

## Oponentský posudek diplomové práce

### Antimikrobiální účinky koncentrovaných hydrolátů získaných destilací rostlinných materiálů

Bc. Eliška Tesařová

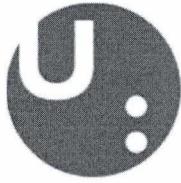
Vedoucí diplomové práce: Ing. David Šilha, Ph.D.

Předložená diplomová práce se zabývá testováním antimikrobiálních účinků hydrolátů získaných destilací vybraných rostlinných materiálů. Vzorky různých nezakoncentrovaných hydrolátů byly získány na Katedře analytické chemie Univerzity Pardubice. V práci byly použity kmeny mikroorganizmů z interní sbírky Univerzity Pardubice a ze sbírek jiných pracovišť v ČR i v zahraničí.

Práce je sepsána v dostatečném rozsahu s velkým množstvím naměřených dat zpracovaných v tabulkách i ve vlastním textu. Studentka při psaní použila spoustu převážně zahraniční vědecké literatury. Volba tématu odpovídá současným trendům při hledání nových látek a postupů pro antimikrobiální terapii, kterými jsou zejména přírodní látky. V tomto smyslu je experimentální práce zcela určitě přínosná, prakticky využitelná a poskytuje svěží pohled na problematiku látek s antibiotickým účinkem.

Po formální a jazykové stránce má text některé nedostatky, nevhodné formulace a chyby, které v některých případech vznikly při překladu z angličtiny: rostlina *Sanguinaria canadensis* nebude kravénka, ale krvavénka (str. 20); čeleď hluchavkovité je správně *Lamiaceae*, nikoliv *Lamieles* (str. 25); anglické „family“ se překládá jako čeleď *Campylobacteraceae*, nikoliv rodina (str. 32). Na str. 40 jako složka médií by mělo být spíše „enzymatický hydrolyzát kaseinu“, ne hydrolát a na str. 45 dispenzor pro aplikaci antibiotických disků, nikoliv diosenzor.

V práci se objevují také faktické chyby a nepřesnosti. Při četbě na str. 34 jsem nabyl dojmu, že stafylokoky tvoří na Baird-Parker agaru hemolýzu. Tu mohou tvořit pouze na krevním agaru, navíc nejen typu beta. Co znamená citlivost nebo rezistence antibiotika vůči testovanému mikroorganismu (str. 46)? V kapitole výsledky a diskuze v tabulce 4 i v pracovním postupu (str. 47) máte uveden počet opakování každého měření ( $n = 2$ ) a zároveň směrodatnou odchylku. Tato odchylka se počítá min. ze tří hodnot. U dalších tabulek již máte uvedeno  $n = 4$ , což už je dostatečný počet pro výpočet směrodatné odchylky. Na str. 73 (levandulový hydrolát), předposlední řádek, je asi chyba: má být spíše „získaného hydrodestilací“, potom nejnižší hodnoty 0,4 % sedí na zmiňované kmeny a ještě *A. butzleri* LMG 10828. Na následující straně 74 nerozumím větě, „že grampozitivní bakterie jsou náchylnější...., což může být způsobeno jejich vnější membránou“. Pokud vím, vnější membránu mají naopak bakterie gramnegativní. Na str. 76 (fenyklový hydrolát): při pohledu do tabulky 16 bych usoudil, že nejlépe působí fenyklový hydrolát na *A. skirrowii* po hydrodestilaci (0,4 %). Tabulka 17 a str. 78 (hydrolát



bobkového listu): nejvyšší hodnoty „MIC“ byly dosaženy u *Escherichia coli* a *Enterococcus faecalis* a nikoliv *Pseudomonas aeruginosa*.

K práci mám ještě následující připomínky a otázky:

- Proč byla většina testovaných bakteriálních zástupců kultivována při 30°C a ne při 37°C, tak jako *Candida albicans*, která by zase mohla být kultivována při 30°C?
- Od jaké firmy byla získána použitá antibiotika v tabulce 3? Přehled antibiotik by měl být uveden v kapitole 2.1 (pomůcky a vzorky).
- Přelete, že jste stanovovali citlivost kmenů na antibiotika (str. 47), v tabulce 4 však jsou uvedeny pouze průměry změrených inhibičních zón. Na základě jakých hraničních hodnot jste stanovili citlivost/rezistenci mikroorganizmů? Chybí zmínka o použité platné databázi (např. EUCAST).

Závěrečný komentář a výhledy do budoucna:

Problém při srovnání účinků hydrolátů může nastat z důvodu odlišných podmínek destilace a extrakce, tedy problém standardizace a reprodukovatelnosti výsledků. Na rozdíl od již používaných antibiotik s definovanou koncentrací účinné složky, zde není stanoveno množství aktivních složek hydrolátů. Všechny výsledky jsou vlastně ředění a v objemovém jednotkách. Nejedná se o skutečné hodnoty minimální inhibiční koncentrace (MIC). Některé studie navíc vyjadřují množství hydrolátu či oleje v hmotnostních jednotkách na objem média a nikoliv objem hydrolátu na objem média jako v tomto případě.

To, zda jsou testované hydroláty účinné i v organizmu, je předmětem dalšího (klinického a farmakologického) testování. V tuto chvíli není známa koncentrace účinných složek a tedy ani hraniční hodnota (break point).

Výhodou přírodních látek jsou, navzdory eventuální nižší účinnosti, slabší vedlejší účinky oproti syntetickým a často dosti toxic kým látkám.

Závěrem lze konstatovat, že diplomová práce **Bc. Elišky Tesařové** splňuje odborné i formální požadavky, že stanovené cíle byly splněny a přes drobné výhrady ji doporučuji k obhajobě a hodnotím ji klasifikačním stupněm B.