



SBORNÍK

8. ročníku odborné konference

**RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN
MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝMI TECHNIKAMI**

RANK 2012

1. - 2. února 2012, hotel Zlatá Štika, Pardubice

www.rank.cz

Organizační výbor konference:

Ing. František Štumor, Ph.D.
Ing. Dalibor Novotný, Ph.D.
Ing. Jaroslava Vávrová, Ph.D.
PharmDr. Jiří Skalický, Ph.D.
Ing. Barbara Štumrová
Alena Novotná

Odborný garant konference:

Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA

Sborník vydal:
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.
Hudcova 70
621 00 Brno

ISBN 80-86895-27-0

MeDiLa spol. s r.o., Štrossova 239, 530 03 Pardubice

Oddělení klinické biochemie a diagnostiky,
Pardubická krajská nemocnice a.s., Kyjevská 44, 532 03 Pardubice

Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP

ODBORNÁ KONFERENCE

RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝMI TECHNIKAMI

RANK 2012

**1. a 2. února 2012
v prostorách hotelu Zlatá Štika, Pardubice**

je pořádána pod záštitou MUDr. Štěpánky Fraňkové,
primátorky města Pardubice

a

**MUDr. Tomáše Gottwalda,
ředitele Pardubické krajské nemocnice, a.s.**

odborný garant: Prof.MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA, ÚKBLD VFN Praha

Vzdělávací akce je pořádána dle Stavovského předpisu č. 16 ČLK

Hlavními sponzory konference jsou společnosti

ROCHE s.r.o.

GeneProof a.s.

Dalšími sponzory jsou společnosti :

Abbott Laboratories s.r.o.

BAG Health Care GmbH

BIOMEDICA ČS s.r.o.

ELISABETH PHARMACON spol. s r.o.

LAB MARK a.s.

LACOMED spol. s r.o.

MEDISTA spol. s r.o.

ASCO-MED, spol. s r.o.

Bio-Consult Laboratories spol. s r.o.

DYNEX LABORATORIES s. r.o.

GeneTiCA s.r.o.

LABOSERV s.r.o.

Life Technologies Czech Republic, s.r.o.

PROGRAM

1. února 2012 **středa**

10:00 – 12:30 **Registrace**

13:00 – 13:15 **Zahájení**

13:15 – 13:45 **Úvodní sdělení**

Doc.MUDr. Stanislav Plíšek, Ph.D., Klinika infekčních nemocí, LF a FN Hradec Králové

Skrytá hrozba nebo zbytečná panika ?

13:45 – 15:15 **Problematika diagnostiky nových nebezpečných infekcí**

Marejková M.

Průkaz kmene EHEC pomocí molekulárně-biologických metod a jeho klinický význam

Mrázek J., Zelená H., Cignová A., Kloudová A., Petroušová L.

Úskalí laboratorní diagnostiky hantavirových infekcí

Petroušová L., Mrázek J., Kloudová A., Zelená H.

Hantavirózy, kazuistiky našich pacientů

Piskunova N., Trubač P., Šimerová E., Jakubcová M., Mikešová A.

Možnosti molekulární diagnostiky enterovirových infekcí

15:15 – 15:30 **Přestávka**

15:30 – 16:30 **Využití detekce papillomavirů**

Tachezy R., Šmahelová J., Saláková M., Hamšíková E.

Kontroverze v HPV diagnostice a očkování

Kašpírková J.

Molekulárně biologická detekce HR-HPV u karcinomů hlavy a krku - naše zkušenosti

16:30 – 16:45 **Přestávka**

16:45 – 18:30 **Panelová diskuse**

Technologické a metodické pokroky v molekulární biologii
moderuje František Štumar

19:30 – 23:00 **Společenský večer**

2. února 2012 **čtvrtek**

8:30 – 9:45 **Analýza humánního genomu**

Čejnová V., Wilimská M., Harmaš V., Stará M., Soukupová M., Klímová A.,
Laštůvková J.

Triploidie v prenatalní diagnostice

Hodslavská V., Gajdošová P., Babjaková L., Vohnout B., Rašlová K., Bóday A.,
Richterová R.

Genetické aspekty familiární hypercholesterolemie

Beránek M., Hegerová J., Drastiková M.

**Příspěvek k validaci preanalytické fáze DNA analýzy pro „alternativní“
biologické materiály.**

Slavkovský R.

**Profilování transkriptómu v průběhu hojení prasečí rány. Možnosti použití pro
vývoj prostředků na hojení ran.**

9:45 – 10:00 **Přestávka**

10:00 - 11:15 **Nové laboratorní technologie**

Kohnová I.

Praktické využití techniky MALDI-TOF v mikrobiologii

Vohánka J.

Význam nextgen sekvenace

Kuchta T.

**Jednoskúmavková vnorená polymerázová reťazová reakcia s priebežnou
fluorometriou - metóda s potenciálom zvýšenej citlivosti detekcie**

Hložek P., Dendis M, Baryal A.

**Využití výsledků analýz panelů externí kontroly kvality (EHK) v běžné
laboratorní praxi**

11:15 – 11:45 **Posterová sekce**

Sleha R., Mosio P., Laláková L., Uříčářová Z., Mazurová J.

**Výskyt Mycoplasma hominis a Ureaplasma urealyticum v urogenitálním traktu
mužů a žen z Centra asistované reprodukce SANUS Pardubice.**

Hložek P., Dendis M., Baryal A., Bednář J.

**Vliv externí kalibrace na přesnost kvantitativního stanovení při využití Real
Time PCR systému pro detekci viru Hepatitidy B**

Pejchalová M., Kalátová M., Borovská K., Vytřasová J.
Studie různých vlivů podílejících se na produkci stafylokokového enterotoxinu H (SEH)

Jahelková R., Pejchalová M., Bunček M., Libra A.
Optimalizace reverzní transkripce pro měření genové exprese

11:45 – 12:15 **Přestávka**

12:15 – 13:45 **Varia**

Křístek J., Studený P.
Průkaz DNA Chlamydia (Chlamydophila) pneumoniae v klinickém materiálu Real-Time PCR.

König J.
Perinatální (kongenitální ?!) virové hepatitidy - atypické laboratorní nálezy

Trubač P., Piskunova N., Šimerová E., Jakubcová M., Mikešová A.
Záchyt kongenitální infekce pomocí sekvenace bakteriální 16S rRNA

Vašíčková P., Králík P., Pavlík I.
Detekce a genotypizace viru hepatitidy E u lidí a zvířat v České republice

Slaný M.
Kultivačně nezávislá detekce *Mycobacterium marinum* jako původce kožních infekcí u lidí

13:45 – 14:00 **Závěr**

Doc. MUDr. Stanislav Plíšek, Ph.D.

Klinika infekčních nemocí
Fakultní nemocnice Hradec Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové

tel: +420 495 833 953

e-mail: pliseks@fnhk.cz

Vysoce nakažlivé nákazy z pohledu klinika

Plíšek S.¹, Szanyi J.¹, Plíšková L.²

¹ Klinika infekčních nemocí, FN Hradec Králové

² Ústav klinické biochemie a diagnostiky, FN Hradec Králové

Vlivem svobodné možnosti cestování se i v našich podmínkách můžeme setkat s vysoce nakažlivými nákazami (VNN) jako s importem z oblastí jejich endemického výskytu. Další možností, ne čistě teoretickou, jsou úvahy o možném zneužití biologických zbraní, které dostaly reálnou podobu po teroristických útocích na města v USA 11. září 2001. Zdravotníci ve vyspělých státech světa si jsou vědomi nebezpečí zavlečení VNN do „normální“ populace. Jsou připravovány systémy detekce a identifikace jednotlivých patogenů. Je snaha vytvořit integrované záchranné systémy, vycházející z různých krizových plánů. V našich podmínkách ČR jde o eventuální aktivaci vojenského zařízení Centra biologické ochrany v Těchoníně. Praktický dopad zavlečení VNN je stále obtížně odhadnutelný.

Ing. Monika Marejková

NRL pro *E. coli* a shigely
Centrum epidemiologie a mikrobiologie
Státní zdravotní ústav
Šrobárova 48
100 42 Praha

3.Lékařská fakulta UK v Praze
Ruská 87
100 00 Praha 10

tel: +420 267 082 223
e-mail: monmarej@szu.cz

Průkaz kmene EHEC pomocí molekulárně-biologických metod a jeho klinický význam

Marejková M.

NRL pro *E. coli* a shigely, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, SZÚ Praha

Enterohemoragické kmeny *Escherichia coli* (EHEC), pro člověka vysoce virulentní podskupina shiga/verotoxigenních *E.coli* (STEC/VTEC), patří k nejzávažnějším patogenům z čeledi *Enterobacteriaceae*. Jsou původci hemoragických i nekrvavých průjmů a hemolyticko-uremického syndromu (HUS), v některých těžkých případech i s fatálním koncem. Hlavním faktorem virulence těchto kmenů jsou cytotoxiny, zvané Shiga toxiny. Existují dva antigenní typy, které se dělí do několika subtypů, z nich jenom část je spojena se schopností vyvolat HUS. Nejvýznamnější séro skupiny EHEC uváděné ve světové literatuře jsou O157 a dále O26, O103, O111, O145, O91, O113, O121.

V květnu až v červenci tr. proběhla v Německu velká epidemie (téměř 4000 případů), vyvolaná enteroagregativní-enterohemoragickou *E. coli* (EAHEC) O104:H4.

