



RNDr. Lenka Grunclová, Ph.D.
Biologické centrum AV ČR, v.v.i.
Parazitologický ústav
Branišovská 31
370 05 České Budějovice

Oponentský posudek na bakalářskou práci Hany Hájkové

„Výskyt klíšťat a analýza jimi přenášených druhů borelie v rekreačních zónách v Českých Budějovicích a okolí. Mapování výskytu *B. miyamotoi* z vybraných regionů Jižních Čech.“

V práci autorka řeší problematiku výskytu klíšťat jimi přenášených patogenů v našem regionu. Jako cíl si autorka určila vypracování literární studie k dané problematice, analýzu lokalit a intenzitu výskytu klíšťat, optimalizaci technik detekce borelií, identifikaci druhů borelií, mapování výskytu *B. miyamotoi* v Jižních Čechách a interpretaci výsledků vzhledem k mapování lokalit a ochranu zdraví.

Práce má 36 stran, tradiční členění a svým rozsahem odpovídá nárokům na bakalářskou práci. Autorka splnila vytyčené cíle práce a výsledky sepsala a diskutuje s množstvím literárních zdrojů.

K práci celkově mám tyto výhrady:

Autorka se nevyvarovala gramatických chyb a překlepů. Za všechny: lymeská borelióza lze napsat několika způsoby, ovšem autorka používá špatný tvar „Lymeská borelióza“, zmínila bych dále výraz „filogeneze“ a „skrining“, který se většinou používá ve své anglické podobě.

Ke grafické stránce práce mám několik připomínek: myslím, že každá kapitola by si zasloužila začátek na vlastní stránce, vadí mi „přetržené“ tabulky, větší tabulka by měla mít svou stránku, popisy tabulek a grafu by měly být lépe odlišené od textu práce, autorka také používá různé popisky obrázků a tabulek: Obr.3 x Obrázek 4 x Obrázek č. 2, Tab. 10 x Tab. 11 x Tab.12.

Připomínku mám k použité literatuře, několikrát citovaný Richter et. al., 2002 není v seznamu, stejně jako pět dalších autorů, někteří autoři jsou přejmenováni (Kazmínová x Kazimírová, Rolland x Rollend) a cca 20 je jich v seznam, avšak chybí v textu, do seznamu nejsou dále zařazeny citace z tabulky 1 a 2.

U jednotlivých kapitol mám tyto připomínky:

Úvod:

V úvodu se autorka věnuje pouze spirochétám, lymeské borelióze a dvěma zajímavým, nedávno popsáným druhům borelií. Vzhledem k tomu, že autorka má jako cíl uvedenu literární studii, přijde mi úsporný. Očekávala bych několik řádků o přenosu patogena, klíšťatech, případně jejich ekologii související s přenosem.

Materiál a metody:

Autorka popisuje základní metody molekulární biologie, purifikaci genomové DNA, PCR, příprava sekvenční reakce. Z metodiky není bohužel jasné, který PCR produkt byl sekvenován a který byl klonován do TOPO vektoru, kapitola 4.3, toto je naznačeno až v závěru, kdy je mimochodem zmíněna pozitivní kontrola na *B. miyamotoi*. Dále není objasněna metoda získání DNA z kultury pro pozitivní kontrolu, šlo o genomovou DNA? Není uvedena „barvička“ sloužící k vizualizaci pod UV.

Výsledky:

Tabulka 6, 7 a graf ukazují stále totéž, počet nalezených klíšťat. Určení výkyvu počtu klíšťat v jednotlivých měsících je naprosto nesmyslné, autorka byla na sběru v červnu 1x, v červenci 9x, v srpnu 7x atd. tato data nelze interpretovat jako výkyvy v počtu klíšťat v jednotlivých měsících. S tímto souvisí chybně použitý pojem „prevalence“, definovaný jako podíl počtu pozitivních (infekčních) jedinců a počtu jedinců v populaci. Odstavec o pozitivní kontrole u *B. miyamotoi* by měl být začleněn do kapitoly Materiál a metody. Autorka publikuje příklady pozitivních reakcí jen u části spirochét, chybí *B. garinii* a *B. afzelii*. Autorka také neuvádí zdroj DNA *B. garinii* pro gradientovou PCR. Autorka identifikovala 4 případy koinfekce, ale poté je rozdělila 1:3 mezi *B. garinii* a *B. burgdorferi* s.s. jak to tedy je? Na obrázku 7 autorka uvádí 8% neurčených druhů, proč nebyl vzorek osekvenován a určen stejně jako vzorek s *B. bissettii*? Potvrdila autorka výskyt *B. miyamotoi* sekvenací?

Diskuze:

Opět si nejsem jistá, že autorka rozumí pojmu prevalence, v textu jej zaměňuje za počet a prevalenci nazývá promořeností. Autorka správně nevztahuje své výsledky k celorepublikovému či evropskému výskytu jednotlivých druhů spirochét a vidím jejich význam zejména v péči o tyto lokality a užitečnou informaci pro „uživatele“ těchto rekreačních zón. V úvodu autorka píše, že „výskyt *B. bissettii* byl zaznamenán v oblastech s mírným podnebím, hojnými srážkami a suchým létem“ tj. Kalifornie, Mexiko atd., jak si vysvětluje její výskyt v Čechách? Byly již identifikovány spirochety *B. miyamotoi* u evropských pacientů? Pokud ne, budou?

Autorka sepsala literární přehled, využila molekulárně biologické metody k identifikaci spirochét v klíštěti a popsala výskyt neobvyklých druhů v Jižních Čechách a okolí Českých Budějovic. I přes nedostatky ve zpracování dat autorka přinesla zajímavé poznatky, jsem přesvědčena, že předložená práce splňuje nároky Přírodovědecké fakulty JU na bakalářskou práci, proto ji doporučuji k obhajobě jako jeden z předpokladů udělení titulu Bakalář.

V Českých Budějovicích 21. 5. 2014


Lenka Grunclová