

Závěrečné zprávy projektů ITA

realizovaných v roce 2023

prostřednictvím

Interní tvůrčí agentury VETUNI



VETUNI 2023

Vážení kolegové,

v roce 2023 úspěšně pokračovala činnost Interní tvůrčí agentury VETUNI (ITA VETUNI), jako jednoho z pilířů strategie rozvojového plánu tvůrčí činnosti na univerzitě.

Agentura ITA je financována z prostředků MŠMT určených pro Dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace (DKRVO). Během pátého roku své existence financovala ITA celkem 13 projektů z obou fakult VETUNI a CEITEC VETUNI a umožnila tak vědeckým pracovníkům univerzity získat experimentální data a ověřovat vědecké hypotézy, které mohou být v budoucnosti rozpracovány do podoby projektů národních nebo mezinárodních grantových agentur.

Činnost Interní tvůrčí agentury VETUNI probíhá dle příslušné směrnice rektora VETUNI a je kontrolována komisí ITA VETUNI, složenou ze zástupců všech součástí univerzity. Tím je zaručena objektivita při rozdělování finančních prostředků na dlouhodobý koncepční rozvoj na VETUNI a jejich přidělování jednotlivým řešitelům.

Závěrečné hodnocení každého ročníku na konferenci ITA VETUNI je pak mechanismem kontroly správné realizace jednotlivých projektů ale také popularizace činnosti agentury v rámci univerzity. ITA VETUNI 2023 osvědčuje rozvoj vědecké a tvůrčí činnosti na univerzitě a je příkladem účelně investovaných finančních prostředků jako odpovědi univerzity na požadavek MŠMT o strategickém rozdělování prostředků určených na DKRVO.

Závěrem chci poděkovat všem členům Komise ITA VETUNI, sekretariátu VVZ a všem, kteří se zapojili do činnosti komise a úspěšné organizace letošní konference ITA VETUNI 2023.

prof. MVDr. Vladimír Celer, Ph.D.

prorektor pro vědu, výzkum a zahraniční vztahy

předseda Komise ITA VETUNI

Brno, leden 2024

Komise Interní tvůrčí agentury VETUNI

ITA VETUNI

prof. MVDr. Vladimír Celer, Ph.D.

předseda komise

prof. MVDr. Vladimír Večerek, CSc., MBA

místopředseda komise

Členové:

FVL doc. MVDr. Miša Škorič, Ph.D.

doc. MVDr. Markéta Sedlinská, Ph.D.

FVHE prof. Ing. Eva Voslářová, Ph.D.

doc. MVDr. Josef Kameník, CSc., MBA

CEITEC prof. MVDr. Alois Čížek, CSc.

prof. MVDr. Ivan Literák, CSc.

Externí člen prof. MUDr. Petr Gál, Ph.D., MBA

Seznam projektů

ITA VETUNI řešených v roce 2023

Číslo projektu	Název projektu	Řešitel
2023ITA11	Celogenomové sekvenování levharta sněžného (<i>Panthera uncia</i>)	MVDr. Karla Stejskalová, Ph.D.
2023ITA12	Alternativní antivirové a antibakteriální látky v terapii infekcí psa a kočky	prof. MVDr. Vladimír Celer, Ph.D.
2023ITA13	Tvorba a průkaz osteoidu ve fyziologické i patologické osteoprodukci	prof. MVDr. František Tichý, CSc.
2023ITA14	Problematika chorob přežvýkavců a koní: Sledování výskytu karence zinku v chovech krav s dopadem na zdravotní stav dojnic, metabolický profil, počet somatických buněk v mléce, a metabolickou aktivitu leukocytů; Metabolický profil zátěžových myopatií u koní	doc. MVDr. Josef Illek, DrSc. Dipl.ECBH
2023ITA15	Miniinvazivní diagnostické a chirurgické zákroky u zvířat zájmových chovů	doc. MVDr. Michal Crha, Ph.D.
2023ITA21	Posuzování účinku vybraných vlivů působících na pohodu a zdraví zvířat	prof. Ing. Eva Voslářová, Ph.D.
2023ITA22	Triáda infekčních chorob – hostitel, vektor, patogen, v podmínkách měnícího se životního prostředí	prof. MVDr. Pavel Široký, Ph.D.
2023ITA23	Bioaktivní látky rostlinného původu jako součást nových biodegradabilních/jedlých produktů pro ochranu životního prostředí a mechanismu ochrany zdraví před alergenními složkami potravin	prof. MVDr. Bohuslava Tremlová, Ph.D.
2023ITA24	Alternativy potravin živočišného původu na bázi rostlinných bílkovin – vybrané parametry zdravotní nezávadnosti a kvality	doc. MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.

2023ITA25	Zoologická medicína: zdravotní problematika evropské fauny	prof. MVDr. Jiří Pikula, Ph.D., dipl. ECZM
2023ITA26	Suplementace diety rostlinnými analogy jako nástroj pro zlepšení zdraví a produkčních parametrů vybraných druhů hospodářských zvířat	doc. MVDr. Radka Dobšíková, Ph.D.
2023ITA31	Epizootologie bakterií rezistentních k antibiotikům – od molekulárně genetické charakteristiky genů k vektorům šíření v prostředí	prof. MVDr. Ivan Literák, CSc.
2023ITA32	Analýza genetické diversity neutrálních a imunitních markerů koně Převalského	Mgr. Martin Plášil, Ph.D.

Závěrečná zpráva Projektu ITA VETUNI na rok 2023

1. Identifikační číslo projektu: 2023ITA11

2. Název projektu: Celogenomové sekvenování levharta sněžného (*Panthera uncia*)

3. Řešitel projektu:

Titul, jméno a příjmení: MVDr. Karla Stejskalová, Ph.D.

Fakulta/celoškolské pracoviště: Ústav genetiky FVL VETUNI

E-mail: stejskalovak@vfu.cz

Telefon: +420541562297

4. Řešitelský kolektiv:

složení řešitelského týmu: (akademičtí pracovníci a jejich příslušnost k ústavům nebo klinikám fakulty nebo výzkumným skupinám CEITEC, studenti DSP) a forma zapojení každého člena řešitelského týmu

Projekt byl řešen v rámci Ústavu genetiky FVL VETUNI.

MVDr. Karla Stejskalová, PhD.: 1,0 FTE, příprava materiálu, analýza vyprodukovaných NGS dat

Ing. Leona Vychodilová, PhD.: 0,65 FTE, analýza vyprodukovaných NGS dat

Mgr. Ján Futas, PhD.: 0,2 FTE, analýza vyprodukovaných NGS dat, anotace komplexních genomových oblastí

MVDr. April Jelinek, DSP studentka, analýza vyprodukovaných NGS dat, bioinformatická analýza komplexních genomových oblastí

5. V případě společných projektů pro více součástí VETUNI popsat zapojení těchto součástí do řešení projektu:

6. Obsah projektu

Začlenění projektu do rámce výzkumu VETUNI:

Téma projektu reflektuje priority Vyhlášení soutěže na projekty Institucionálního výzkumu podporované prostřednictvím ITA VETUNI pro rok 2023, zejména problematiku veterinární molekulární biologie, problematiku ochrany zvířat, welfare a etologie včetně působení stresorů a toxinů na zvířata a problematiku chorob volně žijících zvířat.

Cíle projektu (max. 5 řádků):

V rámci projektu byla vyprodukována vysoce kvalitní celogenomová assembly samce levharta sněžného (*Panthera uncia*) na základě hybridního přístupu kombinace dlouhých a krátkých sekvenačních readů. Následovat bude detailní anotace komplexních oblastí imunogenomu jako je oblast hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) a oblast natural killer receptorů (NCR), které jsou dlouhodobě předmětem výzkumu pracoviště.

Popis a metodika řešení projektu (max. 1/2 strany):

Materiál:

V kolekci biologických vzorků uchovávaných na Ústavu genetiky VETUNI je k dispozici periferní krev samce levharta sněžného umístěného v Zoo Jihlava. Tento vzorek byl získán při odběru krve prováděného pro účely diagnostiky související s přesunem chovného samce do jiné zoo v zahraničí a byl proveden místním veterinárním lékařem v souladu se všemi profesními i etickými zásadami.

Pro potřeby tohoto projektu bylo nutné získat vysoce kvalitní DNA, která je vhodná pro long-read sekvenování na platformě PacBio. Za tímto účelem byla provedena izolace DNA z periferní krve kitem MagAttract HMW DNA kit (Qiagen), který je určený pro extrakci DNA pro long-read sekvenování.

Sekvenování a assembly genomu

Příprava sekvenační knihovny a následné sekvenování bylo řešeno formou zakázky. Samotné sekvenování probíhalo na platformách PacBio Sequel II a Illumina NovaSeq 6000. Sekvenační knihovny byly připraveny pomocí DNA HiFi SMRTbell library pro PacBio a Invitrogen Collibri PCR-free PS DNA Library Prep Kit pro Illuminu. Výsledná assembly se skládá z celkem 415 contigů o celkové délce 2,456 Gbp.

Anotace

Na základě výsledné assembly byla provedena automatická anotace genomu, na kterou bude úzce navazovat manuální anotace komplexních genomických oblastí spojených s imunitou jako např. MHC oblast nebo oblast NKR. Tato manuální anotace by měla poskytnout informace o struktuře daných oblastí, počtu genů a jejich sekvenci a jejich srovnání s ostatními druhy čeledi *Felidae*.

Dosažené výsledky projektu (max. 1/2 strany):

Byla získána vysoce kvalitní assembly genomu levharta sněžného a jeho automatická anotace, které umožňují následné detailní studium vybraných komplexních oblastí. Srovnání se současným referenčním genomem je v příložené tabulce č.1. Sumární výstup sekvenačních běhů je v tabulce č.2.

Tabulka č.1: Vybrané statistiky nově vytvořené assembly a anotace ve srovnání s referenčním genomem Puncia_PCG_1.

	Puncia_PCG_1.0 (referenční genom)	Puncia_vetuni
Velikost genomu (Gbp)	2,434	2,455
Počet contigů	16 601 (2 642)	415
Contig N50 (bp)	321 033	33 215 335
Contig L50	3 996	22
Obsah CG (%)	41,5	41,75
Anotované geny	31 171	34 995
Počet detekovaných transkriptů	54 239	50 792
Počet detekovaných exonů	245 389	286 552

Tabulka č.2: Výstup sekvenačních běhů PacBio a Illumina.

Celkový počet PacBio readů	4 013 373
Průměrná délka PacBio readů	17 353
Celkový počet Illumina readů	2 317 760 166
Průměrná délka Illumina readů	150

Přínos projektu (max. 5 řádků):

Projekt přináší prioritní data o struktuře a variabilitě genomu levharta sněžného včetně chromozomu Y. Současný referenční genom byl získán od samičího jedince a genetická struktura chromozomu Y tak zůstávala nepoznaná. Další analýzy povedou k popisu komplexních oblastí imunogenomu a srovnání s dalšími druhy v rámci čeledi *Felidae*.

Využití výsledků (max. 5 řádků):

Výsledky projektu budou využity v dalších analýzách genomu levharta sněžného. Výsledky jsou dále využitelné v širším kontextu evoluce v rámci čeledi *Felidae* a také v konzervačních programech zaměřených na levharta sněžného.

Název článku a název vědeckého časopisu s impakt faktorem, v němž byly publikovány nebo se předpokládá publikace dosažených výsledků:

Chromosome-level hybrid genome assembly of the snow leopard (*Panthera uncia*). *Frontiers in Genetics*

8. Náklady na řešení projektu (v Kč)

Položka	Finanční prostředky	
	Přidělené (v Kč)	Čerpané (v Kč)
Osobní náklady celkem (včetně odvodů)	319 360	319 360
Služby	190 000	101 500,01
Cestovné	0	0
Další provozní náklady	490 512	579 011,99
Doplňkové náklady	149 980	149 980
Celkem	1 149 852	1 149 852

Zdůvodnění nákladů: (max ½ strany)

(komentář k čerpání finančních prostředků na řešení projektu – slovní popis v členění jednotlivých položek nákladů a konkrétní výčet, na co byly prostředky využity, komentář a zdůvodnění případných změn a rozdílů oproti schválenému rozpočtu projektu)

Osobní náklady:

Byly použity v souladu s plánem řešení ve formě odměn pro pracovníky na projektu. Odměny byly vyplaceny v polovině řešení projektu a na jeho konci. Studentce DSP bylo v souladu s plánem řešení vyplaceno stipendium.

Služby:

Byly čerpány na zakázkové sekvenování a přidružené bioinformatické služby. Nevyužité prostředky byly přesunuty v souladu s příslušnou směrnicí do materiálových nákladů (celkem převedeno 88.5 tis Kč.).

Cestovné:

Další provozní náklady:

Sekvenační chemie PacBio 209.5 tis Kč. Sekvenační chemie Illumina 216.5 tis Kč. Laboratorní reagentie 61.9 tis Kč. Primery 30 tis. Kč. Drobné laboratorní vybavení 14.6 tis Kč. Laboratorní plasty 1.4 tis Kč. Suchý led 2.2 tis Kč.

Doplňkové náklady:

Byly čerpány v souladu s plánem projektu.

Přehled čerpání přidělených finančních prostředků – Výpis z IFIS.

(k Závěrečné zprávě doložte výpis z IFIS, podepsaný osobou zodpovědnou za čerpání finančních prostředků)

9. Prohlášení a potvrzení řešitele odpovědného za čerpání prostředků, děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště

Řešitel projektu prohlašuje, že údaje uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé a potvrzuje, že 1) získané výsledky budou neprodleně uplatněny jako výsledek uznatelný v registru informací o výzkumu (RIV), že 2) publikaci zašle do časopisu tak, aby byla přijata k zveřejnění **do 18 měsíců** od ukončení řešení projektu, že 3) publikace bude odkazovat na podporu ITA VETUNI. Výhradní odkaz na projekt ITA VETUNI (bez odkazů na podporu z dalších grantů, projektů a jim obdobných finančních zdrojů) musí obsahovat vždy nejméně jedna publikace s impakt faktorem na každých 1,5 milionu korun způsobilých nákladů projektu, a že 5) doručí kopii této publikace po jejím zveřejnění ITA VETUNI.

Datum, jméno a podpis

řešitele projektu:

9.1.2024 MVDr. Karla Stejskalová, PhD.

Člen řešitelského týmu – akademický pracovník – odpovědný za čerpání prostředků prohlašuje, že údaje týkající se finančních prostředků uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé, a že prostředky na řešení projektu byly čerpány v souladu s Pravidly pro poskytování účelové podpory na institucionální výzkum VETUNI, podle dalších pokynů ITA VETUNI a podle rozhodnutí o přijetí projektu.

Datum, jméno a podpis

člena řešitelského týmu **odpovědného za čerpání prostředků:**

9.1.2024 MVDr. Karla Stejskalová, Ph.D.

Přednosta ústavu nebo kliniky, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že projekt byl řešen na ústavu nebo klinice, respektive celoškolském pracovišti, které řídí.

Datum, jméno a podpis

přednosta ústavu nebo kliniky nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

9.1.2024 prof. MVDr. RNDr. Petr Hořín, CSc.

Datum, jméno a podpis

správce rozpočtu:

Děkan fakulty, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že fakulta, respektive celoškolské pracoviště provedlo kontrolu řešení projektu a kontrolu čerpání prostředků přidělených na řešení projektu.

Datum, jméno, podpis

děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

prof. MVDr. Jiří Smola, CSc.

Razítko

Závěrečná zpráva Projektu ITA VETUNI na rok 2023

1. Identifikační číslo projektu: 2023ITA12

2. Název projektu: Alternativní antivirové a antibakteriální látky v terapii infekcí psa a kočky

3. Řešitel projektu:

Titul, jméno a příjmení: prof. MVDr. Vladimír Celer, Ph.D.

Fakulta/celoškolské pracoviště: FVL, **Ústav infekčních chorob a mikrobiologie**

E-mail: celerv@vfu.cz

Telefon: +420541562281

4. Řešitelský kolektiv:

složení řešitelského týmu: (akademičtí pracovníci a jejich příslušnost k ústavům nebo klinikám fakulty nebo výzkumným skupinám CEITEC, studenti DSP) a forma zapojení každého člena řešitelského týmu

Řešitelský kolektiv tvořili následující akademičtí pracovníci Ústavu infekčních chorob a mikrobiologie:

Prof. MVDr. Vladimír Celer, Ph.D., úvazek na FVL 1.0

MVDr. Martina Masaříková, Ph.D., úvazek na projektu 1.0

MVDr. Dobromila Molinková, Ph.D., úvazek na projektu 1.0

MVDr. Dana Lobová, Ph.D., úvazek na projektu 1.0

MVDr. Kristína Paclíková, Ph.D. úvazek na projektu 1.0

MVDr. Dušan Haas, úvazek na projektu 1.0

MVDr. Keyra Tesa, Ph.D. úvazek na projektu 1.0

MVDr. Dagmar Břínek Kolařová, úvazek na FVL 0.5

Doc. MVDr. Petr Lány, CSc. úvazek na projektu 1.0

DSP studenti:

- **Mgr. Lucie Hrubá** 2. ročník DSP
- **Mgr. Karolína Mrázková** 1. ročník DSP (nahradila mgr. Kláru Klíčovou)

5. V případě společných projektů pro více součástí VETUNI popsat zapojení těchto součástí do řešení projektu:

Tento návrh je projektem pracovníků Ústavu infekčních chorob a mikrobiologie Fakulty veterinárního lékařství. Do řešení projektu nejsou zapojeny další součásti VETUNI.

6. Obsah projektu

Začlenění projektu do rámce výzkumu VETUNI:

Navrhovaný projekt zapadá do rámce výzkumu VETUNI stanoveného prioritami soutěže na projekty podporované prostřednictvím ITA VETUNI pro rok 2023, tj. problematika původců infekčních onemocnění a nálezů zvířat. Zároveň projekt zapadá rámcově do výzkumné činnosti řešitelského týmu složeného z pracovníků Ústavu infekčních chorob a mikrobiologie.

Cíle projektu (max. 5 řádků):

Cílem projektu bylo studium antivirových a antibakteriálních látek s cílem stanovit jejich odpovídající antimikrobiální efekt nebo mechanismy přenosu.

Dílčí cíl 1 - Přenos enterobakterií se závažným fenotypem rezistence mezi člověkem a psem nebo kočkou.

Postupné cíle:

1. založení sbírky trusu a rektálních výtěrů psů a koček
2. selektivní izolace *E. coli* rezistentních k cefalosporinům 3. generace
3. ověření ESBL a AmpC fenotypu rezistence selektivně izolovaných *E. coli* Diskovým difúzním testem a Double disc synergy testem
4. průkaz genotypu rezistence *E. coli* metodou PCR
5. selektivní izolace enterobakterií rezistentních ke karbapenemům
6. ověření fenotypu karbapenemové rezistence diskovým difúzním testem
7. průkaz genů rezistence kódujících karbapenemázy u selektivně izolovaných enterobakterií
8. podrobná molekulárně – genetická analýza vybraných rezistentních izolátů *E. coli* přístupy celogenomového sekvenování
9. posouzení epidemiologické příbuznosti získaných izolátů *E. coli* s izoláty humánní provenience prostřednictvím již existujících databází

Dílčí cíl 2 - Antivirové účinky fytofarmak (kanabidiolu, kanabigerolu) na vybrané virové původce onemocnění psa a kočky

Popis a metodika řešení projektu (max. 1/2 strany):

Dílčí cíl 1

Pro založení sbírky byl odebírán biologický materiál v podobě rektálních výtěrů psů a koček dvou skupin. První skupinu reprezentovala zvířata studentů VETUNI Brno, odběr proběhl jednorázově, jeden vzorek reprezentoval jednoho jedince. Druhou skupinu zvířat tvořili pacienti veterinárních klinik a ordinací indikovaní k antibiotické léčbě. Každý jedinec druhé skupiny byl vzorkován dvakrát, před zahájením léčby a bezprostředně po jejím ukončení. Vzorky se vložily do transportního média dle Amiese (Dispolab, ČR) a za chladničkových teplot ihned dopravily do laboratoře ke zpracování.

K izolaci ESBL a/či AmpC produkujících *E. coli* byl použit McConkey agar (Oxoid, VB) s přídatkem 2 mg.l⁻¹ cefalosporinu 3. generace cefotaximu (Sigma, USA) za aerobních kultivačních podmínek při 37 °C a 24 – 48 hodin. Bakterie s laktázovou aktivitou jsme druhově identifikovali metodou MALDI – TOF MS, u *E. coli* se následně prokazoval ESBL či AmpC fenotyp rezistence Double disc synergy testem (DDST). Diskovým difúzním testem byla poté určena citlivost k šestnácti různým antimikrobiálním látkám (amoxicilin klavulanátu, ampicilinu, cefalotinu, cefoxitinu, cefotaximu, ceftazidimu, chloramfenikolu, ciprofloxacinu, gentamicinu, kyselině nalidixové, streptomycinu, sulfametoxazol trimetoprimu, směsi sulfonamidů, tetracyklinu, imipenemu a meropenemu), (Oxoid, Velká Británie). Ke kontrole kvality provedení diskové difúzní metody byl použit kmen *E. coli* ATCC 25922. U izolátů rezistentních k některému z testovaných antimikrobik byly hledány geny kódujících daný fenotyp rezistence metodou PCR, především epidemiologicky významnější geny rezistence lokalizované na plasmidech, u nichž je vysoká pravděpodobnost horizontálního přenosu mezi bakteriemi prostřednictvím konjugace. Izoláty s fenotypem rezistence k jednomu či více antibiotikům byly vyšetřeny na přítomnost genů, které tento fenotyp rezistence kódují. Konkrétně jsme prokazovali geny *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA}, *bla*_{PSE}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{MOX}, *bla*_{CMY}, *bla*_{LAT}, *bla*_{DHA} a *bla*_{ACC} kódujících rezistenci k beta-laktamům, geny *catA1*, *cmIA* a *floR* pro rezistenci k amfenikolům, geny *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS*, *aac(6')-Ib-cr* odpovědné za rezistenci k chinolonům. U izolátů rezistentních ke streptomycinu byl hledán gen *strA*, při rezistenci k sulfonamidům geny *sul1*, *sul2*, *sul3* a při rezistenci k tetracyklinům geny *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(D)*, *tet(E)* a *tet(G)*.

Izolaci enterobakterií rezistentních ke karbapenemům jsme provedli za pomoci Mc Conkey agaru s přídatkem 0,125 mg.l⁻¹ meropenemu. V případě nárůstu mikrobů jsme určili jejich druhovou příslušnost metodou MALDI – TOF MS. U zástupců druhů čeledi *Enterobacteriaceae* byl stanoven fenotyp rezistence ke stejným antimikrobikům jako výše, metodou PCR byla ověřena přítomnost genů *bla*_{KPC}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{NDM} a *bla*_{OXA-48}.

Dílčí cíl 2

Studium antivirotické aktivity testovaných látek bylo provedeno na modelu protoparvoviru masožravců izolovaného na území ČR, kultivovaného na buněčné kultuře Crandell-Rees Feline Kidney (CRFK) v minimálním esenciálním médiu obohaceném o 5% fetal bovine serum a v atmosféře s 5% CO₂.

V experimentu byl testován vliv fytofarmak kanabidiolu (CBD) a kanabigerolu (CBG). Dalšími testovanými látkami byla antiparazitika Closantel (Sigma-Aldrich, USA) a Ivermectin (Sigma-Aldrich, USA). Každá substance byla rozpuštěna v DMSO a poté naředěna na pracovní koncentraci v DMEM obohaceném o 2 % fetálního bovinního séra.

Abychom stanovili koncentraci, ve které testované látky ještě vykazovaly cytotoxický efekt na buněčnou kulturu, byly testovány jejich různé koncentrace (1–1000 μM) a srovnány s negativní kontrolou. Po 72 hodinách byla odečtena úroveň cytotoxicity pro každou testovanou koncentraci každé substance. Koncentrace látek, která již nebyla pro buněčnou kulturu cytotoxická byla použita jako výchozí pro testování antivirové aktivity.

Testování antivirové aktivity bylo provedeno na 96 jamkové mikrotitrační destičce. Na monolayer CRFK buněk bylo aplikováno 90 μl testované látky rozpuštěné v DMEM. Takto ošetřený monolayer byl ponechán po dobu jedné hodiny v termostatu. Po uplynutí jednodinové kultivace bylo na buňky přidáno 10 μl virové suspenze (5,1 TCID₅₀). Následně byl virus kultivován po dobu 48 hodin a vzorek supernatantu (10mikrol) pro stanovení koncentrace extracelulárního viru byl odebírán po 24 hodinách.

Kvantifikace viru byla provedena kvantitativním PCR testem (qPCR). Použité primery a sonda byly navrženy na Ústavu infekčních chorob a mikrobiologie a dodány firmou Generi-Biotech (ČR).

Dosažené výsledky projektu (max. 1/2 strany):

Dílčí cíl 1

Studenti VETUNI poskytli celkem 212 vzorků rektálních výtěrů reprezentujících stejný počet zvířat (151 psů, 61 koček). Bakteriologickou kultivací na McConkey agar s přidavkem cefotaximu bylo získáno třináct izolátů z čeledi *Enterobacteriaceae*, z toho 12 *E. coli* (92 %) a jeden izolát *Enterobacter cloacae*. Mezi 12 izoláty *E. coli* byli Double disc synergy testem prokázáni čtyři (33 %) producenti ESBL a osm producentů beta-laktamáz typu AmpC (67 %). Všech 12 izolátů *E. coli* vykazovalo multirezistenci v diskovém difúzním testu. Rezistence ke čtyřem antibiotikům byla identifikována u 2 *E. coli*, k pěti antibiotikům (1x), k šesti (3x), k osmi (2x), k desíti (2x), k jedenácti (1x) a dokonce ke dvanácti různým antimikrobikům u jednoho izolátu *E. coli*. Metodou PCR byly prokázány geny kódující odpovídající fenotyp rezistence, a to **bla_{TEM}**, a **bla_{CTX-M}** u producentů ESBL, **bla_{CMY}** u producentů AmpC beta-laktamáz. **Izoláty rezistentní k chloramfenikolu byly nositeli genu *cmIA*, ke streptomycinu *strA*, k sulfonamidům *sul1* a *sul2*, k tetracyklinům *tet(A)*. U žádného izolátu s fenotypem rezistence k chinolonům nebyly nalezeny geny kódující tuto rezistenci přenášené na plasmidech (*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS*, *aac(6′)-Ib-cr*). Definitivní varianty genů rezistence budou doplněny z výsledků celogenomového sekvenování.**

Izolát druhu *Enterobacter cloacae* vykazoval rezistenci k amoxicilin klavulanátu, ampicilinu, cefalotinu a cefoxitinu, Double disc synergy test vyloučil produkci ESBL, metodou PCR zato byla potvrzena přítomnost genu asociovaného s AmpC typem beta-laktamáz, bla_{CMY}.

Bakteriologickou kultivací na McConkey agar s přidavkem karbapenemového antibiotika meropenemu jsme získali dva izoláty *E. coli*, následnou fenotypizací diskovým difúzním testem však byla u obou rezistence vyloučena a ani metodou PCR nebyly identifikovány žádné kódující geny *bla_{KPC}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM}* ani *bla_{OXA-48}*. Oba tyto izoláty však byly vysoce rezistentní až ke dvanácti ze všech šestnácti testovaných látek (amoxicilin klavulanátu, ampicilinu, cefalotinu, ceftazidimu, cefotaximu, ciprofloxacinu, kys. nalidixové, gentamicinu, streptomycinu, sulfonamidům i sulfametoxazol trimetoprimu a tetracyklinu). Double disc synergy testem jsme u obou potvrdili produkci širokospektrých betalaktamáz. Polymerázovou řetězovou reakcí byly v obou případech diagnostikovány geny **bla_{TEM}**, **bla_{CTX-M}**, **strA**, *sul1*, *tet(A)*, *tet(B)* a *qnrS*.

Druhou skupinu vzorků tvořily rektální výtěry pacientů veterinárních ordinací indikovaných z různých důvodů k antibiotické terapii, každý pacient byl vyšetřen před zahájením léčby a po jejím ukončení. Z důvodu neochoty majitelů ke spolupráci jsme získali jen dvacet vzorků rektálních výtěrů od deseti pacientů. Bakteriologickou kultivací na McConkey agar s přidavkem cefotaximu byly získány tři izoláty identifikované metodou MALDI-TOF MS jako *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae* a *Citrobacter freundii*, všechny původem ze vzorků odebraných po ukončení léčby. Kultivací na agaru s přidavkem meropenemu nebyl získán žádný izolát. Diskovým difúzním testem jsme u *M. morganii* stanovili rezistenci k sedmi látkám (amoxicilin klavulanátu, ampicilinu, cefalotinu, ceftazidimu, cefotaximu, cefoxitinu a sulfonamidům), produkci beta-laktamáz typu AmpC a PCR pozitivitu na geny **bla_{CMY}** a *sul1*. U *K. pneumoniae* rezistenci k osmi antimikrobikům (amoxicilin klavulanátu, ampicilinu, cefalotinu, ceftazidimu, cefotaximu, sulfonamidům, sulfametoxazol trimetoprimu a streptomycinu), DDS testem produkci ESBL a metodou PCR geny **bla_{TEM}**, **bla_{CTX-M}**, **strA**, *sul1* a *sul2*. *Citrobacter*

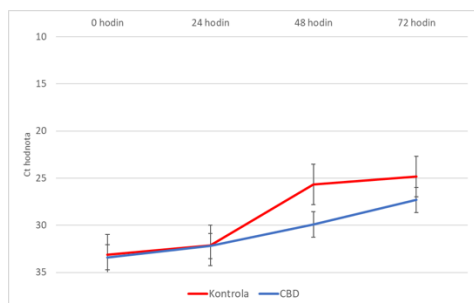
freundii vykázal rezistenci k šesti antibiotikům (amoxicilin klavulanátu, ampicilinu, cefalotinu, ceftazidimu, cefotaximu a cefoxitinu), produkci AmpC beta-laktamázy a pozitivitu na gen *bla_{CMY}*.

DNA všech čtrnácti izolátů *E. coli* vykultivovaných jak na McConkey agaru suplementovaném cefotaximem (12x), tak s přidavkem meropenemu (2x) byla izolována za použití DNA purifikačního kitu (NucleoSpin Tissue kit). Na jaře tohoto roku bude odeslána k celogenomovému sekvenování. Následně prostřednictvím příslušných softwarových programů konfirmujeme přítomnost kódujících genů rezistence, přítomnost plazmidů a genů asociovaných s virulencí. Nakonec vyhodnotíme míru příbuznosti našich izolátů s kmeny humánní provenience, jejichž sekvence jsou publikovány v příslušných databázích a tím posoudíme možnost sdílení bakterií se závažným typem rezistence člověkem a společensky chovanými zvířaty.

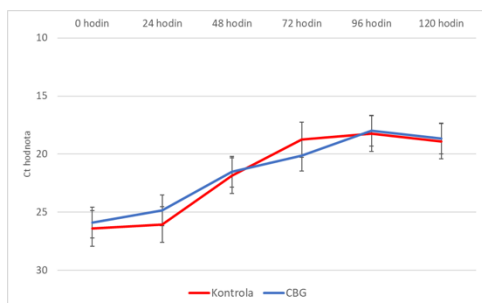
Dílčí cíl 2 Antivirové účinky fytofarmak na vybrané virové původce onemocnění psa a kočky

Cílem práce bylo stanovení vlivu testovaných látek na replikaci viru v *in vitro* kultivačním systému. V experimentu byl testován vliv fytofarmak kanabidiolu, kanabigerolu a antiparazitika Closantelu a Ivermectinu. Pro kvantifikaci antivirotického účinku látky byl proveden odběr média z každého zkoumaného vzorku v intervalu 24 hodin a následně byl vzorek podroben kvantitativnímu PCR testu – porovnání C_t hodnot s kontrolou. Kanabidiol vykazoval zpomalení množení viru a lze předpokládat jeho případné využití k doplňkové terapii parvovirózy. Kanabigerol neinhiboval ani nezpomalil množení viru. Naopak Closantel dokázal plně potlačit replikaci viru v buňkách kultury a došlo tak k potvrzení antivirových účinků. Druhé antiparazitikum Ivermectin vykazovalo nulový antivirový účinek proti parvoviru.

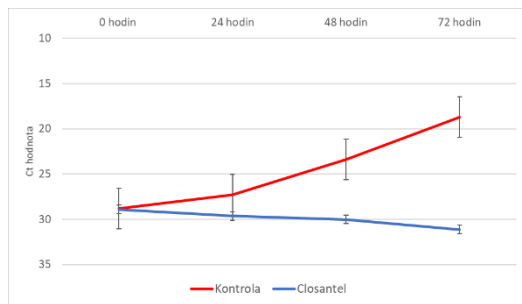
Graf č. 1: Porovnání C_t hodnot kanabidiolu (CBD) s pozitivní kontrolou



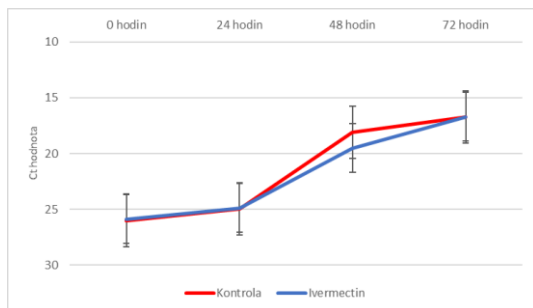
Graf č. 2: Porovnání C_t hodnot kanabigerolu (CBG) s pozitivní kontrolou



Graf č. 3: Porovnání C_t hodnot Closantelu s pozitivní kontrolou



Graf č. 4: Porovnání C_t hodnot Ivermectinu s pozitivní kontrolou



Přínos projektu (max. 5 řádků):

Získané výsledky ukázaly, že v populaci psů a koček se nachází jedinci kolonizovaní multirezistentními enterobakteriemi, které jsou odolné i k účinku širokospektrálních beta-laktamů využívaných k léčbě závažných infekcí člověka. Podobně jako v jiných evropských zemích, jsme však, což je pozitivní, nezachytili bakterie rezistentní ke karbapenemům. Izolace enterobakterií s významným fenotypem rezistence k beta-laktamovým antibiotikům nastala převážně ve skupině zvířat léčených antibiotiky. Informováním odborné veřejnosti o negativním dopadu neuvážené aplikace širokospektrých beta-laktamových antibiotik na šíření multirezistentních enterobakterií musíme opakovaně apelovat na nezbytnost vedení správné antibiotické praxe ve veterinární medicíně. Po definitivní analýze izolátů budou chovatelé pozitivních psů či koček informováni o nutnosti zvýšené hygieny především po manipulaci s trusem zvířat, aby se zabránilo dalšímu rozšiřování rezistentních enterobakterií do prostředí jejich domácností.

Podařilo se nám prokázat antivirové účinky kanabidiolu na replikaci protoparvoviru masožravců, který statisticky významně inhiboval jeho replikaci na buněčné kultuře CRFK. Replikace viru byla snížena o dva řády, byla pozorována od 24 hodin po infekci virem a přetrvávala do konce sledovaného období (72 hodin). Podobně signifikantní inhibici viru jsme pozorovali u Closantelu. Ivermectin a kanabigerol naopak replikaci viru neinhibovaly.

