

## **MIKROBIOLOGICKÝ ÚSTAV AV ČR**

Vídeňská 1083

142 20 Praha 4

**Mgr. Ladislav Bumba, PhD.**

Laboratoř molekulární biologie bakteriálních patogenů

Telefon: 241062016

E-mail: bumba@biomed.cas.cz

### **Posudek školitele na diplomovou práci Ludmily Brázdilové “Development of an opsonophagocytic assay for the measurement of functional antibody activity against *Bordetella pertussis*“**

Základem předkládané diplomové práce Ludmily Brázdilové je zavedení opsonofagocytického testu, který bude standardně používán v naší laboratoři. Pertuse neboli černý (či dávivý) kašel je vysoce nakažlivé onemocnění, proti kterému je většina populace chráněna od útlého dětství pomocí očkovací látky. Od roku 1959, kdy byla zavedena pertusová vakcína s celobuněčnou složkou, se výskyt toho onemocnění podařilo výrazně omezit, kdy nemocnost klesla z 520/100 000 obyvatel v roce 1956 až na úroveň 0,05/100 000 obyvatel v roce 1989. Nicméně, i přes vysokou úroveň proočkovanosti v ČR je v poslední době pozorován vzestupný trend nemocnosti, kdy v roce 2014 bylo evidováno přes 2500 případů a nemocnost činila 24/100 000 obyvatel. Tento vzestupný trend je s největší pravděpodobností spojen s přechodem na očkovací látku s nebuněčnou složkou, která je složena výhradně z několika antigenů bakterie, a podle posledních studií vykazuje mnohem nižší účinnost očkovanosti (~85%), indukuje nevhodnou polarizaci T-buněčné odpovědi (Th2 místo Th1/Th17), selektuje nové kmeny *Bordetella pertussis*, které neprodukují antigeny přítomné ve vakcíně (pertactin-deficientní kmeny), a v neposlední řadě nechrání proti kolonizaci hostitele a v podstatě podporuje šíření bakterie v populaci.

Cílem této práce byla příprava, optimalizace a celkové zavedení opsonofagocytického testu, který by měl sloužit pro sérologické hodnocení účinnosti pertusových vakcín. Tato práce byla vypracována v laboratoři Molekulární biologie bakteriálních patogenů na Mikrobiologickém ústavu, ve které kolektiv pracovníků pod vedením prof. Šeba se podílí na vývoji nové generace pertusových vakcín. V rámci těchto experimentů byla získána sada experimentálních sér, které byly následně použity pro vývoj výše zmíněného testu. Ludmile se úspěšně podařilo otestovat

několik experimentálních podmínek, které jsou nezbytné pro provedení této analýzy. Ludmila byla schopna vyizolovat lidské a myší fagocytické buňky pomocí tří různých metod, a porovnat jejich aktivitu v opsonofagocytického testu. Dále byly testovány další podmínky opsonofagocytického testu, jako např. poměr fagocytických buněk k bakteriálním buňkám a ředění sér.

Za tímto výsledkem je velké množství práce, a řada experimentů, které nebyly nakonec kvůli rozsahu do diplomové práce zařazeny. Ludmila si ve velmi krátké době osvojila pestrou škálu základních mikrobiologických, biochemických a imunologických technik, jako např. kultivace bakterií, purifikace buněk, ELISA metody, a v neposlední řadě měření na průtokovém cytometru a analýza cytometrických dat. Během řešení tohoto projektu se naplno projevily silné autorčiny stránky, jako je vysoké pracovní nasazení, zručnost, zdravá zarputilost a psychická odolnost. Poslední vlastnost bych rád zdůraznil, protože je podle mého mínění, nejdůležitější pro vědeckou práci. Zatímco ostatní vlastnosti lze úspěšně natrénovat, udržet si v laboratoři veselou mysl po několika měsících neúspěšného experimentování lze jen stěží. V průběhu práce Ludmila projevila zájem o studovanou problematiku, nečinilo ji nejmenší problémy se v ní orientovat a vyhledávat si k ní potřebné informace v odborné literatuře. Po krátké době tak byla schopna nejenom samostatně pracovat na zadaných úkolech, ale také si své experimenty samostatně plánovat a o získaných výsledcích zasvěceně diskutovat.

Výsledkem tohoto úsilí je předkládaná diplomová práce, která je napsána v anglickém jazyce. S ohledem na výše uvedené mohu konstatovat, že Ludmila prokázala schopnost samostatně pracovat, kriticky zhodnotit získané výsledky a úspěšně splnit vytčené cíle diplomové práce, kterou upřímně doporučuji přijmout k obhajobě.

V Praze dne 6. září 2019

Mgr. Ladislav Bumba, Ph.D.

