

Prof. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.  
Děkan 2. lékařské fakulty  
Univerzita Karlova  
V Úvalu 84  
150 06 Praha 5 - Motol

## Oponentský posudek na doktorskou dizertační práci

**MUDr. Daniely Vaňousové: Dermatologické projevy infekce *Borrelia burgdorferi sensu lato* a *Anaplasma phagocytophilum***

**Úvod a všeobecné poznámky.** MUDr. Daniela Vaňousová je pracovnící Dermatovenerologické kliniky 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a Nemocnice Na Bulovce. Předkládá doktorskou dizertační práci na stále **aktuální téma** – dermatologické projevy lymeské borreliózy a lidské granulocytární anaplasmózy. Předložená práce vychází z praxe a data použitá při jejím vypracování byla získána při vlastní výzkumné činnosti kandidátky ve spolupráci s Národní referenční laboratoří pro lymeskou borreliózu SZÚ v Praze. Dizertační práce byla vypracována v rámci studijního programu Preventivní medicína pod vedením prof. MUDr. Jany Hercogové, CSc. a konzultanta doc. MUDr. Ladislava Machaly, Ph.D.

Práce má standardní členění: úvod, současný stav znalostí, část výzkumnou, diskuzi a závěry.

V obecné části se autorka podrobně věnuje aktuálnímu stavu poznatků o původcích lymeské borreliózy (LB) a lidské granulocytární anaplasmózy (HGA). Pozornost je dále věnována epidemiologii obou onemocnění, klinickým průběhům, klasifikaci, diagnostice, diferenciální diagnostice a jejich léčbě a prevenci. Popisy klinických obrazů obou nosologických jednotek (LB, HGA), ale i dalších klíčatých přenosných nemocí, jsou bohatě dokumentovány četným obrazovým materiálem. Z pohledu profesionálního zaměření autorky je zvláštní pozornost věnována různým dermatologickým, ale také neurologickým, muskuloskeletálním, kardiálním a očním projevům u obou nosologických jednotek. Pozornost je rovněž věnována příslušným vektorům, zejména *I. ricinus*, se zaměřením na jeho geografické rozšíření, anatomii a životní cyklus.

Následuje vytyčení cílů práce, definice souboru pacientů a metod zpracování, přehled dosažených výsledků, diskuze, závěry, zhodnocení cílů práce a souhrn.

Ve vlastní výzkumné části předkládané práce jsou dobře zpracovány a z různých úhlů pohledů zdokumentovány údaje o kožních projevech onemocnění se známou etiologií (EM, LGA), ale i některé další kožní manifestace, na jejichž etiologii se studované patogeny rovněž mohou podílet. Podrobně byla analyzována řada klinických a laboratorních parametrů a byly prokázány nové souvislosti. Zajímavé je např. vymizení *B.b.* (PCR) z kožních lézí po jednoměsíční ATB léčbě u pacientů s ACA. Práce má velmi dobrou odbornou úroveň i grafickou úpravu a je čtivá. Je napsána na 124 stranách, včetně příloh. Seznam zkratk, obrázků a literární přehled, čítající 233 citací, z nichž 43 není starších než 5 let, je umístěn na konci publikace. Připojen je seznam 24 obrázků, v textu je celkem 51. přehledná tabulka.

V práci byly vytyčeny tyto **komplexní cíle**:

1. Identifikace infekce *B. burgdorferi* a *A. phagocytophilum* v kožních projevech pomocí přímých a nepřímých laboratorních metod s detekcí genodruhů borrelií a anaplasmat.
2. Průkaz infekce nebo koinfekce borrelií a anaplasmat u kožních projevů vybraných dermatóz s posouzením možné etiopatogenezy a zhodnocením diagnostických a léčebných postupů.

**Soubor** tvořilo 95 pacientů ve věku 9 – 87 let, s kožními projevy LB a dalších dermatóz. Studii dokončilo 88 osob. Odběr anamnézy byl doplněn o klinická vyšetření. Laboratorně, kromě skríninku, byly provedeny jednak metody přímé detekce patogenů (mikroskopie, histologie (vč. EM), kultivace, detekce genomu patogenů pomocí PCR, jednak vyšetření sérologická (vč. WB, IFA). Terapie byla zajišťována ambulantně nebo za hospitalizace.

Současné moderní vyšetřovací metody i způsoby klinického sledování, použité v předložené práci byly zvoleny vhodné.

**Výsledky:** sérologická, histologická i kultivační vyšetření, z nichž některá byla prováděna v různých fázích nemoci, jsou velmi dobře komentována v textu a zdokumentována četným obrazovým materiálem. Zajímavé jsou nálezy při duálních infekcích *B.b.* a *A.p.*

**V závěru** bylo konstatováno, že v souboru 88 pacientů s kožními dermatózami byla přímými metodami během studie prokázána **borreliová infekce** celkem u 57 (65 %) pacientů, z toho byla potvrzena v krvi ve 32 (36 %) a v kůži ve 44 (50 %) případech. Přímými metodami se borreliovou infekcí podařilo prokázat u 45/64 (70 %) pacientů s EM, u 7/10 pacientů s ACA, u 3/4 pacientů s granuloma annulare a u 2/4 pacientů se sclerodermia circumscripta. Borreliová infekce nebyla prokázána přímými metodami u pacienta s borreliovým lymfocytomem a lichen sclerosus et atrophicus.