Využití výsledků (max. 5 řádků):

Název článku a název vědeckého časopisu s impakt faktorem, v němž byly publikovány nebo se předpokládá publikace dosažených výsledků:

- Hruha J. L., Celer, V. Testing of antiviral effects od selected substances on carnivore parvovirus replication, Res Vet Sci, do konce roku 2024
- Isolation of Carbapenem-resistant Enterobacterales from dogs and cats after antibiotic treatment. Veterinary microbiology, IF = 3.246, Q1

8. Náklady na řešení projektu (v Kč)

Položka	Finanční prostředky	
	Přidělené (v Kč)	Čerpané (v Kč)
Osobní náklady celkem (včetně odvodů)	969 700,00	969 700,00
Služby	100 000,00	44 727,08
Cestovné	100 000,00	86 543,61
Další provozní náklady	500 126,00	568 855,31
Doplňkové náklady	250 474,00	250 474,00
Celkem	1 920 300,00	1 920 300,00

Zdůvodnění nákladů: (max ½ strany)

(komentář k čerpání finančních prostředků na řešení projektu – slovní popis v členění jednotlivých položek nákladů a konkrétní výčet, na co byly prostředky využity, komentář a zdůvodnění případných změn a rozdílů oproti schválenému rozpočtu projektu)

Osobní náklady:

Osobní náklady byly čerpány na složky mzdy a odměny členů řešitelského týmu z řad akademických pracovníků. Dále byly čerpány na stipendia studentů doktorského studia, kteří pracovali na různých částech řešení projektu. Osobní náklady byly čerpány přesně dle návrhu projektu.

Cestovné:

Částka určená na cestovné 100 000,00 Kč byla čerpána ve výši 86 543,61 Kč. Částka byla čerpána na úhradu cestovních nákladů na konferenci „5th International Conference Of The European College Of Veterinary Microbiology konané ve Sovinském Bledu 21. – 23. září 2003 a na konferenci 16th International Conference on Molecular epidemiology and genetics, konané v listopadu v Drážďanech.

Další provozní náklady:

Provozní náklady (568 855,31 Kč) byly využity na nákup spotřebního materiálu a chemikálií. Konkrétně na zakoupení materiálu k odběru a transportu vzorků (sterilní tampóny, odběrové soupravy s transportními půdami), k bakteriologické kultivaci, druhové identifikaci izolátů, vyšetření antimikrobiální rezistence a uchování izolátů (médiá pro přípravu univerzálních a selektivních médií – Columbia agar, McConkey agar, kryoprotektivní média, antibiotické substance pro suplementaci půd, MALDI matrice). Dále náklady na pořízení laboratorního plastu a pomůcek zajišťujících běžný chod laboratoře (Petriho misky, bakteriologické kličky a hokejky, sterilní špičky s filtrem, zkumavky, kryozkumavky, plast pro kryokonzervaci, dezinfekce, rukavice).

Náklady na služby, 44 727,08 Kč, byly použity na pronájem láhví se stlačeným CO₂, sekvenaci vzorků, servisu laboratorních přístrojů a zařízení a zhotovení posteru na konferenci.

Doplňkové náklady:

Doplňkové náklady ve výši 250 474,00 Kč byly čerpány v souladu s návrhem projektu.

Přehled čerpání přidělených finančních prostředků – Výpis z IFIS.

(k Závěrečné zprávě doložte výpis z IFIS, podepsaný osobou zodpovědnou za čerpání finančních prostředků)

9. Prohlášení a potvrzení řešitele odpovědného za čerpání prostředků, děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště

Řešitel projektu prohlašuje, že údaje uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2023 jsou pravdivé a potvrzuje, že 1) získané výsledky budou neprodleně uplatněny jako výsledek uznatelný v registru informací o výzkumu (RIV), že 2) publikaci zašle do časopisu tak, aby byla přijata k zveřejnění **do 18 měsíců** od ukončení řešení projektu, že 3) publikace bude obsahovat odkaz na podporu ITA VETUNI bez odkazů na podporu dalších grantů, projektů a ji, podobným finančním zdrojům, a že 5) doručí kopii této publikace po jejím zveřejnění ITA VETUNI.

Datum, jméno a podpis

řešitele projektu: prof. MVDr. Vladimír Celer, Ph.D.

Člen řešitelského týmu – akademický pracovník – odpovědný za čerpání prostředků prohlašuje, že údaje týkající se finančních prostředků uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2023 jsou pravdivé, a že prostředky na řešení projektu byly čerpány v souladu s Pravidly pro poskytování účelové podpory na institucionální výzkum VETUNI, podle dalších pokynů ITA VETUNI a podle rozhodnutí o přijetí projektu.

Datum, jméno a podpis

člena řešitelského týmu **odpovědného za čerpání prostředků**: prof. MVDr. Vladimír Celer, Ph.D.

Přednosta ústavu nebo kliniky, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že projekt byl řešen na ústavu nebo klinice, respektive celoškolském pracovišti, které řídí.

Datum, jméno a podpis

přednosta ústavu nebo kliniky nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

prof. MVDr. Alois Čížek, CSc.

Datum, jméno a podpis

správce rozpočtu:

Ing. Vladimír Kohoutek

Děkan fakulty, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že fakulta, respektive celoškolské pracoviště provedlo kontrolu řešení projektu a kontrolu čerpání prostředků přidělených na řešení projektu.

Datum, jméno, podpis

děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

Doc. MVDr. Michal Crha, Ph.D.

Razítko

Závěrečná zpráva Projektu ITA VETUNI na rok 2023

1. Identifikační číslo projektu: FVL/Tichý/ITA2023

2. Název projektu: Tvorba a průkaz osteoidu ve fyziologické i patologické osteoprodukcii

3. Řešitel projektu:

Titul, jméno a příjmení: Prof. MVDr. František Tichý, CSc.

Fakulta/celoškolské pracoviště: FVL/Ústav anatomie, histologie a embryologie

E-mail: tichyf@vfu.cz

Telefon: 541562200

Zástupce řešitele: Prof. RNDr. Eva Matalová, Ph.D.

4. Řešitelský kolektiv:

složení řešitelského týmu: (akademičtí pracovníci a jejich příslušnost k ústavům nebo klinikám fakulty nebo výzkumným skupinám CEITEC, studenti DSP) a forma zapojení každého člena řešitelského týmu

Řešitelem projektu byl sekční rada Sekce morfologie a fyziologie, prof. MVDr. František Tichý, CSc. (profesor, 100 %) a projekt byl koncipován tak, že integroval a zastřešoval několik směrů výzkumu v této sekci. Společným jmenovatelem dílčích cílů byla problematika morfologie a fyziologie osteoproduktivních procesů. Vzhledem k relativně krátkému trvání projektu (8 měsíců) bylo toto pojetí výhodou, protože umožňovalo paralelní řešení jednotlivých témat a efektivní zapojení všech pracovníků participujících na projektu. Projektový kolektiv byl proto rozdělen na dva menší týmy, jejichž kooperaci zajišťoval řešitel projektu. Každý tým měl svého senior konzultanta/experta a začleňoval také mladé vědecké pracovníky a studenty. Kooperace týmů byla realizována zejména na úrovni sdílení metod a přístrojového vybavení.

Tým projektové části A:

Doc. MVDr. Václav Páral, Ph.D. (100%) – doc. anatomie, konzultant/expert s bohatými zkušenostmi v oblasti osteologie, vedoucí odd. Anatomie na ÚAHE.

MVDr. Petr Čížek, Ph.D. (100%) – odborný asistent, pracovník skupiny se zkušenostmi v oblasti histologie kostní tkáně, byl zodpovědný za analýzu histologických výsledků.

MVDr. Martin Pyszko, Ph.D. (100%) - odborný asistent, pracovník skupiny zodpovědný za získání a makroskopickou analýzu resekátů růstových zón kostí.

MVDr. Ivana Pračková, Ph.D. (70%) – odborný asistent s bohatou metodickou zkušeností, s participací na provádění metod a analýze výsledků.

MVDr. Zuzana Tomiczková - doktorand, 1. ročník, provádění experimentů pod vedením řešitele (předseda OR)

Tým projektové části B:

Prof. RNDr. Eva Matalová, Ph.D. (100 %) – profesor, expert projektové části B, dlouholeté zkušenosti v oblasti osteogeneze (4 články v IF časopisech kategorie Q1 za poslední dva roky), vedoucí Laboratoře odontogeneze a osteogeneze ÚŽFG AV ČR (společné pracoviště)

Prof. MVDr. Jaroslav Doubek, CSc. (60 %) – konzultant/expert s bohatými zkušenostmi v oblasti fyziologie a patofyziologie, vedoucí Ústavu fyziologie a Klinické laboratoře pro malá zvířata na VETUNI Brno

MVDr. Jana Doležalová, Ph.D. (100 %) – odborný asistent s bohatou metodickou zkušeností v oblasti patofyziologie a diagnostiky

MVDr. Sabina Varadinková (Štouračová) (50 %) – začínající odborný asistent (Ph.D. 9/2023), participace na provádění metod a analýze výsledků.

MVDr. Lucia Černá (50 %) – akademický pracovník (asistent), student DSP (poslední ročník), školitel: Prof. MVDr. Jaroslav Doubek, CSc.

5. V případě společných projektů pro více součástí VETUNI popsat zapojení těchto součástí do řešení projektu:

Do projektu byli zapojeni pracovníci a studenti ze všech 3 ústavů v rámci Sekce morfologie a fyziologie. Projekt vychází z jejich dlouhodobého vědecko-výzkumného zaměření a byl založen na zastřešující tematice a sdílení metod.

Ústav anatomie, histologie a embryologie byl primárně zapojen do části A, Ústav fyziologie do části B. Pato/fyziologická/morfologická vyhodnocení byla prováděna na obou pracovištích na základě metodického zaměření a expertíz jednotlivých členů týmu. Z Ústavu farmakologie a farmacie byla zapojena studentka z OR, jejíž je řešitel předsedou.

6. Obsah projektu

Začlenění projektu do rámce výzkumu VETUNI:

Téma projektu je v souladu s dlouhodobým zaměřením výzkumu v rámci sekce. Projektové cíle jsou založeny na publikovaných výsledcích zúčastněných pracovišť a nejaktuálnějších (dosud nepublikovaných) poznatcích. Tato bezprostřední návaznost je nezbytná pro dosažení stanovených cílů v relativně krátké době trvání projektu (ne celý rok). Z toho důvodu je také projekt navržen ve formě dvou tematicky souvisejících segmentů, které lze řešit paralelně.

- A) Tato projektová část byla zaměřena na studium osteoproduktivních procesů v růstových zónách skeletu, dále na imunohistochemickou analýzu osteoproduktivní populace buněk ve vztahu k navazujícímu výzkumu regeneračních, ev. onkologických procesů. Vytvoření nové barvicí metodiky pro rychlou detekci osteoidu bylo rovněž tématem v rámci projektu ITA.
- B) Tato část projektu byla zaměřena na studium tvorby osteoidu jakožto milníku osteogeneze směrem k mineralizované funkční kosti. Je známa celá řada faktorů, které se na jeho formování podílejí. Stále se však objevují nové, mezi které patří i Fas ligand (FasL, CD178). V kostech je FasL signalizace klíčová pro osteoblasty indukovanou apoptózu osteoklastů a tím modulaci remodelace kostí. Stimulace FasL tak vede ke snížení degradace kostní hmoty, což je součástí také např. anti-osteoporotických strategií a jako takový je FasL dlouhodobě zkoumán a který ITA projekt dále rozšířil.

Cíle projektu (max. 5 řádků):

Cílem projektu bylo přispět k aktuálním poznatkům týkajícím se mechanismů tvorby osteoidu, a to za fyziologických a patologických podmínek, s těmito cíli:

- A) Vytvořit barvicí metodu pro hodnocení procesu osteoprodukce (detekce osteoidu) se zaměřením na praktické aplikace v regenerační/reparační, ev. onkologické problematice.
- B) Analyzovat nové faktory při tvorbě osteoidu se zaměřením na Fas ligand a fyziologickou osteogenezi.

Popis a metodika řešení projektu (max. 1/2 strany):

A) Buněčné populace v osteoproduktivních / růstových zónách vybraných kostí skeletu prasete a psa byly studovány za použití imunohistochemických barvicích metod, zjišťována bude exprese SATB 2, SMA a CD99. Do studované skupiny byly zařazeny resekáty tibie, konkrétně se bude jednat o 5 resekátů prasečích a 5 resekátů psích. Materiál byl získán jednak v jatečném provozu, jednak z bioptátů z klinické praxe.

Jednotlivé kosti byly makroskopicky posouzeny a popsány veškeré zjištěné abnormality.

Pro histologickou analýzu byly použity vzorky tkáně pocházející z růstových plotének (obr. 1, 1a, 2, 2a, 2b) a biopsie z onkologických osteoproduktivních procesů (obr. 3, 3a, 4, 4a, 5, 5a, 5b, 6, 6a). Fixačním prostředkem byl 10% neutrální pufovaný formalín, doba fixace nepřesáhla 48 hodin. Přikrojené tkáňové vzorky byly zality do parafínu. Dále bylo provedeno barvení hematoxylinem-eosinem a materiál byl histologicky / histopatologicky vyhodnocen.

B) IDG-SW3 buňky (Kerafast) byly využity pro modulace Fas ligandem v různých fázích osteoblasto/cytogeneze se zaměřením na jeho neapoptotický účinek. Po přidání FasL do média byl odběr buněk prováděn po 72 h (optimalizovaný protokol, Kratochvilova et al. 2021). Protože FasL je hlavním spouštěčem kaspázové kaskády, byl k jedné skupině buněk přidán Q-VD-OPh inhibitor. Paralelně byly kultivovány kontrolní buňky. Všechny experimenty byly prováděny v minimálně 3 biologických replikacích. Tvorba osteoidu byla hodnocena na úrovni morfologie a pomocí RNA a proteinových analýz.

Dosažené výsledky projektu (max. 1/2 strany):

Část A) Pro histologické analýzy byly vybrány reprezentativní řezy zachycující osifikaci/osteoprodukci v celém rozsahu. Imunohistochemická detekce vybraných markerů (viz v.) ve formolparafinovém materiálu byla provedena na tkáňových řezech silných 3 µm.

Imunohistochemické barvení bylo provedeno na automatizovaném imunostaineru Benchmark (Ventana Medical System, Inc., Tucson, AZ, USA). Jako detekční systém byla použita souprava Ventana ultraView Universal DAB detection Kit firmy ROCHE (obr. 4, 4a).

Nově vytvořená barvicí metodika probíhala v roztoku 0,1 % Picosirius red, tkáň byla dobarvena roztokem: indigokarmínu, 2% světlé zeleně žlutavé a Směs G (obr. 2, 2a, 2b, 5, 5a, 5b, 6, 6a).

Výsledky histologických vyšetření byly hodnoceny na mikroskopu s modulem pro digitální záznam (mikroskop Olympus BX51).

Část B) V souladu s navrženým experimentálním designem byla prováděna modulace osteocytových buněk (linie IDG-SW3) za účelem stanovení dopadu stimulace Fas ligandem a/nebo inhibice kaspáz na osteogenní markery. Mezi nejdůležitější výsledky patří: 1) Obohacení kultivačního média o OPh inhibitor vedlo k výraznému nárůstu exprese sklerostinu (Sost), který je negativním regulátorem kostní hmoty a je považován za marker osteocytů. Přidání FasL naopak způsobilo snížení exprese Sost (dříve publikovaná data). 2) Další specifický faktor osteocytů, osteocrin (Ostn), byl také zvýšen po OPh inhibici a snížen po aplikaci FasL. 3) Osteocrin je cílovým genem osterixu, Sp7, jehož exprese u IDG-SW3 buněk byla také zvýšena po inhibici kaspáz a snížena po FasL stimulaci. Osteocrin je sekretovaný faktor, který má důležitou roli při formování osteocytových výběžků. Na základě získaných výsledků lze usuzovat na potenciál FasL a kaspáz v regulaci osteocytových sítí klíčových při transformaci osteoidu do maturované kosti. V souladu s touto hypotézou jsou i další výsledky, které zahrnovaly obdobné expresní změny u Gdf10. Z dalších sledovaných faktorů dosáhla nejvýznamnějších změn exprese matrixová metaloproteináza 13 (Mmp13). Ta se výrazně zvýšila (o více než 1000 %) po aplikaci FasL. Mmp13 degraduje kolagen, který je základní složkou osteoidu a podílí se na perilakunární remodelaci. Komplexní mechanismus neapoptotického účinku FasL v kostních buňkách je předmětem navazujícího výzkumu.

Přínos projektu (max. 5 řádků):

Základním výstupem jsou publikace výsledků v časopise s IF, z každé projektové části jedna. Kromě toho je nesporným přínosem projektu také kooperace víceoborového týmu se začleněním mladých vědeckých pracovníků, kteří rozšíří své znalosti a metodické dovednosti, důležitá je pro ně také možnost aktivní účasti a diskuse výsledků na mezinárodních konferencích. U zkušenějších pracovníků otevírá projekt možnost zahájení a rozvoje budování vlastních výzkumných skupin. Nemałym přínosem projektu je také pokračování a integrace vědecko-výzkumné činnosti v rámci sekce.

Využití výsledků (max. 5 řádků):

Předpokládaným výsledkem projektu je získání původních vědeckých dat k nosným projektovým tématům. Z těchto dat bude také vycházet koncepce navazujícího výzkumu. Výsledky z každé části budou prezentovány na zahraničních konferencích a dále diskutovány při projektové obhajobě. Data budou zpracována v Závěrečné zprávě projektu a soft-skill se zúročí také ve vědecko-výzkumné činnosti (a jejích výstupech) mladých akademických pracovníků a DSP studentů. Hlavním ověřením bude zveřejnění výsledků ve vědeckých časopisech s IF.

Název článku a název vědeckého časopisu s impakt faktorem, v němž byly publikovány nebo se předpokládá publikace dosažených výsledků:

Lenz J, Klubícková N, Ptáková N, Hájková V, Grossmann P, Steiner P, Svajdler Z, Michal M, Konečná P, Macháčová D, Hurník P, Tichý M, Tichý F, Kyllar M, Fiala L, Kavka M, Michal M. Extraskeletal myxoid chondrosarcoma: A study of 17 cases focusing on the diagnostic utility of INSM1 expression and presenting rare morphological variants associated with non1EWSR1::NR4A3 fusions* 0046-8177/© 2022 Elsevier Inc., *Human Pathology*. 2023, 00, 1-11 (in press).

Předpoklad:

Průkaz osteoidu v průběhu fyziologických i patologických procesů osteoprodukce u vybraných druhů savců (*J. Vet. Med. Sci.*)

Impakt FasL na profil osteogenních faktorů při diferenciaci osteoblastů a osteoprodukcii (*Physiol. Res.*)

8. Náklady na řešení projektu (v Kč)

Položka	Finanční prostředky	
	Přidělené (v Kč)	Čerpané (v Kč)
Osobní náklady celkem (včetně odvodů)	995 050,00	995 050,00
Služby	75 000,00	83 367,90
Cestovné	0,00	0,00
Další provozní náklady	531 342,00	522 974,10
Doplňkové náklady	240 208,00	240 208,00
Celkem	1 841 600,00	1 841 600,00

Zdůvodnění nákladů: (max ½ strany)

(komentář k čerpání finančních prostředků na řešení projektu – slovní popis v členění jednotlivých položek nákladů a konkrétní výčet, na co byly prostředky využity, komentář a zdůvodnění případných změn a rozdílů oproti schválenému rozpočtu projektu)

Osobní náklady:

Výše osobních nákladů a stipendií včetně nákladů na sociální a zdravotní pojištění – čerpání dle přiděleného limitu (viz Tab. výše)

Služby:

Odběr vzorků - doprava. Pro specializované zpracování vzorků, které byly selektovány na základě primárního IHC screeningu bylo využito služeb externího pracoviště, které disponuje systémem Benchmark (Ventana Medical System, Inc., Tucson,AZ, USA). Oproti plánu bylo v souladu s pravidly a v rámci tolerance převedeno 8 367,90 z položky „další provozní náklady do položky „služby“.

Cestovné:

Cestovné nebylo čerpáno a finanční prostředky byly využity k rozšíření cílů projektu.

Další provozní náklady:

Materiálové náklady odpovídaly projektovým cílům a metodickým krokům. Jednalo se zejména o histologické analýzy (specifická barvení, protilátky, vizualizační kity atd.), molekulární analýzy (příprava vzorků), spotřební materiál jako skla, plastik, ochranné pomůcky. Oproti plánu bylo v souladu s pravidly a v rámci tolerance převedeno 8 367,90 z položky „další provozní náklady do položky „služby“.

Doplňkové náklady:

Režie ITA VETUNI.

Přehled čerpání přidělených finančních prostředků – Výpis z IFIS.

(k Závěrečné zprávě doložte výpis z IFIS, podepsaný osobou zodpovědnou za čerpání finančních prostředků)

9. Prohlášení a potvrzení řešitele odpovědného za čerpání prostředků, děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště

Řešitel projektu prohlašuje, že údaje uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2023 jsou pravdivé a potvrzuje, že 1) získané výsledky budou neprodleně uplatněny jako výsledek uznatelný v registru informací o výzkumu (RIV), že 2) publikaci zašle do časopisu tak, aby byla přijata k zveřejnění **do 18 měsíců** od ukončení řešení projektu, že 3) publikace bude odkazovat na podporu ITA VETUNI. Výhradní odkaz na projekt ITA VETUNI (bez odkazů na podporu z dalších grantů, projektů a jim obdobných finančních zdrojů) musí obsahovat vždy nejméně jedna publikace s impakt faktorem na každých 1,5 milionu korun způsobilých nákladů projektu, a že 5) doručí kopii této publikace po jejím zveřejnění ITA VETUNI.

Datum, jméno a podpis

řešitele projektu:

6.1.2023, František Tichý

Člen řešitelského týmu – akademický pracovník – odpovědný za čerpání prostředků prohlašuje, že údaje týkající se finančních prostředků uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2023 jsou pravdivé, a že prostředky na řešení projektu byly čerpány v souladu s Pravidly pro poskytování účelové podpory na institucionální výzkum VETUNI, podle dalších pokynů ITA VETUNI a podle rozhodnutí o přijetí projektu.

Datum, jméno a podpis

člena řešitelského týmu odpovědného za čerpání prostředků:

6.1.2023, František Tichý

Přednosta ústavu nebo kliniky, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že projekt byl řešen na ústavu nebo klinice, respektive celoškolském pracovišti, které řídí.

Datum, jméno a podpis

přednosta ústavu nebo kliniky nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

6.1.2023, František Tichý

Datum, jméno a podpis

správce rozpočtu:

Děkan fakulty, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že fakulta, respektive celoškolské pracoviště provedlo kontrolu řešení projektu a kontrolu čerpání prostředků přidělených na řešení projektu.

Datum, jméno, podpis

děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

doc. MVDr. Michal Crha, Ph.D.

Razítko

Závěrečná zpráva projektu ITA VETUNI na rok 2023

- 1) Identifikační číslo projektu 2023 ITA 14
- 2) Název projektu

Problematika chorob přežvýkavců a koní

- A) Sledování výskytu karence zinku v chovech krav s dopadem na zdravotní stav dojníc, metabolický profil, počet somatických buněk v mléce, a metabolickou aktivitu leukocytů.
- B) Metabolický profil zátěžových myopatií u koní

- 3) Řešitel projektu:

Titul, jméno a příjmení: Doc. MVDr. Josef Illek, DrSc. Dipl. ECBHM

Sekce chorob velkých zvířat, KLVZ

E-mail: illekj@vfu.cz

Telefon: +420 541 562 43; + 420 731 512 909

4. Řešitelský kolektiv

Složení řešitelského týmu: Akademičtí pracovníci a jejich příslušnost k ústavům nebo klinikám a forma zapojení každého člen řešitelského týmu

Doc. MVDr. Josef Illek, DrSc. Dipl. ECBH. KLVZ. Plánování a koordinace experimentů, kontrola zdravotního stavu zvířat, kontrola a analýza dat, příprava publikačních výstupů
Sekce chorob velkých zvířat, KLVZ

MVDr. Romana Kadek, Ph.D. KLVZ. Koordinace experimentů v chovech, výběr zvířat, klinické vyšetření, odběr vzorků krve

Mgr. Andrea Staffa, Ph.D. KLVZ. Kontrola výsledků laboratorního vyšetření, analýza dat, příprava publikačních výstupů,

MVDr. Eva Indrová, Ph.D. KCHPP. Kontrola zdravotního stavu zvířat, odběr biologického materiálu

MVDr. Ivana Šimková., KCHPP. Kontrola zdravotního stavu zvířat, odběr biologického materiálu.

MVDr. Petr Jahn, CSc., KCHK. Příprava experimentů, kontrola klinického stavu, odběr vzorků biologického materiálu, hodnocení výsledků, příprava publikačních výstupů.

MVDr. Eva Šamonilová (roz. Ludvíková) PhD. KCHK. Sledování klinického stavu, odběr biologického materiálu, hodnocení výsledků

MVDr. Štěpán Bodeček, Ph.D. KCHK. Sledování klinického stavu, odběr biologického materiálu, hodnocení výsledků

5. V případě společných projektů pro více součástí VETUNI popsat zapojení těchto součástí do řešení projektu: Nejedná se o společný projekt více součástí VETUNI Projekt je řešen v rámci sekce velkých zvířat

6. Obsah projektu

Začlenění projektu do rámce výzkumu VETUNI:

Projekt plně zapadá do rámce výzkumu VETUNI.

7. Cíle projektu:

Cíl A)

Cílem projektu je stanovit prevalenci karence zinku u krav a studovat jeho vliv na zdravotní stav dojnic, produkci a kvalitu mléka, počet somatických buněk v mléce, metabolický profil.

Cíl B)

Cílem projektu je zjištění metabolického profilu u koní s myopatiemi zátěžové, případně jiné etiologie. Projekt navazuje na dlouhodobě studovanou problematiku myopatií u koní v ČR. Výsledky budou porovnány s výsledky metabolického vyšetření zdravých koní a koní s atypickou myopatií.

8) Popis a metodika řešení projektu A

Ve vybraných chovech dojnic plemene H s užitkovostí 10 000 až 12 000 kg mléka za normovanou laktaci byl sledován zdravotní stav, úroveň výživa a metabolický profil se zaměřením na koncentraci zinku v krevním séru, změny metabolitů v krvi a počtu somatických buněk mléce v průběhu první fáze laktace. V každém chovu bylo do sledování zařazeno 12 až 15 dojnic. V odebraných vzorcích krve byl v KLVZ stanoven metabolický profil. Krev: hematokrit, koncentrace hemoglobinu, počet erytrocytů, leukocytů, koncentrace glukózy, Se a GPX. V krevním séru bude stanovena celková bílkovina, albumin, močovina, haptoglobin, sérový amyloid, BHB, NEMK, TAS, AST, GMT, CK, ALP, SOD, Ca, Mg, P, Zn. V mléku budou stanoveny koncentrace Zn, počet somatických buněk a proteiny akutní fáze. Získané výsledky budou statisticky zpracovány a vyhodnoceny.

Dosažené výsledky projektu A

V 15 chovech dojnic plemene H s užitkovostí nad 10 000 kg mléka za normovanou laktaci byla stanovena koncentrace zinku v krevním séru a základní metabolický profil. Celkem bylo vyšetřeno 231 dojnic v první fázi laktace, Dojnice byly na základě hodnot koncentrace zinku v krevním séru rozděleny do 5 skupin. Velmi nízké hodnoty (méně než 8umol/l byly zjištěny u 2,3 % dojnic, hodnoty v rozmezí 8,01 – 10 umol/l byly zjištěny u 1,72 %, hodnoty v rozmezí 10,01 – 12 umol/l byla zjištěny u 14,44 %, Hodnoty v rozmezí 12,01- 15 umol/l byly zjištěny u 32,76 % dojnic a hodnoty v rozmezí 15,01– 18 umol/l byly zjištěny u 35 % dojnic. Koncentrace zinku v krevním séru Významně neovlivnila hodnoty ALP, SOD a TAS. V chovu, kde byl prokázán deficit zinku, 18.6 % dojnic mělo koncentraci Zn v krevním séru nižší než 12umol/l byla u ojedinělých dojnic diagnostikována dermatitis uberoingivalis. V ostatních chovech tato dermatitida diagnostikována nebyla. Dermatits digitalis s vyskytovala ve všech sledovaných chovech na nízké úrovni. Naše sledování bylo realizováno ve 13 chovech s dobrou úrovní výživy a dobrým managementem chovu. Počet somatických buněk v bazénových vzorcích se pohyboval v průměru od 136 000 do 280 000. Průměrné hodnoty koncentrace zinku v krevním séru činily 13,22umol/l až 16,14umol/l. Ve dvou sledovaných chovech počet somatických buněk v mléku se dlouhodobě pohyboval v rozmezí 310 000 až 380 000. Koncentrace zinku se u vyšetřených dojnic pohybovala v referenčním rozmezí. Na základě posouzení krmné dávky byla prokázána zvýšená koncentrace mykotoxinů (Don a T2 toxin). U dojnic se subklinickou ketózou (n 20) počet somatických buněk v mléku byl v rozmezí 860 000 až 1 620 000/ml. Na základě chovatelské evidence nebyl zjištěn negativní vliv nízkých koncentrací zinku na reprodukční ukazatele.

Popis a metodika řešení projektu B

Cílem práce bylo porovnat koncentrace 31 plazmatických AC u koní s myopatií jiné etiologie, než je intoxikace HGA, s hodnotami AC u 15 koní s AM a devítičlenné kontrolní skupiny zdravých koní (HC). Byly odebrány vzorky periferní krve u 14 koní, u nichž se myopatie vyvinula během zátěže, pěti koní s prokázanou nebo suspektní imunitně zprostředkovanou myopatií a dvou koní s postanestetickou myopatií. Diagnóza myopatie byla u všech koní stanovena na základě klinických příznaků (ztížený nebo ztuhlý pohyb, edém svalů, pigmenturie) a elevace plazmatické CK (748 – 10 024 $\mu\text{kat/l}$). Ze vzorků periferní krve byla zhotovena suchá krevní kapka a ta byla uchována do doby analýzy v -80°C . Vzorky periferní krve devíti koní z této skupiny byly analyzovány metodou hmotnostní spektrometrie s přímým nástřikem (FIA) v Laboratoři dědičných metabolických poruch Fakultní nemocnice a Univerzity Palackého Olomouc. V žádném vzorku nebyl zjištěn HGA ani jeho metabolit kyselina metylencyklopropyloctová (MCPA).

Výsledky projektu B

Výsledky metabolického vyšetření AC u všech tří skupin byly vyhodnoceny metodou analýzy hlavních komponent (PCA) (Obr. 1), která ukázala na významné rozdíly mezi testovanými skupinami: skupinou 15 koní s prokázanou AM (aktivita CK 414 – 12 868 $\mu\text{kat/l}$, koncentrace HGA v periferní krvi 0,124 – 3,883 $\mu\text{mol/l}$), skupinou 12 klinicky zdravých koní (HC) a zkoumanou EM skupinou. Z předběžných výsledků vyplývá, že hodnoty některých AC jsou zvýšeny nejen u AM skupiny, ale i u koní s myopatií jiné etiologie, než je intoxikace HGA v porovnání s kontrolní skupinou zdravých koní. Statistická významnost těchto změn byla posouzena pomocí p-hodnot, které jsou vždy pro daný metabolit u dvojice porovnávaných skupin znázorněny v tabulce (Tab. 1). Zbývající koně s myopatiemi jiné etiologie, než je otrava HGA (12 koní) budou metabolicky vyšetřeni dodatečně. Výsledky budou publikovány v časopise s IF.

Přínos projektu

Řešení projektu prokázalo, že výskyt výrazných karencí zinku u dojnic je minimální (4 %) výskyt marginálních karencí postihuje 14,44 % dojnic v první fázi laktace. Ve sledovaných chovech nebyl prokázán negativní vliv na počet somatických buněk v mléce. Ve dvou problémových chovech byl příčinou vysokého počtu somatických buněk v mléce vysoký obsah mykotoxinů v kukuřičné siláž. Koncentrace zinku v krevním séru neovlivnila hodnota ALP, SOD ani TAS. Na základě získaných výsledků sledování je třeba se zaměřit na výskyt marginálních karencí a řešit tento problém suplementací organických forem zinku.

Přínosem projektu B je průkaz změn ve vnitřním prostředí koní s výskytem myopatií. Vysoká aktivita CK je důležitým diagnostickým ukazatelem. Metabolické vyšetření rozšiřuje poznání o této problematice, zrychluje a upřesňuje diagnostiku.

Název článku ve vědeckém časopisu s impakt faktorem

The zinc status of dairy herds in the Czech Republic. Acta Veterinaria Brno
Concentration of blood acylcarnitines in horses with exertional rhabdomyolysis. (Veterinrní medicína)

Náklady na řešení projektu

Položka	Finanční	prostředky
	Přidělené (v Kč)	Čerpané (v Kč)
Osobní náklady celkem (včetně odvodů)	1 016 880,00	1 016 880,00
Služby	80 000,00	73 727,01
Cestovné	50 000,00	5 278,20
Další provozní náklady	404 425,00	455 419,79
Doplňkové náklady	232 695,00	232 695,00
Celkem	1 784 000,00	1 784 000,00

Zdůvodnění nákladů

Finanční prostředky byla čerpány dle plánu.

Osobní náklady sloužily jako odměny členům řešitelského kolektivu.

Služby – finanční prostředky byly použity k úhradě nákladů na metabolické vyšetření a analýzy krmiv

Cestovné – sloužilo k úhradě nákladů spojených s návštěvou farem dojnic a laboratoře FN Olomouc.

Provozní náklady – finanční prostředky budou použity pro nákup biochemických setů, chemikálií, kontrolních vzorků a laboratorního skla.

Doplňkové náklady jsou stanoveny předpisem

Přehled čerpání přidělených finančních prostředků – Výpis z IFIS.

Etická komise nevyžaduje pro tento projekt schválení projektu pokusu.

9. Prohlášení a potvrzení řešitele odpovědného za čerpání prostředků, děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště.

