



SBORNÍK

12. ročníku odborné konference

**RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN
MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝMI TECHNIKAMI**

RANK 2016

3. a 4. února 2016, hotel Zlatá Štika, Pardubice

www.rank.cz

Odborný garant konference:

Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA

Organizační výbor konference:

Ing. František Štumor, Ph.D.
Ing. Dalibor Novotný, Ph.D. †
Doc. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D.
Prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.
PharmDr. Lenka Plíšková
RNDr. Jaroslav König
Ing. Barbara Štumrová
Ivana Králová, DiS.
Šárka Novotná

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

ISBN 978-80-86895-81-9

Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP
MeDiLa spol. s r.o., Štrossova 239, 530 03 Pardubice
Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko - technologická

ODBORNÁ KONFERENCE

RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝMI TECHNIKAMI

RANK 2016

3. a 4. února 2016
v prostorách hotelu Zlatá Štika, Pardubice

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

Záštitu nad konferencí převzal:

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

Akce má charakter postgraduálního vzdělávání a je garantována ČLK a profesními organizacemi nelékařských profesí jako akce kontinuálního vzdělávání.
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

ASCO-MED spol. s r. o.

Bio-Consult Laboratories spol. s r.o.

BIOMEDICA ČS s.r.o.

Dialab spol. s r.o.

East Port Praha s.r.o.

GENERI BIOTECH s.r.o.

LAB MARK a.s.

MEDESA s.r.o.

BAG Health Care GmbH

BIOGEN PRAHA s.r.o.

BioVendor – laboratorní medicína a.s.

DYNEX LABORATORIES s. r.o.

ELISABETH PHARMACON spol. s r.o.

KRD – obchodní společnost, s.r.o.

LABOSERV s.r.o.

SEQme s.r.o.

PROGRAM

3. února 2016 středa

10:00 – 12:30 Registrace, instalace posterů

13:00 – 13:10 Zahájení

13:10 – 14:10 Úvodní sdělení

Mgr. Marek Vácha, Ph.D., přednosta Ústavu etiky, 3. LF UK Praha
Etické aspekty genetických vyšetření 60 min

14:10 – 14:20 Přestávka 10 min

14:20 – 15:30 Rezistence k léčbě I.
koordinátor sekce Ing. Dalibor Novotný, Ph.D. †

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D., děkan LF UP Olomouc
Využití molekulárně – biologických postupů v problematice bakteriální rezistence k antibiotikům 45 min

PharmDr. Lenka Plíšková, ÚKBD, FN Hradec Králové
Problematika vyšetření HCV rezistence 25 min

15:30 – 15:40 Přestávka 10 min

15:40 – 16:35 Rezistence k léčbě II.

Mgr. Jakub Mrázek, Zdravotní ústav Ostrava
Rezistence HBV k antivirovým preparátům 20 min

MUDr. Dana Hrubá, VIDIA DIAGNOSTIKA spol. s r.o., Praha
Antibiotická rezistence chlamydií – existuje? 20 min

MUDr. Igor Blanárik, ROCHE s.r.o., Praha
Virologické portfolio na cobas® 4800 15 min

16:35 – 16:45 Přestávka 10 min

16:45 – 18:30 Analýza humánního genomu
koordinátor sekce Doc. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D.

Doc. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D., ÚKBD, FN Hradec Králové 30 min
Význam adaptérů při rozvoji molekulárně diagnostických metod

Mgr. Eliška Václavíková, Ph.D., Endokrinologický ústav, Praha
Genetické příčiny Hirschsprungovy choroby a jejich vliv na fenotypické projevy onemocnění 25 min

Ing. Jiří Polívka, Katedra informatiky a výpočetní techniky, Fakulta aplikovaných věd, Západočeská univerzita v Plzni

Cirkulující volná nádorová DNA – nový biomarker v onkologii 25 min

Mgr. Halina Šimková, Československá společnost pro forenzní genetiku

Praxe a trendy moderní forenzní analýzy nukleových kyselin 25 min

19:30 – 23:00 **Společenský večer**

4. února 2016 **čtvrtek**

8:30 – 9:20 **Úvodní sdělení**

RNDr. Petra Mlčochová, Ph.D., University College London, Division of Infection and Immunity

Diagnostika Eboly v Západní Africe – Port Loko 50 min

9:20 – 9:30 **Přestávka** 10 min

9:30 – 10:45 **Péče o ženu**

koordinátor sekce PharmDr. Lenka Plíšková

Doc. MUDr. Marian Kacerovský, Ph.D., Fakultní nemocnice Hradec Králové, Porodnická a gynekologická klinika

Infekční a zánětlivé komplikace předčasného porodu 25 min

Mgr. Radka Kutová, ÚKBD, FN Hradec Králové

Logistika vyšetření plodové vody molekulárně biologickými metodami ve Fakultní nemocnici Hradec Králové 25 min

Mgr. Eva Jansová, Ph.D., GeneProof a.s.

JEDEME V TOM S VÁMI - bezpříznakové infekce urogenitálního traktu zdravých jedinců 25 min

10:45 – 11:00 **Přestávka** 15 min

11:00 – 12:05 **Varia**

koordinátor sekce Ing. František Šturm, Ph.D.

RNDr. Jan Křístek, CSc., Karlovarské imunologické centrum, s.r.o.

Vyšetření parotitidy v karlovarském regionu v roce 2012 20 min

Mgr. Michaela Kantorová, Zdravotní ústav Ostrava

Kauza legionella – molekulární biologie na stopě. 20 min

RNDr. Martin Pešta, Ph.D., Ústav biologie, LF UK Plzeň
Možnosti diagnostiky nádorového rozsevu stanovením CK19 metodou OSNA
25 min

12:05 – 12:15 **Přestávka** 10 min

12:15 – 13:20 **Nebezpečné zoonózy**
koordinátor sekce Mgr. Petr Králík, Ph.D.

Mgr. Petr Králík, Ph.D., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Bacillus thuringiensis jako model pro vývoj spolehlivé metody pro detekci a
kvantifikaci spor *Bacillus anthracis* ze vzorků prostředí 20 min

Mgr. Nikol Reslová, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Diagnostický panel pro alimentární parazity 15 min

Mgr. Lucie Škorpíková, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Cystatiny parazitických hlístic rodu *Trichinella* a jejich detekce s využitím xMAP
technologie 15 min

Mgr. Petra Vašíčková, Ph.D., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Výskyt významných virů způsobujících alimentární infekce v potravinovém řetězci
masných výrobků 15 min

13:20 – 13:40 **Vyhodnocení soutěže mladých autorů do 35ti let, závěr.**

Posterová sekce:

1. **MUDr. Lucie Bareková**, Pardubická nemocnice, Nemocnice Pardubického kraje, a.s.
Molekulární typizace kmenů *Klebsiella pneumoniae* s produkcí širokospektré betalaktamázy typu ESBL izolovaných v Pardubické nemocnici
2. **Mgr. Jakub Hrdý**, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Izolace virových částic ze vzorků pitných a užitkových vod
3. **MVDr. Monika Kubánková**, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Sledování výskytu viru hepatitidy E a *Toxoplasma gondii* v nově založeném oborním chovu prasat divokých
4. **Mgr. Pavlína Majtnerová**, Univerzita Pardubice, FChT - KBBV
Využití genu pro zelený fluorescenční protein k lokalizaci proteinu v buňkách patogenní kvasinky *Candida parapsilosis*
5. **Mgr. Veronika Michná**, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Představení xMAP technologie a možností jejího využití
6. **Mgr. Pavel Mikel**, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Jednoplazmidový dvouexpresní His-tag systém pro produkci MS2 phage-like částic
7. **Mgr. Romana Moutelíková**, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Genetická analýza rotavirů skupiny A u divokých prasat v České republice; detekce zoonotických kmenů
8. **Jakub Papík**, Univerzita Pardubice, FChT - KBBV
Analýza dosud necharakterizovaných otevřených čtecích rámců patogenních kvasinek *Candida albicans* a *Candida parapsilosis*
9. **RNDr. Jana Prodělalová, Ph.D.**, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Přínos molekulárně – biologických diagnostických metod pro identifikaci příčin slabé kondice včelstev v České republice
10. **Mgr. Jana Sabová**, ÚBLG 2.LF UK a FN Motol, Praha
Molekulárně genetická diagnostika Sticklerova syndromu u českých pacientů.
11. **Mgr. Pavel Sauer, Ph.D.**, Ústav mikrobiologie LF UP a FN Olomouc
Prevalence různých HPV typů ve vzorcích vyšetřených na Ústavu mikrobiologie FNOL v letech 2014-2015
12. **RNDr. Michal Slaný, Ph.D.**, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Využití širokospektré sekvenační analýzy pro identifikaci bakterií

Mgr. et Mgr. Marek Vácha, Ph.D.

Ústav etiky, 3. lékařská fakulta UK, Praha
Ruská 87
100 00 Praha

tel: +420 777 24 23 97
e-mail: marek.vacha@lf3.cuni.cz

Název sdělení: Etické aspekty genetických vyšetření

Vácha, M.,

Ústav etiky, 3. lékařská fakulta UK, Praha

Etické aspekty genetických vyšetření patří z mnoha důvodů k jednomu z nejobtížnějších témat současné lékařské etiky. Pacientem zde není jednotlivec, nýbrž celý rod, a pouhá znalost informací o pacientovi může na jedné straně ovlivnit životy (či právo nevědět) jeho nejbližších příbuzných. Jindy nastává problém právě opačný: abychom se dozvěděli o pacientovi co nejvíce, je třeba znát citlivé informace o jeho nejbližších příbuzných. Genetické vyšetření nejbližších příbuzných rovněž mohou dostat lékaře do závažných etických dilemat související s prokázáním či neprokázáním paternity a následným otázkám ze strany příbuzných. Mezi další aspekty patří tlak na dlouhodobé uchovávání genetických dat, v rozpětí desítek a stovek let, a s tím související zajištění důvěrnosti těchto velmi citlivých informací.

V posledních měsících či letech se stáváme svědky změny paradigmatu medicíny. Od úsvitu dějin lékařství byl za pacienta považován ten, kdo byl nemocen, kdo trpěl, člověk, jehož tělo dlouhodobě nepracovalo správně a úsilí lékařů směřovalo k tomu, navrátit funkci jednotlivých orgánů do správného fungování. Toto zadání nemocnic se v současnosti mění. Vzhledem k možnostem molekulární genetiky a vzhledem k tomu, že různé služby ves stále rostoucí míře zajišťují soukromé firmy, je možno v provedení nejrůznějších genetických profilů zcela obejít stávající zdravotní systém. Díky těmto privátním aktivitám občanů začínají do nemocnic přicházet víc a více lidé, v tuto chvíli a podle všech kritérií zcela zdraví, žádající kvůli získaným informacím různých preventivních zákroků. Slova „pacient“ (od slova patior, patí, passus sum, trpět) či „nemocnice“ tak přestávají být lingvisticky přesné. Cena sekvenování kompletního genomu člověka klesla v minulých deseti letech milionkrát. Vzhledem k tomuto bezprecedentně prudkému poklesu člověka jsme dnes již schopni sekvenovat genom jedince v prenatálním stadiu, provádět široce pojaté testy embryí v rámci preimplantační diagnostiky a získáváme stále více informací z genomu člověka, což nositele může vést a reálně vede buď k častějším preventivním prohlídkám či k žádostem o preventivní zákrok.

Paralelně s molekulární genetikou se rozvíjí i nový obor, epigenetika, která se zabývá dědičností, která není zapsána v sekvenci písmen DNA. Výsledky tohoto oboru naznačují, že znalost sekvence genomu zřejmě ještě sama o sobě nestačí na plné porozumění dědičnosti fenotypu. Vedle toho se rozvíjí i „rekreační genetik“ a jsou zde i obavy z „genetického dopingu“.

Tento prudký rozvoj klade dříve nevídané požadavky na obor lékařské etiky. Pokud platí, že etika má jít vždy několik kroků před daným přírodovědným oborem a předvídat a reflektovat jeho následné kroky (a nikoli zaostávat a zpětně komentovat postupy, které se již dávno začaly provozovat), pak to na celé pole etiky klade obrovské nároky, co se týče odborné erudice lékařských etiků na poli lékařství, molekulární biologie i filosofie.

Samostatnou kapitolou je cena následných genetických vyšetření a otázka patentování lidských genů. V přednášce budou zvažována etická rizika nové situace, jakož i související rizika novodobé eugeniky.

Literatura:

1. Donley, G., Chandros Hull, S., Berkman, B.E., (2012) Prenatal Whole Genome Sequencing: Just Because We Can, Should We? *Hastings Center Report* 42, no. 4 (2012): 28-40. DOI: 10.1002/hast.50
2. Gilbert, S.F., Epel, D., (2015) *Ecological Developmental Biology. The Environmental Regulation of Development, Health, and Evolution*. Sinauer Associates, 2nd ed. Inc. Sunderland, MA. USA
3. Maxmen., A., (2012) How the Myriad Genetics gene-patent case might affect personalized medicine. *Nature* doi:10.1038/nature.2012.11044

Elektronické zdroje:

1. Angelina Jolie: My Medical Choice

http://www.nytimes.com/2013/05/14/opinion/my-medical-choice.html?_r=0

2. Woman Chooses „cancer“ surgery

http://news.bbc.co.uk/2/hi/uk_news/england/2842567.stm

3. “I prefer a child with ...”: designer babies, another controversial patent in the arena of direct-to-consumer genomics

<http://www.nature.com/gim/journal/v15/n12/full/gim2013164a.html>

4. Risk Assessment, Genetic Counseling, and Genetic Testing for BRCA-Related Cancer in Women
U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement

<http://www.uspreventiveservicestaskforce.org/uspstf12/brcatest/brcatestfinalrs.htm>

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, multirezistentních bakterií, nebo průkaz genů kódujících rezistenci k příslušným antibiotikům.

Podpořeno grantem IGA MZ ČR č. NT14382.

