

## **Oponentský posudek disertační práce Mgr. Marcely Krůtové na téma „*Clostridium difficile*: Molekulární typizace klinicky významných izolátů“.**

Předložená disertační práce obsahuje 162 stran textu včetně literárních odkazů, seznamu tabulek, obrázků, grafů, zkratk, přehledu publikovaných výsledků a dvanácti příloh.

Téma práce navazuje na činnost centra zabývajícího se diagnostikou kmenů *Clostridium difficile*, které vzniklo pro Českou republiku na pracovišti Ústavu lékařské mikrobiologie 2. Lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol. Problematika infekcí způsobených toxigenními kmeny *C. difficile* je relativně nová. Zejména v posledních letech představuje závažný problém jak po stránce terapeutické, tak i epidemiologické. Klostridiové infekce, zejména enterokolitidy patří k nebezpečným infekčním komplikacím provázejícím terapii širokospektrými antibiotiky. Schopnost *C. difficile* vytvářet spóry umožňuje klonální šíření infekce a znesnadňuje zavádění účinných hygienicko-epidemiologických opatření. Jsou častou příčinou nosokomiálních infekcí, jejich řešení je obtížné a kromě zdravotních rizik pro pacienta se podílejí na zvyšování nákladů zdravotnického zařízení. Laboratorní diagnostika těchto infekcí je náročná a její rutinní provádění je v současné době rutinně vyžadováno ve většině mikrobiologických laboratoří v České republice. Za této situace je vypracování typizačních metod a analýza kmenů *C. difficile* zachycených na území České republiky nutným předpokladem pro zmapování epidemiologické situace a analýzu v kontextu evropské surveillance klostridiových infekcí. Z těchto důvodů považuji téma práce za vysoce aktuální.

Cíle práce vycházejí z požadavků evropské surveillance, jsou jednoznačně stanoveny – molekulární analýzou zachycených kmenů prohloubit znalosti o možných zdrojích a epidemiologickém šíření kmenů *C. difficile* v České republice..

Použité metodiky jsou adekvátní a odpovídají nejnovějším poznatkům a diagnostickým metodám prováděným ve vyspělých evropských státech. Jejich použití je prioritní nejen v České republice. Autorka prováděla analýzu kmenů zachycených i v jiných státech (Slovensko, Finsko, Irán).

Získané výsledky jsou přesně metodicky popsány a představují prioritní data pro Českou republiku i další země. Cíle práce byly jednoznačně splněny. Vedle zmapování

výskytu jednotlivých typů kmenů *C. difficile* v České republice a porovnání se zahraničními výsledky vidím jako nejzávažnější poznatek o ribotypu 176 a jeho možné záměně za ribotyp 027 se stejným typem delece v genu *tcdC*. Neméně významné je i prioritní popsání extraintestinální infekční komplikace způsobené *C. difficile*. Významné jsou rovněž poznatky o rezistenci některých kmenů na antibiotika a objasnění molekulárních základů této rezistence.

V rozsáhlé diskuzi autorka srovnává vlastní výsledky s publikovanými údaji. Rozebírá výskyt jednotlivých ribotypů *C. difficile* a hodnotí výsledky a význam jednotlivých typizačních metod. Prokázala, že se dokonale orientuje v dané problematice a je schopna správně posoudit získané výsledky.

Po formální stránce je práce důsledně a naprosto systematicky členěna na hierarchii jednotlivých kapitol. Členění odpovídá standardnímu členění vědeckých prací. Práce je napsána stručným, výstižným jazykem, výsledky jsou dokumentovány tabulkami, grafy i barevnými obrázky. Autorka věnovala formální stránce opravdu velkou pozornost, našel jsem pouze jediný překlep na první stránce úvodu, což beru jako „zahřívací kolo“. Dále je práce zcela bezchybná. Jazyková stránka práce je rovněž na vysoké úrovni.

Kapitola 8 obsahuje celkem 167 literárních odkazů. Všechna zásadní tvrzení jsou doložena na národní i mezinárodní literaturu. Po formální stránce jsou odkazy rovněž bezchybné.

Práci považuji za velmi významnou. Zasloužila se o rozvoj diagnostiky klostridiových infekcí. Kromě cíle, zmapování výskytu jednotlivých kmenů na území České republiky, byl výstupem práce i algoritmus laboratorní diagnostiky, který převzala většina laboratoří v České republice. Práci hodnotím jako velice přínosnou pro rozvoj oboru. Výsledky práce mají přímý a prokazatelný dopad na rutinní praxi mikrobiologických laboratoří. Předložená práce svědčí to o tom, že autorka je schopna samostatné vědecké práce a aktivního řešení problémů.

Je třeba ocenit, že Mgr. Marcela Krůtová je autorkou celkem dvanácti prací v časopisech s impact faktorem, z čehož v šesti je prvním autorem. Ve většině případů se jedná o významné mezinárodní časopisy s vysokým impact faktorem (International Journal of Medical Microbiology IF 4,79, Anaerobe IF 2,4 a další).

Předloženou disertační práci **doporučuji** k obhajobě a předkladatelce by měl být na základě úspěšné obhajoby udělen akademický titul doktor ve zkratce Ph.D. dle §47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

**K předkladatelce práce mám tyto dotazy:**

1. V kapitole 1.3.1 se uvádí, že po prodělání epizod klostridiových infekcí stoupá riziko další epizody. Je znám důvod, proč dochází k tomuto jevu? Logické by bylo, že pacient získává po prodělané infekci imunitu, která ho bude po určitou dobu chránit.
2. V kapitole 1.4 se uvádí vysoké procento promořenosti kmeny *C. difficile* u dětí do jednoho roku. Je známo kde a jak se infikují? U takto malých dětí se většinou dbá na zvýšenou hygienu při stravování. Rodiče bývají většinou mladí a zdraví, kojeneček obvykle nepřichází do styku s potravinami kontaminovanými střevním obsahem jako je syrové maso apod.
3. Práce se zabývá epidemiologickým výskytem kmenů *C. difficile* na území České republiky. Je známo, proč jsou rozdíly ve výskytu jednotlivých ribotypů v různých nemocnicích na našem území (graf 2), stejně tak, proč jsou rozdíly mezi jednotlivými věkovými skupinami?

V Praze dne 26.5.2017

Doc. MUDr. Pavel Čermák, CSc.