Řešitel projektu prohlašuje, že údaje uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2023 jsou pravdivé a potvrzuje, že 1) získané výsledky budou neprodleně uplatněny jako výsledek uznatelný v registru informací o výzkumu (RIV) a že 2) publikaci zašle do časopisu tak, aby byla přijata k zveřejnění do 18 měsíců od ukončení řešení projektu, že 3) publikace bude odkazovat na podporu ITA VETUNI. Výhradní odkaz na projekt ITA VETUNI (bez odkazů na podporu z dalších grantů, projektů a jim obdobných finančních zdrojů) musí obsahovat vždy nejméně jedna publikace s impakt faktorem na každých 1,5 milionu korun způsobilých nákladů projektu a že 5) doručí kopii této publikace po jejím zveřejnění ITA VETUNI

Datum, jméno a podpis 9.1. 2024 Doc. MVDr. Josef Illek DrSc, Dipl. ECBHM

Řešitel projektu:

Člen řešitelského týmu – akademický pracovník – odpovědný za čerpání prostředků prohlašuje, že údaje týkající se finančních prostředků uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2023 jsou pravdivé a že prostředky na řešení projektu byly čerpány v souladu s Pravidly pro poskytování účelové podpory na institucionální výzkum VETUNI, dle Dalšíh pokynů ITA VETUNI a podle rozhodnutí o přijetí projektu

Datum, jméno a podpis 9.1.2024 Doc. MVDr. Josef Illek, DrSc. Dipl. ECBHM

Člena řešitelského týmu odpovědného za čerpání prostředků

9.1. 2024 Doc.MVDr. Josef Illek DrSc, Dipl. ECBHM

- řešení projektu a čerpání prostředků bude ukončeno do 30. listopadu roku, na který byl projekt přidělen,
- výstup projektu ve formě **publikace** ve vědeckém časopise bude realizován nejpozději do 18 měsíců od ukončení projektu, a bude odkazovat na podporu ITA VETUNI, výhradní odkaz na projekt ITA VETUNI (bez odkazů na podporu z dalších grantů, projektů a jim obdobných finančních zdrojů) musí obsahovat vždy nejméně jedna publikace s impakt faktorem na každých 1,5 milionu korun způsobilých nákladů projekt,
- řešitel zajistí neprodlené vložení uplatnitelných výsledků, vzniklých řešením projektu, do registru o výsledcích výzkumu (RIV), a to i v případě jejich uplatnění po ukončení řešení projektu,
- Řešitel se zavazuje odevzdat závěrečnou zprávu o řešení projektu ve formě požadované ITA VETUNI a účastnit se obhajoby projektů v rámci obhajob projektů ITA VETUNI.

Podpis řešitele projektu

Titul, jméno a příjmení: Doc. MVDr. Joef Illek, DrSc., Dipl. ECBHM

Vyjádření přednosta(ů) ústavu(ů) nebo klinik(y)

Titul, jméno a příjmení: Doc. MVDr. Josef Illek, DrSc., Dipl. ECBHM

Doc. MVDr. Markéta Sedlinská, Ph.D.

Vyjádření děkana fakulty nebo ředitele CEITEC

Titul, jméno a příjmení: Doc. MVDr. Michal Crha, CSc

- Řešitel se zavazuje odevzdat závěrečnou zprávu o řešení projektu ve formě požadované ITA VETUNI a účastnit se obhajoby projektů v rámci obhajob projektů ITA VETUNI.

Podpis řešitele projektu

Titul, jméno a příjmení: Doc. MVDr. Joef Illek, DrSc., Dipl. ECBHM

Vyjádření přednosty(ů) ústavu(ů) nebo klinik(y)

Titul, jméno a příjmení: Doc. MVDr. Josef Illek, DrSc., Dipl. ECBHM

Doc. MVDr. Markéta Sedlinská , Ph.D.

Vyjádření děkana fakulty nebo ředitele CEITEC

Titul, jméno a příjmení: Doc. MVDr. Michal Crha, CSc.

Závěrečná zpráva Projektu ITA VETUNI na rok 2023

- 1. Identifikační číslo projektu:** 2023ITA15
- 2. Název projektu:** Mini-invazivní diagnostické a chirurgické zákroky u zvířat zájmových chovů
- 3. Řešitel projektu:**

Titul, jméno a příjmení: doc. MVDr. Michal Crha, Ph.D.

Fakulta/celoškolské pracoviště: FVL, KCHPK

E-mail: crham@vfu.cz

Telefon: +420 541 562 582

Zástupce řešitele: MVDr. Lucie Urbanová, Ph.D.

4. Řešitelský kolektiv:

složení řešitelského týmu: (akademičtí pracovníci a jejich příslušnost k ústavům nebo klinikám fakulty nebo výzkumným skupinám CEITEC, studenti DSP) a forma zapojení každého člena řešitelského týmu

Doc. MVDr. Michal Crha, Ph.D. (KCHPK, FVL, 1,0) – řešitel, koordinace projektu, podíl na publikačních výstupech a analýze výsledků projektu.

MVDr. Lucie Urbanová, Ph.D. (KCHPK, FVL, 1,0) – zástupce řešitele, shromažďování a zpracování výsledků, příprava publikačních výstupů.

Prof. MVDr. Alois Nečas, Ph.D., MBA (KCHPK, FVL, 1,0) – spoluřešitel, analýza a zpracování výsledků, podíl na publikačních výsledcích.

MVDr. Jana Lorenzová, Ph.D. (KCHPK, FVL, 1,0) - spoluřešitel, shromažďování a zpracování výsledků, příprava publikačních výstupů.

MVDr. Andrea Nečasová (KCHPK, FVL, 0,5) – spoluřešitel, shromažďování a zpracování výsledků, příprava publikačních výstupů.

MVDr. Zita Filipejová, Ph.D. (KCHPK, FVL, 1,0) - spoluřešitel, shromažďování a zpracování výsledků, příprava publikačních výstupů.

Prof. MVDr. Zdeněk Knotek, CSc., CSc. Dipl ECZM (Herpetological Medicine and Surgery) (KCHPPDS, FVL, 1,0) - spoluřešitel, shromažďování a zpracování výsledků, příprava publikačních výstupů.

MVDr. Ing. Eva Čermáková, Ph.D. (KCHPPDS, FVL, 1,0) - spoluřešitel, shromažďování a zpracování výsledků, příprava publikačních výstupů.

MVDr. Zora Knotková, CSc. (KCHPPDS, FVL, 1,0) - spoluřešitel, shromažďování a zpracování výsledků, laboratorně-diagnostická práce, analýza výsledků.

MVDr. Hana Černochová, Ph.D. (KCHPPDS, FVL, 1,0) - spoluřešitel, shromažďování a zpracování výsledků, laboratorně-diagnostická práce, analýza výsledků.

MVDr., Bc. Matěj Pavlík (DSP student) - zapojení do shromažďování a zpracování výsledků, klinická i laboratorní práce v rámci řešení projektu.

MVDr. Lucia Kasalová (DSP student) – spoluřešitel, zapojení do shromažďování a zpracování výsledků, klinická i laboratorní práce v rámci řešení projektu.

5. V případě společných projektů pro více součástí VETUNI popsat zapojení těchto součástí do řešení projektu:

Není společným projektem více součástí VETUNI.

6. Obsah projektu

Začlenění projektu do rámce výzkumu VETUNI:

Předmět řešení projektu je v souladu s výzvou Interní tvůrčí agentury (ITA) VETUNI a strategií výzkumu na Fakultě veterinárního lékařství VETUNI, kdy mezi současné a perspektivní směry výzkumu, kromě jiného, patří ověřování nových diagnostických a mini-invazivních léčebných postupů v diagnostice a chirurgické léčbě onemocnění zvířat zájmových chovů.

Cíle projektu (max. 5 řádků):

První dílčí cíl klinické studie se zaměřil na bezpečnost použití harmonického skalpelu a bezuzlového jednostranně ostnatého šicího materiálu při intrakorporální zcela laparoskopické incizní gastropexi u psů. Druhý dílčí cíl klinické studie se zaměřil na srovnání metody mini-invazivní laparoskopicky asistované gastropexy se zcela laparoskopickou (intrakorporální) gastropexi. Dalším dílčím cílem projektu bylo vypracovat a účinně rozvíjet perspektivní neinvazivní či minimálně invazivní metody využitelné ve sledování fyziologických i patologických stavů reprodukčních orgánů u plazů.

Popis a metodika řešení projektu (max. 1/2 strany):

V rámci prvního dílčího cíle byla u klinicky zdravých psů na žádost majitele provedena v celkové inhalační anestezii preventivní intrakorporální zcela laparoskopická incizní gastropexy. Vlastní laparoskopie byla vedena technikou tří portů. K incizi v prepylorické části žaludku, respektive peritonea a příčného břišního svalu stěny břišní byly použity ultrasonické nůžky harmonického skalpelu o průměru 5mm a délce 360mm (Harmonic ACE, ETHICON, Johnson & Johnson, USA). K sutuře gastropexy byl použit bezuzlový, jednostranně ostnatý, monofilamentní vstřebatelný šicí materiál z polyglykonátu 610 o průměru 3,5M (V-Loc 180, Medtronic, USA) s půlkruhovou jehlou (GS-21, 37mm) o délce 15 cm, respektive 23cm. U všech pacientů byl prováděn rutinní anesteziologický monitoring a zaznamenáván byl výskyt případných perioperačních a

krátkodobých pooperačních komplikací. Jako součást druhého dílčího cíle bylo retrospektivně vyhodnoceno provedení laparoskopicky asistované gastropexe z pohledu rychlosti provedení zákroku a výskytu pooperačních komplikací.

V rámci dalšího dílčího cíle byli do studie zařazeni zdraví plazi (*Egernia stokesii*, *E. hosmeri*, *E. striolata*, kteří byli klinicky vyšetřeni a byla od nich získána krev (odběr z v. *coccygea ventralis*). V laboratoři kliniky bylo provedeno standardní hematologické a biochemické vyšetření krve. Následovalo vyšetření reprodukčního traktu pomocí zobrazovacích metod (ultrasonografie, endoskopie, počítačová tomografie), kdy byla pozornost věnována monomorfním druhům plazů (*Egernia stokesii*, *E. hosmeri*, *E. striolata*), u kterých jsou přesné určení pohlaví a možnost sledování pohlavní aktivity základními předpoklady záchranného programu v podmínkách profesionálního chovu.

Dosažené výsledky projektu (max. 1/2 strany):

Preventivní intrakorporální incizní laparoskopická gastropexe s využitím harmonického skalpelu byla provedena celkem u 31 klinicky zdravých pacientů, tj. 26 fen a 5 psů o průměrné hmotnosti 36,5kg a průměrném věku 3,2 roků. U 28 pacientů byl současně s gastropexí proveden jiný chirurgický zákrok (nejčastěji laparoskopická ovariektomie), případně bylo provedeno rentgenologické vyšetření pohybového aparátu. Průměrná délka chirurgického zákroku činila 73 min. (medián 65 min.) a délka kapnoperitonea 50 min. (medián 45 min.). Ani u jednoho z pacientů nebyly zaznamenány závažné peri- či pooperační komplikace, které by vedly k úhynu či nutnosti další chirurgické léčby. Z klinického pohledu je použití harmonického skalpelu pro incizní laparoskopickou gastropexi provázeno minimem perioperačních komplikací a je dostatečně bezpečné s ohledem na výskyt minimálního perioperačního krvácení. Harmonický skalpel lze efektivně využít jak pro incizi tkání, tak i vytvoření flapů seromuskulární vrstvy žaludku. Použití vlákna bez uzlového jednostranně ostnatého stehu lze jednoznačně doporučit pro suturu při intrakorporální laparoskopické gastropexi u psů.

Výsledky analýzy reprodukčních patologií u ještěřů a využitelnosti minimálně invazivních a neinvazivních metod v reprodukční biologii plazů byly publikovány třikrát ve vědeckém časopisu. Tak jako v předchozích projektech ITA výsledky našly pozitivní odezvu v oblasti experimentální i klinické medicíny a jsou přínosem ve vědecké i v praktické veterinární praxi.

Přínos projektu (max. 5 řádků):

Přínosem projektu je rozvoj současných minimálně invazivních diagnostických a chirurgických technik používaných v medicíně zvířat zájmových chovů. Získané výsledky dokládají, že technika intrakorporální gastropexe s využitím harmonického skalpelu je velmi efektivní a může se hojně uplatňovat ve veterinární praxi nejen v České republice, ale i v zahraničí. Získání prioritních údajů o ověření využití minimálně invazivních metod ke správnému určení pohlaví u monomorfních druhů plazů je zásadní pro přesné určení pohlaví a možnost sledování jejich pohlavní aktivity. Dosažené výsledky jsou využitelné nejen v klinické praxi, ale jsou také předpokladem pro realizaci záchranných programů u ohrožených druhů plazů v podmínkách profesionálního chovu.

Využití výsledků (max. 5 řádků):

Výsledky tohoto projektu budou prezentovány odborné veřejnosti v podobě publikací v odborných časopisech s impakt faktorem. Využity budou rovněž při výuce pregraduálních i postgraduálních studentů.

Název článku a název vědeckého časopisu s impakt faktorem, v němž byly publikovány nebo se předpokládá publikace dosažených výsledků:

CRHA M, URBANOVÁ L, NEČASOVÁ A, et al. Intracorporal laparoscopic incisional gastropexy using harmonic scalpel and barbed suture – description of a novel technique. VETMED v přípravě

URBANOVÁ L, CRHA M, NEČASOVÁ A, et al. Comparison of laparoscopic assisted gastropexy and intracorporal laparoscopic incisional gastropexy in dogs. ACTA VET Brno v přípravě

KNOTEK, Z., OLIVERI, M., ČERMÁKOVÁ, E., ŠRÁMEK, P. (2023) Sex identification in Australian skinks (*Egernia stokesii*, *E. hosmeri*, *E. striolata*) using cloacoscopy. Vet Med-Czech, doi: 10.17221/3/2023-VETMED

ČERMÁKOVÁ E, KNOTKOVÁ Z, BORŮVKA D, ŠKORIČ M, KNOTEK Z. (2023): Effect of GnRH agonist (deslorelin) on ovarian activity in captive female veiled chameleons (*Chamaeleo calyptratus*). Vet Med-Czech, 68, 2023, (7):287-292.

KNOTEK Z, KNOTKOVÁ Z, ČERMÁKOVÁ E, DORRESTEIN GM, HECKERS KO, KOMENDA D. (2023): Plasma Bile Acids in Healthy Green Iguanas and Patients with Chronic Liver Diseases. Vet Med-Czech, 68, 2023, <https://doi.org/10.17221/10/2023-VETMED>

KASALOVÁ, L., ČERNOCHOVÁ, H., DVOŘÁKOVÁ, R., ANGELOVÁ, A., KNOTEK, Z. Myxofibrosarcoma of the penis in an African pygmy hedgehog (*Atelerix albiventris*) – a clinical case. Submitted - October 22, 2023 21:54:19. The manuscript is registered under ID 107/2023-VETMED.

8. Náklady na řešení projektu (v Kč)

Položka	Finanční prostředky	
	Přidělené (v Kč)	Čerpané (v Kč)
Osobní náklady celkem (včetně odvodů)	1 053 500,00	1 053 500,00
Služby	100 000,00	100 000,00
Cestovné	0,00	0,00
Další provozní náklady	600 000,00	600 000,00
Doplňkové náklady	263 025,00	263 025,00
Celkem	2 016 525,00	2 016 525,00

Zdůvodnění nákladů: (max ½ strany)

(komentář k čerpání finančních prostředků na řešení projektu – slovní popis v členění jednotlivých položek nákladů a konkrétní výčet, na co byly prostředky využity, komentář a zdůvodnění případných změn a rozdílů oproti schválenému rozpočtu projektu)

Osobní náklady:

Celková výše osobních nákladů byla 1 053 500,00 Kč. Z této sumy tvořily mzdové prostředky (os. příplatky, příp. odměny) pro členy řešitelského týmu 1 003 500,00 Kč včetně zákonných odvodů a dále stipendia, která tvořila 50 000,00 Kč.

Služby:

Služby (max. 10% celkových nákladů projektu) byly čerpány ve výši 100 000,00 na opravu a údržbu přístrojů 13 548,80 Kč; pronájem tlakových lahví, servis, statistická analýza, editace a úprava textů pro publikační výstupy 86 451,20 Kč.

Cestovné:

Mobility nebyly plánovány.

Další provozní náklady:

Provozní náklady ve výši 600 000,00 Kč tvořily: náklady na šicí, spotřební chirurgický materiál; náklady na zdravotní spotřební materiál; operační oblečení a ochranné pomůcky; náklady na laboratorní materiál; drobný hmotný majetek; náklady na tonery a kancelářský spotřební materiál.

Doplňkové náklady:

Doplňkové náklady (režijní náklady - 15% z mezisoučtu přímých nákladů) v celkové výši

263 025,00 Kč.

Přehled čerpání přidělených finančních prostředků – Výpis z IFIS.

(k Závěrečné zprávě doložte výpis z IFIS, podepsaný osobou zodpovědnou za čerpání finančních prostředků)

9. Prohlášení a potvrzení řešitele odpovědného za čerpání prostředků, děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště

Řešitel projektu prohlašuje, že údaje uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé a potvrzuje, že 1) získané výsledky budou neprodleně uplatněny jako výsledek

uznatelný v registru informací o výzkumu (RIV), že 2) publikaci zašle do časopisu tak, aby byla přijata k zveřejnění **do 18 měsíců** od ukončení řešení projektu, že 3) publikace bude odkazovat na podporu ITA VETUNI. Výhradní odkaz na projekt ITA VETUNI (bez odkazů na podporu z dalších grantů, projektů a jim obdobných finančních zdrojů) musí obsahovat vždy nejméně jedna publikace s impakt faktorem na každých 1,5 milionu korun způsobilých nákladů projektu, a že 5) doručí kopii této publikace po jejím zveřejnění ITA VETUNI.

Datum, jméno a podpis

řešitele projektu:

doc. MVDr. Michal Crha, Ph.D.

Člen řešitelského týmu – akademický pracovník – odpovědný za čerpání prostředků prohlašuje, že údaje týkající se finančních prostředků uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé, a že prostředky na řešení projektu byly čerpány v souladu s Pravidly pro poskytování účelové podpory na institucionální výzkum VETUNI, podle dalších pokynů ITA VETUNI a podle rozhodnutí o přijetí projektu.

Datum, jméno a podpis

člena řešitelského týmu **odpovědného za čerpání prostředků:**

doc. MVDr. Michal Crha, Ph.D.

Přednosta ústavu nebo kliniky, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že projekt byl řešen na ústavu nebo klinice, respektive celoškolském pracovišti, které řídí.

Datum, jméno a podpis

přednosta ústavu nebo kliniky nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

prof. MVDr. Alois Nečas, Ph.D., MBA

Datum, jméno a podpis

správce rozpočtu:

ing. Vladimír Kohoutek

Děkan fakulty, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že fakulta, respektive celoškolské pracoviště provedlo kontrolu řešení projektu a kontrolu čerpání prostředků přidělených na řešení projektu.

Datum, jméno, podpis

děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

doc. MVDr. Michal Crha, Ph.D.

Razítko

Závěrečná zpráva Projektu ITA VETUNI na rok 2023

1. Identifikační číslo projektu: 2023ITA21

2. Název projektu: Posuzování účinku vybraných vlivů působících na pohodu a zdraví zvířat

3. Řešitel projektu:

Prof. Ing. Eva Voslářová, Ph.D.

Ústav ochrany a welfare zvířat a veřejného veterinárního lékařství

FVHE VETUNI

E-mail: voslarovae@vfu.cz

Telefon: 541 562 773

Zástupce řešitele:

Prof. MVDr. Vladimír Večerek, CSc., MBA

Ústav ochrany a welfare zvířat a veřejného veterinárního lékařství

FVHE VETUNI

E-mail: vecerekv@vfu.cz

Telefon: 541 562 770

4. Řešitelský kolektiv:

Ústav ochrany a welfare zvířat a veřejného veterinárního lékařství

Prof. Ing. Eva Voslářová, Ph.D. – hlavní řešitelka, akademická pracovnice

Prof. MVDr. Vladimír Večerek, CSc., MBA – zástupce hlavní řešitelky, akademický pracovník

Prof. MVDr. Zdeňka Svobodová, DrSc. – spoluřešitelka, akademická pracovnice

Doc. Ing. Jana Blahová, Ph.D. – spoluřešitelka, akademická pracovnice

Doc. Mgr. Petr Maršálek, Ph.D. – spoluřešitel, akademický pracovník

Doc. MVDr. Petr Chloupek, Ph.D. – spoluřešitel, akademický pracovník
Ing. Kamila Novotná Kružíková, Ph.D. – spoluřešitelka, akademická pracovnice
MVDr. Přemysl Mikula, Ph.D. – spoluřešitel, akademický pracovník
Mgr. et Mgr. Veronika Doubková, Ph.D. – spoluřešitelka, akademická pracovnice
MVDr. Martin Hostovský, Ph.D. – spoluřešitel, akademický pracovník
MVDr. Simona Kovaříková, Ph.D. – spoluřešitelka, akademická pracovnice
Mgr. Petr Linhart, Ph.D. – spoluřešitel, akademický pracovník
MVDr. Jana Jozefová, Ph.D. – spoluřešitelka, akademická pracovnice
Mgr. Veronika Vojtkovská, Ph.D. – spoluřešitelka, akademická pracovnice
MVDr. Gabriela Kadlecová, Ph.D. – spoluřešitelka, akademická pracovnice
Mgr. Ing. Tereza Lakomá – spoluřešitelka, akademická pracovnice
Mgr. Bc. Renáta Hesová – spoluřešitelka, akademická pracovnice
MVDr. Lenka Válková – spoluřešitelka, studentka 4. ročníku DSP v prezenční formě
MVDr. Tereza Novotná – spoluřešitelka, studentka 4. ročníku DSP v prezenční formě
Mgr. Lucie Janíček Hrubá – spoluřešitelka, studentka 4. ročníku DSP v prezenční formě
Mgr. Lucia Kotianová – spoluřešitelka, studentka 3. ročníku DSP v prezenční formě
Mgr. Dominik Vacuška – spoluřešitel, student 2. ročníku DSP v prezenční formě
Mgr. Zdeňka Vacušková – spoluřešitelka, studentka 2. ročníku DSP v prezenční formě
MVDr. Vendula Stoklasová – spoluřešitelka, studentka 2. ročníku DSP v prezenční formě
Mgr. Barbora Riesová – spoluřešitelka, studentka 2. ročníku DSP v prezenční formě
MVDr. Ekaterina Koriakina – spoluřešitelka, studentka 2. ročníku DSP v prezenční formě

5. V případě společných projektů pro více součástí VETUNI popsat zapojení těchto součástí do řešení projektu:

-

6. Obsah projektu

Začlenění projektu do rámce výzkumu VETUNI:

Předmět řešení spadal do výzkumné činnosti pracovníků Ústavu ochrany zvířat a welfare a veřejného veterinárního lékařství realizované na FVHE VETUNI, která je zaměřena do oblasti hodnocení úrovně ochrany a welfare zvířat určených pro hospodářské účely, zvířat v zájmových chovech a volně žijících zvířat a také do oblasti toxikologie, kde jsou sledovány toxické účinky vybraných látek na zdravá zvířata včetně ryb a vodních organismů.

Cíle projektu:

Cílem projektu v části zaměřené na zdraví a welfare zvířat chovaných pro hospodářské účely bylo

- sledování dopadu různých chovatelských postupů na chování a welfare malých přežvýkavců
- srovnání úrovně výskytu nálezů u různých druhů a kategorií zvířat porážených na jatkách s dovozením dopadu nálezů na srdci na welfare těchto zvířat

Cílem projektu v části zaměřené na zdraví a welfare zvířat v zájmových chovech bylo

- analýza příčin mortality koček v útulcích
- ověření účinků aplikace viditelného světla na vybrané patogeny vyskytující se v chovech psů a koček
- hodnocení zdravotního stavu morčat z pohledu parametrů moči

Cílem projektu v části zaměřené na zdraví a welfare volně žijících zvířat, zejména vodních živočichů z pohledu jejich ohrožení vlivem kontaminace vodního prostředí bylo

- komplexní posouzení účinků humánního antiepileptika a analgetika gabapentinu jako kontaminantu vody na vybrané ukazatele kapra obecného (*Cyprinus carpio*)
- posouzení toxicity vybraných látek obsažených v produktech určených pro osobní péči, jejichž rezidua kontaminují povrchové vody, pro vodní živočichy
- zhodnocení výskytu reziduí pesticidů – azolů ve vodách řeky Labe z pohledu potenciálního dopadu na vodní živočichy

Popis a metodika řešení projektu:

V rámci sledování dopadu různých chovatelských postupů na chování a welfare malých přežvýkavců byl zkoumán vliv izolace při manipulaci (odchycení, separace, fixace, stříhání vlny) na změny v chování ovcí. Pro tyto účely bylo stádo ovcí rozděleno na dvě skupiny. Zvířata z první skupiny byla fixována a stříhána s možností vizuálního kontaktu s jinými ovcemi. Ovce ve druhé skupině neměly při fixaci a stříhání vlny možnost vizuálního kontaktu. Chování zvířat bylo nahráváno na videokameru pro následné vyhodnocení v časovém intervalu 45 minut před manipulací a 45 minut po ní. Dále byl sledován dopad krátkodobé separace kůzlat od matky na změny v projevech chování se zřetelem na behaviorální ukazatele stresu. Kůzlata dvou věkových kategorií byla pozorována a jejich chování nahráváno po dobu 30 minut před separací a 30 minut po odvedení matky na dojení, preventivní kontrolu a ošetření. Sledováno a hodnoceno bylo 10 zvířat v každé skupině. Analýza videozáznamů

chování pořízených přenosnou kamerou Niceboy Vega X Pro (NICEBOY s.r.o., Praha, Česká republika) byla následně provedena v etologickém software OBSERVER XT (Noldus Information Technology, Wageningen, Nizozemsko). Akutní stres u ovcí a kůzlat byl rovněž hodnocen prostřednictvím sledování změn povrchové teploty těla. Povrchová teplota byla měřena v oblasti hlavy termokamerou testo 890-2, snímky byly vyhodnoceny pomocí počítačového programu IRSofT.

Srovnání úrovně výskytu nálezů na srdci u zvířat porážených na jatkách bylo provedeno na základě analýzy četností patoanatomických nálezů zjišťovaných v rámci veterinární prohlídky na jatkách. Ve spolupráci se Státní veterinární správou byly získány výsledky veterinární prohlídky srdce skotu (v kategoriích dojnice, jalovice, býci ve výkrmu, telata), prasat (prasnice, prasata ve výkrmu, selata), ovcí (ovce a jehňata) a koz (kozy a kůzlata) pocházejících z chovů v České republice a porážených na jatkách v České republice za období 12 let (2010 až 2021). Na základě výsledků byla srovnána úroveň výskytu nálezů na srdci u různých druhů a kategorií zvířat porážených na jatkách s dovozením dopadu na welfare těchto zvířat.

Příčiny mortality koček v útulcích byly hodnoceny na základě analýzy údajů o zdravotním stavu, délce pobytu, způsobu ukončení pobytu a příčinách úhynu koček přijatých do vybraných dvou útulků během sledovaného období 9 let. Byly analyzovány údaje o všech kočkách, které v útulku uhynuly nebo musely být utraceny z důvodu slabosti, nevyléčitelné nemoci, těžkého poranění nebo jiného zákonem stanoveného důvodu (stav spojený s trvalým utrpením).

Dezinfekční účinky aplikace viditelného světla o vlnové délce 405 nm byly experimentálně ověřeny prostřednictvím dezinfekčního světla Germi Line 405 (GERMILIGHTS4Y s.r.o.). Ověřovány byly virucidní a baktericidní účinky na vybrané patogeny (felinní koronavirus, psí koronavirus, felinní kalicivirus, felinní parvovirus, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Streptococcus canis*, *Enterococcus faecium*, *Clostridium perfringens* a *Candida albicans*). Po aplikaci záření byla viabilita virů ověřena pomocí kultivace suspenzí izolátů na buněčných liniích. Po inkubaci byl sledován výskyt cytopatického efektu pod inverzním mikroskopem. Bakteriální suspenze jednotlivých patogenů byly aplikované na bakteriologické živné médium a po uplynutí doby záření bylo médium kultivované za běžných kultivačních podmínek podle druhu bakterie. Současně byla každá analýza doprovázena pozitivní kontrolou, tedy vzorkem patogenu zpracovaného za stejných podmínek ale bez aplikace záření.

Pro účely stanovení referenčních rozmezí základních parametrů moči byly pomocí spontánní mikce získány vzorky moči od klinicky zdravých morčat různého pohlaví a věku, a to včetně mláďat ve věku do jednoho měsíce. Vyšetření vzorků spočívalo ve zjištění fyzikálních vlastností (barva, zákal, hustota) a základních chemických vlastností (pH, bílkovina, glukóza, ketolátky, bilirubin, krev) a vyšetření močového sedimentu. Současně byl stanovován poměr proteinu ke kreatininu v moči. Ke zjištění koncentrace proteinu v moči byly použity dvě běžně používané spektrofotometrické metody založené na reakci analytu s pyrogalolovou červení a benzethonium chloridem. Stanovení obsahu kreatininu bylo provedeno spektrofotometricky s využitím Jaffého metody. Pro stanovení referenčních rozmezí bylo využito 175 vzorků moči zdravých morčat. Byl sledován vliv věku a pohlaví na tyto parametry.

Pro testování subchronické toxicity humánního antiepileptika a analgetika gabapentinu byl jako modelový organismus zvolen kapr obecný (*Cyprinus carpio*). Test toxicity na juvenilních rybách vycházel z metodiky OECD 215 a byl prováděn průtočnou metodou s pravidelnou výměnou lázně po 12 hodinách. Testovány byly účinky gabapentinu, který byl aplikován do vody. Do experimentu bylo zařazeno 120 ks ryb, které byly rozděleny do 10 skleněných akvárií (tzn. 12 ks ryb v akváriu). Během experimentu byla sledována 1 kontrolní skupina a 4 testovací skupiny ryb exponované různými

koncentracemi gabapentinu. Testování bylo provedeno v duplikátu. Zvolené koncentrace vycházely z aktuálních výsledků monitoringu gabapentinu ve vodách. Nejnižší koncentrace (0,1 a 1 µg/l) odpovídají environmentálně relevantním koncentracím, ostatní koncentrace (10 a 100 µg/l) představovaly násobky pro zhodnocení možného vztahu dávky a odpovědi. Aktuální koncentrace gabapentinu ve vodě byla v pravidelných intervalech ověřována pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Délka trvání expozice byla 4 týdny, vlastní expozici předcházela adaptační fáze ryb o délce 14 dnů. Ryby byly v průběhu experimentu krmeny komerčním krmivem, a to 3x denně v dávce 3 % tělesné hmotnosti. Dvakrát denně bylo prováděno mechanické odstranění výkalů ryb a jiných organických zbytků z nádrží a byla prováděna výměna vody. V průběhu experimentu byla pravidelně každý den sledována kvalita vody (pH, kyslík, teplota, amoniak, dusitany) a zdravotní stav ryb. Po ukončení experimentu byl proveden odběr krve z ocasní žíly na komplexní hematologické vyšetření zahrnující stanovení počtu erytrocytů a leukocytů, hemoglobinu, hematokritu a diferenciální rozpočet bílých krvinek. Byly také počítány Wintrobovy indexy (tzn. obsah hemoglobinu v erytrocytech – MCH, střední objem erytrocytů – MCV a střední koncentrace hemoglobinu – MCHC) a poměr neutrofilů a lymfocytů. V rámci biochemického vyšetření byly stanovovány základní parametry sacharidového, lipidového a bílkovinného metabolismu krevní plazmy ryb. Dály byly hodnoceny aktivity vybraných plazmatických enzymů a koncentrace vybraných minerálů. V plazmě bylo také provedeno vyšetření vybraných ukazatelů oxidativního stresu (redukční potenciál plazmy, ceruloplasmin, antioxidační enzymy, poškození biomolekul). Po usmrcení ryb tupým úderem do hlavy bylo provedeno zhodnocení základních morfologických ukazatelů. Dále byl proveden odběr vzorků vybraných tkání pro analýzu ukazatelů oxidativního stresu, histologické vyšetření a zjištění možných změn genové exprese. Test toxicity byl realizován v akreditovaném zařízení Ústavu ochrany a welfare zvířat a veřejného veterinárního lékařství FVHE VETUNI v souladu se schváleným projektem pokusů č. MSMT-12385/2023-3.

Akutní toxicita vybraných látek obsažených v produktech určených pro domácnost a osobní péči na organismy vodního prostředí byla sledována pomocí testů embryonální toxicity a toxicity pro juvenilní jedince s využitím modifikovaných metod OECD. V testech bylo pozorováno široké spektrum letálních i subletálních endpointů (mortalita, líhnutí, tepová frekvence, výskyt edémů, změny pigmentace, výskyt deformací, životaschopnost buněk, ukazatele oxidativního stresu a další). Jako modelové organismy byly využity dánío pruhované (*Danio rerio*), drápatka vodní (*Xenopus laevis*) a slávka středomořská (*Mytilus gallaprovincialis*). Testy toxicity byly provedeny výhradně na embryonálním stádiu (dánío pruhované, drápatka vodní) nebo na bezobratlých organismech (slávka středomořská). Testovány byly látky často využívané v produktech určených pro domácnost a osobní péči, konkrétně polyvinylalkohol a polyethylenglykol. Testovány byly koncentrace, které jednak odpovídají environmentálně relevantním hodnotám a zároveň jejich násobky, aby bylo možno zhodnotit vztah dávky a odpovědi testovaného organismu. Koncentrace testovaných látek v roztocích byla ověřena pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií.

Za účelem zhodnocení výskytu reziduí pesticidů – azolů ve vodách řeky Labe byla zpracována a vyhodnocena data z dlouhodobého monitoringu prováděného podnikem Povodí Labe, výsledky monitoringu shromažďuje Český hydrometeorologický ústav zísaná (ČHMÚ). Hodnocena byla data z ČHMÚ ze skupiny azolů (tebukonazol, propikonazol, epoxikonazol, flusilazol) a jejich zjištěné koncentrace na celkem 24 odběrových místech řeky Labe (1 Klášterská Lhota, 2 Debrné, 3 Verdek, 4 Hořenice, 5 Hradec Králové, 6 Opatovice, 7 Němčice, 8 Valy, 9 Veletov, 10 Kolín, 11 Nymburk, 12 Lysá nad Labem, 13 Jiřice, 14 Obříství, 15 Liběchov, 16 Štětí, 17 Litoměřice, 18 Pod Lovosicemi, 19 Střekov, 20 Velké Březno, 21 Děčín, 22 Loubí, 23 Schmilka levý, 24 Schmilka pravý). Bylo zjišťováno, zda se koncentrace azolů mění ve vodách řeky Labe v jednotlivých letech a jaký byl trend vývoje koncentrací azolů ve sledovaném období let 2009–2022. Byla ověřována závislost koncentrace azolů v řece Labi na

spotřebě těchto látek používaných jako pesticidy v zemědělství. Data o spotřebě azolů byla získána z veřejně přístupných údajů o spotřebě v jednotlivých krajích na stránkách Ústředního zkušebního ústavu zemědělského (ÚKZUZ). Bylo zkoumáno, zda nacházené koncentrace jsou ovlivněny spotřebou pesticidů – azolů v krajích, kterými řeka Labe protéká, tj. v kraji Královéhradeckém, Středočeském a Ústeckém, kdy Labe protéká konkrétně okresy Trutnov, Hradec Králové, Nymburk, Praha-východ, Mělník, Litoměřice, Ústí nad Labem a Děčín. Ze zjištěných výsledků a vývoje koncentrace azolů v řece Labi byl dovozován možný dopad na vodní organismy.

Dosažené výsledky projektu:

Výsledkem projektu v části zaměřené na sledování zdraví a welfare zvířat chovaných pro hospodářské účely je posouzení dopadu různých chovatelských postupů na stres v souvislosti s vizuálním kontaktem ovcí při stříhu vlny, zhodnocení dopadu různé doby separace kůzlat od matky z důvodu nutných chovatelských úkonů (dojení, preventivní kontrola, ošetření) a srovnání úrovně výskytu nálezů na srdci u různých druhů a kategorií zvířat porážených na jatkách s dovozením dopadu na welfare skotu, prasat, ovcí a koz.