V NRL pro *E. coli* a shigely se věnujeme detekci genů kódujících Shiga toxiny a další faktory virulence (*eae*, EHEC-*hly* atd.) u supspektních kmenů EHEC pomocí PCR od roku 2006. Dále využíváme metody PCR-RFLP ke zjištění bičíkového antigenu u nepohyblivých kmenů *E. coli*. Metodou PCR také provádíme průkaz genů kódujících lipopolysacharid nejčastějších séro skupin EHEC.

Zasílané kmeny jsou izolovány od pacientů s diagnózou průjem/krvavý průjem/HUS. Nejčastěji se jedná o děti v rozmezí od 0 do 5 let věku. Vážné onemocnění HUS bylo pediatry diagnostikováno téměř u poloviny pacientů. V jednom případě se jednalo o importovanou nákazu u 62leté pacientky - americké turistky, která se infikovala epidemickým kmenem EAHEC O104:H4 při pobytu v severním Německu.

I v České republice jsou kmeny EHEC popisovány jako příčina závažného onemocnění HUS a hemoragických kolitid. V našem souboru máme zaznamenaný případ těžkého průběhu této infekce u dvouleté dívky, který skončil úmrtím pacientky. Původcem byl kmen EHEC O26:H11 s produkcí Stx 2. Včasná detekce genů kódujících Shiga toxiny má zásadní význam pro včasné stanovení diagnózy a nasazení vhodné terapie.

Autoři děkují doc. Martině Bielaszewske, z Institut für Hygiene Universität Münster, Německo, za všestrannou nezištnou pomoc při řešení této problematiky. Paní Miluši Vašákové patří dík za technickou asistenci.

Mgr. Jakub Mrázek

Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě
Centrum klinických laboratoří
Odd. molekulární biologie
Partyzánské nám. 7
702 00 Ostrava

tel: +420 596 200 266
e-mail: jakub.mrazek@zuova.cz

Úskalí laboratorní diagnostiky hantavirových infekcí

Mrázek J.¹, Zelená H.², Cignová A.¹, Kloudová A.¹, Petroušová L.³

¹ Zdravotní ústav Ostrava, Oddělení molekulární biologie

² Zdravotní ústav Ostrava, Oddělení virologie

³ Fakultní nemocnice Ostrava, Klinika infekčního lékařství

Hantaviry, rod spadající do čeledi *Bunyviridae*, patří mezi tzv. nově se objevující (emerging) viry. Tyto obalené viry, obsahující jednovláknitou RNA s negativní polaritou rozdělenou do tří segmentů, způsobují u lidí dva závažné klinické syndromy: hemoragickou horečku s renálním syndromem (HFRS) a hantavirový kardiopulmonární syndrom (HCPS). Zdrojem nákazy jsou hlodavci (rezervoár hantavirů) a k nákaze člověka dochází obvykle vdechnutím prachu kontaminovaného výměšky infikovaných hlodavců, případně kousnutím.

Laboratorní diagnostika hantavirových infekcí je komplikovaná faktem, že se jedná o rod zahrnující celou řadu druhů hantavirů, obvykle vázaných na určitého hostitele se specifickou geografickou vazbou. Klinicky a epidemiologicky nejvýznamnějšími druhy jsou Hantaan virus, Seoul virus, Dobrava virus, Puumala virus a Saarema virus způsobující různé závažné formy HFRS v Asii a Evropě a Sin Nombre virus a Andes virus způsobující HCPS v Americe. Sérologická diagnostika umožňuje potvrzení etiologické diagnózy stanovením specifických IgM a IgG protilátek v séru. Jednotlivé druhy však mohou v sérologických testech pro velkou vzájemnou příbuznost zkříženě reagovat. Za účelem druhové identifikace hantavirů, či pro případné epidemiologické studie, je proto vhodné využít metod molekulární biologie, především RT-PCR a sekvenace. I zde však narážíme na celou řadu úskalí: včasný odběr vhodného klinického materiálu (relativně krátká a nízká virémie), dodržení preanalytické fáze (snadná degradace virové RNA) či vhodně navržené primery (vysoká míra sekvenční variability genomu, možný výskyt nových variant hantavirů, použití vícenásobně degenerovaných primerů).

MUDr. Lenka Petroušová

Klinika infekčního lékařství
Fakultní nemocnice Ostrava
17. listopadu 1790
708 52 Ostrava - Poruba

tel: +420 597 374 253
e-mail: lenka.petrousova@fno.cz

Hantavirózy, kazuistiky našich pacientů

Petroušová L.¹, Mrázek J.², Kloudová A.², Zelená H.³

¹ Fakultní nemocnice Ostrava, Klinika infekčního lékařství

² Zdravotní ústav Ostrava, Oddělení molekulární biologie

³ Zdravotní ústav Ostrava, Oddělení virologie

V našem sdělení prezentujeme kazuistiky 4 pacientů s hantavirózou. Rozptyl klinických příznaků byl velký od těžkého septického stavu s nutností hemodialýzy, umělé plicní ventilace až po téměř inaparentní průběh bez renální insuficience pouze s trombocytopenií a leukopenií. V epidemiologické anamnéze se téměř vždy dal vystopovat kontakt s hlodavci. Onemocnění proběhlo jednotlivě, ani rodinní příslušníci, kteří obývali stejné prostory neonemocněli.

V diferenciální diagnostice febrilních stavů s klinickým obrazem gastroenteritidy, ale laboratorně s výraznou renální insuficiencí, která neodpovídá stavu dehydratace, je nutné vždy zvažovat i hantavirovou etiologii. K diagnostice přispívá i výrazná trombocytopenie bez výraznější elevace zánětlivých parametrů. K diagnostice hantavirózy využíváme sérologii i přímou diagnostiku PCR.

Ing. Natalja Piskunova, CSc.

Laboratoř molekulární biologie a genetiky
Nemocnice České Budějovice, a.s.
B. Němcové 54
370 01 České Budějovice

tel: +420 387 873 021
e-mail: piskunov@nemcb.cz

Možnosti molekulární diagnostiky enterovirových infekcí

Piskunova N., Trubač P., Šimerová E., Jakubcová M., Mikešová A.

Nemocnice České Budějovice, a.s.

Enteroviry jsou jedny z nejčastějších původců neuroinfekcí. Včasná a přesná detekce a identifikace je důležitá při posuzování klinického stavu pacienta a případné léčby. I když většina aseptických meningitid nezpůsobuje výrazné komplikace, existuje řada závažných průběhů enterovirových onemocnění.

V naší laboratoři provádíme diagnostiku enterovirů pomocí home made RT nested PCR a Real time PCR převážně z mozkomíšních moků, dále z krví, sput, stěrů. Vzhledem k závažnosti některých případů jsme zavedli typizaci pozitivních nálezů EV-RNA sekvenováním PCR produktů (část 5' nekódojící oblasti).

Mezi přibližně čtyřiceti osekvenovanými vzorky většinu tvoří kmeny Echovirus 30, Echovirus 9, Coxsackie B. Podařilo se nám též zachytit několik kmenů Enterovirus 71, který vyvolal již několik velkých epidemií ve východní Evropě a v jihovýchodní Asii a menší epidemie v Severní Americe a Evropě. Tento serotyp má narozdíl od jiných enterovirů schopnost pronikat do cévního systému mozkového kmene, mozečku a míchy, což vede k řadě závažných problémů, jako jsou chabá obrna, tremor, syndrom akutního otoku plic a jiné.

Prezentujeme krátké kazuistiky, na kterých demonstrujeme značnou rozmanitost klinických příznaků u nemocných. Infekční a epidemiologické souvislosti vzniku jednotlivých onemocnění často mohou unikat pozornosti, a proto je třeba více se věnovat přesné laboratorní diagnostice enterovirů včetně jejich typizace.

RNDr. Ruth Tachezy, Ph.D.

Ústav hematologie a krevní transfuze
Oddělení experimentální virologie
NRL pro papillomaviry
U Nemocnice 1
128 20 Praha 2

tel: +420 221 977 222
e-mail: rutach@uhkt.cz

Kontroverze v HPV diagnostice a očkování

Tachezy R., Šmahelová J., Saláková M., Hamšíková E.

NRL pro papillomaviry, ÚHKT Praha

V rámci tohoto sdělení se zaměříme na otázky týkající se diagnostiky HPV: kdy je vhodné HPV diagnostikovat, kdy je vhodné provádět typizaci HPV, jaké testy je možné a vhodné použít, jak vybrat vhodný test, otázka kontroly kvality v laboratořích a obecně správné laboratorní praxe v případě diagnostiky HPV, detekce HPV u mužů, úhrada HPV vyšetření od zdravotních pojišťoven.

Druhá část přednášky se bude týkat otázek souvisejících s očkováním proti HPV: shrnutí nejnovějších výsledků klinických zkoušek HPV vakcín, otázka optimálního věku vakcinace, volba vakcíny, vakcinace již pohlavně žijících žen, očkování mužů, vakcinace po léčbě HPV vyvolaných onemocnění.

RNDr. Jana Kašpírková

Bioptická laboratoř s.r.o.
Mikulášské nám. 4
326 00 Plzeň

tel: +420 737 220 433
e-mail: kaspirkova@medima.cz

Molekulárně biologická detekce HR-HPV u karcinomů hlavy a krku - naše zkušenosti

Kašpírková J., Ondič O., Martínek P.

