



SBORNÍK

11. ročníku odborné konference

**RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN
MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝMI TECHNIKAMI**

RANK 2015

4. a 5. února 2015, 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.
Doc. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D.
Prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.
Ing. Barbara Štumrová
Ing. Hana Skalická

Odborný garant konference:

Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA

Sborník vydal:
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.
Hudcova 296/70
621 00 Brno

ISBN 978-80-86895-44-4

Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP

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

Katedra biologických a biochemických věd, FChT, Univerzita Pardubice

ODBORNÁ KONFERENCE

RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝMI TECHNIKAMI

RANK 2015

**4. a 5. února 2015
v prostorách hotelu Zlatá Štika, Pardubice**

Záštitu nad konferencí převzal:

PharmDr. Jiří Skalický, Ph.D., poslanec PSP ČR

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

Vzdělávací akce je pořádána dle Stavovského předpisu č. 16 ČLK

Hlavními partnery konference jsou společnosti

ROCHE s.r.o.

GeneProof a.s.

Dalšími partnery jsou společnosti

ASCO-MED, spol. s r.o.

Bio-Consult Laboratories spol. s r.o.

BioVendor – laboratorní medicína a.s.

Dialab spol. s r.o.

ELISABETH PHARMACON, spol. s r.o.

HPST, s.r.o.

LABMARK a.s.

Orion Diagnostica - organizační složka

Schoeller Pharma Praha s.r.o.

SIPOCH spol. s r.o.

BAG Health Care GmbH

BIOMEDICA ČS s.r.o.

Carolina Biosystems, s.r.o.

DYNEX TECHNOLOGIES, spol. s r.o.

GENERI BIOTECH s.r.o.

KRD - obchodní společnost, s.r.o.

LABOSERV s.r.o.

PentaGen s.r.o.

SEQme s.r.o.

PROGRAM

4. února 2015 **středa**

10:00 – 12:30 **Registrace**

13:00 – 13:15 **Zahájení**

13:15 – 14:00 **Úvodní sdělení**

Prof. PhDr. Jan Sokol, CSc., Ph.D., FHS UK Praha

Odpovědnost za pacienta

45 min

14:00 – 14:10 **Přestávka**

14:10 – 15:00

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D., LF UP Olomouc

Využití molekulárně-biologických postupů v problematice bakteriální rezistence k antibiotikům

45 min

15:00 – 15:10 **Přestávka**

15:10 – 16:20 **Analýza humánního genomu**

Doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D., Masarykův onkologický ústav, Brno

Nové možnosti diagnostiky nádorových syndromů

30 min

Mgr. Vlasta Čejnová, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem

Prenatální a preimplantační diagnostika TAR syndromu

20 min

Mgr. Ondřej Scheinost, Nemocnice České Budějovice a.s., Laboratoř molekulární biologie a genetiky

Double-hit lymfomy - změna v managementu molekulárně-genetické diagnostiky lymfomů

20 min

16:20 – 16:40 **Přestávka**

16:40 – 17:45 **Mykózy**

MUDr. Karel Mencl, CSc., Oddělení klinické mikrobiologie, PKN Pardubice

O mykózách převážně vážně

25 min

Mgr. Zuzana Plačková, GENERI BIOTECH s.r.o., Hradec Králové

Oportunní mykotické infekce u imunokompromitovaných osob – pohled do diagnostiky

20 min

RNDr. Michal Slaný, Ph.D., VÚ veterinárního lékařství, v.v.i., Brno

Využití molekulární analýzy pro studium epidemiologie kožních mykobakterióz způsobených *M. marinum*

20 min

17:45 – 17:50 Přestávka

17:50 – 18:30 Komerční prezentace

19:30 – 23:00 Společenský večer

5. února 2015 čtvrtek

8:30 – 9:30 Hepatitida E

MVDr. Monika Kubánková, VÚ veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Hepatitida E: staré, nové onemocnění a situace v České republice 20 min

MUDr. Lenka Petroušová, FN Ostrava
Zkušenosti s klinickými projevy hepatitidy E 20 min

Mgr. Jakub Mrázek, oddělení molekulární biologie, Zdravotní ústav Ostrava
Zkušenosti s laboratorní diagnostikou hepatitidy E 20 min

9:30 – 9:45 Přestávka

9:45 – 10:45 Využití molekulárně biologických postupů v infektologii

Prof. MUDr. David Šmajš, Ph.D., Biologický ústav LF MU, Brno
Molekulární detekce původce syfilis v ČR v letech 2004-2014 20 min

Mgr. Margita Bartková, FN Olomouc
Přidaná hodnota detekce DNA patogenů v bioptických tkáních u pacientů po transplantaci krvetvorných buněk 20 min

RNDr. Miloš Dendis, Geneproof, a.s., Brno
Molekulární diagnostika septických stavů 20 min

10:45 – 11:00 Přestávka

11:00 – 12:20 Varia

Ing. Natalija Piskunova, CSc., Nemocnice České Budějovice a.s., Laboratoř molekulární biologie a genetiky
Vliv mutace na výsledek melting analýzy aneb špatný výsledek snadno a rychle 20 min

Mgr. Zuzana Jurčíčková, GENERI BIOTECH s.r.o., Hradec Králové
DNA standardy pro absolutní qPCR 20 min

Ing. Marija Kaevska, Ph.D., VÚ veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Detekce mykobakterií v různých typech vod pomocí real time PCR a pyrosekvenování

20 min

Mgr. Monika Morávková, Ph.D., VÚ veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Potraviny rostlinného původu jako zdroj alimentárních nákaz

20 min

12:20 – 12:40 Přestávka

12:40 – 13:30 Posterová sekce

13:30 – 13:50 Závěr, diskuse, vyhodnocení soutěže mladých autorů

Postery:

1. Mgr. Magdaléna Dvořáková, Laboratoře AGEL a.s., Nový Jičín
Možnosti molekulární analýzy u pacientů s rodinným výskytem aneurysmat hrudní aorty
2. Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D., KBBV, Univerzita Pardubice
Výskyt bakterií rodu *Arcobacter* u domácích mazlíčků (koček a psů) v ČR
3. Mgr. Jana Bednaříková, FN Olomouc
Monitorování BKV u pacientů po transplantaci ledviny
4. Mgr. Pavel Mikel, VÚ veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Produkce armored RNA částic pomocí jednoplazmidového dvouexpresního HIS-tag systému
5. RNDr. Olga Hrušková-Heidingsfeldová, CSc., KBBV, Univerzita Pardubice
Sledování mutací v genech patogenní kvasinky *Candida albicans* souvisejících se snížením citlivosti vůči antimykotikům
6. MUDr. Lucie Bareková, Oddělení klinické mikrobiologie, PKN Pardubice a.s.
Molekulární typizace methicilin-rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* izolovaných v Geriatrickém centru
7. Ing. Rastislav Slavkovský, Ph.D., Ústav molekulární a translační medicíny, LF UP Olomouc
Využití ultra hlubokého sekvenování RAS genů pro prediktivní diagnostiku kolorektálního karcinomu. (Ultra deep amplicon sequencing of RAS genes and its use for colorectal carcinoma diagnostics)

Prof. PhDr. Jan Sokol, CSc., Ph.D.

Fakulta humanitních studií UK Praha
U Kříže 8
150 00 Praha 5

tel: +420 602 121 279
e-mail: sokol@fhs.cuni.cz

Odpovědnost za pacienta

Sokol J.

Fakulta humanitních studií UK Praha

V běžném uvažování i ve filosofické tradici převládá zjednodušená představa partnerského či smluvního vztahu: oba partneři jsou svéprávní jednotlivci, kteří do vztahu vstupují dobrovolně a z vlastního rozhodnutí a každý odpovídá jen za své vlastní činy (resp. nečinnost) za předem dohodnutých podmínek.

Tento model odpovídá např. ekonomickým vztahům, ale pro vztah zdravotníka a pacienta se většinou nehodí. Důvodů je hned několik. Pacient nevyhledává zdravotní pomoc úplně dobrovolně, ale je v životní nouzi. Často – např. po úrazu – nemůže o sobě rozhodovat vůbec, anebo jen v omezeném rozsahu. Je ve stresu a zdravotníka vyhledá proto, že si se svou nemocí neví rady. Se zdravotníky tedy neuzavírá obyčejnou smlouvu, ale svěřuje se do jejich péče. Její rozsah nelze často předem odhadnout a tedy ani vymezit.

Jejich vztah rozhodně není symetrický, protože zdravotník má vůči němu značnou informační převahu. Na druhé straně, pokud má být zdravotní péče úspěšná, je třeba, aby zdravotníkům důvěřoval a aby s nimi spolupracoval. Tomu má pomáhat i tzv. informovaný souhlas, který má zmenšit informační převahu odborníka a přesvědčit pacienta, že se mu může svěřit. Pokud se ovšem omezí na formální poučení a vyžádání podpisu, může způsobit pravý opak: u pacienta může vzniknout podezření, že se lékaři jen zbavují části své odpovědnosti pro případ soudního sporu, který je postaví proti sobě. Už předem tedy uvažují o situaci, kdy nebudou spolupracovat, ale budou naopak stranami sporu.

Jako v jiných oblastech, i zde platí často nepsaná pravidla „lege artis“, která zde ovšem mají daleko větší váhu: ve vztahu pacienta a zdravotníka nejde jen o případnou majetkovou újmu, ale o zdraví nebo i život. Zdravotník se tak ocitá ve složité situaci nejméně trojí odlišné odpovědnosti. Předně vůči pacientovi, ale také vůči svému zaměstnavateli a pojišťovně a za třetí právě vůči své odbornosti a její lex artis. Je důležité si připomínat, že právě ve vztahu pacienta a zdravotníka to nemůže být jinak, i když mezi touto trojí odpovědností mohou nastat různé konflikty – například mezi požadavky lex artis, zájmem pacienta a hospodárností.

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.

Ústav mikrobiologie
Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc
Hněvotínská 3
775 15 Olomouc

tel.: +420 585 632 407
e-mail: kolar@fnol.cz

Využití molekulárně-biologických postupů v problematice bakteriální rezistence k antibiotikům

Kolář M.

Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

V současné době jsme svědky exponenciálního nárůstu poznatků v medicíně, který přináší výrazné zkvalitnění léčby onkologických, kardiovaskulárních, neurologických a dalších nemocí. Bohužel, stále existuje jeden důležitý problém, a to jsou bakteriální infekce, jejichž významnost stoupá se zvyšující se odolností bakteriálních patogenů k antimikrobním přípravkům.

Bakteriální rezistenci k antibiotikům lze charakterizovat jako schopnost bakteriální populace přežít účinek definované koncentrace příslušného antibiotika, což ve svém důsledku může znamenat selhání léčby. Nejdůležitější příčinou vzniku rezistence jsou změny bakteriálního genotypu. Tyto změny je možné definovat mutací chromozomálního genu s následnou selekcí rezistentních buněk nebo významnějším mechanismem založeným na převzetí genetického materiálu od rezistentních bakteriálních buněk rekombinačními procesy. Je nutné zdůraznit, že bakteriální rezistence je termín, který má závažné negativní dopady. K nim patří především vyšší morbidita a mortalita pacientů s infekcemi způsobenými multirezistentními bakteriemi.

Rezistence bakterií k účinku antibiotik je vyvolána celou řadou příčin, které se navzájem kombinují a tím zvyšují nebezpečnost fenoménu bakteriální rezistence. Tento problém není jen medicínský, ale měl by být charakterizován jako problém celospolečenský, který začíná limitovat další rozvoj diagnostických a léčebných postupů snižováním jejich úspěšnosti v souvislosti se selháním antibiotické léčby infekčních komplikací s etiologickou rolí multirezistentních bakterií.

Problém bakteriální rezistence je multifaktoriální, z čehož vyplývá nutnost mezioborového přístupu při jeho řešení. Nezbytnou součástí řešení uvedené problematiky je využívání moderních molekulárně-biologických metodik, které umožňují například stanovení podobnosti, event. identity, multi-rezistentních bakterií, nebo průkaz genů kódujících rezistenci k příslušným antibiotikům.

Podpořeno grantem IGA MZ ČR č. NT14382.

Doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D.

Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno

tel: +420 543 136 907
e-mail: foretova@mou.cz

Nové možnosti diagnostiky nádorových syndromů

Foretová L., Macháčková E.,

Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, Masarykův onkologický ústav, Brno

Testování dědičných příčin nádorových onemocnění se rozvinulo během posledních 20 let. V současné době se molekulárně genetická diagnostika opírá i o možnosti tzv. „nové generace sekvenování“. Metody masivního paralelního sekvenování mohou být při diagnostice velkých genů poměrně rychlé, nicméně mohou mít i nižší senzitivitu na rozsáhlejší delece/duplikace (řádově deset a více bází) než screeningové metody například HRM (High Resolution Melting Analýza) nebo Wave (DHPLC). Vysokokapacitní sekvenační přístroje mohou být využity i při paralelním testování mnoha různých genů, panelu několika desítek i stovek genů. Jelikož se u každého nádorového syndromu předpokládá možná genetická heterogenita, jsou tyto metody přínosem především u klinicky jasných hereditárních syndromů bez možnosti zachytit kauzální mutaci při vyšetření standardních genů. Tato vyšetření mohou zachytit mnohem více kausálních mutací vysokého rizika, nicméně při každém testování je odhaleno mnoho variant s neznámým klinickým účinkem. Jejich klinická využitelnost je zatím většinou nízká, ale generováním velkého objemu dat bude možné je postupně vyloučit nebo zařadit do klinického hodnocení. Sety genů jsou vyšetřovány u maligních paragangliomů, u polypóz, ale i u nádorů kolorekta a nádorů prsu nebo vaječníků. Nové techniky vedou i k náhodným zjištěním neočekávaných patogenních mutací a variant pro jiná onemocnění a je nutné se připravit na tuto skutečnost.

Zjištění hereditární etiologie umožňuje prediktivní testování příbuzných a jejich dispenzarizaci. V sekundární prevenci jsou používány nestandardní postupy a metody. Významnou součástí je magnetická rezonance, v mnoha případech i celotělová MR. Je možné plánovat těhotenství a pomocí preimplantační genetické diagnostiky zabránit přenosu rizikové mutace do další generace. Odhalování molekulární patogeneze hereditárních nádorových onemocnění vede i k cíleným terapiím, které jsou založeny na specifických genetických defektech v individuálních tumorech. Akutní testování BRCA1/2 u nádorů prsu i ovarií je nyní i součástí indikačního procesu některých léčebných postupů. V poslední době dochází k implementaci nových technik do diagnostiky nádorových syndromů a k přesunu genetického testování i do akutního režimu pro léčbu nádorových onemocnění.

Podpořeno RECAMO, CZ.1.05/2.1.00/03.0101 a MZ ČR - RVO (MOÚ, 00209805)

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@kzcr.eu

Prenatální a preimplantační diagnostika TAR syndromu

Čejnová V.¹, Laštůvková J.¹, Putzová M.², Krautová L.², Hirschfeldová K.³, Štekrová J.³, Harmaš V.¹, Wilimská M.¹

¹Oddělení lékařské genetiky, Krajská zdravotní, a.s. - Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.,

²GENNET, s.r.o., Kostelní 7, 170 00 Praha 7,

³Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. lékařská fakulta UK a VFN, Albertov 4, 128 00 Praha 2

Trombocytopenie s aplázií radií (thrombocytopenia absent radius, TAR) je vzácné autosomálně recesivně dědičné onemocnění charakterizované hypomegakaryocytární trombocytopenií (<50 krevních destiček/nl) a oboustrannou absencí radia za přítomnosti obou palců. Mezi další klinické znaky patří i jiné anomálie skeletu (např. zkrácená nebo deviovaná ulna, zkrácený humerus), vrozené srdeční vady, gastrointestinální projevy (hlavně intolerance kravského mléka) a urogenitální defekty. Děti mají často krvácivé projevy již při narození. V případě, že je diagnóza stanovena včas a podaří se zabránit závažným krvácivým komplikacím, může být jejich život, po korekci ortopedických abnormalit, plnohodnotný.

Genetickou podstatou onemocnění jsou bíalelické mutace genu *RBM8A*, který je lokalizován v oblasti 1q21.1. Jedna alela je typicky inaktivována mikrolecí v oblasti 1q21.1 o rozsahu minimálně 200 kb (nulová alela). Druhá alela je hypomorfní a nachází se v nekódující oblasti *RBM8A*. Konkrétně se jedná o jednonukleotidovou patologickou variantu (single nucleotide polymorphism, SNP) v genu *RBM8A*, která se liší od standardní alely záměnou jedné báze buď v 5' nepřekládané oblasti (rs139428292), nebo v prvním intronu (rs201779890). Hypomorfní alely vedou ke snížené expresi *RBM8A*. Postižení jedinci jsou tedy složeni heterozygoti pro nulovou a hypomorfní alelu genu *RBM8A*.

Autoři prezentují chromosomální, molekulární a ultrazvukové nálezy u případu prenatálně diagnostikovaného TAR syndromu. U plodu z první gravidity (2010) probandky UZ vyšetření ve 22. týdnu gravidity prokázalo bilaterální chybění radia s deformací předloktí, gravidita byla ukončena. U plodu byla pomocí metody MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) detekována mikrolece v oblasti 1q21.1 zahrnující geny *HFE2*, *PEX11B* a *CD160*. Poté byli vyšetřeni oba rodiče za účelem zjištění původu mikrolece u plodu, stejná mikrolece byla identifikována u zdravé matky. Druhá gravidita (2012) probandky skončila spontánním potratem. V případě třetí gravidity (2013) probandky UZ vyšetření odhalilo stejné nálezy a gravidita byla ukončena. Následně byla pomocí Sangerovy metody sekvenování analyzována DNA od obou plodů (2010, 2013) a rodičů, s cílem určit druhou mutaci (SNP) v souvislosti s TAR syndromem u této rodiny. U otce bylo zjištěno, že je složený heterozygot pro oba SNPs (rs139428292, rs201779890). Oba plody postižené TAR syndromem zdědily od matky nulovou alelu (mikrolece v oblasti 1q21.1) a od otce hypomorfní alelu SNP v prvním intronu (rs201779890). V současné době je rodina v procesu preimplantační genetické diagnostiky.

Mgr. Ondřej Scheinost

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

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

Double-hit lymfomy - změna v managementu molekulárně-genetické diagnostiky lymfomů

Scheinost O.¹, Vondráková J.², Dušková L.¹, Hynková J.¹, Landová P.¹, Šimová E.¹

¹ Laboratoř molekulární biologie a genetiky, Nemocnice České Budějovice, a.s.

² Laboratoř klinické chemie, hematologie a imunologie, Nemocnice České Budějovice, a.s.

Double hit lymfomy (někdy také česky „lymfomy se dvěma zásahy“) tvoří specifickou skupinu B-lymfomů, která je s molekulárně genetického hlediska definována aberacemi genů BCL2 a c-myc. Tyto lymfomy stojí i morfologicky a fenotypicky na pomezí Burkittova lymfomu a difusního velkobuněčného B lymfomu. Silná stimulace buněčného cyklu a rezistence k apoptóze jsou příčinou charakteristických klinických projevů – rezistence ke standardní terapii, velké agresivity nádoru, postižení extranodálních míst a CNS, vysokého rizika relapsu a krátkého celkového přežití. Na tuto relativně novou jednotku je třeba myslet při péči o pacienta s uvedenými znaky. Prezentace bude navíc zaměřena na management péče o pacienta s lymfomem během hospitalizace v nemocnici.

Pacient (muž, 56 let) byl 9. 6. 2014 odeslán obvodním lékařem k hospitalizaci na interní oddělení nemocnice pro uzlinový syndrom, patologii v krevním obrazu (anemie, leukopenie), váhový úbytek, dušnost, noční pocení. Zde indikováno RTG srdce a plic, později doplněné CT hrudníku a břicha (generalizovaná lymfadenopatie, 2 ložiska v parenchymu plic) a exstirpace uzliny. Propuštěn 13. 6., objednan ke kontrole na onkologické oddělení 17. 6. O den později provedena trepanobiopsie, pro progredující leukocytózu přeložen na interní odd. IMP do péče hematologa. Pro pokračující vzestup leukocytů zahájena předléčba kortikoidy a vincristinem, po laboratorních výsledcích (histologie – difusní velkobuněčný lymfom, genetika – double hit lymfom s komplexní změnou karyotypu; základní maligní klon s t(14;18), sekundární klon se zlomem c-myc (8q241) + další změny genomu) podán modifikovaný protokol CHOP. Dne 4. 7. pacient propuštěn domů subjektivně zlepšen s klinicky tolerovanou pancytopenií. 9. 7. kontrola s dobrými výsledky. 15. 7. pacient přijat se zhoršením stavu (dušnost, dehydratace), extrémně progredující leukocytózou (během 6 dnů z 9,8 na 143 x 10⁹/l). 2. cyklus chemoterapie CHOP komplikován tumor lysis syndromem a renální insuficiencí, později sepsí. Přes intenzivní suportivní a symptomatickou terapii zhoršování klinického stavu, exitus letalis 4. 8. 2014.

Double hit lymfomy jsou novou diagnostickou jednotkou, jejíž důležitými znaky je velká agresivita a rezistence ke standardní terapii. Právě proto na tuto diagnózu musí myslet jak pracovníci laboratoře, tak ošetřující lékaři. Otázkou je optimální management pacientů s lymfomem (v Nemocnici České Budějovice, a.s. oddělená péče o agresivní a indolentní lymfomy).

MUDr. Karel Menci, CSc.

OKM - Laboratoř lékařské mykologie
Pardubická krajská nemocnice, a.s.
Kyjevská 44
532 03 Pardubice

tel.: +420 466 013 211
e-mail: karel.menci@nemocnice-pardubice.cz

O mykózách převážně vážně

Menci K.

OKM-Laboratoř Lékařské mykologie, Pardubická krajská nemocnice, a.s.

Mikroskopické houby, které se mohou podílet na onemocnění člověka, jsou velmi různorodé a z hlediska jejich patoexistence je dělíme na šest skupin. V té první jsou mikromycety běžně žijící v přírodě (rody *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* apod.) a onemocnění člověka působí pouze ve vyhraněných případech u výrazně predisponovaných osob.

Protipólem je šestá skupina, kam jsou řazeny kvasinky, které můžeme běžně nacházet jako epifyty či komenzály na sliznicích. U rizikových pacientů však hrozí nebezpečí, že se z „neškodných“ mohou změnit na velmi nepříjemné původce mykóz endogenního původu.

Dalšími, nejen „středoevropsky“ významnými mikromycetami jsou houby řazené do 4. a 5. skupiny (zoofilní a antropofilní dermatofyty), která napadají kůži a kožní adnexa. Přestože člověka neusmrtí, působí velmi nepříjemná postižení kůže a stále častěji také nehtů. Podle rozsáhlé studie z konce minulého století je v ČR mykózou nohou klinicky postiženo na 60% dospělé populace.

Rizikovými faktory pro vznik mykózy mohou být jak stavy fyziologické (gravida), tak řada systémových onemocnění, jako jsou hematologické malignity, AIDS, těžký diabetes mellitus, složité operace, transplantace, traumatózy a řada dalších. Mikroskopické houby pro takto predisponované osoby představují oportunní původce působící sekundární infekce. Čím větší riziko, tím je větší a pravděpodobnější výskyt systémového postižení mikroskopickými houbami.

Mykózy mohou postihovat prakticky kterýkoli orgán. Původci první patoexistenční skupiny jsou součástí aeroplanktonu a nejčastěji tak postihují plíce, případně vedlejší nosní dutiny, odkud se mohou šířit dále. Jako ubikviterní organizmy jsou rovněž spojovány s infekcemi popálenin a tržně zmožděných ran. Kvasinky u alterovaného jedince po namnožení na sliznicích (nejčastěji jícnu či střeva) mohou přestupem do krevního řečiště v první fázi vyvolat kandidémii a odtud následně zasáhnout prakticky kterékoli místo v organismu. V takových případech jde o velmi vážné infekční postižení, které může skončit fatálně.

Mykologické laboratorní vyšetření biologického materiálu představuje jeden z kamínků diagnostické mozaiky a na jejím celém sestavení velmi záleží na úzké spolupráci kliniků a laboratoří. Pouhý nález mikroskopické houby ve vyšetřovaném materiálu totiž ještě nutně nemusí znamenat záchyt etiologického agens. Ani náhodný nález mikromycety však nelze u rizikového pacienta podceňovat a je nutné vysledovat příčiny jeho přítomnosti.

Terapie, jako cesta k eliminaci infekce, se odvíjí nejen od postiženého orgánu, ale také od celé řady převážně somatických a fyziologických parametrů postižené osoby (věk, alterace, funkčnost jater a ledvin apod.). Relativně dobře jsou léčitelná kožní postižení, kde je k dispozici řada lokálních preparátů a v odůvodněných případech lze použít i systémová antimykotika. A kdo nechce chemii, může sáhnout po přírodních prostředcích, např. biopreparátech obsahujících tzv. „Chytrou houbu“ (*Pythium oligandrum*), která parazitické houby v kůži likviduje svým predátorským způsobem.

O poznání složitější je terapie mykóz orgánových, kde je důležité včas rozhodnout o podání odpovídajícího antimykotika podle charakteru onemocnění, etiologického agens a komorbidit postižené osoby. V každém případě si je třeba také uvědomit, že se v případě systémové léčby jedná o vyšší finanční náklady. Z toho vyplývá, že čím dříve bude adekvátní terapie poskytnuta, tím větší je naděje na úspěch a snížení finančních nároků na léčbu. Z tohoto pohledu se tak u velmi rizikových pacientů vyplácí monitorování jejich „mykologického stavu“ a při signalizaci nebezpečí blížící se infekce zahájení tzv. preemptivní terapie.