Výsledkem projektu v části zaměřené na zdraví a welfare zvířat v zájmových chovech je stanovení příčin mortality koček v útulcích a zhodnocení dezinfekčního potenciálu a využitelnosti zařízení vyvíjejícího světlo o vlnové délce 405 nm v chovech psů a koček a stanovení referenčních rozmezí jednotlivých parametrů moči morčat a porovnání dvou různých spektrofotometrických metod běžně používaných ve veterinární diagnostice pro stanovení koncentrace proteinu v moči.

Výsledkem projektu v části zaměřené na zdraví a welfare vodních živočichů z pohledu jejich ohrožení vlivem kontaminace vodního prostředí je komplexní posouzení subchronického působení humánního antiepileptika a analgetika gabapentinu na vybrané ukazatele kapra obecného, posouzení toxicity vybraných látek obsažených v produktech určených pro osobní péči, jejichž rezidua kontaminují povrchové vody, a zhodnocení výskytu reziduí pesticidů – azolů ve vodách řeky Labe z pohledu potenciálního dopadu na vodní živočichy.

Přínos projektu:

Přínosem projektu v části zaměřené na sledování zdraví a welfare zvířat chovaných pro hospodářské účely je zhodnocení dopadu některých běžně používaných chovatelských postupů na chování a welfare ovcí a koz. Na základě zjištěných poznatků byl určen způsob manipulace s ovcemi při stříhu vlny, který je vhodnější z pohledu snížení stresu. Dále byla stanovena maximální doba separace kůzlat od matky, která je akceptovatelná z hlediska jejich welfare. Byly získány poznatky o úrovni zdraví srdce skotu, prasat, ovcí a koz porážených na jatkách na základě patoanatomických nálezů na srdci zjišťovaných při veterinární prohlídce na jatkách, které jsou přínosné pro směřování dalších chovatelských a veterinárních opatření pro zlepšování zdraví a pohody hospodářských zvířat chovaných v ČR.

Přínosem projektu v části zaměřené na zdraví a welfare zvířat v zájmových chovech je stanovení příčin mortality koček v útulcích a doporučení vhodných preventivních postupů. Dalším přínosem je ověření baktericidního a virucidního efektu světla o vlnové délce 405 nm na vybrané patogeny, které způsobují infekční onemocnění psů a koček. Přínosem projektu

pro chovatele morčat a veterinární lékaře je stanovení referenčních rozmezí fyzikálních a chemických parametrů moči klinicky zdravých morčat, které jsou významné pro hodnocení zdravotního stavu morčat, a porovnání výsledků koncentrace proteinu získaných s využitím dvou různých spektrofotometrických metod.

Přínosem projektu v části zaměřené na zdraví a welfare vodních živočichů z pohledu jejich ohrožení vlivem kontaminace vodního prostředí je rozšíření dosud velmi limitovaných informací o potenciálním negativním efektu humánního antiepileptika a analgetika gabapentinu na zdravotní ukazatele kapra obecného. Problém kontaminace vod gabapentinem je v současné době opravdu vážný, protože využití léčivých přípravků na bázi této látky v humánním lékařství stále stoupá, aniž by se adekvátně řešil její osud v odpadních vodách či potenciální toxické účinky na necílové organismy. V pokusném sledování v tomto projektu byli využiti juvenilní jedinci, protože tato stádia ryb vykazují zpravidla vyšší senzitivitu vůči různým druhům environmentálních kontaminantů v porovnání s dospělými jedinci. Zvoleným modelovým organismem byl kapr obecný, jelikož se řadí mezi hojně se vyskytující zástupce ryb v českých vodách a podle metodiky OECD je zároveň i doporučeným modelovým organismem pro testy toxicity. Dalším přínosem projektu je získání poznatků o vlivu látek obsažených v produktech pro domácnost a osobní péči, jejichž rezidua kontaminují povrchové vody a mohou následně ovlivňovat vodní organismy. Testy byly provedeny s důrazem na upřednostnění alternativních metod testování toxicity (využití embryonálních stádií ryb a žab a bezobratlých organismů) před použitím pokusných zvířat, projekt tedy podpořil snižování použití pokusných zvířat pro účely výzkumu. Přínosem zhodnocení výskytu reziduí pesticidů – azolů ve vodách řeky Labe je rozšíření znalostí o reálných koncentracích sledovaných azolů ve vodách řeky Labe v období let 2009–2022 a posouzení těchto koncentrací na organismy vodního prostředí.

Využití výsledků:

Výsledky byly zatím prezentovány prostřednictvím tří příspěvků na tuzemských konferencích (Ochrana zvířat a welfare, Konference mladých vědeckých pracovníků s mezinárodní účastí) a tří příspěvků na zahraničních konferencích (WSAVA World Congress, Toxcon). Další články obsahující výsledky řešení projektu byly již odeslány k publikaci nebo jsou připravovány k odeslání pro publikaci ve vědeckých časopisech s impakt faktorem. Výsledky jsou také součástí připravovaných dizertačních prací spoluřešitelek – studentek DSP MVDr. Lenky Válkové, Mgr. Lucie Kotianové, Mgr. Lucie Janíček Hrubé, MVDr. Ekateriny Koriakiny a Mgr. Barbory Riesové.

Název článku a název vědeckého časopisu s impakt faktorem, v němž byly publikovány nebo se předpokládá publikace dosažených výsledků:

Cíl 1: Sledování dopadu různých chovatelských postupů na chování a welfare malých přežvýkavců

Tereza Lakomá, Lucia Kotianová, Dominik Vacuška, Zdeňka Vacušková, Eva Voslářová, Vladimír Večerek: Analýza chování a infračervená termografie jako neinvazivní metody hodnocení akutního stresu u valašské ovce, *Journal of Veterinary Behavior*
Lucia Kotianová, Tereza Lakomá, Dominik Vacuška, Zdeňka Vacušková, Eva Voslářová, Vladimír Večerek: Využití neinvazivních metod hodnocení akutního stresu u mláďat kozy bílé krátkosrsté, *Agriculture*

Cíl 2: Srovnání úrovně výskytu nálezů u různých druhů a kategorií zvířat porážených na jatkách s dovozením dopadu nálezů na srdci na welfare těchto zvířat

Lenka Válková, Eva Voslářová, Annamaria Passantino, Vladimír Večerek: Výskyt nálezů na srdci u skotu, prasat, ovcí a koz zjišťovaných při veterinární prohlídce na jatkách a pohoda zvířat, *Acta Veterinaria Brno*

Cíl 3: Analýza příčin mortality koček v útulcích

Veronika Vojtkovská, Eva Voslářová, Vladimír Večerek: Příčiny mortality koček v útulcích v České republice, *Veterinary Sciences*

Cíl 4: Ověření účinků aplikace viditelného světla na vybrané patogeny vyskytující se v chovech psů a koček

Veronika Vojtkovská, Lucie Janíček Hrubá, Věra Vaibarová, Eva Voslářová, Vladimír Večerek: Vliv aplikace viditelného světla o vlnové délce 405 nm na vybrané patogeny bakteriálního a virového původu, *Pathogens*

Cíl 5: Hodnocení zdravotního stavu morčat z pohledu parametrů moči

Simona Kovaříková, Jana Blahová: Stanovení referenčních rozmezí základních fyzikálních a chemických parametrů moči morčat, *Journal of Small Animal Practice*

Cíl 6: Komplexní posouzení účinků humánního antiepileptika a analgetika gabapentinu jako kontaminantu vody na vybrané ukazatele kapra obecného (*Cyprinus carpio*)

Jana Blahová, Přemysl Mikula, Petr Maršálek, Tereza Novotná, Vendula Stoklasová: Komplexní posouzení toxicity antiepileptika a analgetika gabapentinu na kapra obecného (*Cyprinus carpio*), *Science of the Total Environment*

Cíl 7: Posouzení toxicity vybraných látek obsažených v produktech určených pro osobní péči, jejichž rezidua kontaminují povrchové vody, pro vodní živočichy

Veronika Doubková, Renáta Hesová, Barbora Riesová, Zdeňka Svobodová: Embryotoxicita vybraných polutantů obsažených v produktech určených pro osobní péči, *Chemosphere*

Cíl 8: Zhodnocení výskytu reziduí pesticidů – azolů ve vodách řeky Labe z pohledu potenciálního dopadu na vodní živočichy

Kamila Novotná Kružíková, Ekaterina Koriakina, Petr Linhart: Trend výskytu vybraných azolů v řece Labi v období let 2009–2022, *Acta Veterinaria Brno*

8. Náklady na řešení projektu (v Kč)

Položka	Finanční prostředky	
	Přidělené (v Kč)	Čerpané (v Kč)
Osobní náklady celkem (včetně odvodů)	2 005 950	1 990 473,00
Služby	136 020	132 087,47
Cestovné	32 316	19 557,85
Další provozní náklady	1 138 758	1 155 448,68
Doplňkové náklady	496 956	496 956,00
Celkem	3 810 000	3 794 523,00

Zdůvodnění nákladů:

Náklady na řešení projektu byly čerpány v souladu s rozhodnutím o přidělení finančních prostředků, vzhledem k nižším cenám došlo k nedočerpání částky přidělené na Služby a Cestovné a celkem 16 690,68 Kč bylo převedeno do kategorie Další provozní náklady, ve které bylo čerpání o tuto částku navýšeno. Nedočerpání položky Osobní náklady bylo způsobeno slevou na odvodech (sníženy o 15 477 Kč), celkem tedy bylo v projektu čerpáno o tuto částku méně.

Osobní náklady:

Položka „Osobní náklady celkem“ zahrnuje odměny a odvody akademických pracovníků (Prof. Ing. Eva Voslářová, Ph.D., Prof. MVDr. Vladimír Večerek, CSc., MBA, Prof. MVDr. Zdeňka Svobodová, DrSc., Doc. Ing. Jana Blahová, Ph.D., Doc. MVDr. Petr Chloupek, Ph.D., Doc. Mgr. Petr Maršálek, Ph.D., Ing. Kamila Novotná Kružíková, Ph.D., MVDr. Přemysl Mikula, Ph.D., Mgr. et Mgr. Veronika Doubková, Ph.D., MVDr. Martin Hostovský, Ph.D., MVDr. Simona Kovaříková, Ph.D., Mgr. Petr Linhart, Ph.D., MVDr. Jana Jozefová, Ph.D., Mgr. Veronika Vojtkovská, Ph.D., MVDr. Gabriela Kadlecová, Ph.D., Mgr. Ing. Tereza Lakomá, Mgr. Renáta Hesová) a stipendia studentů DSP (MVDr. Lenka Válková, MVDr. Tereza Novotná, Mgr. Lucie Janíček Hrubá, Mgr. Lucia Kotianová, Mgr. Dominik Vacuška, Mgr. Zdeňka Vacušková, MVDr. Vendula Stoklasová, Mgr. Barbora Riesová, MVDr. Ekaterina Koriakina), kteří byli součástí řešitelského týmu a podíleli se na řešení tohoto projektu.

Odměny byly vyplaceny v celkové výši 1 275 000 Kč a stipendia v celkové výši 300 000 Kč. Odvody na zákonné zdravotní a sociální pojištění činily celkem 415 473 Kč. Celkem bylo v položce osobní náklady vyčerpáno 1 990 473 Kč. Rozdíl oproti přidělené částce činí -15 477 Kč, byl způsoben slevou na odvodech.

Služby:

Položka „Služby“ zahrnuje náklady, které byly využity na servis přístrojů využívaných při řešení projektu (chromatograf, generátor dusíku, destilační přístroje, mycí automat, kalibrace vah), na překlad článku určeného k publikaci ve vědeckém časopise s IF a na úhradu vložného na zahraniční konferenci (3x Toxcon). Celkové náklady v této položce byly 132 087,47 Kč, zbývající částka ve výši 3 932,53 Kč byla převedena do položky Další provozní náklady.

Cestovné:

Položka „Cestovné“ zahrnuje náklady související s účastí na zahraniční konferenci (3x Toxcon), tj. jízdné, stravné a ubytování, a náklady na tuzemské cesty za účelem sběru dat – provedení měření. Celkové náklady v této položce byly 19 557,85 Kč. Zbývající částka ve výši 12 758,15 Kč byla převedena do položky Další provozní náklady.

Další provozní náklady:

Položka „Další provozní náklady“ představuje finanční prostředky, které byly využity pro nákup testovaných organismů a prostředků nezbytných pro realizaci testů toxicity (tzn. krmivo, akvaristické potřeby), laboratorního skla, spotřebního laboratorního materiálu pro odběr vzorků, realizaci testů toxicity a analýzu vybraných biomarkerů (kyvety, špičky, Eppendorf zkumavky, mikrotitrační destičky, odběrové nádoby, kepičky), chemikálií a spotřebního materiálu pro hematologickou analýzu, histologické vyšetření a hodnocení změn genové exprese (RNA later, odběrové zkumavky, špičky, buničitá vata, Pasteurovy pipety, zkumavky, kyvety), ELISA kitů pro stanovení biomarkerů oxidativního stresu a endokrinní disrupce, komerčních kitů a kontrolních materiálů pro biochemické vyšetření krve, chemikálií pro testování toxicity a analýzu vybraných biochemických parametrů, chemikálií a filtrů pro přípravu ultračisté vody a kontrolní analýzu chemických ukazatelů vody. Další část finančních prostředků byla využita pro zakoupení diagnostických proužků, kontrolních materiálů, kalibrátorů a komerčních kitů pro vyšetření moči, spotřebního materiálu pro odběr vzorků moči a jejich následné zpracování (zkumavky, odběrové nádoby, špičky, Pasteurovy pipety), spotřebního materiálu pro chromatografickou analýzu (např. vialky, filtry, kolona), SPE kolonek pro úpravu biologických vzorků před analýzou, homogenizačních zkumavek a homogenizační hlavice, spotřebního materiálu určeného pro práci s tkáňovými kulturami (kultivační média, bovinní sérum, trypsin, injekční filtry, stříkačky a jehly, kultivační destičky a láhve, pipety a špičky), materiálu pro izolaci nukleových kyselin (izolační kit) a spotřebního materiálu pro práci s bakteriálními kulturami (zkumavky, kličky, Petriho misky, pomůcky pro anaerobní inkubaci, agary), nákup pohonných hmot a kancelářských potřeb a tonerů, které byly využity pro účely realizace předkládaného projektu. Dále bylo pořízeno laboratorní vybavení, které bylo aktivně využíváno při řešení dílčích úkolů (mikropipety, pipetový karusel, nabíjecí stojánky pro elektronické pipety). Dále byl zakoupen drobný hmotný majetek využívaný při analýze vybraných biochemických a hematologických parametrů (vortex, válečkové míchadlo LAMBADA pro efektivní promíchání vzorků při hematologickém vyšetření, rotor pro hematokrit). Celkové náklady v položce Další provozní náklady byly čerpány ve výši 1 155 448,68 Kč (původně přidělená částka byla navýšena o 16 690,68 Kč převedených z položky Služby a Cestovné).

Doplňkové náklady:

Položka „Doplňkové náklady“ představuje režijní náklady ve výši 496 956 Kč.

Přehled čerpání přidělených finančních prostředků – Výpis z IFIS.

(k Závěrečné zprávě je doložen výpis z IFIS, podepsaný osobou zodpovědnou za čerpání finančních prostředků)

9. Prohlášení a potvrzení řešitele odpovědného za čerpání prostředků, děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště

Řešitel projektu prohlašuje, že údaje uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2023 jsou pravdivé a potvrzuje, že 1) získané výsledky budou neprodleně uplatněny jako výsledek uznatelný v registru informací o výzkumu (RIV), že 2) publikaci zašle do časopisu tak, aby byla přijata k zveřejnění **do 18 měsíců** od ukončení řešení projektu, že 3) publikace bude odkazovat na podporu ITA VETUNI. Výhradní odkaz na projekt ITA VETUNI (bez odkazů na podporu z dalších grantů, projektů a jim obdobných finančních zdrojů) musí obsahovat vždy nejméně jedna publikace s impakt faktorem na každých 1,5 milionu korun způsobilých nákladů projektu, a že 5) doručí kopii této publikace po jejím zveřejnění ITA VETUNI.

Datum, jméno a podpis

řešitelky projektu:

5. 1. 2024

prof. Ing. Eva Voslářová, Ph.D.

Člen řešitelského týmu – akademický pracovník – odpovědný za čerpání prostředků prohlašuje, že údaje týkající se finančních prostředků uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2023 jsou pravdivé, a že prostředky na řešení projektu byly čerpány v souladu s Pravidly pro poskytování účelové podpory na institucionální výzkum VETUNI, podle dalších pokynů ITA VETUNI a podle rozhodnutí o přijetí projektu.

Datum, jméno a podpis

člena řešitelského týmu **odpovědného za čerpání prostředků:**

5. 1. 2024

prof. Ing. Eva Voslářová, Ph.D.

Přednosta ústavu potvrzuje, že projekt byl řešen na ústavu, který řídí.

Datum, jméno a podpis

přednosta ústavu:

5. 1. 2024 prof. MVDr. Vladimír Večerek, CSc., MBA

Datum, jméno a podpis

správce rozpočtu:

Ing. Josef Kupčík

Děkanka fakulty potvrzuje, že fakulta provedla kontrolu řešení projektu a kontrolu čerpání prostředků přidělených na řešení projektu.

Datum, jméno, podpis

děkanky fakulty:

doc. MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.

Razítko

Závěrečná zpráva Projektu ITA VETUNI na rok 2023

1. Identifikační číslo projektu: 2023ITA22

2. **Název projektu:** Triáda infekčních chorob – hostitel, vektor, patogen, v podmínkách měnícího se životního prostředí

3. Řešitel projektu:

Titul, jméno a příjmení: **Prof. MVDr. Pavel Široký, Ph.D.**

Fakulta/celoškolské pracoviště: Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat, FVHE

E-mail: sirokeyp@vfu.cz

Telefon: +420 541 562 637

4. Řešitelský kolektiv:

Akademičtí pracovníci a jejich kompetence

Populační struktura klíšťat a klíšťaty přenášená agens

Prof. MVDr. Pavel Široký, Ph.D. (úvazek VETUNI, 2150, AP 1.0)

Mgr. Branka Bilbija, Ph.D. (úvazek VETUNI, 2150, AP 1.0)

Mgr. Ivo Papoušek, Ph.D. (úvazek VETUNI, 2150, AP 1.0)

Význam ptačích ektoparazitů

Prof. RNDr. Oldřich Sychra, Ph.D. (úvazek VETUNI, 2150, AP 1.0)

Zoonózy u zoo zvířat

Doc. MVDr. Eva Bártová, Ph.D. (úvazek VETUNI, 2150, AP 0.7)

Studenti DSP

Ing. Pavla Bondarenko (3. ročník DSP, FVHE, 2150)

Mgr. Edita Kozlíková (2. ročník DSP, FVHE, 2150)

MVDr. Nikola Tománková (3. ročník DSP, FVHE, 2150)

Mgr. Žaneta Živčicová (3. ročník DSP, FVHE, 2150)

5. **V případě společných projektů pro více součástí VETUNI popsat zapojení těchto součástí do řešení projektu:**

6. Obsah projektu

Začlenění projektu do rámce výzkumu VETUNI:

Projekt zapadá do koncepce výzkumu na VETUNI a je v souladu s prioritami soutěže (problematika původců infekčních a parazitárních onemocnění a nálezů zvířat + problematika chorob volně žijících zvířat). Téma projektu navazuje na předcházející výzkum krytý projekty ITA. Na řešení projektu se podíleli také studenti VETUNI. Studium biologie hostitelských druhů, klíšťat a klíšťaty přenášených infekcí je tradičně silnou částí výzkumu na Ústavu biologie a chorob volně žijících zvířat FVHE VETUNI. Projekt si klád za cíl analýzu dynamiky areálu, populační struktury a šíření klíšťat *Hyalomma aegyptium* v návaznosti dynamiku areálů jejich dominantních hostitelů (zde málo vagilních želv rodu *Testudo*). Studie kombinovala tradiční metody (například mikroskopie) s pokročilejšími postupy a diagnostikou (analýza mikrosatelitů, modelování evoluční historie šíření a demografie klíšťat). Významná pozornost byla v projektu věnována také dalším ektoparazitům, zejména u ptáků, což je další doména excelence našeho ústavu. Studium zdravotní problematiky a morbidit zoo zvířat také navazuje na naše předešlé studie a již získané prioritní výsledky. Dosažené a publikované unikátní výsledky jsou dostupné pro vědeckou i laickou veřejnost, veterinární sektor a využití v praxi.

Cíle projektu:

- Studium distribuce želv, diverzity a populační struktury želvích klíšťat a jimi přenášených krevních prvoků.
- Hodnocení výskytu ektoparazitů u volně žijících ptáků a exotických ptáků chovaných v zájmových chovech.
- Analýza příčin úhynů zoo zvířat v českých zoologických zahradách, ověření role volně žijících hlodavců v udržování *Encephalitozoon* spp. v prostředí a detekce *Borrelia burgdorferi* s.l. (*Borrelia*) a dalších DNA organismů v raných vývojových stádiích členovců.

Popis a metodika řešení projektu:

Distribuce želv bahenních byla studována analýzou faunistických dat. Želví krevní prvoci rodu *Hemolivia* byly studovány kombinací mikroskopie s molekulárními a dalšími biologickými charakteristikami. Ke studiu populační struktury klíšťat *Hyalomma aegyptium* (DNA z celých jedinců, N=418) byla použita analýza sekvencí (fylogenetické analýzy ML a BI metodami) a analýza 10 nově získaných polymorfních mikrosatelitových lokusů. Vlastní analýza délky mikrosatelitových fragmentů proběhla s využitím fluorescenčně značených primerů v multiplexech. Získané fragmenty byly zhodnoceny pomocí programu PEAK SCANNER v.1, jejich kvalita byla zkontrolována pomocí programu MICRO-CHECKER 2.2.3 a převedena do vhodného formátu (.arp, .str, a .gen). Genetická rozmanitost, počet alel na lokus, počet privátních alel, Hardy-Weinbergova rovnováha, heterozygosita a další charakteristiky uvnitř a mezi klastry byly testovány pomocí programů ARLEQUIN 3.5.2.2. a STRUCTURE 2.3.4. Dále byl zjištěn nejpravděpodobnější počet klastrů, do kterých šlo rozdělit analyzované jedince. Jedinci byli přiděleni do jednotlivých klastrů, případně byli označeni jako jejich hybridy. Ke zjištění, zda existuje korelace mezi genetickou vzdáleností a geografickou vzdáleností (tzv. Isolation-by-Distance), bylo využito Mantelova testu v GenAlEx 6.5. Geografická vyjádření populační struktury bylo znázorněno pomocí programu QGIS 2.18.14. Získaná data byla dále využita k modelování evoluční historie pomocí Approximate Bayesian computation (ABC) v programu DIYABC v.2.1.0., předchozí populační dynamika byla odvozena od mitochondriálních linií pomocí variability sekvencí (COI) a přístupu založeném na Bayesian skyline plots v programu BEAST 2.7.6. Tato analýza odhaduje efektivní velikost populace v čase a nevyžaduje konkrétní a priori předpokládaný demografický model. Analýzy

umožnily získat představu o možném vzniku a šíření jednotlivých klastrů, trvání těchto procesů a další informace.

Sběr ektoparazitů u exotických ptáků v zájmových chovech byl zajištěn podrobnou prohlídkou jejich těl. Materiál byl doplněn o ektoparazity získané v předchozích letech. Byly hodnoceny parazitologické parametry (prevalence, intenzita). Multivariační analýzou byl sledován vliv rozdílných charakteristik hostitelů (body mass, pohlavní dimorfismus ve velikosti a ve zbarvení, migrační chování, sociální dominance) a abiotických faktorů (nadmořská výška, průměrná teplota, průměrná vlhkost vzduchu a srážky) na tyto parazitologické parametry. U vybraných skupin všenek byly zpracovány detailní ilustrace a byl diskutován význam charakteristických znaků pro rodovou/druhovou determinaci těchto parazitů. Výsledky morfometrických studií byly doplněny molekulární analýzou sekvencí genu *COI*.

K analýze příčin úhynů zvířat v Zoo Brno v letech 2013–2018 bylo použito 131 pitevních protokolů (108 savců, 18 ptáků, 4 plazi, 1 ryba) získaných z SVÚ Olomouc. Získaná data byla statisticky analyzována. Přítomnost *Encephalitozoon* spp. v krevních sérech 241 zoovířat ze 7 zoologických zahrad (Brno, Jihlava, Liberce, Plzeň, Praha, Ústí nad Labem a Dvůr Králové nad Labem) a tkáních 117 hlodavců (ZOO Brno) byla testována metodou IFAT nebo pomocí PCR. Proběhla analýza úhynů 21 manulů (*Otocolobus manul*) na akutní toxoplazmózu v zoologických zahradách v ČR v letech 2004–2014 (klinicky, patologicky, histologicky, sérologicky a koprologicky). **Přítomnosti *Borrelia burgdorferi* sensu lato a chlamydií v larvách *Ixodes ricinus* a *Culex pipiens* a v dospělcích *Lipoptena cervi* proběhla pomocí PCR s analýzou sekvencí.**

Dosažené výsledky projektu:

- Studie mapující rozšíření želvy bahenní (*Emys orbicularis*) v Alžírsku poskytuje první kompletní data o stavu její populace, biotopových a klimatických preferencích a stavu ochrany. Želva bahenní byla objevena na 45 lokalitách, z nichž 40 patří do propojeného systému, avšak zbývajících 5 je izolovaných a tím více ohrožených. Druh se vyskytuje v 40 km širokém pásu táhnoucím se podél Středozemního moře v délce asi 490 km od Tuniských hranic.
- Z nikaragujských želv *Rhinoclemmys pulcherrima* byl popsán nový druh krevního prvku z rodu *Hemolivia*. Studie také demonstrovala, že typická morfologie gamontů tohoto rodu sice usnadňuje mikroskopickou rodovou diagnostiku, prakticky však znemožňuje využití morfologie v druhové diferenciaci, která se tak neobejde bez molekulárně genetických přístupů.
- Populační struktura klíšťat *Hyalomma aegyptium* je tvořena přemi klastry na základě mitochondriálních sekvencí a nejpravděpodobněji dvěma či třemi klastry na základě variability mikrosatelitových lokusů. Populační struktura vykazuje zřetelný geografický vzor a podíl hybridních jedinců byl v porovnání např. s hostitelsky méně specifickým pijákem lužním výrazně nižší. Jako nejvíce geneticky odlišná byly identifikovaná Maghrebská populace klíšťat. Dosavadní demografické analýzy ukazují na poměrně malou expanzi populace, která začala zhruba před padesáti tisíci lety. Demografické analýzy ještě stále pokračují.
- U 22 papoušků (17 alexandrů malých: 13 volně žijících a 4 v zájmovém chovu; 2 volně žijících alexandrů velkých; 3 korel chocholatých v chovu) z Pákistánu byly nalezeny hostitelsky specifické péřovky rodu *Neopsittaconirmus*.
- Dále byla vyhodnocena data o výskytu péřovek tohoto rodu u dalších 667 papoušků 6 druhů chovaných v 9 oblastech celého světa. Prevalence výskytu se pohybovala mezi 0,5–62 % s průměrnou intenzitou napadení 1–19. Výsledky ukázaly nejen kosmopolitní rozšíření těchto ektoparazitů, ale také to, že jsou schopní dlouhodobě přežívat a rozmnožovat se v podmínkách zájmových chovů po celém světě.
- Byl zhodnocen výskyt všenek u 1621 volně žijících ptáků 34 druhů odchycených v rákosinách jižního Slovenska. Cílovým druhem byla sýkořice vousatá *Panurus biarmicus*. Celkem bylo vyšetřeno 251 sýkořic, u kterých byly nalezeny dva druhy všenek: péřovka *Penenirmus*

visendus (s prevalencí 58 % a průměrnou intenzitou 5,8) a lupťouš *Menacanthus brelihi* (s prevalencí 5,6 % a intenzitou 0,1). Byla provedena jejich redeskripce: *P. visendus* byl dosud znám jen na základě jediné samice a druh *M. brelihi* byl neoprávněně synonymizován s *M. eurysternus*. U *P. visendus* byl tedy posán i samec a u *M. brelihi* bylo potvrzeno, že jde o samostatný druh. Platnost těchto druhů byla potvrzena také molekulární analýzou genu *COI*. •Byla provedena komplexní morfometrická revize lupťoušů rodu *Myrsidea*. Bylo hodnoceno 382 druhů tohoto rodu. Byl připraven soupis 73 hlavních charakteristik doplněných celkem 730 ilustracemi. Uvedené druhy byly rozděleny do 63 morfotypů. Tomuto rozdělení částečně odpovídá i molekulární analýza genu *COI*, ovšem zastupujících jen 24 (38 %) ze zmíněných morfotypů. •Analýza lupťoušů u 579 kolibříků 49 druhů chycených na 19 lokalitách Latinské Ameriky ležících v nadmořských výškách do 3000 m n.m. ukázala celkovou prevalenci 13,8 % s průměrnou intenzitou napadení 4,6. Pozitivní korelace byla zjištěna mezi intenzitou napadení, nadmořskou výškou a migračním chováním kolibříků, přičemž druhy žijící ve vyšších nadmořských výškách a druhy s vertikální migrací mají vyšší prevalenci i intenzitu napadení. Naopak slabá nebo žádná korelace byla zaznamenána pro velikost a pohlavní dimorfismus kolibříků.

- Nejčastější příčinou úhynů zoozvířat byla bakteriální infekce (62 %), dále enteritida (23 %), parazitární infekce (21 %), trauma (19 %), bronchopneumonie (13 %) a úhyny z jiných příčin (11 %). Většina zvířat uhynula v létě (n = 41), nejméně v zimě (n = 19). Nejčastějšími původci infekčních onemocnění byli u savců *Eimeria* sp., *Trichostrongylus* sp. a bakterie *Escherichia coli* a *Clostridium perfringens*, u ptáků to byla bakterie *Escherichia coli* a u plazů a ryb bakterie *Citrobacter freundii*. Nebyly zjištěny žádné statistické rozdíly ($p \geq 0,05$) mezi příčinami úhynů, ročním obdobím nebo mezi pohlavím zoo zvířat.
- Protilátky proti *Encephalitozoon* spp. byly zjištěny pouze u 3,3 % (8/241) zoo zvířat. Pomocí PCR byla zjištěna přítomnost *Encephalitozoon* spp. ve tkáních 20 % (22/108) volně žijících hlodavců odchycených v areálu zoo. Nebyly zaznamenány statistické rozdíly mezi roky, druhy, věkem nebo pohlavím zvířat.
- Infekce *T. gondii* byla prokázána u 76 % (16/21) manulů. Nejčastějšími makroskopickými nálezy byly plicní edém, splenomegalie a zvětšená játra s nekrotickými ložisky. Histopatologické nálezy zahrnovaly především intersticiální pneumonii, nekrotickou hepatitidu, meningitidu a encefalitidu. •DNA *Borrelia burgdorferi* s.l. byla prokázána u 1,5 % (2/137) larev *I. ricinus* (identifikovaných jako *B. afzelii* a *B. garinii*), u 1,7 % (2/119) larev *C. pipiens* (*B. garinii*) a v 11 % (3/27) *L. cervi* (*B. garinii*).

Přínos projektu:

- Byl popsán areál želvy bahenní v Alžírsku. •Byl popsán nový krevní parazit želvy. •Byla odhalena populační struktura klíštěte *H. aegyptium*. •Rozšířili jsme znalosti o vzájemných ekologických vztazích mezi všenkami a volně žijícími ptáky i ptáky v chovech. •Analýza příčin úhynů zoozvířat poskytla cenné informace pro optimalizaci preventivních a diagnostických programů. •Hlodavci jsou významným rezervoárem infekce *Encephalitozoon* spp. •Byla provedena první komplexní analýza úhynů manulů z důvodu infekce *T. gondii*.

Využití výsledků:

- Zpřesněná data o výskytu želvy bahenní poslouží managementu její ochrany. •Odkrývání diverzity parazitů usnadní studium jejich evoluce a speciace. •Znalost populační struktury klíštěat umožňuje modelovat procesy dynamiky jejich areálu retro- i prospektivně. •Naše výsledky umožňují zhodnotit rozsah přežívání a rozmnožování všenek v podmínkách chovů. •Výsledky projektu umožňují nastavení preventivních opatření a diagnostických postupů v zoo. •Výsledky budou součástí nejméně 4 disertací.

Název článku a název vědeckého časopisu s impakt faktorem, v němž byly publikovány, nebo se předpokládá publikace dosažených výsledků:

Impaktované publikace

Již publikované články s výhradní dedikací na project 2023ITA22

Gherbi, N., Tiar-Saadi, M., Bouchecker, A., **Široký, P.**, Mezghiche, C., Draidi, K., Bouslama, Z., Tiar, G. 2023. Distribution and conservation status of European pond turtles *Emys orbicularis* (L., 1758) in Algeria. *Diversity-Basel*, 15, 993. <https://doi.org/10.3390/d15090993> (Q2 Biodiversity Conservation, Q3 Ecology)

Živčicová, Ž., Kvičerová, J., **Široký, P.** 2023. *Hemolivia* species infecting Central American wood turtles (*Rhinoclemmys pulcherrima manni*) and problems with differential diagnosis within the genus *Hemolivia*. *Parasite*, <https://doi.org/10.1051/parasite/2023067> (Q2 Parasitology)

Naz, S., **Sychra, O.**, Rizvi, S.A., Dharejo, A.M. 2024. The genus *Neopsittaconirmus* (Phthiraptera: Ischnocera: Philopteridae) from parrots of Pakistan, and evaluation of its distribution on captive parrots around the world. *Research in Veterinary Science*, 167, 105121. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2023.105121> (Q1 Veterinary Sciences)

Již publikované články s ko-dedikací s dalšími projekty

Sychra, O., Rózsa, L., Podani, J., Sychra, V., Literák, I., Capek, M. Multivariate study of lice (Insecta: Psocodea: Phthiraptera) assemblages hosted by hummingbirds (Aves: Trochilidae). *Parasitology*, <https://doi.org/10.1017/S0031182023001294> (Q2 Parasitology)

Petráš, J., **Bártová, E.**, Žáková, A. 2023. Molecular detection of *Borrelia burgdorferi* s.l. (*Borreliella*) and *Chlamydia*-like organism DNA in early developmental stages of arthropod vector species. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/2511753>

(Q1 Veterinary Sciences, Q2 Infectious Diseases)

Odeslaný článek s výhradní dedikací na project 2023ITA22

Sychra, O., Sušilová, L., Najer, T., Literák, I., **Papoušek, I.**, Martinů, J., Trnka, A., Capek, M. Chewing lice of bearded reedling (*Panurus biarmicus*) and diversity of louse-host associations of birds in reed beds in Slovakia. *Parasite* (Q2 Parasitology) – „re-submitted 11.12.2023 after minor revision“

Odeslaný článek s ko-dedikací s dalšími projekty

Kolencik, S., **Sychra, O.**, Johnson, K.P., Weckstein, J.D., Sallam, M.F., Allen, J.M. The parasitic louse genus *Myrsidea* (Amblycera: Menoponidae): A comprehensive review and world checklist. *Insect Systematics and Diversity* (Q1 Entomology) – „re-submitted 11.12.2023 after major revision“

Konferenční příspěvky:

Pospíšilová, L., Kauzál, O., Sychra, O. Chewing lice of Starlings (*Sturnus vulgaris*). In *Book of abstracts of ICP 7*. Guangzhou: Institute of Zoology, Guangdong Academy of Sciences, 2023, p. 63.