Bioptická laboratoř s.r.o., Plzeň

Karcinomy hlavy a krku představují šestou nejčastější formu malignity v celosvětovém měřítku. Většinu z těchto neoplazií (90%) tvoří dlaždicobuněčné karcinomy hlavy a krku (HNSCC). V nedávné době se k dobře známým rizikovým faktorům vzniku HNSCC, což je konzumace alkoholu a tabáku, přidala infekce HR-HPV, a to zejména u orofaryngeálního karcinomu (OPC). Mnohé vědecké studie prokázaly rozdílnou etiologii a epidemiologii HR-HPV asociovaných OPC a zejména díky klinicko-patologickým odlišnostem jsou pokládány za specifickou podskupinu HNSCC. Přestože jsou HR-HPV asociované HNSCC často diagnostikovány v klinicky pokročilém stadiu (III-IV), ve většině případů je prognóza pacienta příznivější ve srovnání s pacienty s HNSCC neasociovaných s HR-HPV. HPV status u HNSCC by proto měl být standardní součástí patologického nálezu, neboť je důležitým faktorem pro klinickou predikci a léčebnou strategii.

V běžné patologické praxi se HR-HPV ve tkáni detekuje více molekulárně biologickými metodikami s rozdílnými výsledky. Při volbě detekčního algoritmu je třeba brát v úvahu biologickou podstatu transformující HPV infekce.

Nejčastějším materiálem je tkáň fixovaná ve formalínu a zalitá do parafinového bloku, což je omezujícím faktorem vyšetření zejména díky kvalitě nukleových kyselin v preparátu. Většina prací se opírá a kombinaci několika metod, nicméně standard průkazu stanoven zatím nebyl.

Na souboru 29 pacientů s HNSCC z konzultačního fondu bioptické laboratoře je prezentován výsledek detekce HR-HPV při využití několika molekulárně biologických technik. Jedná se o průkaz HR-HPV DNA pomocí PCR, se zaměřením na detekci cílenou do různých oblastí genomu HPV, určení transkripční aktivity onkogenů průkazem specifické mRNA metodou RT-PCR a imunohistochemický průkaz exprese p16. Prezentovány jsou i případy velmi vzácných tumorů HNSCC, u kterých je etiologie neznámá.

Mgr. Vlasta Čejnová

Oddělení lékařské genetiky
Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.
Sociální péče 3316/12A
401 13 Ústí nad Labem

tel: +420 477 112 471
e-mail: vlasta.cejnova@mnul.cz

Triploidie v prenatální diagnostice

Čejnová V., Wilimská M., Harmaš V., Stará M., Soukupová M., Klímová A., Laštůvková J.

Oddělení lékařské genetiky, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.

Triploidie patří k nejčastějším chromozomálním aberacím u spontánně potracených plodů v prvním trimestru gravidity. Plody jsou zpravidla těžce malformované a postižené mnohočetnými abnormalitami vnitřních orgánů. V somatických buňkách jsou přítomny tři haploidní sady chromozomů. Nadpočetná sada chromozomů může být otcovská (dispermie, diandrie) nebo mateřská (digynie). Vývoj plodu i placenty je závažně narušen. V některých případech se z triploidní zygoty plod téměř nevyvíjí, ale již v počátku gravidity dochází k abnormální proliferaci choriových klků, takže placenta se změnila v neorganizovanou masu označovanou jako parciální hydatidózní mola.

Mezi charakteristické klinické znaky triploidie patří těžká intrauterinní růstová retardace, makrocefalie, syndaktylie třetího a čtvrtého prstu a defekty srdce, ledvin a CNS. Vzácně se rodí jedinci, kteří mají triploidní buňky v mozaice s normálními buňkami. Všichni jsou mentálně retardovaní, mají nápadné syndaktylie, abnormální genitálie (při karyotypu 69,XXY) a další výrazné dysmorfické znaky. Několik jedinců s triploidní chromozomovou výbavou se narodilo živě, ale přežívali jen velmi krátce po porodu.

K určení původu nadpočetné sady chromozomů byla použita metoda kvantitativní fluorescenční PCR (*quantitative fluorescent PCR*, QF-PCR). Tato metoda je založena na typizaci chromozomů specifickými trimerickými a tetramerickými nukleotidy. Tyto sekvence DNA jsou značeny fluorescenčně a jsou prezentovány polymorfismy sekvencí mikrosatelitní DNA (STR markery – *short tandem repeats*). STR markery jsou rovnoměrně rozprostřeny po všech chromozomech, jejich kombinace je unikátní pro každého jedince a dědí se z rodičů na potomky.

V přednášce uvádíme chromozomální, ultrazvukový, patologický nález a určení původu u třech případů prenatálně diagnostikovaných triploidii.

Bc. Veronika Hodslavská

P&R Lab a.s.
Laboratoř molekulární biologie
Revoluční 2214/35
741 01 Nový Jičín

tel: +420 556 416 233
e-mail: veronika.hodslavska@pr-lab.cz

Genetické aspekty familiární hypercholesterolemie

Hodslavská V.¹, Gajdošová P.², Babjaková L.², Vohnout B.³, Rašlová K.³, Bóday A.¹, Richterová R.¹

¹ Laboratoř molekulární biologie, P&R Lab a.s., Komplexní onkologické centrum, Nový Jičín

² Gendiagnostica Bratislava, s.r.o.

³ Národné referenčné centrum pre familiárnu hyperlipoproteinemiu, SZÚ

Familiární hypercholesterolemie (FH) je autozomálně dominantní onemocnění, projevující se zvýšenou hladinou LDL-cholesterolu v krevní plazmě. Frekvence výskytu onemocnění v heterozygotní formě je 1: 500 (asi 20.000 osob v České republice) a řadí se tak k nejčastějším vrozeným poruchám metabolismu. Homozygotní forma je vzácná.

FH je klasifikována dle vyvolávající příčiny vedoucí k poruše katabolismu LDL cholesterolu. Nejčastěji jde o poruchu na úrovni samotného LDL receptoru, dále je za onemocnění zodpovědná mutace v genu pro apolipoprotein (apo) B-100 a mutace v genu pro proprotein konvertázu subtilisin/kexin 9. Přítomnost kauzální mutace vede k poruše vychytávání LDL cholesterolu z krevního řečiště, který se hromadí v plazmě a poškozuje cévy. Zvýšená koncentrace cholesterolu v plazmě má za následek předčasnou manifestaci ischemické choroby srdeční, mnohdy s fatálními následky.

Diagnostika FH se opírá o klinické a laboratorní vyšetření. V rodinné anamnéze se pátrá po vysokém cholesterolu, šlachových xantomech, předčasné ischemické chorobě (muži do 50 let, ženy do 60 let věku) a pravidelně se sledují biochemické markery.

DNA pacientů byla izolována z nesrážlivé krve. V prvním kroku byla provedena genotypizace apoE a přímá detekce mutace R3500Q v genu pro apolipoprotein B100. Cílená analýza byla provedena metodou real-time PCR za použití FRET sond.

Ve druhém kroku bylo u selektovaných pacientů postupně uskutečněno vyhledávání mutací a velkých přestaveb v genu pro LDL receptor. Kódující sekvence a exon-intronové oblasti *LDLR* genu byly po PCR přímo sekvenovány. Velké přestavby byly analyzovány metodou MLPA.

V tomto sdělení popisujeme vyšetřovací algoritmus familiární hypercholesterolemie a následně budeme prezentovat výsledky molekulárně genetických analýz 144 pacientů ze Severní Moravy a ze Slovenska.

Doc. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF a FN Hradec Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové

tel: +420 495 833 040
e-mail: beranek@lfhk.cuni.cz

Příspěvek k validaci preanalytické fáze DNA analýzy pro „alternativní“ biologické materiály

Beránek M., Hegerová J., Drastíková M.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Standardní operační protokoly v molekulárně biologických laboratořích by měly obsahovat informace o provedené validaci preanalytické fáze. Tyto informace se týkají zejména izolace nukleových kyselin z řidčeji používaných, tzv. „alternativních“, biologických materiálů, pro které výrobce neposkytuje izolační soupravy opatřené CE značkou. V naší studii jsme se zaměřili na bukální stěry, močový sediment, nehty a vlasové kořínky, a porovnali z nich získanou DNA s extrakty z periferních krevních buněk. K izolaci jsme použili biologický materiál 24 dobrovolníků s jejich informovaným souhlasem. DNA byla izolována fenol-chloroformovou metodou a pomocí separačních mikrokolonek (Qiagen). Extrakty byly charakterizovány spektrofotometricky, fluorimetricky, elektroforeticky a z hlediska účinnosti následné PCR amplifikace. Nejvyšší koncentrace DNA obsahovaly extrakty z buněk periferní krve (fenol 104 ng/μl; kolonky 79 ng/μl) a bukální sliznice (89 ng/μl; 32 ng/μl); nejnižší koncentrace DNA byly vyizolovány z vlasových kořínků (16 ng/μl; 6 ng/μl). Všechny typy extraktů měly uspokojivou průměrnou čistotu (1,7–1,9). Procentuální zastoupení nefragmentovaných molekul klesal následovně: krev (73 %) > bukální sliznice (63 %) > močový sediment (31 %) > nehty (25 %) > vlasy (20 %). Amplifikační účinnost při real-time PCR a při standardní PCR byla u extraktů z periferní krve, bukálního stěru a močového sedimentu vyšší než u extraktů z nehtů a vlasů. Přestože všechny použité extrakty poskytly dostatek DNA pro molekulárně biologická vyšetření, nejvhodnějším „alternativním“ materiálem byly buňky bukální sliznice.

