Příloha č. 4

Závěrečná zpráva projektu specifického výzkumu zakázka č. 2102 / 2021

Název projektu: Výskyt bakterií u hematofágních ektoparazitů využívajících savčí hostitele

Specifikace řešitelského týmu
Odpovědný řešitel: Ing. Karolína Bjelková
Studenti doktorského studia na UHK: Mgr. Martina Nalezinková (2018/2022)
Další výzkumní pracovníci: doc. Ing. Bc. Jakub Horák, Ph. D.; RNDr. Alena Myslivcová Fučíková, Ph. D.

Celková částka přidělené dotace: 126 000 Kč

Datum zahájení řešení projektu: 3. 3. 2021

Datum ukončení řešení projektu: 30. 11. 2022

Stručný popis postupu při řešení projektu (max. 2 strany).

Výzkum se změřil na nejčastěji se vyskytující hematofágní ektoparazity na území České republiky, přesněji na čeledi *Ixodidae* a *Hippoboscidae*, u kterých roste populační hustota. V návaznosti se zvyšuje pravděpodobnost výskytu i bakteriálních patogenů, pro které jsou tito ektoparazité nejvhodnějším organismem pro navýšení počtu. (Rosenberg et al., 2018).

Během roku 2021 proběhl na několika lokalitách v Pardubickém a Královohradeckém kraji sběr ektoparazitárních jedinců vhodných pro rozbor. Lokace byla zaměřena na častý výskyt vhodných hostitelů pro ektoparazity.

Pobírané vzorky byly uchovány v -18°C. Součástí práce byla determinace jednotlivých vzorků, určení pohlaví a záznam o lokalizaci. Nejčastější nalezené druhy byly *Ixodes ricinus, Lipoptena fortisetosa* a *Lipoptena cervi.* Celkový počet ektoparazitů pro výzkum byl 300.

Poslední měsíce roku 2021proběhla extrakce s využitím alkalické hydrolýzy. Jednotlivé vzorky byli rozřezány s využitím sterilního skalpelu a poté inkubováni na 100°C po dobu 20 minut v 100 µl 0,7 M roztoku amoniaku. Poté byly vzorky ponechány 15 min při 100°C otevřené k odpaření amoniaku. Sekvenace vzroků probíhala s využitím polymerázové řetězové reakce (PCR) pro potvrzení výskytu vybraných druhů bakterií. Sledované sekvenace byly *Bartonella henselae* s použitím primerů BhftsZ 1393 F-5´-GCGAACTACGGCTTACTTGC-3´ a BhftsZ 1247 R-5´- CGGTTGGAGAGCAGTTTCGTC-3´ s podmínkami 94 °C - 30 s, 53 °C - 30 s, 68 °C - 60 s, 44 cycles. *Borrelia burgdorferi* s použitím primerů IgsA F-5´-CGACCTTCTTCGCCTTAAAGC-3´ a IgsB R-5´- AGCTCTTATTCGCTGATGGTA-3´ s podmínkami 94 °C - 10 s, 58 °C - 30 s, 72 °C - 30 s, 34 cyklů. *Borrelia miyamotoi* Bmiy F-5′- CACCATTGATCATAGCTCACAG-3′ a Bmiy R- 5′-CTGTTGGTGCTTCATTCCAGTC-3′ a podmíkami 94 °C - 10 s, 50 °C - 15 s, 72 °C - 35 s, 35 cyklů. *Rikettsia spp.* s primery D767f F-5´- CGATGGTAGCATTAAAAGCT-3´ a D1390r R- 5′-CTTGCTTTTCAGCAATATCAC-3´ s podmínkami 94 °C - 30 s, 60 °C - 30 s, 72 °C - 90 s, 40 cyklů. *Anaplasma phagophytophila* s primery EHR521 F-5´-TGTAGGCGGTTCGGTAAGTTAAAG-3´ a EHR747 R- 5′-GCACTCATCGTTTACAGCGTG-3´ za podmínek 94 °C - 30 s, 55 °C - 30 s, 72 °C - 60 s, 40 cyklů. PCR byla analyzována elektroforézou na 1% agarózním gelu.

Během roku 2022 proběhla sekundární kontrola vzorků pro potvrzení prvotních výsledků. Během druhé kontroly byl potvrzen výskyt *Bartonelly henselae* v 5 vzorcích, *Borrelia miyamoi* u 6 vzorků, *Anaplasma phagophytophila* v 3 vzorcích, *Rikketsia spp.* u 0 vzorků.
Při sekundární kontrole byl zjištěn výskyt Anaplasmy u jedinců z Královohradeckého kraje.

Splnění cílů řešení a přínos projektu.

Cílem řešení byl sběr potřebného materiálu pro zpracování v dostatečném množství pro zpracování. Poté extrakce a sekvenace vhodného materiálu a zajištění možných bakteriálních patogenů ve sledovaných vzorcích. Tyto cíle byly splněny. V současné době se dopisuje publikace, kteá bude zařazena v typu výstupu Jimp.

Přínosem projektů je zjištění významných bakteriálních onemocnění u druhů ektoparazitů hojně zastoupených na území České republiky se zaměřením na Pardubický a Královehradecký kraj. Novými poznatky je výskyt více druhů patogenů v jednom vzorku.

Splnění kontrolovatelných výsledků řešení.

Uveďte jen výstupy, které vznikly na základě řešení tohoto projektu. Dále uveďte, zda byly publikace skutečně zadány do OBD s vazbou na RIV.

U výstupů Jimp a Jsc uveďte do závorky plánovaný a skutečný *kvartil časopisu*.

Tab. 1 Sumář výstupů řešení projektu

Typ výstupu	**Plán**	**Skutečnost**	**Poznámka**
Jimp (databáze WoS)	2022 (Q1)	2023	
Jsc (databáze Scopus)			
B (recenzovaná odborná kniha)*			
C (kapitola v recenzované odborné knize)*			
D (článek ve sborníku ve WoS, Scopus)			
P (patent)			
Počet obhájených dizertačních prací			
Počet obhájených diplomových prací	2022	2023	
Počet výsledků	2		

Ke zprávě přiložte:

a) výpis z OBD – výstupy podpořené tímto projektem.

Datum: 30. 11. 2022 Podpis odpovědného řešitele:

* Pouze renomovaná nakladatelství Elsevier, Springer, Bentham apod.