

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Bc. Kristýna Bezdíčková

Školitel: doc. Ing. Petra Matoušková, Ph.D.

Název diplomové práce: Zavedení diagnostiky gastrointestinálních hlístic pomocí RT-PCR

Gastrointestinální hlístice mohou způsobovat různě závažná onemocnění hospodářských zvířat. Jedinci bývají často nakaženi několika druhy parazitů najednou. Vzhledem k tomu, že symptomy bývají podobné, onemocnění se nazývá jako parazitická gastroenteritida. Nejen, že hlístice ohrožují zdraví zvířat, ale také mohou mít velký dopad na ekonomiku celé farmy. Diagnostika nebývá jednoduchá. Kromě morfologických a koprologických metod je možné využít biochemickou či molekulární analýzu, která bývá citlivější a přesnější.

V našem případě jsme zkoušeli diagnostikovat gastrointestinální hlístice pomocí molekulární metody RT-PCR. V diplomové práci jsme se zaměřili na 6 druhů hlístic (*Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus spp.*, *Nematodirus battus*, *Chabertia ovina* a *Ashworthius sidemi*). Materiálem byly vzorky trusu od ovcí, ze kterých jsme vyizolovali gDNA. Kontrolním materiálem byla gDNA získaná z vajíček *H. contortus* a gDNA získaná z celých těl parazitů. Zkoušena byla RT-PCR s využitím fluorescenčního barviva SYBR Green I a TaqMan sondy. Výsledky analýzy s využitím barviva SYBR Green I i TaqMan sondy byly v korelaci. Ve zkoušce zkřížené reaktivity primery Hco ITS2 určené pro *H. contortus* ovšem amplifikovaly také gDNA jiných parazitů. Ostatní primery amplifikovaly zejména gDNA té hlístice, na kterou byly navrženy. Kromě primerů Hco ITS2 byly testovány také referenční geny GAPDH, NCBP a FARB, které se ukázaly jako nevhodné pro tento typ stanovení.