Studie byla finančně podpořena grantovým projektem IGA MZ ČR NT11334-4/2010.

Ing. Rastislav Slavkovský

Lékařské a kosmetické aplikace
CPN spol. s r. o.
Contipro Group Holding
Dolní Dobrouč 401
561 02 Dolní Dobrouč
www.contipro-group.cz

tel: +420 465 519 586
e-mail: slavkovsky@contipro.cz

Profilování transkriptomu v průběhu hojení ran.

Slavkovský R., Stejskalová J., Pavlík V., Kučera J., Klein P., Velebný V.

CPN spol. s r. o., Contipro Group Holding

Hojení ran je mimořádně složitý proces. Zahrnuje aktivaci koagulačního systému, zánět, angiogenezi, fibrogenezi, epitelizaci a maturaci jizvy. Několik typů buněk je zapojeno do tohoto procesu. Cílem této práce bylo objasnění celogenomového profilu exprese mRNA (transkriptomu) v experimentálních akutních kožních ranách v čase u prasete, které je velmi dobrý model lidské fyziologie kůže.

Střed granulační tkáň anebo jizvy byl studován ve dnech 3, 7, 14, 21, 35 a 70 po zranění a porovnáván s intaktní kůží. Každý interval měl 4 biologická opakování. Analýza byla provedena pomocí Agilent 4x44K Sus scrofa microarray-í vyrobených na zakázku dle nejnovějších dostupných databází ENSEMBL a NCBI RefSeq. Čipy obsahovaly 44 tis. sond pro 31 tis. transkriptů. Data byla analyzována pomocí softwaru Acuity 4.0 a ArrayStar 4.0.

Ukázalo se, že více než 5 tisíc transkriptů signifikantně změnilo expresi více než 2krát v ráně v 7. dni po poranění ve srovnání s intaktní kůží. Tento počet se v pozdějších fázích hojení rány snižoval. Ve fázi otevřené rány (den 3. až den 14.), byla zvýšená přítomnost produktů genů zánětlivé reakce, a to hlavně interleukinu-8. Transkripty mRNA pro keratiny byly sniženy. Ve fázi jizvy (den 21. až den 70.) byla zvýšená exprese genů mezibuněčné hmoty. Byly studovány také geny spojené s angiogenezí, které byly exprimované zejména 7. den. Tato práce navrhuje a popisuje několik markerů reparace rány, které mohou být dále studovány cílenějšími jedno-markerovými metodami jako je imunochemie, detekce proteinu, qPCR a pod.

Znalost transkriptomu v akutní experimentální ráně u prasete poskytuje hlubší pohled do procesů hojení rány, s možností extrapolace na hojení lidských ran. Znalost transkriptomu taky poskytuje nástroj pro hodnocení účinku látek na hojení ran a hodnocení jejich efektivity.

MUDr. Mgr. Ivana Kohnová

Středomoravská nemocniční a.s.
Nemocnice Prostějov
OLM – úsek mikrobiologie
Mathonova 291/1
796 04 Prostějov

tel: +420 582 315 586
e-mail: ivana.kohnova@nempv.cz

Praktické využití techniky MALDI-TOF v mikrobiologii

Kohnová I.

Nemocnice Prostějov

Princip:

Hmotnostní spektrometrie (MS) je fyzikálně-chemická metoda, která určuje hmotnosti atomů, molekul a molekulových fragmentů po jejich převedení na ionty. Přístroj, který tuto metodu provádí se nazývá hmotnostní spektrometr.

Hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF byla původně vyvinuta v biochemickém oboru pro analýzu peptidů a bílkovin o nízké molekulové hmotnosti (do 3 000).

Po dvou desetiletích studia se zjistilo, že k ionizaci vzorku laserem je třeba zajistit efektivní a kontrolovatelný přenos energie na vzorek a zároveň zamezit jeho tepelnému rozkladu.

Obě podmínky jsou splněny v těchto případech:

- Molekula rezonančně absorbuje při vlnové délce laseru, to znamená, že energie fotonů laseru je rovna energii potřebné k vybuzení dané molekuly a tím i k její ionizaci,
- Přenos energie se děje ve velmi krátkém čase, řádově v jednotkách až desítkách nanosekund.

Jsou-li molekuly vzorku ionizovány laserem přímo, zejména ty s vyšší molekulovou hmotností, většinou se štěpí nežádoucím způsobem. Proto se k ionizaci laserem takových molekul začalo používat matrice (MALDI - matrix assisted laser desorption/ionization) v kombinaci s detektorem doby letu (TOF time-of-flight). Detektor umožňuje změřit dobu průletu a z ní lze vypočítat hmotnost částice. Zkoumaná látka je kokrytalizována v pevné matici (kyselina skořicová), která je v hlubokém vakuu ozářena krátkým laserovým pulsem o vlnové délce 337 nm po dobu 3 ns, kdy dojde ke vzniku iontů (neutrálních, kladně i záporně nabitých) a jejich proud je usměrněn do analyzátoru doby letu.

Ionizace laserem přes matici umožňuje měřit molekulové hmotnosti více látek v tomtéž vzorku, což dosud nešlo. V měření ani tak nepřekáží běžné pozadí biologických a biochemických vzorků jako například soli, pufrální roztoky či denaturační činidla.

Postup:

Malé množství čisté bakteriální kultury narostlé na tuhém kultivačním agaru se aplikátorem přenesou ve velmi tenkém filmu na leštěnou ocelovou destičku a zakape se malým množstvím kyseliny skořicové a nechá se zaschnout. Poté se destička vloží do přístroje, navolí se nutné parametry a během několika minut je znám název taxonu požadovaného bakteriálního kmene. Určení probíhá po změření bílkovinného spektra a jeho srovnání s databází taxonů, která je nedílnou součástí SW přístroje.

Zavedení přístroje do praxe:

V naší laboratoři používáme MALDI-TOF Biotyper firmy Bruker Daltonics od 9. 11. 2010 k identifikaci vykultivovaných bakterií. Denně provedeme přibližně 100 identifikací až na úroveň bakteriálních druhů. Dříve jsme identifikovali bakterie pomocí biochemických testů či identifikačních jednoduchých metod, jejichž výsledek je znám nejdříve do 24 hodin.

Použití MALDI-TOF je rychlejší, zdá se i přesnější a pomineme-li pořizovací cenu přístroje, pak i levnější. Jedná se o převratný vynález pro obor mikrobiologie, který určitě časem nahradí složité biochemické identifikační systémy. V budoucnu zajisté však vznikne problém s výukou mikrobiologie

nejen vysokoškolsky vzdělaných pracovníků, ale i laborantů - zejména v souvislosti s biochemickými identifikačními znaky bakterií, které jsou zatím nedílnou součástí identifikace – např. testy zkvašování cukrů, produkce plynu, sirovodíku, pozitivní oxidázová reakce apod., bez kterých si rutinní mikrobiologickou praxi snad ani nelze představit.

Závěr:

V současné době nepřekonatelný identifikační systém nejčastějších humánně významných bakterií na úroveň rodu i druhu, který je zásadním milníkem v bakteriologii. Přes veškerá úskalí, která jsou spojena s jeho užíváním, je jeho přítomnost na mikrobiologických pracovištích obrovským přínosem. Na americkém kontinentě i v západní Evropě se stává naprosto rutinní součástí laboratoří a je jen otázkou času, kdy tomu tak bude i u nás. Bez MALDI-TOF je práce v naší laboratoři nepředstavitelná.

Ing. Jaroslav Vohánka, Ph.D.

Roche s.r.o.
Karlovo nám. 17
120 00 Praha 2

tel: +420 724 483 607
e-mail: jaroslav.vohanka@roche.com

Význam nextgen sekvenace

Vohánka J.

Roche s.r.o., Praha

Nová generace sekvenování /nextgen sequencing/ zažívá v poslední době velký rozvoj. Na jedné straně jsme svědky nárůstu kapacity a kvality sekvenovaných dat, na straně druhé nárůstu požadavků na bioinformatické zpracování. Výsledkem této situace je velmi často zmiňovaný názor, že v současné době není nextgen sekvenace vhodná pro aplikace v rutinní molekulární laboratoři. Předmětem sdělení proto bude ukázka hlavních aplikací a možností praktického využívání nextgen sekvenátoru GS Junior pro diagnostiku v rutinní laboratoři a diskuse zda-li je výše uvedený názor skutečně pravdivý.

RNDr. Tomáš Kuchta, DrSc.

Výskumný ústav potravinársky
Priemyselná 4
824 75 Bratislava

tel: +421 250 237 167
e-mail: kuchta@vup.sk

**Jednoskúmavková vnorená polymerázová reťazová reakcia s priebežnou fluorometriou -
metóda s potenciálom zvýšenej citlivosti detekcie**

Kuchta T.

Oddelenie mikrobiológie a molekulárnej biológie, Výskumný ústav potravinársky, Bratislava

Jednoskúmavková vnorená polymerázová reťazová reakcia (PCR) s priebežnou fluorometriou (single tube nested real-time PCR) je nová metóda ktorá v určitých aplikáciach umožňuje zvýšenie citlivosti detekcie špecifických DNA markérov, bez zvýšenia rizika kontaminácie laboratórneho prostredia. Metóda je založená na použití dvoch párov primérov v jednej reakčnej skúmavke, ktorých odlišná teplota príľnutia zabezpečuje ich aktivnosť v prvej a druhej fáze PCR, a 5'-nukleázovej sondy typu TaqMan. Metóda sa ukázala ako užitočná pri vysokocitlivej detekcii patogéna *Cryptosporidium parvum* a alergénnych arašidov.

