

Oponentský posudok dizertačnej práce

Téma: Charakterizace kmenů *Escherichia coli* izolovaných z potravin

Doktorand: Ing. Mgr. Silvie Pavličková

Oponent: prof. Ing. Jozef Golian, Dr., Katedra hygieny a bezpečnosti potravin, FBP SPU Nitra

Dizertačná práca sa zaoberá charakterizáciou baktérií *Escherichia coli* v potravinách pomocou fenotypizačných a genotypizačných metód. V práci je použitých viacero metód, ktoré sa navzájom dopĺňajú.

Súčasný stav riešenej problematiky autorka rozdelila logicky do 8-ich podkapitol. V prvých troch podkapitolách charakterizuje baktériu *Escherichia coli*, jej patogenitu a faktory virulencie. V štvrtej podkapitole charakterizuje patogénne skupiny *Escherichia coli*, predovšetkým intestinálne a extraintestinálne patogénne kmene. V piatej podkapitole podrobnejšie autorka popisuje antimikrobiálne látky, mechanizmy ich účinku a bakteriálnej rezistencie, antimikrobiálnu rezistenciu, rezistenciu k beta-laktámovým antibiotikám a šírenie antibiotickej rezistencie prostredím. Ďalej je tiež vhodne popísaná antibiotická rezistencia kmeňov *Escherichia coli* izolovaných z hospodárskych zvierat, z voľne žijúcich zvierat a z potravín. V šiestej podkapitole sa autorka stručne venuje zaradeniu kmeňov *Escherichia coli* do fylogenetických skupín. Posledné dve kapitoly sú venované produkcii bakteriocínov a schopnosti baktérií *Escherichia coli* tvoriť biofilm.

Ciele práce sú sformulované do 8-ich bodov a vychádzajú predovšetkým z fenotypovej a genotypovej charakterizácie pomocou klasických mikrobiologických a molekulárno-biologických metód. Za najvýznamnejšie považujem stanovenie citlivosti voči vybraným antibiotikám, testovanie kmeňov na prítomnosť génov rezistencie metódou PCR a typizácia bakteriocinogénnych kmeňov pomocou PCR.

Metodika dizertačnej práce je podrobne rozpísaná na 14-tich stranách. Popísaný je materiál, zoznam bakteriálnych kmeňov, laboratórne prístroje, kultivačné média, chemikálie, antibiotiká a použité roztoky. V rámci metodiky sú popísané fenotypizačné a genotypizačné metódy. Kapitola obsahuje aj časť o štatistickom vyhodnotení výsledkov. Metodika práce je napísaná na zodpovedajúcej úrovni, prehľadne a zrozumiteľne.

Výsledky práce sú detailne spracované na 40-ich stranách, 9-ich tabuľkách a 21-ich obrázkoch. Rozdelené sú do 5-ich podkapitol. V prvej časti výsledkov je zaradenie kmeňov do fylogenetických skupín. Autorka celkom charakterizovala 70 kmeňov z kurčiat a zveriny. Taktiež bola prítomnosť *E. coli* zaznamenaná aj v zelenine. V druhej časti výsledkov autorka charakterizovala kmene izolované z kuracieho mäsa a zveriny. Súčasne bola testovaná aj ich citlivosť k 13 antibiotikám difúznou metódou a na prítomnosť 14 faktorov virulencie metódou PCR. Najvyššiu rezistenciu autorka zistila na penicilíny – ampicilín 38 %, amoxacylín - 32 % a gentamicín 20 %. Súčasťou tejto časti bolo aj sledovanie zastúpenia jednotlivých faktorov virulencie u kmeňov *E. coli* izolovaných z kuracieho a mäsa voľne žijúcej zveri. Výsledky súhrne uvádza tab. 7 a obr. 11 a 12. V samostatnom grafe sú uvedené korelácie medzi faktormi virulencie a pôvodom izolátov, z čoho vyplýva že izoláty z jednotlivých druhov zvierat obsahovali rozdielne faktory virulencie.