Mgr. Zuzana Plačková

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

tel: +420 495 056 327
e-mail: zuzana.plackova@generi-biotech.com

Oportunní mykotické infekce u imunokompromitovaných osob – pohled do diagnostiky

Plačková Z.¹, Jurčíčková Z.¹, Libra A.¹, Žák P.²

¹ GENERI BIOTECH s.r.o., Machkova 587, 500 11 Hradec Králové

² Fakultní nemocnice Hradec Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové

V posledních letech výrazně narůstá počet imunosuprimovaných pacientů a tedy i s tím související výskyt mykotických infekcí. Tyto infekce představují pro oslabené pacienty závažné komplikace, jež mohou být významnou příčinou smrti. Především se jedná o pacienty s hematologickým nebo hematologickým onemocněním, neutropenií či jde o pacienty po transplantaci nebo o jedince se získanou či vrozenou imunodeficiencí.

Většina oportunních infekcí vyvolaných houbami je spojována s kvasinkami rodu *Candida* a zástupci vláknitých hub rodů *Aspergillus*, *Fusarium*, ale také *Mucorales*. Jelikož samotné klinické příznaky invazivních mykotických infekcí jsou často nespecifické, houbový patogen pak ve většině případů není označen jako příčina onemocnění nebo je diagnóza zjištěna až později v průběhu infekce. To přispívá k opožděné diagnóze a vysoké mortalitě dosahující 40-60 % a někdy i přesahující 90 % pokud je infekcí postihnut i CNS. Včasná detekce a přesná druhová identifikace těchto infekčních agens je proto klíčová pro nastavení adekvátní antimykotické léčby a klinické odezvy.

Vlivem rostoucího počtu imunosuprimovaných pacientů a výskytu těchto infekcí se zvyšuje potřeba rychlých, spolehlivých a citlivých diagnostických metod k detekci a identifikaci etiologických agens. Identifikace za použití fenotypových metod, která vychází z morfologických a fyziologických vlastností, je totiž časově náročná a mnohdy ani neumožňuje přesné zařazení jednotlivých druhů. Díky morfologické podobnosti některých vláknitých hub může navíc docházet i k záměnám s jinými rody či druhy. Úspěšnost spolehlivého a správného určení infekčního agens tak závisí na zkušenostech osoby, která identifikaci provádí. V těchto případech se právě molekulárně biologické metody jeví jako slibné řešení a konkrétně metoda real-time PCR je vhodným nástrojem pro detekci a kvantifikaci těchto patogenů.

Pro tento způsob analýzy jsme ve spolupráci s Masarykovou univerzitou v Brně vyvinuli kvantifikační real-time PCR kit gb MICRO *Aspergillus*, se kterým jsme se již několikrát zúčastnili evropského externího hodnocení kvality QCMD. S pohledem do výsledků tohoto hodnocení je vidět, že roste počet laboratoří, které se touto problematikou zabývají. Nicméně je třeba poznamenat, že výsledky různých laboratoří, v porovnání s detekcí jiných mikroorganismů, nejsou dostatečně uspokojující. Pouze čtvrtina laboratoří účastníků se tohoto testování, včetně té naší, byla schopná dosáhnout 100% úspěšnosti v analýze dodaného materiálu. Tento nepoměr je pravděpodobně dán především nedostatečnou citlivostí PCR systému a/nebo nedostatečně účinným postupem izolace DNA.

RNDr. Michal Slaný, Ph.D.

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

tel: +420 533 331 615
e-mail: slany@vri.cz

Využití molekulární analýzy pro studium epidemiologie kožních mykobakterií způsobených *M. marinum*

Slaný M., Kříž P.

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

Mycobacterium marinum (MM) je příčinou onemocnění ryb a nejčastějším původcem kožních mykobakterií u lidí popisujících kontakt s vodním prostředím. V tomto sdělení budou představeny nástroje pro detekci a genotypizaci MM použité pro dohledání zdroje této infekce.

V rámci studie bylo vyšetřeno 40 akvariálních ryb (akvária 2 pacientů s MM infekcí). Dále bylo vyšetřeno prostředí (biofilm, sediment, voda a rostliny) z akvárií (n = 44). Pro detekci MM byla použita druhově specifická qPCR cílená na gen *erp* a mykobakteriální kultivace za použití specifických médií (Herrold, Lowenstein-Jensen, Middlebrook 7H10). Pro charakterizaci získaných izolátů MM byla použita VNTR typizace.

Analýza akvárií prokázala přítomnost MM pomocí qPCR u 21 ryb (52,5 %) a 9 vzorků prostředí (20,5 %). Kultivační přítomnost životaschopných buněk MM byla později potvrzena pouze u 10 ryb (25,0 %) a 4 vzorků prostředí (9,1 %). Hledání možných zdrojů infekce v akváriích pacientů odhalilo pozitivní ryby a prostředí nesoucí VNTR profily shodné s profily klinických izolátů získaných od pacientů.

Akvariální prostředí může za určitých podmínek představovat zdravotní rizika pro člověka. Vysoká hustota ryb, přítomnost organického odpadu a stálá teplota vody jsou příznivé pro množení NTM v akváriích. Nezbytná dekontaminace vzorků při kultivaci mykobakterií snížila pravděpodobnost kultivačního zachytu MM až o 50 %. S ohledem na tuto skutečnost má qPCR detekce použitá pro průkaz MM ve studii své opodstatnění. Navíc, VNTR typizace umožní určit zdroj infekce.

Financováno grantem: NPU LO1218, MŠMT

MVDr. Monika Kubánková

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.
Hudcova 296/70
621 00 Brno

tel: +420 533 331 614
e-mail: kubankova@vri.cz

Hepatitis E: staré, nové onemocnění a situace v České republice

Kubánková M.¹, Lamka J.², Vašíčková P.¹

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

²Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Hepatitis E (HE) je pravděpodobně starší onemocnění než se předpokládalo. Podle historických záznamů se ve střední Evropě vyskytovala již kolem 18. století. V České republice má počet lokálně získaných případů HE stoupající tendenci. V roce 2013 z celkového počtu 258 hlášených případů bylo pouze 9 případů spojeno s pobytem v zahraničí. Ve většině případů se zdroje onemocnění nepodaří objasnit. Původce onemocnění, virus hepatitidy E (HEV), je celosvětově rozšířen v chovech prasat domácích. Prasata domácí a divoká jsou společně s jelenovitými považována za významné rezervoáry HEV. Pomocí qRT-PCR jsme detekovali HEV RNA u prasat divokých (96/450), jelenů (2/169) srnců (1/30) a muflonů (5/39). Alimentární přenos HEV byl popsán v zahraničí a proto maso i vnitřnosti pocházející z rezervoárových zvířat mohou při nedostatečném tepelném zpracování představovat pro konzumenty riziko onemocnění HE i v našich podmínkách. Cílem příspěvku je objasnění nových poznatků o HE.

Výsledky projektu LO1218 byly získány za finanční podpory MŠMT v rámci programu NPU I a grantu MZ NT13884-4/2012.

MUDr. Lenka Petroušová

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

tel: +420 608 079 180
e-mail: lenka.petrousova@gmail.com

Zkušenosti s klinickými projevy hepatitidy E

Petroušová L¹., Rožnovský L¹., Mrázek J².

¹ Klinika infekčního lékařství, Fakultní nemocnice Ostrava

² Oddělení molekulární biologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

Virová hepatitida E (VHE) se dříve vyskytovala v České republice zejména jako importované onemocnění z tropů a subtropů vyvolané genotypem 1 a 2 s dominujícím fekálně-orálním přenosem. V posledních letech je nejen v České republice, ale i v Evropě, zaznamenána vyšší incidence autochtonní VHE svázané s genotypem 3. V roce 2013 bylo v ČR hlášeno 218 případů VHE (zdroj Epidat). Onemocnění probíhá většinou jako nezávažné jaterní postižení s tendencí k samouzdravě. Závažný až fulminantní průběh VHE je častější u pacientů s chronickým jaterním onemocněním, u pacientů s imunodeficitem, navíc u gravidních žen infikovaných genotypem 1 a 2. U pacientů s imunosupresí může onemocnění přejít do chronicity. V následujícím sdělení prezentujeme kazuistiku závažného průběhu hepatitidy E. U 73letého muže s ulcerósní kolitidou byla diagnostikována akutní hepatitida E, ikterická forma. Během 14 dnů onemocnění došlo k rozvoji jaterního selhání. Akutní hepatitida E vedla k dekompenzaci ulcerósní kolitidy s opakovanou enterorhagií s nutností opakovaných krevních převodů a substitucí koagulačních faktorů. I přes intenzivní péči pacient zemřel v důsledku jaterního selhání po 2 měsíční hospitalizaci. Zdroj infekce se nepodařilo prokázat, pacient udával opakovanou konzumaci vepřového masa. U 58letého muže s jaterní steatózou vedla hepatitida E také k rozvoji jaterního selhání a pacient je nyní zařazen na waiting listu na transplataci jater. Kromě poškození jater se může hepatitida E manifestovat i extrahepatálním poškozením. Nejčastější extrahepatální manifestace onemocnění je renální a neurologické postižení. V kazuistice je prezentován rozvoj oboustranné parézy brachiálního plexu a aseptické meningitidy u 52letého imunokompetentního muže s akutní hepatitidou E. Virus hepatitidy E byl prokázán sérologicky i polymerázovou řetězovou reakcí v séru i likvoru. Akutní hepatitida E představuje narůstající zdravotnický problém. Pacienti s imunosupresí nebo jaterním onemocněním jsou ohroženi jaterním selháním i v případě autochtonní hepatitidy E. Jediným preventivním opatřením je vyhýbat se konzumaci nedostatečně tepelně upraveného masa.

Mgr. Jakub Mrázek

Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě
Partyzánské nám. 7
702 00 Ostrava

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

Zkušenosti s laboratorní diagnostikou hepatitidy E

Mrázek J.¹, Kloudová A.¹, Lazarová Z.¹, Wilczková Z.¹, Petroušová L.²

¹ Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Centrum klinických laboratoří

² Fakultní nemocnice Ostrava, Klinika infekčního lékařství

Virová hepatitida E (HEV) byla dlouho považována za převážně importované onemocnění původem z tropických a subtropických oblastí, jež se přenáší zejména prostřednictvím fekálně kontaminované vody. V posledních letech roste nejen v evropských zemích, ale také dalších rozvinutých zemích, počet případů s prokázanou autochtonní infekcí. Epidemiologické souvislosti ukazují na zoonotický přenos této infekce, především prostřednictvím konzumace nedostatečně tepelně upraveného masa. Vzhledem k tomu, že testování pacientů s hepatitidou na markery HEV není často součástí rutinních postupů, lze předpokládat významné podhodnocení počtu takto diagnostikovaných onemocnění, přitom rostoucí význam toho onemocnění je zřejmý.

Nárůst zaznamenaných případů infekce HEV souvisí také se zvyšující se dostupností této laboratorní diagnostiky. Je však třeba mít na paměti přetrvávající úskalí laboratorní diagnostiky HEV, který mi jsou zvláště falešná pozitivita stanovení specifických protilátek ve třídě IgM a relativně krátká doba virémie, která zužuje prostor pro potvrzení nejednoznačných sérologických výsledků.

V průběhu let 2010 až 2014 jsme analyzovali séra celkem 118 pacientů na sérologické markery HEV (anti-IgM, anti-IgG) a RNA HEV. Nejednoznačné sérologické výsledky byly potvrzeny pomocí průkazu specifických protilátek westernblotem, sledováním dynamiky tvorby protilátek a průkazem RNA HEV metodou real-time PCR.

V testovaném souboru vykazovalo pozitivitu všech tří markerů HEV 40 pacientů (34%), u 36 (31%) pacientů byla infekce HEV vyloučena. Zbývajících 42 pacientů vykazovalo ne zcela jednoznačné laboratorní nálezy. Nejčastěji se jednalo o záchyt pravděpodobně anamnestických protilátek svědčících o prodělané infekci nebo o pravděpodobně falešně pozitivní protilátky ve třídě IgM.

Prof. MUDr. David Šmajs, Ph.D.

Biologický ústav LF MU Brno
Kamenice 5, budova A6
625 00 Brno

tel.: +420 549 497 496
e-mail: dsmajs@med.muni.cz

Molekulární detekce původce syfilis v ČR v letech 2004-2014

Šmajs D., Grillová L., Paštěková L.

Biologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Treponema pallidum ssp. *pallidum* (TPA) způsobuje syfilis, pohlavně přenosné onemocnění infikující v ČR přibližně 700 pacientů ročně. Od roku 2004 do srpna 2014 bylo v naší laboratoři vyšetřeno 221 pacientů pozitivních na detekci treponemální DNA a 143 kmenů TPA bylo molekulárně typováno. Celkem bylo v ČR detekováno 16 různých molekulárních subtypů kmenů TPA. Výskyt individuálních subtypů se v české populaci v čase mění a některé subtypy jsou asociovány s nižším věkem pacientů, geografickou lokalitou a typem sexuálního chování. V posledních deseti letech se také výrazně rozšířila rezistence kmenů TPA k makrolidovým antibiotikům. Tato rezistence je podmíněna mutacemi A2058G nebo A2059G v genu pro 23S rRNA; tyto mutace jsou detekovány současně s molekulárním typováním kmenů TPA. V letech 2011-2013 dosáhl podíl TPA kmenů rezistentních k makrolidovým antibiotikům 67 %.

Tato práce byla podporována Grantovou agenturou České Republiky GAČR (P302/12/0574) a Interní grantovou agenturou Ministerstva zdravotnictví IGA MZ (NT-11159-5/10).

Mgr. Margita Bartková

Fakultní nemocnice Olomouc
Oddělení klinické biochemie
I. P. Pavlova 6
775 20 Olomouc

tel: +420 588 444 247
e-mail: margita.bartkova@fnol.cz

Přidaná hodnota detekce DNA patogenů v biotických tkáních u pacientů po transplantaci krvevorných buněk

Bartková M.¹, Novotný D.¹, Raida L.², Bednaříková J.¹, Pjajková D.¹, Zrníková L.¹.

¹ Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc

² Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty UP Olomouc a Fakultní nemocnice Olomouc

Výskyt infekčních komplikací u pacientů po transplantaci krvevorných buněk je jedním z významných limitujících faktorů dobré prognózy úspěšné léčby hematologických malignit. Vlivem cílené imunosuprese v rámci transplantačního režimu dochází u těchto pacientů k opakovaným, často život ohrožujícím reaktivacím zejména cytomegaloviru (CMV), viru Epstein-Barrové (EBV), viru HHV6 a parvoviru B19 (PB19).

Terapeutickým standardem v péči o pacienty po transplantaci krvevorných buněk je jejich pravidelné monitorování na přítomnosti virové DNA. Biologický materiál této specifické skupiny pacientů tak tvoří největší část zpracovávaných vzorků v naší laboratoři. Standardně se jedná o vzorky plné krve odebrané do K3EDTA. V poslední době je v rámci diferenciální diagnostiky čím dál častěji požadována detekce virové DNA ve vzorcích biotické tkáně, a to z důvodu potvrzení orgánové nemoci. V některých případech je diagnostika po transplantačních komplikacích značně problematická. Klinický obraz pacienta může být velmi variabilní, potvrzení nepřítomnosti virové DNA v krvi nemusí často korelovat s klinickým obrazem pacienta.

Retrospektivně jsme sledovali soubor 39 pacientů, kterým bylo v průběhu roku 2013 – 2014 odebráno 65 vzorků biotických tkání na detekci virové DNA (CMV, EBV, HHV6, PB19). Jednalo se převážně o odběry tkání z GIT (62%) a z kůže (38%). U 82% vzorků z byla potvrzena přítomnost nejméně jednoho patogenu. Nejčastější výskyt pozitivita byl zaznamenán při detekci PB19 (68%) a HHV6 (51%). Izolace tkáně byla provedena komerčním izolačním kitem QIAamp DNA Mini kit (Qiagen) za použití tkáňového protokolu, k amplifikaci jednotlivých patogenů byli použity soupravy RealStar PCR kit (Altona) a detekční systém CFX 96 (Biorad).

Pokud se virová infekce nachází ve stádiu, kdy dochází k orgánové replikaci viru bez uvolňování virových částic do krve, jeví se v rámci diferenciální diagnostiky komplikovaných potransplantačních stavů odběr biotických tkání zcela relevantní. Histologické nálezy mohou být mitigovaly medikací kortikoidy, a mohou být neurčitě.

RNDr. Miloš Dendis

GeneProof a.s.
Vídeňská 119
619 00 Brno

tel: +420 603 572 352
e-mail: dendis@geneproof.com

Molekulární diagnostika septických stavů

Dendis M., GeneProof

Molekulární diagnostika septických stavů je bezesporu největší výzvou rutinní molekulární diagnostiky patogenů dneška. Přestože je možné na trhu najít komerční diagnostické soupravy, problematika stále neopustila pole výzkumu a vývoje. Aktuálně není uspokojivě vyřešena žádná část celého diagnostického procesu: správná indikace k vyšetření, metodika a načasování odběru vzorků a jeho zpracování, vlastní diagnostický proces, ani interpretace takto získaných výsledků především v kontextu s dalšími metodami a klinickým stavem pacienta.

Zcela krucialním krokem je správná indikace k molekulárně biologickému vyšetření, správný odběr i jeho správné načasování. Je nutno vzít v úvahu, že bakterinémie je dynamický proces. Její úroveň se mění v čase a často se pohybuje pod hranicí míry detekce molekulárně biologických metod. Taktéž úroveň bakterinémie u dospělých lidí a dětí se výrazně liší.

Problémem je častá kontaminace molekulárně diagnostického procesu. Pro průkaz nukleových kyselin neplatí mikrobiologická pravidla sterility. Všudypřítomná bakteriální DNA komplikuje především přístupy založené na tzv. panbakteriálních metodách.

Samotný přístup k metodice průkazu DNA patogenních mikroorganismů se liší. Nejčastěji se setkáváme s tzv. univerzální detekcí založené na průkazu fylogeneticky konzervativních úseků bakterií a hub, anebo multiplexováním, tedy specifickým průkazem nejčastějších původců sepsí. Oba přístupy mají své výhody a narážejí na své limity.

Je nutno se zaměřit na specifika průkazu nukleových kyselin ve srovnání se zlatým standardem kultivačních metod. Oba přístupy vykazují jiná specifika z pohledu senzitivity i specifity, což může vést k situaci, že oba metodicky správně provedené postupy poskytnou ze stejného vzorku vzájemně rozdílné výsledky. Na rozdíl od tradičních kultivačních metod není v případě průkazu nukleových kyselin původců septických stavů zcela jasný interpretační rámec takto získaných výsledků. Nicméně, poptávka po řešení diagnostiky septických stavů trvá od počátku éry zavádění průkazu nukleových kyselin patogenů a neustane, dokud nebude uspokojivě vyřešena.

Ing. Natalja Piskunova, CSc.

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

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

Vliv mutace na výsledek melting analýzy aneb špatný výsledek snadno a rychle

Piskunova N., Trubač P., Scheinost O.

Laboratoř molekulární biologie a genetiky, Nemocnice České Budějovice, a.s.

V současnosti se při molekulárně genetické analýze vždy klade veliký důraz na preanalytickou fázi ve vztahu ke kvalitě vydaného výsledku. Mnohdy býváme limitováni nevhodným odběrem, materiálem kontaminovaným kožní mikroflórou, časovou prodlevou, množstvím dodaného materiálu apod. Vlastní vyšetření v laboratoři pak považujeme – s nutnou dávkou obezřetnosti a sebereflexe - jako „neomylný a správný“. Může se však stát, že námi vydaný výsledek byl i přes dodržení všech doporučených postupů nesprávný. Asi každý si dnes již dokáže poradit s inhibicí, kontaminací nebo nedostatečnou citlivostí. Toto jsou věci, které jsme schopni včas a spolehlivě odhalit a přijmout preventivní opatření, popřípadě přistoupit k analýze vzorku ryze individuálně. Není-li jiná možnost a máme-li pochybnosti, nezbyvá, než vydat výsledek NELZE – nepodařilo se analyzovat. Bohužel se mohou vyskytnout situace, kde jsme o správnosti výsledku přesvědčeni, a tento může být chybný. Jednou z těchto možností je mutace vedoucí k falešně negativnímu výsledku. Na toto téma již byla publikována řada prací (např. švédské mutace u *Chlamydia trachomatis* či *Neisseria gonorrhoeae*).

V našem příspěvku prezentujeme námi zachycené případy mutací, které výrazně ovlivnily finální výsledek analýzy u hepatitidy C, CMV, HSV a mutačního statusu CLL. Nechceme tímto vyvolávat zbytečnou skepsi či paranoiiu ovlivněných protipatření. Zamýšlíme se však, jak tyto případy co nejvíce minimalizovat. Jako jedním (byť víme, že ne univerzálním) řešením je pro detekci využívat různé cílové sekvence a při neshodě našeho výsledku s klinickým obrazem a jinými vyšetřeními si položit otázku, zdali byl náš výsledek opravdu ten správný.

Mgr. Zuzana Jurčíčková

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

tel: +420 495 056 327
e-mail: zuzana.jurcickova@generi-biotech.com

DNA standardy pro absolutní kvantifikaci v real-time PCR

Jurčíčková Z., Plačková Z., Víšková A., Libra A.

GENERI BIOTECH s.r.o. Hradec Králové

Standard pro real-time PCR je templátová DNA zaklonovaná do struktury plazmidu. Ve srovnání s ostatními typy standardů (jako např. PCR produkty, oligonukleotidy, RNA) jsou stále nejčastěji používanými kontrolami v real-time PCR, především z důvodu poměrně jednoduché přípravy a stability při uchovávání. Výhodou je možnost zaklonovat do struktury plazmidu inzert téměř jakékoli sekvence. Standardy jsou využívány pro kontrolu průběhu PCR reakce, pro relativní či absolutní kvantifikaci.

Cirkulární standard je připraven zaklonováním inzertu do kruhové struktury plazmidu. Linearizovaný standard vznikne štěpením cirkulárního plazmidu restrikčním enzymem. Lineární konformace plazmidu je přístupnější pro primery přítomné v PCR směsi, čímž dochází k amplifikaci templátu v průběhu dřívějších cyklů real-time PCR. Linearizované standardy poskytují hodnoty Ct nižší o 2,5 – 4,5 cyklu podle konkrétního qPCR standardu, lineární konformace je také stabilnější z hlediska variability hodnot Ct při různých teplotních podmínkách uchovávání.

Při nárocích na správnou kvantifikaci templátu je důležité vycházet z co možná nejpřesnějšího počtu kopií standardu. Pro splnění požadavků na přesné určení počtu kopií templátu metodou real-time PCR je linearizace a následná normalizace standardu jedním z kroků k úspěšné absolutní kvantifikaci.

Hodnoty koncentrace DNA standardů získané z měření absorpance světla při 260 nm jsme porovnali s výsledkem analýzy metodou real-time PCR. Na souboru více než 200 standardů byla nejprve spektrofotometricky změřena koncentrace, zároveň byl stanoven počet kopií/μl analýzou real-time PCR, která byla cílena na *ori* místo plazmidů. Na základě této analýzy bylo možné připravit postup pro normalizaci koncentrace standardů.

Ing. Marija Kaevska, Ph.D.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.
Hudcova 296/70
621 00 Brno

tel: +420 533 331 618
e-mail: kaevska@vri.cz

Detekce mykobakterií v různých typech vod pomocí real time PCR a pyrosequenování

Kaevska M.¹, Hyžáková A.^{1,2}, Králík P.¹, Slaná I.¹

¹Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Hudcova 296/70, 621 00 Brno

²Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno

Zdravotní riziko pro lidi a zvířata představují nejenom patogenní druhy mykobakterií (*Mycobacterium bovis*, *M. caprae*, *M. avium*), ale i podmíněně patogenní mykobaktérie, které vyvolávají závažné mykobakteriόzy. Mykobakterie mají díky unikátnímu složení buněčné stěny mimořádnou schopnost přežívat i v prostředí. Mnoho jejich druhů bylo zjištěno ve vodách a u některých z nich je prokázána i schopnost množení ve vodních organismech. Voda, jídlo, krmivo a prach obsahující mykobakterie jsou nejčastějším zdrojem infekce pro zvířata i lidi. Molekulárně biologické metody např. kvantitativní real time PCR (qPCR), nebo sekvenování nové generace, mohou poskytnout nová data o výskytu mykobakterií a o počtu buněk ve vodě bez použití méně citlivé a časově náročné kultivace.

Na našem pracovišti byl zaveden qPCR systém sloužící jednak ke stanovení celkového počtu zástupců rodu *Mycobacterium* ve vodě, a zároveň také pro kvantifikaci mykobakterií patřících do komplexu *Mycobacterium avium*. Oba detekční cíle jsou založeny na amplifikaci genu pro 16S rRNA. Systém také obsahuje interní amplifikační kontrolu pro rozlišení skutečně negativních vzorků od vzorků inhibovaných. Touto metodou byly vyšetřeny vzorky vody, které pocházely z povrchové i podzemní vody (zdroj pitné vody), z úpraven vod nebo z kohoutků v domácnostech. Zároveň byla u vzorků vyšetřena celková mikroflóra pomocí technologie 454 sekvenování na přístroji GS-FLX (Roche).

U všech typů testovaných vod byla pomocí qPCR zjištěna přítomnost zástupců rodu *Mycobacterium*, avšak jejich počty se lišily v závislosti na původu vyšetřované vody. Zástupci komplexu *M. avium* byli detekováni pouze sporadicky. Celková mikroflóra u vyšetřovaných vzorků vody se skládala z bakterií, které patří do čeledí *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, a dalších. Mezi složením celkové mikroflóry a výskytem zástupců rodu *Mycobacterium* však nebyla zjištěna žádná korelace.