PharmDr. Lenka Plíšková

ÚKBD

Fakultní nemocnice Hradec Králové

Sokolská 581

500 05 Hradec Králové

tel: +420 495 833 894

e-mail: lenka.pliskova@fnhk.cz

Problematika vyšetření HCV rezistence

Plíšková L., Kutová R.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky Fakultní nemocnice Hradec Králové

V roce 2011 byla zahájena léčba chronické virové hepatitidy C přímo působícími virostatiky (DAA, Directly Acting Antivirals), tyto preparáty přímo zasahují do replikačního cyklu HCV a cíleně působí jako inhibitory NS3/4A proteázy (např. telaprevir, boceprevir, simeprevir, paritaprevir), NS5B polymerázy (sofosbuvir) a NS5A proteinu (ombitasvir), které jsou nezbytné pro replikaci viru. Vysoké množství „quasispecies“ HCV vede k různému stupni rezistence k DAA, jedná se o tzv. předléčebné rezistenční varianty RAV (resistance associated amino acid variants).

Na našem pracovišti molekulární biologie Fakultní nemocnice Hradec Králové jsme zavedli v roce 2015 detekci variant spojených s rezistencí (RAV) v genu pro proteázu NS3 (simeprevir) metodou sekvenační analýzy. Návrh primerů byl proveden pomocí softwaru Custom Primers - OligoPerfect™ Designer. Metoda byla optimalizována pro genotyp 1a viru hepatitidy C. Vyhledávání variant bylo provedeno pomocí dvou programů. Doposud bylo vyšetřeno 16 pacientů s chronickou virovou hepatitidou C s genotypem 1a. U 5 z nich byla varianta Q80K prokázána. Vzhledem k poměrně vysokému výskytu Q80K u genotypu 1a HCV je nutné přítomnost či nepřítomnost zjistit ještě před zahájením léčby. Zavedená metoda umožňuje citlivý a včasný záchyt.

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

Rezistence HBV k antivirovým preparátům

¹Mrázek J., ¹Karasová H., ²Orságová I.

¹Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

²Fakultní nemocnice Ostrava, Klinika infekčního lékařství

Chronická infekce virem hepatitidy B (HBV) patří celosvětově svým rozsahem i závažností mezi jeden z nejvýznamnějších zdravotních problémů. Neléčení pacienti jsou ohroženi rozvojem jaterní cirhózy, její následnou dekompenzací, případně vznikem hepatocelulárního karcinomu. Použití antivirových preparátů (nukleotidová a nukleosidová analoga) je klíčem k zabránění této progresi, k prodloužení délky a zlepšení kvality života pacientů. Virus však tvoří pod selekčním tlakem antivirové léčby celou řadu mutací, které vedou k rezistenci viru vůči použitým lékům a komplikují tak možnosti dalšího zvládnutí infekce.

K léčbě chronické infekce HBV jsou v ČR dispozici antivirotika lamivudin, adefovir, entecavir, tenofovir, případně telbivudin. V současné době se k léčbě chronické hepatitidy B kvůli rychlému vzniku rezistence (u lamivudinu do 5 let u 2/3 pacientů) již prakticky nepoužívají lamivudin (Zeffix) ani adefovir (Hepsera). Lamivudin se užívá jen výjimečně, např. u akutních hepatitid s hrozícím fulminantním průběhem, protože navozuje rychlý pokles virémie. Adefovir nevykazuje dostatečně rychlý pokles virémie a z důvodů relativně rychlého vzniku rezistence se v současné době již prakticky nevyužívá, podobně telbivudin (Tyzeka), který rovněž nemá příliš vysokou bariéru pro vznik rezistence.

V současnosti se používají prakticky výhradně entecavir (Baraclude) a tenofovir (Viread). Dle našich zkušeností je entecavir ideální u dosud neléčených pacientů. U pacientů, kteří byli dříve léčeni lamivudinem jsou pod selekčním tlakem tohoto antivirotika navozeny mutace, které usnadňují vznik dalších rezistentních variant HBV odolných také vůči entecaviru. Tenofovir prakticky téměř neindukuje rezistentní varianty viru, ale je třeba počítat s jeho možnou nefrotoxicitou.

Mutace HBV asociované s lékovou rezistencí vznikají v genu kódujícím HBV polymerázu a vedou často ke zkříženým rezistencím vůči více preparátům. Identifikace mutací v genu pro HBV polymerázu umožňuje mapovat rezistenční profil aktuální populace HBV viru u pacienta a následnou optimalizaci léčebné strategie. Mezi nejvyužívanější postupy patří analýza úseku genu HBV polymerázy metodou reverzní hybridizace (line probe assay, LiPA) či sekvenací. Za účelem rutinní diagnostiky rezistentních kmenů HBV využívá naše laboratoř INNO-LiPA HBV DR v2 a v3 strip (LiPA), který umožňuje průkaz nejvýznamnějších popsanych mutací asociovaných s rezistencí k lamivudinu, adefoviru, entecaviru, telbivudinu, tenofoviru a emtricitabinu.

Laboratorní průkaz genetického podkladu rezistence HBV umožňuje včasnou optimalizaci antivirové léčby a zefektivnění péče o pacienta.

MUDr. Dana Hrubá

VIDIA-DIAGNOSTIKA, spol. s r.o.
Generála Janouška 902
198 00 Praha 9

tel.: +420 281 012 033
e-mail: hruba@vidia-diagnostics.cz

Rezistence chlamydií k antibiotikům – existuje?

Hrubá D.

VIDIA-DIAGNOSTIKA, spol. s r.o., Praha

Antibiotika ze skupiny tetracyklinů a makrolidů se používají k léčbě chlamydiových infekcí již několik desítek let. Tento fakt naznačuje, že klinická rezistence chlamydií k těmto antibiotikům není doposud zásadním problémem. Nabízí se otázka, proč tomu tak je, když obecně rezistence bakterií k antibiotikům stále narůstá? Jedním z důvodů je pravděpodobně skutečnost, že chlamydie jsou intracelulární patogeny a rozmnožují se ve fagosomu infikované buňky, takže předávání a získávání genů rezistence mezi nimi a dalšími bakteriemi je pro ně velmi ztížené. Dalším možným vysvětlením může být to, že chlamydie jsou energetičtí parazité eukaryotických buněk (využívají ATP hostitelských buněk) a pro rozvoj rezistence k výše uvedeným skupinám antibiotik na podkladě aktivního efluxu (tj. vylučování cizorodých látek z buňky cestou více či méně substrátově specifických efluxních pump) je třeba velké množství energie. Té se obligátním intracelulárním bakteriím, tedy i chlamydiím, nedostává. Ale jsme vůbec schopni u chlamydií rozpoznat případný nárůst antibiotické rezistence? Rutinnímu testování citlivosti k antimikrobním preparátům u těchto agens brání značné technické problémy, protože chlamydie nerostou na tuhých nebo tekutých kultivačních půdách, rostou pouze na tkáňových kulturách a manipulace s nimi je velmi časově i finančně náročná. Diagnostika chlamydiových infekcí je proto dnes založena z velké části na molekulárně-biologických metodách, které zatím neumožňují sledování citlivosti na antibiotika. Selhání léčby bývá připisováno spíše reinfekcím, perzistujícím infekcím nebo nedodržení léčebného režimu. V odborných publikacích lze dohledat zprávy o záchytu kmenů se sníženou citlivostí či rezistencí k tetracyklinům (Jones et al., 1990, Lefevre et al., 1998), v USA byly popsány tři multirezistentní izoláty *Ch. trachomatis* (Somani et al., 2000) a znepokojující je popsána rychle se šířící rezistence k tetracyklinům u *Ch. suis* v chovu prasat v Nebrasce (Lennart et al., 2001). Klinické izoláty *Ch. pneumoniae* rezistentní k antibiotikům doposud popsány nebyly. Nicméně je zřejmé, že chlamydie, pokud jsou vystaveny selekčnímu tlaku, jsou schopné vyvinout mechanismy, jak se účinkům antibiotik vyhnout. Proto i při léčbě chlamydiových infekcí je třeba indikovat použití antibiotik uvážlivě.

MUDr. Igor Blanárik

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

tel: +420 724 143 790
e-mail: igor.blanarik@roche.com

Virologické portfolio na cobas® 4800

Blanárik I.

Roche s.r.o., Praha

Firma Roche uvádí na trh nové virologické testy pro plněautomatický real-time PCR analyzátor cobas® 4800, kterým se mají postupně nahradit její současné analyzátory cobas® AmpliPrep/ cobas® TaqMan s automatickou izolací NK a cobas® TaqMan48 s kolonkovou izolací NK. Jedná se o soupravy na kvantitativní stanovení HIV-1, HCV, HBV a HCV GT pro kvalitativní stanovení genotypů HCV. V přednášce jsou uváděny výhody souprav a pracovního postupu ve srovnání se stávající situací na trhu, zejména konstrukce dual target u testu HIV-1, dual probe u testu HCV, vynikající citlivost a dynamické lineární rozpětí s nulovou křížovou kontaminací u testu HBV a trojí cíl u testu HCV GT, který má díky tomu bezkonkurenční citlivost stanovení všech 6 genotypů a podtypů 1a, 1b. Je upozorněno na možnost dělat v jednom běhu najednou kombinaci až tří různých virologických testů současně. Virologickým portfoliem se rozšiřuje stávající nabídka testů pro ženské zdraví, mikrobiologii a onkologii a analyzátor cobas® 4800 tak představuje nejmodernější plněautomatický real-time PCR analyzátor pro moderní laboratoř 21. století, který díky své flexibilitě a efektivitě dělá skutečně to, co laboratoř a ošetřující lékař potřebují.

Doc. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové
Sokolská 581
50005 Hradec Králové

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

Význam adaptérů při rozvoji molekulárně diagnostických metod

Beránek M., Drastíková M.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové

Technologické možnosti molekulárně diagnostických metod do značné míry kopírují přírodní procesy, které se odehrávají v eukaryontních a prokaryontních buňkách. Při rozkrývání tajemství regulačních cest souvisejících s expresí genetické informace je často používaným termínem pojem *adaptér* (anglicky adaptor), a to v několika různých významech. Jde většinou o menší molekuly s konkrétní funkcí v rámci sledované kaskády procesů.

Kromě toho zahrnuje pojem *adaptér* velmi frekventovaně také části syntetických oligonukleotidových sekvencí. *Adaptéry* v této formě významně ovlivnily rozvoj oblasti molekulárně biologických vyšetření od metod molekulárního klonování, přes PCR-RFLP, screeningové metody, PCR se značenými primery až po sekvenační techniky NGS. Adaptéry zde plní desítky funkcí, které vyplývají z jejich délky, struktury a umístění v oligonukleotidovém řetězci.

Ve sdělení bude prezentován příklad praktického použití syntetických adaptérů také při Sangerově dideoxynukleotidovém sekvenování s ohledem na možné prodloužení délky čtení sekvenovaných fragmentů DNA na jejich 5'- konci a čtení dvou různých sekvencí v rámci jedné kapiláry a jednoho elektroforeogramu. Bude také diskutována možnost obousměrného čtení fragmentů DNA v jediné kapiláře.

Práce byla podpořena grantem SVV 260057/2015 a projektem PRVOUK P37/11 LFHK, UK Praha.

Mgr. Eliška Václavíková, Ph.D.

Endokrinologický ústav, Oddělení molekulární endokrinologie
Národní 8
11694 Praha 1

tel: +420 224 905 273
e-mail: evaclavikova@endo.cz

Genetické příčiny Hirschsprungovy choroby a jejich vliv na fenotypické projevy onemocnění

¹Václavíková E., ¹Dvořáková Š., ¹Sýkorová V., ¹Včelák J., ²Škába R., ²Poš L., ³Vlček P., Bendlová B.

¹ Oddělení molekulární endokrinologie, Endokrinologický ústav, Praha

² Klinika dětské chirurgie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a FN v Motole, Praha

³ Klinika nukleární medicíny a endokrinologie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a FN v Motole, Praha

Úvod: Hirschsprungova choroba (HSCR) je vrozená aganglionóza v myenterickém a submukosálním plexu distálního gastrointestinálního traktu. U 20 % pacientů se vyskytuje familiární forma HSCR a až u 30 % se vyskytuje v rámci nějakého syndromu. Jedná se o polygenní onemocnění, na kterém se podílí až 20 dosud objevených genů a chromozomálních lokusů. Majoritní roli ovšem hrají inaktivující mutace v *RET* proto-onkogenu, známém spíše v souvislosti s familiárními formami medulárního karcinomu štítné žlázy (MTC). V ojedinělých případech může být HSCR s výskytem MTC asociována. Cílem studie bylo vyhodnotit vztah mezi zjištěnými genetickými změnami a jejich fenotypickými projevy u pacientů s HSCR.

Metody: Soubor tvořilo 223 pacientů s Hirschsprungovou chorobou, z nichž 60 mělo závažnější dlouhou formu aganglionózy. DNA byla izolována z periferních leukocytů. Zárodečné mutace byly detekovány Sangerovým sekvenováním na kapilárním sekvenátoru a sekvenováním nové generace.

Výsledky: Zárodečné mutace v *RET* proto-onkogenu byly detekovány u 28 pacientů (13 %). Nejvyšší záchyt byl u pacientů se závažnější dlouhou formou onemocnění, např. u pacientů s velmi vzácnou totální intestinální aganglionózou (100 %), s téměř totální formou aganglionózy tenkého střeva (40 %) a s totální aganglionózou tlustého střeva (30 %). Ve dvou rodinách s HSCR byly zjištěny mutace s duálním charakterem (aktivující i inaktivující) a pacienti podstoupili profylaktickou totální thyroidektomii s nálezem histologicky prokázaného MTC u dvou pacientek a hyperplazie C-buněk u jedné pacientky. Bylo také nalezeno 11 nových mutací s nejasnou patogenitou, z nichž velmi zajímavá byla 2bp sestřihová delece.

Závěr: Vzhledem k možnosti familiární formy onemocnění a zvýšenému riziku vzniku MTC je u pacientů s HSCR doporučen screening zárodečných mutací v *RET* proto-onkogenu. U pacientů s nedetekovanou kauzální mutací v *RET* proto-onkogenu, a to zvláště u závažnějších, syndromických či familiárních forem, by měla být provedena analýza dalších genů spojovaných s HSCR.

Práce byla podporována projekty IGA MZČR NT13901-4 a MZČR - RVO (Endokrinologický ústav - EÚ, 00023761).

