

Posudek školitele magisterské diplomové práce

Autor práce: Bc. Jana Cimická

Název: Molekulární diagnostika fungálních patogenů z klinických vzorků

Bc. Jana Cimická přišla do Bioptické laboratoře s.r.o. během svého bakalářského studia na Fakultě zdravotnických studií v Plzni, vypracovala zde svou bakalářskou práci a později jí byla nabídnuta možnost pracovat i na tématu magisterské práce. Jana se už od začátku projevila jako velmi schopná, samostatně uvažující a precizně pracující studentka, proto jí bylo svěřeno složité téma diagnostiky fungálních mikroorganismů v klinických vzorcích.

Bioptická laboratoř je primárně patologickou laboratoří zajišťující histopatologickou diagnostiku převážně z fixovaných tkání se zahrnutím imunohistochemických, molekulárně genetických a molekulárně mikrobiologických metod. V posledních letech stoupala poptávka po diagnostice infekčních agens v tomto typu vzorků, a to jak virových, tak bakteriálních a parazitárních. Rozhodli jsme se portfolio vyšetření rozšířit o stále aktuálnější diagnostiku mykologickou, což se samo o sobě ukázalo jako velká výzva. Jana dostala za úkol zavést diagnostiku fungálních agens z formálním fixovaných a do parafínu zalitých (FFPE) tkání a optimalizovat ji do té míry, aby byla spolehlivá, finančně nepřiliš náročná a využitelná pro rutinní diagnostiku. Druhým úkolem její práce bylo provést retrospektivní studii a archivovaných FFPE materiálech s cílem zjistit zastoupení fungálních agens ve střevních biopsiích pacientů s diagnózou ulcerózní kolitidy a Crohnovy choroby a porovnat tyto výsledky se zastoupením fungálních agens ve střevech bez zánětlivých změn. Tento projekt měl být součástí grantového projektu ve spolupráci s VÚM Tábor (Ing. Kavková) a dalšími subjekty, který měl řešit podíl oportunních fungálních patogenů přijímaných s potravou na vzniku idiopatických střevních zánětů. Projekt ale nakonec nebyl podpořen a Janina práce byla tedy hrazena ze zdrojů laboratoře.

Jana se velmi rychle se naučila pracovat s FFPE bločky, vyhledávat je v databázi, krájet na mikrotomu, věnovala se porovnání vhodnosti izolačních kitů pro detekci mykologických agens. Pak následovala optimalizace detekční metody, a to jak PCR, tak následné sekvenace. Zavedení sekvenace nové generace (NGS) pro tento typ vzorků bylo sice časově velice náročné, ale výsledky mají mnohem větší výpovědní hodnotu než běžné Sangerovo sekvenování.

Jak při samotné práci v laboratoři, tak při zpracování diplomové práce pracovala velice samostatně, vnášela nové nápady a pečlivě zpracovávala zadanou problematiku. Zvládla to všechno výborně, přestože jsem jí v posledních měsících příliš nepodpořila, jelikož laboratoř se zapojila do testování SARS-CoV-2, což nás všechny zcela vytížilo. Ve finální podobě diplomové práce tak sice zůstaly drobné chyby a překlepy, práce jako celek ale tím neutpěla.

Janou zavedená metodika je již dnes rutinně využívána v provozu molekulární mikrobiologie Bioptické laboratoře, přičemž už napomohla určení správné diagnózy u mnoha pacientů. Výsledky Janou provedené retrospektivní studie sice neukázaly jednoznačné rozdíly mezi porovnávanými skupinami vzorků, vykazují ale trend změny poměru asko/basidiomycét v zánětlivě změněných střevních vzorcích, což bychom rádi v budoucnu potvrdili ve studii s větším počtem vzorků v jednotlivých skupinách. Výsledky přinesou jedny z prvních informací, jaké složení má mykobiom přímo v histologicky ověřených zánětlivých lézích ve střevech.

Jana odvedla velký kus práce a věřím, že po úspěšné obhajobě jí pomohou nabyté zkušenosti v doktorském studiu, které si vybrala.

V Plzni 7.7.2020

RNDr. Kateřina Černá, Ph.D.