Výsledky vznikly za finanční podpory projektu LO1218 Ministerstva Školství, Mládeže a Tělovýchovy v rámci programu NPU I.

Mgr. Monika Morávková, Ph.D.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.
Hudcova 296/70
621 00 Brno

tel: +420 533 331 618
e-mail: moravkova@vri.cz

Potraviny rostlinného původu jako zdroj alimentárních nákaz

Morávková M., Vašíčková P., Slaný M., Králík P.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno, Oddělení bezpečnosti potravin a krmiv

V posledních letech byl zaznamenán celosvětově zvýšený výskyt alimentárních nákaz, jejichž zdrojem byly potraviny rostlinného původu. Předkládaná studie byla zaměřena na využití molekulárních metod (qPCR a RT-qPCR) pro přímou detekci vybraných mikrobiálních agens virového, parazitárního a bakteriálního původu ze vzorků zpracované zeleniny zakoupené v tržní síti v ČR. Sledována byla přítomnost virů (norovirus a virus hepatitidy A), parazitů (*Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia*) a bakterií (*Listeria monocytogenes* a *Cronobacter* spp.). Zároveň byla prováděna detekce *Escherichia coli*, která je běžně využívaným indikátorem fekálního znečištění. Snahou bylo metodické sjednocení zpracování vzorků s následnou izolací nukleové kyseliny sledovaných virů, bakterií i parazitů. Detekce bakteriálních agens byla současně prováděna i pomocí kultivačních metod. Celkem bylo vyšetřeno 175 vzorků krájené či mražené zeleniny a klíčků. Norovirus byl detekován ve dvou vzorcích a *G. lamblia* ve třech vzorcích krájené a mražené zeleniny. Žádný z vyšetřovaných vzorků nebyl pozitivní na přítomnost viru hepatitidy A a *Cryptosporidium parvum*. *L. monocytogenes* byla pomocí molekulárních metod detekována pouze ve třech vzorcích čerstvé či mražené zeleniny, a to ve velmi nízkých koncentracích. Přímá kultivace na chromogenních médiích byla u všech vzorků negativní. Využitím metody pomnožení s následnou detekcí na chromogenních médiích byla *L. monocytogenes* detekována v 17 vzorcích (9,7 %), s vyšším záchytem ve vzorcích mražené zeleniny. *Cronobacter* spp. byl detekován pomocí qPCR v 66 (37,7 %) vzorcích a *E. coli* ve 106 (60,6 %) vzorcích. Pomocí kultivačních metod byla přítomnost *Cronobacter* spp. zachycena pouze ve 27 (15,4 %) a *E. coli* v 72 (41,1 %) vzorcích zeleniny. Vyšší záchyt pomocí qPCR lze vysvětlit detekcí DNA i z mrtvých či poškozených bakteriálních buněk. Závěrem lze shrnout, že molekulární metody představují rychlou metodu detekce patogenních a potenciálně patogenních agens v potravinách, avšak interpretace výsledků může být z hlediska posouzení rizika pro zdraví konzumenta značně obtížná. Z výsledků studie vyplývá, že z mikrobiálního hlediska vyšetřovaná zpracovaná zelenina dostupná v tržní síti představuje zvýšené zdravotní riziko a může tak být potencionálním zdrojem alimentárních nákaz. Toto riziko se zvyšuje zejména při špatné manipulaci s potravinou, kdy může dojít k pomnožení i nízkých počtů bakterií na potřebnou infekční dávku.

Práce byla podporována z projektů MZe QJ1210114 .

Laboratoře AGEL a.s.
Revoluční 2214/35
741 01 Nový Jičín

tel: +420 556 416 231
e-mail: magdalena.dvorakova@lag.agel.cz

Možnosti molekulární analýzy u pacientů s rodinným výskytem aneurysmat hrudní aorty

Dvořáková M.¹, Cibulková P.¹, Křenková R.¹, Vaníčková P.¹, Baďurová L.¹, Váhala D.¹

¹Laboratoř lékařské genetiky – úsek molekulární biologie, Laboratoře AGEL a.s., Nový Jičín

Aneurysma a disekce hrudní aorty (TAAD) patří mezi nejčastější a nejzávažnější chronická onemocnění aorty a vážné život ohrožující stavy. TAAD postihují všechny části hrudní aorty - ascendentní aortu, aortální oblouk, descendentní aortu i thorakoabdominální oblast. Aneurysma i disekce se tvoří v místě oslabení cévní stěny, kde dochází k jejímu vyklenutí nebo trhlině. TAAD je primárně diagnostikována pomocí zobrazovacích metod, jako je echokardiografie, počítačová tomografie, magnetická rezonance, nebo angiografie. Až 20% jedinců s TAAD má v rodině příbuzného prvního stupně s aortální nemocí, ostatní případy jsou sporadické nebo izolované.

TAAD je geneticky heterogenní skupina postižení hrudní aorty s omezenou penetrancí a variabilní expresivitou. Familiární formy se dědí autozomálně dominantním způsobem a jejich příčinou jsou mutace v kauzálních genech. Tyto případy jsou často spojeny i s jinými příznaky a podle dalších symptomů mohou být součástí Marfanova syndromu (gen *FBN1*), Loeys-Dietz syndromu (geny *TGFBR1* a *TGFBR2*), vaskulárního typu Ehlers-Danlos syndromu (gen *COL3A1*) nebo arterial tortuosity syndromu (gen *SLC2A10*). Zbýlá část familiárních případů TAAD je nesyndromových, s mutacemi v genech *ACTA2*, *SMAD3*, *TGFβ2* aj., kdy je postižení úzce vázáno pouze na oblast hrudní aorty. Věk nástupu a plné rozvinutí familiárního TAAD onemocnění jakož i jeho závažnost jsou velmi rozmanité a může se lišit i v rámci jedné rodiny. Vzhledem k závažnosti postižení je odhalení mutace zodpovědné za TAAD v rodině významnou informací pro pacienty a jejich rodinné příslušníky.

V rámci tohoto sdělení představujeme 2 zajímavé kazuistiky rodinného výskytu TAAD z našeho souboru čítající 1098 pacientů. Etiologie onemocnění bylo odhaleno díky komplexnímu přístupu, za použití technologie Next generation sequencing, přímého sekvenování a metody MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Kromě fenotypových příznaků a genetického pozadí dvou demonstrovaných pacientů diskutujeme i přednosti a úskalí moderních technik a jejich využití pro klinickou praxi.

Univerzita Pardubice
Studentská 573,
532 10 Pardubice

tel: +420 466 037 798
e-mail: marcela.pejchalova@upce.cz

Výskyt bakterií rodu *Arcobacter* u domácích mazlíčků (koček a psů) v ČR

Pejchalová M.¹, Žabčíková S.², Šilhová L.¹, Hašlová M.³

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

²Katedra analytické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice

³Veterinární klinika Trnová, Jiřího Potůčka 1, 53000 Pardubice

Rod *Arcobacter* v současnosti zahrnuje osmnáct druhů, z nichž *A. butzleri*, *A. cryaerophilus*, *A. skirrowii* a *A. cibarius* jsou považovány za patogenní. Arkobaktery způsobují průjemová onemocnění, která jsou někdy doprovázena horečkou, bolestmi břicha a zvracením. Arkobaktery byly izolovány z potravin především živočišného, ale také rostlinného původu, z klinických vzorků zdravých lidí i lidí s příznaky onemocnění. Přítomnost arkobakterů byla potvrzena také u zvířat, hospodářských i domácích.

Tato práce sleduje výskyt bakterií rodu *Arcobacter* spp. u domácích mazlíčků - koček a psů v České republice. Celkem bylo testováno 178 vzorků, 108 vzorků pocházelo od psů a 70 vzorků od koček. Zvířatům byly pomocí vatových stěrových tamponů s Amies agarovým gelovým transportním médiem obsahujícím aktivní uhlí (COPAN, Itálie) a nylonových kartáčků Cytobrush Plus® (CooperSurgical, Německo) odebrány stěry z tlamy. Bylo provedeno jak kultivační vyšetření, tak i izolace DNA s následnou PCR, která identifikuje arkobaktery na úrovni rodu i druhu.

Při kultivačním vyšetření byly vatové tampóny otřeny na TSA médium (HiMedia, Indie) a kultivovány při teplotě 30 °C po dobu 48 hodin v aerobním prostředí. Tímto postupem byly bakterie rodu *Arcobacter* zachyceny pouze v jednom vzorku pocházejícím od psa (maltézský pinč). Arkobaktery se kultivační metodou v dalších vzorcích nepodařilo zachytit vzhledem k velkému množství doprovodné mikroflóry.

V případě izolace DNA přímo ze stěrového kartáčku byly použity tři metody izolace DNA: 1. QIAamp DNA mini kit (Quiagen), kdy byla přítomnost *Arcobacter butzleri* potvrzena v jednom vzorku (pes – německý pinč). 2. Stěrový kartáček byl resuspendován v PBS pufru a izolace DNA byla provedena lýzou buněk po inkubaci v suchém teple. Tímto postupem a následnou m-PCR se podařilo zachytit 2x *Arcobacter butzleri* u dvou psů (kříženci). 3. Stěrový kartáček byl 24 h pomnožen v *Arcobacter* bujónu s CAT suplementem (HiMedia, Indie) a izolace DNA byla provedena lýzou buněk po inkubaci v suchém teple. Tímto postupem byl *Arcobacter butzleri* zachycen u kočky (nekastrovaný outdoorový kocour).

Ze všech testovaných zvířat bylo 5 pozitivních. Ve čtyřech případech vzorek pocházel od psa, v jednom od kočky. Pomocí PCR byla ve všech pěti případech potvrzena přítomnost *Arcobacter butzleri*. Při opakovaném odběru vzorků byla přítomnost arkobakterů prokázána u jednoho vzorku pocházejícího od psa. Všechna vyšetřovaná zvířata podle sdělení majitelů nejevila v době odběru žádné známky onemocnění. Záchyt arkobakterů u vyšetřovaného souboru domácích mazlíčků byl nízký, obdobně jako v belgické studii (1). Na rozdíl od italské studie se nepotvrdila vysoká prevalence arkobakterů u koček (2). Přesto mohou být kočky a psi chovaní jako domácí mazlíčci přenašeči sledovaných bakterií a zároveň potenciálními zdroji infekce u člověka.

1. HOUF K., DE SMET S., BARÉ J., DAMINET S.: Dogs as carriers of the emerging pathogen *Arcobacter*, *Veterinary Microbiology*, 2008, 130, 208 – 213.
2. FERA M. T., LA CAMERA E., CARBONE M., MALARA D., PENNISI M. G.: Pet cats as carriers of *Arcobacter* spp. in Southern Italy, *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 106, 1661 - 1666

Tato práce vznikla za finanční podpory Fakulty chemicko-technologické Univerzity Pardubice, studentský projekt SGFChT 07/2014.

Oddělení klinické biochemie, FN Olomouc
I. P. Pavlova 6
775 20 Olomouc

tel: +420 588 444 236
e-mail: jana.bednarikova@fnol.cz

Monitorování BK viru u pacientů po transplantaci ledvin

Bednaříková J., Krejčí K., Novotný D., Bartková M., Pajková D., Zrníková L.

Oddělení klinické biochemie FN Olomouc
III. interní klinika – nefrologická, revmatologická a endokrinologická FN Olomouc

BK virus z rodu polyomavirů patří mezi významné patogeny vyvolávající posttransplantační komplikace u příjemců ledvinných transplantátů. Po primoinfekci virus perzistuje v epiteliálních buňkách renálních tubulů a buňkách urotelu. Vlivem imunosuprese může dojít k jeho reaktivaci a rozvoji komplikací, z nichž nejzávažnější je polyomavirová nefropatie (PVAN) s progresivním zhoršováním funkce štěpu. Incidence se pohybuje přibližně kolem 5%, přičemž PVAN v pokročilém stadiu vede až k rejekci štěpu a to u více jak 50 % pacientů. Další komplikací může být stenóza ureteru popř. systémová vaskulopatie. Aktivní replikace BKV vede k jeho uvolňování do moči a krve. Stanovení virurie a virémie je používáno pro určení včasné diagnózy, monitorování průběhu terapie imunosupresivy, popř. monitorování odezvy na jiná léčebná opatření.

Ve spolupráci s III. interní klinikou provádíme screening BKV DNA u pacientů po ledvinné transplantaci a v případě pozitivního záchytu také následné monitorování množství BKV DNA v moči a plazmě. Během dvou let jsme provedli 1498 vyšetření u 397 pacientů po transplantaci ledviny. Vyšetření se provádí metodou real-time PCR kitem Real star BKV Kit (Altona) s kvantitativním vyhodnocením pozitivních nálezů. U 102 pacientů byla detekována BKV DNA v moči, u 21 pacientů v moči i plazmě, z toho u 8 pacientů byla stanovena klinicky významná virurie i virémie.