Ing. et Ing. Jiří Polívka

Lékařská fakulta v Plzni
Univerzita Karlova v Praze
Husova 3
306 05 Plzeň

tel: +420 724 062 117
e-mail: polivkajiri@gmail.com

Cirkulující volná nádorová DNA - nový biomarker v onkologii

^{1,2,3} Jiří Polívka jr., ⁴ Filip Janků, ⁵ Martin Pešta, ^{1,2} Milena Králíčková, ^{1,2} Zbyněk Tonar, ³ Jiří Polívka

¹ Ústav histologie a embryologie

² Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova v Praze

³ Neurologická klinika, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova v Praze a Fakultní nemocnice Plzeň

⁴ Department of Investigational Cancer Therapeutics, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, USA

⁵ Ústav biologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova v Praze

Přes obrovské pokroky v moderní onkologii jsou pokročilá stádia nádorových onemocnění stále velmi obtížně léčitelná. V současné éře personalizované medicíny závisí výběr léčby na detailní analýze nádorového genomu a identifikaci ovlivnitelných mutací v nádorové tkáni konkrétního nemocného. Podstatnou limitací je však získání tkáně z heterogenních oblastí nádoru. Odstraněný nádor případně biopsie z nádoru byly po dlouhou dobu jedinou možností verifikace typu nádoru a zjištění léčbou ovlivnitelných molekulárně-genetických aberací. Avšak při rozvíjející se heterogenitě nádoru zejména v jeho pokročilých stádiích by pro detekci takových mutací byly nutné opakované biopsie z primárního nádoru a z jeho metastáz, což je v praxi zpravidla nemožné. Proto je velké úsilí věnováno minimálně invazivním postupům umožňujícím detekci ovlivnitelných onkogenních mutací. Jedním z takových postupů je analýza volné nádorové DNA cirkulující v tělesných tekutinách – krvi, moči a u nádorů postihujících centrální nervový systém v mozkomíšním moku. Takové metody se nazývají také fluidní biopsie, respektive „liquid biopsy“. Fluidní biopsie přináší unikátní možnost monitorovat nádorovou chorobu a její průběh v čase u individuálního nemocného. V blízké budoucnosti se fluidní biopsie pravděpodobně stane významnou součástí péče o nemocné s onkologickou diagnózou, například v časně detekci onemocnění, sledování vývoje choroby v čase, predikci užití cílené léčby, hodnocení její účinnosti i detekci vznikající rezistence.

Podporováno projektem Ministerstva zdravotnictví České republiky pro konceptuální rozvoj výzkumné organizace 00669806 – Fakultní nemocnice Plzeň a Národním programem udržitelnosti I (NPU I) č. LO1503 poskytovaného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy.

Mgr. Halina Šimková

Plch 19
533 45 Opatovice nad Labem

tel: +420 603497499
e-mail: halina.simkova@gmail.com

Praxe a trendy moderní forenzní analýzy nukleových kyselin

^{1,2,3}Šimková, H.

¹Československá společnost pro forenzní genetiku

²Kriminalistický ústav Praha

³Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra antropologie a genetiky člověka

Forenzní analýza DNA slaví v roce 2016 třicáté výročí svého uvedení do praxe. Od dob svých počátků prošla dramatickým vývojem a stala se jednou z nejužívanějších a celosvětově rozšířených metod forenzního zkoumání biologických materiálů. Přednáška posluchačům představí stávající rutinní postupy od vyhledávání a sběru materiálu na místě činu až po finální práci s genetickými profily včetně práce s DNA databázemi; poukáže na kritická místa celého procesu, na nezbytná opatření, která zajišťují neporušenost důkazního řetězce a na důsledky jejich nedodržování. V závěrečné části se posluchači seznámí s nejnovějšími trendy forenzní analýzy NK, které zásadně rozšiřují portfolio informací získávaných z biologického materiálu, jako je určení vybraných fenotypových znaků a biogeografického původu donora, určení typu tělní tekutiny prostřednictvím mRNA a/nebo metDNA profilu apod.

RNDr. Petra Mlčochová, Ph.D.

University College London, Division of Infection and Immunity
Cruciform Building, 90 Gower St
London, WC1E 6BT

tel: +44 07 821 016 649
e-mail: p.mlcochova@ucl.ac.uk

Diagnostika Eboly v Západní Africe – Port Loko

^{1,2,3}Mlčochová P.

University College London ¹, Public Health England ², GOAL ³

¹ Cruciform Building, 90 Gower St, London, WC1E 6BT, United Kingdom

² Manor Farm Rd, Porton Down, Salisbury, Wiltshire SP4 0JG, United Kingdom

³ Port Loko, Sierra Leone

EDV (Ebola Virus Disease) dříve nazývána Ebola hemoragická horečka je závažné, velmi často smrtelné onemocnění. Přestože byly v historii zdokumentovány desítky nákaz tímto virem, epidemie v Západní Africe, která začala v březnu 2014, je největší a nejzávažnější epidemie, se kterou jsme se dosud setkali v téměř čtyř desetiletích historie tohoto onemocnění. Počet případů a úmrtí doposud daleko převyšuje všechny zdokumentované nákazy dohromady. Oficiální data k začátku září 2015 ukazují, že bylo zaznamenáno více než 28,000 případů a nákaza si vyžádala 11,200 životů. Nikdy předtím se virus nedostal do hlavního města, nikdy necestoval do jiné země vzduchem. A samotný virus? Ten nezabil jenom lidi, ale také ekonomiku postižených zemí. V červnu 2014 se dostala epidemie mimo kontrolu a mnoho neziskových organizací operujících v Západní Africe muselo začít stavět nová léčebná centra (ETC, Ebola Treatment Centre) a vycvičit personál. V září 2014 Rada bezpečnosti Organizace spojených národů prohlásila Ebolu hrozbou pro mezinárodní mír a bezpečnost a věci se daly do pohybu. Sierra Leone ztratila od počátku epidemie většinu zdravotnického personálu, nemocnice odmítaly přijímat nakažené virem a nová léčebná centra byla ihned přeplněná. Potřeba rychlé a přesné diagnostiky byla naprosto esenciální. Public Health England (PHE), výkonná agentura ministerstva zdravotnictví se ujala úkolu zařídit diagnostické laboratoře, které byly součástí nových léčebných center. V prosinci 2014, kdy počet nakažených byl 600 případů za týden, první pracovní tým dorazil do nové diagnostické laboratoře, byla to holá betonová místnost. Nicméně, za několik týdnů byly v zemi tři funkční diagnostické laboratoře, které zpracovávaly okolo 100 vzorků denně. Diagnostika byla postavena na izolaci a detekci virové RNA pomocí qPCR. Laboratorní servis také zprostředkoval diagnostiku malárie a biochemický rozbor. Zároveň se vedle tradičního PCR také zkoumaly nové rychlejší testy, které by mohly nahradit současnou diagnostiku, která je drahá a počítá se zkušenými laboratorními pracovníky. Výsledky z laboratoře byly okamžitě zaslány na District Ebola Response Center (DERC), kde v případě pozitivního nálezu se okamžitě rozjela rychlá reakce různých zúčastněných organizací (Světová zdravotnická Organizace, Centrum pro Kontrolu Chorob, UNICEF, etc.) k nalezení všech lidských kontaktů s nakaženým a následná izolace. Je esenciální potvrdit nebo vyvrátit možnou nákazu u pacienta, navíc brzké a přesné odhalení infekce pomáhá rychlému odhalení kontaktů s nakaženým a snížení rizika nekontrolovatelného přenosu viru. Můžeme tedy říci, že snížení přenosu viru v populaci a zvládnutí epidemie v Západní Africe je z velké části závislé na laboratorní podpoře.

Doc. MUDr. Marian Kacerovský, Ph.D.

Porodnická a gynekologická klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové

tel: +420 777 657 991
e-mail: marian.kacerovsky@gmail.com

Infekční a zánětlivé komplikace předčasného porodu

Kacerovský M.

Porodnická a gynekologická klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové

Předčasný porod, t.j. porod před dokončeným 37. týdnem těhotenství, stále představuje velmi aktuální oblast perinatologie. Jeho incidence se pohybuje v České republice kolem 7-8%. Předčasný porod se dělí na dvě základní kategorie: iatrogenní a spontánní. Ta druhá čítá cca 2/3 všech předčasných porodů a může být rozdělena na předčasný porod se zachovalým vakem blan a předčasný odtok plodové vody. Příčina spontánního předčasného porodu je multifaktoriální, nicméně jediný potvrzený příčinný vztah u intraamniální infekce.

Oba typy spontánního předčasného porodu mohou být komplikovány přítomností bakterií v plodové vodě (mikrobiální invaze do amniální dutiny), intraamniálním zánětem, intraamniální infekcí a následně rozvojem histologické chorioamnionitidy. Hlavními původci těchto komplikací jsou genitální mykoplazmata, zejména *Ureaplasma species*.

Včasná a důkladná diagnostika zánětlivých a infekčních komplikací vyšetřením vzorku plodové vody umožňuje individualizovat a optimalizovat léčbu předčasného porodu s nadějí na porod co v nejvyšším gestačním stádiu.

Mgr. Radka Kutová

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

tel: +420 495 833 894
e-mail: radka.kutova@fnhk.cz

Logistika vyšetření plodové vody molekulárně biologickými metodami ve Fakultní nemocnici Hradec Králové

¹Kutová R., ¹Plíšková L., ²Kacerovský M.

¹Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové

²Porodnická a gynekologická klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové

Bakteriální infekce intraamniální tekutiny je velkým ohrožením pro plod a může vést až k předčasnému odtoku plodové vody. V plodové vodě nejprve vyšetřujeme přítomnost DNA *Ureaplasma* spp., *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* a *Mycoplasma genitalium* kitem AmpliSens[®] C.trachomatis/Ureaplasma/M. hominis-FRT. V druhé fázi při negativě mycoplasmatické infekce vyšetřujeme bakteriální DNA (amplifikace 16S rRNA) metodou in-house PCR s následnou sekvenční analýzou při pozitivě bakteriální DNA. Přednáška by měla seznámit s logistikou vyšetření plodových vod molekulárně biologickými metodami ve Fakultní nemocnici Hradec Králové a s nálezy původců bakterií u MIAC (microbial invasion of the amniotic cavity).

Mgr. Eva Jansová, Ph.D.

GeneProof a.s.
Víteňská 119
619 00 Brno

tel: +420 734 202 797
e-mail: jansova@geneproof.com

JEDEME V TOM S VÁMI - bezpříznakové infekce urogenitálního traktu zdravých jedinců

Jansová E., Sittová M.

GeneProof a.s.

Urogenitální trakt zdravé, sexuálně aktivní populace je běžně kolonizován mikroorganismy zařazovanými do skupiny sexuálně přenosných infekcí (STI). Řada těchto infekcí probíhá asymptomaticky, klinicky se tedy vůbec neprojeví. To je také důvodem poměrně hojného zastoupení těchto mikroorganismů v urogenitálním traktu u běžné, zdravé populace. Schopnost klinického symptomatického projevu mikroorganismu je nepřímo úměrná jeho rozšíření v populaci. Nejčastěji se jedná o ureaplazmata a mykoplazmata. Zdánlivě asymptomatickou infekcí může být také například výskyt lidského papilomaviru, zejména pak high-risk HPV typů, které jsou zodpovědné za vznik rakoviny děložního čípku. Nezapomeňme ani na asymptomatickou chlamydiovou infekci, která může být pozdější příčinou neplodnosti.

Rozšíření těchto mikroorganismů v populaci zdravých jedinců bylo testováno na dobrovolnících nejmenované české biotechnologické společnosti a jejich rodinných příslušnících. Jako klinický materiál byly použity stěry z pochvy, cervixu, penisu a moč. Tento materiál byl testován na přítomnost DNA *Ureaplasma spp.*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* a lidského papilomaviru (HPV).

Výsledky poukazují na korelaci výskytu jednotlivých mikroorganismů v různých klinických materiálech a potvrzují běžnou kolonizaci urogenitálního traktu v populaci. Taktéž nastolují otázky, zda má smysl monitorovat výskyt těchto mikroorganismů ve zdravé populaci, popřípadě kterých, a jakým způsobem interpretačně přistupovat k takovému nálezu.

RNDr. Jan Křístek, CSc.

Karlovarské imunologické centrum
Institut laboratorní medicíny Lab In
Bezručova 10
360 01 Karlovy Vary

tel: +420 607 743 405
e-mail: j.kristek@email.cz

Vyšetření Parotitidy v Karlovarském regionu v roce 2012

Křístek J.¹, Vaňová J.²

¹Karlovarské imunologické centrum, Institut laboratorní medicíny Lab In

²Protiepidemický odbor KHS Karlovy Vary, protiepidemické oddělení

Virus infekční parotitidy patří do skupiny paramyxovirů. Přenáší se především vzduchem, méně často znečištěnými předměty a nástroji. Vyvolává infekce zejména v dětském věku. Epidemie mají sezónní charakter, incidence je nejvyšší koncem zimy a na počátku jara. Vstupní branou infekce je sliznice DC, odkud se může šířit do ostatních orgánů. Virus má afinitu ke slinné žláze a k řadě dalších žláz s vnější i vnitřní sekrecí – např. pankreas, štítná žláza, nadledvinky a k CNS. Onemocnění probíhá většinou inaparentně, nicméně u vnímavých jedinců může způsobovat závažné zdravotní komplikace. Virus může vyvolávat pankreatitidu, aseptickou meningitidu, artritidu a další zdrav. komplikace. Prodělané infekční onemocnění zajišťuje trvalou imunitu. Nicméně epidemické studie posledních let vyvracejí vžitý názor o trvalé a především dostatečně účinné imunitě a to jak po proběhlé infekci, tak i po očkování. V roce 2012 byl zaznamenán epidemický nárůst parotitidy i v Karlovarském regionu, Z celkové počtu nahlášených onemocnění 792 bylo 567 případů ze Sokolovska tj. 71,6% , 129 případů (tj. 16,3%) z Karlových Varů a 96 případů (tj. 12,1%) z Chebska. Vzhledem k výše uvedeným změnám postihujícím imunitu pacientů naše pracoviště provedlo retrospektivní analýzu souboru pacientů vyšetřených v roce 2012. Soubor zahrnoval 367 pacientů, Vyšetření bylo provedeno imunoenzymatickým testem – ELISA s kity Euroimmun. Párová séra nebyla požadována. IgM protilátky byly detekovány v 57 případech (16 %), IgG v 146 případech (39,7%) U 52 pacientů jsme prokázali tvorbu IgG i IgM současně (14%). Pokusili jsme se o přímý průkaz RNA viru pomocí Real Time PCR. Pro PCR byla zvolena komerční souprava – ZJ Biotech China a vlastní in-house PCR. U in house metody jsme napřed zvolili dvoustupňovou variantu, které jsme potom nahradili jednostupňovou – one tube method. V obou případech byly použity Taqman próba: FAM-BHQ. Primery a próba byly strukturovány v CDC (Atlanta) a doporučeny CDC pro detekci RNA viru parotitidy. K průkazu viru jsme provedli výtěry z krku, nosu a odebrali moč. Vysoké procento záchytů IgM protilátek u vakcinovaných pacientů svědčí o nedostatečném stavu imunity, která není schopna pacienty ochránit před primární infekcí, ani před reinfekcí. Pozitivní průkaz RNA byl překvapivě zjištěn u vzorku pacienta, který měl pouze protilátky ve třídě IgG. Z tohoto nálezu lze usuzovat na reinfekci. Laboratorní diagnostika příušnic založená pouze na průkazu specifických protilátek neposkytuje jednoznačné výsledky. Výsledky je proto nutné ověřit průkazem virového genomu metodou PCR. Přímý průkaz virového genomu je velmi užitečný, a to zejména v těch případech kdy serologické testy poskytují nejednoznačné výsledky. K průkazu genomu je možno použít dvoustupňovou i jednostupňovou metodu. One tube metoda je uživatelsky příjemnější a výrazně snižuje riziko kontaminace. Pozitivní průkaz virového genomu při použití in – house metody ve srovnání s negativním nálezem u soupravy ZJ Biotech China může svědčit o nižší citlivosti komerčního setu. Z jednoho nálezu však nelze učinit jednoznačný závěr. Bude zapotřebí provést srovnávací studii k definitivnímu závěru.

