

Průběžná výroční 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

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

Významné čeledi hematofágních ektoparazitů *Ixodidae* a *Hippoboscidae* v posledních dekádách navyšují svoji populační hustotu. Současně se vzrůstající populační hustotou ektoparazitů roste počet případů bakteriálních onemocnění u jednotlivých hostitelů (Rosenberg et al., 2018).

Od května do listopadu roku 2021 probíhal sběr na několika lokalitách v okolí Hradce Králové (včetně Hradeckých lesů) a Pardubic. Sběr probíhal náhodným výběrem dnů. Lokality byly zvoleny dle častého výskytu možných hostitelů (psi, lidé).

Uchování jedinců bylo v mrazu -18°C (delší uskladnění) a v chladu s vysokou vlhkostí ve sběrných zkumavkách (4-8 °C). Jedinci byli zařazeni do rodu a druhu. Mezi zkoumané druhy byli zařazeny *Lipoptena cervi*, *Lipoptena fortisetosa*, *Ixodes ricinus*.

Celkem bylo zpracováno 300 vzorků. Jedinci rodu *Lipoptena* byli ve stádiu dospělce. Jedinci rodu *Ixodes* byli složeni z larev i dospělců.

V období říjen až prosinec proběhlo extrahování DNA z jednotlivých vzorků za použití dvou způsobů pro porovnání praktičnosti a rychlosti zpracování výsledků. Prvním způsobem bylo využití PureLink Genomic DNA Mini Kit (ThermoFisher, Waltham, Massachusetts, USA). Druhým způsobem byla extrakce za použití roztoku hydroxidu amonného.

Isolovaná DNA proběhla procesem sekvenování – PCR. Sledovali jsme geny *Bartonella* spp. (HSP1b, HSP2b), *Bartonella henselae* (BhftsZ 1393, BhftsZ 1247), *Borrelia burgdorferi* (IgsA, IgsB), *Borrelia miyamotoi* (Bmiy), *Rickettsia* spp. (D767f, D1390r), *Anaplasma phagophytophila* (EHR521, EHR747).

Z pohledu porovnání dvou metod pro extrakci byla zjištěna kvalitnější extrakce za použití roztoku hydroxidu amonného, kdy bylo extrahováno více potřebné DNA. Ohledně čistoty DNA vycházel lépe PureLink mini kit, bohužel zde nebylo možné přechíst výsledky PCR.

Ze zkoumaných vzorků byl zjištěn výskyt *Bartonella henselae* v 5 vzorcích, *Borrelia miyamotoi* u 6 vzorků, *Anaplasma phagophytophila* v 0 vzorcích, *Rickettsia* spp. u 0 vzorků.

Z důvodů ověření zjištěných výsledků bude probíhat v lednu 2022 kontrola všech vzorků (nepřesné výsledky u několika zpracování). Po kontrolní PCR budou výsledky zpracovány do článku.

Splnění cílů řešení a přínos projektu.

Do termínu zpracování průběžné zprávy došlo ke splnění sběru potřebných jedinců sledovaných druhů v dostatečném množství pro zpracování, dále jejich determinaci a molekulární analýzy. Z důvodu ověření zjištěných dat proběhne v lednu kontrola vzorků.

Po provedených molekulárních analýzách a zpracování komplexních dat bude zpracována publikace zařazená v typu výstupů Jimp.

Přínosem projektů je zjištění významných bakteriálních onemocnění u druhů ektoparazitů hojně zastoupených na území České republiky, přesněji v okolí Hradce Králové. Primárně potvrzení prvotního výskytu *Borrelie miyamotoi* u rodu *Lipoptena*.

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)	1		V roce 2022
Jsc (databáze Scopus)			
B (recenzovaná odborná kniha)*			
C (kapitola v recenzované odborné knize)*			
D (článek ve sborníku ve WoS, Scopus)			
P (patent)			
Počet obhájených bakalářských prací	1		V roce 2022
Počet výsledků	2		

Výsledek čerpání rozpočtu:

a) Spotřeba materiálu (položka dle IS Magion č. 501):

Materiálové náklady (nutno soutěžit v rámci DNS)	Stručné zdůvodnění nákupu	Přesná specifikace	Cena včetně DPH (Kč)
Laboratorní plast	Pro sběr vzorků v terénu. Materiál na genomické sekvenování.	Centrifugační zkumavky, špičky na pipety, kalibrované zkumavky, PCR stripy	13 000,00
DNA kit pro izolaci	Zajišťuje extrakci nukleových kyselin na bázi silikagelu z tkání, výtěrů, krve, tělních tekutin nebo promytých buněk.	DNeasy 96 Blood & Tissue Kit	40 000,00
Primery	Potřebné pro polymerázovou řetězovou		33 000,00

* Pouze renomovaná nakladatelství Elsevier, Springer, Bentham apod.