Sychra, O., Sychra, V., Čapek, M., Literák, I. Chewing lice of hummingbirds. In *Book of abstracts of ICP 7*. Guangzhou: Institute of Zoology, Guangdong Academy of Sciences, 2023, p. 21.

Tománková, N., Bártová, E., Žáková, A., Budíková, M. Monitoring of *Encephalitozoon spp.* in animals from zoos in the Czech Republic. Are wild rodents a reservoir of *Encephalitozoon spp.*? In *Sborník příspěvků XXV. Konference mladých vědeckých pracovníků s mezinárodní účastí*, VETUNI Brno, 24. 5. 2023, p. 71-73. ISBN 978-80-7305-928-6.

Bártová, E., Račka, K., Vodička, R., Sedlák, K. Fatal toxoplasmosis in Pallas's cats (*Otocolobus manul*) from Czech zoos: complex study including gross pathology, histopathology, cytology, serology, isolation assay and molecular analysis. International Conference on Infectious Disease Medicine and Infectious Diseases, IIERD (International Institute of Education, Research and Development), 8.-11.8.2023, Madrid, Španělsko.

7. Náklady na řešení projektu (v Kč)

Položka	Finanční prostředky	
	Přidělené (v Kč)	Čerpané (v Kč)
Osobní náklady celkem (včetně odvodů)	508 020	508 020
Služby	308 000	318 963
Cestovné	168 000	97 351
Další provozní náklady	571 882	631 568
Doplňkové náklady	233 385	233 385
Celkem	1 789 287	1 789 287

Zdůvodnění nákladů:

(komentář k čerpání finančních prostředků na řešení projektu – slovní popis v členění jednotlivých položek nákladů a konkrétní výčet, na co byly prostředky využity, komentář a zdůvodnění případných změn a rozdílů oproti schválenému rozpočtu projektu)

Osobní náklady (508 tis.)

Prof. MVDr. Pavel Široký, Ph.D. – odměna AP – 93 660 Kč

Prof. RNDr. Oldřich Sychra, Ph.D. – odměna AP – 93 660 Kč

Doc. MVDr. Eva Bártová, Ph.D. – odměna AP – 66 900 Kč

MVDr. Branka Bilbija, Ph.D. – odměna AP – 66 900 Kč

Mgr. Ivo Papoušek, Ph.D. – odměna AP – 66 900 Kč

Ing. Pavla Bondarenko – stipendium DSP – 30 000 Kč

Mgr. Edita Kozlíková – stipendium DSP – 30 000 Kč

MVDr. Nikola Tománková – stipendium DSP – 30 000 Kč

Mgr. Žaneta Živčicová – stipendium DSP – 30 000 Kč

Služby (319 tis.)

Náklady na služby mírně navýšeny ve shodě s pravidly (o méně než 20 % v navyšované položce. Tyto prostředky byly čerpány na potřebu servisního sekvenování molekulárně genetických markerů, včetně diagnostikovaných patogenů, které nelze provádět vlastními prostředky. Významná část byla použita na poplatky spojené s korekturami rukopisů a rostoucí publikační náklady ve vědeckých časopisech. Byly pořízeny roční licence programu Geneious k fylogenetickým analýzám. Prostředky také posloužily k pokrytí nutných oprav a servisu laboratorních přístrojů a zařízení.

Cestovné (97 tis.)

Cestovné bylo čerpáno méně, než byl původní plán. Cestovné po ČR se týkalo primárně odběru vzorků (Sychra, Široký) a účast na konferencích v ČR (Široký) a v zahraničí (Bártová - Španělsko), Slovinsko a Maďarsko (Sychra).

Další provozní náklady (632 tis.)

Tato položka byla rovněž navýšena ve shodě s pravidly. Široké spektrum použitých laboratorních metod a metod terénního výzkumu se odrazilo jak v množství spotřebního materiálu, tak speciální laboratorní chemie. Byla pořízena malá laboratorní centrifuga na přečišťování PCR produktů. Dále šlo zejména o izolační kity na izolaci nukleových kyselin, laboratorní chemikálie a reagenty pro molekulární metody (voda, etanol, RNAlater, mastermixy, qPCR Probe Mastermix, primery), destičky s fóliemi, materiál na elektroforézu (agaróza, špičky na vyřezávání z gelu, hmotnostní standardy, barviva), přečišťování produktů a fluorescenčně značené primery. Práce s mikrosatelity vyžaduje chemii na fragmentační analýzu (kapilárová array, formamid, velikostní standard, separační polymer aj.). Vše bylo provázeno spotřebou laboratorního plastu, jako jsou špičky, sekvenační destičky, stripy, mikro zkumavky, skladovací boxy, a také ochranných pomůcek (rukavice, dezinfekce, papírové utěrky apod). Odborné knihy, tonery a další kancelářské potřeby. Byly zaplaceny PHM.

Doplňkové náklady (233 tis.)

Doplňkové náklady, tedy v podstatě plánovaná režie (15%), byly odvedeny univerzitě dle plánu.

Přehled čerpání přidělených finančních prostředků – Výpis z IFIS.

(k Závěrečné zprávě doložte výpis z IFIS, podepsaný osobou zodpovědnou za čerpání finančních prostředků)

8. Prohlášení a potvrzení řešitele odpovědného za čerpání prostředků, děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště

Řešitel projektu prohlašuje, že údaje uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé a potvrzuje, že 1) získané výsledky budou neprodleně uplatněny jako výsledek uznatelný v registru informací o výzkumu (RIV), že 2) publikaci zašle do časopisu tak, aby byla přijata k zveřejnění do 18 měsíců od ukončení řešení projektu, že 3) publikace bude odkazovat na podporu ITA VETUNI. Výhradní odkaz na projekt ITA VETUNI (bez odkazů na podporu z dalších grantů, projektů a jim obdobných finančních zdrojů) musí obsahovat vždy nejméně jedna publikace s impakt faktorem na každých 1,5 milionu korun způsobilých nákladů projektu, a že 5) doručí kopii této publikace po jejím zveřejnění ITA VETUNI.

Datum, jméno a podpis

řešitele projektu:

Člen řešitelského týmu – akademický pracovník – odpovědný za čerpání prostředků prohlašuje, že údaje týkající se finančních prostředků uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé, a že prostředky na řešení projektu byly čerpány v souladu s Pravidly pro poskytování účelové podpory na institucionální výzkum VETUNI, podle dalších pokynů ITA VETUNI a podle rozhodnutí o přijetí projektu.

Datum, jméno a podpis

člena řešitelského týmu odpovědného za čerpání prostředků:

Přednosta ústavu nebo kliniky, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že projekt byl řešen na ústavu nebo klinice, respektive celoškolském pracovišti, které řídí.

Datum, jméno a podpis

přednosta ústavu nebo kliniky nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

Datum, jméno a podpis

správce rozpočtu:

Děkan fakulty, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že fakulta, respektive celoškolské pracoviště provedlo kontrolu řešení projektu a kontrolu čerpání prostředků přidělených na řešení projektu.

Datum, jméno, podpis

děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

Razítko

Závěrečná zpráva Projektu ITA VETUNI na rok 2023

1. Identifikační číslo projektu: 2023ITA23

2. Název projektu:

Bioaktivní látky rostlinného původu jako součást nových biodegradabilních/jedlých produktů pro ochranu životního prostředí a mechanismu ochrany zdraví před alergenními složkami potravin

Dílčí projekt 1

Vývoj jedlých/biodegradabilních matric rostlinného původu, hodnocení mechanismu ochrany produktu a možnosti náhrady plastů z rychlého občerstvení

Dílčí projekt 2

Hodnocení mechanismu inhibice alergenních proteinů rostlinného původu v důsledku přidavku bioaktivních látek a nanočástic

3. Řešitel projektu:

Titul, jméno a příjmení: **prof. MVDr. Bohuslava Tremlová, Ph.D.**

Fakulta/celoškolské pracoviště: Fakulta veterinární hygieny a ekologie

Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu

E-mail: tremlovab@vfu.cz

Telefon: 602116956

4. Řešitelský kolektiv:

Řešitelský tým byl tvořen pracovníky a studenty DSP Ústavu hygieny a technologie potravin rostlinného původu.

Hlavní řešitel:

prof. MVDr. Bohuslava Tremlová, Ph.D., akademický pracovník, úvazek 1,0 – koordinace dílčích úkolů, hodnocení vzorků a interpretace výsledků ve všech dílčích aktivitách, příprava a kontrola publikací, vypracování zprávy o řešení projektu.

Dílčí projekt 1 – řešitelský tým

doc. MSc. Dani Dordević, Ph.D., akademický pracovník, úvazek 1,0 – koordinace dílčích aktivit, výroby biodegradabilních matric, stanovení celkových polyfenolů spektrofotometricky a pomocí HPLC, textura, 3D tisk matric, hodnocení vzorků a interpretace výsledků, příprava a kontrola publikací, vypracování podkladů pro zprávu o řešení projektu.

M.Sc. Ing. Natalia Gablo, Ph. D., akademický pracovník, úvazek 1,0 – výroba vzorků, hodnocení výsledků, vypracování podkladů pro závěrečnou zprávu a publikace.

Mgr. Ludmila Kalčáková, Ph. D., akademický pracovník, úvazek 0,2 – příprava publikace.

Dílčí projekt 2 – řešitelský tým

doc. MVDr. Matej Pospiech, Ph.D., akademický pracovník, úvazek 1,0 – koordinace dílčích aktivit (provedení analýz ELISA, výběr vzorků a výrobků) a statistické zpracování výsledků a interpretace výsledků, příprava a kontrola publikací, vypracování podkladů pro zprávu o řešení projektu.

Mgr. Zdeňka Javůrková, Ph.D., akademický pracovník, úvazek 1,0 – provedení analýz ELISA (sója, podzemnice, výrobky se sóje), příprava koncentračních řad bioaktivních látek.

Mgr. Marie Bartlová, Ph.D., akademický pracovník, úvazek 1,0 – provedení analýz ELISA (sója, podzemnice), příprava koncentračních řad bioaktivních látek.

Ing. Lenka Havlová, Ph.D. akademický pracovník, úvazek 1,0 – provedení analýz ELISA (sója, podzemnice, výrobky se sóje)

Studenti DSP

Mgr. Martina Pečová (3. rok studia) – úvazek 0,5, příprava koncentračních řad bioaktivních látek a nanočástic.

Mgr. Kateřina Křištofová (2. rok studia) – úvazek 0, příprava vzorků na Ramanovu spektroskopii, měření vzorků Ramanovým spektroskopem.

Mgr. Jana Čaloudová (2. rok studia) – úvazek 0, měření vzorků Ramanovým spektroskopem.

5. V případě společných projektů pro více součástí VETUNI popsat zapojení těchto součástí do řešení projektu: -

6. Obsah projektu

Začlenění projektu do rámce výzkumu VETUNI:

Téma projektu je v souladu s podporovanými směry výzkumu na VETUNI i na fakultě, konkrétně se jedná o oblast bezpečnosti, hygieny a technologie potravin. Řešení projektu podpořilo výzkumnou činnost, která dosud nebyla řešena v rámci jiného výzkumného úkolu.

Dílčí projekt 1

Část našeho výzkumného projektu se systematicky věnovala vývoji biodegradabilních matic, s cílem poskytnout udržitelnou alternativu k tradičním plastovým víčkům používaných u nápojových kelímků a vyrobit jedlé lžičky. Tato specifická část projektu byla iniciována s ohledem na narůstající obavy ohledně environmentálního dopadu plastového odpadu a potřeby hledat inovativní a ekologicky šetrné alternativy. V rámci této dílčí části projektu jsme se zaměřili na vývoj materiálů, které nejenže splňují technické a bezpečnostní standardy pro použití jako víčka na nápojových kelímcích, ale také nabízejí biodegradabilní vlastnosti. To znamená, že tyto materiály mají schopnost přirozeně se rozkládat a snižovat svůj ekologický otisk po skončení své životnosti. Vytvořené biodegradabilní

matrice, nejenže vyhovují požadavkům na funkčnost a bezpečnost, ale také přinášejí další výhodu možnosti konzumace. Tato inovativní přidaná hodnota může zlepšit uživatelskou zkušenost a podporovat přechod k udržitelnějším alternativám v oblasti materiálů, který je ve styku s potravinami. Celkově lze tuto dílčí část projektu považovat za důležitý krok směrem k celkovému snížení environmentální zátěže spojené s používáním plastových výrobků ve spotřebitelském prostředí.

Dílčí projekt 2 byl zaměřen na problematiku bezpečnosti potravin. Konkrétně na ovlivnění imunoreaktivity alergenních proteinů se sóje luštinaté a podzemnice olejně po přidavku bioaktivních látek a nanočástic. Sója i podzemnice představuje významné potravinové alergeny, a jejich průkaz v potravinách je důležitý v rámci ochrany zdraví spotřebitelů.

Cíle projektu:

Dílčí projekt 1 má dva cíle: za prvé, nabídnout ekologicky šetrnou alternativu k tradičním plastovým víčkům a lžičkám s cílem snížit ekologickou stopu, a za druhé, pozitivně přispět kvalitou a atraktivitou potravinového produktu, který je v kontaktu s vyvinutými biodegradabilním materiálem. Tato pozitivní přidaná hodnota může být přínosná ve smyslu fortifikace potravin s přítomnými bioaktivními látkami.

Dílčí projekt 2

Cílem dílčího projektu bylo ověření inhibice antigenicity sójových a podzemnicových proteinů po přidavku bioaktivních látek a nanočástic schválených pro použití v potravinářství. Dílčím cílem bylo popsání mechanismu inhibice vyhodnocením Ramanova spektra.

Popis a metodika řešení projektu:

Dílčí projekt 1

Při přípravě jedlých/biodegradabilních víček byly použity různé receptury, včetně chitosanu a karagenanu jako polysacharidových základů, a přidání různých rostlinných extraktů a olejů. Byla použita nová receptura, ale také ověřena i receptura z minulých ITA projektů. Jedním ze způsobů snižování odpadu může být výroba ekologicky přijatelnějšího jedlého příboru. Výroba jedlého příboru byla zajištěna z netradičních druhů mouk, jako jsou maková, dýňová a žaludová. Byly zkoumány různé receptury a následně byly provedeny analýzy pro určení texturálního profilu, nutriční stability a kvality. Výzkum zahrnul senzorické hodnocení výrobků, které spolu s provedenými analýzami vysvětlí, jak tento typ výrobku bude akceptován mezi konzumenty.

Vyrobené biodegradabilní matrice byly hodnoceny následujícími metodami:

- a) parametry textury víček, mechanické vlastnosti víček – ukážou interakci mezi použitými složkami a jejich vliv na pružnost a pevnost matic
- b) vlastnosti vodní bariéry – zkouška propustnosti vody
- c) stanovení barvy víček – s použitím spektrofotometru CM-5 (Konica Minolta)
- d) antioxidační vlastnosti – byl stanoven obsah celkových polyfenolů metodou dle Folin-Ciocalteu a HPLC, kde se přesně kvalitativně i kvantitativně stanovily polyfenolické látky nacházející se ve vzorcích; dále byla měřena antioxidační aktivita metodami FRAP (při kyselém pH), DPPH a ABTS (radikálové metody) a CUPRAC (redukční při pH = 7); použití více metod stanovení antioxidační aktivity je důležité z hlediska co nejobektivnějšího zhodnocení antioxidačních vlastností
- e) antimikrobiální aktivita – antimikrobiální aktivita byla stanovena proti devíti kmenům mikroorganismů: (osm bakteriálních kmenů) *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas*

aeruginosa (ATCC 27853), *Proteus vulgaris* (ATCC 8427), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) a *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313) a (jeden kmen houby) *Candida albicans* (ATCC 2091).

f) senzorická analýza

Všechny dosažené výsledky byly zhodnoceny statistickými metodami – t-test, ANOVA, Principal component analysis, Pearson correlation a cross correlation.

Dílčí projekt 2

Ke stanovení byly použity 2 různé kity podle konkrétního alergenu, a to Allergen Shield Peanut a Soy ELISA test (Biotech, BIO) a dále Veratox for Peanut Allergen a Soy Allergen (Neogen, VER). Protein sóje byl připraven ze sójového proteinu Danpro – 760 (Kerry, GLY) po jeho převedení do rozpustné formy, varem a naředěním v PBS pufru. Protein arašídů byl připraven extrakcí z arašídové mouky kyselou hydrolýzou s vysrážením v izoelektrickém bodu. Protein byl následně převeden do rozpustné formy termicky a naředěním v PBS pufru (ARA). Oba proteiny byly obohaceny bioaktivními látkami (KAR – β -karoten, GAL – kyselina galová, KAV – kyselina kávová, KVE – kvercetin, KAT – katechin) a nanočásticemi (SI – Silicon (IV) oxide, Fe – Iron (II, III) oxide, Ag – Silver Nanopowder, Al – Aluminum oxide, Ca – Calcium phosphate) v koncentracích 0,15; 0,5; 1,5; 15 % a jako kontrolní byl vzorek s 0% přídatkem. Výrobky z tržní sítě byly připraveny z 1 g homogenizovaného vzorku který byl obohacen vybranými přídatky (Ag, Al, Fe, KAT, KVE, KAV) pro získání testovaných koncentrací 0,15; 0,5; 1,5; 15 % a jako kontrolní byl vzorek s 0% přídatkem). Po inkubaci následovala extrakce při 60 °C 15 minut a filtrace.

Připravené vzorky byly dále měřeny Ramanovým spektroskopem v rozmezí 269-2003 vlnočíslna cm^{-1} . Významné peaky Ramanova spektra byly identifikovány testem aglomerativního hierarchického shlukování a použity pro popis změny chemických vazeb ve vzorcích.

Data vzorků protein-bioaktivní látka a nanočástice byly srovnány za použití statistických testů Lineární regrese a testem ANOVA srovnání s kontrolní skupinou.

Dosažené výsledky projektu:

Podrobné výsledky projektu jsou doloženy jako příloha 1.

Dílčí projekt 1

V rámci projektu byly provedeny rozsáhlé analýzy a testy na biodegradabilních maticích použitých při výrobě biodegradabilních víček a jedlých lžiček. Parametry textury víček a mechanické vlastnosti ukázaly interakci mezi použitými složkami a jejich vliv na pružnost a pevnost matic. Výsledky těchto testů poskytly důležité informace o fyzikálních vlastnostech biodegradabilních matic, které se budou používat v dalším výzkumu. Zkouška propustnosti vody poskytla informace o schopnosti matic odolávat průniku vody, což byl hlavní parametr pro další testování biodegradabilních víček. Hlavním výsledkem projektu je experimentální výroba biodegradabilních víček a jedlých lžiček, což bylo potvrzeno provedenými analýzami, které prokázaly jejich plnou použitelnost. Z praktického hlediska lze tyto experimentálně vytvořené biodegradabilní a jedlé materiály plně využít díky jejich texturálním a senzorickým vlastnostem, zejména při interakci s reálnými produkty a spotřebiteli.

Dílčí projekt 2

Změna imunoreaktivity byla ověřována na proteinech podzemnice olejné (ARA) a proteinech sóje luštinaté (GLY). Ověřování bylo za použití dvou detekčních kitů Veratox (VER) a Biocheck (BIO), které jsou oba s certifikací pro analýzu alergenů v potravinách.

Imunoreaktivita ARA po přidavku bioaktivních látek karotenu (KAR), kyseliny galové (GAL), kyseliny kávové (KAV), kvercetinu (KVE) a nanočástic křemíku (Si), stříbra (Ag), železa (Fe), hliníku (Al) a vápníku (Ca) klesala. Při použití kitu BIO došlo k poklesu statisticky významnému ($p < 0,05$) ke všem srovnávaným koncentracím. U kitu VER došlo k poklesu u bioaktivních látek kromě KAV15, u nanočástic kromě Si u všech koncentrací, dále k poklesu nedošlo u Fe0,5, Al0,15, Al0,5, Al15. Změna imunoreaktivity u GLY byla také potvrzena, přičemž se, ale nepotvrdil trend, který byl u ARA a kitu BIO. Trend v poklesu imunoreaktivity byl zaznamenán u kitu VER u KVE, Ag, Fe, Al, Ca. U kitu BIO byl trend poklesu zaznamenán u KAR, GAL, KAT, Ag a Ca. Obdobně jako u ARA byl zaznamenán prvotní pokles a pak od koncentrace 1,5 % nárůst imunoreaktivity.

U výrobků z tržní sítě bylo potvrzeno snížení imunoreaktivity u všech přísadků a obou detekčních kitů, a to u sójového texturovaného proteinu. U TOFU byla také potvrzena změna imunoreaktivity po přidání bioaktivních látek a nanočástic. U kitu VER došlo k poklesu ve srovnání s kontrolou ($p < 0,05$) kromě Al a KVE1,5 ($p > 0,05$). U kitu BIO došlo k poklesu imunoreaktivity u nanočástic Ag, Al, Fe.

Interakce bioaktivních látek a nanočástic byla potvrzena Ramanovým spektrometrem. Toto měření potvrdilo interakci přidaných látek a proteinů ve vzorcích, ale také přítomnost přidané látky. Z přidaných látek jsou nejlépe patrné bioaktivní látky, které obsahují fenolové jádro (GAL), anebo dvě fenolová jádra (KAT, KVE) a dále z nanočástic Ag. Na základě Ramanova spektra předpokládáme, že změna imunoreaktivity v koncentracích nad 1,5 % není způsobena strukturální změnou proteinů, ale naopak interakcemi mezi přidanou látkou a detekčním systémem. U koncentrací do 1,5 % jsou změny naopak dány interakcí přidané látky s proteiny.

Přínos projektu:

Dílčí projekt 1

Projekt představuje počátek výzkumu zaměřeného na experimentální výrobu biologicky odbouratelných víček a jedlých lžiček. Tato problematika bude dále zkoumána na ústavu i v následujících letech. Vzhledem k tomu přináší projekt přínos prostřednictvím podpory výzkumu, který se bude nadále rozvíjet na ústavu potravin rostlinného původu. Hlavně s ohledem na možnost praktického využití.

Dílčí projekt 2

Dílčí cíl přinesl nové poznatky v oblasti detekčních systému založených na ELISA metodách využívaných pro průkaz alergenů v potravinách. Kromě konkrétního doporučení používat detekční kity, které mají nižší interakci s bioaktivními látkami a nanočásticemi dílčí cíl přinesl nové poznatky v oblasti interakce bioaktivních látek a nanočástic s proteiny.

Využití výsledků:

Dílčí projekt 1

Výsledky našeho výzkumu představují cenný přínos s možností širokého využití v průmyslu a každodenním životě. Námi experimentálně vyvinutá biodegradabilní víčka a jedlé lžičky nabízejí perspektivní možnosti pro ekologicky šetrné alternativy k tradičním plastovým produktům. S ohledem na jejich pozitivní vlastnosti, zejména texturu a sensorické vlastnosti, lze očekávat, že tyto materiály budou plně uplatnitelné v různých oblastech a náležitě odpoví na potřeby spotřebitelů. To otevírá nové perspektivy pro udržitelnější a ekologičtější přístup k výrobě potravinových doplňků a obalů.

Dílčí projekt 2

Z pohledu využití detekčního kitu je vhodnější pro kontrolní účely používat detekční kit VER u kterého, vlivem přídavku antioxidantů a nanočástic nedochází k tak výrazné inhibici imunoreaktivity jako u kitu BIO. Důvodem rozdílných výsledků mezi kity je použití reagensů, které se používají při provedení samotné metody. Vliv antioxidantů lze totiž ovlivnit různým pH pufrových roztoků, koncentrací samotného TMB, a použitím extrakčních činidel.

Název článku a název vědeckého časopisu s impakt faktorem, v němž byly publikovány nebo se předpokládá publikace dosažených výsledků:

Dílčí projekt 1

Environmental Impact of Biodegradable Caps: A Critical Analysis. LWT – Food Science and Technology, Q1, iF 6

Dílčí projekt 2

Dílčí výsledky byli publikovány v odborném časopise: Havlová, L., Pospiech, M., Javůrková, Z., Bartlová, M., Těšíková, K., Dordevic, D., Dordevic, S., Zemancová J, Tremlová, B. Effect of selected bioactive substances and nanoparticles on the immunoreactivity of edible packages containing chitosan, by the ELISA method. *Food and Agricultural Immunology*, 2023, 34.1: 2222933. Q2, IF 3, DOI10.1080/09540105.2023.2222933

8. Náklady na řešení projektu (v Kč)

Položka	Finanční prostředky	
	Přidělené (v Kč)	Čerpané (v Kč)
Osobní náklady celkem (včetně odvodů)	878 044	878 038
Služby	140 000	154 664,12
Cestovné	145 000	38 565,44
Další provozní náklady	550 000	641 776,44
Doplňkové náklady	256 956	256 956
Celkem	1 970 000	1 970 000

Zdůvodnění nákladů:

Osobní náklady

Byly čerpány v souladu s plánem projektu na:

– odměnu hlavnímu řešiteli za zpracování podkladů k projektu, kontrolu řešení projektu, vypracování a obhájení závěrečné zprávy,

– odměny spoluřešitelů (akademičtí pracovníci) za vypracování podkladů, řešení konkrétních úkolů, odpovědnost za konkrétní metodiku nebo dílčí úkol, zpracování výsledků a podkladů pro závěrečnou zprávu, za přípravu publikací,

– stipendium studentů DSP za řešení konkrétních úkolů, odpovědnost za konkrétní metodiku zpracování výsledků a podkladů pro závěrečnou zprávu a publikaci.

Služby

Opravy a udržování přístrojů potřebných k získání výsledků – HPLC, GC, mikroskopy

Pronájem plynových lahví

Publikační poplatky a kontrola odborného překladu

Vložné na zahraniční konference

Cestovné

Konference *Food Chemistry*, Drážďany, Německo.

Výstupem byla přednáška POSPIECH, M., HAVLOVÁ, L., DORDEVIC, D., JAVŮRKOVÁ, Z., TREMLOVÁ, B. The inhibitory effect of the nanoparticles on the immunological reactivity. In 3rd Food Chemistry Conference, Dresden, Germany, 06.4, 2023.

Konference *Novel Technologies and Sustainable Development*, Leskovec, Srbsko.

Výstupem byla přednáška DORDEVIC, S., DORDEVIC, D., DANILOVIĆ, B., TREMLOVA, B., GABLO, N. Development of Edible/Biodegradable Packaging Based on κ -Carrageenan with Spent Coffee Grounds as Active Additives. XV International Symposium "Novel Technologies and Sustainable Development", 2023.

Další provozní náklady

Chemikálie nezbytné pro řešení projektu – bioaktivní látky, nanočástice, čisté formy proteinů, reagenční kity, plyny, speciální chemické látky (chitosan, karagenany aj.)

Laboratorní pomůcky – špičky, rukavice, vortex, zásobníky, zkumavky

Laboratorní přístroje – centrifuga, mikropipety, dekontaminační UV box, třepačka, úhlový rotor, regulační ventil, autokláv, mlecí miska, mikrotitrační destičky

Doplňkové náklady

Byly stanoveny ve výši 15 % z plánovaných přímých nákladů projektu.

Přehled čerpání přidělených finančních prostředků – Výpis z IFIS.

Je doložen jako příloha 2.

9. Prohlášení a potvrzení řešitele odpovědného za čerpání prostředků, děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště

Řešitel projektu prohlašuje, že údaje uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé a potvrzuje, že 1) získané výsledky budou neprodleně uplatněny jako výsledek uznatelný v registru informací o výzkumu (RIV), že 2) publikaci zašle do časopisu tak, aby byla přijata k zveřejnění **do 18 měsíců** od ukončení řešení projektu, že 3) publikace bude odkazovat na podporu ITA VETUNI. Výhradní odkaz na projekt ITA VETUNI (bez odkazů na podporu z dalších grantů, projektů a jim obdobných finančních zdrojů) musí obsahovat vždy nejméně jedna publikace s impakt faktorem na každých 1,5 milionu korun způsobilých nákladů projektu, a že 5) doručí kopii této publikace po jejím zveřejnění ITA VETUNI.

9.1.2023

prof. MVDr. Bohuslava Tremlová, Ph.D.

Datum, jméno a podpis

řešitele projektu:

Člen řešitelského týmu – akademický pracovník – odpovědný za čerpání prostředků prohlašuje, že údaje týkající se finančních prostředků uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé, a že prostředky na řešení projektu byly čerpány v souladu s Pravidly pro poskytování účelové podpory na institucionální výzkum VETUNI, podle dalších pokynů ITA VETUNI a podle rozhodnutí o přijetí projektu.

9.1.2023

prof. MVDr. Bohuslava Tremlová, Ph.D.

Datum, jméno a podpis

člena řešitelského týmu **odpovědného za čerpání prostředků:**

Přednosta ústavu nebo kliniky, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že projekt byl řešen na ústavu nebo klinice, respektive celoškolském pracovišti, které řídí.

9.1.2023

prof. MVDr. Bohuslava Tremlová, Ph.D.

Datum, jméno a podpis

přednosty ústavu nebo kliniky nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

9.1.2023

Ing. Josef Kupčík

Datum, jméno a podpis

správce rozpočtu:

Děkan fakulty, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že fakulta, respektive celoškolské pracoviště provedlo kontrolu řešení projektu a kontrolu čerpání prostředků přidělených na řešení projektu.

9.1.2023

doc. MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.

Datum, jméno, podpis

děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

Razítko

Závěrečná zpráva Projektu ITA VETUNI na rok 2023

1. Identifikační číslo projektu: 2023ITA24

2. Název projektu:

Alternativy potravin živočišného původu na bázi rostlinných bílkovin – vybrané parametry zdravotní nezávadnosti a kvality

3. Řešitel projektu:

Titul, jméno a příjmení: doc. MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.

Fakulta/celoškolské pracoviště: Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu
a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie VETUNI

E-mail: bursovas@vfu.cz

Telefon: 541 562 710, 720 053 850

4. Řešitelský kolektiv:

složení řešitelského týmu: (akademičtí pracovníci a jejich příslušnost k ústavům nebo klinikám fakulty nebo výzkumným skupinám CEITEC, studenti DSP) a forma zapojení každého člena řešitelského týmu

doc. MVDr. Šárka Bursová, Ph.D., akademický pracovník, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, FVHE, úvazek 1,0; hlavní řešitelka – koncepce a koordinace projektu a dílčích aktivit, kontrola splnění požadavků schváleného návrhu projektu, odpovědnost za čerpání finančních prostředků, vypracování Závěrečné zprávy projektu o řešení projektu a účast na obhajobě projektu v rámci obhajob projektů ITA VETUNI

doc. MVDr. Josef Kameník, CSc., MBA, akademický pracovník, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, FVHE, úvazek 1,0; spoluřešitel – zástupce řešitele, koncepce a koordinace Aktivita 1, odpovědnost za čerpání finančních prostředků, podíl na praktické realizaci projektové metodiky, podíl na realizaci publikace (Aktivita 1)

Ing. Fouad Ali Abdullah Abdullah, Ph.D., akademický pracovník, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, FVHE, úvazek 1,0; spoluřešitel – zajištění vzorků, podíl na praktické realizaci projektové metodiky, senzorické vyšetření, analýza a statistické hodnocení získaných výsledků, podíl na realizaci publikace (Aktivita 3)

Ing. Klára Bartáková, Ph.D., akademický pracovník, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, FVHE, úvazek 1,0; spoluřešitelka – koncepce a koordinace Aktivita 2,

odpovědnost za čerpání finančních prostředků, analýza vzorků, stanovení spektra mastných kyselin, analýza a statistické hodnocení získaných výsledků, příprava publikace (Aktivita 2)

MVDr. Jiří Bednář, Ph.D., akademický pracovník, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, akademický pracovník, FVHE, úvazek 1,0; spoluřešitel – podíl na praktické realizaci projektové metodiky, senzorické vyšetření, analýza a statistické hodnocení získaných výsledků, podíl na realizaci publikace (Aktivita 3)

MVDr. Sandra Dluhošová, Ph.D., akademický pracovník, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, FVHE, úvazek 1,0; spoluřešitelka – podíl na praktické realizaci projektové metodiky, podíl na realizaci publikace (Aktivita 2)

Mgr. Kateřina Dorotíková, akademický pracovník, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, FVHE, úvazek 0,5; spoluřešitelka – podíl na praktické realizaci projektové metodiky, podíl na realizaci publikace (Aktivita 1)

Mgr. Marta Dušková, Ph.D., akademický pracovník, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, FVHE, úvazek 1,0; spoluřešitelka – koordinace dílčích úkolů, podíl na praktické realizaci projektové metodiky, podíl na realizaci publikace (Aktivita 1)

Ing. František Ježek, Ph.D., akademický pracovník, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, FVHE, úvazek 1,0; spoluřešitel – koncepce a koordinace Aktivity 3, odpovědnost za čerpání finančních prostředků, podíl na praktické realizaci projektové metodiky, senzorické vyšetření, stanovení texturních a barevných parametrů, stanovení obsahu bílkovin a tuků, analýza a statistické hodnocení získaných výsledků, podíl na realizaci publikace (Aktivita 2,3)

MVDr. Michaela Králová, Ph.D., akademický pracovník, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, FVHE, úvazek 0,75; spoluřešitelka – podíl na praktické realizaci projektové metodiky, podíl na realizaci publikace (Aktivita 2)

Ing. Blanka Macharáčková, Ph.D., akademický pracovník, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, FVHE, úvazek 1,0; spoluřešitelka – analýza vzorků, stanovení obsahu sodíku, příp. vybraných stopových prvků, analýza získaných výsledků, podíl na podíl na realizaci publikace (Aktivita 2)

MVDr. Pavlína Navrátilová, Ph.D., akademický pracovník, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, FVHE, úvazek: 1,0; spoluřešitelka – koordinace dílčích úkolů, odpovědnost za čerpání finančních prostředků, podíl na praktické realizaci projektové metodiky, podíl na realizaci publikace (Aktivita 1)

Mgr. Jan Pospíšil, akademický pracovník, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, FVHE, úvazek 1,0; spoluřešitel – podíl na stanovení spektra mastných kyselin včetně vyhodnocení výsledků, podíl na realizaci publikace (Aktivita 2)

Změna oproti plánu projektu: z důvodu dlouhodobé pracovní neschopnosti MVDr. Zory Štástkové, Ph.D. se na řešení úkolů, které dle původního plánu měla zajišťovat paní doktorka, podílela MVDr. Pavlína Navrátilová, Ph.D.

5. V případě společných projektů pro více součástí VETUNI popsat zapojení těchto součástí do řešení projektu:

Projekt byl řešen na Ústavu hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie Fakulty veterinární hygieny a ekologie Veterinární univerzity Brno.