Mgr. Michaela Kantorová

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

tel: +420 596 200 241
e-mail: michaela.kantorova@zuova.cz

Kauza legionela – molekulární biologie na stopě

Kantorová M., Mrázek J., Fischerová L.

Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Centrum klinických laboratoří, Oddělení molekulární biologie

V našem příspěvku informujeme o kauze legionela, kdy se několik návštěvníků wellness hotelu na Zlínsku nakazilo legionelou. Hledání zdroje nákaz nebylo jednoduché. Mezi nakaženými byl i jeden cizinec, který na onemocnění způsobené legionelou zemřel ihned po návratu do své země. U muže z Prostějova, který hotel navštívil později, došlo dokonce v důsledku legionelové infekce k neurologickému poškození, které se vyskytuje jen velmi vzácně. U tohoto pacienta se nám pomocí PCR metody podařilo zachytit DNA *L. pneumophila* v likvoru.

Při hledání a potvrzování zdroje nákazy byly použity molekulárně biologické metody. Porovnáním sekvenčního typu kmenů izolovaných z pacienta a z prostředí došlo k identifikaci zdroje nákazy. Informace byly předány epidemiologům, kteří nařídili protiepidemiologická opatření. Provozovatel zmíněného hotelu neprovedl nařízená opatření, hotel provozoval dál a dokonce nabízel pobyty se slevou.

RNDr. Martin Pešta, Ph.D.

Ústav biologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova v Praze
alej Svobody 1655/76
326 00 Plzeň

tel: +420 373 793 261
e-mail: martin.pesta@lfp.cuni.cz

Možnosti diagnostiky nádorového rozsevu stanovením CK19 metodou OSNA u pacientů s plicními karcinomy

¹Pešta M., ²Vodička J., ³Mukenšnabl P., ²Vejvodová Š., ²Doležal J., ¹Dvořák P., ⁴Kulda V.,
⁵Topolčan O.

¹Ústav biologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova v Praze

²Chirurgická klinika, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova v Praze, Fakultní nemocnice Plzeň

³Šiklův ústav patologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova v Praze, Fakultní nemocnice Plzeň

⁴Ústav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova v Praze, Fakultní nemocnice Plzeň

⁵Oddělení nukleární medicíny FN Plzeň a Centrální izotopové laboratoře, Lékařská fakulta v Plzni.

Úvod: Detekce přítomnosti nádorových buněk v lymfatických uzlinách u nemocných s primárními či sekundárními nádory plic je v současné době limitována možnostmi standardních histopatologických metod. Průběh nádorového onemocnění u některých pacientů nasvědčuje tomu, že mikrometastázy nemusí být při běžném histologickém vyšetření odhaleny a podhodnocení pTNM stagingu nemoci vede k ne zcela přesnému podání adjuvantní onkologické léčby.

Cíl studie: Porovnání senzitivity detekce mikrometastáz v hilových a mediastinálních lymfatických uzlinách primárních (nemalobuněčných) a sekundárních (metastázy kolorektálního karcinomu a karcinomu prsu) nádorů plic pomocí imunohistochemického vyšetření a metodou OSNA.

Soubor pacientů a metoda detekce: Vyšetřovanou skupinou jsou pacienti podstupující radikální chirurgickou léčbu pro nemalobuněčný primární plicní karcinom nebo pro metastázy epiteliálních maligních nádorů (metastázy kolorektálního karcinomu a karcinomu prsu). V současnosti je vyšetřeno 28 pacientů, u každého, pokud to bylo možné, bylo stanovení provedeno v 5 skupinách uzlin. Základem metody OSNA je detekce mRNA cytokeratinu 19, zde jakožto markeru nádorových buněk, izotermickou amplifikací (RT–LAMP) v homogenátu tkáně lymfatických uzlin.

Výsledky: Studie dosud zahrnuje 28 pacientů, u kterých bylo vyšetřeno 350 uzlin. Mikrometastázy byly metodou RT-LAMP při negativitě ostatních metod prokázány u 10 pacientů.

Závěr: Porovnání senzitivity detekce uzlinových mikrometastáz metodou RT-LAMP, imunohistochemického vyšetření protilátkou CK19 a standardního histologického vyšetření přispěje k určení nejpřesnější metody diagnostiky lymfogenní nádorové diseminace. Její zavedení do rutinní praxe pak významně zpřesní staging nádorového onemocnění, což umožní poskytnout nemocným adekvátní adjuvantní onkologickou léčbu, která povede v konečném důsledku k zlepšení jejich prognózy.

Vznik práce byl podpořen projektem LFP UK SVV z.č. SVV-2015- 260 173.

Mgr. Petr Králík, Ph.D.

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

tel: +420 777 473 009
e-mail: kralik@vri.cz

***Bacillus thuringiensis* jako model pro vývoj spolehlivé metody pro detekci a kvantifikaci spor
Bacillus anthracis ze vzorků prostředí**

Králík P., Sedláčková V., Kubíková I.

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

Bacillus anthracis je v obou formách - vegetativních buňkách a sporách - etiologickým agens antraxu. Toto onemocnění může způsobit poškození organismu, které je neslučitelné se životem. Pro svou patogenitu může být *B. anthracis* použit při výrobě biologických zbraní. Spory *B. anthracis* jsou schopny přežít v prostředí po velmi dlouhou dobu a tedy prostředí představuje nejvýznamnější rezervoár tohoto patogena. Cílem této práce bylo vyvinout a optimalizovat metodu pro izolaci DNA z vzorků prostředí a stěrůvých tamponů obsahujících bacilární spory. Vzhledem k vysoké patogenitě *B. anthracis* a potřebě zacházení s tímto patogenem jen v zabezpečených laboratořích, byl jako modelový organismus pro optimalizaci izolace DNA z bacilárních spor použit příbuzný *B. thuringiensis*. Speciálně vyvinutý qPCR systém pro detekci a kvantifikaci *B. thuringiensis* byl použit k testování různých metod pro izolaci DNA z půdy a stěrůvých tamponů. Mez detekce (LOD) spor z půdy byla určena na $8,85 \times 10^3$ spor na gram půdy. Při porovnání výtěžnosti izolací DNA z *B. thuringiensis* spor z různých typech půd, nejvyšší účinnost izolace DNA byla dosažena z písku, a to 37,2%. LOD pro izolaci DNA ze stěrůvých tamponů byla určena na $2,79 \times 10^3$ spor na tampon s účinností 18,6%. Optimalizovaný postup izolace DNA má zásadní význam pro efektivní detekci a kvantifikaci spor *B. anthracis* v prostředí, což jej činí využitelným bezpečnostními složkami České republiky pro potřeby včasného varování obyvatelstva.

Tato práce byla podpořena v rámci projektu Bezpečnostního výzkumu Ministerstva vnitra ČR VG20102015011.

Mgr. Nikol Reslová

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

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

Diagnostický panel pro alimentární parazity

^{1,2,3}Reslová N., ^{1,4}Kašný M., ²Slaný M., ³Koudela B., ²Králík P.

¹Ústav botaniky a zoologie Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity, Brno

²Oddělení bezpečnosti potravin a krmiv Výzkumného ústavu veterinárního lékařství, Brno

³Středoevropský technologický institut, Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno

⁴Katedra parazitologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy, Praha

Modernizace zemědělských praktik směrem k bio-produkci a alternativním menším chovům, globalizace potravinového trhu se vzrůstajícím transportem zvířat a v neposlední řadě změny klimatu, mají za následek zvyšování rizika spojeného se šířením různých vážných onemocnění, z nichž mnohá jsou vyvolána parazity alimentárního původu. Všechny tyto skutečnosti umocňují potřebu vývoje nových diagnostických nástrojů zaměřených na detekci těchto patogenních agens v potravinách a potravinových produktech určených pro lidskou spotřebu.

V souvislosti s touto problematikou je naše práce zaměřena na vývoj spolehlivé a komplexní molekulárně-diagnostické metody, využitelné pro rychlou kontrolu masa a masných výrobků na trhu. Za tímto účelem jsme experimentálně ověřovali vysoce citlivou metodu multiplexní oligonukleotidové ligace - PCR (MOL-PCR). V kombinaci s detekční platformou založenou na magnetických mikrosférách a vyhodnocením prostřednictvím MAGPIX analyzáru, představuje tato metoda velmi robustní diagnostický přístup, umožňující přímé kvantitativní/kvalitativní simultánní testování komplexních a směsných vzorků.

Do dnešní doby byly provedeny preliminární optimalizační experimenty, pro něž byly navrženy specifické molekulární sondy umožňující detekci DNA dvou parazitických červů - *Trichinella spiralis* (část sekvence 18S rRNA genu) a *Taenia saginata* (část sekvence pro mitochondriální gen COX1). V současné době se optimalizaci podrobuje i postup celkového zpracování vstupního vzorku a izolace DNA.

Poděkování: Výzkum byl podpořen z projektu Ministerstva zemědělství MASO (QJ1210113), Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy COST CZ (LD15056) a z projektu Masarykovy univerzity (MUNI/A/1484/2014).

Mgr. Lucie Škorpíková

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

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

Cystatiny parazitických hlístic rodu *Trichinella* a jejich detekce s využitím xMAP technologie

^{1,2,3}Škorpíková L., ^{1,4}Kašný M., ²Slaný M., ²Králík P., ³Koudela B., ¹Gelnar M.

¹Ústav botaniky a zoologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

²Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

³Středoevropský technologický institut, Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno

⁴Katedra parazitologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Praha

Zástupci rodu *Trichinella* se řadí do kmene Nematoda, který sdružuje velmi početnou skupinu parazitických hlístic. Jedná se o celosvětově rozšířené organismy infikující trávicí soustavu a buňky příčně pruhovaného svalstva. Napadají široké spektrum hostitelů, mezi kterými jsou zastoupeni savci, ptáci i plazi. Sedm (T1, T2, T3, T4, T5, T6 a T10) z dvanácti známých genotypů je prokázanými zoonózami, které u člověka způsobují závažné a často smrtelné onemocnění nazývané trichinelóza. V průběhu životního cyklu produkují hlístice rodu *Trichinella* celou řadu funkčních molekul, z nichž je velká část obsažena v exkrečně-sekrecních produktech (E-S produkty). Jedná se o směs látek vylučovaných do vnějšího prostředí, které se podílí na mnoha významných fyziologických procesech při vývoji parazita, ale také na ovlivňování imunitních reakcí hostitele.

Mezi proteiny zastoupenými ve vysoké koncentraci v E-S produktech byly identifikovány mimo jiné také cystatiny. Cystatiny jsou reverzibilní inhibitory proteolytických enzymů - cysteinových peptidáz skupiny C1 a C13. Sdružují velkou skupinu evolučně příbuzných inhibitorů, které sdílí určitou sekvenční a strukturální podobnost.

Naše práce je zaměřena na charakterizaci "multi cystatin-like domain" (mcd-1) genů a proteinů dvou druhů *Trichinella spiralis* a *T. pseudospiralis*. Dosud byly získány kompletní sekvence mcd-1 genů obou modelových organismů a s využitím expresního systému *Escherichia coli* byly připraveny rekombinantní analogy MCD-1 proteinů.

Dalším cílem práce je využití rMCD-1 molekul při vývoji spolehlivé molekulární metody pro kvantitativní a kvalitativní diagnostiku parazitických hlístic rodu *Trichinella*. Za tímto účelem bude využita detekční technologie xMAP, která je založena na magnetických mikrosférách a následném vyhodnocení signálu prostřednictvím přístroje MAGPIX.

Poděkování:

Tento výzkum byl podpořen z Operačního programu Výzkum a vývoj pro inovace (CZ.1.05/1.1.00/02.0068), Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (COST CZ č. LD15056 a Grant CONTACT II č. LH12096), projektem Univerzity Karlovy v Praze (Unce 204.017, PRVOUK P41, SVV) a projektem Masarykovy univerzity (Grant BIDA4 č. MUNI /A/ 1484/2014).

Mgr. Petra Vašíčková, Ph.D.

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

tel: +420 777 786 756
e-mail: vasickova@vri.cz

Výskyt významných virů způsobujících alimentární infekce v potravinovém řetězci masných výrobků

Vašíčková P., Kubánková M., Mikel P., Lorencová A.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

Velkou oblastí současného zájmu se stávají viry ve spojitosti s alimentárními infekcemi. Výsledky nedávných studií z různých částí světa ukazují, že tyto infekce jsou velmi časté i přes opatření, která mají za cíl minimalizovat rizika se zaměřením na bakteriální kontaminace potravinových řetězců. Nefunkčnost dosavadních opatření je dána odlišnými vlastnostmi virů a bakterií. Tato fakta vedou ke snaze vytvořit právě taková opatření, která budou zaměřena nejen na bakteriální ale také na virové původce infekcí z potravin. O důležitosti oblasti virologie potravin svědčí i zahrnutí virů způsobujících alimentární infekce do *Codex Alimentarius*.