DNA Polymeráza	reakci (PCR), na detekci určitého úseku DNA daného patogenu. Potřebné pro polymerázovou řetězovou reakci (PCR).	Thermo Scientific™ DreamTaq Green PCR Master Mix (2X)	40 000,00
----------------	--	---	-----------

Spotřební náklady (spotřební a kancelářské potřeby)	Stručné zdůvodnění nákupu	Cena včetně DPH (Kč)

- b) **Cestovné** (položka dle IS Magion č. 512):
cestovné zaměstnanců a jeho stručné zdůvodnění;

Titul, jméno a příjmení zaměstnance	Ubytování (cca Kč)	Cestovné (cca Kč)	Stravné (cca Kč)	Celkem (Kč)	(Název, místo a datum konání)

- c) **Ostatní služby** (položka dle IS Magion č. 518):
náklady nebo výdaje na služby a jejich stručné zdůvodnění

Typ služby	Stručné zdůvodnění služby	Cena včetně DPH (Kč)

- d) **Mzdové náklady** (položka dle IS Magion č. 521):

Titul, jméno a příjmení	Odměna (Kč)	Zdůvodnění	Celkem (Kč)

- e) **Zákonné pojištění** (položka dle IS Magion č. 524):

Titul, jméno a příjmení	Odvody z odměn 34,52 % (Kč)	Celkem (Kč)

- f) **Jiné ostatní náklady** (položka dle IS Magion č. 549):
zejména **stipendia** a jejich stručné zdůvodnění

Stipendium studentů za práci na řešení projektu

Titul, jméno a příjmení studenta/ky	Číslo studenta/ky	Typ studia (Mgr./PhD.) / ročník studia	Obor studia	Bankovní spojení	Stipendium (Kč)

Ing. Bjelková Karolína	S19BI001DP	Ph.D./2. ročník	Aplikovaná biologie a ekologie	32158114/0300	8000,00
------------------------	------------	-----------------	--------------------------------	---------------	---------

Cestovní stipendia studentů

Titul, jméno a příjmení studenta/tky	Konferenční poplatek (cca Kč)	Ubytování (cca Kč)	Cestovné (cca Kč)	Stravné (cca Kč)	Celkem (Kč)	Plánovaná konference (název, místo a datum konání)
Ing. Karolína Bjelková						Kostecké inspirování, Kostelec nad Černými Lesy (listopad 2022)

g) Další položky (uveďte čísla dle IS Magion):
další položky a jejich stručné zdůvodnění

Výsledek čerpání finančních prostředků uveďte v jednotné přehledné tabulce 2.

Tab. 2 Čerpání finančních prostředků v Kč

Položka magionu	Položka	Plán Kč	Žádost o změnu	Skutečnost	Poznámka
	Počet členů řešitelského týmu čerpajících mzdové prostředky	0			
	Počet studentů čerpajících mzdové prostředky	1		1	
501	Spotřeba materiálu DHIM	118 000		118 381,44	
512	Cestovné				
518	Ostatní služby				
521	Mzdové náklady				
524	Zákonné pojištění				
549	Jiné ostatní náklady (stipendia)	8 000		8 000	
*					
	Celkové náklady	126 000		126 381,44	

Ke zprávě přiložte:

- výpis z OBD – výstupy podpořené tímto projektem,
- výsledovku z ekonomického informačního systému Magion – vyúčtování dotace.

* V případě potřeby přidejte další řádky s položkami dle IS Magion.

Datum: 6. 1. 2022

Podpis odpovědného řešitele:

A handwritten signature in blue ink, consisting of several fluid, connected strokes. The signature is positioned to the right of the text 'Podpis odpovědného řešitele:'.

