

## Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele: [Alexandr Nemeč](#)

Datum: [7. 9. 2022](#)

Autor: [Barbora Učíková](#)

Název práce: [Molekulární identifikace, typizace a adaptace \*Achromobacter\* spp. v průběhu chronické infekce](#)

### Cíle práce

1. Identifikovat druhy *Achromobacter* spp. a odhadnout jejich prevalenci u pacientů s cystickou fibrózou navštěvující Centrum cystické fibrózy při Pediatrické klinice Fakultní nemocnice v Motole a 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
2. Typizovat izoláty *Achromobacter* spp. od vybraných pacientů metodami multilokusové sekvenční typizace (MLST) a FTIR-spektroskopie
3. Posoudit změny antibiotické citlivosti izolátů od pacientů s cystickou fibrózou v průběhu trvání chronické infekce *Achromobacter* spp.
4. Zjistit, zda dochází ke změnám motility a počtu bičíků na buňku u longitudinálních izolátů v průběhu chronické infekce *Achromobacter* spp.
5. Vyhodnotit genotypové adaptační změny izolátů v průběhu chronické infekce *Achromobacter* spp.

**Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému?** [ANO](#)

Rozsah práce (počet stran): [88](#)

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, [ANO](#)

Je uveden seznam zkratk? [ANO](#)

### Literární přehled:

Odpovídá tématu? [ANO](#)

Je napsán srozumitelně? [ANO](#)

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? [ANO](#)

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? [ANO](#)

### Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? [ANO](#)

Kolik metod bylo použito? [10 až 20 podle toho, co se považuje za diskrétní metodu.](#)

Jsou metody srozumitelně popsány? [ANO](#)

### Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? [ANO](#)

Je dokumentace výsledků dostačující? [ANO](#)

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? [ANO](#)

### Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? [ANO](#)

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO  
Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

**Závěry (Souhrn) :**

Jsou výstižné? ANO

**Formální úroveň práce** (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Je příkladná s výjimkou formulačních nepřesností a typografických chyb, jejichž počet je však k rozsahu textu přijatelný. Autorka má k dispozici pdf své práce s jejich vyznačením.

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

Práce se v souladu s odborným profilem školícího pracoviště věnuje bakteriologické stránce problematiky infekčních komplikací u pacientů s CF. Zaměřuje se na dosud méně studovaný rod spojený s chronickými infekcemi. Cíle jsou relevantní, zaměřující se na prozkoumání taxonomie, populační struktury, antibiotické citlivosti a faktorů patogenity izolátů rodu *Achromobacter* s důrazem na porovnání a vyhodnocení změn během dlouhodobé kolonizace/chronické infekce dýchacích cest. K řešení cílů byla autorkou zvládnuta a využita řada genotypových a fenotypových metod. Všechny položené otázky byly náležitě prostudovány s tím, že získané výsledky a jejich interpretace lze hodnotit jako splnění projektových cílů. Jako přínosné a pro další studium inspirující možno považovat zjištění ohledně změn v bičiky zprostředkovaném pohybu bakterií, které vychází z porovnání fenotypu, buněčné struktury a genomických údajů. Rozsáhlá genotypová data pak poskytuje celogenomové srovnání klonálně příbuzných izolátů, byť v tomto případě jde hlavně o podklady pro hypotézy pro další funkční studie. Za pečlivě zpracovanou a kvalitní lze považovat i větší část diskuse. Text práce nicméně obsahuje určité metodické a interpretační nejasnosti, které jsou specifikovány v připomínkách a otázkách.

Shrnuji, že diplomová práce, “ Molekulární identifikace, typizace a adaptace *Achromobacter* spp. v průběhu chronické infekce ” splňuje požadavky standardně kladené na diplomové práce v oboru Mikrobiologie a lze ji doporučit k obhajobě.

**Otázky a připomínky oponenta:**

**Připomínky**

A. Na str. 39 se uvádí, že „Diskový difuzní test je pouze kvalitativní metodou používanou pro screening antibiotické citlivosti, nejedná se o kvantitativní metodu“. Byť test neurčuje hodnoty MIC, umožňuje v jistém rozmezí posoudit míru citlivosti a její relativní změny, jak ostatně činí kapitola 5.2. Proto se považuje za semikvantitativní.

