



RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN



## PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE

Pardubice, 18. - 19. ledna 2017

[www.rank.cz](http://www.rank.cz)





RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN

# PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE RANK 2017

**RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN  
MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝMI TECHNIKAMI**

18. a 19. ledna 2017  
v prostorách hotelu Zlatá Štíka, Pardubice

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.

**ISBN 978-80-87436-10-3**

# OBSAH

|                            |   |
|----------------------------|---|
| Zajištění konference ..... | 4 |
|----------------------------|---|

## **PROGRAM KONFERENCE**

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| Celkový program konference ..... | 5 |
|----------------------------------|---|

## **SBORNÍK**

|                           |   |
|---------------------------|---|
| Abstrakty přednášek ..... | 9 |
|---------------------------|---|

|                         |    |
|-------------------------|----|
| Abstrakty posterů ..... | 39 |
|-------------------------|----|

|                       |    |
|-----------------------|----|
| Firemní inzerce ..... | 49 |
|-----------------------|----|



# ZAJIŠTĚNÍ KONFERENCE

## POŘADATELÉ

Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP  
MeDiLa spol. s r.o., Štrossova 239, 530 03 Pardubice

## SPOLUPRÁCE

Univerzita Pardubice, FChT, Katedra biologických a biochemických věd

## ZÁŠTITA

PharmDr. Jiří Skalický, Ph.D. - poslanec Parlamentu ČR

## ODBORNÝ GARANT KONFERENCE

Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA

## ORGANIZAČNÍ VÝBOR KONFERENCE

Ing. František Štumor, Ph.D. - předseda

Doc. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D.

Prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.

PharmDr. Lenka Plíšková

RNDr. Jaroslav König

Mgr. Margita Bartková

Ing. Barbara Štumrová

Ivana Králová, DiS

Šárka Novotná

# PROGRAM KONFERENCE



## STŘEDA 18. LEDNA 2017

- 10:00 – 12:30 **Registrace**
- 13:00 – 13:15 **Zahájení**
- 13:15 – 14:15 **Úvodní sdělení**  
**RNDr. Jiří Grygar, CSc.**, Fyzikální ústav AV ČR  
Život ve vesmíru (60 min.)
- 14:15 – 14:30 **Přestávka**
- 14:30 – 15:50 **Využití molekulárně biologických postupů v Armádě České republiky**  
**mjr. MUDr. Vojtěch Hanulík, Ph.D.**, Agentura vojenského zdravotnictví, 7. Polní nemocnice, Hradec Králové  
Principy a specifika detekce a identifikace biologických agens potenciálně zneužitelných při terorismu a válečných konfliktech (30 min.)  
**mjr. RNDr. Petr Pajer, Ph.D.**, Vojenský zdravotní ústav, Praha  
Detekce, identifikace a charakterizace patogenních organismů zneužitelných v boji a bioterorismu metodami analýzy nukleových kyselin (25 min.)  
**RNDr. Alena Myslivcová Fučíková, Ph.D.**, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Hradec Králové  
Detekce a identifikace proteinových toxinů zneužitelných v boji a bioterorismu pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie (25 min.)
- 15:50 – 16:00 **Přestávka**
- 16:00 – 17:00 **Analýza humánního genomu**  
**MUDr. Vlastimil Kulda**, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni  
Vyšetření lymfatických uzlin pacientů s plicními nádory pro zařazení do TNM klasifikace metodami H&E, IHC CK19 a OSNA (25 min.)  
**Mgr. Kateřina Staňo Kozubík, Ph.D.**, CEITEC MU, Brno  
Zkušenosti s neinvazivní prenatální diagnostikou – test Clarigo (20 min.)  
**Mgr. Pavel Flídr**, Generi Biotech, Hradec Králové  
Využití analýzy křivek tání pro genotypizaci krátkých polymorfismů (15 min.)



- 17:00 – 17:10 **Přestávka**
- 17:10 – 18:30 **Infektologie I.**
- prim. MUDr. Jana Janečková**, Litomyšlská nemocnice  
Etiologie infekčních onemocnění a rutinní infekční diagnostika včetně molekulárních testů (20 min.)
- RNDr. Maria Müllerová, CSc.**, CITYLAB, spol. s r.o., Praha  
Onemocnění tuberkulózou stále aktuální (20 min.)
- RNDr. Jana Prodělalová, Ph.D.**, VÚVeL, v.v.i., Brno  
Různé postupy v detekci rotaviru A v humánních vzorcích a srovnání citlivosti použitých metod (20 min.)
- Mgr. Romana Moutelíková, Ph.D.**, VÚVeL, v.v.i., Brno  
Zavedení metody celogenomového sekvenování (NGS) pro charakterizaci humánních rotavirů A (20 min.)
- 19:30 – 23:00 **Společenský večer a posterová sekce**

