

Oponentský posudek bakalářské práce Štěpánky Smolenové

„ Příprava klonálních populací borelie ze severoamerických izolátů s cílem prokázání přítomnosti druhu borelie běžně se vyskytující v Evropě“

Předložená bakalářská práce se zabývá v teoretické části literárním přehledem globální distribuce *B. garinii* a v praktické části kultivací borelií na pevné půdě a jejich rozdělení na jednotlivé klony. Tyto klony byly následně charakterizovány pomocí molekulárních technik. Autorka se věnovala zajímavému izolátu, který byl charakterizován jako koinfekce dvou kmenů *B. burgdorferi* s. s. a *B. garinii*. Izolát pochází z tkání křečka bavlníkového (*Peromyscus gossypinus*) z Jižní Karolíny v USA.

Bakalářská práce má 53 stran, z čeho 14 stran je věnováno literárnímu přehledu, jako je taxonomie, životní cyklus, interakce borelie - klíště - hostitel. Nejobsáhlejší kapitolou literárního přehledu je kapitola *B. garinii* a ptáci (5 stran).

V části materiál a metody jsou přehledné tabulky a srozumitelně vysvětlené kultivační postupy a metodiky PCR, sekvenování a analýza sekvencí.

Kapitola výsledky je přehledně členěná, celkem čítá 8 stran s 10 obrázky. Autorka testovala celkem 200 monoklonálních kultur a analyzovala a vyhodnotila celkem 12 vybraných úseků genomu získané *B. garinii* se shodnými výsledky, které naznačují 97-100% identitu se známými kmeny *B. garinii*.

Diskuse je hezky propracovaná a svědčí o tom, že autorka dobře nastudovala danou problematiku. Na začátku se věnuje přehledu výskytu borelií na východě Spojených Států, dále diskutuje s mnoha autory (celkem 18 citací) a podává zajímavé teorie o významu mořských ptáků, klíšťat a hlodavců v možném přenosu *B. garinii* mezi kontinenty (tzv. teorie transoceánského přenosu spirochét).

Kapitola literatura obsahuje na bakalářskou práci dostatek citací (více jak 60) a je psaná jednotným stylem.

Připomínky a otázky

1. obr. 5. a 6. kde jsou popsány různé DNA borelií nahradit konkrétními kmeny, které byli použity jako pozitivní kontroly
2. na str. 17. je použitý termín tvrdá půda namísto pevná, při kultivaci borelií
3. na straně 3. a 49. je nesprávně rozepsaná zkratka BSK-H medium namísto Starry má být Stoenner
4. Při kultivaci borelií v pevném i v tekutém médiu byli použity antibiotika ?
5. V kapitole literatura jsou uvedeny internetové zdroje, navrhovala bych citovat spíše původní články
6. Při analýze vybraných úseků genomu jste vybrala 12 genu, proč jste vybrala právě ty?
7. Na začátku kapitoly výsledky píšete, že molekulární analýza dalších izolátů z jihovýchodu Spojených Států odhalila přítomnost i *B. afzelii* (nepublikované data), můžete nám k tomu ve zkratce něco říct?

Od roku 1981, kdy ve Spojených Státech Burgdorfer prvně izoloval borelie, každoročně přibývají nové izoláty z různých oblastí světa, které jsou studované a taxonomicky tříděné. Získávání nových izolátů je nesporně důležité, z hlediska odhalování nových ohnisek boreliózy a z hlediska ochrany zdraví člověka před tímto závažným onemocněním. Předložená práce tomu taky přispívá.

První izolát *B. garinii* pocházející ze Spojených států, kde dosud nebyl izolován je nesporně významný výsledek a otvírá další možnosti výzkumu.

Cíle projektu byly splněny : oddělit od sebe dva kmeny *B. burgdorferi* s. s. a *B. garinii* z jednoho izolátu a získat čistou monoklonální kulturu, která byla následně identifikována.

Z bakalářské práce je patrné, že si autorka osvojila laboratorní metody, vyhodnocení a interpretaci výsledků a proto ji doporučuji k obhajobě a hodnotím známkou 1.

V Českých Budějovicích 15.1.2015



MVDr. Gabriela Štěpánová, Ph.D.