B. Tabulka 14 (str. 48) obsahuje interpretační kritéria, nikoliv výsledky. Patří tudíž do metodické části.

C. Jak autorka sama uvádí v diskuzi (str. 65), porovnání výsledků s jinými studii omezuje malý počet studovaných kmenů (n=9). To vyjma zjevné převahy druhu *A. xylosoxidans* problematizuje porovnání ve smyslu procentuálního druhového zastoupení. Z tohoto hlediska se jeví odpovídající část diskuse na str. 64 a 65 neadekvátní a obr. 7 (str. 45) nadbytečný.

D. Tvrzení ve výsledkové sekci na str. 46 („*ST-544* se vyvinul z *ST-144* jednou synonymní nukleotidovou záměnou v genu *eno* a *ST-545* vznikl z původního *ST-282* jednou synonymní nukleotidovou záměnou v genu *nusA*“) je interpretací směru změn, nikoliv výsledkem,

kterým je pouze zjištěný rozdíl. Podobná tvrzení lze nalézt i dalším textu věnovanému porovnávání sekvencí DNA.

E. Poznámka k MALDI-TOF MS. *Achromobacter* nyní zahrnuje 20 druhů se správnými, platně publikovanými jmény, z nichž pouze sedm je obsaženo v aktuální databázi systému Bruker. K tvrzení na str. 64 („*Nezařazení do druhu může být způsobeno blízkou taxonomickou příbuzností, kdy mohou různé druhy vykazovat podobná proteinová spektra, nebo absenci daného druhu v databázi.*“), lze doplnit i problém pozice typového kmene v rámci druhu a náležitého výběru dalších referenčních kmenů tak, aby co nejlépe pokryly vnitrodruhovou rozmanitost. Tvrzení na str. 44 („*Pravděpodobná identifikace druhu je možné pouze v případě, že obě shody náleží ke stejnému druhu a nejlepší shoda je s hodnotou skóre  $\geq 2$ .*“) neplatí, pokud je druh zastoupen jediným referenčním spektrem (což je i případ *Achromobacter ruhlandii*).

F. Použití adjektiva „přirozená“ pro (multi)rezistenci nebo beta-laktamázu (různě v textu) je problematické, neboť rezistence vzniklá mimo laboratoř jistě není „nepřirozená“. Rozlišuje se mezi *intrinsic* (primární/druhově charakteristickou) a *acquired* (sekundární/získanou) rezistencí. Získaná rezistence typicky vzniká horizontálním přenosem genů nebo změnami vlastních buněčných struktur.

#### Otázky

1. Z druhého odstavce na str. 49 („*Následně byla z velikostí inhibičních zón vypočtena průměrná hodnota pro jednotlivé pacienty a antibiotika pro každý kalendářní rok...*“) plyne, že údaje antibiotické citlivosti jsou založeny na větším počtu izolátů, než které jsou v práci studovány. Jak v tom případě byla ověřena shoda dodatečných izolátů od téhož pacienta na kmenové/klonální úrovni?

2. Výsledky diskového difuzního testu ovlivňuje řada faktorů a mohou se lišit i při pečlivé standardizaci. Byla tato možnost prověřena pro údaje v kapitole 5.2, např. retestováním klonálně příbuzných izolátů v témže experimentu?

3. Co bylo důvodem k použití systému založenému na infračervené spektroskopii s Fourierovou transformací pro typizaci? Literární údaje jsou k tomuto využití u řady bakterií obvykle skeptické.

4. Kapitola 3.5.1.2 (str. 26) se věnuje otázce efluxových systémů typu RND u achromobakterů. U jiných rodů (např. *Pseudomonas* a *Acinetobacter*) existuje několik systémů RND, který snižují citlivost k různým antibiotikům pouze při své nadprodukci, obvykle způsobené mutacemi v regulačních genech. Je něco podobného známo pro achromobaktery?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

*Alexandre Reme*