

Oponentský posudek na diplomovou práci

Předložená diplomová práce **Bc. Petry Hejdové** 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. Metody asistované reprodukce, včetně techniky in-vitro fertilizace poskytuje v současnosti v České republice 39 center. Jako hlavní diagnóza se na straně ženy nejčastěji uvádí ovariální selhání, genetická diagnóza, endometrióza, imunologické příčiny, anovulace. Na straně mužů jsou problémem azospermie, patologický spermioqram a genetické příčiny. V posledních letech významně stoupá počet párů, které podstupují léčbu v centrech asistované reprodukce a 3 až 4% dětí se rodí po podstoupení techniky IVF. Bakteriální infekce urogenitálního traktu jsou dávány do souvislosti s nárůstem neplodnosti a udává se, že na celkovém procentu příčin neplodnosti se mohou podílet až 15 %.

Předložená diplomová práce je psána jasně a srozumitelně, bez zbytečných překlepů. Po formální stránce obsahuje předkládaná práce všechny předepsané kapitoly, je zpracována na 87 stranách, obsahuje 23 obrázků, 10 tabulek a 4 přílohy, ve kterých je vyjádřeno kladné stanovisko etických komisí při fakultní nemocnici Hradec Králové a Centra asistované reprodukce Sanus v Pardubicích. Studentka velmi pečlivě prostudovala zejména zahraniční literární zdroje (124) 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, stanovena mez detekce a ověřena reprodukovatelnost. Poté bylo přikročeno k analýze reálných vzorků, které představovalo 27 vzorků stěrů z děložního čípku žen získaných ve spolupráci s gynekologickou ambulancí ve FN Hradec Králové a 18 vzorků ejakulátů mužů získaných z Centra asistované reprodukce Sanus Pardubice.

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. K diplomové práci mám několik připomínek a dotazů:

- Na straně 46 je poněkud nešťastně vysvětlena metody spektrofotometrického stanovení čistoty DNA, mohla by autorka tuto metodu vysvětlit?
- Mohla by autorka vysvětlit, na základě jakých parametrů jsou obecně vybírány primery pro real-time PCR?
- Domnívám se, že kapitola závěr by si zasloužila přehlednou sumarizaci dosažených výsledků, které jsou předtím obšírně diskutované v předchozí kapitole..

Souhrnně lze konstatovat, že výtčené cíle práce byly splněny, získané výsledky hodnotím jako velmi přínosné pro praxi.

Diplomovou práci Petry Hejdové doporučuji přijmout k obhajobě a navrhuji její klasifikaci stupněm **v ý b o r n ě**.

V Pardubicích 25. 5. 2015

Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D.