Systematický screening pacientů po transplantaci ledviny pomocí kvantitativní PCR z moči a plazmy a včasný terapeutický zásah snižuje rozvoj PVAN a riziko následné rejekce štěpu.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.
Hudcova 296/70
621 00 Brno

tel: +420 533 331 614
e-mail: mikel@vri.cz

Produkce armored RNA částic pomocí jednoplazmidového dvouexpresního HIS-tag systému

Mikel P.^{1,2}, Vašíčková P.¹, Tesařík R.¹, Kulich P.¹, Malenovská H.¹ a Králík P.¹

¹Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Hudcova 296/70, 621 00 Brno

²Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno

Úvod: Armored RNA (aRNA) částice jsou uměle připravené pseudovirionové částice odvozené od bakteriofága MS2 (Pasloske et al., 1998). aRNA částice, obsahující unikátní kontrolní RNA sekvenci a slouží jako tzv. procesně kontrolní viry v detekci patogenních RNA virů pomocí reverzní transkripční real-time PCR (qRT-PCR). Ke každému vzorku jsou na počátku analýzy přidány aRNA částice v určité kvantitě a RNA je poté izolována standardními postupy. Na konci analýzy je možné prostřednictvím kvantifikace aRNA částic kvantifikovat také účinnost izolace RNA u každého vzorku.

Metodika: Za účelem zjednodušení produkce aRNA částic byl navržen a zkonstruován tzv. jednoplazmidový dvouexpresní HIS-tag systém. Tento systém se skládá z expresního vektoru nesoucího dva T7 promotory. Za první T7 promotor byl klonován syntetický DNA konstrukt nesoucí sekvence bakteriofága MS2 nutné pro vznik aRNA částic spolu s inzerční mutací umožňující purifikaci aRNA částic pomocí HIS-tag afinitní chromatografie (Cheng et al., 2006). Za druhý T7 promotor byla klonována unikátní kontrolní sekvence spolu s C-variantou tzv. *pac* místa umožňujícího zabalování kontrolní sekvence do aRNA částic s vyšší specifitou (Wei et al., 2008). Transmisní elektronová mikroskopie (TEM) byla využita k ověření úspěšného sestavování aRNA částic. aRNA byly dále testovány na schopnost odolávat působení RNáz.

Závěr: Jednoplazmidový dvouexpresní HIS-tag systém pro produkci aRNA částic byl úspěšně zkonstruován. Systém v sobě integruje všechny doposud známé poznatky o produkci aRNA částic. Prostřednictvím tohoto systému je možné purifikovat aRNA pomocí HIS-tag afinitní chromatografie, což značně zjednodušuje jejich přípravu. Dále je možné připravit aRNA částice s různou délkou kontrolní sekvence (100 bp – 3000 bp), přičemž tyto aRNA částice obsahují pouze požadovanou kontrolní sekvenci bez sekvencí bakteriofága MS2. Produkované aRNA částice se vyznačují vysokou čistotou, homogenitou a stabilitou vůči RNázám.

Tato práce byla podpořena granty NT13884-4/2012 MZ ČR a MŠMT ČR pod programem NPU I (projekt LO1218).

Literatura:

- Cheng, Y. J., J. J. Niu, Y. Y. Zhang, J. W. Huang, and Q. G. Li, 2006, Preparation of His-tagged armored RNA phage particles as a control for real-time reverse transcription-PCR detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus: *Journal of Clinical Microbiology*, v. 44, p. 3557-3561.
- Pasloske, B. L., C. R. Walkerpeach, R. D. Obermoeller, M. Winkler, and D. B. DuBois, 1998, Armored RNA technology for production of ribonuclease-resistant viral RNA controls and standards: *Journal of Clinical Microbiology*, v. 36, p. 3590-3594.
- Wei, B. J., Y. X. Wei, K. Zhang, C. M. Yang, J. Wang, R. H. Xu, S. Zhan, G. G. Lin, W. Wang, M. Liu, L. N. Wang, R. Zhang, and J. M. Li, 2008, Construction of armored RNA containing long-size chimeric RNA by increasing the number and affinity of the *pac* site in exogenous RNA and sequence coding coat protein of the MS2 bacteriophage: *Intervirology*, v. 51, p. 144-150.

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

tel. +420 466 037 779
e-mail: olga.hruskova@upce.cz

Sledování mutací v genech patogenní kvasinky *Candida albicans* souvisejících se snížením citlivosti vůči antimykotikům

Hrušková-Heidingsfeldová O., Kročová E., Majtnerová P.

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

Jednou z vážných komplikací při léčbě nemocí způsobených patogenními kvasinkami je snižování citlivosti těchto patogenů vůči používaným antimykotikům. Snížení citlivosti, případně až rozvoj rezistence může mít řadu příčin. V případě azolových antimykotik se může jednat o mutace v cílové struktuře, kterou je lanosterol 14- α -demethyláza kódovaná genem *ERG11*, nebo o zvýšení exprese efluxních pump, které transportují molekuly antimykotik ven z buňky. Snížená citlivost k antikymotikům může být způsobena také mutacemi nebo změnou transkripce genů, které regulují expresi *ERG11* nebo efluxních pump.

Klinický izolát kvasinky *Candida albicans* jsme použili pro experiment umělé evoluce, v jehož rámci jsme získali také kmeny s nižší citlivostí vůči běžně používanému antimykotiku Flukonazolu. Abychom zjistili molekulární mechanismy, které tento jev způsobují, sekvenujeme gen *ERG11*, jeho regulátor *UPC2*, dále gen *CDR1* kódující efluxní pumpu zodpovědnou za transport Flukonazolu a geny *MRR1* a *MRR2*, které se pravděpodobně účastní regulace *CDR1*. Cílem je vytipování mutací, jejichž výskyt je spojen s rozvíjející se rezistencí pravidelně a mohou tudíž sloužit jako indikátor tohoto nebezpečí.

Pardubická krajská nemocnice, a.s.
Kyjevská 44
530 03 Pardubice

tel: +420 466013220
e-mail: lucie.barekova@nemocnice-pardubice.cz

Molekulární typizace methicilin-rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* izolovaných v Geriatrickém centru

Bareková L^{1,3}, Halamíčková Z², Melter O⁴, Stehlíková Z⁴, Zálabská E¹, Bureš I⁵, Hanovcová I³

¹ Oddělení klinické mikrobiologie, Pardubická krajská nemocnice, a.s.

² Infekční oddělení, Pardubická krajská nemocnice, a.s.

³ Katedra epidemiologie, Fakulta vojenského zdravotnictví Hradec Králové, Univerzita Brno

⁴ Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK Praha

⁵ Geriatrické centrum, Pardubická krajská nemocnice, a.s.

Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) je významný nozokomiální patogen se schopností rychle se šířit, zejména v nemocničním prostředí. V posledních letech byly izolovány i komunitní kmeny. Rizikovými faktory pro vznik nosičství a infekci jsou především dlouhodobý pobyt v nemocnici, invazivní procedury, léčba antibiotiky, diabetes mellitus, renální insuficience na hemodialýze, kožní choroby (chronické kožní defekty). Ve specifickém riziku infekce jsou i pacienti na odděleních následné péče. Na tato oddělení jsou přijímáni chronicky kolonizovaní pacienti, kteří mohou být zdrojem multirezistentních kmenů pro zařízení poskytující akutní péči. V Pardubické krajské nemocnici byl v posledních letech v rámci sledování výskytu těchto kmenů zaznamenán v Geriatrickém centru stoupající počet pacientů kolonizovaných a infikovaných MRSA. Pro objasnění epidemiologické situace byly kmeny izolované od pacientů a z nemocničního prostředí podrobeny genetické analýze. Do souboru bylo zařazeno celkem 43 kmenů. 40 kmenů bylo izolováno od 39 pacientů v období od začátku května 2013 do konce října 2014. Byl zařazen vždy první kmen izolovaný od pacienta. Od jednoho pacienta byly do studie zařazeny dva kmeny MRSA izolované v odstupu 14 měsíců. Tři kmeny MRSA byly zachyceny ve stěrech z prostředí. Ve sdělení jsou prezentovány výsledky spa typizace těchto kmenů.

Práce byla provedena za finanční podpory projektu v rámci specifického výzkumu FVZ UO

Ústav molekulární a translační medicíny, LF UP Olomouc
Hněvotínská 5
779 00 Olomouc

tel: +420 585 63 2186
e-mail: rastislav.slavkovsky@upol.cz

Využití ultra hlubokého sekvenování RAS genů pro prediktivní diagnostiku kolorektálního karcinomu. (Ultra deep amplicon sequencing of RAS genes and its use for colorectal carcinoma diagnostics).

Slavkovský R., Stránská J., Věnsková V., Jančík S., Vojta P., Drábek J.
DNA laboratoř, Ústav molekulární a translační medicíny, LF UP Olomouc

Tumor DNA testing of KRAS and NRAS (RAS) genes, which are components of the EGFR signaling pathway, is a prerequisite for proper personalized biological treatment using anti-EGFR drugs such as panitumumab and cetuximab in metastatic colorectal carcinoma (mCRC). EGFR regulates cancer-cell proliferation, apoptosis and tumor-induced angiogenesis. The anti-EGFR treatment cannot be prescribed in case of mutations in both RAS (codons 12, 13, 59, 61, 117, 146). Detection of increasing number of possible mutations with probe-based qPCR is cumbersome while amplicon ultra-deep next-generation sequencing (NGS) has a potential to be suitable method for simultaneous direct detection of all somatic mutation within tested regions and with a defined detection limit. The aim of the study was to verify and optimize RAS NGS sequencing of tumor DNA samples for detection of all predictive mutations.

During more than one year, more than 340 FFPE tumor samples were tested. Two methods of NGS RAS assays with longer (189 – 295 bp) or shorter (70 - 120 bp) amplicons were introduced in laboratory. Both RAS assays consist of qPCR with a control of amplicons by melting curves. "Short RAS" assay was based on adapter ligation otherwise "long RAS" assay was based on simultaneous adapter tagging and fragmentation (tagmentation) of amplicons. After indexing PCR, size selection of the products, samples from both assays were normalized, pooled and sequenced at Illumina MiSeq at ultra-deep coverage. Results with at least 5 % mutation frequency were concluded as "mutation detected", according to consensus of the Czech Society of Pathology.

The first pilot study of 24 samples was in 100 % concordance with theascreen® KRAS RGQ PCR Kit (KRAS codons 12 and 13, CE-IVD, Qiagen), in 96 % other 50 selected samples. In every RAS run, KRAS G13D or NRAS Q61L mutation standards were correctly found, confirming reproducibility of the method. Interlaboratory comparison of 12 samples with mutations showed 92 % concordance, one of the samples needs to be retested in both laboratories. External quality assessments (EQA) yielded one result differing from consensus out of ten. Upon investigating the cause of this discrepancy with EQA organizers, we found that sample was artificially prepared cell line that did not cover sequence of our primers. Mutation in this sample was correctly identified by „short RAS” assay.

Overall from 341 tested samples 40% were positive for major mutations (KRAS codons 12 and 13). Furthermore, we detected in 10% of samples minority mutations (mainly KRAS codons 61 and 146 and NRAS codon 61). The relatively high percentage of tumors with minority mutations proves the necessity for their testing, which was not necessary before autumn 2014. Together 36 of the samples which were not possible to be analyzed by "long RAS" assay due to DNA quality, were successfully analyzed by "short RAS" assay. 4 samples remained untestable.

Taken together we show that NGS method is a suitable and valid method for predictive mCRC diagnostic. Especially in case of FFPE samples the shortening of the sequencing area could be very beneficial for improving the quality of the results.

The work was supported by CZ.1.07/2.3.00/30.0060 and CZ.1.07/2.3.00/30.0041.

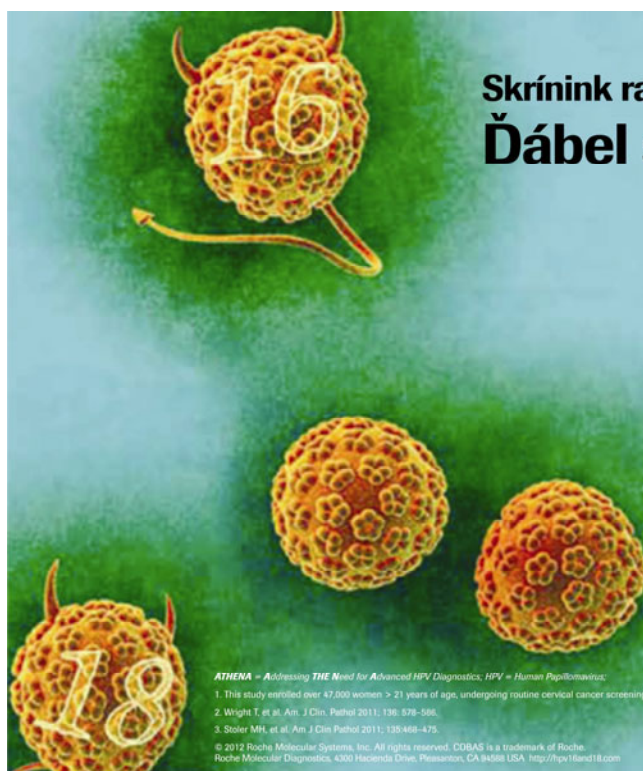
Roche Diagnostics je předním světovým výrobcem diagnostických systémů a poskytovatelem zdravotnických informací. Jsme zaměřeni na výzkum, vývoj, marketing a servis produktů a řešení nejenom pro laboratoře, lékaře a pacienty, ale také pro výzkum a průmysl.

