteristika kmene *Burkholderia cenocepacia* dominujícího u pacientů s cystickou fibrózou v České republice“**

Disertační práce Mgr. Kláry Vilimovské Dědečkové se zabývá studiem bakterií způsobujících infekce u pacientů s cystickou fibrózou, tedy především o bakterie komplexu *Burkholderia cepacia*. Autorka se v disertaci zabývá epidemiologií a molekulárně genetickou diagnostikou bakterií komplexu *Burkholderia cepacia*. Navíc se podařilo v genomu českého epidemického kmene *B. cenocepacia* ST32 najít sekvenčně unikátní oblast, pro kterou byla navržena a odzkoušena PCR diagnostika. Dalším zásadním zjištěním předkládané práce je fakt, že klinické izoláty *B. cenocepacia* vykazují vysokou míru variability ve virulenci jednotlivých kmenů. Předložená práce se tedy zabývá velmi zajímavým a aktuálním tématem a přináší celou řadu původních a velmi významných a cenných výsledků.

Autorka ve své práci používala řadu mikrobiologických (kultivace bakterií a vyšetření citlivosti k antibiotikům) a molekulárně-biologických technik zahrnujících detekci bakteriální DNA pomocí dvoukrokové PCR, pulsní gelovou elektroforézu, náhodnou amplifikaci polymorfních úseků DNA, multilokusovou sekvenční typizaci a analýzu mezigenového prostoru mezi lokusy kódující ribosomální RNA. Dále autorka použila genomickou subtraktivní hybridizaci při hledání jedinečných oblastí genomů vybraného patogena a stanovila stupeň virulence kmenů *B. cenocepacia* pomocí experimentů na modelových organismech. Z uvedeného výčtu technik, které autorka použila při studiu dané tematiky, je patrný mimořádně široký metodický záběr autorky. Přitom jde povětšinou o relativně složité experimentální postupy, které vyžadují značnou zkušenost a zručnost.

Práce je členěna na úvod, který obsahuje přehled studované problematiky a dále na jednotlivé kapitoly, kombinující použitý materiál a metody, výsledky experimentální práce a diskusi. I když většina disertací má poněkud odlišnou strukturu, zacílení na jednotlivé problémy odděleně působí přehledně a srozumitelně. Práce je

dále doplněna o seznam použitých zkratk, seznam použité literatury a přílohy. Délka a obsah jednotlivých kapitol jsou vyvážené. Práce je doplněna 3 publikovanými pracemi, na kterých se autorka podílela.

Práce je velmi přehledně a důkladně zpracována a právě snadná orientace v textu je jednou z výrazných kvalit této práce. Práce je z formálního hlediska velmi pečlivě sepsána, typografických chyb se vyskytuje jen zanedbatelné minimum. Přesto lze najít drobné chyby, např. u obrázku č. 2 nelze vidět popisky sloupců. Za připomínku stojí také to, že autorka ne zcela správně přeložila některé termíny (např. RISA, ribosomal intergenic spacer analysis, analýza mezigenového prostoru mezi malou a velkou ribosomální podjednotkou). Podobně výraz „kavkazská populace“ se spíše vztahuje k populaci na Kavkazu než ke kavkazoidní (europoidní) rase. Použití výrazu „plug“ (bloček) v české verzi v plurálu lokálu („pluzích“) jistě není správné. Podobně výrazy jako např. „zaklonovat“, „vyextrahovat“, „odpublikovat“ nepůsobí na čtenáře dobře. Navíc se autorka nevyhnula anglikanismům (např. smear, bandy). Celkově je však třeba konstatovat, že tyto drobné nedokonalosti zcela jistě nesnižují význam jinak jistě velmi kvalitní práce.

K uvedené práci mám několik otázek:

1. Autorka popisuje, že mezi faktory virulence *B. cenocepacia* patří hemolysiny. O jaké hemolysiny jde a byla role genů kódujících tyto proteiny nějak experimentálně ověřena?

2. Průběh infekce *B. cenocepacia* je modifikován pohlavím, věkem a typem mutace v genu *CFTR*. Existuje nějaká studie ukazující na rozdílný výskyt patogenních kmenů u pacientů s odlišnými mutacemi v genu *CFTR*? Jaká je role genetických variant kódujících komponenty imunitního systému (např. u pacientů s různými polymorfismy v TLR genech)?

3. Autorka popisuje, že plicní mikrobiom u pacientů s cystickou fibrózou s věkem vykazuje snižování bakteriální diverzity. U přirozeně se vyskytujících lidských mikrobiálních osídlení je tomu právě naopak. Má pro tento jev autorka nějaké vysvětlení?

Závěr

Předložená práce bohatě splňuje nároky kladené na disertační práci. Autorka publikovala výsledky své práce ve třech prestižních impaktovaných zahraničních časopisech, přičemž ve dvou z nich je autorkou první. Rád proto doporučuji, aby byl Mgr. Kláry Vilimovské Dědečkové, po úspěšné obhajobě a ve smyslu platných předpisů, udělen titul Ph.D.

doc. MUDr. David Šmajs, Ph.D.  
Biologický ústav LF MU  
Kamenice 5, budova A6  
625 00 Brno  
Tel.: 549 497 496  
E-mail: [dsmajs@med.muni.cz](mailto:dsmajs@med.muni.cz)