

Posudek na diplomovou práci Bc. Kateřiny Hrnčířové „Role hlodavců rodu *Arvicanthis* jako rezervoárů *Leishmania major*: xenodiagnostika a experimentální infekce flebotomy“

Celkem dvaosmdesátistránková diplomová práce Bc. Kateřiny Hrnčířové je členěna na úvod a cíle práce (1 stránka), literární přehled (22 stran), materiál a metodiku (13 stránek), výsledky (15 stran), diskuzi (8 stran) a závěrečné shrnutí (2 stránky). Nechybí ani český a anglický abstrakt (po 1 stránce) a seznam použité literatury (157 citací!). Na 4 stránkách příloh jsou na fotografiích vyobrazeni dospělí jedinci i mláďata *Arvicanthis neumanni* a *A. niloticus* a také tabulky hmotnosti experimentálně nakažených zvířat. Obsah všech kapitol je adekvátní.

Práce je velmi dobře napsaná jak po stránce stylistické, tak i logické. Od literárního přehledu, kde je čtenář nejprve seznámen se základními fakty o leishmaniózách, s důrazem na epidemiologii kutánních leishmanióz, se jeho pozornost postupně zaostřuje na rezervoárové hostitele, především na hostitele z řádu hlodavců, jmenovitě na rod *Arvicanthis*, který je hlavním objektem zájmu diplomantky. Citované literární údaje dovedou čtenáře k názoru, že tito v endemických oblastech hojně rozšíření a ve velkých biomasách se vyskytující hlodavci splňují všechna kritéria pro rezervoárové hostitele a že jejich biologie a také maximální četnost izolátů leishmanií (str. 23) logicky činí myši rodu *Arvicanthis* žhavými kandidáty na dominantní rezervoáry *Leishmania major* v savanách východní Afriky. To, že z citovaných prací se přímo rodu *Arvicanthis* věnuje jen málokterá a že žádná z nich neprezentuje jasné závěry, ukazuje na význam tématu diplomové práce Bc. Kateřiny Hrnčířové, která si klade za cíl, roli hlodavců rodu *Arvicanthis* jako rezervoárů *Leishmania major* objasnit.

O cílech práce i o metodách umožňujících jejich naplnění má diplomantka jasnou představu. Oponent vtažený do děje literárním přehledem se zájmem sledoval promyšlené postupy sledování infekce *Leishmania major* u myši východoafrické (*Arvicanthis neumanni*) – přenosu infekce z potenciálního rezervoárového hostitele na vektora *Phlebotomus duboscqi*, dynamiky a disseminace parazitů v průběhu experimentální infekce, schopností parazita dokončit životní cyklus v hostiteli, preferencí různých druhů hlodavců vektorem, vlivu krve hostitelů na mortalitu a fekunditu samic *Phlebotomus duboscqi* a tvorby protilátek proti *Leishmania major*. Uvědomoval si, kolik různých metod musela diplomantka zvládnout a kolik se za tím vším skrývá práce. Nebyly opomenuty ani právní náležitosti nezbytné pro pokusy na zvířatech. A zvědavost oponenta při četbě metodik narůstala: potvrdí se potenciál hlodavců rodu rodu *Arvicanthis* jakožto možného rezervoáru *Leishmania major*, nebo ne?

S napětím jsem otevíral kapitolu Výsledky – a přišlo zklamání: z celkem 1 572 samic flebotomů, které sály na infikovaných *Arvicanthis neumanni*, (z nichž každou diplomantka vypitvala pod binokulární lupou a střevo prohlédla pod světelným mikroskopem), se nakazily *Leishmania major* jenom 2! A pomocí qPCR se podařilo zachytit leishmaniovou DNA jen u některých myší východoafrických, a to jen v levém uchu, kam byly inokulovány. Diplomantce, která nepodlehla frustraci a všechny pokusy s negativním výsledkem dotáhla do konce, patří obdiv.

