

**UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra biochemických věd

Studijní program: Zdravotnická bioanalytika

**Posudek oponenta diplomové práce**

Rok obhajoby: 2021

Autor/ka práce: **Bc. Pavlína Holmanová**

Vedoucí práce: RNDr. Miloslav Macháček, Ph.D.

Konzultant/ka: RNDr. Klára Konečná, Ph.D.

Oponent/ka: PharmDr. Jan Kollár, Ph.D.

Název práce: **FOTODYNAMICKÁ INAKTIVACE MIKROORGANISMŮ  
(AZA)FTALOCYANINOVÝMI FOTOSENSITIZÉRY**

Rozsah práce: 138 stran, 88 obrázků, 39 tabulek, 75 citací

**Hodnocení práce:**

- |  |             |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části:               | výborná     |
| b) Náročnost použitých metod:                                  | výborná     |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost):   | výborné     |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat:                     | velmi dobrá |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost):          | velmi dobré |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy:              | velmi dobré |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků:                | výborná     |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů:            | výborná     |
| i) Splnění cílů práce:   | výborné     |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů:                   | výborné     |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň):          | výborná     |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | výborná     |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Cílem této práce bylo provést:

1. optimalizaci metodických přístupů pro hodnocení antimikrobní aktivity vybraných (aza)ftalocyaninových fotosensitizerů in vitro
2. u kandidátních látek vyjádřit jejich in vitro antimikrobní aktivitu vůči třem klinicky významným patogenům - jmenovitě jsou to: gram pozitivní bakterie meticilin rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA), gram negativní bakterie *Pseudomonas aeruginosa* a kvasinka *Candida albicans*
3. porovnání vlivu délky ozáření (15 vs. 30 min) na změnu antimikrobní aktivity

Tyto cíle byly v rámci diplomové práce splněny. Práce obsahuje velké množství výsledků, je napsána s minimem chyb a drobných překlepů (vyskytuje se např. aniontický, či chybějící mezera mezi číslovkou a jednotkou) a je v ní citováno velké množství literatury. Velmi také oceňuji, že si studentka dala tu práci a přeložila všechny přejeté obrázky do českého jazyka.

Dotazy a připomínky:

Připomínky:

Diplomová práce má rozsah 138 stran - tento rozsah je větší než je doporučený počet stran pro diplomové práce. To je způsobeno velkým množstvím výsledků, které jsou uváděny jednotlivě. Bylo by tedy vhodné zvážit, zda by nebylo možné alespoň část výsledků prezentovat souhrnně např. v tabulce nebo obrázcích složených z více grafů a diskutovat je současně v jedné podkapitole, a tím zkrátit celkový rozsah práce a zpřehlednit tak i výsledkovou část.

Drobnou chybou je uvedení starého názvu Katedry farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy, která je uváděna v textu jako Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv.

V práci se také opakovaly stejné citace u více odstavců jdoucích po sobě, přičemž není potřeba uvadět citaci na konci každého odstavce, pokud všechny odkazují na stejnou literaturu.

Popis vlastností jednotlivých testovaných mikroorganismů se spíše hodí do teoretické části diplomové práce než do její experimentální části.

Zavedení některých zkratk je spíše nadbytečné např. zkratka "MO" pro mikroorganismus je zavedená až v experimentální části a není využívána dále v textu. Naopak v seznamu zkratk chybí vysvětlení pro zkratku ZnPc.

Ve struktuře látky s označením P44 by měl být u sodného kationtu náboj horním indexem.

Největší výhrady mám ke zpracování výsledků a grafů v části výsledky. V práci jsou porovnávány 4, respektive 5 fotosenzitizérů, 3 různé mikroorganismy, u každého 3 různé protokoly (15 a 30 min ozařování, inkubace bez ozařování) a u každého z nich jsou použity až 3 různé metody stanovení. To dává vznik velkému množství získaných dat, která jsou prezentována samostatně (celkem práce obsahuje 88 obrázků a 39 tabulek) a čtenář se v nich v průběhu čtení začne po chvíli ztrácet. Bylo by tedy vhodné zvážit jejich prezentaci (viz připomínky výše). Pro větší přehlednost a možnost porovnání antimikrobní fotodynamické aktivity po ozařování 15 a 30 minut bych doporučil alespoň tyto grafy uvádět pod sebou a komentovat souhrnně.

Matoucí je ještě to, že barevné znázornění křivek se velmi často mění. U grafů, které obsahují stejné testované koncentrace fotosenzitizérů je vhodné používat v celé práci jednu stejnou barvu pro lepší orientaci čtenáře ve všech grafech. U většiny grafů chybí také znázornění bodů na osách. Z mého pohledu by bylo lepší i body na ose x vynášet vždy po 60ti minutách než po 100 minutách, a to z důvodu přehlednosti a také proto, že hodnoty odečítané z grafů jsou pak i v textu uváděny v hodinách.

V popisu názvu grafů se vyskytuje chyba "intrerakci" a také bych nepoužíval slovo osvit, ale ozařování, které je správně.

Pozadí u fotografií dokumentujících výsevové testy (zejména u *Pseudomonas aeruginosa*) bych volil jednobarevné, ideálně tmavé, na kterém budou kolonie mikroorganismů kontrastní a ne "mramorovité pozadí", na kterém jednotlivé kolonie zanikají.

Na straně 45 je špatný odkaz na obrázek číslo 18, mělo by se jednat o obrázek číslo 22.

V textu výsledkové části jsou sub-inhibiční koncentrace vyjádřené jako poměr k MBC, ne jako hodnoty - např. 1/10 MBC (sub-MBC=0.1xMBC) - bylo by tedy vhodné uvádět tyto koncentrace i přímo v textu v mikromolech, aby si je čtenář nemusel sám dopočítávat.

Dále bych doporučil místo slova konfirmovány používat spíše slovo potvrzeny nebo ověřeny.

Dotazy:

1. Jsou všechny látky dobře rozpustné ve vodě? Nebylo potřeba využít DMSO jako kosolvent?

2. Byla i pro toxicitu bez ozáření použita inkubace 30 minut při 37 °C?

3. U tabulek s výsledky z Almar Blue assay byla použita data z měření v triplikátu pro jednotlivé koncentrace, ale nejsou zde uvedeny směrodatné odchylky. Jak velké byly obecně tyto směrodatné odchylky, a jak jsou významné pro jednotlivá měření?

**hodnocení, práce je: výborná**

**k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové

28. května 2021

podpis oponenta/ky