

## OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

**Název práce:** MIKROBIÁLNÍ BIOFILM A MOŽNOSTI JEHO OVLIVNĚNÍ U KLINICKY VÝZNAMNÝCH MIKROORGANISMŮ

**Autor:** Bc. Pavlína Bartůňková

Předložená práce se zabývá aktuálním tématem lékařské, ale i environmentální mikrobiologie. Problematika tvorby biofilmu u klinicky významných mikrobů je téma posledních 10–15 let a úloha biofilmopozitivních mikrobů je sledována ve vztahu k riziku infekcí u disponovaných jedinců (např. pacienti se zavedenými katétrami či implantáty). V předložené diplomové práci je řešena tato problematika u celkem u 47 bakteriálních kmenů a u 14 kmenů kvasinek. V další části práce se autorka zabývá mezidruhovými interakcemi při tvorbě biofilmu a působení dezinfekčních látek na vybrané mikroorganismy.

Předložená práce je členěna běžným způsobem. Má přiměřený rozsah (91 stran, mimo přílohy) a je doplněna 13 tabulkami a 27 obrázky a grafy. Použité literární zdroje (115 převážně recentních citací) dobře dokládají orientaci diplomantky v dané problematice.

V přehledně zpracované úvodní kapitole 2. „Teoretická část“ je podrobně popsána struktura a tvorba biofilmu nejdříve obecně, poté konkrétně u jednotlivých klinicky významných rodů a druhů a také klinický význam biofilmu. Součástí kapitoly je i popis metod průkazu tvorby biofilmu. Materiál i použité metody jsou zpracovány v kapitole č. 3 a popisují použité půdy, testy a pomůcky.

Výsledková část podává nejprve informaci o tvorbě biofilmu u sledovaných kmenů, dále se autorka věnuje vzájemnému vlivu různých druhů mikroorganismů na tvorbu smíšeného biofilmu a sleduje účinek chemických látek na biofilm. Za zajímavé považují zejména výsledky testování mezidruhových interakcí, a to jednak vysoký počet antagonistických interakcí a také synergickou reakci *E. coli* a *C. albicans*. Dosažené výsledky jsou odpovídajícím způsobem diskutovány a svědčí o schopnosti diplomantky kriticky zhodnotit vlastní dosažené výsledky a formulovat logické závěry.

K předložené práci mám zejména následující připomínky:

Autorce bych vytkl poměrně nepřehledně zpracovanou kapitolu 3.2. „Metody“, ve které se čtenář pouze obtížně orientuje. Z metodiky například není na první pohled jasné jaké inokulum (objem) autorka použila u při testování míry ovlivnění mezi mikroorganismy a při testování vlivu chemických látek na vznik biofilmu. Také řada informací uvedených až v kapitole 4. „Výsledky a diskuze“ patří spíše do kapitoly 3.2. „Metody“, např. jde o vzorce na str. 65 a 66. Zbytečně se v kapitole 4. „Výsledky a diskuze“ také opakují informace z kapitoly 3.2. „Metody“ (např. hned v prvním odstavci této kapitoly, str. 63).

Za významný nedostatek pokládám fakt, že autorka neuvádí při popisu použitého materiálu výrobce, zejména jde o výrobce mikrotitračních destiček (významné pro charakterizaci adhezního povrchu), kultivačních médií i chemikálií (včetně výrobce testovaných antimikrobiálních látek). Jde o klíčovou informaci nutnou k posouzení pokusu i umožňující jeho reprodukovatelné zopakování. Kvalita média i typ adhezního povrchu se totiž výrobce od výrobce liší a může významně ovlivnit výsledek pokusu.

V kapitole 4.1. autorka uvádí, že u 7 kmenů byly výsledky testování tvorby biofilmu nejisté. Proč tato skutečnost není vyjádřena v tabulce 1 a 2?

Chybí mi také statistická analýza dosažených výsledků, tj. potvrzení, že získané výsledky nejsou náhodné.

Celkový dojem z předkládané práce snižuje množství překlepů i formálních a pravopisných chyb a formálních chyb (namátkou uvádím. na s. 23 "... se mikrobiální buňky

snaží dosáhnout homeostázy a jsou organizovány tak, aby optimálně využily"; . na s. 35 "V Případě *Pseudomonas aeruginosa*..."; s. 45 "boj s biofirmy", str. 65 "pznačeny", str 65 "indexu pozitivity (pozitivní > 1,0, pozitivní/negativní  $0,9 > ip < 1,0$ , negativní < 0,9)" a další".

**Závěr:**

Diplomová práce Bc. Pavlína Bartůňková splňuje, i přes všechny výše uvedené připomínky, předpoklady odborné práce daného typu. Diplomantka odvedla úctyhodné množství práce a dosáhla vytčených cílů. Vzhledem k výše uvedeným skutečnostem ji doporučuji k obhajobě a hodnotím stupněm : **dobře**.

Pro diskusi nad předloženou disertační prací si dovoluji vznést tyto otázky.

a) Autorka uvádí, že při barvení polystyrénových Petriho misek s biofilmem pomocí Gramova barvení došlo účinkem acetonu k mléčnému zkalení polystyrenu. Při Gramově barvení se lze ale místo acetonu použít etanol, který polystyrén nepoškozuje. Proč nebylo použito tohoto postupu?

b) Odpovídají výsledky testování mezidruhových interakcí dostupným informacím v odborné literatuře (zejména interakce *C. albicans* s bakteriemi, a mezidruhové interakce v rámci rodu *Candida*)?

c) Jak si autorka vysvětluje bifázický průběh křivek u některých při sledování míry ovlivnění narostlého biofilmu přidáním chemických látek (obr. 24–27) i při sledování vlivu těchto látek na vznik biofilmu (obr. 20–23)?

V Brně, dne 14. 5. 2011

Doc. MUDr. Filip Růžička, Ph.D.  
Mikrobiologický ústav  
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity  
v Brně