6. Obsah projektu

Začlenění projektu do rámce výzkumu VETUNI:

Předmětem řešení projektu byla problematika zdravotní nezávadnosti a kvality alternativních potravin a pokrmů, která je vysoce aktuálním tématem spojeným nejen se změnami životního stylu obyvatel, změnami ve stravovacích návycích a způsobech stravování, ale také s globalizací potravinového řetězce. Náplň projektu plně odpovídala výzkumnému zaměření Ústavu hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie a naplnila jednu ze stanovených priorit soutěže – problematika zdravotní nezávadnosti, hygieny a technologie potravin.

Projekt byl plně v souladu s výzkumným zaměřením Sekce hygieny a technologie potravin FVHE VETUNI a se strategií výzkumu FVHE VETUNI v oblasti Hygieny a technologie potravin, který je zaměřen mimo jiné na výzkum patogenních agens (původců alimentárních onemocnění) v potravinách a dále kontrolu a dozor nad potravinami. Projekt navázal na předchozí úspěšně řešené projekty Ústavu hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie interních (IGA VETUNI, ITA VETUNI) či národních agentur (NAZV). Výzkum byl také plně v souladu s národními prioritami orientovaného výzkumu, které identifikují oblast bezpečnosti potravin jako jednu z klíčových priorit výzkumu EU a ČR.

Cíle projektu (max. 5 řádků):

Cílem projektu bylo posouzení vybraných parametrů bezpečnosti a kvality alternativ masa na bázi rostlinných bílkovin (PBMA) dostupných na trhu v České republice. **Mikrobiologické analýzy byly zaměřeny na získání nových informací o přežívání sporogenních bakterií v kulinárně upravených PBMA. Sledované fyzikálně-chemické parametry byly posuzovány s ohledem na výsledky odpovídajících výrobků ze zpracovaného masa. Senzorické hodnocení PBMA, včetně instrumentálního měření textury a barvy, bylo provedeno s cílem porovnání těchto výrobků se zpracovaným masem a zahrnovalo také analýzu možných důvodů vedoucích spotřebitele k nákupu těchto výrobků a predikci trendu jejich spotřeby v budoucnosti.**

Popis a metodika řešení projektu (max. 1/2 strany):

Aktivita 1: Mikrobiologické aspekty bezpečnosti rostlinných analogů živočišných produktů

Bylo vybráno 15 vzorků PBMA, ve kterých se podle studie Dorotíková et al. (2023) prokázala přítomnost *B. cereus* nebo *C. perfringens*. Vzorky z kategorie ready-to-cook byly tepelně připravené podle instrukcí výrobce a ponechány při pokojové teplotě po dobu 24 h. Mikrobiologická analýza byla provedena před

tepelným ošetřením, bezprostředně po tepelném ošetření a potom po zvolených intervalech až do 24 h skladování při pokojové teplotě. Analýza byla zaměřena na stanovení celkového počtu mikroorganismů, přítomnost bakterií mléčného kvašení (BMK), čeled' *Enterobacteriaceae*, kvasinky a plísně, průkaz i počet *B. cereus* a *C. perfringens*. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny. Vzhledem k dlouhodobé pracovní neschopnosti jedné z řešitelek byla metodika pro rozlišení mezi nekultivovatelnými kokoidními formami VNC a neživotaschopnými buňkami *H. pylori*. zpracována pouze teoreticky.

Aktivita 2: Chemické složení rostlinných analogů živočišných produktů

V tržní síti bylo zakoupeno celkem 30 vzorků alternativ masa a odpovídajících výrobků z masa určených k tepelné úpravě před konzumací. Z parametrů, které rozšířily množinu parametrů z předchozího roku, byly stanoveny hodnoty pH a a_w jako vnitřní faktory ovlivňující růst mikroorganismů nebo nutričně významné parametry jako obsah cholesterolu a dalších sterolů, vitamínu E, minerálních prvků anebo akrylamidu.

Aktivita 3: Sensorické hodnocení vybraných analogů masa na bázi rostlinných bílkovin

Pro sensorické hodnocení rostlinných analogů masa byly použity hodnotitelské protokoly vytvořené již v roce 2022. Protokoly byly sestaveny z grafických nestrukturovaných stupnic s popisem krajních bodů a délkou 100 mm a byly doplněny o otázky vztahující se k oblíbenosti, vlastnostem a nákupu rostlinných analogů masa. Do hodnocení byly zahrnuty také vybrané masné výrobky. U výrobků byl hodnocen celkový vzhled, tuhost, pružnost/elasticita, barva na řezu, vůně, šťavnatost, vláknitost, soudržnost, masová chuť, sójová chuť, olejová příchuť a celkový dojem, a takto byl získán sensorický profil pro každý vzorek. Do hodnocení bylo zapojeno celkem 19 proškolených hodnotitelů. Vzorky byly upravovány na pánvi dle doporučení výrobce. Jako degustační sousto bylo použito bílé pečivo a voda. Instrumentální hodnocení barvy v systému CIELab probíhalo na přístroji Konica Minolta CM-5. Hodnocenými parametry byly L^* -světlost, a^* -červená a b^* - žlutá. Měření probíhalo před tepelnou úpravou a výsledek byl získán z deseti dílčích měření pro každý vzorek. Instrumentální měření textury probíhalo po tepelné úpravě na přístroji Instron 5544 dle Warner-Bratzlera. Měřena byla velikost střížní síly (N) potřebná k přestřížení vzorku o velikosti 10 x 10 x 20 mm. Výsledná hodnota pro každý vzorek byla získána z pěti dílčích měření.

Dosažené výsledky projektu (max. 1/2 strany):

Aktivita 1: Mikrobiologické aspekty bezpečnosti rostlinných analogů živočišných produktů

Vybrané vzorky analogů masa na bázi rostlinných bílkovin (PBMA, n=15) určených k tepelnému ošetření (imitace burgerů, plátků masa, mletého masa, nudliček) byly analyzovány za účelem hodnocení rizika v důsledku přítomnosti kontaminující mikrobioty se zaměřením na *Bacillus cereus*. Vzorky byly podrobeny tepelné úpravě (TÚ) dle doporučení výrobce, část vzorků byla po TÚ překryta mikrotenovou fólií a ponechána při pokojové teplotě do druhého dne (22 °C/24 h). V 10 vzorcích PBMA byly měřené hodnoty a_w a pH před a po TÚ a po 24 skladování. Hodnoty a_w před TÚ se pohybovaly mezi 0,960 a 0,973 (průměr 0,969), po TÚ došlo k poklesu na průměrnou hodnotu 0,947 (0,884-0,968), rozdíl byl statisticky významný ($P = 0,009$). Po skladování 24 h/22 °C došlo ke zvýšení a_w na průměrnou hodnotu 0,963 (0,949-0,970; $P = 0,036$). Hodnoty pH se pohybovaly mezi 6,05-7,07 (průměr 6,642), po TÚ došlo k mírnému snížení hodnot (5,75-6,77, průměr 6,32), rozdíl ale nebyl statisticky významný ($P = 0,237$). Ani po 24h skladování se hodnoty pH nezměnily ($P = 0,415$). Hodnoty a_w i pH se pohybovaly v úrovních, které dovolují množení původců alimentárních onemocnění.

Mikrobiologické analýzy byly provedeny v 15 vzorcích PBMA, a to dvakrát (duben-květen a srpen-listopad). Vzorky byly analyzovány před a po TÚ i po skladování 24 h/22 °C. Celkem bylo analyzováno 160 dílčích vzorků PBMA. Každý vzorek byl vždy vyšetřen dvakrát. Průměrná hodnota CPM vzorků PBMA před TÚ byla $4,8 \times 10^4$ KTJ/g (min. 30; max. $3,2 \times 10^5$ KTJ/g). Po TÚ došlo k redukci na průměrných $1,1 \times 10^3$ KTJ/g (min. <10; max. $1,9 \times 10^4$ KTJ/g). Po skladování 24 h/22 °C nastal nárůst CPM na $3,5 \times 10^4$ KTJ/g (min. 20; max. $7,3 \times 10^5$ KTJ/g) a počty mikroorganismů se tak dostaly na stav před TÚ. Výskyt BMK v PBMA před TÚ odpovídal hodnotám CPM. Po TÚ ale došlo k jejich devitalizaci a ve všech vzorcích PBMA byly pod úrovní detekce (< 50 KTJ/g). Po skladování po TÚ se BMK vyskytly pouze v 1 vzorku (Vegan burger; $5,5 \times 10^6$ KTJ/g). Zástupci čeledě *Enterobacteriaceae*, kvasinky a plísně, *C. perfringens* byly pod limitem detekce. Výskyt *B. cereus* byl potvrzen v 98 vzorcích (61,25 %). V 1 vzorku před TÚ (*chicken fillet burger*, mražený) byl zjištěn *B. cereus* v množství $1,9 \times 10^3$ KTJ/g. Ve 4 vzorcích byl *B. cereus* prokázán po TÚ a následném uchování v 22 °C po dobu 24 h. Konkrétně v burger patties ($1,9 \times 10^3$ KTJ/g a $2,1 \times 10^4$ KTJ/g), v burger with broccoli ($4,0 \times 10^3$ KTJ/g) a v chicken fillet burger ($1,4 \times 10^3$ KTJ/g). Výsledky prokázaly, že přítomnost *B. cereus* v PBMA může představovat riziko při nesprávné manipulaci po TÚ.

Aktivita 2: Chemické složení rostlinných analogů živočišných produktů

Hodnoty pH a aw se statisticky významně nelišily u masných výrobků (pH $6,15 \pm 0,45$; aw $0,970 \pm 0,005$) a jejich rostlinných alternativ (pH $6,10 \pm 0,45$; aw $0,969 \pm 0,005$). Z nutričně významných parametrů jsme zjistili zajímavé výsledky u cholesterolu, jehož obsah byl zjištěn nejenom v masných výrobcích ($33,18 \pm 9,55$ mg/100g), ale i v některých rostlinných alternativách (v 44 % vzorků), ale zastoupení bylo statisticky vysoce významně nižší ($6,13 \pm 2,31$ mg/100g; $p < 0,01$) než v masných výrobcích. Z rostlinných sterolů byly stigmasterol a beta-sitosterol detekovány kromě většiny rostlinných alternativ (stigmasterol: 89 % vzorků; 5,22-133,88 mg/100g; beta-sitosterol: 94 % vzorků; 6,82-104,90 mg/100g) také ve většině masných výrobků (stigmasterol: 83 % vzorků; 0,46-58,33 mg/100g; beta-sitosterol: 50 % vzorků; 1,64-27,62 mg/100g) v poměrně širokém rozmezí, zastoupení se statisticky významně neliší. U minerálních prvků byly statisticky významné rozdíly zjištěny v zastoupení hořčíku a vápníku, jejichž obsah je v rostlinných analogích (Mg: 90 ± 38 mg/100g; Ca: 74 ± 35 mg/100g) statisticky vysoce významně vyšší ($p < 0,01$) než v masných výrobcích (Mg: 34 ± 5 mg/100g; Ca: 11 ± 6 mg/100g) a naopak obsah zinku je statisticky významně vyšší ($p < 0,05$) v masných výrobcích ($3,1 \pm 1,1$ mg/100g). Stanovení akrylamidu (o jehož výsledky se velmi zajímali pracovníci SZPI na semináři, který jsme pro ně uspořádali) neprokázalo významné rozdíly v masných výrobcích a rostlinných alternativách v míře obsahu akrylamidu ani tvorby vlivem tepelného opracování. Rostlinné analogy obsahují akrylamid pouze v případě, pokud se jedná o výrobek obalený v před smaženém obalu ze strouhanky (44 ± 31 ug/100g), podobně ho obsahují i některé masné výrobky tohoto typu (23 ± 5 ug/100g). Po tepelném opracování dle návodu na obalu se obsah akrylamidu zvýší ve výrobcích obalených ve strouhance u masných výrobků i rostlinných alternativ přibližně 1,5-2 násobně.

Aktivita 3: Sensorické hodnocení vybraných analogů masa na bázi rostlinných bílkovin

Senzorické hodnocení rostlinných analogů masa prokázalo signifikantní rozdíly mezi organoleptickými vlastnostmi hodnocených vzorků. Sensorické profily rostlinných analogů masa se lišily jednak podle jejich složení, ale také podle typu výrobku. Velké rozdíly byly zjištěny také u instrumentálně měřené textury a barvy rostlinných analogů masa. Barva je ovlivněna především použitím barviv a samotným složením masných výrobků. Rozdíly jsou patrné také v hodnocení jednotlivých hodnotitelů a liší se také jejich názor na koupi rostlinných analogů. Stejně jako v předchozím sledovaném období nelze na základě sensorického hodnocení jednoznačně konstatovat, zda jsou rostlinné analogy lepší nebo horší než srovnávané masné výrobky. Veškeré výsledky budou statisticky zpracovány a vyhodnoceny a publikovány v recenzovaném časopise.

Přínos projektu (max. 5 řádků):

Byly rozšířeny informace o výskytu *B. cereus* v PMBA po tepelné úpravě a dalších fyzikálně-chemických parametrech a senzorických vlastnostech rostlinných analogů masných výrobků, jejichž spektrum a množství na trhu se neustále rozšiřuje. O přínosu projektu svědčí zájem pracovníků SZPI o opakování semináře z roku 2022 pro další pracovníky. Na tomto semináři byly výsledky řešení projektu prezentovány odborné veřejnosti, čímž se rozšíří informovanost vědecké veřejnosti v této velmi aktuální oblasti.

Využití výsledků (max. 5 řádků):

Získané výsledky byly prezentovány na semináři pořádaném formou Vzdělávacího projektu SZPI s názvem *Alternativy (analogy/imitace) masa (nejen) na bázi rostlinných bílkovin*, díky kterému byly prohloubeny znalosti pracovníků SZPI v oblasti alternativních potravin. Seminář se konal 31. 5. 2023, zúčastnilo se 25 pracovníků SZPI. Současně se předpokládá prezentace výsledků ve vědeckých časopisech s IF, případně i odborných časopisech. Část výsledků byla prezentována na konferencích *Hygiena Alimentorum XLIII a LII. Lenfeldovy a Höklovy dny*:

BARTÁKOVÁ K., POSPÍŠIL J., KAMENÍK J., BURSOVÁ Š. Zastoupení mastných kyselin v rostlinných analogích masa. In: *Zborník prednášok a posterov Hygiena Alimentorum XLIII. Zdravotná bezpečnosť a kvalita mliečnych a rastlinných komodít – aktuálne problémy a trendy*. Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 2023, pp. 181-187.

BARTÁKOVÁ, K., MACHARÁČKOVÁ, B., POSPÍŠIL, J., KAMENÍK, J., BURSOVÁ, Š. Porovnání složení masných výrobků s jejich rostlinnými analogy. In: *Hygiena a technologie potravin LII. Lenfeldovy a Höklovy dny: Sborník přednášek a posterů*, Brno: Veterinární univerzita Brno, 2023, pp. 54–58.

JEŽEK, F., BEDNÁŘ, J., ABDULLAH, F.A.A., KAMENÍK, J., BURSOVÁ, Š. Hodnocení senzorických, texturních a barevných vlastností analogů masa. In *Zborník prednášok a posterov Hygiena Alimentorum XLIII. Zdravotná bezpečnosť a kvalita mliečnych a rastlinných komodít – aktuálne problémy a trendy*. Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, 2023, s. 388-394.

KAMENÍK, J., DOROTÍKOVÁ, K., DUŠKOVÁ, M., HUŠÁKOVÁ, M. Mikrobiální kvalita imitací masa na bázi rostlinných bílkovin a z ní plynoucí rizika. In: *Hygiena a technologie potravin LII. Lenfeldovy a Höklovy dny: Sborník přednášek a posterů*, Brno: Veterinární univerzita Brno, 2023, pp. 49–53.

Název článku a název vědeckého časopisu s impakt faktorem, v němž byly publikovány, nebo se předpokládá publikace dosažených výsledků:

Aktivita 1: Can plant based meat analogues pose a risk for the occurrence of *Bacillus cereus* (*Food Control*; Q1)

Aktivita 2: Comparison of the nutritional composition of plant-based meat analogues and meat products (*Foods*; Q1)

Aktivita 3: Differences in composition of plant-based meat analogues and their effect on sensory characteristics (*Foods*; Q1)

Díličí výsledky projektu byly prezentovány formou přednášek v rámci semináře *Alternativy (analogy/imitace) masa (nejen) na bázi rostlinných bílkovin* (viz příloha závěrečné zprávy).

8. Náklady na řešení projektu (v Kč)

Položka	Finanční prostředky	
	Přidělené (v Kč)	Čerpané (v Kč)
Osobní náklady celkem (včetně odvodů)	1 030 260,00	1 030 240,00
Služby	165 000,00	173 810,31
Cestovné	12 000,00	3 528,32
Další provozní náklady	514 480,00	514 161,37
Doplňkové náklady	258 261,00	258 261,00
Celkem	1 980 001,00	1 980 001,00

Zdůvodnění nákladů: (max ½ strany)

(komentář k čerpání finančních prostředků na řešení projektu – slovní popis v členění jednotlivých položek nákladů a konkrétní výčet, na co byly prostředky využity, komentář a zdůvodnění případných změn a rozdílů oproti schválenému rozpočtu projektu)

Přidělené finanční prostředky byly čerpány v plné výši, tj. 1 980 001,00 Kč. V rámci jednotlivých položek došlo k přesunu finančních prostředků, kdy položka Služby byla navýšena celkem o 8 810,31 Kč (20,00 Kč z položky *Osobní náklady*, 8 471,68 Kč z položky *Cestovné* a 318,63 Kč z položky *Další provozní náklady*).

Osobní náklady:

Celkové čerpání položky činilo **1 030 240,00 Kč**. Osobní náklady byly čerpány v rámci odměn pro zapojené akademické pracovníky (popis míry zapojení je uveden v části 4 Řešitelský kolektiv), a to jako: odměny – 770 000,00 Kč; zdravotní pojištění 69 280, 00 Kč a sociální pojištění 190 960,00 Kč. Nevýčerpaná částka 20,00 Kč byla převedena do položky *Služby*.

Služby:

Finanční prostředky z položky Služby byly využity na nutný servis chromatografu, servis připojení plynů k plynovému chromatografu, na servis výrobniku deionizované vody, k financování stanovení obsahu akrylamidu (provedeno na SVÚ Jihlava) a na jazykovou korekturu textu článku v anglickém jazyce, a to v souhrnné výši 165 338,63. Do této položky bylo účetně zařazeno také hrazení vložného

na zahraniční konferenci **Hygiena Alimentorum XLIII, Slovensko, a to ve výši 8 461,80 Kč + 9,88 Kč bankovní poplatky**. Celkem bylo v rámci položky *Služby* vyčerpáno 173 810,31 Kč.

Cestovné:

V rámci této položky bylo vyčerpáno 3 528,32 Kč jako cestovné řešitelů na zahraniční služební cestu (Konference *Hygiena Alimentorum XLIII, Slovensko* – prezentace výsledků řešení projektu). Nevyčerpané prostředky ve výši 8 471,68 Kč byly převedeny do položky *Služby*.

Další provozní náklady:

V položce *Další provozní náklady* byly čerpány finanční prostředky v celkové výši 514 161,37 Kč. Nevyčerpaná částka 318,63 Kč byla převedena do položky *Služby*.

Finanční prostředky byly využity na nákup vzorků analogů masa a výrobků z masa. Rovněž bylo nakoupeno bílé pečivo jako degustační sousto (nutné k realizaci sensorického hodnocení) a dále spotřební laboratorní materiál pro sensorickou analýzu a kancelářské potřeby).

Pořízen byl dále materiál nezbytný pro mikrobiologickou analýzu vzorků – kultivační média, suplementy, vyvíječe pro mikroaerofilní a anaerobní kultivaci, homogenizační sáčky s filtrem, konfirmační testovací soupravy, jednorázový plastový spotřební materiál (zejména Petriho misky, špičky k automatickým pipetám, mikrozkuřavky) a komponenty pro metodu PCR.

V souvislosti s realizací chemických analýz byly pořízeny tlakové lahve s plyny pro stanovení pomocí GC a AAS, standardy sterolů a další potřebné chemikálie (např. NaCl, methanol, ethanol, petrolether, kyselina dusičná), laboratorní sklo jako dělicí a filtrační nálevky, odměrné a varné baňky, **kádinky**, vialky, spotřební materiál jako kolona a měděná kapilára pro GC, stříkačkové filtry pro HPLC, mixer pro homogenizaci vzorků, pH elektroda, automatická pipeta, spotřební materiál pro **servis výrobniku deionizované vody**, laboratorní vybavení jako **rukavice, špičky na pipety, chňapky pro horné vybavení**, fixy na sklo a drobné kancelářské potřeby. Pro realizaci laboratorních analýz byly v souladu s plánem projektu pořízeny menší přístroje, a to Multimetr HANNA Edge s vodivostní sondou pro využití zejména jako konduktometr, termostat ST 3 B Smart pro úchovu vzorků a digitální vodivostiměr pro správnou funkci výrobniku deionizované vody.

Doplňkové náklady:

Doplňkové náklady byly čerpány ve výši 258 261,00 Kč (15 % režie VETUNI).

Přehled čerpání přidělených finančních prostředků – Výpis z IFIS.

(k Závěrečné zprávě doložte výpis z IFIS, podepsaný osobou zodpovědnou za čerpání finančních prostředků)

9. Prohlášení a potvrzení řešitele odpovědného za čerpání prostředků, děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště

Řešitel projektu prohlašuje, že údaje uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé a potvrzuje, že 1) získané výsledky budou neprodleně uplatněny jako výsledek uznatelný v registru informací o výzkumu (RIV), že 2) publikaci zašle do časopisu tak, aby byla přijata k zveřejnění do 18 měsíců od ukončení řešení projektu, že 3) publikace bude odkazovat na podporu ITA VETUNI. Výhradní odkaz na projekt ITA VETUNI (bez odkazů na podporu z dalších grantů, projektů a jim obdobných finančních zdrojů) musí obsahovat vždy nejméně jedna publikace s impakt faktorem na každých 1,5 milionu korun způsobilých nákladů projektu, a že 5) doručí kopii této publikace po jejím zveřejnění ITA VETUNI.

Datum, jméno a podpis

řešitele projektu:

9. 1. 2024 doc. MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.

Člen řešitelského týmu – akademický pracovník – odpovědný za čerpání prostředků prohlašuje, že údaje týkající se finančních prostředků uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé, a že prostředky na řešení projektu byly čerpány v souladu s Pravidly pro poskytování účelové podpory na institucionální výzkum VETUNI, podle dalších pokynů ITA VETUNI a podle rozhodnutí o přijetí projektu.

Datum, jméno a podpis

člena řešitelského týmu odpovědného za čerpání prostředků:

9. 1. 2024 doc. MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.

Přednosta ústavu nebo kliniky, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že projekt byl řešen na ústavu nebo klinice, respektive celoškolském pracovišti, které řídí.

Datum, jméno a podpis

přednosta ústavu nebo kliniky nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

9. 1. 2024 doc. MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.

Datum, jméno a podpis

správce rozpočtu:

10. 1. 2024 Ing. Josef Kupčik

Děkan fakulty, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že fakulta, respektive celoškolské pracoviště provedlo kontrolu řešení projektu a kontrolu čerpání prostředků přidělených na řešení projektu.

Datum, jméno, podpis

děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

10. 1. 2024 doc. MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.

Razítko

Závěrečná zpráva Projektu ITA VETUNI na rok 2023

1. Identifikační číslo projektu:

FVHE/Pikula/ITA2023

2. Název projektu:

Zoologická medicína: zdravotní problematika evropské fauny

3. Řešitel projektu:

Prof. MVDr. Jiří Pikula, Ph.D., dipl. ECZM

Ústav ekologie a chorob zoozvířat, zvěře, ryb a včel

Fakulta veterinární hygieny a ekologie

E-mail: pikulaj@vfu.cz

Telefon: +420 541 562 655

Zástupce řešitele: **Prof. MVDr. Miroslava Palíková, Ph.D.**

4. Řešitelský kolektiv:

složení řešitelského týmu: (akademičtí pracovníci a jejich příslušnost k ústavům nebo klinikám fakulty nebo výzkumným skupinám CEITEC, studenti DSP) a forma zapojení každého člena řešitelského týmu

Akademičtí pracovníci Ústavu ekologie a chorob zoozvířat, zvěře, ryb a včel

Mgr. Vojtech Baláž, Ph.D.	FVHE, 2190, AP 0.5
Mgr. Alena Balážová, Ph.D.	FVHE, 2190, AP 0.5
doc. MVDr. Hana Bandouchová, Ph.D., dipl. ECZM	FVHE, 2190, AP 1.0
prof. RNDr. Miroslava Beklová, CSc.	FVHE, 2190, AP 1.0
Mgr. Barbora Havelková, Ph.D.	FVHE, 2190, AP 1.0
MVDr. Ivana Mikulíková, Ph.D.	FVHE, 2190, AP 0.5+0,1 NAZV
MVDr. Hana Minářová, Ph.D.	FVHE, 2190, AP 0.5+0,1 NAZV
Mgr. Monika Němcová	FVHE, 2190, AP 0.5
doc. MVDr. Miroslava Palíková, Ph.D.	FVHE, 2190, AP 1.0
MVDr. Ivana Papežíková, Ph.D.	FVHE, 2190, AP 1.0
MVDr. Vladimír Piaček, Ph.D.	FVHE, 2190, AP 1.0

prof. MVDr. Jiří Pikula, Ph.D., dipl. ECZM

FVHE, 2190, AP 1.0

Ing. Jana Sedláčková, Ph.D.

FVHE, 2190, AP 1.0

Ing. František Vitula, Ph.D.

FVHE, 2190, AP 1.0

Studenti DSP Ústavu ekologie a chorob zoovířat, zvěře, ryb a včel

Mgr. Šárka Bednaříková

DSP VETUNI, prezenční forma, 3. roč.

MVDr. Zuzana Lepková

DSP VETUNI, prezenční forma, 2. roč.

Mgr. Lucie Veitová

DSP VETUNI, prezenční forma, 3. roč.

Mgr. Ivona Toullová

DSP VETUNI, prezenční forma, 2. roč.

5. V případě společných projektů pro více součástí VETUNI popsat zapojení těchto součástí do řešení projektu:

6. Obsah projektu

Začlenění projektu do rámce výzkumu VETUNI:

Řešení projektu navazuje na dlouhodobé výzkumné aktivity Ústavu ekologie a chorob zoovířat, zvěře, ryb a včel. Dílčí cíle jsou v souladu s prioritami výzkumu na VETUNI (choroby volně žijících zvířat, problematika infekčních onemocnění a nálezů zvířat, působení stresorů a toxinů na zvířata).

Cíle projektu (max. 5 řádků):

Projekt má šest hlavních výzkumných cílů: 1) Monitoring ektoparazitů netopýřů s ohledem na jejich význam v přenosu filárií, 2) Vliv stresového hormonu kortizolu na buňky hmyzožravých netopýřů kultivované *in vitro*, 3) Mikrobiom střeva ježků v záchranných stanicích, 4) Environmentální riziko vybraných neonikotinoidních insekticidů pro vodní ekosystémy, 5) Invazní střevlička východní a její patogen *Sphaerothecum destruens*: riziko pro rybí faunu ČR a 6) Bakterie se zoonotickým potenciálem u hlodavců. Cílem je rozvoj zoologické medicíny se zaměřením na zdravotní problematiku evropské fauny, s přesahem do ochrany životního prostředí, ohrožených obratlovců a veřejného zdraví.

Popis a metodika řešení projektu (max. 1/2 strany):

Monitoring ektoparazitů netopýřů s ohledem na jejich význam v přenosu filárií

V rámci tohoto dílčího cíle jsme se zaměřili na detekci filárií v krvi hostitelů a u jejich ektoparazitů. Metodicky byla studie založena na hledání mikrofilárií v krvi netopýřů a v ektoparazitech sesbíraných z vyšetřovaných netopýřů pomocí PCR detekce cytochromu c oxidázy za využití univerzálních primerů COLintF a COLintR (Casiraghi et al., 2001). Po elektroforetické separaci PCR produktů následovalo Sangerovo sekvenování ampliconů a porovnání získaných sekvencí s referenčními sekvencemi prostřednictvím Geneious Prime a v GenBank pomocí MegaBLAST. Zaměřili jsme se na netopýře druhů *Myotis blythii*, *Myotis*

emarginatus, *Miniopterus schreibersii*, *Miniopterus pallidus* a *Rhinolophus ferrumequinum*, jejichž kolonie mohou dosahovat stovek až tisíců zvířat (samic) a v některých případech mohou být druhově smíšené. Materiál byl sesbírán na patnácti lokalitách (Bulharsko, Arménie a Gruzie). Získání biologických vzorků umožnila naše mezinárodní spolupráce.

Casiraghi M, et al. (2001). A phylogenetic analysis of filarial nematodes: Comparison with the phylogeny of *Wolbachia* endosymbionts. *Parasitology* **122**(1): 93-103.

Vliv stresového hormonu kortizolu na buňky hmyzožravých netopýrů kultivované *in vitro*

Byl sledován vliv hormonu kortizolu na buňky netopýrů kultivované v podmínkách *in vitro* při teplotě 37 °C simulující tělesnou teplotu netopýra během klidové (neletové) aktivity. Pomocí počítání buněk byla sledována inhibice proliferace kultury brzlíku vrápence velkého (*Rhinolophus ferrumequinum*) po dobu celkem 9 dní po expozici kortizolu v koncentracích 0, 100, 500 a 1000 ng/ml. Časy působení kortizolu byly odvozeny od působení: 1) chronického stresu: koncentrace 100 a 500 ng/ml po celou dobu experimentu; a 2) akutního stresu: koncentrace 500 a 1000 ng/ml vždy 1 hodina působení před každou výměnou média, tzn. 0., 3. a 6. den experimentu či zahájením experimentu. Za podmínek simulace akutního a chronického stresu byla v kinetické reakci po dobu až 48 hodin rovněž měřena úroveň apoptózy (luminiscent annexin assay), množství nekrotických buněk (propustnost membrány pro barviva) a výkon metabolismu (přeměna luminiscentního substrátu) u buněk brzlíku vrápence velkého a makrofágů netopýra velkého (*Myotis myotis*), u kterých byla za shodných podmínek měřena rovněž rychlost a rozsah fagocytózy nebo up-regulace genu kódujícího interferon omega (IFN ω) při expozici lipopolysacharidu.

Mikrobiom střeva ježků v záchranných stanicích

Změny ve složení střevního mikrobiomu byly sledovány u ježka západního a ježka východního pomocí sekvenování třetí generace (MinION, Oxford Nanopore, UK). Vzorky byly odebírány od zvířat přijatých do záchranné stanice. Jednalo se o jedince bez poranění nebo známek onemocnění, kteří byli mylně považováni za adepty na záchranu a následně byli vypuštěni zpět do volné přírody. Cílem bylo primárně získat vzorky od volně žijících jedinců bez ovlivnění stravou v zajetí a stresem z manipulace. Byl odebrán vzorek čerstvého trusu, který byl ošetřen konzervačním roztokem a následně z něj byla vyzolována DNA. Metagenomická analýza byla provedena na základě sekvenace amplikonu genu pro 16S rRNA. Bylo odebráno celkem 13 jedinců (7 ježků východních a 6 ježků západních).

Environmentální riziko vybraných neonikotinoidních insekticidů pro vodní ekosystémy

Cílem práce je komplexně charakterizovat akutní a chronickou toxicitu dvou neonikotinových insekticidů pro potravní řetězec ve vodním ekosystému a stanovit ekologické prahové hodnoty (NOEC) pro koncentrace sledovaných neonikotinoidů ve vodě, které nevyvolávají toxické efekty.

Pro hodnocení ekotoxicity byly využity zejména testy dle ČSN EN ISO 6341(75 7751) Kvalita vod- Zkouška inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*)- Zkouška akutní toxicity a ČSN ISO 10706 (75 7752) Jakost vod - Stanovení chronické toxicity látek pro *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*). Akutní toxický účinek neonikotinoidů na jikry ryb dania pruhovaného (*Danio rerio*) byl sledován v průběhu 48 hodin, kdy oplozené jikry danií byly vystaveny účinku různých ředění testovaných látek. Test bude prováděn dle ČSN ISO 15088. Při řešení projektu bylo postupováno podle standardních metodických postupů pro testy na organismech vodního prostředí (sladkovodní řasa *Pseudokirchneriella subcapitata*, okřehek menší *Lemna minor*, vodní korýš - perloočka *Daphnia magna*, nitěnka *Tubifex tubifex* a raná vývojová stádia *Danio rerio*).

Invazní střevlička východní a její patogen *Sphaerothecum destruens*: riziko pro rybí faunu ČR

V roce 2023 jsme pokračovali v analýzách úpravou metodického postupu a použitím modifikovaných primery, případně jiných primerů pro amplifikaci odlišného úseku DNA *Sphaerothecum destruens*.

Rozšířili jsme i monitoring na území České republiky. Testovány byly vzorky střevličky východní a vzorky kaprovitých a lososovitých ryb získané v rámci monitoringu zdravotního stavu ryb prováděném na smluvním základě s MRS, ČRS a Povodím Moravy.

Bakterie se zoonotickým potenciálem u hlodavců

Materiál, který bude použit v této studii, byl nasbíráán v průběhu let 2014–2022 na modelové lokalitě Salaš. Další materiál byl sbírán v rámci pravidelných odchytů na této lokalitě v roce 2023. Do studie byly začleněny také vzorky z nutrie (n=29) a vyšetřeny na spektrum patogenů v minulosti testovaných u drobných hlodavců (Balazova et al. 2021). Zaměřili jsme se na patogeny *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica* a *Y. pseudotuberculosis*, i na bakterii *Neoehrlichia mikurensis*, o jejímž výskytu v rezervoárových druzích je zatím známo velmi málo. Pomocí metod qPCR (Sellek et al., 2008), PCR (Ondruš et al., 2020) a multiplex PCR (Bui et al., 2021) jsme určovali přítomnost a prevalenci daných patogenů na lokalitě, její změny v čase a v případě *Y. enterocolitica* také vysoce patogenní kmeny od málo patogenních. Molekulární metody (PCR) byly také používány pro přesnou determinaci tří kryptických druhů myšic (*Apodemus flavicollis*, *A. uralensis* a *A. sylvaticus*), které se všechny vyskytují na modelové lokalitě, s cílem zjistit, zda se spektrum jimi přenášených patogenů liší (Bugarski-Stanojevic, 2013; de Mendonca & Benedek, 2012).

Balazova A, Noskova E, Siroky P, Durrant C, Balaz V (2021): Diversity and dynamics of zoonotic pathogens within a local community of small mammals. *Biologia* **76**:3267-3273.

Bugarski-Stanojevic V, et al. (2013): Identification of the sibling species *Apodemus sylvaticus* and *Apodemus flavicollis* (Rodentia, Muridae) - Comparison of molecular methods. *Zoologischer Anzeiger* **252** (4): 579-587.

Bui TH, et al. (2021): Multiplex PCR method for differentiating highly pathogenic *Yersinia enterocolitica* and low pathogenic *Yersinia enterocolitica*, and *Yersinia pseudotuberculosis*. *J Vet Med Sci* **83**(12): 1982-1987.

de Mendonça PG & Benedek A-M (2012): Molecular Discrimination and Morphological Description of *Apodemus sylvaticus* and *A. uralensis* from Cefa Nature Reserve (Romania). *Acta Zool Bulg* **64** (3): 283-288.