**Anaplasmová infekce** byla přímými či nepřímými metodami detekována u 26 (29,5 %) pacientů, z toho u 13 (15 %) pacientů přímými metodami, u 17 (19 %) pouze sérologicky, u 4 pacientů současně přímými i nepřímými metodami. Z celkového počtu 26 pacientů s prokázanou infekcí tvořil pouze přímý průkaz 50 %, pouze sérologický 65,4 % a u 15,4 % pacientů byly pozitivní současně sérologické i přímé testy.

V závěru pro praxi jsou poznatky sumarizovány a doporučen racionální postup diagnostický i terapeutický.

#### **Závěry oponenta:**

- a) Téma LB je stále aktuální, lidská granulocytární anaplazmóza patří mezi novější, avšak neméně závažná onemocnění. Řešení vytyčených cílů vychází z praxe.
- b) Dizertace splnila sledované cíle.
- c) Metody zpracování byly zvoleny správně.
- d) **Výsledky, pozitiva práce a přínos pro praxi.** *Borrelia burgdorferi* (BB), původce zejména kloubních forem lymeské borreliózy je známa již od roku 1982. *Anaplasma phagocytophilum* (původně *Ehrlichia phagocytophila*), původce lidské granulocytární anaplasmózy je znám od roku 1994. V poslední dekádě znalosti o obou původcích významně přibýly. S narůstajícím množstvím poznatků se však dostávají nové otázky, které jsou výzvou k dalším výzkumům. Kožní projevy spojené s oběma původci onemocnění (zejména duální infekce) jsou z tohoto pohledu velmi zajímavým, avšak poměrně obtížně řešitelným problémem. Je proto potřeba ocenit metodický přístup, kterým se MUDr. D. Vaňousová rozhodla problém řešit v rámci svého doktorského studijního programu.
- e) Význam pro společenskou praxi (rozvoj vědy) – dizertační práce vychází z požadavků praxe, uvádí některé nové poznatky a v závěru formuluje doporučení pro diagnostiku a léčbu obou studovaných nosologických jednotek.
- f) Po **formální stránce** mám jen tyto drobné připomínky ke gramatice:

- s. 9. ř. 5 gramatika: bylo objeveno..... správně: byla objevena  
ř. 7 zdola: změně klimatu, který souvisí... správně: změně klimatu, která souvisí
- s. 10. Historie – ř. 5: státě ~~Old~~ Connecticut v USA... ,
- s. 12. ř. 4 zdola: publikací týkající se tohoto onemocnění. Správně: publikací týkajících se tohoto onemocnění
- s. 18. poslední ř. Čeď *Ixodidae* (klíšťkovití) – nebo klíšťatovití? (s. 19 ř. 1)
- s. 20. *B. burgdorferi* je bakterie patogenní pro člověka i jiná zvířata.
- s. 22. ř. 16 ...řízen regulačnímu geny. Správně:.. řízen regulačními geny.
- s. 23. ř. 6 neuronům (gangliosidy), myelinových pochev.. Správně: myelinovým pochvám neuronů (gangliosidy),...
- s. 43. ř. 14 zdola: ...kousnutí klíšťem. správně: .....přísátí klíšťe
- s. 46. ř. 5 zdola - .. po infestaci - termín se používá jen u parazitárních infekcí  
některé chyby vlivem zapnutého korektoru v programu Word.
- s. 60. ř. 5 koinfekce *B.b* a *A.p.*.... u 1,3 % (5/1089) klíšťat. Ale  $5/1089 = 0.46 \%$
- s. 61. ř. 12 zdola .... lidské granulocytární ehrlichioze .. správně: lidské granulocytární anaplasmóze  
..... atd.
- s. 66. Tab 12, ř. 2 Erythema chronicum migrant více se užívá Erythema migrans

Uvedena je řada velmi historických publikací, u některých, zejména novějších citací, však chybí rok vydání.

**Formální připomínky** pro příští publikace – popisy dole pod obrázky, nahoře nad tabulkami a velmi opatrné formulování závěrů v souborech s malými počty – chyba malých čísel!

#### **Na kandidátku mám tyto otázky:**

1. Problematika hlášení akutních infekcí lymeské borreliózy v ČR - podhlášenost nebo nadhlášenost? (akutní je jen EM a zachycení sérokonverze, vše ostatní je otázka)
  2. Jaký je současný pohled na tzv. „aberantní formy“ spirochét *B.b.*?
  3. Jak si představujete přímý průnik *B.b.* do buněk pomocí tzv. „coiling“ fagocytózy? S. 22.
  4. Jak je myšlena formulace, že „Borrelie vzhledem k antigenní struktuře ve své buněčné stěně nevyvolávají zánětlivý proces....“ ? s. 22. Co je pak EM, neuroborrelióza?
- g) Předkládané dílo kvalitou i zpracováním odpovídá doktorské disertační práci podle Zák. 111/1998, §47 a přináší nové poznatky. MUDr. D. Vaňousová předložením této doktorské disertační práce **prokazuje schopnosti samostatně vědecky pracovat** a mé kritické připomínky nikterak nesnižují hodnotu předložené práce.  
**Doporučuji ji proto s kladným hodnocením k obhajobě.**

Plzeň 2014-05-10

doc. MUDr. Dalibor Sedláček, CSc.  
Infekční klinika FN Plzeň, 305 99

