

Univerzita Karlova	6412
Přijato: 11.09.2019 v 14:02:16	Odbor
Č.j.: UKLFP/206221/2019-5	Zprac
Č.dop.: RR179141067CZ	
Listů: 3 Příloh: 0	
Druh: písemné	



Oponentský posudek disertační práce MUDr. Jany Amlerové na téma „Molekulárně-epidemiologická analýza kmenů *Mycobacterium tuberculosis* izolovaných na území Plzeňského kraje včetně detailní charakterizace kmenů rezistentních na antituberkulóza“.

Předložená disertační práce obsahuje 144 stran textu včetně literárních odkazů, seznamu tabulek, obrázků, zkratk, přehledu publikovaných výsledků a sedmi příloh obsahujících plná znění publikovaných prací.

Téma práce vychází z dlouhodobé specializace autorky na diagnostiku mykobakteriálních infekcí. Řeší molekulárně-epidemiologickou analýzu kmenů *M. tuberculosis* s využitím nejmodernějších metod. Téma práce hodnotím jako velmi aktuální, řešící současné zásadní problémy laboratorní diagnostiky mykobakteriálních infekcí. Cíle práce byly koncipovány velmi široce. Zahrnují v podstatě všechny moderní přístupy k laboratorní diagnostice *M. tuberculosis*.

V úvodu je stručně ale komplexně popsána problematika mykobakteriálních infekcí se zaměřením na laboratorní diagnostiku. Zvláštní pozornost byla věnována evoluci *Mycobacterium tuberculosis* komplex a jednotlivým mykobakteriálním druhům řazeným pod tento pojem. Autorka se rovněž věnovala molekulárním základům rezistencí *M. tuberculosis* na nejdůležitější antituberkulóza. Dále jsou v úvodu diakticky velmi dobře popsány molekulární metodiky pro typizaci *M. tuberculosis* včetně popisu jednotlivých genotypů a jejich geografického rozšíření. Obsah poskytovaných informací a způsob jejich zpracování považuji za velký přínos práce. Autorka tím splnila cíle disertační práce 1 a 4 na výbornou. Doporučuji zvážit možnosti publikace, využití pro studijní a výukové účely.

Použité metodiky pro identifikaci mykobakterií hmotnostní spektrometrií, nepřímý průkaz tuberkulózy a genotypizaci *M. tuberculosis* jsou odpovídající pro získání adekvátních výsledků. Prezentované výsledky dokladují zvládnutí těchto metodik.

Všechny stanovené cíle byly splněny, což bylo doloženo plnými texty publikací uveřejněných v domácích a zahraničních odborných časopisech. Získané výsledky v identifikaci hmotnostní spektrometrií a genotypizace souboru izolátů *M. tuberculosis* představují prioritní data pro Českou republiku. Za velmi přínosné pro rutinní praxi považuji výsledky identifikace mykobakterií hmotnostní spektrometrií. Metodika hmotnostní

spektrometrie se stala standardem pro identifikace bakterií ve většině mikrobiologických laboratoří v České republice. Rozšíření na mykobakterie umožňuje expresní diagnostiku mykobakterií na přijatelné diskriminační úrovni dostupnou ve většině laboratoří. Za největší přínos práce považuji zvládnutí celogenomové sekvenace *M. tuberculosis* a její využití pro genotypizaci. Jedná se velmi náročnou metodiku, která umožňuje detekci jednotlivých genotypů. V současné době představuje nejmodernější trend v diagnostice *M. tuberculosis*. Umožní epidemiologické sledování kmenů v České republice a srovnávání výsledků s jednotlivými evropskými zeměmi. Zavedení této metodiky posunulo Českou republiku mezi nejvyspělejší země v oblasti kontroly nad tuberkulózou.

V rozsáhlé diskuzi autorka porovnává výsledky své práce s publikovanými údaji. V případě genotypizace mi trochu schází konkrétní porovnání s výsledky podobných studií v evropských státech. Předpokládám, že důvodem byl relativně malý lokální soubor testovaných kmenů.

Práce svědčí to o tom, že autorka je schopna samostatné vědecké činnosti a aktivního řešení problémů.

Formální stránka

Práce je důsledně a systematicky členěna na hierarchii jednotlivých kapitol. Členění odpovídá standardnímu členění vědeckých prací. Je napsána stručným, výstižným jazykem, výsledky jsou dokumentovány tabulkami, grafy i barevnými obrázky. Autorka věnovala formální stránce velkou pozornost, občasné chyby jdou na vrub velmi náročnému textu, který musela autorka zpracovávat. Jazyková stránka práce je rovněž na vysoké úrovni.

Práce s literaturou je na velmi vysoké úrovni, všechna zásadní tvrzení jsou doložena celkem 219 recentními odkazy na národní a zejména mezinárodní literaturu. Po formální stránce jsou odkazy bezchybné.

Je třeba ocenit, že MUDr. Jana Amlerová je autorkou či spoluautorkou celkem deseti prací v recenzovaných časopisech, z toho 4x hlavním autorem v časopisech s impact faktorem. Dále 12x hlavním autorem přednášek a posterů s abstraktem na významných domácích i zahraničních odborných kongresech a konferencích.

Předloženou disertační práci **doporučuji** k obhajobě a předkladatelce by měl být na základě úspěšné obhajoby udělen akademický titul doktor ve zkratce Ph.D. dle §47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

K předkladatelce práce mám tyto dotazy:

1. Na straně 73 uvádíte možnost detekce rezistence *M. tuberculosis* metodou hmotnostní spektrometrie. Na jakém principu je tato metoda založena? Co je detekováno v případě rezistentního kmene?
2. V případě srovnání IGRA metod byly jako pozitivní kontrola pacienti s prokázanou TBC. Jako negativní kontrola by měli být pacienti, kteří nemají TBC. Jakým způsobem byli definováni?
3. Metodika WSG je velmi náročná na přístroj, prostředí (vibrace, teplota). V České republice dominují přístroje Illumina, ale na trh se dostávají další výrobky, jsou avizovány i čínské. Jsou výsledky jednotlivých zařízení srovnatelné? Jaká je kontrola, že došlo ke správnému čtení a výsledky jsou validní?

V Praze dne 5.9.2019

Doc. MUDr. Pavel Čermák, CSc.