Ondruš J, et al. (2020): Candidatus *Neoehrlichia mikurensis* is widespread in questing *Ixodes ricinus* ticks in the Czech Republic. *Ticks Tick Borne Dis* **11**(3): 101371.

Sellek R, et al. (2008): Recovery of *Francisella tularensis* from soil samples by filtration and detection by real-time PCR and cELISA. *J Environ Monit* **10**: 362-369.

Dosažené výsledky projektu (max. 1/2 strany):

Monitoring ektoparazitů netopýrů s ohledem na jejich význam v přenosu filárií

Molekulární testování na případný výskyt filárií bylo provedeno u 261 vzorků krví netopýrů pěti druhů. Testování odhalilo 27 pozitivních vzorků z Bulharska (n=183), 11 z Arménie (n=40) a 12 z Gruzie (n=38). Na základě prozkoumání získaných sekvencí a fylogenetických vztahů byla v těchto padesáti vzorcích identifikována DNA zástupců rodů *Litomosa*, *Eufilaria* a *Breinlia* (nadčeleď Filarioidea). Mimo již známé filárie, jako je např. *Litomosa chiropterorum* či dosud nepopsaný nový druh *Litomosa* sp. (Pikula et al., 2023), byla zaznamenána také přítomnost mikrofilárií doposud nepopsaného druhu *Eufilaria* sp., který je předmětem aktuálního výzkumu našeho pracoviště (nepublikovaná data). Výzkum ukázal prevalenci filárií 19,2 % v celém testovaném souboru vzorků krví netopýrů; 14,8 % v rámci vzorků z Bulharska, 27,5 % u vzorků pocházejících z Arménie a 31,6 % v případě gruzínských vzorků. Dále jsme analyzovali 145 vzorků čítajících celkem 489 jedinců ektoparazitů posbíraných z netopýrů. Tito ektoparazité rodů *Ixodes*, *Nycteribia*, *Rhynolophopsylla*, *Penicillidia*, *Macronyssus* a *Spinturnix* byli na základě morfologických znaků dále určeni. U žádného vzorku ektoparazitů netopýrů z Bulharska (n=109) ani z Arménie (n=36) nebyla prokázána přítomnost filariální DNA.

Pikula et al. (2023). *Filarial infection of a parti-coloured bat: Litomosa sp. adult worms in abdominal cavity and microfilariae in bat semen. Frontiers in Veterinary Science* 10. doi:10.3389/fvets.2023.1284025.

Vliv stresového hormonu kortizolu na buňky hmyzožravých netopýrů kultivované *in vitro*

Krátkodobé působení kortizolu zrychlilo replikaci buněk (3. den experimentu). Opakované krátkodobé vystavení buněk kortizolu však již mělo cytostatický účinek. V podmínkách simulujících chronický stres došlo k zástavě buněčného dělení a postupnému zániku kultury. Nízké koncentrace kortizolu měly na netopýří buňky během prvních 48 hodin působení protektivní účinek vůči nekróze. Podobný protektivní účinek měl kortizol i v případě apoptické smrti v kultuře buněk odvozených z brzlíku vrápence velkého, nikoliv však u makrofágů netopýra velkého. Vysoká koncentrace kortizolu (1000 ng/ml) inhibovala metabolickou přeměnu přidaného substrátu, avšak v koncentraci 500 ng/ml kortizol významně excitoval metabolismus buněk, především makrofágů. Vlivem působení kortizolu došlo ke snížení objemu fagocytovaných částic až o 25 % ve srovnání s neošetřenými kontrolními buňkami a snížení exprese genu pro tvorbu interferonu omega.

Mikrobiom střeva ježků v záchranných stanicích

Byla provedena analýza mikrobiální komunity u 7 jedinců druhu *Erinaceus roumanicus* a 6 jedinců druhu *Erinaceus europaeus*. V rámci sekvenace bylo získáno celkem 154 276 readů (minimální počet byl 7 356 readů/ vzorek, maximální počet byl 34 291 readů/ vzorek), jeden vzorek (*E. europaeus*, W6) byl z důvodu nízké prosekvenovanosti z analýzy vyřazen. Bioinformatická analýza byla provedena s využitím nástroje USEARCH a s použitím SINTAX algoritmu a databáze RDP16S_v.18 a metataxonometrická analýza byla zpracována s využitím online nástrojů MicrobiomeAnalyst a Galaxy. Bylo zjištěno relativně uniformí složení mikrobioty střevního obsahu a minimální rozdíly mezi oběma druhy, a to jak na úrovni alfa diverzity (Chao1, Shannon; Mann-Whitney U test), tak na úrovni beta diverzity (PCoA; PERMANOVA). V rámci mikrobiální komunity střevního obsahu dominovaly zejména proteobakterie, zatímco například Firmicutes byly zastoupeny v menší míře. Vzhledem k podobnosti přijímané potravy není toto zjištění překvapivé. Získané výsledky budou využity v rámci publikace s IF a rovněž budou následně použity jako referenční pro další studie, zaměřené na ovlivnění střevní mikrobioty u ježků v rámci studia vlivů vybraných stresových faktorů na střevní mikrobiom.

Environmentální riziko vybraných neonikotinoidních insekticidů pro vodní ekosystémy

Zaměřili jsme se na sledování akutních účinků tří neonikotinoidních insekticidů ACETAMIPRID (ACE), THIAMETHOXAM (THM) a THIACLOPRID (THC) na perloočku *Daphnia magna*, na planktonní sladkovodní řasu *Pseudokirchneriella subcapitata*, která je přirozenou složkou potravy pro vodní bezobratlé organismy a na embryonální stádia dáňka pruhovaného (*Danio rerio*). Naše testy akutní toxicity dle ČSN EN ISO 6341(75 7751) potvrdily, že *D. magna* je akutně necitlivá na sledované neonikotinoidy. V testech, za použití koncentrační řady 0,0001 - 100 mg.l⁻¹ nebyla zaznamenána mortalita/imobilizace *D. magna*, která by umožnila pro jednotlivé neonikotinoidy stanovit hodnoty 24h, 48h EC50. V testech na řasách dle ČSN EN ISO 8692 (75 7740) testované přípravky neprokázaly inhibici růstu řasy větší než 25 % ve srovnání s kontrolními vzorky. Efekt sledovaných neonikotinoidů na embryonální stádia dáňka pruhovaného byl posouzen dle metodiky OECD No. 236 Fish Embryo Acute Toxicity Test. Embrya byla vystavena testovaným látkám ve stejných koncentracích jako u perlooček a v řasových testech. Studie ukázala, že testované látky nemají významný vliv na vznik malformací a líhnutí dáňka pruhovaného. Z výsledků našich experimentů je zřejmé, že testované neonikotinoidové insekticidy v koncentracích, jejichž hodnoty odpovídají koncentracím detekovaným v přírodním prostředí, nevykazují akutní toxicitu pro řasy (ErC50 >100 mg/l) a perloočky (EC50 >100 mg/l) a nebyl ani prokázán statisticky významný vznik malformací u dáňka pruhovaného. Lze tedy předpokládat, že reálné environmentální koncentrace neohrožují z hlediska přímých toxických účinků vodní biocenózu. Nelze ovšem vyloučit, že chronická expozice nižších koncentrací nebude mít vliv na vývoj vodních organismů.

Invasní střevlička východní a její patogen *Sphaerothecum destruens*: riziko pro rybí faunu ČR

V roce 2023 bylo získáno 110 vzorků střevličky východní (11 směsných vzorků po 10 jedincích) z lokality Stropnice v Nových Hradech (JČ – pstruhový revír). Ze vzorků byla izolována DNA. Spolu s těmito vzorky byly opakovaně otestovány i vzorky získané v roce 2022 za využití nové kolekce primerů cílících na ITS a 18S rRNA. Všechny testované vzorky byly zatím negativní. Výskyt nového patogena v ČR tedy zatím nebyl prokázán.

Bakterie se zoonotickým potenciálem u hlodavců

U nutrií nebyly detekovány patogeny běžné pro původní hlodavce ČR (*Anaplasma*, *Borrelia burgdorferi*, *B. miyamotoi*, *Babesia*), v jednom případě byla zaznamenána *Rickettsia* sp. a další vyšetření probíhají (*Leptospira*, *Francisella*). Soubor vzorků drobných hlodavců je momentálně ve fázi finalizace analýz na přítomnost *Francisella tularensis* a výsledek bude také základem studentské bakalářské práce. Detekční metoda bude zároveň využita k vyšetření vzorků klíšťat v rámci diplomové práce. Druhá determinace myšic pomocí PCR je ve fázi optimalizace a verifikace na základě materiálu poskytnutému z Katedry zoologie PŘF UPOL. Vzorky jsou již vyšetřeny na paletu patogenů a po identifikaci do druhů budou výsledky samostatně publikovatelné.

Přínos projektu (max. 5 řádků):

Účast na řešení projektu byl pro tým Ústavu ekologie a chorob zoovířat, zvěře, ryb a včel motivací k intenzivnímu výzkumu, jež se uplatní v časopisech Q1 a Q2 kategorie a bude mít značný mezinárodní přesah a přispěje k osobnímu růstu zapojených pracovníků. Řešení projektu přispěje k rozvoji zoologické medicíny se zaměřením na zdravotní problematiku evropské fauny. Nové medicínské a ekologické poznatky budou také bezprostředně využívány při výuce studentů VETUNI.

Využití výsledků (max. 5 řádků):

Lze předpokládat značný mezinárodní přesah výsledků projektu a jejich uplatnění ve vědeckých časopisech. Kromě vědeckého přínosu má řešení projektu i praktické implikace pro ochranu zdraví a veterinární medicínu volně žijících zvířat, ochranářskou a veterinární ekologii, odhad environmentálních rizik polutantů vodního prostředí. Výsledky budou také použity při sepisování odborných prací studentů.

Název článku a název vědeckého časopisu s impakt faktorem, v němž byly publikovány nebo se předpokládá publikace dosažených výsledků:

- 1) Infection prevalence and intensity of filarial nematodes related to bat roosting colony size and ectoparasite abundance. *Parasites & Vectors*, IF 4,052, Q1; **zpracovávání dat + rukopis v přípravě**
- 2) An *in vitro* model of cortisol effects on insectivorous bats-derived cells. *Frontiers in Veterinary Science*, IF 3,471, Q1; **zpracovávání dat + rukopis v přípravě**
- 3) Microbiome of the digestive tract of hedgehogs: variation among species, wild and rescued individuals. *Journal of Wildlife Diseases*, IF 1,626, Q2; **zpracovávání dat + rukopis v přípravě**
- 4) Environmental risks of neonicotinoids for aquatic environment organisms. *PLoS One*, IF 3,725, Q2; **zpracovávání dat + rukopis v přípravě**
- 5) An invasive fish *Pseudorasbora parva* and its pathogenic agent *Sphaerothecum destruens*: risks for Central European fish fauna. *Diseases of Aquatic Organisms*, IF 1,769, Q2; **zpracovávání dat + rukopis v přípravě**

- 6) Zoonotic pathogens associated with wild rodent populations. *Zoonoses and Public Health*, IF 2,954, Q1; **zpracovávání dat + rukopis v přípravě**

8. Náklady na řešení projektu (v Kč)

Položka	Finanční prostředky	
	Přidělené (v Kč)	Čerpané (v Kč)
Osobní náklady celkem (včetně odvodů)	702 240,- Kč	702 240,- Kč
Služby	80 000,- Kč	80 000,- Kč
Cestovné	140 000,- Kč	140 000,- Kč
Další provozní náklady	504 000,- Kč	504 000,- Kč
Doplňkové náklady	213 936,- Kč	213 936,- Kč
Celkem	1 640 176,- Kč	1 640 176,- Kč

Zdůvodnění nákladů: (max ½ strany)

(komentář k čerpání finančních prostředků na řešení projektu – slovní popis v členění jednotlivých položek nákladů a konkrétní výčet, na co byly prostředky využity, komentář a zdůvodnění případných změn a rozdílů oproti schválenému rozpočtu projektu)

Osobní náklady:

Mgr. Vojtech Baláž, Ph.D.	odměna 24 000 Kč
Mgr. Alena Balážová, Ph.D.	odměna 24 000 Kč
doc. MVDr. Hana Bandouchová, Ph.D., dipl. ECZM	odměna 35 000 Kč
prof. RNDr. Miroslava Beklová, CSc.	odměna 35 000 Kč
Mgr. Barbora Havelková, Ph.D.	odměna 35 000 Kč
MVDr. Ivana Mikulíková, Ph.D.	odměna 28 000 Kč
MVDr. Hana Minářová, Ph.D.	odměna 28 000 Kč
Mgr. Monika Němcová	odměna 36 000 Kč
doc. MVDr. Miroslava Palíková, Ph.D.	odměna 45 000 Kč
MVDr. Ivana Papežíková, Ph.D.	odměna 35 000 Kč
MVDr. Vladimír Piaček, Ph.D.	odměna 35 000 Kč
prof. MVDr. Jiří Pikula, Ph.D., dipl. ECZM	odměna 50 000 Kč
Ing. Jana Sedláčková, Ph.D.	odměna 35 000 Kč
Ing. František Vitula, Ph.D.	odměna 35 000 Kč

Mgr. Šárka Bednaříková	stipendium 15 000 Kč
MVDr. Zuzana Lepková	stipendium 15 000 Kč
Mgr. Lucie Veitová	stipendium 15 000 Kč
Mgr. Ivona Toullová	stipendium 15 000 Kč

Poznámka: odměny jsou uvedeny bez odvodů a vyjadřují podíl jednotlivých pracovníků na řešení projektu. Čerpáno bylo v souladu s původními požadavky.

Služby:

čerpáno 80 000 Kč

Celkové náklady na služby (**80 tis. Kč**) budou využity na uhrazení publikačních nákladů v časopisech Open Access, jazykový proofreading a sekvenování PCR produktů.

Cestovné:

čerpáno 140 000 Kč

Cestovné (**140 tis. Kč**) bude použito k zajištění terénního sběru vzorků na lokalitách v ČR a Bulharsku.

Další provozní náklady:

čerpáno 504 000 Kč

Další provozní náklady (**504 tis. Kč**) budou použity k nakoupení materiálu na odběr, manipulaci a uskladnění vzorků (odběrové tampony, etanol, zkumavky, špičky, krabičky a igelitové pytlíky na vzorky apod., filtry na eDNA), materiál pro izolace DNA (skalpely, PrepMan, DNA a RNA izolační kity, zkumavky na izolaci, keramické kuličky k homogenizaci, špičky), spotřební materiál a reagentie pro qPCR a PCR (voda, master mixy, primery, fluorescenčně značené sondy, PCR destičky, špičky), spotřební materiál a reagentie pro LAMP reakce. Dále půjde o náklady spojené s chovy a kultivací testovacích organismů a s nákupy čistých chemikálií, materiálu pro přípravu živných roztoků, standardů (fluorochinolony) dalšího spotřebního materiálu (laboratorních pomůcek), křemenných lahvíček, kyvet, náplně do kolony. EC8⁺ cartridge pro stanovení acidobazické rovnováhy krve přístrojem i-Stat. Běžný laboratorní materiál, laboratorní sklo, plasty pro buněčné kultury, zkumavky, špičky na pipety, rukavice, dezinfekční prostředky; chemikálie: např. PBS, kultivační média, fetální bovinní sérum, antimykotika a antibiotika.

Doplňkové náklady:

čerpáno 213 936,- Kč

Odvedeny doplňkové náklady (režie) ve výši 15 %.

Přehled čerpání přidělených finančních prostředků – Výpis z IFIS.

(k Závěrečné zprávě doložte výpis z IFIS, podepsaný osobou zodpovědnou za čerpání finančních prostředků)

9. Prohlášení a potvrzení řešitele odpovědného za čerpání prostředků, děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště

Řešitel projektu prohlašuje, že údaje uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé a potvrzuje, že 1) získané výsledky budou neprodleně uplatněny jako výsledek uznatelný v registru informací o výzkumu (RIV), že 2) publikaci zašle do časopisu tak, aby byla přijata

k zveřejnění do 18 měsíců od ukončení řešení projektu, že 3) publikace bude odkazovat na podporu ITA VETUNI. Výhradní odkaz na projekt ITA VETUNI (bez odkazů na podporu z dalších grantů, projektů a jim obdobných finančních zdrojů) musí obsahovat vždy nejméně jedna publikace s impakt faktorem na každých 1,5 milionu korun způsobilých nákladů projektu, a že 5) doručí kopii této publikace po jejím zveřejnění ITA VETUNI.

Datum, jméno a podpis

řešitele projektu:

8.1.2024 Jiří Pikula

Člen řešitelského týmu – akademický pracovník – odpovědný za čerpání prostředků prohlašuje, že údaje týkající se finančních prostředků uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé, a že prostředky na řešení projektu byly čerpány v souladu s Pravidly pro poskytování účelové podpory na institucionální výzkum VETUNI, podle dalších pokynů ITA VETUNI a podle rozhodnutí o přijetí projektu.

Datum, jméno a podpis

člena řešitelského týmu **odpovědného za čerpání prostředků:**

8.1.2024 Jiří Pikula

Přednosta ústavu nebo kliniky, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že projekt byl řešen na ústavu nebo klinice, respektive celoškolském pracovišti, které řídí.

Datum, jméno a podpis

přednosta ústavu nebo kliniky nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

8.1.2024 Jiří Pikula

Datum, jméno a podpis

správce rozpočtu:

Děkan fakulty, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že fakulta, respektive celoškolské pracoviště provedlo kontrolu řešení projektu a kontrolu čerpání prostředků přidělených na řešení projektu.

Datum, jméno, podpis

děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště: doc. MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.

Razítko

Závěrečná zpráva Projektu ITA VETUNI na rok 2023

- 1. Identifikační číslo projektu:** FVHE/Dobšíková/ITA2023 (TA232061)
- 2. Název projektu:** Suplementace diety rostlinnými analogy jako nástroj pro zlepšení zdraví a produkčních parametrů vybraných druhů hospodářských zvířat
- 3. Řešitel projektu:**

Titul, jméno a příjmení: doc. MVDr. Radka Dobšíková, Ph.D.

Fakulta/celoškolské pracoviště: FVHE, Ústav chovu zvířat, výživy zvířat a biochemie

E-mail: dobsikovar@vfu.cz

Telefon: 541 562 784

- 4. Řešitelský kolektiv:**

složení řešitelského týmu: (akademičtí pracovníci a jejich příslušnost k ústavům nebo klinikám fakulty nebo výzkumným skupinám CEITEC, studenti DSP) a forma zapojení každého člena řešitelského týmu

doc. MVDr. Radka Dobšíková, Ph.D. – Ústav chovu zvířat, výživy zvířat a biochemie (2420), akademický pracovník, úvazek 1,0; hlavní řešitel – vedení projektu a koordinace činností řešitelského kolektivu, koordinace dílčích úkolů a částí projektu, stanovení zajištění hodnocení imunologických ukazatelů, enumerace oocyst kokcií v trusu a hodnocení kvalitativních ukazatelů masa kuřat, analýza výsledků, statistické zpracování a vyhodnocení dat, příprava publikačních výstupů.

prof. Ing. David Zapletal, Ph.D. – Ústav chovu zvířat, výživy zvířat a biochemie (2420), akademický pracovník, úvazek 1,0; spoluřešitel – koordinace dílčích úkolů, vypracování metodiky a management pokusu s kuřaty, sestavení pokusných diet, zjišťování výkrmnosti, disekce porážených kuřat, analýza výsledků, statistické zpracování a vyhodnocení dat, příprava publikačních výstupů.

MVDr. Vlastimil Šimek, Ph.D. – Ústav chovu zvířat, výživy zvířat a biochemie (2420), akademický pracovník, úvazek 1,0; spoluřešitel – zajištění výroby pokusných diet pro kuřata, dohled nad realizací výkrmového pokusu, zjišťování hmotnosti kuřat a spotřeby krmiv, odběr biologických vzorků, analýza výsledků, statistické zpracování a vyhodnocení dat, příprava publikačních výstupů.

Ing. Martina Kostuková, Ph.D. – Ústav chovu zvířat, výživy zvířat a biochemie (2420), akademický pracovník, úvazek 1,0; spoluřešitel – zjišťování výkrmnosti a jatečné hodnoty kuřat, odběr vzorků trusu, odběr a příprava vzorků k analýzám, disekce porážených kuřat, odběr vzorků masa, rešeršní činnost k řešené problematice, statistické zpracování a vyhodnocení dat, příprava publikačních výstupů.

MVDr. Lenka Rozsypalová, Ph.D. – Ústav chovu zvířat, výživy zvířat a biochemie (2420), akademický pracovník, úvazek 1,0; spoluřešitel – zjišťování hmotnosti a jatečné hodnoty kuřat, odběr a příprava vzorků k analýzám, stanovení hmotnosti vybraných orgánů, disekce porážených kuřat a odběr vzorků masa, analýza výsledků, řešeršní činnost k řešené problematice, statistické zpracování a vyhodnocení dat, příprava publikačních výstupů.

MVDr. et MVDr. Viola Zentrichová, Ph.D. – Ústav chovu zvířat, výživy zvířat a biochemie (2420), úvazek 1,0; spoluřešitel – odběr biologických vzorků kuřat, stanovení biochemických ukazatelů, aktivity enzymů a dalších hodnocených ukazatelů krve, analýza výsledků, vyhodnocení dat, příprava publikačních výstupů. V projektu ukončila činnost k 31. 7. 2023. Následně byl do projektu začleněn nový akademický pracovník, Mgr. Veronika Šimková.

Mgr. Veronika Šimková – Ústav chovu zvířat, výživy zvířat a biochemie, AP, úvazek 1,0; spoluřešitel – odběr a příprava vzorků k analýzám, stanovení biochemických ukazatelů, aktivity enzymů a dalších ukazatelů krve, analýza výsledků, vyhodnocení dat, příprava publikačních výstupů.

Mgr. Ing. Ludmila Křížová, Ph.D. – Ústav chovu zvířat, výživy zvířat a biochemie (2420), úvazek 1,0; spoluřešitel – koordinace projektových aktivit dílčího projektu na pracovišti, příprava metodik, statistické vyhodnocení výsledků, publikace výsledků, v projektu ukončila činnost k 31. 8. 2023.

doc. MVDr. Alena Pechová, Ph.D. – Ústav chovu zvířat, výživy zvířat a biochemie (2420), úvazek 1,0; spoluřešitel – odběry bachorové tekutiny, interpretace výsledků a jejich publikace v projektu, ukončila činnost k 31. 8. 2023.

Mgr. Kateřina Sedláková, Ph.D. – Ústav chovu zvířat, výživy zvířat a biochemie (2420), úvazek 1,0; spoluřešitel – provádění *in vitro* experimentů, tvorba databází výsledků, jejich vyhodnocování a publikace.

5. V případě společných projektů pro více součástí VETUNI popsat zapojení těchto součástí do řešení projektu:

-

6. Obsah projektu

Začlenění projektu do rámce výzkumu VETUNI:

Tematicky je projekt v souladu s vědeckými a výzkumnými aktivitami plánovanými v rámci Institucionálního výzkumu na Veterinární univerzitě Brno, konkrétně s prioritou zaměřenou na problematiku ochrany zvířat, welfare a etologie včetně působení stresorů a toxinů na zvířata a v souladu s aktivitami Ústavu chovu zvířat, výživy zvířat a biochemie, který se mj. zabývá studiem

dietárních faktorů, včetně využití netradičních a alternativních krmiv a jejich vlivem na zdraví a užitkovost zvířat a kvalitu a zdravotní nezávadnost jejich produkce.

Cíle projektu (max. 5 řádků):

Dílčí projekt 1 měl za cíl vyhodnotit vliv suplementace standardního komerčního krmiva o vybraná rostlinná aditiva (máta peprná a pelyněk brotan) na zdravotní stav, parametry vnitřního prostředí, infestaci experimentálních jedinců oocystami kokcií a na kvalitu finálního živočišného produktu kura domácího. Dílčí projekt 2 sledoval, jaký vliv má zařazení konopného semene a vedlejších produktů jeho zpracování (konopné výlisky, konopné otruby) na průběh fermentace v bachoru a na stravitelnost sušiny a NDF s využitím *in vitro* metod, a to v souvislosti se zvýšením jeho využití jako krmné komponenty pro hospodářská zvířata.

Popis a metodika řešení projektu (max. 1/2 strany):

Dílčí projekt 1 měl za cíl studium specifických účinků dietárně předkládané máty peprné (*Mentha piperita*), a to samostatně, resp. v kombinaci s pelyněkem brotanem (*Artemisia abrotanum*) na fyziologické funkce, imunologii, antioxidační status, antikokciální účinnost, zdraví, výkrmnost, jatečnou hodnotu a kvalitu masa vykrmovaných rychle rostoucích brojlerových kuřat. V pokusu byli použiti kohoutci brojlerových kuřat hybridní kombinace Ross 308 (n = 160) s uplatněním 2fázového systému výživy. V pokusu byly použity 4 typově odlišné diety: pozitivní kontrola (obsahující běžné antikokcidikum), negativní kontrola (bez antikokcidika), 2 % přírůvek máty peprné k základní dietě a kombinace přírůvku 1 % máty peprné společně s 1 % pelyňku brotanu k základní dietě, s realizací 4 opakování v rámci každé hodnocené diety, ve stáří kuřat 14. až 42. dnů. Jedinci byli aklimatizováni na podmínky testu a v 18. dnu věku byla provedena experimentální infekce kokciemi v dávce 15 000 oocyst kokcií na kuře s využitím atenuované vakcíny LIVACOX T v 10x násobné dávce oproti doporučené vakcinaci pro běžnou profylaxi kuřat. Od tohoto dne byla kuřata krmena konkrétní dietou. Od 21. dne věku bylo prováděno vážení kuřat a byla zjišťována spotřeba krmiv. V 21. a 42. dnu věku byl proveden odběr vzorků krve pro biochemické a imunologické vyšetření a hodnocení antioxidačního statusu, resp. zjištění hmotnosti sleziny, thymu a burzi fabrici a odběr vzorků střeva ke stanovení aktivity vybraných trávicích enzymů GIT. Výše uvedené ukazatele byly hodnoceny také na konci pokusu ve 42 dnech věku. Při ukončení pokusu byla u náhodně vybraných kuřat provedena disekce těla s cílem determinace složení JOT a výtěžností významných částí JOT, byly odebrány vzorky prsní a stehenní svaloviny (kvalitativní a vybrané fyzikálně-chemické ukazatele masa) a byl vyhodnocen chemismus masa (sušina, NL, tuk, minerály, AMK, MK a vybrané mikroprvky). Současně bylo prováděno pravidelné parazitologické vyšetření.

Dílčí projekt 2 vycházel z hypotézy, že po zařazení konopného semene nebo vedlejších produktů jeho zpracování, jako alternativních zdrojů proteinu, resp. vlákniny do krmných dávek dojníc, nedojde k negativnímu ovlivnění stravitelnosti NDF a sušiny krmné dávky ani parametrů bachorové fermentace. Byly provedeny 3 experimenty, jejichž cílem bylo stanovit vliv zařazení konopného semene (Exp. 1), konopných pokrutin (Exp. 2) a konopných otrub (Exp. 3) na stravitelnost sušiny a NDF směsné krmné dávky a na parametry bachorového prostředí s využitím *in vitro* metod. Uvedená krmiva byla zařazena do krmné dávky ve výši 2,5 a 5,0 % a byla porovnávána s kontrolní skupinou bez

jejich přidavku. Experimenty *in vitro* byly provedeny v ANKOM Daisy II Incubator (stanovení stravitelnosti sušiny a NDF) a souběžně v inkubačních tubách podle modifikované metody Tilley a Terry (1963) (stanovení fermentačních produktů). Obě metody využívají jako inkubační médium pufrovanou bachorovou tekutinu. Zdrojem bachorové tekutiny byly dojnice ze ŠZP Nové Dvory a testované vzorky krmiv použité do inkubací byly stejné jako krmná dávka těchto dojnic, pouze byly upravené tak, aby mezi skupinami byly isonitrogenní a isoenergetické. Vzorky směsné krmné dávky navažované do inkubací byly u obou metod stejné, tj. 0,5 g/tuba nebo inkubační sáček. Vzorky byly inkubovány v pufrované bachorové tekutině (ředěná 1:4 roztokem umělých slin, McDougall, 1948) po dobu 48 hod při teplotě 39 °C. Každá kombinace faktorů byla provedena v 8 (Daisy inkubator), resp. 3 (Tilley-Terry) opakováních. Jako kritérium odezvy byly sledovány změny v pH, obsahu těkavých mastných kyselin, NH₄-N a stravitelnosti sušiny a NDF *in vitro*.

Dosažené výsledky projektu (max. 1/2 strany):

Výsledkem Dílčího projektu 1 je objasnění souvislostí mezi dietárním začleněním máty peprné, resp. pelyňku brotanu (samostatně a v kombinaci) a fyziologickými funkcemi, imunologií, antioxidačním status, antikocidiálním účinkem a zdravím vykrmovaných kuřat, včetně jejich vlivu na uživatelské vlastnosti brojlerů a kvalitu kuřecího masa. Z výsledků experimentu očekáváme metabolickou odezvu, alteraci biochemických ukazatelů krve, změny v počtu vylučovaných kokcií u infikovaných kuřat, ovlivnění produkčních ukazatelů a také vliv na ukazatele masa. Předpokládá se uplatnění získaných výsledků ve veterinární, krmivářské a chovatelské sféře a u zpracovatelů masa, kdy by mohly významně rozšířit dosavadní poznatky o účincích dietárně předkládaných bylin na fyziologii, imunologii, zdraví a kvalitu produkce kuřat.

Výsledky Dílčího projektu 2 jsou následující:

Exp. 1 – Konopné semeno. V pokusu byl sledován vliv zařazení konopného semene do krmné dávky dojnic na parametry bachorové fermentace a stravitelnost sušiny a NDF směsné krmné dávky *in vitro*. Konopné semeno obsahovalo 259,9 g NL a 335,2 g tuku v kg sušiny a bylo zařazeno v množství 2,5 a 5 % (skupiny K2,5 a K5) a výsledky byly srovnávány s kontrolní skupinou (K). Stravitelnost sušiny byla vyšší u skupiny K ve srovnání se skupinou K5 ($P < 0,05$). Kromě toho byla zaznamenána tendence k vyšším hodnotám u skupiny K oproti skupině K2,5 ($P = 0,06$). Stravitelnost NDF nebyla zařazením konopného semene do krmné dávky ovlivněna ($P > 0,05$). pH po inkubaci, produkce těkavých mastných kyselin a amoniaku nebyla pokusným zásahem ovlivněna ($P > 0,05$).

Exp. 2 – Konopné pokrutiny. V pokusu byl použit stejný design experimentu jako v předchozím případě. Konopné pokrutiny obsahovaly 350,8 g NL a 86,4 g tuku v kg sušiny a byly zařazeny opět v množstvích 2,5 a 5 % (skupiny P2,5 a P5) a výsledky byly srovnávány s kontrolní skupinou (P). Stravitelnost sušiny byla ve skupinách P a P2,5 obdobná ($P > 0,05$) a byla vyšší než u skupiny P5 ($P < 0,05$). Stravitelnost NDF nebyla zařazením konopných pokrutin do krmné dávky ovlivněna ($P > 0,05$), stejně jako množství fermentačních produktů a hodnota pH po inkubaci ($P > 0,05$).

Exp. 3 – Konopné otruby. V pokusu byl použit stejný design experimentu jako v předchozím případě. Konopné otruby byly především zdrojem vlákniny (572,9 g/kg sušiny) a NDF (879,2 g/kg sušiny) s nízkým podílem NL (103,2 g/kg sušiny) a tuku (45,7 g/kg tuku) a byly zařazeny opět v množstvích 2,5 a 5 % (skupiny O2,5 a O5) a výsledky byly srovnávány s kontrolní skupinou (O). Stravitelnost sušiny byla

ve skupinách O a O2,5 obdobná ($P>0,05$) a byla vyšší než u skupiny O5 ($P<0,05$). U stravitelnosti NDF byl zaznamenán pokles z 80,40 % u skupiny O na 78,71 % ve skupině O2,5 ($P<0,05$) a na 77,18 % ve skupině O5 ($P<0,05$). Kromě toho byla zaznamenána tendence k nižší stravitelnosti NDF u skupiny O5 oproti skupině O2,5 ($P=0,06$). Produkce těkavých mastných kyselin a amoniaku a pH inokula po inkubaci nebyly pokusným zásahem ovlivněny ($P>0,05$).

Přínos projektu (max. 5 řádků):

Očekávaným přínosem Dílčího projektu 1 je rozšíření stávajících poznatků o účincích dietárně předkládané máty peprné a pelyňku brotanu (samostatně a v kombinaci) na fyziologii, imunitní odpověď, antioxidační status a antikocidiální účinnost u vykrmovaných rychle rostoucích kuřat a dále na jakostní ukazatele produkované kuřecí svaloviny. Potvrzením pozitivního vlivu těchto dietárně předkládaných bylin na kuřecího brojlera bude možné vytvořit metodický postup k tvorbě nutriční strategie, která může vést k udržení dobrého, resp. ke zlepšení zdravotního stavu, welfare a užitkovosti vykrmovaných brojlerů v kontextu ekonomicky přijatelné produkce bezpečného a kvalitního kuřecího masa.

Očekávaným přínosem dílčího projektu 2 je rozšíření, doplnění a upřesnění stávajících informací o alternativních krmivech a možnosti jejich využití ve výživě dojníc, v návaznosti na předpokládané zvýšení produkce vedlejších produktů zpracování konopí, využitelných pro krmné účely pro dojnice, resp. následně pro hospodářská zvířata. Výsledky budou využitelné pro přípravu navazujících projektů aplikovaného výzkumu a pro případné následné *in vivo* experimenty.

Využití výsledků (max. 5 řádků):

Výsledky budou využitelné pro přípravu návazných projektů základního nebo aplikovaného výzkumu. Nové informace budou moci být využity pro další studium týkající se využití alternativních a netradičních krmiv ve výživě zvířat. Očekává se uplatnění výsledků v chovatelské praxi a v rámci konzultační a poradenské činnosti.

Název článku a název vědeckého časopisu s impakt faktorem, v němž byly publikovány nebo se předpokládá publikace dosažených výsledků:

Dílčí projekt 1:

Effects of dietary supplementation of peppermint (*Mentha piperita*) and southernwood (*Artemisia abrotanum*) on performance, biochemistry, immune response, oocyst count, carcass composition and meat quality of *Eimeria* challenged broiler chickens. *Poultry Science*, Q1/*British Poultry Science*, Q2.

Dílčí projekt 2:

Effects of hempseed and hempseed by-products on dry matter and NDF digestibility and rumen fermentation in vitro. *Czech Journal of Animal Science*, Q3.