Za nejčastější původce alimentárních infekcí jsou považovány noroviry, virus hepatitidy A a virus hepatitidy E. Hlavní zdrojem norovirových infekcí a hepatitidy A jsou lidé, rezervoárem viru hepatitidy E v rozvinutých zemích jsou prasata domácí, prasata divoká a jelenovití. Z tohoto důvodu byl v potravinovém řetězci vepřových masných výrobků a jeho prostředí (od farmy až po tržní síť) primárně sledován výskyt viru hepatitidy E. Na úrovni zpracovatelských závodů a v tržní síti byly monitorovány humánní noroviry a virus hepatitidy A. Cílem příspěvku je podat informace o výskytu viru hepatitidy E v potravinovém řetězci masných výrobků a o poměrně závažném průkazu norovirů na úrovni prodeje uzenin.

Výsledky studie byly získány za podpory projektů MŠMT (LO1218) v rámci programu NPU I, MZ NT13884-4/2012 a MZe QJ1210113.

MUDr. Lucie Bareková

Pardubická nemocnice, Nemocnice Pardubického kraje, a.s.
Kyjevská 44
53003, Pardubice

tel: +420 466 013 220

e-mail: lucie.barekova@nemocnice-pardubice.cz

Molekulární typizace kmenů *Klebsiella pneumoniae* s produkcí širokospektré betalaktamázy typu ESBL izolovaných v Pardubické nemocnici

Bareková L.^{1,3}, Švandová L.², Tkadlec J.², Melter O.², Zálabská E.¹, Hanovcová I.³, Halamíčková Z.⁴

¹ Oddělení klinické mikrobiologie, Pardubická nemocnice, Nemocnice Pardubického kraje, a.s.

² Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK Praha

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

⁴ Infekční oddělení, Pardubická nemocnice, Nemocnice Pardubického kraje, a.s.

Klebsiella pneumoniae je typický nemocniční patogen, vyvolává hlavně respirační infekce (ventilátorová pneumonii, nozokomiální sinusitidu), a uplatňuje se v etiologii močových, nitrobřišních infekcí a infekcí v místě chirurgického výkonu. *K. pneumoniae* je významným původcem infekcí krevního řečiště, jak sekundárních, tak katérových, které často probíhají jako těžká seps nebo septický šok. V posledních letech představuje celosvětově závažný problém šíření kmenů s produkcí širokospektrých betalaktamáz – ESBL, které hydrolyzují peniciliny, cefalosporiny všech generací a monobaktamy. Tyto kmeny jsou dále často rezistentní k dalším skupinám antibiotik, např. chinolonům. Multirezistence má dopad na morbiditu, mortalitu, na prodloužení hospitalizace a zvýšení nákladů na péči.

V rámci rutinní surveillance infekcí krevního řečiště spojených se zdravotní péčí (NIKR) v Pardubické nemocnici byla v prvním pololetí roku 2015 zjištěna produkce ESBL téměř u 80 % kmenů *K. pneumoniae* izolovaných u případů těchto invazivních infekcí (na standardních odděleních to bylo 60 % kmenů, na odděleních intenzivní péče byly všechny kmeny *K. pneumoniae* izolované u případů NIKR producenty ESBL). V rámci screeningu multirezistence byl také zaznamenán vzrůstající záchyt kmenů *K. pneumoniae* s produkcí ESBL (evidován vždy první kmen izolovaný od pacienta). V prvním pololetí roku 2014 to bylo 130 izolátů, v prvním pololetí roku 2015 již 179 izolátů.

Pro objasnění šíření těchto kmenů v nemocnici byla provedena genotypová analýza kmenů *K. pneumoniae* izolovaných v říjnu a listopadu 2015. Kmeny byly nejčastěji izolovány z moči, dýchacích cest a z výtěrů z rektu. Do studie byl zařazen vždy první kmen izolovaný od pacienta. Ve sdělení budou prezentovány výsledky makrorestrikční analýzy DNA provedené pomocí pulzní elektroforézy. 56 kmenů (24 kmenů bylo izolováno od pacientů hospitalizovaných na jednotkách intenzivní péče, 25 kmenů od pacientů ze standardních oddělení, 7 kmenů od ambulantních pacientů a pacientů z oddělení následné péče).

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

Mgr. Jakub Hrdý

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

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

Izolace virových částic ze vzorků pitných a užitkových vod

Hrdý J.^{1,2}, Vašíčková P.¹, Mikel P.^{1,2}

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

²Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Spektrum a incidence virových onemocnění spojených s vodními zdroji v posledních letech narůstá, a čím dál větší pozornost je tak věnována virům jakožto podstatným příčinám onemocnění spojených právě s kontaminovanou vodou nebo potravinami (čerstvé ovoce, zelenina, mořské plody a jiné potraviny k přímé konzumaci). Tento nárůst lze však přičíst zejména zvyšujícímu se zájmu o toto téma a novým citlivějším metodám průkazu. Právě zvýšený zájem o tuto problematiku, který zapříčinilo několik významnějších případů z poslední doby, tak má za následek zvýšenou pozornost ohledně zajištění bezpečnosti a kvality vodních zdrojů. Šíření virů způsobujících alimentární infekce nejčastěji probíhá prostřednictvím mezilidského kontaktu, významný podíl na jejich šíření má však i přenos prostřednictvím kontaminované vody, která může být následně také zdrojem sekundárních kontaminací potravin. Metody pro izolaci a detekci virů tak hrají klíčovou roli při průkazu těchto patogenů a při stanovení případných rizik, která se pojí s užíváním pitné a užitkové vody. Testování vod na přítomnost virových patogenů nepatří mezi standardně prováděné procedury, což spolu s nedostatkem standardizovaných protokolů pro izolaci různých skupin virů z vodního prostředí představuje problém a může vést k podcenění případných rizik. Různé přístupy jsou často úzce aplikovatelné, a proto je zapotřebí optimalizovat metody pro daný typ vod i konkrétní virové agens. Cílem příspěvku je porovnání metodických postupů k analýze vybraných druhů vod pro citlivou izolaci a následnou detekci virových částic z tohoto prostředí. K ověření účinnosti při výběru a optimalizaci izolačních metod byly použity uměle připravené pseudovirionové částice odvozené od bakteriofága MS2, do jejichž genomu byla vložena zcela unikátní sekvence (Pasloske a kol. 1998, Mikel a kol. 2015). Detekce byla provedena reverzně transkripční polymerázovou řetězovou reakcí v reálném čase (RT-qPCR), která umožňuje kvantifikaci virové nálože ve vzorku a tak stanovení účinnosti celého analytického postupu. Na základě získaných zkušeností a výsledků byla vybrána nejvhodnější metoda izolace virových částic z různých typů vod.

Práce byla provedena za podpory projektů MZE QJ1210114 a MŠMT LO1218.

Literatura

Mikel P., Vašíčková P., Králík P. (2015) Methods for Preparation of MS2 Phage-Like Particles and Their Utilization as Process Control Viruses in RT-PCR and qRT-PCR Detection of RNA Viruses From Food Matrices and Clinical Specimens. *Food and Environmental Virology*, 7, 96-111.

Pasloske B. L., Walkerpeach C. R., Obermoeller R. D., Winkler M., DuBois D. B. (1998) Armored RNA technology for production of ribonuclease-resistant viral RNA controls and standards: *Journal of Clinical Microbiology*, 36, 3590-3594.

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

Sledování výskytu viru hepatitidy E a *Toxoplasma gondii* v nově založeném oborním chovu prasat divokých

Kubánková M.¹, Lorencová A.¹, Slaný M.¹, Lamka J.², Vašíčková P.¹

¹Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

²Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Se vzrůstajícím zájmem o zvěřinu vzrůstá i riziko vzniku zoonotických onemocnění u konzumentů. Ve dvouleté studii jsme se zaměřili na nově založený oborní chov prasat divokých (*Sus scrofa*), a to konkrétně na sledování prevalence výskytu viru hepatitidy E (HEV) a nitrobuněčného parazita *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*); dvou významných původců zoonotických onemocnění. HEV genotyp 3 a 4 je rozšířen v chovech prasat domácích i v populacích prasat divokých. Tato zvířata tvoří významný rezervoár HEV a podílejí se tak na jeho šíření. V případě *T. gondii* jsou definitivními hostiteli kočkovité šelmy. Prasata divoká společně s dalšími teplokrevnými obratlovci včetně člověka mají roli mezihostitele, v jehož organismu tvoří *T. gondii* cysty s výraznou afinitou k nervové a svalové tkáni.

Pro molekulárně biologickou detekci RNA HEV ve vzorcích jater, žluči a trusu byla využita RT-qPCR. K detekci specifických protilátek proti *T. gondii* ve vzorcích séra a/nebo masové šťávy byl použit komerčně dostupný kit (ID Screen® Toxoplasmosis Indirect Multi-species ELISA kit, IDVET, Francie). Detekce DNA parazita ve svalovině bráničních pilířů byla provedena pomocí qPCR. V prvním roce studie byla přítomnost RNA HEV prokázána ve vzorku trusu u jednoho zvířete a protilátky proti *T. gondii* u 44,33 % (43/97) zvířat zakládajících oborní chov. V druhém roce studie po provedeném odstřelu byla zjištěna přítomnost protilátek proti *T. gondii* u 21,65 % (21/97) zvířat a DNA parazita byla detekována ve tkáni u 26,8 % (26/97) zvířat. Přítomnost RNA HEV byla prokázána alespoň v jednom vzorku u 7,55 % (8/106) prasat divokých.

Výsledky studie potvrdily, že prasata divoká jsou významným rezervoárem *T. gondii* i HEV. Z hlediska ochrany zdraví člověka je hlavním opatřením dostatečné tepelné ošetření zvěřiny a výrobků z ní společně s dodržováním hygienických návyků při vyvrhování zvěře po odstřelu, při manipulaci se zvěřinou během jejího zpracovávání až po konzumaci.

Výsledky projektu LO1218 byly získány za finanční podpory MŠMT v rámci programu NPU I, grantu MZ NT13884-4/2012 a QJ1210113.

Mgr. Pavlína Majtnerová

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

tel:

e-mail: pavlina.majtnerova@upce.cz

Využití genu pro zelený fluorescenční protein k lokalizaci proteinu v buňkách patogenní kvasinky *Candida parapsilosis*

Majtnerová, P.¹, Michalcová, L.¹, Hrušková-Heidingsfeldová, O.^{1,2}

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

²Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Praha

Zelený fluorescenční protein (GFP) je dnes už téměř nepostradatelným nástrojem pro lokalizaci proteinů v buňce. Vektory umožňující konstrukci chiméry složené ze studovaného genu a GFP jsou komerčně dostupné. Pro lokalizaci proteinů v kvasinkách byl GFP optimalizován (yeast enhanced green fluorescent protein, yEGFP). U méně studovaných kvasinkových druhů však lokalizace proteinů pomocí GFP stále vyžaduje zvýšené úsilí spojené se zaváděním a optimalizací systému.

Candida parapsilosis sekretuje do extracelulárního prostoru aspartátové proteázy s širokou substrátovou specifikou, které se podílejí na degradaci hostitelských bariér a napomáhají vzniku infekce. Z rodiny izoenzymů sekretovaných aspartátových proteáz *C. parapsilosis* (Sapp) jsou dva plně sekretovány, ale třetí nebyl v kultivačních médiích nikdy detekován. Předpokládali jsme, že tato proteáza Sapp3p je lokalizována v buněčné stěně nebo v plasmatické membráně. K ověření této hypotézy jsme použili kmen *C. parapsilosis* Δ sapp a vektor pPK5-SAPP3-GFP.

Výchozí plasmid pPK5, zkonstruovaný ve skupině Prof. Jozefa Noska (Universita Komenského, Bratislava), obsahuje kromě genu *yEGFP* také gen *CaIMH3*, kódující inosinmonofosfáthydrogenázu a sloužící jako selekční marker (rezistence vůči kyselině mykofenolové)¹. Sekvenci kódující Sapp3p jsme vložili za galaktózový promotor *GAL1*, tak, aby na jejím 3'konci byl *yEGFP* a nedošlo ke změně čtecího rámce. Takto vzniklý vektor pPK5-SAPP3-GFP jsme elektroporací transformovali do kompetentních *C. parapsilosis* Δ sapp² a správné klony selektovali na pevné půdě obsahující kyselinu mykofenolovou a galaktózu jako jediný zdroj uhlíku. Kmen Δ SAPP-Sapp3p-GFP jsme kultivovali nejprve v médiu obsahujícím laktózu jako jediný zdroj uhlíku. Poté jsme kvasinky převedli do média s galaktózou a pomocí fluorescenčního mikroskopu jsme sledovali syntézu a lokalizaci chiméry Sapp3p-GFP. Výsledky potvrdily náš předpoklad, že Sapp3p je lokalizovaná především na povrchu buněk. Zároveň jsme potvrdili, že *yEGFP* je vhodné pro lokalizaci proteinů v *C. parapsilosis* a optimalizovali jsme příslušné postupy.

Literatura

1. Kosa, P. et al. (2007). *Gene*, 396, 338-345.
2. Horváth P. et al. (2012) *J. Infect. Dis.* 205, 923-933.

Tato práce vznikla za finanční podpory Fakulty chemicko-technologické Univerzity Pardubice, studentský projekt SGFCht 05/2015.