RNDr. Pavel Hložek

GeneProof, a.s.
Viniční 235
615 00 Brno

tel: +420 604 618 832
e-mail: hlozek@geneproof.com

Využití výsledků analýz panelů externí kontroly kvality (EHK) v běžné laboratorní praxi

P. Hložek¹, M. Dendis², A. Baryal³

^{1,2,3}GeneProof a.s.

V současnosti je již běžnou praxí použití panelů externí kontroly kvality, jako užitečného nástroje pro mezilaboratorní srovnání úrovně kvality práce jednotlivých klinických laboratoří.

Na poli molekulární mikrobiologie využívající DNA/RNA amplifikační techniky je dnes k dispozici několik standardizovaných EHK panelů od tuzemských i zahraničních dodavatelů. Mezi nejvýznamnější a v České republice nejvíce používané patří panely SZU, INSTAND a QCMD. Kvalita všech zmíněných panelů je na dobré úrovni stran kompozice a množství vzorků určených pro validace jednotlivých PCR technik. Výše uvedené panely se ovšem liší v části určené analýze dodávaných výsledků napříč celým spektrem zúčastněných laboratoří.

V laboratořích GeneProof se zaměřujeme především na hodnocení panelů QCMD ve vztahu k našim PCR kitům. Na základě podrobných analýz těchto panelů jsme zjistili, že nemusí sloužit pouze pro „prosté“ srovnání úspěšnosti laboratoře s ostatními, ale zároveň nám mohou dát přímý návod k nápravě vlastních laboratorních postupů ve chvíli, kdy výsledky našeho hodnocení nejsou ve srovnání s ostatními ideální.

Na základě našich poznatků s hodnocením QCMD panelů jsme vytvořili postup průběžné kontroly (a případně nápravy) kvality v celém diagnostickém procesu využívajícím PCR techniky.

RNDr. Jan Křístek, CSc.

Karlovarské imunologické centrum, s.r.o.
Bezručova 10
360 01 Karlovy Vary

tel: +420 353 228 908
e-mail: j.kristek@email.cz

Průkaz DNA Chlamydia (Chlamydomphila) pneumoniae v klinickém materiálu Real-Time PCR

Křístek J.¹, Studený P.²

¹ Karlovarské imunologické centrum, s.r.o.

² Karlovarská krajská nemocnice, a.s., oční oddělení

Chlamydomphila pneumoniae je původcem závažných onemocnění. U vnímavých jedinců vyvolává záněty horních cest dýchacích – rhinitidy, pharyngitidy, záněty dutin a záněty dolních dýchacích cest. Chl. pneumoniae patří mezi bakterie, které jsou zodpovědné za vznik atypických pneumonií. Je pravděpodobnou příčinou vzniku endokarditid a myokarditid. Předpokládá se také účast tohoto patogena na zánětlivých procesech cév, které zvyšují riziko aterosklerózy a infarktu myokardu.

Laboratorní diagnostika infekcí Chl. pneumoniae je založena především na průkazu specifických protilátek. Průkaz DNA, na rozdíl od Chlamydia trachomatis je obtížný, neboť tyto bakterie rychle opouštějí místo primárního vstupu, kterým je sliznice DC. Z tohoto titulu je záchyt tohoto mikroorganismu velmi složitý. Nicméně, přímý průkaz DNA má poměrně značnou diagnostickou hodnotu, neboť svědčí o přítomnosti tohoto patogena v lidském těle.

Pokusili jsme se proto pomocí PCR detekovat DNA Chl. pneumoniae v klinickém materiálu. Vzhledem k negativním výsledkům při použití komerčních diagnostik jsme se rozhodli vytvořit vlastní in-house Real-Time PCR. Tuto PCR jsme použili k detekci Chl. pneumoniae.

DNA Chl. pneumoniae byla izolována z moče pacientů s infekty DC, z výtěru z nasopharyngu a ze spojivkového vaku u pacientů s konjunktivitidou. V období od 1.1. 2011 do 30.9. 2011 bylo provedeno 149 vyšetření DNA z moče, z toho bylo zjištěno 5 pozitivních nálezů, 34 výtěrů z nasopharyngu se 3 pozitivními nálezy, dále 127 výtěrů ze spojivkového vaku, kde byla DNA Chl. pneumoniae prokázána u 5 pacientů.

Závěr : podařilo se prokázat v ojedinělých případech Chl. pneumoniae, a to u pacientů s infekty DC a u pacientů s konjunktivitidou. Vzhledem k tomu, že se jedná o poměrně nízkou frekvenci záchytů, není možno doporučit tuto metodu k rutinnímu průkazu infekce Chl. pneumoniae. Nicméně pozitivní záchyt má z klinického hlediska mimořádný význam a proto detekce DNA Chl. pneumoniae může být užitečná v těch případech, kdy přítomnost původce onemocnění se nedaří prokázat běžnými serologickými metodami.

RNDr. Jaroslav König

VIDIA Diagnostika s.r.o.
gen. Janouška 902
Poliklinika Černý Most
198 00 Praha 9

tel: +420 281 012 027
e-mail: konig@vidia-diagnostika.cz

Perinatální (kongenitální ?!) virové hepatitidy - atypické laboratorní nálezy

König J.

VIDIA Diagnostika, Praha

Průběh parenterálně přenášených virových hepatitid B a C, včetně laboratorní diagnostiky, prognózy a indikace k léčbě, je u dětí, především novorozenců, v mnoha ohledech odlišný od průběhu a diagnostiky infikovaných dospělých (Fazal). VH jsou často řazeny mezi kongenitálně získané infekce, přestože jejich vertikální přenos není jednoznačně prokázán a k přenosu infekce dojde většinou až při porodu.

U dětí, které se narodily anti-HCV nebo HBsAg pozitivním matkám, lze infekci u novorozence odhalit pouze z přítomnosti HCV RNA, případně HBV DNA. Základním diagnostickým markerem VHC je přítomnost anti HCV protilátek, ale v prvním období života novorozence jsou specifické protilátky pasivně transplacentárně získány od matky. Pasivně přenesené protilátky přetrvávají u dítěte velmi dlouho (3-18 měsíců i déle) a nesvědčí pro aktivní infekci. U dětí infikovaných VHB je pro časnou diagnostiku v literatuře velmi málo údajů, ale hlavním diagnostickým markerem aktivní infekce je opět HBV DNA. Nevyvinutý T lymfocytární systém u novorozenců je funkčně méně aktivní především pro svojí nízkou cytotoxickou aktivitu, která dosahuje plné funkčnosti až po přesmyku TH2 na TH1 subpopulace lymfocytů tzn. po 4.-5. roce dítěte (Krejsek). Antigenní podněty na přítomné antigeny jsou proto nedostatečně zpracovávány a následkem je vznik tolerance, která ovlivňuje rozvoj infekce a samozřejmě i nepřímo laboratorní diagnostiku.

U infikovaných novorozenců nedochází z důvodu tolerance vůči virovým antigenům k aktivní tvorbě protilátek ani k uvolnění jaterních enzymů do krevního oběhu a klinicky jsou asymptomatictí. Aktivní infekci proto můžeme zjistit pouze z přítomnosti virového genomu, který se může v krvi objevit až po 3 měsících a přetrvává u dítěte do pozdějších období. U VHC se v klinických studiích obecně uvádí riziko přenosu infekce na dítě od anti HCV pozitivních matek okolo 5%. Zvýšené nebezpečí je od matek s pozitivním nálezem HCV RNA případně s koinfekcí HIV. Nebyly zaznamenány přenosy od matek anti HCV pozitivních a HCV RNA negativních, které mohou představovat skupinu s velmi nízkou replikací HCV. K přenosu na dítě dochází především perinatálně při porodu (intrapartum percutaneus) případně poraněním plodu při intrauterinních zákrocích. Průběh onemocnění je u dětí do 5 let většinou mírný, asymptomatický.

Přestože u dětí s VHC není jednoznačně prokázán přechod z jaterní fibrózy do cirhózy, doporučuje se u starších, 4-5 letých, zvážit zahájení léčby INF, případně antivirotiky. U VHB je léčba dětí pro závažnější následky doporučována.

Za dobrou prevenci se považuje docílit snížení hladiny HCV RNA (podobně HBV DNA) u matky před porodem ($<10 \times 10^2$ UI/ml) a při porodu dodržet podobná opatření jako pro HIV pozitivní matky. Někteří autoři nedoporučují vést porod císařským řezem pro nebezpečí poranění dítěte, jiní naopak. Na příklad byl pozitivní přenos HCV pozorován u 7,5% dětí při porodu císařským řezem oproti 19,2% přirozenou cestou (Aniszewska).

Prevence VHB je u dětí HBsAg pozitivních matek jednodušší, protože lze dítě ochránit již po porodu aplikací vakciny a hyperimunního séra. Přesto, pokud dojde u novorozence k rozvoji infekce VHB, přechází do chronicity až 90% dětí s vážnými následky jaterního onemocnění v dospělosti.

Literatura:

Fazal A. Danish, Salman S. et al Saudi J Gastroenterol. 2010 July; 16(3): 230–235.
Managing HCV Infection in Pediatric Age Group: Suggested Recommendations

Krejsek J, Kopecký O., Klinická imunologie 2004, Nukleus HK

Aniszewska M, Kowalik-Mikołajewska B et al., Przegł Lek. 2010;67(1):9-12. Mother-to-infant HCV transmission. Can we influence the frequency and the course of the infection?.

