



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

Oponentský posudek na bakalářskou práci Adély Chlastákové

„Vliv délky sání klíštěte *Ixodes ricinus* na přenos spirochéty *Borrelia afzelii*“

V práci autorka řeší problematiku přenosu spirochét *Borrelia afzelii* klíštětem *Ixodes ricinus*.

Jako cíle si autorka určila stanovení dynamiky přenosu *Borrelia afzelii* na hostitele v závislosti na délce sání klíšťat *Ixodes ricinus* a posouzení vlivu počtu sajících klíšťat na pravděpodobnost transmise borelií na hostitele.

Práce je přehledná, má 54 stran, člení se na Úvod, Přehled literatury, Cíle práce, Materiál a metody, Výsledky, Diskuze, Závěr, Seznam použitých zkratk, a Seznam použité literatury. 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: Ačkoli je až na výjimky bez gramatických chyb a překlepů, čeština je zejména v kapitole Úvod a Přehled literatury kostrbatá. Autorka používá dlouhá souvětí, ve kterých se ztrácí důležité informace. Kapitola Materiál a metody je poměrně úsporná. Stejně tak kapitolu Výsledky tvoří zejména několik tabulek. Graficky je práce úhledná a přehledná.

U jednotlivých kapitol mám tyto připomínky:

Úvod a přehled literatury:

Kapitola Úvod nás stručně uvádí do problematiky přenosu spirochét klíšťaty a shrnuje předchozí výsledky laboratoře, ve které pracovala. Kapitola Úvod detailně shrnuje poznatky o lymeské boreliozě od počátku jejího poznání až do současnosti včetně příznaků, diagnostiky a léčby. Dále se věnuje klíštěti *Ixodes ricinus*, slinami aktivovanému přenosu patogenů a nakonec důkladně popisuje rod *Borrelia*. K této části bakalářské práce mám jen jednu faktickou připomínku: Na str. 14. bych doporučila při popisu struktury místo výrazu „genom“ použít lineární chromozom a plazmidy, případně minichromozomy.

Materiál a metody:

Autorka popisuje manipulaci se zvířaty, s boreliemi a základní metody molekulární biologie: izolace DNA a PCR. Z této kapitoly vyplývá, že autorka použila PCR 1 na stanovení promořenosti nymf, v této kapitole však není jasné k čemu využívá PCR 2 a nested PCR.

Výsledky:

Během experimentu musela autorka improvizovat a měnit délku sání i množství nymf v jednotlivých skupinách. Toto nepovažuji za problém, ovšem nepřítomnost jakéhokoliv výsledku PCR, na které je tato práce postavena, ano. Jak posoudila pozitivní či negativní PCR? Dále autorka zkoumá promořenost nymf. Z dostupných informací od Dr. Šímy, který autorce dle jejích slov nymfy dodal, by měla být velmi blízká 100%. Autorka uvádí 87%, respektive 57%. Kde je tedy chyba? Jaké

látky z krve by podle autorky měly inhibovat PCR? Otestovala si autorka nymfy před sáním? Kdy použila u nymf PCR 1 a kdy PCR 2 viz str. 21. a 28?

Výsledkem jsou čtyři tabulky shrnující počty nymf nasazených, odstraněných, nenalezených, jejich promořenost a vliv počtu nakažených a nenakažených nymf na infekci myši. Dle mého názoru jediným jasným výsledkem je první detekovaný přenos borelií po 72 hodinách.

Diskuze:

Autorka diskutuje své výsledky s mnoha zdroji i předchozími výsledky laboratoře, tj. s přenosem *Borrelia burgdorferi* s.s. klíštětem *Ixodes ricinus*. Přenos měl proběhnout již v prvních hodinách, autorka prezentuje přenos *B. afzelii* po 72 hodinách. Literatura však uvádí menší časový interval (cca 24 hod) pro *B. afzelii* (Crippa a kol. 2002) a naopak podstatně delší interval u *B. burgdorferi* s.s (min 36 hod). Jak autorka vysvětlí tento rozpor?

Proč využila autorka nested PCR jen u srdeční tkáně?

Autorka také diskutuje přenos patogena závisící na množství sajících klíšťat, vzhledem k výsledkům ostatních autorů bych se přikláběla k nedostatečné či málo specifické metodice detekce borelií, která by vysvětlila i malou promořenost nymf (viz výsledky)

Lze vzhledem k popisovaným přenosům rozdílných borelií různými klíšťaty zobecnit „bezpečný“ interval pro přenos nákazy?

Autorka sepsala vyčerpávající literární přehled, metodou PCR detekovala borelie v nymfách klíšťete a myších a dává do souvislosti délku sání a úspěšnost přenosu borelií do hostitele. Diskutuje vliv počtu sajících klíšťat na přenos. Mé připomínky souvisí zejména s metodikou detekce borelií, kterou nelze bez vizualizace PCR správně posoudit.

Přes všechny připomínky, které k této práci mám, 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 20. 5. 2014


Lenka Grunclová