Mgr. Veronika Michná

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.
Oddělení bezpečnosti potravin a krmiv
Hudcova 296/70
621 00 Brno

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

Představení xMAP technologie a možností jejího využití

Michná V.^{1,2}, Reslová N.^{1,3}, Mikel P.^{1,2}, Slaný M.¹

¹ Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

² Ústav experimentální biologie, Brno

³ Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav botaniky a zoologie, Brno

Jednou z technologií umožňující multiplexní analýzu vzorků je xMAP technologie (x=analyte, MAP=Multi Analyte Profiling). xMAP technologie je založena na kombinaci existujících laboratorních metod jako jsou PCR, průtoková cytometrie a ELISA a umožňuje detekci a kvantifikaci více než 100 různých analytů (nukleových kyselin nebo proteinů) současně v průběhu jedné reakce. xMAP technologie využívá polystyrenové fluorescenčně barvené mikrokuličky, které na svém povrchu obsahují ligandy, ke kterým se poté váže specifický analyt ze vzorku. Pro detekci a kvantifikaci analytu slouží přístroje měřící fluorescenci reportérového fluoroforu. Podle typu detekovaného analytu je xMAP technologie využívána k identifikaci různých analytů. Pro multiplexní detekci a kvantifikaci nukleových kyselin ve vyšetřovaných vzorcích pomocí xMAP technologie je možné použít metody založené na DNA hybridizaci, kompetitivní DNA hybridizaci, sekvenčně specifické enzymatické reakci, oligonukleotidové ligační reakci (oligonucleotide ligation assay=OLA), multiplexní oligonukleotidové ligační PCR reakci (multiplex oligonucleotide PCR assay=MOL-PCR), alelově specifickém prodlužování primerů (allele-specific primer extension=ASPE) nebo jedno-bázovém prodlužování řetězce (single base chain extension=SBCE). Tyto metody lze aplikovat např. pro sledování genové exprese, analýzu microRNA (mRNA), detekci jedno-nukleotidových polymorfismů (SNP), detekci specifických sekvencí nebo sledování genů podílejících se na vzniku geneticky podmíněných onemocnění. Multiplexní detekce a kvantifikace proteinů ve vyšetřovaných vzorcích pomocí xMAP technologie umožňuje např. stanovení koncentrace cílových proteinů (enzymů, protilátek, cytokinů, krevních antigenů, hormonů) ve vyšetřovaných vzorcích. Tato technologie tak představuje alternativu místo běžně používaných metod jako je např. ELISA. V oblasti bezpečnosti potravin lze xMAP technologii uplatnit při detekci a kvantifikaci významných alimentárních patogenů zahrnujících nejenom bakterie, ale také viry a parazity. Jejich detekce a kvantifikace může být založena na průkazu nukleových kyselin, ale také proteinů, sacharidů, bakteriálních toxinů a jiných makromolekul. xMAP technologie tedy přináší do rutinní analýzy vzorků možnost velmi rychlé identifikace obrovského počtu různorodých cílů v průběhu jedné reakce za velmi krátkou dobu a za použití velmi malého množství vstupního materiálu. Mezi další obrovské výhody xMAP technologie se řadí její uživatelsky jednoduchá modifikovatelnost a také velké množství komerčně dostupných xMAP detekčních souprav.

Tato práce vznikla v rámci projektu Bezpečnostního výzkumu Ministerstva vnitra ČR VI 20152020044.

Mgr. Pavel Mikel

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

tel: +420 533 331 620
e-mail: mikel@vri.cz

Jednoplazmidový dvouexpresní His-tag systém pro produkci MS2 phage-like částic

^{1,2}Mikel P., ¹Vašíčková P., ¹Králík P.

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

²Masarykova univerzita, Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Brno

Úvod: MS2 phage-like částice jsou uměle připravené pseudovirionové částice odvozené od bakteriofága MS2 (Pasloske et al., 1998). Tyto částice obsahují unikátní kontrolní RNA sekvenci a slouží jako tzv. kontrola celého procesu analýzy vzorků na přítomnost patogenních RNA virů metodou reverzně transkripční polymerázové reakce v reálném čase (RT-qPCR). Ke každému vzorku jsou na počátku analýzy přidány částice v určité kvantitě a RNA je poté izolována standardními postupy. Na konci analýzy je možné prostřednictvím kvantifikace MS2 phage-like částic kvantifikovat také účinnost izolace RNA u každého vzorku. V současné době existuje mnoho různých přístupů k produkci těchto částic (Mikel et al., 2015). Námi navržený tzv. jednoplazmidový dvouexpresní His-tag systém zjednodušuje produkci, purifikaci a kvantifikaci MS2 phage-like částic, čímž dále usnadňuje jejich využití v rutinní analýze RNA virů.

Metodika: Jednoplazmidový dvouexpresní His-tag 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 částic spolu se specifickou inzerční fúzní mutací umožňující purifikaci částic pomocí His-tag afinitní chromatografie. Za druhý T7 promotor byla klonována unikátní kontrolní sekvence spolu s C-variantou tzv. *pac* místa umožňujícího zabalení kontrolní sekvence do proteinů částic s vyšší specifitou (Wei et al., 2008). Při přípravě expresního vektoru a produkci MS2 phage-like částic byly využity metody molekulární biologie, jako jsou PCR, klonování, sekvenování, transformace kompetentních buněk, western blot a další. Transmisní elektronová mikroskopie (TEM) byla využita k ověření úspěšného sestavování MS2 phage-like částic. MS2 phage-like částice byly dále testovány na schopnost odolávat působení RNáz. Přítomnost His-tagu v kapsidu MS2 phage-like částic byla také využita k novému způsobu kvantifikace pomocí fluorescenčně značených protilátek na přístroji NanoSight.

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

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

Literatura:

1. Mikel, P., P. Vasickova, and P. Kralik, 2015, Methods for Preparation of MS2 Phage-Like Particles and Their Utilization as Process Control Viruses in RT-PCR and qRT-PCR Detection of RNA Viruses From Food Matrices and Clinical Specimens: Food and Environmental Virology, v. 7, p. 96-111.
2. 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.
3. 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.

Mgr. Romana Moutelíková

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

tel.: +420 533 331 101
e-mail: moutelikova@vri.cz

Genetická analýza rotavirů skupiny A u divokých prasat v České republice; detekce zoonotických kmenů

¹Moutelíková R., ¹Prodělalová J., ²Kamler, J., ²Plhal, R., ²Drimaj, J.

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

²Mendelova univerzita v Brně, Lesnická a dřevařská fakulta, Ústav ochrany lesů a myslivosti

Rod *Rotavirus* je taxonomicky řazen do čeledi *Reoviridae* a jednotlivé skupiny rotavirů představují samostatné druhy. Kompletní virion rotavirů má v průměru 70-75 nm (se spiky proteinu VP4 až 100 nm) a je tvořen jádrem s 11 segmenty dsRNA, které je uzavřeno třemi koncentrickými vrstvami proteinů. Jednotlivé segmenty RNA genomu kódují šest strukturálních virových proteinů (VP1 – VP4, VP6 a VP7) a pět (případně šest u některých rotavirů A) nestrukturálních proteinů (NSP1 – NSP5/NSP6).

Jediné rotavirové skupiny, které jsou schopné způsobit průjemové onemocnění u lidí, jsou skupiny A, B, C a H (RVA, RVB, RVC, RVH), které byly také prokázány u různých druhů domácích zvířat a drůbeže. RVA jsou považovány celosvětově za nejdůležitějšího původce těžkých gastroenteritid u malých dětí; každoročně jsou příčinou více než 400 000 úmrtí u dětí mladších 5 let. Divoká zvířata jsou pokládána za rezervoár virů, bakterií a parazitů, které mohou být přenášena na domácí zvířata a lidi. Rotaviry byly zjištěny u mnoha divokých zvířat i zvířat chovaných v zoologických zahradách. Práce zabývající se výskytem rotavirů u divokých prasat jsou však ojedinělé, zřejmě především z důvodu velmi obtížného získávání vzorků. Vzhledem k častým případům reasortmentu genových segmentů rotavirů a k jejich prokázanému zoonotickému potenciálu jsou studie výskytu rotavirů u zvířat žijících v blízkosti člověka důležité pro objasnění evoluce a ekologie rotavirů.

V naší studii výskytu RVA u divokých prasat byl RVA prokázán v 5 (2,5%) z 203 testovaných vzorků, z toho ve dvou případech ve společné infekci s RVC. Všechny RVA-pozitivní vzorky pocházely od prasat mladších než 6 měsíců, což koreluje s faktem, že morbidita RVA klesá s věkem zvířat.

U čtyř RVA-pozitivních vzorků byly stanoveny G, P a I genotypy (genomové segmenty VP7, VP4 a VP6). Zjištěné kombinace genotypů byly G4P[6]I5 (vzorek CZE/P211/2014), G11P[13]I5 (vzorek CZE/P218/2014), G4P[25]I1 (vzorek CZE/P70/2015) a G5P[13] (vzorek CZE/P245/2014), kde se nepodařilo získat hodnotitelnou sekvenci pro gen VP6 (I-genotyp). V provedené fylogenetické analýze genu VP4 vzorek CZE/P70/2015 vykázal nejbližší podobnost pouze s lidskými kmeny, které byly izolovány v Asii. Tyto RVA kmeny s genotypem P[25] byly celogenomově sekvenovány a byl u nich zjištěn původ společný s porcinními kmeny. Z toho lze usuzovat na dříve proběhlý reasortment porcinních a lidských kmenů. Původ segmentu VP4 s genotypem P[25] však nebyl uspokojivě vysvětlen. Tento P[25] genotyp byl dosud zjištěn výlučně v lidských vzorcích zoonotického původu (porcinní-lidské reasortanty), nicméně žádný zvířecí rezervoár nebyl dosud prokázán. Český izolát CZE/P70/2015 nesoucí právě tento P[25] genotyp by tento chybějící spojovací článek mohl nabídnout. Typizace VP6 segmentu přiřadila kmen CZE/P70/2015 do genotypu I1, který u prasat sice byl popsán, ale mnohem častěji bývá nalézán u RVA lidského původu jako jeden ze dvou nejběžnějších I-typů. Naše výsledky naznačují, že RVA přítomné u divokých prasat mohou představovat zdroj potenciální infekce pro člověka.

Tato práce byla provedena s podporou grantů Ministerstva zemědělství ČR (QJ1510108) a Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR (projekt LO1218 v rámci programu NPU I).

Jakub Papík

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

tel: +420 466 037 779
e-mail: jkbppk@gmail.com

Analýza dosud necharakterizovaných otevřených čtecích rámců patogenních kvasinek *Candida albicans* a *Candida parapsilosis*

Papík J., Hostašová D., Kročová E., Janovská S., Blaha J., Jarkovská D., Kupčík R., Dostál J., Bílková Z., Hrušková-Heidingsfeldová O.

Význam patogenních kvasinek rodu *Candida* z hlediska humánní medicíny stoupá spolu se stoupajícím počtem imunosuprimovaných pacientů. Kromě toho jsou tyto kvasinky v popředí zájmu z hlediska evoluční a komparativní genomiky eukaryot a jsou dnes v mnohém ohledu považovány za modelové organismy. *Candida albicans* je v klinické praxi nejfrekventovanější a proto také nejvíce studovaná patogenní kvasinka. Její genom je v anotované podobě veřejně přístupný od roku 2004 (1). *Candida parapsilosis* je méně agresivní, představuje však značné riziko pro specifické skupiny pacientů, např. nedonošené novorozence. Její genom je veřejně přístupný od roku 2009 (2).

Ačkoli jsou *C. albicans* i *C. parapsilosis* studovány z mnoha hledisek, velká část jejich genomu sestává z dosud necharakterizovaných čtecích rámců (orf). Na podzim 2015 chyběly jakékoli experimentální údaje k více než 70 % orf *C. albicans* a 99 % orf *C. parapsilosis* (3), přičemž i stávající charakterizace mnohdy vychází spíše ze srovnání s homology v *Saccharomyces cerevisiae*. Toto je jedním z důvodů, proč jsme vybrané orf z nejméně jedné kvasinky amplifikovali a vložili do plasmidů pro expresi v *Escherichia coli*, tak, aby vznikly konstrukty s histidinovou kotvou, umožňující snazší purifikaci vzniklých proteinů. Získané proteiny pak analyzujeme z hlediska funkce a porovnáváme zjištěné výsledky s predikcí založenou na porovnání s homologickými geny z jiných organismů.

Takto postupně charakterizujeme geny *NCE103* (kóduje karbonickou anhydrázu, enzymová aktivita potvrzena pro CpNce103p), *PHO15* (kóduje pravděpodobně cytosolární alkalickou fosfatázu), *HET1* (kóduje pravděpodobně sfingolipidtransferázu), *APR1* (kóduje vakuolární aspartátovou proteázu, potvrzena schopnost autokatalytické aktivace). Volba těchto genů byla motivována buď jejich pravděpodobným významem pro virulenci patogenních kandid, nebo předpokladem jejich vzájemné interakce. Výsledky naší práce tak přispívají k postupnému odhalování struktury dědičné informace rodu *Candida* a vztahu specifických čtecích rámců k imunopatologickým vlastnostem studovaného organismu.

Literatura:

1. Weig, M. a Brown, A.J.P. (2007) Trends Microbiol 15, 310-317.
2. Butler, G. et al. (2009) Nature 459, 657-662.
3. www.candidagenome.org

Tato práce vznikla za finanční podpory Fakulty chemicko-technologické University Pardubice, studentský projekt SGFChT05/2015

RNDr. Jana Prodělalová, Ph.D.

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

tel: +420 777 786 321
e-mail: prodelalova@vri.cz

Přínos molekulárně-biologických diagnostických metod pro identifikaci příčin slabé kondice včelstev v České republice

¹Prodělalová J., ²Foralová A., ¹Moutelíková R., ³Kamler M., ³Titěra D.

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

²Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity

³Výzkumný ústav včelařský, s.r.o.

V mnoha oblastech světa, zejména v Evropě a Severní Americe, je v posledních deseti letech popisována ztráta kondice včelstev, v mnoha případech společně s jejich úhyny. Ani České republice se nevyhnula vlna velkých úhynů včelstev. V letech 2007 a 2008 podle odhadů uhynulo asi 30% včelstev a obdobná situace se opakovala i na přelomu loňského a letošního roku.

Pozorované symptomy jsou mnohdy nespecifické a jejich příčiny zůstávají neobjasněné. Mezi nejčastěji zjištěné symptomy patří nálezy mrtvých včelstev, včelstva s velkým počtem uhynulých včel, zmizelá včelstva a celkově slabá včelstva s nízkou produkcí medu. Příčina těchto negativních jevů nebyla doposud s jistotou objasněna. S největší pravděpodobností se jedná o současné působení více faktorů. Mezi podezřelými činiteli se objevují například klimatické změny, snižování genetické variability včelstev, elektromagnetické záření, virové a bakteriální patogeny, parazité (roztoci a mikrosporidie); a vlivy intenzivního zemědělství, jako jsou například pesticidy (fungicidy, herbicidy a insekticidy), nedostatek kvetoucích rostlin sloužících jako potrava včel nebo geneticky modifikované plodiny¹.