Mgr. Pavel Trubač

Laboratoř molekulární biologie a genetiky
Nemocnice České Budějovice, a.s.
B. Němcové 54
370 01 České Budějovice

Záchyt kongenitální infekce pomocí sekvenace bakteriální 16S rRNA

Trubač P., Piskunova N., Šimerová E., Jakubcová M., Mikešová A.

tel: +420 387 873 021
e-mail: trubac@nemcb.cz

Sekvenace bakteriální 16S rRNA je dnes již rutinně používanou diagnostickou metodou při identifikaci infekčních agens. Její univerzálnost – možnost záchytu většiny bakteriálních DNA – je velice přínosná v případě neznámého či nečekaného původce infekce. Volba cíleného PCR vyšetření na konkrétní agens je velice ztížena zejména u pacientů s nejasným či složitým klinickým obrazem, kde vyvolavatelem onemocnění může být celá řada patogenů. Amplifikace a sekvenace části podjednotky 16S rRNA se tak stává mocným a mnohdy jediným diagnostickým nástrojem.

V našem příspěvku prezentujeme zajímavý záchyt u novorozence s kongenitální infekcí.

Mgr. Petra Vašíčková

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.
Hudcova 70
621 00 Brno

tel: +420 533 331 611
email: vasickova@vri.cz

Detekce a genotypizace viru hepatitidy E u lidí a zvířat v České republice

Vašíčková P., Králík P., Pavlík I.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.

Současné epidemiologické studie charakterizují virus hepatitidy E (HEV) jako nejčastějšího původce hepatitidy non-A, non-B. Epidemie jsou popisovány v rozvojových zemích Asie, Afriky, Jižní a Střední Ameriky zejména v souvislosti s fekální kontaminací pitné nebo užitkové vody. Oproti tomu v průmyslových zemích Evropy, Ameriky i Asie byl dosud zaznamenán u lidí spíše sporadický výskyt hepatitidy E. V těchto zemích může být původ infekce spojován s pobytem infikovaných osob v rizikových oblastech výskytu HEV nebo se zoonotickým potenciálem tohoto viru. Za rizikové faktory takovýchto infekcí je považován přímý kontakt s infikovanými zvířaty, konzumace jejich nedostatečně tepelně upraveného masa a vnitřností nebo měkkýšů.

Taxonomicky HEV náleží do rodu Hepevirus, čeledi Hepeviridae. Po porovnání dostupných sekvencí HEV a jejich fylogenetické analýze je rod Hepevirus zatím rozdělen do 4 hlavních genotypů a 24 podskupin. Prokázané geografické distribuce jednotlivých genotypů, či dokonce podskupin, lze použít při epidemiologických a epizootologických studiích. Zástupci genotypů 1 a 2 byli izolováni převážně od lidských pacientů během velkých epidemií v rozvojových zemích; genotyp 1 v Asii a Africe, genotyp 2 nejčastěji v Mexiku a Africe. Genotyp 3 se vyskytuje ve spojitosti se sporadickými výskyty hepatitidy E téměř po celém světě a byl detekován také u dalších živočišných druhů (např. domácí i divoká prasata a jelení zvěř). Je u něj pozorována výrazná genetická podobnost zvířecích a lidských izolátů pocházejících ze stejných zeměpisných oblastí. Geografická distribuce genotypu 4 je limitována zejména na země Asie. Tento genotyp byl izolován jak z humánního klinického materiálu, tak od zvířat. Výrazná genetická podobnost svědčí o zoonotickém potenciálu také tohoto genotypu.

Na základě těchto údajů v České republice v současnosti probíhají studie, které jsou zaměřeny na sledování prevalence HEV u domácích i divokých zvířat, na zjištění výskytu genotypů a jejich podskupin také u lidských pacientů hepatitidou E a tak k objasnění epidemiologických dat o HEV na našem území. Tyto studie potvrdily výskyt HEV v českých chovech prasat domácích (37,5 %) a u oborně chovaných prasat divokých (8,3 %, některé lokality až 62,5 %) a muflonů (14,3 %). Fylogenetická analýza získaných zvířecích i lidských izolátů HEV odhalila jejich společné zařazení do podskupin 3g a 3f. Výrazná sekvenční podobnost vypovídá o možném mezidruhovém přenosu na našem území. Podskupinu 3e a 3i, která byla detekována pouze u pacientů s hepatitidou E, se v biologických vzorcích zvířat nepodařilo v rámci ČR prokázat.

Tato práce byla provedena s podporou grantů Ministerstva zemědělství ČR (výzkumný záměr MZE0002716202 a grant č. QH91240 Národní agentury pro zemědělský výzkum) a Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR (projekt AdmireVet č. CZ1.05/2.1.00/01.0006-ED0006/01/01).

RNDr. Michal Slaný, Ph.D.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.
Hudcova 70
621 00 Brno

tel: +420 533 331 615
email: slany@vri.cz

Kultivačně nezávislá detekce *Mycobacterium marinum* jako původce kožních infekcí u lidí

Slany M^{1.}, Jezek P.^{2.}, Bodnarova M.^{3.} and Pavlik I.¹

¹ Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.

² Oblastní Nemocnice Příbram

³ Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta a Všeobecná fakultní nemocnice

Izolace podmíněně patogenních mykobakterií (PPM) z klinických vzorků je v posledních letech čím dál častější. Tyto organismy příležitostně způsobující infekce u lidí se volně vyskytují v životním prostředí. V České republice je ročně hlášeno kolem 100 případů potvrzených mykobakteriálních infekcí (zdroj: ÚZIS). Jako nejčastější původci jsou izolováni: MAC (50 %), *M. kansasii* (20 %), *M. xenopi* (12 %) a ostatní PPM (18 %, *M. marinum*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. malmoense* aj.). Do skupiny PPM patří *M. marinum*, které je příčinou chronického progresivního onemocnění u ryb a nejčastějším původcem kožních mykobakterióz u lidí popisujících kontakt s vodním prostředím. Klasická diagnostika PPM infekcí je založena na přímém mikroskopickém vyšetření a kultivaci. V dnešní době jsou k dispozici také molekulární nástroje umožňující rychlejší a přesnější diagnostiku PPM infekcí.

V tomto sdělení bude představena kultivačně nezávislá metoda detekce *M. marinum* založená na druhově specifické duplexní real-time PCR (qPCR), která byla použita pro průkaz původce kožní mykobakteriózy u dvou lidí. U prvního pacienta (akvarista profesionál, 60 let) byla mykobakteriální infekce na prstu pravé ruky špatně diagnostikována jako revmatická artritida, která byla po dobu tří měsíců léčena methylprednisolonem. V důsledku této léčby došlo k imunosupresi a vzácnému systémovému rozšíření infekce *M. marinum*. Z primárního místa vstupu se infekce rozšířila do kloubu a kostí prstu, dále do lokte, varlat a nadvarlat. Druhý pacient (muž 25 let) si očistil poraněné koleno pomocí kartáčku běžně používaného k odstraňování biofilmu v akváriu. Toto chování vedlo ke kožní infekci způsobené *M. marinum*. Klinickým projevem infekce byly dva granulomatózními noduly.

Ve srovnání s časově náročným kultivačním přístupem poskytla použitá qPCR rychlou a citlivou detekci *M. marinum*. Použitý protokol nám umožnil dokončit analýzu vzorků do 6 hodin a je vhodný pro implementaci do laboratorní diagnostiky. Dle našich znalostí je to první případ detekce a kvantifikace *M. marinum* přímo z infikované lidské tkáně. Tento přístup mohl být také přínosem pro detekci mykobakterióz ryb v akvakulturách, kde infekce *M. marinum* způsobují ekonomické ztráty v důsledku úhynu ryb.

Práce byla podpořena granty Ministerstva zemědělství ČR (MZE0002716202 a QH91240) a Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ("AdmireVet" CZ 1.05/2.1.00/01.0006; ED0006/01/01).

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Katedra biologických a biochemických věd
Studentská 573
532 10 Pardubice

tel: +420 466 037 704
e-mail: radek.sleha@upce.cz

Výskyt *Mycoplasma hominis* a *Ureaplasma urealyticum* v urogenitálním traktu mužů a žen z Centra asistované reprodukce SANUS Pardubice

Sleha R.^{1,2}, Mosio P.¹, Hampl R.³, Bartoš M.³, Uříčářová Z.¹, Laláková L.¹, Mazurová J.¹, Štěpán J.³

¹ Univerzita Pardubice, Katedra biologických a biochemických věd, Pardubice

² Univerzita obrany, Fakulta vojenského zdravotnictví, Katedra epidemiologie, Hradec Králové

³ SANUS, Centrum asistované reprodukce, Pardubice

Mycoplasma hominis a *Ureaplasma urealyticum* jsou významnými oportunně patogenními mikroorganismy, které způsobují patologické změny v urogenitálním traktu mužů a žen. Jsou spojovány také s různými komplikacemi v období těhotenství, potraty i poporodními horečkami. V současné době je stále častěji zmiňován i jejich negativní vliv na reprodukci.

V naší studii jsme se zaměřili na sledování výskytu *Mycoplasma hominis* a *Ureaplasma urealyticum* u párů léčených v Centru asistované reprodukce SANUS Pardubice. Mykoplazmata jsme prokazovali kultivací na pevných a v tekutých půdách (PPLO) s obsahem argininu, močoviny a fenolové červeně. Výsledky byly ověřovány druhově specifickou polymerázovou řetězovou reakcí. U některých kmenů *Mycoplasma hominis* a *Ureaplasma urealyticum* jsme zjišťovali citlivost na antibiotika mikrodiluční metodou v PPLO bujónu.