Ostatní parametry, jako jsou preference druhu hlodavce flebotomem, fekundita a mortalita nasátých samic flebotoma, vyšly pro *Arvicanthis neumanni* víceméně

příznivě. Zarážejícím výsledkem je zjištění, jak nesmírně odlišná je infektivita tří různých izolátů *Leishmania major*, což má možná i geografický základ – izraelský kmen FVI, na rozdíl od kmenů senegalských, nebyl v myši východoafrické schopen vývoje.

Kapitola Diskuse je naprosto logická a srozumitelná. Převážně negativní výsledky pokusů o přenos infekce z nakažených hlodavců na sající flebotomy postavily diplomantku do velice těžké pozice – interpretace výsledků a odpověď na otázku „Mohou hrát hlodavci rodu *Arvicanthis* roli rezervoárových hostitelů *Leishmania major*?“ totiž vůbec není jednoznačná. Bc. Kateřina Hrnčířová odpovídá správně, byť i trochu šalamounsky: „Výsledky této práce naznačují, že *Arvicanthis neumanni* je schopen se některými izoláty nakazit a být pak infekční pro vektory druhu *Phlebotomus duboscqi*, přestože ve velmi malém procentu případů“ (str. 66).

Funkcí oponenta je hledat chyby, aby dokázal, že práci skutečně celou přečetl. Protože žádné závažnější připomínky nemám (snad jen k seznamu tří izolátů *L. major* v kapitole 3.3, o kterých tam není nic uvedeno a čtenář, dokud se neprokouše k Výsledkům, si marně láme hlavu, proč jsou ty kmeny tři a snad i k Tabulce 1- není uvedeno, která citace patří ke kterému údaji), nezbylo mi, než se štourat v pravopise. Práce je napsaná opravdu hezky a bez pravopisných chyb. Naštěstí se mi přeci jen podařilo jeden problém objevit: když ve škole probírali shodu přísudku s podmětem, Kateřina Hrnčířová zrovna chyběla (viz třináctibodový seznam v příloze posudku).

Diplomantce bych si dovolil položit tyto otázky:

1. Jaké by se dalo očekávat procento flebotomů infikovaných *Leishmania major* po sání na nakaženém „prověřeném“ rezervoárovém hostiteli? Vedle výsledků jsou na několika místech práce uvedeny i různé hodnoty z literatury. Například na str. 23 se píše „Lidská krev měla výrazně inhibiční efekt oproti krvi *Ps. obesus*. Infekce u experimentálně nakažených flebotomů s promastigoty leishmanií byla 48 %...“ Můžete, prosím, tyto hodnoty porovnat?
2. Domníváte se, že by výsledky mohly být jiné, kdyby byl místo *Phlebotomus duboscqi* použit jiný vektor?
3. Podle Vašeho názoru, mohou hrát hlodavci rodu *Arvicanthis* roli dominantních rezervoárových hostitelů *Leishmania major*?

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 v literatuře i v praxi, provádět složité laboratorní činnosti, shromažďovat, vyhodnocovat a statisticky zpracovat data a na základě výsledků formulovat smysluplné hypotézy a závěry.

Závěr: Doporučuji, aby práce Bc. Kateřiny Hrnčířové „Role hlodavců rodu *Arvicanthis* jako rezervoárů *Leishmania major*: xenodiagnostika a experimentální infekce flebotomy“ byla přijata jako práce diplomová a aby byla hodnocena příznivě.

Příloha: Errata

Str. 18: Souvislost je nejasný

Str. 25: Pohlavně dospělí samec

...je o něm uvažováno jako o možný rezervoár

Str. 31: Flebotomové jsou chovány

Str. 36: Přesný počet leishmanií je spočítáno pomocí Burkerovy komůrky

Str. 38: Skupinu tvořily 3 jedinci

Str. 40: Byli použiti tři druhy hlodavců

Str. 41: Vajíčka byly spočítány

Str. 42: byli použiti promastigoti získané z kultury

Str. 46: byli detekovány leishmanie

Str. 61: samice si vybírali

Str. 62: leishmanie jsou vystaveni

Str. 65: studie zachytili