

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

AUTOR

RNDr. Šárka Vošahlíková, 2.LF UK, Praha

NÁZEV

Molekulární epidemiologie a vlastnosti bakteriálních původců infekcí plic u pacientů s cystickou fibrózou

POSUDEK

Práce je logicky strukturovaná na souhrn, literární přehled, cíle, materiál a metody, výsledky, diskuzi, reference a publikace autora. Obrazová příloha výborně doplňuje textovou část. Struktura a terminologie práce je výstižná a přispívá k velmi dobré srozumitelnosti odborného textu.

RNDr. Šárka Vošahlíková je první autorkou práce v respektovaných časopisech *Research in Microbiology* (IF 2,8) a druhou autorkou dvou prací uveřejněných v časopise *Journal of Clinical Microbiology* (IF 4,2), což rovněž potvrzuje originalitu a kvalitu předkládané disertační práce.

AKTUÁLNOST TÉMATU A SPLNĚNÍ CÍLŮ

Zajímavé dílčí cíle (1-3) byly beze zbytku splněny.

1. Velká genotypová rozmanitost izolátů *Pseudomonas aeruginosa* byla potvrzena pomocí dvou nezávislých genotypizačních metod (AFLP, PFGE), což vylučuje přenos infekce a přítomnost epidemického kmene mezi pacienty s cystickou fibrózou z Pražského centra. Původ těchto izolátů je pravděpodobně v prostředí, jak částečně uvádí odborná literatura.

2. Zavedena byla genotypová - metoda multilokusová analýza, která v tomto případě je zároveň metodou průkazu (identifikace) i klonální analýzy. Tato nekultivační metoda v sobě skýtá jak výhody rychlosti, tak v přesnosti identifikace druhů z komplexu *B. cepacia* i v případě ko-infekce vícero druhů a možnosti identifikace i nových druhů (*B. contaminans*) na rozdíl od jiných dosud používaných metod (*recA*). Originalita zavedení této metody do vyšetřovaného schématu je nejen z metodického ale i praktického hlediska - zásadní zrychlení a zpřesnění diagnostiky infekce.

3. Mobilní genetické elementy jsou vzhledem k jejich kapacitě intra-klonálního, inter-klonálního a mezidruhového přenosu DNA mimořádně zajímavými strukturami. Jejich funkce u klinicky významných bakterií, s výjimkou horizontálního přenosu rezistence k antibiotikům, je velmi málo prostudována. Předložená originální práce právě v tomto aspektu vyplňuje mezeru u *Burkholderia cenocepacia*, kdy u jednoho z analyzovaných kmenů (ST32) po imitaci stresových podmínek *in vitro* peroxidem dochází k přeskupování inzerční sekvence *ISBcen2*, která byla pravděpodobně důvodem změny fingerprintových profilů u chronologických izolátů tohoto kmene a *in vivo* se pravděpodobně podílí na etiopatogenezi chronické infekce.

METODY ZPRACOVÁNÍ

V experimentální části práce byla použita široká paleta moderních molekulárně-biologických metod, jejichž vyhodnocení a interpretace vyžaduje velmi dobrou znalost vyhodnocovacích metod.

VÝSLEDKY A JEJICH ORIGINALITA

Vhodně zvolené téma s řadou originálních výsledků (viz Splnění cílů).

PŘIPOMÍNKY A DOTAZY

Přehledná obrazová část, umožňuje rychlou orientaci ve výsledcích. V práci jsem našel pouze několik méně vhodných termínů, které by šlo nahradit lepšími – např. „napěstováním původního

kmene J2315“ (str. 52) namísto „kultivací původního kmene J2315“. Tyto drobné terminologické prohřešky však nesnižují kvalitu této originální disertační práce.

Otázky:

* Kterou metodu by jste doporučovala na klonální analýzu *P. aeruginosa* u pacientů s CF v současnosti?

* Měla metoda přímého průkazu a klonální analýzy u *Bcc* taky nějaké limitace?

* Nešlo by nějakým způsobem z přeskupení IS u *Bcc* předpokládat změnu klinického stavu u konkrétního pacienta?

DOPORUČENÍ PRÁCI K OBHAJOBĚ

Doktorand prokázal teoretické, experimentální a formulační znalosti, které využil při sepsání disertační práce. Předloženou disertační práci hodnotím výborně a doporučuji k obhajobě.

MVDr. Oto Melter, PhD.

v Praze 26.8.2014

Ústav lékařské mikrobiologie
2. lékařská fakulta UK
V Úvalu 84
150 06 Praha 5