

## Oponentský posudek na diplomovou práci

Předložená diplomová práce **Bc. Lucie Lalákové** řeší zajímavé a aktuální téma detekce DNA *Mycoplasma hominis* a *Ureoplasma urealyticum* ve vzorcích získaných z urogenitálního traktu mužů a žen. Těmto patogenům se pracoviště klinické mikrobiologie KBBV na Univerzitě Pardubice systematicky věnuje již několik let. Práce vznikla v rámci společného projektu s Centrem asistované reprodukce SANUS v Pardubicích, odkud pocházely vyšetřované vzorky získané od párů léčených zde pro neplodnost.

Předložená diplomová práce je psána stručně, avšak velice jasně a srozumitelně, bez zbytečného balastu. Po formální stránce obsahuje předkládaná práce všechny předepsané kapitoly, je zpracována na 56 stranách, obsahuje 11 obrázků, 11 tabulek a 2 přílohy. Studentka velmi pečlivě prostudovala zejména zahraniční literární zdroje (95) včetně relevantních internetových odkazů.

Experimentální část práce je řešena v souladu s aktuálními metodickými postupy používanými v renomovaných zahraničních laboratořích zabývajících se touto problematikou. Použité přístroje, materiál i metody odpovídají zadanému úkolu.

V diplomové práci autorka nejprve optimalizovala pro potřeby pracoviště na KBBV metodu druhově specifické PCR pro *M. hominis* a *U. urealyticum*. Byla ověřena specifita reakce a stanovena mez detekce. Poté bylo přikročeno k analýze reálných vzorků, které představovalo 80 vzorků z urogenitálního traktu mužů a žen navštěvujících centrum SANUS.

V diskusi autorka porovnávala zjištěné výsledky zastoupení *M. hominis* a *U. urealyticum* ve vyšetřovaném souboru vzorků s publikovanými výsledky, zhodnotila přínos PCR stanovení pro rychlejší, levnější a specifitější diagnostiku těchto patogenů v klinickém materiálu a nastínila další krok v diagnostice mykoplasmat a ureoplasmat u neplodných párů. Proto hodnotím kladně zpracování diskuse a závěru práce.

K diplomové práci mám několik připomínek a dotazů:

- Pro určení specifity PCR reakce by bylo vhodné do spektra vyšetřovaných mikroorganismů zahrnout i rod *Clostridium*, který je fylogeneticky velice příbuzný.
- Pro správnou interpretaci výsledků PCR by bylo vhodné do vlastní reakce zahrnout i systém vnitřní kontroly.

- Domnívám se, že v kapitole Stanovení meze detekce nejsou v tabulce č. 8 správně jednotky koncentrace DNA. Ten samý případ se opakuje ještě v tabulce 9.

Souhrnně lze konstatovat, že vytčené cíle práce byly splněny, dosažené výsledky hodnotím jako přínosné.

Diplomovou práci Lucie Lalákové doporučuji přijmout k obhajobě a navrhuji její klasifikaci stupněm **v ý b o r n ě m í n u s**.

V Pardubicích 21. 5. 2012

Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D.