Z celkového počtu 24 vyšetřených párů jsme urogenitální mykoplazmata prokázali u 11 párů (45,83 %). *Mycoplasma hominis* bylo detekováno u 1 (4,2 %) a *Ureaplasma urealyticum* u 10 (42 %) sledovaných párů. Pouze u jednoho páru jsme potvrdili současný výskyt *Mycoplasma hominis* i *Ureaplasma urealyticum*.

Práce byla realizována za podpory grantů MSM 0021627502 a SGFChT/2011.

Literatura:

1. Beeton, M. L., Chalcer, V. J., Maxwell, N. C. *et al.*: Concurrent titration and determination of antibiotic resistance in *Ureaplasma* species with identification of novel point mutations in genes associated with resistance. *Antimicrob. Agent. and Chem.*, 2009, vol. 53, p. 2020-2027
2. Gdoura, R., Kchaou, W., Chaari, C. *et al.*: *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* infections and semen quality of infertile men, *BMC Infect. Dis.*, 2007, vol 7, p. 129-137

GeneProof, a.s.
Viniční 235
615 00 Brno

tel: +420 604 618 832
e-mail: hlozek@geneproof.com

Vliv externí kalibrace na přesnost kvantitativního stanovení při využití Real Time PCR systému pro detekci viru Hepatitidy B

P. Hložek¹, M. Dendis², A. Baryal³, J. Bednár⁴

^{1,2,3}GeneProof a.s.

⁴FSI, VUT v Brně

V dnešní době je již samozřejmostí využití technik PCR v reálném čase pro přesné stanovení koncentrace některých patogenů v klinickém materiálu. Metody se až na výjimky zaměřují především na stanovení virové nálože nebezpečných agens jako jsou HBV, HCV, CMV, EBV a jiné.

Po vyřešení některých zásadních problémů provázejících počátky kvantitativního stanovení patogenů pomocí molekulárně biologických metod se do popředí dostává samotné stanovení přesnosti měření a systém jeho validace. Na trhu s Real Time PCR přístroji existuje několik platforem umožňujících takzvanou „externí kalibraci“. A právě systém externí kalibrace ve vztahu k přesnosti měření je často diskutovaným tématem.

Pro ověření možnosti využití externí kalibrace jsme v naší laboratoři provedli sérii experimentů, ve kterých byl analyzován výsledek přesnosti měření referenčního materiálu (Acrometrix, USA) za použití interní a externí kalibrace. Při použití externí kalibrace jsme se zaměřili na volbu nejlepší kalibrační kontroly jako referenční hodnoty pro tento typ kalibrace.

Výsledkem testů bylo stanovení celkové přesnosti a chyby měření při použití externí kalibrace a nalezení nejlepšího postupu provedení externí kalibrace vzhledem k celkové přesnosti měření. Výsledky testů byly potvrzeny opakovanou analýzou panelu externí kontroly kvality (QCMD, UK) pro Hepatitidu B.

Práce byla prováděna za podpory dotačních programů:
MPO ČR č. FI-IM5/042

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Katedra biologických a biochemických věd
Studentská 573
532 10 Pardubice

tel: +420 466 037 763
e-mail: marcela.pejchalova@upce.cz

Studie různých vlivů podílejících se na produkci stafylokokového enterotoxinu H (SEH)

Pejchalová M., Kalátová M., Borovská K., Mořková P., Vytřasová J.

KBBV, FCHT, Univerzita Pardubice, Studentská 573, 532 10 Pardubice

Staphylococcus aureus patří mezi nejúspěšnější lidské patogeny. Je původcem velkého spektra onemocnění, jako jsou různé hnisavé infekce, toxikózy a alimentární intoxikace. Alimentární intoxikace mohou být spojovány s nedávno popsáním stafylokokovým enterotoxinem H.

V této práci byla optimalizována metoda duplex PCR, podle autorů Martineau et al. (1) a Monday and Bohach (2), která detekuje současně druhovou příslušnost i gen pro produkci SEH u *Staphylococcus aureus*. Dále byl zkoumán vliv doprovodné mikroflóry, pasážování a vliv matrice na možnou ztrátu genu pro produkci SEH. V experimentu byly použity kmeny *S. aureus* nesoucí gen pro produkci SEH. Dále byly použity sbírkové kmeny *Enterococcus faecalis* CCM 4224, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CCM 1881, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* CCM 2344, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* CCM 7190T a *Streptococcus. epidermidis* izolovaný z klinického materiálu. Bylo zjištěno, že tato mikroflóra v různém poměru neovlivňuje růst *Staphylococcus aureus* a tedy ani přítomnost genu pro produkci enterotoxinu H.

Rovněž bylo zjištěno, že matrice mléka ani masa neovlivňuje růst *Staphylococcus aureus* a tedy ani přítomnost genu pro produkci enterotoxinu H. Vybrané kmeny (SEH pozitivní *Staphylococcus aureus*) neztratily gen seh ani po desátém přeočkování.

Pro kvantifikaci stafylokokového enterotoxinu H byla vybrána Trcin-SDS-PAGE elektroforéza kombinovaná s Western blottingem a následným barvením stříbrem. Tuto metodu se nám však nepodařilo zcela optimalizovat, neboť bylo zjištěno, že komerčně dostupný standard SEH je tvořený směsí několika peptidů.

Poděkování: tato práce byla podpořena projektem MŠMT(MSM 0021627502), grantovou agenturou ČR (GAČR203/09/0148) a projektem Univerzity Pardubic (SGS 310007).

Literatura:

1. MARTINEAU, F., PICARD, F. J., ROY, P. H., OUELLETTE, M., BERGERON, M. G. Species-specific and ubiquitous DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.*, 1998, 36 (3): 618 – 623.
2. MONDAY, S. R., BOHACH G. A. Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates. *J. Clin. Microbiol.*, 1999, 37 (10): 3411 – 3414.

GENERI BIOTECH s.r.o.
Machkova 587
500 11 Hradec Králové

tel: +420 495 056 327
e-mail: renata.jahelkova@generi-biotech.com

Optimalizace reverzní transkripce pro měření genové exprese

Jahelková R.^{1,2}, Pejchalová M.¹, Bunčec M.², Libra A.²

¹ Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd

² GENERI BIOTECH s.r.o., Hradec Králové

Cílem této práce byla optimalizace reverzně-transkripční polymerázové řetězové reakce, která se využívá pro kvantifikaci genové exprese a pro detekci specifických mikroorganismů.

Metodu lze provést jedнокrokově nebo dvoukrokově. Při jedнокrokovém provedení lze provést reverzní transkripci (přepis ribonukleové kyseliny RNA do komplementární deoxyribonukleové kyseliny cDNA pomocí enzymu reverzní transkriptáza) a následnou analýzu pomocí polymerázové řetězové reakce PCR (amplifikace určitého úseku DNA) v jediné zkumavce. Tato práce se zabývá dvoukrokovým zpracováním, při kterém probíhá samostatně reverzní transkripce a ve druhém kroku se provádí polymerázová řetězová reakce. Optimalizace se týká kroku reverzní transkripce, ve kterém se připravuje cDNA při různé koncentraci nescifických hexamerů oligonukleotidů a dT(VN) oligonukleotidů používaných jako primery a porovnávaly se různé komerční reverzní transkriptázy.

Testování primerů probíhala na dvou systémech HPRT1 (hypoxantin fosforyltransferase) a B2M (β 2-microglobulin) a testování reverzních transkriptáz ještě navíc na MACF1(microtubule-actin crosslinking factor 1).

Roche Diagnostics je předním světovým výrobcem diagnostických systémů a poskytovatelem zdravotnických informací. Jsme zaměřeni na výzkum, vývoj, marketing a servis produktů a řešení nejenom pro laboratoře, lékaře a pacienty, ale také pro výzkum a průmysl.

Roche, s.r.o.
Diagnostická divize
Karlovo náměstí 17
120 00 Praha 2



cobas[®]
Life needs answers

<http://www.roche-diagnostics.cz>



cobas[®] HPV Test

umožní vědět více o riziku vzniku karcinomu děložního čípku u Vašich pacientek

HPV genotypy 16 a 18 se společně podílí téměř **na 70 % případů** diagnostikované rakoviny děložního čípku¹.

U HPV 16- a 18- pozitivních žen se high grade **karcinom vyvine dříve**².

Ženy s normálními výsledky Pap, které mají pozitivní cobas[®] HPV test na genotypy 16 a 18, mají **35krát vyšší** pravděpodobnost prekancerózy než ženy hrHPV negativní³.

