

Oponentský posudek diplomové práce

Název: Detekce genů rezistence na antimikrobiální látky u bakterií rodu *Staphylococcus*

Autor: Bc. Tereza Kotková

Katedra biologických a biochemických věd

Školitel: Ing. Petra Mořková, Ph.D.

Diplomová práce Bc. Terezy Kotkové má rozsah 91 stran, včetně souhrnu literatury.

Práce se zabývá velice důležitým a aktuálním tématem. Vzhledem k vzrůstající resistenci bakterií na antibiotika, se předložená diplomová práce zabývá možností molekulárně-biologické identifikace genů kódujících resistenci na antibiotika u bakterií rodu *Staphylococcus* izolovaných z městských a nemocničních odpadních vod a dále byly kmeny získány z nemocničních stěrů od pacientů. Diplomová práce, dle mého názoru, je sepsána velmi zmateně, sice jen s drobnými stylistickými nesrovnalostmi, ale velmi nepřehledně.

Teoretická část diplomové práce je sepsána na 22 stranách, ale bohužel netvoří informační podklad pro experimentální výsledky dosažené v rámci této studie. U této kapitoly mám několik připomínek:

Použití odkazu z roku 1947 mi přijde úsměvné.

Z jakého rodu bakterií bylo získáno antibiotikum laktocillin?(str. 16)

Kvalita obrázku 1 žlutě psaná ATB nelze rozluštit.

Na téže straně použití dvojtečky je nevhodné, autorka nepíše skripta.

Autorka uvádí: Mupirocin se začal vyrábět v roce 2016, ale jeho biotechnologická výroba nebyla dosud podrobněji rozebrána. Žádné ATB neprojde schvalovacím procesem (SÚKL), který podrobně nepopíše výrobu (Str. 24).

Str. 25 a 26 pojmy disková difúze, agarózové a bujónové ředění, mohla by autorka vysvětlit tyto pojmy? Jaké jiné difuzní metody má na mysli?

Str. 29 co autorka myslí pojmem střední rezistence?

V teoretické části zásadně postrádám kapitolu o genech kódujících rezistence na ATB, je to škoda, protože články jistě studentka měla, neboť je použila v experimentální a výsledkové části.

Experimentální část práce je řešena v souladu s aktuálními metodickými postupy používanými v laboratoři. V této části je tedy přehledně popsán použitý materiál (kultivační média, chemikálie, použité primery) a prováděné pracovní postupy, vhodně doplněné tabulkami. K této kapitole mám pouze jednu připomínku a to, že v tabulce 4 jsou uvedeny zkratky FN, N, NKH. Co to znamená, tabulka by měla být samonosná, zkratky by vždy měly být uvedeny pod tabulkou.

Kapitola Výsledky a diskuse je doplněna tabulkami a obrázky, které jsou diskutovány s výsledky a závěry jiných autorů zabývajících se podobnou tematikou. Jediné, co bych zde vytkla, je kvalita obrázků.

Některé závěry, které autorka uvádí, jsou dle mého názoru neobratně řečeny.

Str. 55 Proč autorka uvádí duplicitně výsledky? Označení kmenů v tabulkách je jiné než v experimentální části v tabulce 7, stále se odkazuje na experimentální část, poprvé se ve výsledcích dočítám o genech rezistence, které detekovala k jednotlivým ATB.

Str. 60 Proč autorka uvádí geny na tetracyklin u vzorků 43, 52, CCM3572 a CCM 2737, když diskovou difuzní metodou se potvrdilo, že kmeny bakterií jsou citlivé na tetracyklin, chápu, jak to autorka myslí, ale takto uvedené v textu to je dosti zavádějící.

Str. 68 Autorka uvádí detekovaný gen *Sau*, kódující příslušnost k druhu *St. aureus*, je jasné, pokud autorka optimalizovala metodu a udělala selektivitu primerů, že ani nemůže u ostatních kmenů být prokázán (vz FN2, FN5 FN 6 FN7), tím prokázala správnost zoptimalizované metody, což v kapitole na straně 70 popírá.

Str. 72 Gen *blaZ* není jediný, který kóduje rezistenci na β -laktamová ATB, vysvětlila bych si to spíše tím, že kmeny mohou mít jiné geny kódující rezistenci na β -laktamová ATB než, tak jak to vysvětluje autorka tím, že má zónu inhibice blížící se breakpointu (rozhraní citlivosti a rezistence).

Závěr je sepsán na dvou stranách, zde jsou formou slovního komentáře stručně a jasně shrnuty výsledky jednotlivých experimentů a konečně přehledně uvádí primery kódující rezistenci na určitou skupinu ATB.

Literární zdroje jsou sepsány s drobnými odchylkami v souladu s příslušnou normou ČSN ISO 690, ale v souladu se zvyklostmi v daném oboru. Musím vyzvednout velké množství zahraničních literárních pramenů (101).

K diplomové práci mám následující dotazy:

- 1) Mohla by autorka uvést jakou rezistenci kódují jednotlivé geny, které detekovala PCR?
- 2) Jak si autorka vysvětluje výskyt genu *mupA* u vzorku 43,52 a CCM2737 a FN 2, když diskovou difuzní metodou se rezistence na mupirocin prokázala pouze u kmenů FN2 a CCM2737?

Souhrnně lze konstatovat, že autorka provedla obrovské množství experimentů a v laboratoři zřejmě strávila velké množství času. I přes formální stránku práce splnila v celém rozsahu vytyčené cíle práce, i přes zmíněné výhrady, hodnotím diplomovou práci jako zdařilou. Práci **Bc. Terezy Kotkové doporučuji k obhajobě a hodnotím klasifikačním stupněm**

B

V Pardubicích dne 24. 5. 2023

Ing. Iveta Brožková, Ph.D.