

## **Metody purifikace spirochét Lymeské boreliózy – *Borrelia burgdorferi sensu lato***

Původce lymeské nemoci – spirochéty *Borrelia burgdorferi sensu lato* jsou patogeny, kterým je věnována velká pozornost nejen lékařské, ale také veterinární a zejména vědecké společnosti, která se zaměřila na vývoj účinné vakcíny proti tomuto agens. Pro svou antigenní různorodost mezi jednotlivými druhy, které toto onemocnění způsobují, a zejména odlišnou expresí povrchových proteinů, které se mění v závislosti na přírodním cyklu borelie, respektive životním cyklu klíštěte, které přenáší *B. burgdorferi* na člověka, je právě tento patogen velkou výzvou.

Diplomantka se ve své bakalářské práci zaměřila na studium několika metod a postupů, jenž by vedly k eliminaci nežádoucích bakteriálních kontaminací, které bezpochyby provázejí získávání původních izolátů, a získání čisté homogenní kultury potřebné pro další výzkum a vývoj nejen protektivní vakcíny.

Předložená práce rozsahu 37 stran je psána srozumitelným jazykem s minimem chyb a překlepů (titulní strana, st.13). Práce je klasicky členěna do jednotlivých kapitol.

V úvodu se čtenář krátce seznamuje s tématem, kterému je tato práce věnována. Teoretický přehled pečlivě a podrobně zpracovává biologii, patogenitu, životní cyklus zmiňovaného patogena i jeho přenašeče a velmi přehledně jsou zde prezentovány také klinické projevy, imunitní odpověď a terapie lymeské nemoci. Chybí mi zde snad jen alespoň zmínka o užívaných purifikačních postupech v mikrobiologii a antibiotikách dále v práci testovaných.

Cíle práce jsou stanoveny jasně a jednoznačně.

Z kapitoly Materiál a metody je zřejmé, že autorka zvládla širokou škálu laboratorních technik od práce s laboratorními zvířaty, manipulace a kultivace borelií až po čistě molekulární metody izolace a detekce DNA.

Z výsledkové části této práce je zřejmé, že se diplomantce podařilo pomocí metody limitního ředění získat „homogenní“ kultury *Borrelia garinii* a *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, které budou jistě neocenitelným zdrojem pro další výzkum nejen v imunologické laboratoři. Bohužel ani jednou z použitých metod se nepodařilo získat jednodruhovou kulturu borelií bez kontaminace jinými bakteriemi. Nad rámec vytyčených cílů byl identifikován jeden z původců kontaminace.

V diskuzi jsou kriticky zhodnoceny dosažené výsledky a v konfrontaci s literaturou je nastíněna další možnost studia této problematiky.

Měla bych na autorku několik dotazů:

- ✓ V případě purifikace borelií pomocí izolace z infikovaných myší byla prokázána jiná kontaminace, než-li tomu bylo u purifikací *in vitro*. Bylo zjišťováno, o jakou kontaminaci se jedná a popřípadě jaká je její citlivost na testovaná antibiotika?
- ✓ Čím si vysvětlujete, že u orgánů myší, ze kterých nebyly izolovány borelie, nebyla prokázána ani přítomnost kontaminace? Měla jste kontrolní „čisté“ orgány?
- ✓ Kterou z navrhovaných metod purifikace v diskuzi byste volila jako potencionálně vhodnou s ohledem na virulenci borelií.

Autorka sepsáním této práce dokázala, že je schopna samostatně pracovat s vědeckou literaturou, plánovat a provést experimenty a vyhodnotit získané výsledky. Předloženou bakalářskou práci Markéty Hejníkové považuji po stránce formální a obsahové za spis, který splňuje standardní požadavky kladené na diplomové práce na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Práci doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích, 22.1.2010.

*Pavčina Tinavská*

RNDr. Pavčina Tinavská, PhD.