Ve studii ATHENA **1 z 10** žen ve věku 30 let a více, které byly pozitivně testovány cobas[®] HPV testem na genotypy 16 a 18, měly ve skutečnosti prekancerózu, ačkoliv měly normální test Pap⁴.



cobas[®] HPV test je jediný test, který specificky stanovuje HPV genotypy 16 a 18, současně vykazuje ostatních 12 vysoce rizikových HPV typů jako sdružený výsledek, **takže můžete vědět více o riziku vzniku rakoviny děložního čípku Vaší pacientky.**



1. Munoz N, et al. Int J Cancer 2004; 111:278-285
2. Khan MJ, et al. J Natl Cancer Inst 2005; 97:1072-1079




3. Wright CT, et al. Am J Clin Pathol 2011; 136:578-586
4. Stoler M, et al. Am J Clin Pathol 2011; 135:000. DOI:10.1309



GeneProof




Molecular diagnostics for your routine




Výzkum, vývoj a výroba   certifikovaných PCR souprav pro rutinní laboratorní diagnostiku

   Humánní mikrobiologická diagnostika

   Humánní genetická diagnostika

   Speciální diagnostika

   Real-time PCR

   End-point PCR

www.geneproof.com

GeneProof a.s. • Viniční 235 • 615 00 Brno





BAG Health Care GmbH
Na Hlínách 555/17
182 00 Praha 8
Tel.: 286 840 508
E-mail: info@bag-healthcare.cz
www.bag-healthcare.cz

Firma BAG Health Care GmbH se v poslední době se svou PCR diagnostikou zaměřila především na analýzu humánního genomu. Tak jako v minulých letech Vám leží těžiště našeho zájmu v diagnostice HLA genů.

HLA typizace – obor, v němž již roky patříme k Evropské špičce

HISTO TYPE - SSP typizace HLA, roky prověřená a spolehlivá metoda

HISTO SPOT[®] - SSO testy pro typizaci I. a II. HLA třídy včetně automatu **MR.SPOT[®]** a softwaru **HISTO MATCH** - nejmodernější systém na typizaci velkého množství vzorků

HLA asociace s chorobami – testy predispozice k chorobám asociovaným s HLA typem: **Celiakie, Narkolepsie, B27, B57**

BAGene – unikátní SSP typizace červených krvinek, které umožňují přesnou typizaci, tam kde nám klasické imunohematologické metody nedávají odpověď.

Nedílnou součástí nabídky jsou i kontrolní testy, např. **CYCLER CHECK** pro kontrolu teplotní uniformity termocyklérů či **Wipe Test** pro kontrolu HLA kontaminací.

Společnost LABOSERV s.r.o. se zabývá obchodní a poradenskou činností v oblasti laboratorní diagnostiky. Sortiment dodávaných produktů splňuje vysoké nároky na kvalitu a pokrývá diagnostiku především v laboratořích imunologického a mikrobiologického zaměření.



Dodáváme PCR soupravy pro end-point a real-time molekulární diagnostiku od společnosti InterLabService.

LABOSERV s.r.o.
Hudcova 532/78b
612 00 Brno
www.laboserv.cz
www.lshop.cz

CEPHEID GeneXpert™

Molekulární biologie s CE IVD certifikací. Kompletní Real-Time PCR laboratoř.

- Automatizace všech kroků DNA/RNA diagnostiky (izolace, purifikace, RT,...)
- Čas analýzy od odebrání vzorku do 2 hodin
- Systém poskytujeme zápůjčkou



Diagnostické soupravy:

- SA/MRSA
- EV (aseptické meningitidy)
- Streptococcus skupiny B (GBS)
- BCR-Abl (monitoring terapie leukémie)
- Clostridium Difficile (Toxin B, binární toxin, O27/NAP1/BI)
- VRE A/B
- MTB/RIF
- Flu panel (A, B, H1N1)



Pro více informací prosím kontaktujte:

BIOMEDICA ČS, s.r.o., Meteor Centre Office Park,
Sokolovská 100 / 94, 186 00 Praha 8 – Karlín
www.biomedica.cz

E-mail: pavlina.kulilova@biomedica.cz
magda.navratilova@biomedica.cz

tel: 283 931 485, 283 933 616



Life Technologies' systems, consumables and services are wholly dedicated to one simple goal: improving the human condition. We manufacture both molecular diagnostic and research use only products to advance the fields of discovery and translational research, molecular medicine, stem cell-based therapies, food safety and animal health, as well as 21st century forensics.

All our products on one website: www.lifetechnologies.com



Life Technologies Czech Republic, s.r.o., Křenova 1, 16200 Praha 6, Czech Republic,
tel. +420 235 365 189

- ⇒ PCR soupravy pro analýzu humánního i extrahumánního genomu
- ⇒ makroarrayové technologie (čipy)
- ⇒ soupravy pro izolaci nukleobvých kyselin
- ⇒ DNA free polymerázy a mastermixy...

NOVINKA:



selectNA™
automat pro přímou izolaci patogenní DNA z krve!!!!

výhody:

- ⇒ automatická extrakce a izolace
- ⇒ až 40 000x vyšší citlivost
- ⇒ DNA-free reagentie
- ⇒ přímá identifikace patogenu z plné krve (nejsou potřeba krevní kultury)
- ⇒ kompatibilní s řadou detekčních metod (PCR, Micro-array, MS...)
- ⇒ flexibilní - lze použít pro 1 až 12 vzorků současně
- ⇒ barcode reader



ELISABETH PHARMACON, spol. s r.o.
Náměstí Svobody 18
602 00 Brno
Tel.: +420 542 213 851
Fax: +420 542 213 827
E-mail: info@elisabeth.cz
www.elisabeth.cz
IČ: 26258412, DIČ: CZ26258412



Společnost ELISABETH PHARMACON působí na trhu již desátým rokem a je známa nejen jako distributor produktů v oblasti molekulární biologie a přístrojové techniky, ale především jako certifikovaný výrobce Real Time PCR diagnostiky EliGene. Soupravy jsou vyráběny a prodávány pod kontrolou systému kvality ISO 13485:2003 a ISO 9001:2008.

V loňském roce byly úspěšně uvedeny na trh soupravy EliGene Ureaplasma LC a EliGene Mycoplasma hom/gen LC, které doplnily naši nabídku kitů pro sexuálně přenosná onemocnění (STD). V nabídce zůstávají z minulých let soupravy pro detekci Chlamydie trachomatis, Neisserie, HSV1, HSV2, VZV, ADV, MTB, HCV, HBV a Borrelie.

Pro letošní rok 2012 je připraven k prodeji nový kit EliGene Enterovirus LC (kat. č. 90053-LC) a kvantifikační doplňkový kit EliDNA Enterovirus QRT standard. Doporučené materiály pro vyšetření jsou CSF, stolice, stěry z dýchacích cest a krev.

- Dodavatel a výrobce laboratorních přístrojů, diagnostických souprav a spotřebního materiálu
- Kvalitní produkty pro klinické diagnostické laboratoře, akademie a výzkumné ústavy, pracoviště forenzní genetiky, veterinární a hygienické laboratoře, fytopatologii, laboratoře testující kvalitu a složení potravin a další
- Ucelený sortiment produktů po Vaši laboratoř včetně odborného zaškolení obsluhujícího personálu a poradenství
- Profesionální zákaznický servis a komplexní řešení diagnostického procesu v rámci českého a slovenského trhu

Diagnostika

- Mikrobiologie a imunologie (*ELISA, imunofluorescence, bloty*)
- Molekulární biologie (*Real Time PCR i endpoint PCR, hybridizace, RFLP, izolační soupravy, obecné reagensie a pufrý*)
- Rapid testy (*H.pylori, C. difficile, E.coli EHEC, O157, Campylobacter, Strep A, chřipka A/B, RSV, adenoviry, rotaviry*)

- Testy na drogy ze slin a moče

- Kultivační média

- Imunohematologie

- A další

Přístroje

- Automaty (*DSX, DS2, Chorus*)
- Fotometry, fluorometry, luminometry, promývačky
 - Blotové techniky (*Dynablot*)
- Molekulární biologie (*termocyklery, ELFO, drobné přístroje*)
 - Laminární a biohazardní boxy, digestoře
 - Rozplňovací zařízení (*Qasar, Dynamic*)
- Malé laboratorní přístroje (*třepačky, míchadla, inkubátory, centrifugy, lázně*)
 - Pipety, dávkovače a plastový spotřební materiál

ČIA akreditovaná laboratoř pro kalibraci pipet.



GeneTiCA s.r.o.

Služeb 4

108 00 Praha 10

tel.: +420 272 701 739

e-mail: genetica@genetica.cz

web: <http://www.genetica.cz>

LAB MARK a.s.

Pod Cihelnou 23

161 00 Praha 6-Ruzyně

Tel.: +420 233 335 548

Fax: +420 224 311 830

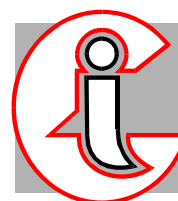
Web: www.labmark.cz

E-mail: labmark@labmark.cz



ASCO MED s.r.o.

ASCO-MED, spol. s r. o.
Pod Cihelnou 6/664, 161 00 Praha 6
tel.: +420 233 313 578
fax: +420 233 313 582
e-mail: asco@ascomed.cz
<http://www.ascomed.cz>



INNOGENETICS
BIOTECHNOLOGY FOR HEALTHCARE



MEDISTA spol. s r.o.
U krčské vodárny 939/1a
140 00 Praha 4

Tel.: +420 241 444 525, +420 241 444 637, +420 241 444 668
Fax: +420 241 445 980
E-mail: medista@medista.cz
Web: <http://www.medista.cz>
Zákaznická podpora: servis@medista.cz

Abbott Laboratories, s.r.o.
Hadovka Office Park
Evropská 2591/33D
160 00 Praha 6



Telefon: +420 267 292 111
Fax: +420 267 292 100
E-mail: info@abbott.cz
Internet: <http://www.abbott.cz>

Bio-Consult Laboratories, spol. s r. o.
Božejovická 145, P.O. Box 7
142 01 Praha 4

Tel/fax: +420 244 471 239
E-mail: info@bioconsult.cz
Web: www.bioconsult.cz

