

## OPONENTSKÝ POSUDEK NA DIZERTAČNÍ PRÁCI

MUDr. Jany Amlerové (2019): Molekulárně-epidemiologická analýza kmenů *Mycobacterium tuberculosis* izolovaných na území Plzeňského kraje včetně detailní charakterizace kmenů rezistentních na antituberkulotika. Dizertační práce LF UK v Plzni, 144 stran, včetně příloh.

### ÚVOD

Předložená dizertační práce je součástí koncepčně pojatého výzkumu zaměřeného na diagnostiku tuberkulózy. Zaměřuje se jednak na identifikaci mykobakterií pomocí hmotnostní spektrometrie, MADLI TOF MS, dále na možnosti typizace molekulárně biologickými metodami a také na možnosti nepřímého průkazu tuberkulózy metodami IGRA.

### FORMÁLNÍ HODNOCENÍ PRÁCE

Dizertační práce má standardní členění vědecké práce. Kapitoly Metodika a Výsledky jsou popsány stručně a autorka odkazuje na přílohy, kterými je 5 prací v odborných časopisech a 2 konferenční abstrakta. Celkové uspořádání práce je přehledné a srozumitelné.

V úvodu autorka shrnuje současné znalosti o rodu *Mycobacterium*, zejména pak o komplexu *M. tuberculosis*. Popisuje patogenní působení těchto bakterií, jejich epidemiologii a možnosti terapie. S tím pak souvisí kapitola pojednávající o rezistenci *M. tuberculosis* k antituberkulotikům. Poslední kapitola úvodu se zabývá možnostmi diagnostiky tuberkulózy, a to jak pomocí klasických metod, tak i metod novějších, včetně MALDI TOF MS, molekulárně-biologických metod i metod nepřímé diagnostiky. Tyto úvodní kapitoly jsou zpracovány přehledně a čtivě, autorka v nich uvádí podstatné informace potřebné k uvedení do studované problematiky.

Autorka pro svou práci využívá rozsáhlý soubor literárních zdrojů (219), včetně recentních prací. Tyto zdroje jsou korektně uvedeny v samostatné kapitole Literatura.

Cíle práce byly jasně definovány. Materiál a metody jsou stručně popsány v samotné práci, detaily je pak možno dohledat v jednotlivých přílohách, na které autorka odkazuje. Čtenář si tak může udělat jasnou představu o použitých postupech a metodikách. Použité metodické přístupy jsou v souladu s aktuálními poznatky v oboru vhodně zvoleny, a jsou adekvátní vytčeným cílům.

Výsledky jsou prezentovány formou krátkého souhrnu, podrobnější informace čtenář opět nalezne v přílohách. Interpretace získaných dat v diskuzi a závěry vlastní experimentální práce dokládají znalost studované problematiky, i schopnost argumentovat a vyvozovat závěry.

Samotný text je přehledný a dobře čtivý. K jeho odborné i formální stránce nemám zásadních připomínek. Drobné chyby, jako je chybějící psaní taxonů kurzívou (v tabulce 1), či uvedení pyrazinamidu mezi antituberkulotiky 2. řady (v tabulce 5), vznikly patrně přehlédnutím či překlepem a neovlivňují kvalitu ani srozumitelnost textu. Stejně tak by bylo vhodné používat názvosloví pro označení antituberkulotik jednotně v jednom jazyce (viz text a tab. 5).

### HODNOCENÍ VLASTNÍ PRÁCE

Za nejvýznamnější výsledek předložené dizertační práce považuji výběr vhodné genotypizační metody, Whole Genome Sequencing - Next Generation Sequencing (WGS-NGS). Tento výběr byl proveden nejen na základě teoretických informací, ale i na základě praktického testování. WGS byla ověřena na dobře definovaných izolátech z České republiky i z dalších zemí. Podařilo se zachytit kmeny více linií, a to včetně epidemiologicky závažných kmenů linie Beijing s vysokou mírou rezistence k antituberkulotikům. WGS se tak může v ČR stát účinným diagnostickým nástrojem zpřesnění diagnostiky tuberkulózy i hodnocení klinické závažnosti izolátů, vč. sledování epidemiologických souvislostí a rezistence.

Ve své práci autorka také potvrdila užitečnost MALDI TOF MS pro identifikaci příslušníků rodu *Mycobacterium* na souboru 30 klinických izolátů; rozlišení jednotlivých druhů komplexu *M. tuberculosis* však bylo méně spolehlivé. Na základě analýzy 284 klinických vzorků autorka posoudila užitečnost dvou metod nepřímé diagnostiky tuberkulózy založené na uvolňování interferonu gama.

Výsledky MUDr. Jany Amlerové jsou původní a přinášejí celou řadu důležitých poznatků, které mohou zpřesnit a usnadnit diagnostiku tuberkulózy. O vědecké kvalitě předložené práce svědčí mimo jiné i fakt, že výsledky této práce jsou publikovány v pěti mikrobiologických časopisech, a to včetně časopisů zahrnutých do Web of Science.

#### NÁMĚTY PRO DISKUSI:

- 1) Jaké jsou náklady na vybavení i přímé náklady pro typizaci kmenů *M. tuberculosis* metodou WGS-NGS?
- 2) . Jakým způsobem by autorka doporučila tuto metodu zařadit do rutinně-diagnostického procesu tuberkulózy?

#### ZÁVĚR

**Domnívám se, že studentka prokázala své tvůrčí schopnosti a předkládá práci, která podle § 47 VŠ zákona 111/98 Sb. jednoznačně splňuje požadavky kladené v daném oboru na disertační práci. Práci proto doporučuji k obhajobě.**

V Brně, 28. 8. 2019

Doc. MUDr. Filip Růžička, Ph.D.