8. Náklady na řešení projektu (v Kč)

Položka	Finanční prostředky	
	Přidělené (v Kč)	Čerpané (v Kč)
Osobní náklady celkem (včetně odvodů)	448.230,-	448.230,-
Služby	100.000,-	107.601,20
Cestovné	5.000,-	1.473,47
Další provozní náklady	298.944,-	294.869,33
Doplňkové náklady	127.826,-	127.826,-
Celkem	980.000,-	980.000,-

Zdůvodnění nákladů: (max ½ strany)

(komentář k čerpání finančních prostředků na řešení projektu – slovní popis v členění jednotlivých položek nákladů a konkrétní výčet, na co byly prostředky využity, komentář a zdůvodnění případných změn a rozdílů oproti schválenému rozpočtu projektu)

Osobní náklady celkem byly plánovány ve výši 448.230,- Kč (včetně odvodů) a byly v souladu s projektem použity na vyplacení odměn pracovníkům ve dvou řešitelských týmech (320.202,- Kč náklady na mzdy), vyplacení odměn externistům (19.800,- Kč náklady na OPPP, dohody), resp. na odvody zdravotního a sociálního pojištění (28.817,- Kč, resp. 79.411,-Kč). Celková výše mzdových nákladů vyplacených pracovníkům projektu byla **448.230,- včetně odvodů**.

Služby na projekt byly plánovány v celkové výši 100.000,- Kč. Finanční prostředky ve výši **107.601,20 Kč** byly využity na stanovení vybraných imunologických parametrů (87.601,20 Kč, VÚVeL) a obsahu TMK ve vzorcích inokula (20.000,- Kč, MUNI). Rozdíl finančních prostředků oproti plánu (tj. 7.601,20 Kč) byl doplacen z kapitoly Služby a Další provozní náklady.

Cestovné na projekt bylo plánováno v celkové výši 5.000,- Kč. Finanční prostředky byly čerpány v souvislosti s odběry a převozem biologických vzorků (např. bachorová tekutina ze ŠZP Nový Dvůr), resp. krmiva připraveného komerční firmou. Celková výše využitých finančních prostředků byla **1.473,47 Kč**. Rozdíl finančních prostředků oproti plánu (tj. 3.526,53 Kč) byl využit v kapitole Služby.

Další provozní náklady byly na projektu plánovány v celkové výši 298.944,- Kč. Tyto finanční prostředky byly v rámci Dílčího projektu 1 využity na zakoupení pokusných zvířat, krmiva a bylin pro experiment, na pořízení chemikálií a komerčních kitů pro biochemické vyšetření krve, standardů

účinných látek, technologického vybavení experimentální stáje (vysokotlaký čistící stroj, nože) a na servis přístrojů, dále na spotřební laboratorní materiál (špičky, rukavice). Další provozní náklady pro Dílčí projekt 2 byly čerpány na nákup konopného semene, konopných pokrutin a otrub, standardů a chemikálií (salicylan sodný, močovina, sulfid sodný, laurylsíran sodný, diethylenglykol, hydrogenfosforečnan draselný, uhličitan vápenatý, hydrolyzáty, amyláza, standardy AAS aj.), spotřebního laboratorního a drobného materiálu (mixér, pH metr, filtrační sáčky na stanovení NDF, zkumavky, gáza), českých i zahraničních odborných publikací (50 nejčastějších chorob skotu, Chov koz, Chov ovcí, Cow signals, Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 2021) a kancelářských potřeb (tonery). Celkově byly na projekt ITA 2023 využity prostředky ve výši 294.869,33 Kč. Rozdíl finančních prostředků oproti plánu (tj. 4.074,67 Kč) byl použit na pokrytí výdajů kapitoly Služby.

Doplňkové náklady na projekt byly ve výši 15 % z přímých nákladů, tj. celkem **127.826,-** Kč.

Přehled čerpání přidělených finančních prostředků – Výpis z IFIS.

(k Závěrečné zprávě doložte výpis z IFIS, podepsaný osobou zodpovědnou za čerpání finančních prostředků)

9. Prohlášení a potvrzení řešitele odpovědného za čerpání prostředků, děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště

Řešitel projektu prohlašuje, že údaje uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé a potvrzuje, že 1) získané výsledky budou neprodleně uplatněny jako výsledek uznatelný v registru informací o výzkumu (RIV), že 2) publikaci zašle do časopisu tak, aby byla přijata k zveřejnění **do 18 měsíců** od ukončení řešení projektu, že 3) publikace bude odkazovat na podporu ITA VETUNI. Výhradní odkaz na projekt ITA VETUNI (bez odkazů na podporu z dalších grantů, projektů a jim obdobných finančních zdrojů) musí obsahovat vždy nejméně jedna publikace s impakt faktorem na každých 1,5 milionu korun způsobilých nákladů projektu, a že 5) doručí kopii této publikace po jejím zveřejnění ITA VETUNI.

9. 1. 2024 doc. MVDr. Radka Dobšíková, Ph.D.

Datum, jméno a podpis

řešitele projektu:

Člen řešitelského týmu – akademický pracovník – odpovědný za čerpání prostředků prohlašuje, že údaje týkající se finančních prostředků uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé, a že prostředky na řešení projektu byly čerpány v souladu s Pravidly pro poskytování účelové podpory na institucionální výzkum VETUNI, podle dalších pokynů ITA VETUNI a podle rozhodnutí o přijetí projektu.

9. 1. 2024 doc. MVDr. Radka Dobšíková, Ph.D.

Datum, jméno a podpis

člena řešitelského týmu **odpovědného za čerpání prostředků:**

Přednosta ústavu nebo kliniky, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že projekt byl řešen na ústavu nebo klinice, respektive celoškolském pracovišti, které řídí.

9. 1. 2024 doc. MVDr. Radka Dobšíková, Ph.D.

Datum, jméno a podpis

přednosta ústavu nebo kliniky nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

9. 1. 2024 Ing. Josef Kupčák

Datum, jméno a podpis

správce rozpočtu:

Děkan fakulty, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že fakulta, respektive celoškolské pracoviště provedlo kontrolu řešení projektu a kontrolu čerpání prostředků přidělených na řešení projektu.

9. 1. 2024 doc. MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.

Datum, jméno, podpis

děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

Razítko

Závěrečná zpráva Projektu ITA VETUNI na rok 2023

- 1. Identifikační číslo projektu:** 2023ITA31
- 2. Název projektu:** Epizootologie bakterií rezistentních k antibiotikům – od molekulárně genetické charakteristiky genů k vektorům šíření v prostředí

3. Řešitel projektu:

Titul, jméno a příjmení: Prof. MVDr. Ivan Literák, CSc.

Fakulta/celoškolské pracoviště: CEITEC

E-mail: literaki@vfu.cz

Telefon: +420541562630

4. Řešitelský kolektiv:

složení řešitelského týmu: (akademičtí pracovníci a jejich příslušnost k ústavům nebo klinikám fakulty nebo výzkumným skupinám CEITEC, studenti DSP) a forma zapojení každého člena řešitelského týmu

Prof. MVDr. Ivan Literák, CSc.	VETUNI, 1,0 (AP, CEITEC) Koordinace řešení projektu, plánování experimentů, koordinace terénních výzkumů, analýza cest šíření klinicky významných bakterií telemetrickým sledování potenciálních ptačích vektorů, analýza dat, příprava publikačních výstupů.
Prof. MVDr. Alois Čížek, CSc.	VETUNI, 1,0 (AP, CEITEC) Plánování experimentů, koordinace terénních a laboratorních vyšetření, analýza dat, příprava publikačních výstupů.
Doc. RNDr. Monika Dolejská, Ph.D.	VETUNI, 1,0 (AP na FVHE 0,1, projektový výzkumný pracovník CEITEC 0,9) Plánování experimentů, koordinace laboratorních vyšetření, analýza dat, příprava publikačních výstupů.
Mgr. Iva Sukkar, Ph.D.	VETUNI, 1,0 (projektový výzkumný pracovník CEITEC 1,0)

	Dohled nad prací studentů v laboratoři, celogenomové sekvenování, základní bioinformatická analýza dat.
Mgr. Jana Palkovičová, Ph.D.	VETUNI, 0,5 (projektový výzkumný pracovník CEITEC 0,5) Pokročilé bioinformatické analýzy dat, sekvenování na platformě MinION a zpracování dat.
Studenti DSP	
Mgr. Markéta Ryšavá	DSP student VETUNI, prezenční forma, 1. ročník, projektový výzkumný pracovník CEITEC 0,5 Izolace plazmidové DNA pro celogenomové sekvenování, PCR detekce genů rezistence.
Mgr. Jarmila Laušová	DSP student VETUNI, prezenční forma, 2. ročník Příprava kultivačních médií, izolace DNA, agarová gelová elektroforéza, izolace genomové DNA pro celogenomové sekvenování.
Mgr. Katarína Středánská	DSP student VETUNI, prezenční forma, 2. ročník Selektivní kultivace, identifikace bakterií metodou MALDI-TOF, archivace izolátů, pomoc při MinION sekvenování.
Mgr. Michaela Růžičková	DSP student VETUNI, prezenční forma, 2. ročník, projektový výzkumný pracovník CEITEC 0,3 Příprava DNA knihoven pro celogenomové sekvenování, bioinformatická analýza sekvencí plazmidů.
MVDr. Věra Vaibarová (roz. Nováková)	DSP student VETUNI, prezenční forma, 3. ročník Bakteriologické kultivace a identifikace a charakterizace izolátů.
Mgr. Jan Škrábal	DSP student VETUNI, prezenční forma, 1. ročník Analýza cest šíření klinicky významných bakterií

Mgr. Šimon Krejčí

telemetrickým sledováním potenciálních ptačích vektorů
DSP student VETUNI, presenční forma, 3. ročník

Analýza cest šíření klinicky významných bakterií

telemetrickým sledováním potenciálních ptačích vektorů

5. V případě společných projektů pro více součástí VETUNI popsat zapojení těchto součástí do řešení projektu: Nejedná se o společný projekt více součástí VETUNI.

6. Obsah projektu

Začlenění projektu do rámce výzkumu VETUNI:

Projekt plně zapadá do rámce výzkumu na VETUNI i prioritních témat soutěže ITA VETUNI 2023 (problematika původců infekčních a parazitárních onemocnění a nálezů zvířat, problematika drůbeže, problematika chorob volně žijících zvířat, problematika zdravotní nezávadnosti, hygieny a kvality potravin, problematika veterinární molekulární biologie). Antibiotická rezistence je v současnosti jedním z nejdůležitějších témat humánní a veterinární medicíny. Laboratoř antibiotické rezistence CEITEC se věnuje problematice rezistentních bakterií s využitím konceptu One Health od roku 2006 a řeší toto téma na světové úrovni. V laboratoři byly implementovány pokročilé metodiky včetně celogenomového sekvenování a bioinformatické analýzy dat, čímž se zvyšuje potenciál kvality publikačních výstupů a celková konkurenceschopnost pracoviště. Na řešení projektu se podíleli studenti DSP a také pregraduální studenti VETUNI řešící své kvalifikační práce.

Cíle projektu (max. 5 řádků):

Detailně byly charakterizovány patogenní i nepatogenní izoláty bakterie *Escherichia coli* s klinicky významnými mechanismy rezistence k antibiotikům v chovech drůbeže, v populacích volně žijících migrujících ptáků, savců a ve vodním prostředí, a následně za využití komparativní genomiky bylo epizootologicky zhodnoceno jejich šíření. Byl studován význam genů rezistence nesených plazmidy. Byly studovány možné cesty šíření klinicky významných bakterií telemetrickým sledováním potenciálních ptačích vektorů.

Popis a metodika řešení projektu (max. 1/2 strany):

Byla dokončena komparativní genomika *E. coli* s rezistencí ke kriticky důležitým skupinám antibiotik pocházejících z migrujících dravých a vodních ptáků. Soubor všech získaných izolátů *E. coli* (cca 500) byl podroben fenotypové a genotypové charakterizaci s využitím širokého spektra mikrobiologických a molekulárně-biologických metod a celogenomovému sekvenování. Byly provedeny parciální analýzy dat zaměřené na fylogenetickou příbuznost izolátů a popis plazmidů nesoucích geny pro zájmové mechanismy rezistence. Bylo zahájeno vyšetření souboru izolátů získaných v roce 2022 z vodních toků ve vybraných městech v ČR a dále z vodních savců (zejména nutrie) obývajících toto prostředí. Sběrka

tvoří v současné době cca 700 bakteriálních izolátů enterobakterií. U těchto izolátů byly metodou PCR hledány zájmové geny rezistence k cefalosporinům, chinolonům a kolistinu.

U kura domácího byla realizována prospektivní studie založená na vzorkování ve velkokapacitní líhni a na drůbežích jatkách. V měsíčních intervalech byly odebírány a ověřenou metodikou vyšetřovány vzorky vaječných skořápek v modelové velkokapacitní líhni s produkcí 6 mil. kuřat ročně, což umožnilo získat přehled o výskytu sledovaných bakterií v rodičovských hejnech masné drůbeže dané oblasti. Celkový počet analyzovaných vzorků a chovů se řídil průběžnými nálezy ESBL/pAmpC pozitivní *E. coli*. Získané vzorky byly kultivovány na MacConkey agar (MCA) s cefotaximem, a také MCA s ciprofloxacinem. Izoláty byly identifikovány hmotnostní spektrometrií MALDI TOF (Bruker Daltonik, Německo) s nadstavbou Biotyper 3.0 a dále sérotypizovány a testovány na přítomnost genů asociovaných s faktory virulence a genů kódujících mechanismy rezistence vůči antibiotikům metodou PCR. Byla stanovena epizootologická závažnost různých ESBL/pAmpC pozitivních *E. coli* a ExPEC ve vyšetřených chovech.

Na vyšetřované ptáky v terénu byly instalovány telemetrické vysílačky typu OT-20 (GPS/GSM, Ornitela, Litva). Data o poloze sledovaných jedinců byla analyzována pomocí programu ArcGIS 10.1 (Esri) a jeho extenzí HRT a ARCMET. Detailně byly charakterizovány časoprostorové aktivity sledovaných ptáků ve vztahu k potenciálnímu šíření významných kmenů *E. coli*.

Dosažené výsledky projektu (max. 1/2 strany):

Detailní genotypizace rozsáhlé sbírky izolátů *E. coli* až na úroveň stanovení kompletní nukleotidové sekvence umožnila prokázat rezistentní linie bakteriálních kmenů v chovech kura domácího, u volně žijících ptáků a savců a ve vodním prostředí zvířat a popsat plazmidy nesoucí geny pro kriticky důležité mechanismy AMR. Ze získaných DNA sekvencí bylo možné pomocí fylogenetických analýz porovnat jednotlivé bakteriální kmeny a určit jejich vzájemnou podobnost a identifikovat významné varianty v rámci populací potravinových a volně žijících zvířat. Porovnáním se sekvencemi v genové bance včetně zahrnutí sekvencí humánních izolátů byly identifikovány zdroje AMR v prostředí. Telemetricky se objasnily cesty ptačích vektorů sledovaných bakterií. Ověření kvality výsledků bude probíhat formou oponentního řízení ve vědeckých časopisech

Byla dokončena komparativní analýza rezistentních izolátů *E. coli* z luňáků ze třech lokalit v Rusku. Prevalence rezistentních izolátů, obsah genů rezistence a genomické charakteristiky byly dány do kontextu charakteru studovaných lokalit s rozdílnou mírou antropogenního zatížení a odlišnými potravními návyky studovaných dravců. Studie ukázala na vysokou prevalenci a diverzitu genů antibiotické rezistence a častou produkci beta-laktamáz a přítomnost sekvenčních typů spojených s patogenitou. Získané výsledky byly uveřejněny v časopise mSphere. V projektu byly dále dokončeny fenotypové a genotypové analýzy rezistentních izolátů *E. coli* z racků bělohlavých hnízdících v lokalitě Nové Mlýny, kteří byli vyšetřeni v roce 2018 a 2019. Prokázali jsme, že výskyt rezistentních kmenů v populacích volně žijících ptáků se může v čase velmi lišit a pro získání uceleného pohledu na vývoj rezistence je třeba dlouhodobého sledování. Výsledky byly sepsány do publikace, která byla v prosinci 2022 odeslána do časopisu Environment International. Dále byly vyšetřeny soubor vzorků z povrchové vody a sedimentů ve vybraných lokalitách v ČR a vodních savců (nutrií), které toto prostředí obývají. Ze vzorků byly selektivní kultivací na půdě s antibiotiky získány izoláty enterobakterií, u kterých byly

prokázány geny rezistence ke klinicky významným cefalosporinům, karbapenemům a fluorochinolonům. Pulzní gelové elektroforéza prokázala vysokou diverzitu izolátů. U reprezentativních izolátů bylo provedeno celogenomové sekvenování, přičemž data budou vyhodnocena v navazující studii.

Během období květen až listopad 2023 byly odebrány vzorky slepých střev z 296 brojlerů kura domácího, kteří pocházeli z 22 hospodářství. Vzorky byly zpracovány třemi postupy izolace *E. coli* a u získaných izolátů (n=628) byla stanovena citlivost vůči 12 antimikrobikům diskovou difusní metodou. 112 izolátů získaných selektivní izolací na MCA s cefotaximem bylo podrobeno výběru metodou DDST (double disk synergy test) k průkazu produkce betalaktamáz širokého spektra (ESBL). 73 izolátů *E. coli* s produkcí ESBL bylo podrobeno výběru pro WGS podle jejich antibiogramu, místa původu a pulzotypu, který byl stanoven pulzní gelovou elektroforézou. Pro WGS bylo podle uvedených kritérií vybráno a zpracováno 32 izolátů ESBL pozitivních *E. coli* ze 13 hospodářství. Zbývajících 39 izolátů svým fenotypem odpovídalo *E. coli* produkující betalaktamázy AmpC a jejich bližší charakterizace probíhá. Uvedeným postupem pokračuje odběr a zpracování vzorků tak, aby tato prospektivní studie zahrnuje výsledky získané za období 1 roku. Souběžně probíhal odběr vzorků skořápek a prachu z dolíhňových boxů, v nichž dochází k líhnutí kuřat z jednotlivých rodičovských farem (2022, n=41; 2023, n=21). Z těchto vzorků se podařilo získat 2 izoláty ESBL pozitivní *E. coli* a sekvenovat jejich genom. Komparace izolátů z líhni a jatečních brojlerů pomůže odhalit cirkulaci epidemiologicky významných klonů v produkčním řetězci masné drůbeže.

U luňáka červeného – vektora patogenních bakterií a bakterií rezistentních k antibiotikům – byla detailně studována strategie pohnídních migrací a přeletu Jaderského moře na jejich zimoviště v severní Itálii. Byl dokumentován zásadní vliv podpůrných větrů na rozhodnutí, zda a kdy tyto ptáci během podzimní migrace přeletí Jaderské moře. Při jarní migraci ze zimovišť na hnízdiště volili ptáci trasu přes kontinentální Itálii zřejmě proto, aby se v tomto směru vyhnuli nepříznivým větrům při kratším, ale náročnějším přeletu Jaderského moře.

Přínos projektu (max. 5 řádků):

Projekt přinesl nové poznatky o rezervoárech, rozšíření, cestách přenosu, vektorech a molekulární epidemiologii *E. coli* (včetně patogenních kmenů) s klinicky významnou rezistencí k antibiotikům při zaměření na antibiotika poslední volby u volně žijících ptáků, v chovech kura domácího a ve vodním prostředí.

Využití výsledků (max. 5 řádků):

Výsledky studie budou publikovány ve vědeckých zahraničních časopisech s impakt faktorem. Výsledky budou prezentovány na mezinárodních konferencích. Celogenomová data budou vložena do veřejné databáze GenBank. Výsledky budou využity v doktorských pracích studentů DSP participujících na projektu.

Název článku a název vědeckého časopisu s impakt faktorem, v němž byly publikovány nebo se předpokládá publikace dosažených výsledků:

TARABAI, H., KREJCI, S., KARYAKIN, I., BITAR, I., LITERAK, I., DOLEJSKA, M. Clinically relevant antibiotic resistance in *Escherichia coli* from black kites in southwestern Siberia: a genetic and phenotypic investigation. *mSphere*, 2023, vol. 8, no. 4, pp. 1–16, (VETUNI ITA 2023ITA31)
<https://doi.org/10.1128/msphere.00099-23>

IF 4.8 (2022), Microbiology Q2

ŠKRÁBAL, J., KREJČÍ, Š., RAAB, R., SEBASTIÁN-GONZÁLEZ, E., LITERÁK, I. Soaring over open waters: horizontal winds provide lift to soaring migrants in weak thermal conditions. *Movement Ecology*, 2023, vol. 11, no. 76, p. 1–12. (VETUNI ITA 2023ITA31)

<https://doi.org/10.1186/s40462-023-00438-6>

IF 4.1 (2022), Ecology Q2

8. Náklady na řešení projektu (v Kč)

Položka	Finanční prostředky	
	Přidělené (v Kč)	Čerpané (v Kč)
Osobní náklady celkem (včetně odvodů)	1.152.940	1.152.940
Služby	258.000	296.450
Cestovné	247.000	175.443
Další provozní náklady	165.539	198.646
Doplňkové náklady	273.521	273.521
Celkem	2.097.000	2.097.000

Zdůvodnění nákladů: (max ½ strany)

(komentář k čerpání finančních prostředků na řešení projektu – slovní popis v členění jednotlivých položek nákladů a konkrétní výčet, na co byly prostředky využity, komentář a zdůvodnění případných změn a rozdílů oproti schválenému rozpočtu projektu)

Proti přiděleným prostředkům se reálné čerpání lišilo v položkách cestovné – čerpání bylo nižší, než bylo původně plánováno, ale zamýšlené služební cesty se úspěšně realizovaly. Vyšší čerpání naopak bylo v položkách služby a další provozní náklady, v obou případech do 20%, což je v souladu se směrnicí k čerpání prostředků ITA, tj. nebylo nutné dodatečné schvalování rozdílů v čerpání těchto položek.

Osobní náklady:

Osobní náklady zahrnovaly odměny řešitelům a stipendia studentů DSP, kteří se podíleli na řešení projektu.

Služby:

Přeprava vzorků z terénu, sekvenování DNA, nákup licence na analýzu sekvenačních dat, analýza vybraných sekvenčních dat, oprava a servis přístrojů používaných k laboratorním vyšetřením, publikační náklady.

Cestovné:

Účast na vědeckých konferencích (Mgr. I. Sukkar, Ph.D., Mgr. J. Palkovičová, Ph.D.), odběr vzorků v terénu v zahraničí (Moldavsko) i v ČR.

Další provozní náklady:

Chemikálií pro molekulárně genetická vyšetření, bakteriologické půdy, antibiotika a substance na testování citlivosti, lab. plastik a tampóny na kultivaci bakterií, laboratorní sklo, telemetrická zařízení. Ochranné pomůcky a dezinfekce.

Doplňkové náklady:

Pokrývaly režijní náklady ve výši 15 %.

Přehled čerpání přidělených finančních prostředků – Výpis z IFIS.

(k Závěrečné zprávě doložte výpis z IFIS, podepsaný osobou zodpovědnou za čerpání finančních prostředků)

9. Prohlášení a potvrzení řešitele odpovědného za čerpání prostředků, děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště

Řešitel projektu prohlašuje, že údaje uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé a potvrzuje, že 1) získané výsledky budou neprodleně uplatněny jako výsledek uznatelný v registru informací o výzkumu (RIV), že 2) publikaci zašle do časopisu tak, aby byla přijata k zveřejnění do 18 měsíců od ukončení řešení projektu, že 3) publikace bude odkazovat na podporu ITA VETUNI. Výhradní odkaz na projekt ITA VETUNI (bez odkazů na podporu z dalších grantů, projektů a jim obdobných finančních zdrojů) musí obsahovat vždy nejméně jedna publikace s impakt faktorem na každých 1,5 milionu korun způsobilých nákladů projektu, a že 5) doručí kopii této publikace po jejím zveřejnění ITA VETUNI.

Datum, jméno a podpis 9.1.2024 Prof. MVDr. Ivan Literák, CSc.

řešitele projektu:

Člen řešitelského týmu – akademický pracovník – odpovědný za čerpání prostředků prohlašuje, že údaje týkající se finančních prostředků uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2022 jsou pravdivé, a že prostředky na řešení projektu byly čerpány v souladu s Pravidly pro poskytování účelové podpory na institucionální výzkum VETUNI, podle dalších pokynů ITA VETUNI a podle rozhodnutí o přijetí projektu.

Datum, jméno a podpis 9.1.2024 Prof. MVDr. Ivan Literák, CSc.

člena řešitelského týmu **odpovědného za čerpání prostředků:**

Přednosta ústavu nebo kliniky, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že projekt byl řešen na ústavu nebo klinice, respektive celoškolském pracovišti, které řídí.

Datum, jméno a podpis 9.1.2024 Prof. MVDr. Alois Čížek, CSc.

přednosta ústavu nebo kliniky nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

Datum, jméno a podpis 9.1.2024 Ing. Jiří Šmerda

správce rozpočtu:

Děkan fakulty, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že fakulta, respektive celoškolské pracoviště provedlo kontrolu řešení projektu a kontrolu čerpání prostředků přidělených na řešení projektu.

Datum, jméno, podpis 9.1.2024 Prof. MVDr. Jiří Smola, CSc.

děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

Razítko

Závěrečná zpráva Projektu ITA VETUNI na rok 2023
(vyplní řešitel)

1. Identifikační číslo projektu: 2023ITA32

2. Název projektu: *Analýza genetické diversity neutrálních a imunitních markerů koně Převalského*

3. Řešitel projektu:

Mgr. Martin Plášil, PhD.

CEITEC VETUNI RG Animal Immunogenomics

E-mail: plasilma@vfu.cz

Telefon: +420541562289

4. Řešitelský kolektiv:

Řešitelský tým je složen z pracovníků výzkumné skupiny Animal Immunogenetics CEITEC VETUNI Brno. Uvedené úvazky pracovníků platí pro CEITEC.

Mgr. Martin Plášil, PhD., řešitel: 1,0 FTE, molekulární analýza exprimovaných genů MHC I a II

Mgr. Eva Jánová, PhD.: 0,6 FTE, analýza mikrosatelitů, populačně genetické analýzy

Mgr. Ján Futas, PhD.: 0,8 FTE (+0,2 FTE na FVL), molekulární analýza exprimovaných genů KLRA

Celkový FTE: 2,4

5. V případě společných projektů pro více součástí VETUNI popsat zapojení těchto součástí do řešení projektu:

Projekt byl řešen pouze v rámci CEITEC VETUNI.

6. Obsah projektu

Začlenění projektu do rámce výzkumu VETUNI:

Předmět řešení projektu zapadá do Priorit soutěže ITA VETUNI v bodech „problematika veterinární molekulární biologie“ a „problematika ochrany zvířat, welfare a etologie včetně působení stresorů a toxinů na zvířata“.

Cíle projektu (max. 5 řádků):

Cílem projektu byla amplifikace sekvencí MHC třídy I a II a genů KLRA v komplexu receptorů NK buněk a určení jejich diversity u Převalských koní chovaných v ZOO Praha a u populace domácího koně žijícího v oblasti původního výskytu koně Převalského. Zároveň byla analyzována variabilita mikrosatelitních markerů v obou těchto genomických oblastech a také variabilita neutrálních mikrosatelitů používaných pro parentitní analýzy.

Popis a metodika řešení projektu (max. 1/2 strany):

Materiál: V projektu byly použity vzorky krve koní Převalského pocházející ze ZOO Praha, které byly v uplynulých letech odebírány za účelem diagnostických vyšetření. Pro porovnání s koněm domácím byly použity vzorky krve koní pocházejících z oblastí původního výskytu koně Převalského (Mongolsko). Pro analýzy bylo použito po 34 jedincích koně Převalského a domácího mongolského koně.

Analýzy sekvence KLRA a MHC genů: Na základě analýzy dostupných celogenomových sekvencí koně Převalského a koně domácího byly navrženy primery umožňující amplifikaci funkčně významných částí vybraných genů KLRA v oblasti Natural Killer Complex (NKC) a genů MHC třídy I a II. Získané amplikony byly sekvenovány pomocí technologie dlouhých čtení MinION (Oxford Nanopore) a MiSeq (Illumina, San Diego, CA).

Analýzy mikrosatelitů: Byla studována variabilita a diversity 15 mikrosatelitů lokalizovaných napříč celým MHC, 11 mikrosatelitů v NKC (Natural Killer Complex) oblasti a 15 neutrálních mikrosatelitů ze sady parentálních testů. Genotypování MHC a NKC mikrosatelitů bylo provedeno ve spolupráci s týmem Mendelu, který byl součástí naší skupiny v rámci projektu CEITEC, a to již publikovanou metodikou (Horecký et al. 2018).

Analýzy diversity a variability: U již genotypovaných lokusů byla vyhodnocena jejich variabilita v nukleotidových sekvencích u obou souborů koní.

Dosažené výsledky projektu (max. 1/2 strany):

Analýza mikrosatelitních markerů: Analýza všech typů mikrosatelitních markerů (v oblasti MHC, NKC i parentálních mikrosatelitů umístěných v rámci celého genomu) prokázala, že genetická variabilita Převalského koně z pražské ZOO je nižší oproti sympatrické populaci mongolského koně domácího. Ve všech typech těchto markerů měl Převalský kůň menší množství alel i heterozygotnost než kůň domácí. Ačkoli obě skupiny koní byly od sebe geneticky zřetelně oddělené, docházelo ke značnému sdílení alel. U neutrálních parentitních mikrosatelitů bylo sdíleno 51 z celkového množství 82 alel (62%), u MHC mikrosatelitů 58 z celkových 68 alel (85%) a u NKC mikrosatelitů bylo sdíleno 24 z celkových 44 (55%) alel. Menší diversity koně Převalského v non-MHC části genomu je v kontrastu s relativně vyšším počtem alel v MHC oblasti. To může být výsledkem evolučního přizpůsobení se stejnému selekčnímu tlaku prostředí, kdy je výhodná větší genetická rozmanitost MHC. Ani po více generací trvajícím chov v zajetí nedošlo k významné redukci této diversity.

Analýza exprimovaných genů MHC a KLRA: Na analýzu exonů 2 a 3 MHC genů třídy I, 2. exonech genů MHC třídy II genů a genů oblasti KLRA u koní Převalského a u domácího koně metodou NGS a MinION

sekvenování navázala probíhající bioinformatická analýza dat. Na jejím základě budou také pro exprimované markery určeny základní parametry genetické diversity a bude provedeno konečné srovnání obou populací.

Přínos projektu (max. 5 řádků):

Projekt přinesl unikátní data o diversitě imunitních oblastí koně Převalského, sekvence genů z MHC a KLRA oblastí a možnost srovnání těchto charakteristik s blízkce příbuzným koněm domácím žijícím pod podobným selekčním tlakem. Z hlediska řešitelského týmu umožnil projekt získání kvalitních dat, která po jejich publikaci umožní získat lepší pozici v grantových soutěžích.

Využití výsledků (max. 5 řádků):

Úspěšnost reintrodukce Převalského koně je značně závislá na schopnosti konkrétních jedinců odolávat místním patogenům. Bližší znalost diverzity imunitních genů koně Převalského tedy může zvýšit úspěšnost celého reintrodukčního projektu. Znalosti mohou být použity při hodnocení šancí na přežití, začlenění a genetický přínos jedinců vybíraných do reintrodukčního programu.

Název článku a název vědeckého časopisu s impakt faktorem, v němž byly publikovány nebo se předpokládá publikace dosažených výsledků:

Immunogenetic variability of the Prague population of Przewalski's horses and its comparison with the diversity of local Mongolian horses.

Journal of Animal Breeding and Genetics.

8. Náklady na řešení projektu (v Kč)

Položka	Finanční prostředky	
	Přidělené (v Kč)	Čerpané (v Kč)
Osobní náklady celkem (včetně odvodů)	267 600	267 600
Služby	0	0
Cestovné	0	0
Další provozní náklady	276 922	276 922
Doplňkové náklady	81 678	81 678
Celkem	626 200	626 200

Zdůvodnění nákladů: (max ½ strany)

(komentář k čerpání finančních prostředků na řešení projektu – slovní popis v členění jednotlivých položek nákladů a konkrétní výčet, na co byly prostředky využity, komentář a zdůvodnění případných změn a rozdílů oproti schválenému rozpočtu projektu)

Osobní náklady:

Byly použity v souladu s plánem řešení ve formě odměn pro pracovníky na projektu. Odměny byly vyplaceny v polovině řešení projektu a na jeho konci.

Služby:**Cestovné:****Další provozní náklady:**

Reagencie na NGS 181.1 tis Kč. Laboratorní reagencie (enzymy, kity, atd.) 54.2 tis Kč. Laboratorní plasty 33 tis Kč. Drobné laboratorní vybavení 8.7 tis Kč.

Doplňkové náklady:

Byly čerpány v souladu s plánem projektu.

Přehled čerpání přidělených finančních prostředků – Výpis z IFIS.

(k Závěrečné zprávě doložte výpis z IFIS, podepsaný osobou zodpovědnou za čerpání finančních prostředků)

9. Prohlášení a potvrzení řešitele odpovědného za čerpání prostředků, děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště

Řešitel projektu prohlašuje, že údaje uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2023 jsou pravdivé a potvrzuje, že 1) získané výsledky budou neprodleně uplatněny jako výsledek uznatelný v registru informací o výzkumu (RIV), že 2) publikaci zašle do časopisu tak, aby byla přijata k zveřejnění **do 18 měsíců** od ukončení řešení projektu, že 3) publikace bude odkazovat na podporu ITA VETUNI. Výhradní odkaz na projekt ITA VETUNI (bez odkazů na podporu z dalších grantů, projektů a jim obdobných finančních zdrojů) musí obsahovat vždy nejméně jedna publikace s impakt faktorem na každých 1,5 milionu korun způsobilých nákladů projektu, a že 5) doručí kopii této publikace po jejím zveřejnění ITA VETUNI.

Datum, jméno a podpis

řešitele projektu:

9.1.2024 Mgr. Martin Plášil, PhD.

Člen řešitelského týmu – akademický pracovník – odpovědný za čerpání prostředků prohlašuje, že údaje týkající se finančních prostředků uvedené v této závěrečné zprávě Projektu ITA VETUNI pro rok 2023 jsou pravdivé, a že prostředky na řešení projektu byly čerpány v souladu s Pravidly pro poskytování účelové podpory na institucionální výzkum VETUNI, podle dalších pokynů ITA VETUNI a podle rozhodnutí o přijetí projektu.

Datum, jméno a podpis

člena řešitelského týmu **odpovědného za čerpání prostředků:**

9.1.2024 Mgr. Martin Plášil, PhD.

Přednosta ústavu nebo kliniky, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že projekt byl řešen na ústavu nebo klinice, respektive celoškolském pracovišti, které řídí.

Datum, jméno a podpis

přednosta ústavu nebo kliniky nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

9.1.2024 Prof. MVDr. RNDr. Petr Hořín, CSc.

Datum, jméno a podpis

správce rozpočtu:

Děkan fakulty, respektive vedoucí celoškolského pracoviště potvrzuje, že fakulta, respektive celoškolské pracoviště provedlo kontrolu řešení projektu a kontrolu čerpání prostředků přidělených na řešení projektu.

Datum, jméno, podpis

děkana fakulty nebo vedoucího celoškolského pracoviště:

doc. MVDr. Michal Crha, PhD.

Razítko