



OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Název práce: Identifikace „*Arcobacter-like species*“ pomocí PFGE

Autor práce: Bc. Lenka Klauďová

Oponent práce: Ing. Petra Moťková, Ph.D.

Práce **Bc. Lenky Klauďové** se zabývá zavedením a optimalizací metody pulzní gelové elektroforézy pro typizaci kmenů „*Arcobacter-like species*“. Část kmenů pro typizaci byla i nově izolována zpracováním kuřecích a krůtích vzorků masa.

Práce je standardně členěna, tak jak to bývá u diplomových prací zvykem. Je zpracována pečlivě a přehledně s drobnými nedostatky viz připomínky.

V teoretické části práce se autorka věnuje současné taxonomii „*Arcobacter-like species*“, což byl určitě nelehký úkol tyto informace utřídit a přehledně zpracovat. Dále autorka popisuje metody k typizaci mikroorganismů.

Experimentální část práce je řešena v souladu s aktuálními metodickými postupy používanými v mikrobiologické laboratoři. Zde musím vyzdvihnout, že diplomantka provedla při optimalizaci PFGE velké množství experimentů, které byly časově náročné jak svojí přípravou, tak vlastním provedením či vyhodnocením a zpracováním výsledků. Občas je experimentální část psaná až velice podrobně, což klade dojem laboratorního deníku, ale zase je postup reprodukovatelný pro další čtenáře, autorka jednotlivé kroky PFGE doprovází i vlastní fotodokumentací.

Kapitola Výsledky a diskuze shrnuje dosažené výsledky především formou obrázků, kdy velká část fotodokumentace je navíc uvedena i v příloze. Získané výsledky diplomantka hodnotí a diskutuje s nejnovějšími odbornými pracemi s podobnou tematikou.

Seznam literatury je psán v jednotném stylu, literatura je citována dle platné normy ČSN ISO 690.

K diplomové práci mám následující připomínky:

- 1) V práci je formulář špatného prohlášení.
- 2) Moc nesouzním s používáním anglických názvů a spojení v obrázcích. Pokud je práce psaná v češtině, měly by být obrázky upraveny do ČJ (u některých obr. by to šlo absolutně bez problému (obr. 9 str. 36; obr. 10 str. 38; obr. 11 str. 39, atd.)
- 3) Na str. 49 v kap. 2. 3. 2 autorka uvádí: „Laminární box se před použitím vyzáří UV lampou po dobu 15-ti minut.“ Dále autorka uvádí, co je nutné si do boxu připravit pro další práci – opět

to budí dojem laboratorního deníku, nehledě na to, že pro práci v mikrobiologii a molekulární genetice je použití UV záření naprosto základním standardem.

- 4) Na str. 56 v kap. 2. 5. 2 u PCR uvádí autorka poslední větou: „Gel byl poté obarven ethidium bromidem.“ **Opravdu byl k nabarvení agarózového gelu pro standardní PCR použit roztok ethidium bromidu anebo byl ethidium bromid přidáván do agarózy těsně před nalitím do formy?**
- 5) Str. 70 označení pozic na obr. 27. zde bude zřejmě chyba, pozice 5 je uvedena dvakrát a pokaždé s jinou mikrobiální kulturou, stejně tak i pozice 4, chybí pozice 6 a 11.
- 6) U některých záznamů PFGE jsou zkráceny názvy kmenů, aniž by tato zkratka byla uvedena v seznamu zkratk a vzhledem k označení kmenů je to poměrně nepřehledné pro orientaci (viz obr. 20 str. 60; obr. 21 str. 63; **obr. 23 str. 65; obr. 27 str. 70; obr. 29 str. 73; obr. 30 str. 75; obr. 32 str. 77; obr. 33 str. 78; obr. 34 str. 79).**

K diplomové práci mám následující dotazy:

- 1) **Na str. 79 je uveden záznam PFGE pro kmeny izolované z kuřecího a krůtího masa. Je zajímavé, že vzorky krůtího masa (pozice 9-14) nevykazují viditelné fragmenty v rozmezí 48,5 – 824,5 kb. Naopak byly identifikovány fragmenty nad hranicí standardu (oblast znázorněná žlutě nad 824,5 kb). Myslím si, že i když je tato oblast nad hranicí standardu, nebude asi výjimečná, neboť aspoň já jí spatřuji na záznamu i u kuřecích vzorků. Co si o této skutečnosti myslí autorka?**
- 2) **Může autorka uvést finanční náročnost PFGE? Doporučuje tuto metodu po svých zkušenostech k typizaci „Arcobacter-like species“? Jaké má metoda výhody a jaké nevýhody?**

Souhrnně lze konstatovat, že vytčené cíle práce byly splněny. Výše uvedené připomínky jsou spíše formální a musím hlavně ocenit velké množství experimentální práce. Tím, že se jedná o první práci využití PFGE pro typizaci mikroorganismů na našem pracovišti, určitě budou na práci navazovat další studie a výsledky budou jistě dále využity.

Plně doporučuji přijmout diplomovou práci **Bc. Lenky Klaudivové** k obhajobě a navrhuji její klasifikaci stupněm

A

V Pardubicích dne 20. 5. 2022

Ing. Petra Mořková, Ph.D.