V tretej časti výsledkov autorka charakterizovala kmene *E. coli* izolované zo zeleniny. Pozoruhodné je zistenie *E. coli* u 15-tich vzoriek, pričom išlo aj o bežne konzumovanú zeleninu. Pri zisťovaní antibiotickej rezistencie boli najčastejšie detegované gény pre rezistenciu voči beta-laktámovým antibiotikám. U izolátov zo zeleniny autorka stanovila prítomnosť 16-tich faktorov virulencie.

V štvrtej časti výsledkov sa autorka zaoberala schopnosťou tvorby biofilmov u kmeňov izolovaných z kuracieho mäsa a zveriny. Autorka potvrdila, že zo 105 kmeňov 71 produkovalo biofilm s rôznou intenzitou. Vyššia sila adherencie kmeňov bola potvrdená u kuracích izolátov. Taktiež bola zistená rozdielna prevalencia antibiotickej rezistencie u biofilm tvoriacich kmeňov a prevalencia faktorov virulencie biofilm tvoriacich kmeňov..

V piatej časti autorka uvádza výsledky bakteriocinogenotypizácie kmeňov *E. coli*. Produkciu bakteriocínu autorka zisťovala u 129 izolátov z kuracieho mäsa, zveriny a zeleniny. U produkujúcich kmeňov bola následne vykonaná PCR typizácia na určenie konkrétneho druhu bakteriocínu. Bola zisťovaná prítomnosť 24 kolicínov a 8 mikrocinov. Ich zastúpenie je spracované v tabuľke 12 podľa jednotlivých typov.

Diskusia k práci a k získaným výsledkom je vhodnou konfrontáciou s doteraz známymi výsledkami v danej oblasti a svedčí o dobrom prehľade autorky práce a štúdiu dostupných zdrojov s vypovedacou hodnotou. Diskusia k jednotlivým výsledkom je súčasťou každej podkapitoly výsledkov, čo dáva zároveň aj aktuálny prehľad a vzťah k jednotlivým experimentom.

Prínosy pre vedu a prax sú jednoznačné a štruktúrované do konkrétnych bodov, oceňujem ich výstižnosť.

Závery práce sú sformulované do konkrétnych bodov a vystihujú odpovede na stanovené ciele práce. Závery majú súčasne aj praktický význam.

Zoznam použitej literatúry tvorí 197 citácií prevažne zahraničnej a aktuálnej literatúry so širokým záberom. Všetky použité zdroje vrátane legislatívnych odkazov majú úzky súvis s riešenou problematikou. Literárne zdroje pochádzajú z vedeckých časopisov, vedeckých konferencií a sú časovo aktuálne.

Technická úroveň dizertačnej práce spĺňa požadované kritéria pre tento druh práce, oceňujem uvedenie zoznamu tabuliek, obrázkov zoznamu skratiek a značiek, ktoré dávajú práci lepšiu orientáciu. Rozsahom, obsahom technickou a grafickou úpravou práce je možné konštatovať zodpovedný a cieľavedomý prístup autorky k riešenej problematike, schopnosť orientácie v problematike, metodikách a analýzach.

K práci mám nasledovné otázky:

1. Ktoré ďalšie faktory prispievajú k zvýšenej tvorbe biofilmov *E.coli* na povrchoch v prevádzkach kde sa spracováva mäso aj zelenina?
2. Je možné na základe bakteriocinogenotypizácie určiť pôvod kmeňov pochádzajúcich z iných oblastí resp. kontinentov?
3. Uplatňujú sa nejaké opatrenia na zabránenie prenosu antibiotickej rezistencie *E. coli* z humánnych izolátov na zvieracie izoláty?

Záver

Predkladaná dizertačná práca bola spracovaná z problematiky mikrobiálnej charakterizácie *Escherichia coli* s využitím klasických mikrobiologických a molekulárno-biologických metód. Dizertačná práca napĺňa profil študijného programu a prináša nové teoretické aj prakticky využiteľné poznatky v študijnom programe Chemie a technológie potravín..

Na základe uvedeného odporúčam prácu k obhajobe a po jej obhájení odporúčam udeliť Ing. Mgr. Silvii Pavličkovej akademický titul Ph.D. v študijnom programe P2901 Chemie a technológie potravín.

V Nitre, 6.9.2016

prof. Ing. Jozef Golian, Dr.,

