Posudek oponenta na diplomovou práci

☒ oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Petra Lišková
	Datum: 30.8.2018

Autor:
Bc. Jana Prášilová

Název práce:
Vznik a genetická podstata glykopeptidové rezistence u koaguláza-negativních stafylokoků

Cíle práce
Cílem práce bylo selektovat mutantní kmeny *S. haemolyticus* a *S. epidermidis* rezistentní ke glykoproteinovým antibiotikům vankomycinu a teikoplaninu a pomocí fenotypové analýzy nastínit zákonitosti vzniku rezistence k těmto antibiotikům, vzniku zkřížené rezistence glykopeptidů a neglykopeptidových antibiotik imipenemu a rifampicinu u těchto CoNS, také optimalizovat systém testování mutací k těmto antibiotikům na modelu *S. aureus*.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO
Rozsah práce (počet stran): 106
Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO
Je uveden seznam zkratek? ANO

Literární přehled:
Odpovídá tématu? ANO
Je napsán srozumitelně? ANO
Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO
Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO

Materiál a metody:
Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO
Postrádala jsem však představení izolátů *S. haemolyticus* a *S. epidermidis* mezi použitými bakteriálními druhy (kmeny).
Kolik metod bylo použito?
Byly použity metody kultivační, testování citlivosti bakterií k antibiotikům (E-test, mikrodiluční metoda), izolace DNA, transformace bakterií, PCR, elektroforetická separace molekul DNA, testování produkce biofilmu, testování autolýzy.
Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

Experimentální část:
Je vysvětlen cíl experimentů? ANO
Je dokumentace výsledků dostačující? ANO
Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO

Diskuze:
Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO
Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO
Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

Závěry (Souhrn) :
Jsou výstižné? ANO

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):
Formální úroveň práce je dobrá, obsahuje 23 obrázků a 17 tabulek, které jsou pro úspornost včleněny do textu, což mírně snižuje přehlednost. Text obsahuje únosnou míru překlepů a chyb, některé věty jsou formulovány neobratně. Autorka hojně využívá anglicismů („vankomycin rezistentní izolát“), což ovšem lze, vedle ustáleného termínu „koagulázo-negativní *Staphylococcus*“, jen stěží vyčítat. Tyto výrazy jsou však nekonzistentní co do používání pomlčky, stejně jako je nekonzistentně využíváno jednotek koncentrace (mg/l vs. μg/ml) a také vkládání mezery před „°C“ a „%“. Nárůst zákalu byl pozorován „okometricky“.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:
Cíle práce lze pokládat za splněné. Práci Jany Prášilové doporučuji k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:
Připomínky:

1. Příslovce „respektive“ je v práci užíváno v souladu s anglickou gramatikou, nikoliv tedy správně česky.
2. Tab. 4 a 5 mají „konečnou koncentraci ATB“ uvedenou v μl/ml.
3. Data v grafu na Obr. 14A by si zasloužily zaostření do relevantní oblasti dat, mezi deseti křivkami není možné se orientovat.
4. Popisek grafů na Obr. 15 je vlevo i vpravo VAN (vpravo by měl být TEC).
5. Na str. 72 je na Obr. 20 znázorněn rozdíl mezi jednokrokovou a vícekrokovou selekcí, uvádíte, že pro *S. haemolyticus* se při vícekrokové selekci liší MIC (VAN/TEC) 6x, nicméně 64/16=4 a 256/64=4.
6. Na str. 85 je nemutovaná varianta *vraS* chybně označená jako mutovaná (*vraS*$_{ShQ289K}$).

Otázky:

1. Proč je E-test a diskový difúzní test pro určování glykopeptidové rezistence nespolehlivý (dle tvrzení na str. 10)? Proč jste ke stanovení MIC používala někdy mikrodiluční metodu a někdy E-test?
2. Při stanovení MIC používáte stupnici mohutnosti zákalu bakteriální suspenze McFarland. Máte stanovený počet buněk daného druhu, který se při daném stupni zákalu vyskytuje (v 1 ml)? Uvažovala jste vliv „efektu inokula“ na získané hodnoty MIC?
3. Na str. 61 představujete vybrané izoláty *S. epidermidis* jako citlivé k vankomycinu a jiné s hraniční citlivostí k vankomycinu. Dle Tab. 6 je však MIC k vankomycinu stále 4 mg/ml. Prosím o vysvětlení tohoto rozdílu.
4. Na str. 63 popisujete: „I přesto, že rostly kolonie na miskách s vyšší koncentrací glykopeptidů, než byla původní MIC, tak u velké části testovaných kolonií nebylo zvýšení MIC potvrzeno“. Máte nějakou hypotézu, proč by tomu tak mohlo být?
5. Až z předposlední strany diskuze vyplývá, že selektované mutanty byly podrobeny celogenomovému sekvenování a analýze jedno-nukleotidových polymorfizmů, pomocí databáze jste navrhla dva proteiny jako kandidáty pro testování v systému založeném na *S. aureus*. Proč jste tyto výsledky neuvedla ve výsledkové části s podrobnějším popisem?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

☒ výborně ☐ velmi dobře ☐ dobře ☐ nevyhověl(a)

Podpis oponenta: