

## Posudek školitele na bakalářskou práci Markéty Hejníkové „Metody purifikace spirochét Lymeské boreliózy – *Borrelia burgdorferi* sensu lato“

Téma bakalářské práce Markéty Hejníkové vyplynulo z potřeby našeho oddělení vyčistit kmeny borelií od bakteriálních kontaminací a pokusit se o oddělení spirochét různých druhů (genospecies) ze směsi. Kontaminace kmenů borelií, které jsme v minulosti izolovali z klíšťat, nás dlouhodobě trápí. Tyto kontaminace přežívají i v kulturách, kam byla přidána směs antibiotik pro borelie (která boreliím neškodí).

Markéta vyzkoušela čtyři různé způsoby, purifikaci limitním ředěním, izolací z infikované myši, přeléčením kultur antibiotiky a purifikací z kolonií vyrostlých na agaru. Tyto metody doplnila druhově specifickou PCR, pomocí které ověřila úspěšné oddělení *B. burgdorferi* sensu stricto a *B. garinii* ze směsi. Bohužel odstranění bakteriální kontaminace z boreliových kultur se nepodařilo ani jednou metodou. Osobně jsem věřil vyčištění borelií pasáží přes myš avšak ani to se nezdařilo. Buďto nebyly v orgánech přítomny borelie a nebo byly, ale kontaminace též. Markéta vyzkoušela 14 antibiotik a jejich kombinací, ale nenašla žádné, které by selektivně zlikvidovalo kontaminaci aniž by ublížilo boreliím.

I když byla jediným pozitivním výsledkem Markéty izolace jednotlivých druhů borelií ze směsi metodou limitního ředění, Markéta si vyzkoušela práci s boreliemi včetně jejich kultivace, izolaci borelií z infikovaných myší, práci s antibiotiky nebo kultivaci borelií na agaru. K tomu výše zmíněnou PCR. Sekvenční analýzou genu pro 16S malou ribosomální podjednotku zjistila, že původní kontaminace boreliových kultur je zřejmě sporulující *Paenibacillus lactis*.

Markéta přistupovala k práci iniciativně (kontaminaci konzultovala s mikrobiologem firmy LABOMA dr. Kramářem), prokázala schopnost pracovat s literaturou, aplikovat vybrané metody, vyhodnotit a zpracovat výsledky i jistou dávku laboratorní šikovnosti. Jako školitel jsem její práci sledoval z povzdálí, za její vedení v laboratoři patří dík Veronice Slavíkové a Heleně Horké.

Práci doporučuji k obhajobě.

V Č.Budějovicích 26.1. 2010



Doc. RNDr. Jan Kopecký, CSc.