

Oponentský posudek habilitační práce „Imunochromatografická detekce vybraných kontaminantů potravin a životního prostředí.“ Ing. Martiny Blažkové, Ph.D. z Ústavu biochemie a mikrobiologie, VŠCHT v Praze.

Habilitační práce k získání hodnosti docenta v oboru Biochemie předložená Ing. Martinou Blažkovou, Ph.D. z Ústavu biochemie a mikrobiologie VŠCHT v Praze má rozsah 40 stran vlastního textu, obsahuje 16 obrázků a 6 tabulek, je zakončena literaturou, ve které bylo citováno 67 článků, dále obsahuje 17 příloh týkajících se dané problematiky. Práce je stylově i graficky velmi zdařilá, je dobře upravená. Podle seznamu publikací je Ing. Blažková prvním autorem u 6 zahraničních publikací, z toho 3x byl IF roven 7.5, spoluautorem u 9 zahraničních impaktovaných publikací, prvním autorem u 3 impaktovaných domácích publikací a spoluautorem u 5 impaktovaných domácích publikací. Souhrnný IF těchto publikací je roven 49, tyto články byly 195x citovány. Je také spoluautorkou kapitoly v zahraniční monografii, autorkou či spoluautorkou řady článků uveřejněných v časopisech bez recenzního řízení, ve sbornících zahraničních i domácích přednášek a posterů.

Cílem habilitační práce bylo popsat vývoj rychlých a praktických kvalitativních až semikvantitativních imunochromatografických postupů, které by sloužily k detekci patogenních mikroorganismů rodu *Listeria* (*Listeria monocytogenes*) a rodu *Cronobacter* v potravinách, jako je dětská výživa, potraviny pro zvláštní léčebné účely a potraviny určené k přímé spotřebě. V případě rodu *Listeria* byly použity polyklonální protilátky specifické vůči internalinu B, popř. bylo využito molekulárně-genetických metod izolace DNA a její amplifikace pomocí PCR, přičemž na DNA se v průběhu PCR navazují specifické značky fluorescein, digoxigenin a biotin využitelné pro následné imunochromatografické stanovení. Také bakterie rodu *Cronobacter* byly imunochromatograficky stanoveny s využitím polyklonálních protilátek získaných imunizací tepelně ošetřených buněk rodu *Cronobacter* a následně se rod *Cronobacter* stanovil pomocí imunochromatografického testu pro detekci 16S rRNA značených digoxigeninem a biotinem.

Metodika imunochromatografického stanovení byla použita i pro detekci pesticidů thiabendazolu, methiokarbu, karbaryl, karbofuranu a atrazinu v potravinách a v životním prostředí. V případě thiabendazolu, methiokarbu, karbaryl se jednalo o imunochromatografický postup využívající nepřímý kompetitivní formát s primárními myšími monoklonálními protilátkami, sekundárními prasečími protilátkami vůči myším imunoglobulinům a terciálními králíčími protilátkami proti prasečím imunoglobulinům.

Z práce vyplývá, že použití imunochromatografických testů je jednoduché s minimální uživatelskou akcí, je komplexní, rychlé a má vysokou specifitou a sensitivitou. Mohou je používat i neodborníci působící mimo laboratoř, způsob je aplikovatelný v místě odběru vzorku a měl by umožnit i POC („point of care“) analýzu. Na druhou stranu ale příprava těchto „stripů“ je náročná a vyžaduje velkou zkušenost v dané oblasti.

K práci mám tyto dotazy a připomínky:

1) V části „Žádost“ na str. 8 uvádíte pro článek Blažková M et al.: Biosens Bioelectron 25(9): 2122-2128, 2010 IF=7.5, ale na str. 23 uvádíte IF u stejného článku rovný 5.4. Jaký IF je správně?

2) V části Úvod, str. 1 habilitační práce uvádíte, že imunochromatografická metoda je velice oblíbená v klinické analýze. Běžné laboratoře klinické biochemie jsou vybaveny robotizovanými a značně sofistikovanými imunoanalýzátory a jsou zaměřené na kvantitativní stanovení daného analytu. Imunochromatografický postup stanovení zde není běžný. Je ale možné, že nemám pravdu. Které imunochromatografické postupy jsou nejčastější v laboratoři klinické biochemie?

3) Na str. 6 uvádíte, že jestliže je antigenem velký protein (mikroorganismus), který obsahuje větší množství epitopů, polyklonální protilátky jako směs reagují s množstvím antigenů. pAb ale interagují

s různými epitopy na povrchu 1 antigenu. Kdyby interagovaly se směsí antigenů, nebyly by použitelné pro analýzu biologického materiálu vzhledem ke zkříženým reakcím.

4) Jak může velikost nanočástic sloužit jako prevence „hook efektu“ (str. 9). Projevuje se tento efekt v kompetitivních i v nekompetitivních imunoanalýzách? Zkresluje tento efekt přesnost nebo pravdivost výsledků?

5) Str. 18 – imunochromatografické testy jsou levné. Jaká je v průměru v současnosti cena 1 imunochromatografického stanovení?

Závěr

Předložená práce se zabývá vysoce aktuálními problémy spojenými s kvalitativním až semikvantitativním imunochromatografickým stanovením látek typu patogenních mikroorganismů a pesticidů. Daná metoda je jednoduchá pro použití a nevyžaduje přítomnost kvalifikovaného odborníka v laboratorní metodice. Nalezení sensitivních, specifických a ekonomicky dostupných imunochromatografických metod by zlepšilo situaci jak v lékařství v prevenci řady onemocnění, v prognóze stavu pacientů a účinnosti jejich léčby, tak i při kontrole potravin a vody na přítomnost pesticidů, disruptorů a dalších látek, které z nutričního hlediska negativně ovlivňují kvalitu. Uplatnění mohou mít tyto postupy i v toxikologii a forensních vědách.

Habilitační práce pojednává o aktuálním tématu, splnila vytčené cíle, používá adekvátní metody a přináší nové poznatky i pro další obory včetně klinické biochemie. Habilitační práce prokazuje, že její autor je vyhraněnou osobností s vysokou vědeckou kvalifikací.

Předložené doklady, pedagogická praxe a vědecká způsobilost uchazečky vyhovují požadavkům daným Zákonem 111/1998 Sb. ve znění pozdějších předpisů a rámcovým kritériím pro jmenování docentů na VŠCHT v Praze.

Doporučuji habilitační práci Ing. Martiny Blažkové, Ph.D. přijmout v předložené formě a na jejím základě doporučuji udělit Ing. Martině Blažkové, Ph.D. titul docent pro obor Biochemie.

V Praze 30.6.2017


Doc. Ing. Radovan Bílek, CSc.
Endokrinologický ústav v Praze