



Oponentský posudek diplomové práce

Název: Detekce genů souvisejících s rezistencí na antimikrobiální látky

Autor: Bc. Ondřej Šimko

Katedra analytické chemie

Školitel: Ing. Petra Mořková, Ph.D.

Diplomová práce Bc. Ondřeje Šimka má rozsah 98 stran, včetně souhrnu literatury a příloh.

Práce se zabývá velice důležitým a aktuálním tématem. Vzhledem k vzrůstající rezistenci bakterií na antibiotika, se předložená diplomová práce zabývá možností molekulárně-biologické identifikace genů kódujících rezistenci na antibiotika u kmenů *Pseudomonas aeruginosa* izolovaných z městských a nemocničních odpadních vod a dále byly kmeny získány z nemocničních stěrů od pacientů. Diplomová práce je sepsána jen s drobnými stylistickými nesrovnalostmi, které ale nikterak nesnižují kvalitu diplomové práce.

Teoretická část diplomové práce je sepsána na 20 stranách a tvoří informační podklad pro experimentální výsledky dosažené v rámci této studie. U této kapitoly mám tedy jen několik drobných připomínek. V teoretické části autorovi vypadl popis základní metody testování na antibiotika, a to standardní agarové diluční metody. Autor vůbec necituje odkaz na EUCAST verze 12.0 z ledna 2022. Naopak uvádí schéma a podrobný popis metody PCR, což už je běžná technika používaná v mikrobiologických laboratořích. Dále autor opomíjí u faktorů virulence *Ps. aeruginosa* tvorbu pigmentů.

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 tabulkou, zde jen postrádám aktuální taxonomické zařazení u jednotlivých použitých bakteriálních kmenů a opět odkaz na aktuální verzi EUCAST (CCM 1999 je *B. spizizenii*, CCM 4479 je *Xylophilus ampelinus*, zřejmě autor myslel CCM 4475 je *Citrobacter freundii*, CCM 7204 je *Yersinia enterocolitica* subsp. *enterocolitica*).

Kapitola Výsledky a diskuze 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 autor uvádí se dle mého názoru nemohou hodnotit, protože DNA marker s různými velikostmi není dobře viditelný a jen někdy se tedy může hodnotit velikost produktu. V jakém programu autor upravoval obrázky?

Literární zdroje jsou sepsány s drobnými odchylkami v souladu s příslušnou normou ČSN ISO 690, ale v souladu se zvyklostmi v daném oboru. Musím ale vyzvednout velké množství zahraničních literárních pramenů (108).

K diplomové práci mám následující připomínky a dotazy:

Teoretická část

1) Mohl by autor vysvětlit vyjádření: *P. aeruginosa* má ve své stěně asymetrickou dvojrstvu fosfolipidů a lipopolysacharidů, která je vložena do porinů, které tvoří proteinové kanály β -barelu (str. 27, odkaz Delcour; 2009).

Experimentální část

2) Jaká jsou úskalí při odběru odpadních vod?



Výsledky a diskuse

3) Na straně 66 autor uvádí, že 3 kmeny byly špatně napipetovány. Proč autor měření znovu nezopakoval, aby si byl jist správným výsledkem?

Závěr

4) Jak byste hodnotil multiplex PCR pro hodnocení multirezistentních kmenů *Ps. aeruginosa* v závislosti na množství genů kódující rezistence na antibiotika, které *Ps. aeruginosa* může mít? Šlo by zvolit jiné vhodnější techniky?

Souhrnně lze konstatovat, že diplomant v celém rozsahu splnil vytyčené cíle práce, provedl spoustu experimentů a v laboratoři strávil velké množství času. I přes zmíněné výhrady celkově hodnotím diplomovou práci jako poměrně zdařilou. Autor provedl a kriticky vyhodnotil velké množství experimentů, proto práci **Bc. Ondřeje Šimka doporučuji k obhajobě a hodnotím klasifikačním stupněm**

A

V Pardubicích dne 27.5. 2022

Ing. Iveta Brožková, Ph.D.