

**Věc: Posudek oponenta na dizertační práci Mgr. Renáty Šafránkové „Využití MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie i dalších metod při identifikaci mikroorganismů“**

Dizertační práce Mgr. Renáty Šafránkové se týká problematiky klasifikace a identifikace klinicky významných bakterií. Po přečtení autoreferátu jsem myslel, že práce bude koncipována jako komentovaný soubor publikací k danému tématu, avšak vlastní práce je plnotextová, ačkoliv vychází ze čtyř impaktovaných publikací autorky (u tří je uchazečka prvním autorem). Publikace i prezentované výsledky jsou z víceletého období, což na první pohled může být považováno za nerecentní, ale spojujícím prvkem je použití MALDI\_TOF metody u odlišných bakteriálních skupin, a proto za klad práce považuji výsledky a analýzu dat uchazečky v návaznosti na uvedenou metodu a její dlouholetou zkušenost a orientaci v metodě hmotnostní spektrometrie. To, co postrádám v práci je uvedení, zda byly studie podpořeny národními nebo mezinárodními projekty a dále vlastní podíl uchazečky na zpracování a publikaci výsledků, který by měl být sumarizován u každé publikace. Ale možná tahle moje připomínka pramení z neznalosti konkrétních požadavků a zvyklostí na LF UK a nemusí být validní. Zmíněné impaktované publikace jsou v práci vhodně uvedeny rozsáhlým úvodem, což svědčí o velmi kvalitní teoretické přípravě uchazečky pro řešenou problematiku.

Cíle práce jsou jasně a dostatečně formulovány do tří zájmových oblastí, pokrývají jak gramnegativně, tak i grampozitivně se barvící klinicky významné bakterie, a zvolený metodický postup je plně v souladu s řešenou problematikou. Rozsah studovaných mikroorganismů je odpovídající a z publikovaných výsledků je vidět komplexní zaměření uchazečky na řešenou problematiku a koncepčnost při řešení zvoleného tématu. Jako klad práce vidím, kromě stanovených cílů, zpracování velikého množství vzorků a použití různých metodických přístupů k porovnání efektivity metody MALDI-TOF (PCR, PCR-RFLP, ATB). Analýzou dosažených výsledků prokázala uchazečka odbornou erudici a znalost problematiky typizace, klasifikace a především identifikace klinicky významných zástupců bakterií, což dokumentuje v autoreferátu uvedený seznam šesti publikovaných článků s IF. Text práce je sepsán výstižně a srozumitelně, drobných nepřesností je v textu práce minimum - např. chybějící tečka za „spp.“ (str. 29, 31, 33) nebo chybné uvedení „....fermentace laktózy, sacharózy, ...“ na str. 31 (je to acidifikace za aerobních podmínek, ne fermentace).

Jako oponent tedy kladně hodnotím rozsah a kvalitu disertační práce, což prokazuje schopnost samostatné vědecké práce uchazečky. Vzhledem k tomu, že výsledky Mgr. Šafránkové byly již publikovány v časopisech s IF (většina ve Folia Microbiologica) a prošly recenzním řízením, není třeba detailně diskutovat odborné aspekty práce. Níže uvedené poznámky a dotazy mají sloužit spíše jako náměty do diskuze při obhajobě.

**K uchazečce mám několik následujících otázek k tématice předložené práce:**

1. Jaký je názor uchazečky na klasickou DNA-DNA hybridizaci z pohledu současné taxonomie (str. 11)?
2. Podle čeho se volí konkrétní organická kyselina pro matrici (str. 13)? A v kolika opakováních byl vlastně každý kmen zpracován?
3. Proč byl k analýze hmotnostních spekter použit u gramnegativních tyček Bruker Autoflex, zatímco pro grampozitivní koky Bruker Microflex Maldi Biotyper (str. 32)?
4. Čím si autorka vysvětluje tu získanou velkou diverzitu MALDI profilů u plesiomonád (str. 37)? Nemůže se jednat o více druhů nebo poddruhů? Obdobný dotaz se týká také neidentifikovaných citrobakterů (str. 46) – nemohou tyto izoláty reprezentovat nový druh?
5. A poslední dotaz se týká kapitoly Diskuse – co bylo bráno jako finální identifikace vůči které je stanovována úspěšnost metody MALDI?

Při posuzování předložené disertační práce jsem neshledal žádné závažné nedostatky, které by se týkaly metodiky, pracovních postupů nebo hodnocení dosažených výsledků. Konstatuji tedy, že dle mého názoru uchazečka prokázala tvůrčí schopnosti v dané oblasti výzkumu, a že posuzovaná disertační práce splňuje požadavky standardně kladené na disertační práci.

Na základě uvedených skutečností **doporučuji** komisi pro obhajoby doktorských disertačních prací, aby **přijala tuto práci k obhajobě** a po jejím úspěšném obhájení přiznala Mgr. Renátě Šafránkové vědeckou hodnost Ph.D.

**Prof. RNDr. Ivo Sedláček, CSc.**

22.6.2021