

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Gabriely Novotné „ Resistance k makrolidům, linkosamidům a streptograminům u koaguláza negativních stafylokoků v ČR

Předkládaná práce se týká velmi aktuálního tématu – resistance k antibiotikům u Gram-pozitivních bakterií, která je v současnosti velmi závažným problémem v souvislosti se stále častějším výskytem a závažností nosokomiálních i komunitních infekcí. Podrobný výzkum prováděný na široké škále klinických izolátů methicilin resistantních koaguláza negativních stafylokoků (CoNS), které byly k dispozici na Státním zdravotním ústavu ČR, poskytl důležité výsledky týkající se různých typů současné i oddělené resistance k antibiotikům různých typů. Genetická analýza ukázala značný výskyt genů *msr(A)* a *lnu(A)* zodpovědných za resistenci k některým antibiotikům skupiny MLS (makrolidy, linkosamidy, streptograminy). Vysoký výskyt rezistenčních genů byl přitom druhově závislý, s vysokou frekvencí genu *erm* u *S. epidermidis* a genu *msr(A)* u *S. haemolyticus*. Výsledky zkoumání okolí genu *msr(A)* na plasmidu p88 z *S. haemolyticus* a plasmidu pSR1 z *S. aureus* poukázaly na možnost přímého přenosu rezistenčních genů *msr(A)* a *mhp(C)* mezi těmito 2 druhy. Multiresistentní *S. haemolyticus* tak může sloužit jako zdroj resistencí pro virulentnější *S. aureus*. Horizontální přenos může zahrnovat působení inzerčních sekvencí, příp. rekombinasy *sin*, umožňujících přenesení genů do konjugativního plasmidu.

Důležitým nálezem bylo zjištění zcela nového rezistenčního typu LC (citlivost k erythromycinu a resistance k linkosamidům) u klonálně příbuzných izolátů *S. haemolyticus*, která je zřejmě důsledkem přítomnosti nové rezistenční determinanty. Bylo ukázáno, že resistance není dána mutací ve vazebném místě, ani inaktivační resistencí. Byl nalezen a sekvenován gen *vga(A)_{LC}*, který kóduje (zřejmě) exportní membránový ABC protein a je podobný genu *vga(A)* udílejícímu resistenci ke streptograminům. Rozdílné vlastnosti obou proteinů byly připsány shluku 4 aminokyselinových záměn v centrální části proteinu. Bylo zjištěno, že mechanismus LC resistance u *S. haemolyticus* je obdobný mechanismu známému u exportního proteinu Msr(A) zodpovědného za resistenci vůči makrolidům a streptograminům. Gen *vga(A)_{LC}* byl nalezen také u *S. epidermidis* a *S. warnerii*.

Další část práce byla věnována testování účinnosti nových antibiotik, ketolidu telithromycinu a streptograminů quinupristinu a dalfopristinu proti methicilin resistantním koaguláza negativním stafylokokům, zvláště pak proti izolátům s genem *vga(A)_{LC}*. Bylo zjištěno, že resistance k telithromycinu je dána stejnými mechanismy jako resistance k erythromycinu. Důležitým zjištěním bylo, že citlivost izolátů ke quinupristinu a dalfopristinu závisí na detekční metodě. Zjištění, že nesprávná identifikace izolátů resistantních k nízkým koncentracím quinupristinu a dalfopristinu může přispět k šíření resistance ke streptograminu A a těmto 2 antibiotikům, má značný klinický význam.

Výsledky byly publikovány ve 2 člancích v *Antimicrob. Agents Chemother.* (IF 4,153) a další publikace byla přijata do tisku v časopise *Folia Microbiol.* U všech článků je G. Novotná první autorkou. Další práce uveřejněné v českých časopisech se týkají použití pokročilých molekulárně biologických metod ve stomatologii.

Práce, která by se podle svého přebalu dala nazvat třeba „růžová rozprava“, je velmi živě, dobře a úsporně napsána. Přimlouval bych se za to, aby (asi 20-stránkový) úvod byl po určitých úpravách (např. diskusi o tom, jak antibiotika pronikají buněčnými povrchy a jsou přes ně vypuzována ABC a dalšími transportéry – systémy OMP u G⁻ organismů, atd.) publikován jako přehledný článek např. ve *Folia Microbiol.* Nenašel jsem sekci zabývající se explicitně metodikou, ta je ale popsána v publikacích, které tvoří součást práce.

Na disertantku mám několik otázek v bodech, které mi nebyly zcela jasné:

1. Je známo něco bližšího o struktuře proteinu kódovaného genem *vga(A)_{LC}* a o regulačních mechanismech řídících jeho činnost? Dá se něco vysoudit např. z analogie

s podobnými proteiny - např. jsou jak nukleotid-vázající doména, tak transmembránový segment kódovány tímto jedním genem?

Kromě několika drobných chyb v gramatice a několika vyjadřovacích zvláštností jsem v práci nenašel závažnější formální chyby, a ani chyby metodické nebo interpretační. Doporučuji proto, aby předkládaná disertační práce byla přijata jako podklad pro obhajobu a udělení titulu PhD.

Praha, 9.10.2007

Ing. K. Sigler, DrSc.