

Oponentský posudek bakalářské práce Jany Páleníkové: **Dynamika přenosu *Borrelia burgdorferi sensu stricto* z klíštěte *Ixodes ricinus* na hostitele**

Předkládaná bakalářská práce se zabývá přenosem bakteriálního původce Lymeské boreliózy z jeho vektora, klíštěte *I. ricinus*, na myšího hostitele po různých dlouhých dobách sání klíšťat, přičemž se zaměřuje na vyšetřování jednotlivých myších tkání na přítomnost *B. burgdorferi* pomocí real-time PCR. V druhém pokusu zkoumá dynamiku borelií v klíšťatech v závislosti na době sání klíšťat na hostiteli.

Práce má obvyklou strukturu, skládá se z literárního přehledu dané problematiky (9 stran), cílů práce (1 strana), materiálů a metodiky (4 strany), výsledků (5 stran), diskuze (2 strany) a závěru (1 strana). Nechybí ani seznam použitých zkratk, který usnadňuje orientaci v textu. Seznam citované literatury obsahuje 113 původních citací. Členění práce je přehledné s pěknou grafickou úpravou.

Literární přehled shrnuje dosavadní poznatky jak o samotném původci Lymeské boreliózy – spirochetách *B. burgdorferi sensu lato*, tak i o jejich klíštěcích vektorech z rodu *Ixodes*. Klade důraz především na jejich vzájemné molekulárně-imunologické interakce a také na interakce na úrovni borelie-hostitel a klíště-hostitel. Samostatná kapitola je pak věnována slinami aktivovanému přenosu patogenů, který je již několik let podrobně zkoumán s cílem vyvinout potenciální vakcínu proti komponentám klíštěcích slin, která by zabránila infekcím způsobeným všemi klíšťaty přenášenými patogeny.

Cíle práce jsou stanoveny přehledně, v bodech.

Experimentální část je svým rozsahem úměrná části teoretické a je rozdělena na kapitoly popisující materiály a metody a na vlastní výsledky, které jsou shrnuty do dvou tabulek a šesti grafů. Grafy jsou dobře vypracovány a vhodně doplňují popisované výsledky. Získané výsledky jsou poměrně překvapivé a vyplývá z nich, že oproti očekávání jsou spirochety *B. burgdorferi* přítomny ve slinných žlázách už u nenasátých infikovaných klíšťat, a ne až u klíšťat sajících několik hodin, jak se původně předpokládalo. To odpovídá datům z experimentálních infekcí získaným Janou Páleníkovou v prvním pokusu, kde byly borelie přeneseny na myšího hostitele již po dvou hodinách sání klíštěte. Experiment 2 bude ještě ale potřeba zopakovat a ověřit tak získané výsledky, s čímž ale studentka počítá.

V diskuzi studentka srovnává dosažené výsledky s předchozími výsledky získanými na stejném pracovišti K. Peržinovou v rámci středoškolské odborné činnosti a kriticky je hodnotí. Porovnává je i s výsledky publikovaných studií, kterých je však bohužel, samozřejmě ne její vinou, poměrně málo. Přestože je toto téma velice zajímavé a výsledky jsou velmi důležité pro prevenci onemocnění Lymeskou boreliózou, neproběhlo v Evropě mnoho studií zabývajících se dynamikou spirochet v klíštěti a následným přenosem na hostitele, které by navíc využívaly tak citlivých detekčních metod, jaké použila ve své práci Jana.

Závěr shrnuje výsledky dvou provedených experimentů a je z něj zřejmé, že studentka splnila cíle, které si stanovila.

Přehled citované literatury je zpracován velmi pečlivě, má jednotnou formu a obsahuje velice málo formálních chyb.

K bakalářské práci mám několik poznámek a otázek a prosím Janu Páleníkovou o reakci na ně:

1. Na straně 3 uvádíte, že prokazatelný vztah k Lymeské borelióze mají pouze 4 poddruhy *B. burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi s.s.*, *B. afzelii*, *B. garinii* a *B. spielmani*), na konci stejného odstavce je ale uvedeno, že byla popsána i infekce *B. valaisiana*, která způsobuje pouze erythema migrans. Jaká jsou tedy kritéria pro diagnózu Lymeské boreliózy?
2. Str. 5 – Expresí klíštěcího receptoru pro OspA borelií (TROSPA) je v infikovaných nymfách vyšší. Je tedy expresí tohoto receptoru boreliemi přímo indukována, nebo je to jen nespecifická reakce na jakoukoliv bakteriální infekci? Případně ví se už, jakou cestou by mohla indukce exprese probíhat?
3. Na str. 6 je lehce zavádějící údaj, že při aktivaci alternativní dráhy komplementu složka C3b komplementu společně se složkou C5 vytváří membrane attack complex (MAC). K jeho složení je ale potřeba určitě více složek komplementu. Můžete to doplnit?
4. Str. 12 - Infekce klíšťat. Píšete, že pomocí PCR byl vyšetřen reprezentativní vzorek klíšťat. Kolik klíšťat to v jednotlivých skupinách představovalo?
5. Str. 13 – V kapitole materiály a metody je třeba u komerčních protilátek uvést výrobce (SwAM/Px). V rozpisu složení reakční směsi pro real-time PCR není ani tak důležitý objem přidávaných chemikálií, jako jejich výsledná koncentrace, případně uvádějte objem a výchozí koncentraci chemikálií (u deoxynukleotidů, primerů a sondy molární koncentraci, u polymerázy počet jednotek na mikrolitr).
6. Str. 15 – Jak si vysvětlujete, že přestože všechny myši v Experimentu 1 byly infikované *B. burgdorferi*, jak bylo prokázáno real-time PCR, nebyly u nich detekovány specifické protilátky? Myslíte si, že doba sání klíštěte má nějaký podstatný vliv na distribuci spirochét v hostiteli v pokročilé fázi infekce?
7. Str. 21 – V diskuzi uvádíte, že Crippa s kolektivem v práci z roku 2002 neprokázala časný přenos *B. burgdorferi s.s.* Jaké metody vyšetřování přítomnosti boreliové DNA použila?

Bakalářská práce Jany Páleníkové, která obsahuje zajímavé a podnětné původní výsledky, je napsána velmi pečlivě, s minimem překlepů (a to i v seznamu literatury, což nebývá u bakalářských prací úplně obvyklé). Práce podle mého názoru splňuje ve všech ohledech nároky kladené na bakalářskou práci Přírodovědeckou fakultou Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích a **doporučuji** ji proto k obhajobě.



V Plzni, dne 17. 5. 2010

RNDr. Kateřina Černá, Ph. D.