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



cobas[®]
Life needs answers

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



Skrínink rakoviny děložního čípku Ďábel se ukrývá v detailech

cobas[®] HPV Test pomáhá odhalit onemocnění, které není zachyceno cytologií

cobas[®] HPV Test je jediný klinicky validovaný test schválený FDA a s certifikací CE, který současně poskytuje sdružený výsledek vysoce rizikových genotypů a individuální výsledky nejvíce rizikových genotypů HPV16 a HPV18.

Studie ATHENA¹ na více než 47 000 ženách ukázala:

- Přibližně 1 z 10 žen, které byly pozitivně testovány cobas[®] HPV testem na genotypy 16 a 18, měla ve skutečnosti prekancerózu, ačkoliv měla normální test Pap (ThinPrep test - LBC)².
- Přibližně 1 ze 3 žen, které měly hraniční cytologii nebo ASC-US (ThinPrep testem - LBC) a byly současně HPV16 pozitivní, měla již vysoký stupeň onemocnění děložního čípku, ve srovnání s pouze 1 ze 7 žen, které byly pozitivní na 12 ostatních hrHPV³.

cobas[®] HPV test poskytuje přesvědčivou identifikaci rizika rakoviny děložního čípku již při prvním vyšetření.

ATHENA = Addressing THE Need for Advanced HPV Diagnostics. HPV = Human Papillomavirus.
1. This study enrolled over 47,000 women > 21 years of age, undergoing routine cervical cancer screening
2. Wright T. et al. Am. J. Clin. Pathol 2011; 136: 578-586.
3. Stoler MH, et al. Am. J. Clin Pathol 2011; 135:468-475.
© 2012 Roche Molecular Systems, Inc. All rights reserved. COBAS is a trademark of Roche.
Roche Molecular Diagnostics, 4300 Hacienda Drive, Pleasanton, CA 94588 USA. <http://hpv16and18.com>

Více se můžete dovědět na
www.hpv16and18.com nebo
www.hpv16a18.cz

cobas[®]

The cobas[®] HPV Test
KNOW THE RISK





O NAŠICH PRODUKTECH VÍME VŠE

JSME ČESKÝ VÝROBCE S DLOUHOLETOU TRADICÍ

Garantujeme kontrolu nad celým procesem vývoje, výroby a distribuce všech nabízených GeneProof souprav

- náš tým odborníků má mnohaleté zkušenosti s PCR
- garantujeme nadstandardní zákaznický servis a expresní dodávky
- zajišťujeme interní kontrolu kvality dle mezinárodních standardů
- dosahujeme vynikajících výsledků v panelech externího hodnocení kvality QCMD, INSTAND e.V., SZÚ
- průběžně inovujeme produkty na základě nejnovějších poznatků molekulární biologie a požadavků zákazníků



BAG Health Care GmbH nabízí řadu PCR diagnostik: **BAGene** - SSP typizace červených krvinek, **HISTO TYPE Happy Pack** - SSP typizace HLA, **HISTO SPOT®** – SSO testy pro typizaci I. a II. HLA třídy a **ERY SPOT®** – SSO testy pro stanovení krevních skupin včetně automatu **MR. SPOT®**. Nedílnou součástí nabídky jsou i kontrolní testy, např. **CYCLER CHECK** pro kontrolu teplotní uniformity termocyklérů či **Wipe Test** pro kontrolu HLA kontaminací.

Součástí naší nabídky jsou i speciální soupravy pro průkaz predispozice k chorobám asociovaným s určitými HLA typy – **celiakie**, **narkolepsie**, **autoimunitní choroby** asociované s B27.

O této i další nabídce firmy naleznete více informací na našich webových stránkách nebo přímo od našich prodejců.

BAG Health Care GmbH
Na Hlínách 555/17
182 00 Praha 8

Tel.: 286 840 508 Fax: 286 840 510
E-mail: info@bag-healthcare.cz
www.bag-healthcare.cz

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

Kontakt:
BIOMEDICA ČS, s.r.o.
Sokolovská 100/94
186 00 Praha 8 - Karlín
www.bmgrp.cz



Společnost BIOMEDICA ČS, s.r.o. se zabývá distribucí produktů pro medicínu (humánní i veterinární), farmaceutický průmysl, vědu a výzkum a produkci potravin. Produkty pro laboratoře tvoří významnou část produktového portfolia společnosti. V oblasti in-vitro diagnostiky jsme partnerem laboratoří, které se zabývají vyšetřováním alergií, autoimunitních onemocnění, endokrinologií, sérologií infekčních onemocnění, mikrobiologií, hemostázou a v neposlední řadě molekulární diagnostikou. V oblasti molekulární diagnostiky zastupujeme mezinárodní společnosti, které nabízejí produkty pro laboratoře infekční diagnostiky, imunogenetiky, cytogenetiky a molekulární patologie.

Bio-Consult Laboratories spol. s r.o. se specializuje na dovoz a distribuci produktů z oblasti molekulární biologie a genetiky pro vědu a výzkum (Life Science) a klinickou diagnostiku.



Novinky v našem sortimentu:

- **Real-time PCR diagnostické soupravy RIDA®GENE** od německé firmy **R-Biopharm** pro detekci infekcí trávicího traktu, respiračních a nozokomiálních infekcí.
- **Bioreaktory** německé firmy **Cellab** pro kultivaci mezenchymálních buněk, umělých kožních štěpů, 3D štěpů kostí a chrupavek, pro produkci monoklonálních protilátek.
- **Genetické referenční standardy** od britské firmy **Horizon Diagnostics**. **Genomické a multiplexové DNA referenční standardy, FFPE referenční standardy, FISH referenční standardy** umožňují externí kontrolu kvality, přesnosti a citlivosti esejí, včetně izolací. Slouží i jako kvantitativní a limitní standard pro PCR a NGS.
- Produkty od firmy **MAGBIO** - **Izolační kity pro DNA/RNA na principu magnetických partikulí, purifikační kity pro Sangerovo sekvenování, purifikační kity pro tvorbu NGS knihoven, magnetické platformy pro zkumavky a destičky.**

Bio-Consult Laboratories spol. s r.o.
Božejovická 145, 142 01 Praha 4-Libuš
Tel./fax +420 244471239, +420 241729792
www.bioconsult.cz

NextGENe®
Next Generation Sequencing Software
for Biologists

Biologist Friendly Windows® interface:
Application driven
Automated inspection of input files to set analysis parameters
Requires no scripting,
Reduces bioinformatics requirements

Application Modules for:
SNP/Indel/Structural Variant Analysis
CNV Analysis, Somatic Mutation Mining
Large Genome Alignment and Variant Discovery
Exome Analysis and Variant Discovery
RNA-Seq/Transcriptome Analysis
Targeted Sequencing and Resequencing Analysis
HLA Analysis, STR Human Identity Analysis
de novo & Paired End Assembly
Paired End Merging, Digital Gene Expression
Metagenomic Analysis
miRNA Discovery and Quantification
Rare Disease Analysis and Prediction
Multiple Project Comparison

Compatible with:
Ion Torrent Platforms, Roche Sequencing Platforms,
Illumina Sequencing Platforms, Life Technologies SOLiD™ System



Produkty a služby pro molekulární biologii

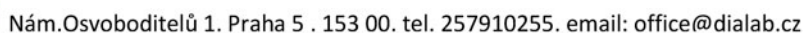
Nabízíme kvalitní přístroje, chemii, software a certifikovaný servis DNA sekvenátorů za rozumné ceny

- kompletní servis DNA sekvenátorů certifikovanými technikami
- spotřební materiál pro DNA sekvenátory
- analytický software pro Sangerovo i NGS sekvenování
- pipety
- elektroforézy
- PCR termocyklery
- izolační RNA, DNA kity

Carolina Biosystems, s.r.o.
Drnovská 1112/60
161 00 Praha 6

www.carolinabiosystems.com

SOFTGENETICS®
Software PowerTools for Genetic Analysis



Jeden z významných oborů naší činnosti jsou dodávky kompletního vybavení pro mikrodestičkovou instrumentaci od firmy BIOTEK zahrnující: readery, automatické promývačky a dispensory mikrotitračních destiček, multidetekční readery pro stanovení absorbance, fluorescence a luminiscence. Jako novinku nabízíme readry vybavené možností zaznamenávat i obraz pomocí integrovaného fluorescenčního i standardního mikroskopu a



Dále nabízíme švýcarské pipety zn. SOCOREX, Hellma kyvety pro fotometrii, plastové výrobky pro tkáňové kultury od firmy GBO.

V dalším vyrábíme a dodáváme reagenty pro oblast klinické biochemie a imunologie, hematologické a biochemické analyzátoary, analyzátoary na okultní krvácení od firmy EIKEN a další...



Navštivte náš e-shop:
www.elisabeth.cz



DNA diagnostika EliGene®
ZEPHYRUS® PCR Box
ZEPHYRUS® Magneto pro izolaci DNA / RNA

Soupravy pro izolaci DNA / RNA **MO BIO**, **Perkin Elmer**,
mastermixy a polymerázy **KAPA Biosystems**, příprava oligonukleotidů a
sekvenování, spotřební materiál pro laboratoře (rukavice, plast atd.)



Společnost DYNEX je jedním z největších dodavatelů produktů a služeb v oblasti laboratorních zařízení a diagnostik v České republice. Na českém trhu jsme již od roku 1992, a od roku 2002 jsme samostatnou, ryze českou společností.

DYNEX se zabývá především prodejem přístrojů a diagnostik pro mikrobiologické, molekulárně-biologické, imunologické laboratoře, transfuzní služby, vědecko-výzkumná pracoviště atd. Dodává a poskytuje servis k přístrojům a diagnostickým kitům od několika zahraničních firem, mezi nejdůležitější patří dvě německé společnosti EUROIMMUN a QIAGEN.

Hlavní odběratelé jsou zákazníci z klinicko-diagnostických laboratoří, akademií, forenzní genetiky, veterináři a fytopatologové.

Dále dodává přístroje a reagentie pro metody ELISA, PCR, Real Time PCR, imunofluorescenci, Western blot a immunoblot, stanovení specifického IgE, hybridizaci, stanovování krevních skupin, MIC, rapid testy aj.

Laboratořím nabízí také doplňující vybavení, jako jsou laminární boxy, pipety a dávkovače, elektroforézy, centrifugy, plasty a spotřební materiál, kultivační média a další pomocné laboratorní přístroje.

Společnost DYNEX se od roku 2004 zaměřila také na vývoj nových laboratorních diagnostických přístrojů a reagentií. Námi vyvinuté přístroje již našli své uživatele v České republice a v dalších evropských zemích. I nadále pokračujeme ve vývoji nových přístrojů a reagentií, přičemž vycházíme z požadavků našich zákazníků. DYNEX tak naplňuje svůj cíl stát se výrobcem vlastních produktů nejvyšší kvality a potvrdit tak svou pozici na trhu.

Výrobní program společnosti DYNEX v současnosti zahrnuje 8 zařízení a několik Real Time PCR kitů. Stěžejním produktem firmy je přístroj DYNABLOT, který existuje již v několika typových modifikacích a vyvážá se do celého světa.

Vzhledem k rozšíření společnosti DYNEX o výrobu bylo potřeba vybudovat větší prostory, které jsme našli v Buštěhradě. V červenci 2012 tak došlo k přestěhování společnosti DYNEX z Prahy a Vlašimi (původní výroba) do nové budovy.

Kontakt:

DYNEX, Lidická 977, 273 43 Buštěhrad, Česká republika

tel.: +420 220 303 600, fax: 224 320 133, e-mail: office@dynex.cz , www.dynex.cz

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Karásek 1/1767
621 33 Brno

Tel.: +420 549 124 111
FAX: +420 549 211 465
E-mail: info@biovendor.cz
Web: www.biovendor.cz



BioVendor – Laboratorní medicína a.s. (dále jen BioVendor) je významným českým distributorem širokého spektra produktů in vitro diagnostiky a specializovaného sortimentu klinických produktů. BioVendor je také mezinárodně působící biotechnologickou společností s vlastním výzkumem, vývojem, výrobou a obchodní sítí.

Díky pokrytí všech významných oblastí in vitro diagnostiky, dlouhodobé zkušenosti s vývojem a výrobou vlastních produktů a dalekosáhlé zkušenosti v oblasti pokročilé laboratorní automatizace naši odborní konzultanti navrhnou individuální řešení potřeb každé laboratoře.

