



Posudek na dizertační práci Ing. Veroniky Paškové

Dizertační práce je věnována vysoce aktuální problematice rezistence bakterií k antimikrobiálním látkám. Soustředí se na vývoj a validaci metod pro rychlou detekci rezistentních bakterií metodou hmotnostní spektrometrie. Druhá část dizertační práce je věnována molekulární typizaci rezistentních bakterií s produkcí karbapenemáz.

V teoretickém úvodu jsou představeny beta-laktamy včetně jejich klasifikace a mechanismů rezistence až na úroveň genetického základu rezistence. Velmi podrobně a zdařile je zpracovaná zejména část věnovaná aktivitě jednotlivých skupin beta-laktamáz. V úvodu se autorka věnuje i epidemiologii klinicky významných beta-laktamáz i když spíše okrajově. Text je logicky členěn, je velmi čtivý, jasně a přehledně zpracovaný a doplněn o hojnou obrázkovou dokumentaci. Velmi stručná ale dostatečně informativní kapitola Metodiky shrnuje metody použité v dizertační práci. Ze seznamu metod je zřejmé, že si autorka osvojila širokou škálu metodických přístupů od kultivace, přes testování citlivosti k antibiotikům, stanovení hydrolytické aktivity enzymů až po celogenomové sekvenování (WGS) a základní bioinformatickou analýzu dat.

Dizertační práce je komentovaným souborem pěti publikací v kvalitních časopisech s impakt faktorem; u čtyř je Ing. Pašková prvním autorem. Dvě práce jsou věnovány využití MALDI-TOF MS v detekci mechanismů rezistence. První práce přináší srovnání různých molekul karbapenemů a validaci metodického postupu pro MALDI-TOF detekci karbapenemázové aktivity. Vzhledem k tomu, že rychlý a spolehlivý průkaz rizikových mechanismů rezistence je klíčový pro zvolení vhodné antibiotické léčby, výsledky mají významné uplatnění v klinické mikrobiologii. V druhé práci je zhodnocena metoda MALDI-TOF k identifikaci kmenů *S. aureus* rezistentní k meticilinu (MRSA). Práce přináší důležitá data o nedostatečné robustnosti a nespolehlivosti této metody pro identifikaci MRSA v rutinní mikrobiologické laboratoři. Další tři práce jsou věnovány genotypizaci enterobakterií s produkcí karbapenemáz a přináší aktuální epidemiologická data z České republiky. Autorka se zaměřuje na popis genetického základu rezistentních izolátů s využitím výsledků z WGS analýz až na úroveň detailního popisu sekvencí plazmidů, které nesou geny rezistence ke karbapenemům.

Z dizertační práce je tedy zřejmé, že si studentka osvojila nejrůznější metody a využila je k získání kvalitních výsledků, které mají nejen hodnotu vědeckou, ale nachází také praktické uplatnění v prevenci šíření mikrobů s rizikovými mechanismy rezistence k lékům poslední volby v nemocnicích.

Připomínky

Dizertační práce není zaměřena pouze na vývoj a validaci MALDI-TF MS pro rychlou detekci beta-laktamáz, jak říká její název, ale obsahuje i výsledky genotypizace rezistentních kmenů. Byl by vhodnější jiný název práce, který by zahrnoval i druhou studovanou problematiku.



Dotazy

1/ Jak si autorka vysvětluje sníženou citlivost assay pro detekci karbapenemázové aktivity u pseudomonád? Byly patrné nějaké odlišnosti v datech z celogenomového sekvenování pro kmeny, u kterých se nepovedlo aktivitu stanovit, v porovnání s těmi s karbapenemázovou aktivitou?

2/ Jak rozšířené je využití metody MALDI-TOF pro stanovení karbapenemázové aktivity v klinických laboratořích v ČR?

2/ Je možné využít metodiku MALDI na typizaci epidemicky úspěšných klonů? Existují již nějaké konkrétní aplikace v běžné diagnostice?

3/ Jaká je současná epidemiologická situace producentů karbapenemáz v ČR co se týče prevalence této rezistence a výskytu jednotlivých skupin enzymů?

Předložená dizertační práce je vysoce kvalitní, přináší nové poznatky z oblasti epidemiologie bakterií rezistentních k lékům poslední volby a využití MALDI-TOF v běžné praxi. Všechny stanovené cíle byly splněny a výsledkem práce je celkem pět rukopisů publikovaných v prestižních časopisech s vysokým impakt faktorem, kde prošly přísným oponentským řízením.

Vzhledem k výše uvedenému **jednoznačně doporučuji práci Ing. Veroniky Paškové k obhajobě.**

Doc. RNDr. Monika Dolejská, Ph.D.

V Brně dne 20.3.2021