Patogenní mikroorganismy představují pro včelařství jednoznačnou hrozbu, což potvrzují aktuální výsledky. Viry ohrožují včelstva zejména v součinnosti s parazitickým roztočem *Varroa destructor*, který je považován za největší hrozbu moderního včelařství. Tento roztoč přispívá k šíření virů sáním hemolymfy včel a ke zvyšování jejich virulence. Plošné rozšíření parazitů a patogenů včel a vysoká hustota zavčelení vede k tomu, že včelstva mají často několik infekcí současně. Díky synergickému efektu patogenů mohou koinfekce vést ke kolapsům včelstev. Symptomaticky však nelze odlišit řadu příčin problémů včel, zvláště když se jedná o kombinaci patogenních agens. Díky molekulárně genetickým metodám je však možné rozlišit řadu virových a mikrosporidiových infekcí.²

S využitím reverzní – transkripční PCR provádíme v rámci epidemiologické studie vyšetření včelstev pocházejících z různých míst České republiky. Ve vzorcích dospělých včel, případně plodu nebo roztočů detekujeme nukleovou kyselinu celkem dvanácti včelích virů. Vzhledem k plasticitě genomu RNA virů používáme více detekčních cílů. V součinnosti se včelaři jsou také sbírány údaje o včelstvech včetně jejich zdravotního stavu a případných symptomů onemocnění a míry infestace roztočem *V. destructor*. Předběžné výsledky ukazují, že nejčastěji je diagnostikována infekce virem deformovaných křídel (DWV), což je nejběžnější včelí virus, který je rozšířen díky asociaci s *V. destructor*.

Virové infekce představují značné, avšak skryté riziko, nejenom pro včelu medonosnou (*Apis mellifera*), ale také pro volně žijící druhy opylujícího hmyzu, jako jsou čmeláci, včely samotářky, vosy a pestřenky. Další výzkumy v této oblasti mají proto velký význam nejen pro zemědělství, ale i pro globální ekosystém.

Práce je finančně podpořena projektem Ministerstva zemědělství NAZV QJ1510113 a projektem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy v programu NPÚ I LO1218.

Literatura:

1. Simon-Delso, N., San Martin, G., Bruneau, E. et al. (2014) Honeybee Colony Disorder in Crop Areas: The Role of Pesticides and Viruses. PLoS ONE 9(7): e103073.
2. Kamler, M., Prodělalová, J., Titěra, D. (2015) Interakce patogenů včely medonosné jako příčina kolapsů včelstev. Veterinářství 6: 453-456.

Mgr. Jana Sabová

ÚBLG 2.LF UK a FN Motol, Praha
V Úvalu 84
150 06 Praha 5

tel: +420 775 136 184
e-mail: janka.sabova@centrum.sk

Molekulárně genetická diagnostika Sticklerova syndromu u českých pacientů

^{1,2}Sabová J., ¹Simandlová M., ³Hořínová V., ¹Křepelová A., ¹Pourová R.

¹ÚBLG 2.LF UK a FN Motol, Praha

²Synlab genetics s.r.o., Praha

³Sanatorium Helios, s.r.o., Brno

Sticklerův syndrom je multisystémové, autosomálně dominantně dědičné progresivní onemocnění pojivové tkáně, které je jednou z nejčastějších dědičných příčin hluchoslepoty. Incidence onemocnění je uváděna 1:7500 u novorozenců, avšak předpokládá se, že frekvence výskytu tohoto onemocnění je vyšší z důvodu klinické heterogenity onemocnění. Toto postižení zahrnuje oční vady jako krátkozrakost, glaukom, degenerativní změny na sítnici, kataraktu a chronickou uveitidu, které mohou vést až ke slepotě. Sluchové postižení bylo nalezeno až u 40% jedinců.

Sticklerův syndrom se dělí do několika typů podle genu, jehož mutace jsou za daný typ zodpovědné. Nejčastější formou Sticklerova syndromu je typ II, který je způsoben defektem genu *COL2A1*, ve kterém jsou patogenní mutace nalézány až u 85 % pacientů. V současnosti je diagnóza Sticklerova syndromu založená na klinickém obrazu, avšak neexistuje žádný konsenzus pro klinická diagnostická kritéria pro jednotlivé typy syndromu.

Vyšetřili jsme 29 pacientů z 15 rodin se Sticklerovým syndromem v ČR. V rámci našeho sdělení prezentujeme kazuistiky prvních dvou pacientů, u kterých jsme identifikovali kauzální mutaci a tím u nich objasnili příčinu hluchoslepoty jako u prvních v ČR. Soubor pacientů s dosud nenalezenou kauzální mutací bude klinicky přehodnocen a u pacientů splňujících striktní kritéria bude doplněno testování dalších genů pomocí masivního paralelního sekvenování (NGS).

Podpora projektu: GAUK 165815

Mgr. Pavel Sauer, Ph.D.

Ústav mikrobiologie LF UP a FNOL
Hněvotínská 3
779 00 Olomouc

tel: +420 585 639 515
e-mail: pavel.sauer@email.cz

Prevalence různých HPV typů ve vzorcích vyšetřených na Ústavu mikrobiologie FNOL v letech 2014-2015

Sauer P.¹, Kotršová L.²

¹Ústav mikrobiologie Lékařské fakulty Olomouc a Fakultní nemocnice Olomouc

²Porodnicko-gynekologická klinika, Fakultní nemocnice Olomouc

Sexuálně přenosná infekce lidskými papilomaviry (high-risk typy) je spojená s následným vznikem karcinomu cervixu. Výskyt HPV infekce je mezi sexuálně aktivní populací běžný a výskyt jednotlivých typů se liší podle geografické lokality. Vzhledem k probíhající vakcinaci bude zřejmě docházet ke změnám ve výskytu jednotlivých typů HPV.

V 656 vzorcích od pacientů FN Olomouc zaslaných na Ústav mikrobiologie FNOL byl pomocí real-time PCR detekce (Anyplex II HPV 28 Detection, Seegene) sledován výskyt 28 low-risk a high-risk typů HPV. Výše uvedený počet vzorků zahrnuje období 01/2014-11/2015. Z tohoto počtu bylo 311 vzorků (47,4%) negativních, 32 (4,8%) s výskytem low-risk typů HPV, 313 (47,7%) s high-risk typy, z toho 145 (22,1%) osamocený výskyt HR HPV a 168 (25,6%) v kombinaci s LR typem. V následujícím sdělení je provedena podrobnější analýza výskytu jednotlivých typů LR a HR HPV během sledovaného období.

Práce byla podpořena prostředky dlouhodobého koncepčního rozvoje výzkumné organizace: RVO 61989592.

RNDr. Michal Slaný, Ph.D.

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

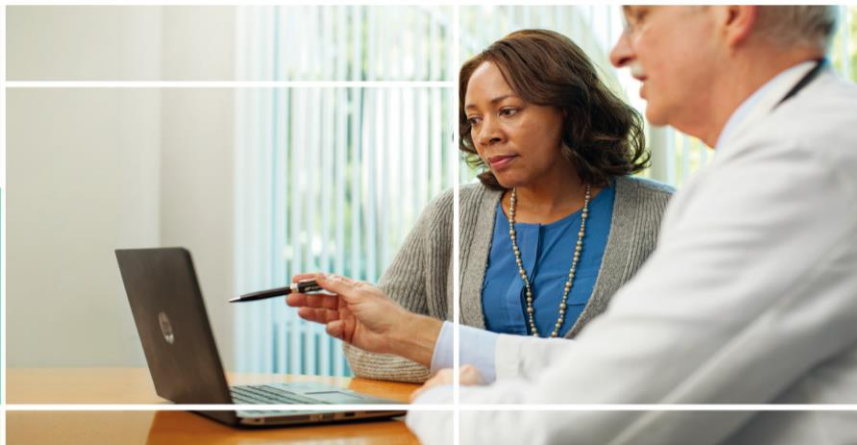
tel: +420 533 331 615
e-mail: slany@vri.cz

Využití širokospektré sekvenční analýzy pro identifikaci bakterií

Slaný M.

Klasická diagnostika bakteriálních infekcí je založena na přímém mikroskopickém vyšetření a kultivaci. V dnešní době jsou k dispozici také molekulární nástroje umožňující rychlejší a přesnější diagnostiku bakteriálních infekcí. Tyto metody umožňují detekci bakterií přímo v klinických materiálech, ačkoli primárně jsou stále používány kultivační přístupy. Pro účely přesné a rychlé identifikace bakterií je nejčastěji používána sekvenční analýza vybraných cílových genů (např. *16S rRNA*, *ITS*, *rpoB*, *hsp60*), která má několik technických omezení. Tento příspěvek si klade za cíl shrnout dostupné algoritmy, využívající sekvenční analýzu panbakteriálních lokusů pro detekci. Dále budou diskutovány technické problémy a omezení spojené s použitím tohoto přístupu.

cobas® EGFR Mutation Test v2 (CE-IVD)



cobas® EGFR Mutation Test v2 identifikuje mutace v exonech 18, 19, 20 a 21 EGFR genu



COBAS a LIFE NEEDS ANSWERS jsou ochranné známky společnosti Roche.

©2016 Roche

Roche s.r.o.,
Diagnostics Division
Karlovo náměstí 17
120 00 Praha 2

www.roche-diagnostics.cz



Představujeme nový produkt:

cobas® EGFR Mutation Test v2, certifikovaný pro in vitro diagnostiku (CE-IVD).

Nový **cobas®** EGFR Mutation Test v2 (CE-IVD) identifikuje ve vzorku DNA izolovaném z plazmy nebo tkáně pacientů s nemalobuněčným plicním karcinomem (NSCLC) gen receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR). Test je rovněž užitečným nástrojem pro výběr pacientů s NSCLC vhodných k léčbě inhibitory EGFR tyrosinkinázy (TKI).

Přednosti testu

- **Široké pokrytí mutací** — **cobas®** EGFR Mutation Test v2 (CE-IVD) je založen na PCR v reálném čase a identifikuje 42 mutací v exonech 18–21, včetně L858R, L861Q a mutace pro rezistenci na TKI, T790M.
- **Vhodný pro vzorky plazmy i tkáně** — **cobas®** test je určen jak pro testování vzorků plazmy, tak tkáně a umožňuje testovat současně oba druhy vzorků na jedné destičce. Firma Roche rovněž investovala do vývoje cell-free DNA (cfDNA) izolačního kitu optimalizovaného pro extrakci volné DNA z plazmy.
- **Kontinuální pracovní postup od izolace k výsledku** — Aby byla zajištěna plynulá integrace kitu **cobas®** EGFR Mutation Test v2 do již existujících laboratorních postupů, navázala firma Roche na úspěšný EGFR test první generace. Při testování DNA z plazmy trvá celý pracovní postup od izolace DNA k získání výsledku méně než čtyři hodiny. Při testování vzorku tkáně je celý proces hotový za méně než osm hodin.
- **Semi-Quantitative Index (SQI)** — pro testování vzorků plazmy jsme do výsledného reportu testu **cobas®** EGFR Mutation Test v2 zařadili novou hodnotu, tzv. semi-kvantitativní index (Semi-Quantitative Index — SQI). Tato hodnota vyjadřuje změnu množství mutované volné DNA (cfDNA) ve vzorku. Při opakovaném testování pomocí EGFR mutačního testu umožňuje hodnota SQI určit tendenci v progresi nádoru.

Pro více informací o produktech na detekci EGFR mutace

- navštivte <http://molecular.roche.com>,
- kontaktujte svého obchodního zástupce,
- napište nám na: prague_marketing.propagace@roche-diagnostics.cz.

cobas®
Life needs answers

croBEE®

I♥GP



Plně automatizovaný systém izolace DNA/RNA

Izolace nukleových kyselin provedená na přístroji croBEE NA16 Nucleic Acid Extraction System® je validována s **GeneProof** PCR diagnostických soupravami.

croBEE NA16 Nucleic Acid Extraction System®

GeneProof
Molecular diagnostics for your routine

Garantujeme kontrolu nad celým procesem vývoje, výroby
a distribuce všech nabízených **GeneProof** produktů.

GeneProof a.s. / Vídeňská 119, CZ-619 00 Brno / info@geneproof.com / www.geneproof.com



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



BAG Health Care GmbH nabízí řadu PCR diagnostik: BAGene - SSP typizace červených krvinek, HISTO TYPE - SSP typizace HLA, HISTO SPOT[®] – SSO testy pro typizaci I. a II. HLA třídy 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 kity pro průkaz predispozice k chorobám asociovaných 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

T +420 283 933 605

F +420 283 932 507

office@bmgrp.cz

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.



Nečekané se stalo skutečností. Už nemusíte posílat vzorky na sekvenování do Číny či Koreje. Běžná **sekvenace** na kapiláře za neuvěřitelné **€3,80**.

Jak připravit vzorky?

5 µl templátu + 5 µl primeru a to vše v jedné zkumavce

koncentrace templátu - a) plasmidová DNA 80-100 ng/µl

b) PCR produkt 20-80 ng/µl

koncentrace primeru – 5 µM (5 pmol/µl)



A jak dlouho budete čekat na **výsledky** - **do druhého dne od podání**



Stačí si u nás pouze objednat počet sekvenací a my Vám poskytneme **barcodey**, které si nalepíte na zkumavky a pošlete sami do laboratoře. A ještě si budete muset vytvořit svůj účet na www.gatc-biotech.com a my Vám tam převedeme Vaše **barcodey**, které Vám i fyzicky dodáme. A pak stačí pouze čekat na výsledky.

A kdybyste chtěli sekvenovat vzorky v **platíčkách**, i to je možné. Příprava vzorků je stejná, ale cena je mnohem výhodnější. Cena jednoho vzorku vyjde na **€ 2,60**. *Neuvěřitelné.*



Ceny budou přepočítávány aktuálním kurzem.

Kontakt: BIOGEN PRAHA s.r.o., Ke sv. Izidoru 2293/4a, 149 00 Praha – Chodov,
tel.: 241401693, fax: 241401694, mobil: 602665384, e-mail: biogen@biogen.cz, www.biogen.cz



BioVendor - Laboratorní medicína a.s.

Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika

Tel.: 549124111, fax: 549211465, e-mail:

info@biovendor.cz

❖ Výhradní dodavatel řady unikátních systémů

Genexpert



Fragment analyzer – kapilární elektroforéza



❖ HighPlex – multiplex systém



AusDiagnostics
Multiplexed diagnostics
Affordable healthcare

❖ Nově v nabídce produkty firmy Sartorius:



sartorius

DYNEX = KOMPLETNÍ ŘEŠENÍ PRO KLINICKÉ A VĚDECKÉ LABORATOŘE

Reagencie



včetně diagnostických souprav pro detekci patogenů a genetické testování

- ♦ DNA, RNA a proteinové technologie
- ♦ PCR technologie
- ♦ Epigenetická analýza
- ♦ Transfekční technologie



Přístroje

- ♦ Biohazardní a laminární boxy
- ♦ Malé laboratorní přístroje
- ♦ Pipety
- ♦ Izolační a pipetovací automaty
- ♦ PCR cykly



Služby

- ♦ Servis přístrojů
- ♦ Akreditovaná kalibrační laboratoř pipet
- ♦ Servisní laboratoř
- ♦ Aplikační podpora
- ♦ Demo laboratoř pro molekulárně biologické metody
- ♦ Zkušební laboratoř DYNEX akreditovaná ČIA pro laminární boxy



EUROArray

EUROIMMUN

DNA mikročipy pro molekulární genetiku v klinické praxi

EUROArray - dostupné diagnostické kity:

Parametr	Indikace
HLA-B27 ¹	Ankylozující spondylitida (Bechtěrevova nemoc)
HLA-DQ2/DQ8	Celiakie
HLA-Cw6	Psoriáza
Faktor V (Leiden)/Faktor II ^{1,2}	Trombóza/Trombofilie
HFE gen (HLA-H) ¹	Hemochromatóza
HPV	HPV detekce/typizace prevence rakoviny
HLA-B57:01 ¹	Senzitivita na Abakaviry

¹ EUROArray Direct: možná jakákoliv analýza buď z DNA nebo z krve (bez izolace DNA)

² K dispozici testovací systém pro samostatné analýzy faktoru V (Leiden) a faktoru II

DYNEX, Lidická 977, 273 43 Buštěhrad, Česká republika
Tel.: +420 220 303 600, email: office@dynex.cz, www.dynex.cz



**EASTPORT
LIFE SCIENCE**

- přístrojová technika
- reagencie, média a biochemikálie
- produkty pro IVF (human)

Promega



Life Science - genomika - proteomika - forenzní systémy

Purifikace nukleových kyselin v manuálním i automatickém režimu - Maxwell, enzymy i kompletní systémy pro PCR, RT-PCR, qPCR, klonovací kity, restriční enzymy, identifikace a paternity lidské DNA - GI, bioluminescence - Glomax, in vitro transkripce a translace, apoptózy, buněčné proliferace a cytotoxicita a další.

Lonza



Média - séra - transfekce - agarózy - detekce endotoxinu

Lonza je specialistou v primárních a kmenových buňkách, klasických i bezsérových kultivačních médiích a reagentech. Je hlavním a největším světovým producentem agarózových produktů pro klasickou elektroforézu (Cambrex). Dále nabízí kity pro detekci mykoplasmy a především kity pro detekci endotoxinu (LAL testy). Nabízí také Amara® Nucleofector® technologii pro transfekci primárních buněk a těžko transfekovatelných buněčných linií a inovační StellarArray™ systém pro výzkum genové exprese.

Molecular Devices MDS



ELISA readery - luminiscence - fluorescence

Absorbanční (ELISA), fluorescenční, luminiscenční i multimode mikrodestičkové readery, SOFTmax® PRO software a validace, promývačky, dispenzery a rozplňovací soupravy Aquamax, automatizace - StakMax Microplate Handling System, buněčné sběrače, IonWorks™, Threshold, reagenční kity; CellKey Systems, NEW CellKey384 System, Cellular Imaging, Electrophysiology, Fluorometric Imaging Plate Readers, Liquid Handling.

Laboratorní plasty



Laboratorní plasty z termorezistentních polymerů - pipetové špičky sypané i v krabičkách, sterilní i nesterilní, s filtrem i bez, pastety se stupnicí i bez, PCR zkušavky volné, ve striech i destičkách, eppendorfy různých objemů, kryozkušavky, centrifugační zkušavky, mikrodestičky formátu 96 i 384, krabičky, stojánky a plastové pořadače.

Více na www.eastport.cz, eastport@eastport.cz
nebo bezplatné lince 800 100 529



ELISABETH PHARMACON, spol. s r.o.

Náměstí Svobody 18

602 00 Brno

Tel.: +420 542 213 851

Fax: +420 542 213 827



Elisabeth Pharmacon pro vás vyrábí a dodává...

- DNA diagnostika EliGene® a EliTech
- Přístroje ZEPHYRUS® - PCR boxy, biohazard boxy
- Přístroje pro automatickou izolaci DNA / RNA
- Soupravy pro izolaci DNA / RNA
- Mastermixy a polymerázy
- Příprava oligonukleotidů a sekvenování
- Spotřební materiál pro laboratoře (rukavice, plast atd.)



*Nakupujte v našem e-shopu
a zapojte se do našeho
bonusového programu
pro věrné zákazníky*

www.elisabeth.cz | www.eligene.com | www.zephyrusbsb.com

Novinky:
EliGene® HBV (CE 1023)
EliGene® HCV (CE 1023)

gb MICRO Aspergillus
objevte s námi mikrosvět!

PCR detekce a kvantifikace patogenní DNA

- specifické rozlišení 4 nejčastějších druhů rodu *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*)
- kalkulátor pro výpočet koncentrace patogenní DNA ve vzorku
- CE IVD
- ready-to-use
- preamplifikační assay (součástí je IPC)
- pozitivní a negativní kontrola
- vyvinuto ve spolupráci s klinickým pracovištěm
- účast v programech EHK

generi biotech



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
plantgrowth 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
nucleid 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

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



LABMARK a.s. dodavatel laboratorních produktů - klinická diagnostika, molekulární biologie a genetika

LAB MARK a. s. je zavedenou českou firmou dodávající produkty pro klinické laboratoře i výzkumná pracoviště – přístroje, diagnostické kity, chemikálie, plastik pro PCR atd. Kromě dodávek zajišťuje také technický servis, aplikační služby a poradenství.

Společnost LABOSERV s.r.o. se již devatenáctým rokem 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.



Real-Time PCR AmpliSens® Detekce mikrobiálního genomu

- ✓ STD
- ✓ HIV
- ✓ HPV
- ✓ TORCH
- ✓ Herpes viry
- ✓ Hepatitidy
- ✓ Purulentní septické infekce
- ✓ Respirační infekce
- ✓ Intestinální infekce
- ✓ Neuro infekce
- ✓ Zvláště nebezpečné infekce



LABOSERV s.r.o.
Tuřanka 1222/115 627 00 Brno
www.laboserv.cz www.lshop.cz



Medesa

20 let s vámi

UNIKÁTNÍ TECHNOLOGIE TRCR®



TRCReady®-80

- ✓ Real-Time RNA
- ✓ Automatická analýza
- ✓ Purifikace, amplifikace a detekce do 40 minut

www.medesas.cz | www.portal.medesas.cz

SPOLEHLIVÁ ŘEŠENÍ PRO VAŠI LABORATOŘ

Produkty Eppendorf

Pipety a dávkovače
Centrifugy
Hlubokomrazící boxy
PCR přístroje a příslušenství
Termomixery
CO₂ inkubátory
Laboratorní plast

a další...

Biochemie | Hematologie | Imunochemie

Akreditovaná kalibrační laboratoř

Monitoring teplot

Průtoková cytometrie

Zátěžové testy sportovců

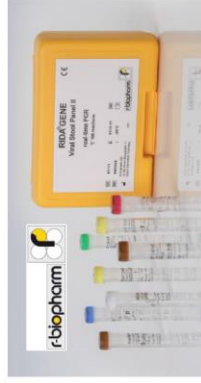
Bio-Consult Laboratories spol. s r.o. se specializuje na dovoz produktů pro oblast molekulární biologie a genetiky pro klinickou diagnostiku i výzkum.

Aktuálně v nabídce:

- CE IVD kity pro rutinní detekci virových, bakteriálních a parazitárních původců **respiračních, gastroenterálních a nozokomiálních infekcí** od německé společnosti **r-biopharm**, vše ve formě multiplexů, včetně kompletního řešení pro Vaši laboratoř.
- Produktová řada **genesig** od britského výrobce – kity pro detekci **patogenů a alergenů** v oblasti lidské i veterinární medicíny a kvality potravin, včetně Real-Time přístroje pro 16 vzorků.
- Referenční standardy z kompletních buněčných linií od britského **Horizon Diagnostic** ve formě **sklíček, FFPE řezů, gDNA, multiplexů** pro NGS, ke kontrole správnosti, citlivosti, kvality a kvantifikace metod jako jsou: **PCR, NGS, IHC, western blotů a FISH**
- Magnetické purifikační kity **CleanNA** od holandského výrobce – Stool kit, Pathogen DNA kit, Circulating DNA kit, CleanNA PCR kit pro purifikaci NGS knihoven a CleanNA DTR kit pro purifikaci sekvenční reakce od terminátorů.

- Dokumentační systémy UV a chemiluminiscence od francouzského výrobce **Vilber Lourmat**

- Malé laboratorní přístroje



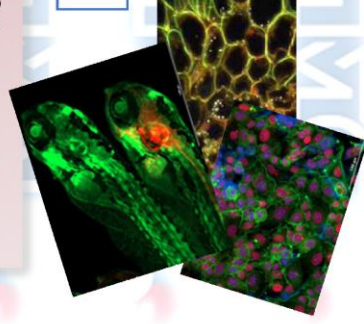
DIALAB

Dialab spol. s r.o., Nám.Osvoboditelů 1, 153 00, Praha 5 – Radotín
tel./fax.: 257 910 255, 260, 263, e-mail: office@dialab.cz

— KLINICKÁ A LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

- DIAGNOSTICKÉ REAGENCIE PRO RUTINNÍ VYŠETŘENÍ • ELISA A EIA TESTY
- BIOCHEMICKÉ ANALYZÁTORY • FOTOMETR DTN • KOAGULAČNÍ A AGREGAČNÍ PŘÍSTROJE • STANDARDNÍ A MULTIDETEKČNÍ READERY A PROMÝVAČKY • DISPENZORY • VÁHY • PIPETY A DÁVKOVACÍ ZAŘÍZENÍ
- KÝVETY • BEZPEČNOSTNÍ ODBĚR KRVY A MOČI VACUETTE • SPOTŘEBNÍ PLASTOVÝ MATERIÁL

— LABORATORNÍ PŘÍSTROJE

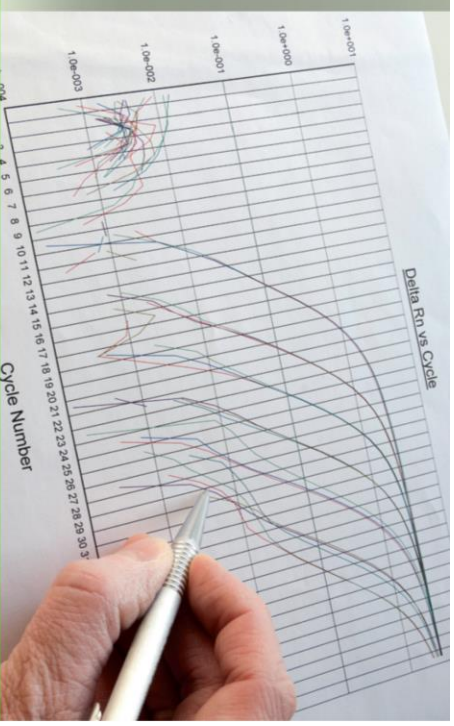
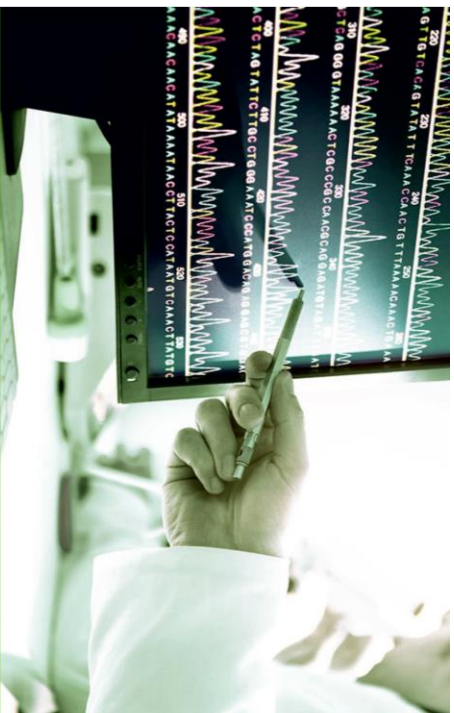


Imaging & Microscopy



Hellma Analytics
High Precision / Spectro-Optics

— SPOTŘEBNÍ A LABORATORNÍ MATERIÁL



SEKVENOVÁNÍ A FRAGMENTAČNÍ ANALÝZA

- » Sekvenování PCR produktů nebo plazmidů
- » Délka čtení více než 1.100 bp
- » Přesnost čtení typicky > 99 %
- » Objednávky a výsledky on-line
- » Možnost registrace pro jednotlivce i laboratoře
- » Předplacení našich služeb
- » Dodávky reagentů

SERVIS PRO SEKVENÁTORY A REAL- TIME PCR PŘÍSTROJE APPLIED BIOSYSTEMS®

- » Diagnostika závad, opravy, kalibrace
- » Preventivní prohlídky, ověření funkčnosti přístrojů
- » Dlouhodobé servisní kontrakty
- » Technická a aplikační podpora
- » Originální náhradní díly
- » Možnost předplacení servisních služeb

REAL-TIME PCR

- » Kurzy a školení
- » Aplikační podpora pro Real-Time PCR
- » Konzultace a poradenství
- » Analýza dat na zakázku
- » Program qbase+ pro analýzu dat
- » Všechny přístroje, všechny aplikace

Applied Biosystems je registrovaná obchodní
známka společnosti Life Technologies.

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.sekvenovane.sk.

© 2013 SEQme s. r. o. | Všechna práva vyhrazena.