Divize Klinických produktů nabízí prostředky pro práci na pacientovi, které tudíž nespádají do oblasti lékařské či jiné laboratoře. Jedná se jednak o úzce vymezené portfolio produktů pro elektrochirurgii, laparoskopii, obecnou chirurgii (šicí materiály) a nově dentální implantologii a jednak o část zobrazovací techniky Siemens, a to ultrazvukové přístroje a radiodiagnostiku (stacionární a mobilní rentgeny a mamografii).

BioVendor vyvíjí, vyrábí a prostřednictvím vlastní mezinárodní obchodní sítě nabízí nástroje pro biomedicínský výzkum v podobě výzkumně orientovaných ELISA souprav, proteinů a protilátek. Této specializované oblasti se podrobněji věnuje divize Produkty výzkumu.



GENERI BIOTECH: Váš partner pro DNA diagnostiku

Jsme česká biotechnologická společnost zaměřující se na vývoj a výrobu molekulárních diagnostik v medicíně.

Jednotlivé komponenty našich diagnostických souprav sami vyvíjíme a vyrábíme. Známe je tedy dokonale a díky tomu ručíme za vysoký standard jejich kvality.

Kde využijete naše kity?

- vyšetření predispozice k žilním trombózám
- vyšetření predispozice k ateroskleróze
- detekce patogenů
- diagnostika v hematologii a onkogenetice
- v oblasti farmakogenetiky

Kromě diagnostik se na nás můžete obrátit v případě, že potřebujete:

- oligonukleotidy a real-time PCR sondy
- reagenty pro PCR
- real-time PCR assaye
- zavést real-time PCR a nevíte, jak na to

Jsme držitelem certifikátu jakosti pro standard ISO 9001 a pro výrobu in vitro diagnostiky dle ISO 13485.

generi biotech



ASCO-MED, spol. s r. o.

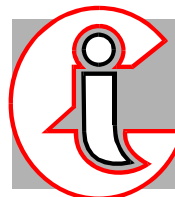
Pod Cihelnou 6/664, 161 00 Praha 6

tel.: +420 233 313 578

fax: +420 233 313 582

e-mail: asco@ascomed.cz

<http://www.ascomed.cz>



INNOGENETICS

BIOTECHNOLOGY FOR HEALTHCARE



HPST, s.r.o.
Písnická 372/20
142 00 Praha 4
Czech Republic

Tel.: +420 244 001 231
Fax: +420 244 001 235
E-mail: info@hpst.cz
Web: www.hpst.cz

Autorizovaný
distributor
Agilent
Technologies



Agilent Technologies

Authorized Distributor

HPST, s.r.o. je autorizovaným distributorem analytické instrumentace **Agilent Technologies** pro Českou republiku. Kromě analytické instrumentace pro chromatografii a spektroskopii jsou to přístroje, spotřební materiál a reagentie pro **molekulární biologii a genomiku** (systémy pro analýzu DNA/RNA a proteinů, PCR & RT-PCR, qPCR, řešení pro NGS, FISH sondy, microarray scannery, skla pro CGH, GE, miRNA a mnoho dalšího). **Pro rutinní analýzu DNA/RNA doporučujeme:**



Agilent 2100 Bioanalyzer

Kvalitativní i kvantitativní kontrola DNA, RNA a proteinů na principu elektroforézy na čipu. Zlatý standard pro kontrolu kvality RNA. Možnost připojit modul pro jednoduchou průtokovou cytometrii. Již více než 50 instalovaných kusů v ČR!



Agilent 2200 TapeStation

Plně automatizovaná kontrola kvality DNA, RNA a proteinů: vše od nadávkování vzorku až po vyhodnocení výsledků. Výsledky všech 96 vzorků už za jednu minutu! Oddělené kanálky zvyšují flexibilitu co do počtu vzorků v jedné analýze.

Novinkou tohoto roku je naše spolupráce se společností STRATEC. Divize **STRATEC Molecular** nabízí široké portfolio řešení pro přípravu DNA a RNA vzorků nejrůznějšího typu (genomická DNA, virální RNA/DNA, bakteriální DNA, celková RNA, DNA fragmenty, enzymy a reagentie). **Pro automatickou přípravu DNA/RNA vzorků doporučujeme:**



STRATEC InviGenius®

Skutečný „walk-away“ systém pro extrakci a purifikaci DNA/RNA z klinických vzorků (tzv. technologie „sample in – eluate out“).

- extrakce a purifikace DNA/RNA z 12 vzorků současně
- objem vzorku až 4 ml
- kompletní kontrola „in-process“
- pokročilé bezpečnostní prvky, standardizovaná příprava vzorků
- ověřená technologie magnetických částic (InviMag technologie)
- CE certifikace podle IVD direktivy (Directive 98/79/EC), a to včetně spotřebního materiálu

strattec ● ●
molecular

ANKETNÍ OTÁZKA

Agilent OffGel má označení: a) 2100, b) 2200, c) 3100. Odpovědi zasílejte na info@hpst.cz s heslem **CZ_1502_RANK** nejpozději do 15. 2. 2015. Pět vylosovaných správných odpovědí odměníme cenami.



SOLUTIONS FOR LIFE SCIENCE



PURITY | QUALITY | SERVICE

KRD - obchodní společnost, s.r.o. | Pekařská 12, 155 00 Praha 5
Email: krd@krd.cz | Tel: 257 013 400 | Fax: 257 013 405

Laboratory equipment:

pipettes, balances, pH meters
centrifuges, cleaners, pumps
bathes, shakers, thermoblocks
sterilization, decontamination (ClO₂)
refrigerators, freezers, deep freezers
laminary flow and biosafety cabinets
plant growth and climate chambers
bioreactors, fermentors
water purification

Reagents:

molecular biology
fluorescence detection
microarray, cloning
proteomics and genomics
PCR, qPCR, RT-PCR
expression systems
cell culture

Oligonucleotide synthesis:

primers and assays
probes and quenchers
DNA/RNA synthesis
modifications and freedom dyes
custom gene synthesis
gBlocks gene fragments

Laboratory plastic:

general laboratory plastic
tissue culture plastic
gloves, tips, PCR plastic
special plastic for microscopy

Special devices:

freeze dryers, concentrators
PCR devices, cell counters
electrophoresis and blotting
power supplies, microscopes
nucleic acid isolators
detection of mutation
microarray
spectrophotometers
in-vivo imaging, software

Services:

service and validation
preventive maintenance
decontamination (ClO₂)
post-warranty service
service laboratory
gene expression, PCR, microarrays
bioinformatics, gene profiling

www.krd.cz

Sipoch, spol. s r.o.

Felbabka 4, 268 01 Hořovice
tel/fax: 257 325 340/ 257 318 481
sipoch@sipoch.cz
www.sipoch.cz



Výhradní zastoupení Gilson v ČR a SR. Pipety, dávkovače, magnetické míchačky, automatické pipetovací stanice, automatizovaná příprava vzorků SPE, GPC, prepLC, čerpadla, HPLC, ventily, spojovací komponenty LC, úpravy a výroba přístrojů a příslušenství, autorizovaný servis Gilson.

Exclusive representation of Gilson in the Czech Republic and Slovakia. Pipettes, dispensers, magnetic stirrers, automated pipetting station, automated sample preparation SPE, GPC, prepLC, Pumps, HPLC, valves, connecting components LC, production and modifications instruments and accessories, authorized service Gilson.

Zastoupené firmy: GILSON, 2MAG, IDEX, RHEODYNE, UPCHURCH, ISMATEC, ILS, BIOCHEM-FLUIDICS

LAB MARK a.s.

Pod Cihelnou 532/23
161 00 Praha 6 - Ruzyně

Tel.: +420 233 335 548
Fax: +420 224 311 830
Web: www.labmark.cz
E-mail: labmark@labmark.cz



LAB MARK a.s. – dodavatel produktů pro molekulární biologii, diagnostiku a genetiku. Nabízíme široké spektrum přístrojů a reagentů pro každé pracoviště.

Společnost LABOSERV s.r.o. se již 19 let zabývá obchodní a poradenskou činností v oblasti laboratorní diagnostiky. Sortiment dodávaných produktů splňuje vysoké nároky na kvalitu a pokrývá diagnostiku v laboratořích imunologického a mikrobiologického zaměření. Dodáváme kompletní soupravy pro ELISA, IFA, ImunoBlot a PCR diagnostiku. V našem sortimentu je také přístrojové vybavení pro zpracování těchto souprav, univerzální laboratorní přístroje a spotřební materiál. Cílem naší činnosti je spokojenost našich odběratelů s kvalitou dodávaných produktů a s kvalitou poskytovaných služeb.

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

**PENTAGEN s.r.o.****Dodáváme testy pro:**

- infekční diagnostiku
- onkogenetiku
- prenatální diagnostiku
- farmakogenomiku
- humánní genetiku
- HLA typizaci



Kontakt: PentaGen s.r.o., Rooseveltova 1609, 272 01 Kladno, info@pentagen.cz,
tel.: 602 441 331, www.pentagen.cz

Orion Diagnostica

Orion Diagnostica má 40 let zkušeností s vývojem a výrobou diagnostických testů a testovacích systémů.

Primárně se zaměřujeme na infekční onemocnění, poruchy metabolismu kostí a měkkých tkání a monitorování čistoty povrchů.

Nová produktová řada systém Orion GenRead vychází z technologie SIBA. Jedná se o rychlou a spolehlivou izotermickou amplifikaci nukleových kyselin. Nejdříve budou na trh uvedeny testy, které se zaměřují na patogeny způsobující onemocnění gastrointestinálního traktu. V budoucnu bude produktové portfolio pokrývat širší spektrum patogenů.



Orion Diagnostica Oy

Zastoupení pro ČR, HU, PL, SR

Bělohorská 57

169 00 Praha 6

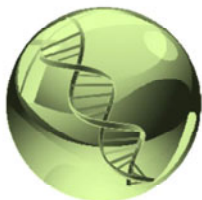
Česká republika

Tel.: +420 233 350 533

Fax: +420 233 350 532

E-mail: orion@oriondiagnostica.cz

<http://www.oriondiagnostica.cz/>



Schoeller Pharma Praha s.r.o.

Jihočeská 514/8

148 00 Praha 4

Tel.: +420 261 009 161

Fax: +420 261 009 162

www.pharma.cz

Schoeller Pharma Praha s.r.o. nabízí už 20 let široký sortiment spotřebních materiálů a pomůcek z různých plastů především pro použití v oblasti lékařských a přírodních věd, IVF, molekulární biologie, výrobě biologicky aktivních látek atd.

- **KVALITNÍ** výrobky s maximální homogenitou výrobků uvnitř šarže i mezi šaržemi a s náročnou výstupní kontrolou.



- **REAGENCIE** pro molekulární biologii.
- Produkty pro využití ve všech oblastech vědy, od značících kitů po jemné **CHEMIKÁLIE** a speciální reagenty ...



Schoeller
PHARMA PRAHA

PO NAŠEM SERVISU VAŠE SEKVENÁTORY ROZKVETOU



**Validace všech modelů
sekvenátorů Applied
Biosystems® nejen pro
potřeby akreditace**

Prováděno v souladu s doporučeními
„Best practice guidelines“ CMGS
(Clinical Molecular Genetics Society)

Operační a procesní kvalifikace (OQ/PQ)

- » Dokumentované ověření toho, že sekvenátor v konfiguraci, v níž je instalován či provozován, pracuje tak, jak je specifikováno, a to v celém předpokládaném operačním rozsahu.

Procesní validace a verifikace DNA sekvenátoru (IPV)

- » Dokumentovaný průkaz toho, že proces provozovaný v sekvenátoru účinně a reprodukovatelně splňuje výrobcem stanovené specifikace a znaky kvality.
- » Provedená samostatně pro Sangerovo DNA sekvenování a fragmentační analýzu za použití standardů pro uvedené aplikace.

**V RÁMCI SERVISNÍ PROHLÍDKY
NABÍZÍME PROVEDENÍ TĚCHTO
ÚKONŮ **ZDARMA!****

Applied Biosystems je registrovaná obchodní
známka společnosti Life Technologies.

Objednejte si servisní prohlídku
včetně validace na servis@seqme.eu.

SEQme s.r.o., Dlouhá 176, Dobříš, Česká republika, info@seqme.eu, servis@seqme.eu

SEQme s.r.o. je nezávislou poradenskou,
konzultační a školicí organizací a poskytovatelem
služeb v oblasti DNA sekvenování a Real-Time PCR.

Více informací o poskytovaném sekvenačním servisu,
nabídce kurzů Real-Time PCR, DNA sekvenování
a dalších metod viz www.seqme.eu nebo portály
www.sekvenovani.cz a www.sekvenovanie.sk.

© 2014 SEQme s. r. o. | Všechna práva vyhrazena.

 **SEQme**
SEQ & QPCR
COMPANY