

Posudek na diplomovou práci Bc. Barbory Vojtkové „Xenodiagnostika infekcí *Leishmania major* u symptomatických a asymptomatických hlodavců“.

Ačkoliv tomu název nenapovídá, téma práce spadá do oblasti epidemiologie či epizootologie a trochu i patogeneze infekce způsobené *Leishmania major* a je zaměřeno spíše na vektory a rezervoárové hostitele než na diagnostiku.

Celkem pětadevadesátistránková diplomová práce Bc. Barbory Vojtkové je členěna na **úvod a cíle práce** (2 stránky), **literární přehled** věnovaný flebotomům a epidemiologii leishmaniózy včetně kapitol bravurně vysvětlujících, jaké jsou typy přenosu leishmaniózy, který hostitel je a který není rezervoárový a co to je xenodiagnostika a k čemu ji lze použít (20 stran), **materiál a metodiku** popisující chov flebotomů a zpracování jejich střev i slinných žláz, chov hlodavců, kultivaci leishmanií, provedení kvalitativní PCR a testů ELISA jakož i schémata všech pokusů (16 stran), **výsledky** (23 strany) a **diskuzi** (7 stran) a shrnutí (2 stránky) a je doplněna o impozantní seznam použité literatury (**186** citací!), závěr (2 stránky) a český a anglický **abstrakt** (po více než 1 stránce). Práce je logicky členěna a obsah všech kapitol je adekvátní.

Od samého začátku je text napsán logicky a srozumitelně a až po závěr Metodiky byla radost ho číst. Když se však již poněkud zmožený oponent zapletl do složitých schémat pokusů s xenodiagnostikou a bez ní a prodíral se předlouhou kapitolou Výsledky napěchovanou tabulkami a grafy, vloženými mnohdy v surovém stavu, přímo jak vypadly ze statistických softwarových balíčků, propadl depresi, že neví, o čem vlastně práce je. Přečetl si asi třikrát název práce a s hrůzou zjistil, že nechápe ani ten. Co je to asymptomatický hlodavec? V literárním přehledu je na str. 16 správně a velmi srozumitelně vysvětlen pojem asymptomatická infekce: „...nedochází k žádnému projevu onemocnění, i když v jejich těle nacházíme infekční parazitická stádia.... mají asymptomatický (bezpříznakový) průběh onemocnění“. Takže asymptomatický hlodavec by měl být logicky skutečný hlodavec bez příznaků svého hlodavectví, např. hlodavých zubů. Navíc, jak vyplývá z práce, oním „asymptomatickým hlodavcem“ byla krysa mnohobradavková (*Mastomys natalensis*-českému názvu se autorka striktně vyhýbá), jejíž infekce *Leishmania major* byla bezpříznaková možná i proto, že se většina krys leishmaniemi vůbec neinfikovala.

Další titulní termín, který je používán v matoucí souvislosti, je xenodiagnostika. Možná častěji než v původním významu, pěkně vysvětleném v kapitole 2.3, používá jej autorka ve smyslu vystavení celého těla nebo jeho části poštipání *Phlebotomus duboscqi*, které umožnilo zjistit významný vliv opakovaného sání flebotomů na vývoj onemocnění a infektivitu hostitelů. Označení skupin XENO a bezXENO je matoucí, protože ani skupina myší bezXENO se skutečné xenodiagnostice nevyhnula: „První podskupina (bezXENO) nebyla v průběhu pokusu testována pomocí xenodiagnostiky s výjimkou posledního dne (10. týden p.i.), kdy byla vystavena poštipání flebotomy, aby bylo možno srovnat její infektivitu s ostatními podskupinami“ (str. 39).

Vedle nešťastně zvoleného názvu a poněkud zmateného užívání některých termínů bych si dovilil diplomantce vyčíst ještě nějaký ten překlep:

„amastogoty“ (str. 12)

Zhophobas morio (str. 33)

Přesné množství všech forem parazitů bylo vypočteno pomocí Burkerovy komůrky (str. 38).

A také si neodpustím připomínky ke grafům a tabulkám:

- Obrázek 2-3 má nešťastně volené barvy a tak se může plést, které modré plochy jsou oblastmi výskytu muko-kutánní leishmaniózy a co jsou řeky a jezera.
- Na obrázcích 4-5 a 4-11 by měl být vyznačen cut-off reakce, jednotkou obsahu anti-*L.major* IgG vyznačenou na ose y není 492 nm.
- V tabulkách 4-9 a 4-11 by mělo být uvedeno, v čem je obsah protilátek uváděn a neměl by chybět ani cut-off nebo alespoň hodnota negativní kontroly, aby bylo na první pohled jasné, jestli třeba není některá z porovnávaných hodnot negativní.

Všechny uvedené připomínky jsou ale málo podstatné a uvádím je zde pouze proto, že skutečně závažné chyby se mi v práci najít nepodařilo. Kapitola Diskuse je naprosto logická a srozumitelná a i oponent nakonec pochopil, co je obsahem i výsledkem práce. Je možná škoda, že diskuse nereaguje na některé vstupní informace z literárního přehledu a nerozvíjí je v souvislosti se závěry práce. Například termín „xenodiagnostika“ (ba ani „asymptomatický hlodavec“) snad v diskusi ani nepadl.

Diplomantce bych si dovolil položit tyto otázky:

1. Byly všechny výsledky ELISA testu na protilátky IgG proti *Leishmania major* pozitivní? Předpokládám, že u myší s nulovým počtem parazitů by se specifické protilátky tvořit nemusely.
2. Jaké jsou v epoše molekulárně-genetických testů výhody a možnosti využití xenodiagnostiky?
3. Počítá se s publikováním výsledků práce v odborném tisku?

Práce splnila všechny vytýčené cíle. Přinesla celou řadu nových poznatků, které jsou rovněž přínosné pro další laboratorní i terénní výzkum. Diplomantka odvedla velké množství náročné práce. Prokázala schopnost velice dobře se orientovat v dané problematice, provádět složité laboratorní činnosti, shromažďovat, vyhodnocovat a statisticky zpracovat data a na základě výsledků formulovat smysluplné hypotézy a závěry.

Závěr: Doporučuji, aby práce Bc. Barbory Vojtkové „Xenodiagnostika infekcí *Leishmania major* u symptomatických a asymptomatických hlodavců“ byla přijata jako práce diplomová a aby byla hodnocena příznivě.

V Praze, dne 8. 9. 2016

RNDr. Petr Kodým, CSc.