Výsledovka s očekávanými náklady
Pohyby za období 01 - 11 / 2021

Pracoviště:	*****	Všechny vybrané analytiky
Činnost:	****	Všechny vybrané analytiky
Fullcost:	*****	Všechny vybrané analytiky
Zakázka:	2102	SV Molekul. roz. jedinců rodu Lipoptena
Podzakázka:	***	Všechny podzakázky

Účet	Název účtu	Má dáti	Dal	Zůstatek
501 099	Spotřeba materiálu ostatní DU			
	Počáteční stav	0,00		
ZAV/0411/00362/21	24.06.2021	41 872,05	0,00	genetické kity- Bjelková - sp. v. 2102
ZAV/0411/00365/21	24.06.2021	6 461,40	0,00	genetické kity- Bjelková - sp. v. 2102
ZAV/0411/00440/21	05.08.2021	25 688,30	0,00	molekulární sada - spotř. materiál
ZAV/0411/00583/21	01.10.2021	941,26	0,00	Primery
ZAV/0411/00693/21	05.11.2021	10 858,54	0,00	špachtle, pinzety, pufry
ZAV/0411/00703/21	09.11.2021	4 132,15	0,00	kultivační média
ZAV/0411/00725/21	12.11.2021	3 194,40	0,00	oligonukleotidy
ZAV/0411/00727/21	12.11.2021	5 505,50	0,00	materiál - filtr, lahve
ZAV/0411/00736/21	20.11.2021	11 318,34	0,00	materiál - kultivační lahve
ZAV/0411/00767/21	27.11.2021	4 307,60	0,00	kultivační médiaSchaedler agar, 500 g
501 099	Spotřeba materiálu ostatní DU	114 279,54	0,00	114 279,54
501	Spotřeba materiálu	114 279,54	0,00	114 279,54
549 006	Jiné ostatní náklady mimoř.stip. DU			
	Počáteční stav	0,00		
BAN/0802/26618/21	14.10.2021	8 000,00	0,00	2 mimořádné stipendium
549 006	Jiné ostatní náklady mimoř.stip. D	8 000,00	0,00	8 000,00
549	Jiné ostatní náklady	8 000,00	0,00	8 000,00
	Náklady celkem	122 279,54	0,00	122 279,54
	Budoucí očekávané náklady			
	Počáteční stav	0,00		
OBJ/0447/00104/21	02.11.2021	4 101,90	0,00	Description EPPI pestle - Bjelková- sp.v. 2102
	Budoucí očekávané náklady	4 101,90	0,00	4 101,90
	Budoucí očekávané náklady	4 101,90	0,00	4 101,90
	Budoucí náklady celkem	4 101,90	0,00	4 101,90

Výsledovka s očekávanými náklady
Pohyby za období 01 - 11 / 2021

Pracoviště:	*****	Všechny vybrané analytiky
Činnost:	****	Všechny vybrané analytiky
Fullcost:	*****	Všechny vybrané analytiky
Zakázka:	2102	SV Molekul. roz. jedinců rodu Lipoptena
Podzakázka:	***	Všechny podzakázky

Účet	Název účtu	Má dáti	Dal	Zůstatek
691 006	Provoz.dotace věda MŠMTspecifický výzkum			
	Počáteční stav		0,00	
	MAN/0910/00007/21 15.02.2021	0,00	126 000,00	dotace MŠMT SVV
691 006	Provoz.dotace věda MŠMTspecifc	0,00	126 000,00	126 000,00
691	Přijaté přís. mezi zúčt.mezi org.slc	0,00	126 000,00	126 000,00
	Výnosy celkem	0,00	126 000,00	126 000,00
	Účetní hospodářský výsledek:			3 720,46
	Hospodářský výsledek včetně očekávaných nákladů:			-381,44

Účetní hospodářský výsledek za vybrané: 3 720,46
Hospodářský výsledek včetně očekávaných nákladů za vybrané: -381,44

Výběrová kritéria (omezení sestavy se řídí právy uživatele pkoutnik (uvedena v závorce))

Pracoviště: (04[47|90]*|0448*)
Činnost: (***|***)
Fullcost:
Zakázka: 2102 (*|1000)
Podzakázka:

Zahrnuty všechny předpokládané náklady