## **ČTVRTEK 19. LEDNA 2017**

- 8:30 – 9:15 **Úvodní sdělení**
- RNDr. Martin Pospíšek, Ph.D.**, vedoucí laboratoře biochemie RNA, PřF UK, Praha  
Vývoj qPCR metody pro identifikaci toxigenních kmenů *Vibrio cholerae* (45 min.)
- 9:15 – 9:55 **Analýza potravin**
- Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.**, Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT, Praha  
Autentizace komerčně významných druhů masa pomocí analýzy DNA (20 min.)
- Ing. Veronika Kýrová, Ph.D.**, Státní zdravotní ústav v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin, Brno  
Analýza GMO v potravinách a potravinářských surovinách s využitím rutinních DNA metod (20 min.)
- 9:55 – 10:15 **Přestávka**

- 10:15 – 11:45 **Infektologie II.**
- MUDr. Luděk Raida, Ph.D.,** Hemato-onkologická klinika,  
FN Olomouc  
Význam vyšetřování virových nukleových kyselin (NK)  
v bioptizovaných tkáních u nemocných se symptomy  
akutní nemoci štěpu proti hostiteli (aGVHD) po alogenní  
transplantaci krvetvorných buněk (alloSCT) (25 min.)
- Mgr. Pavel Trubač,** Laboratoř molekulární biologie a genetiky,  
Nemocnice České Budějovice, a.s.  
Analýza rezistencí v genech NS3 a NS5A viru hepatitidy C  
při léčbě přímo působícími antiviroty (DAA) (25 min.)
- RNDr. Jana Kašpírková, Ph.D.,** Bioptická laboratoř, s.r.o., Plzeň  
Mikrobiom urologických pacientů – srovnání kultivačního  
a Next-Generation Sequencing přístupu – pilotní studie (20 min.)
- Mgr. Eva Jansová, Ph.D.,** GeneProof a.s., Brno  
EHK panely - opravdu vždy potvrzují kvalitu naší práce?  
Aneb „nic na světě není stoprocentní“ (20 min.)
- 11:45 – 12:00 **Přestávka**
- 12:00 – 13:05 **Pohlavně přenosné infekce**
- MUDr. Hana Zákoucká,** Státní zdravotní ústav, Praha  
Význam PCR pro diagnostiku STI (30 min.)
- Mgr. Michaela Kantorová,** Centrum klinických laboratoří,  
ZÚ Ostrava  
Laboratorní diagnostika infekce virem Zika (20 min.)
- Mgr. Martina Sittová,** GeneProof a.s., Brno  
Mikroskopičtí souložníci aneb co nového v STI? (15 min.)
- 13:05 – 13:30 **Závěr, vyhlášení výsledků soutěže o nejlepší práci**

# ABSTRAKTY PŘEDNÁŠEK

Abstrakty jsou řazeny do bloků přednášek v časovém sledu.  
Na začátku sekce je uveden seznam přednáškových bloků.

## SEZNAM PŘEDNÁŠKOVÝCH BLOKŮ

1. Využití molekulárně biologických postupů v Armádě České republiky
2. Analýza humánního genomu
3. Infektologie I.
4. Analýza potravin
5. Infektologie II.
6. Pohlavně přenosné infekce

**RNDr. Jiří Grygar, CSc.**

Fyzikální ústav AV ČR  
Na Slovance 2  
182 21 Praha 8

tel: +420 266 052 660

e-mail: grygar@fzu.cz

## Život ve vesmíru

**Grygar J.**

*Fyzikální ústav AV ČR, Praha*

O možnostech života ve vesmíru začali lidé uvažovat již v 16. století. Giordano Bruno se domníval, že obydlené jsou všechny hvězdy, resp. planety, které kolem hvězd obíhají (není však pravda, že byl mučedníkem vědy; odsouzen byl za věroučné bludy, nikoliv za tuto tezi). Johannes Kepler se domníval, že obydlen může být Měsíc a Isaac Newton soudil, že obydlené je i Slunce. Astronom John Herschel soudil, že obydlená jsou obě tato tělesa Sluneční soustavy. Koncem 19. století se však zájem laiků i odborníků upřel k obydlenosti Marsu, zejména díky americkému filantropovi Percivalu Lowellovi. Martané si podle jeho názoru vybudovali po celé planetě síť kanálů pro zavlažování a průplavů pro lodě. K popularitě těchto názorů přispěli také spisovatel H. G. Wells a rozhlasový reportér a pozdější herec Orson Welles.

Česká literatura zná známou taškařici Svatopluka Čecha o výletu pana Broučka na Měsíc, ale také půvabnou báseň Jana Nerudy o žábách, které na konci žabákovy astronomické přednášky se ptají, jsou-li na nebeských tělesech taky žaby.

Dvacáté století však tento kosmický optimismus značně pošramotilo. Postupně se díky novým astronomickým technikám podařilo zjistit, že žádná planeta či měsíc Sluneční soustavy se pro inteligentní život pozemského typu nekvalifikuje. Ruský astronom Gavril Tichov sice ještě těsně po II. světové válce ohlásil, že spektra některých oblastí na povrchu Marsu se shodují se spektrem mechů a lišejníků rostoucích na Zemi za polárním kruhem, ale i těmito názory odzvonilo zásluhou kosmických sond Viking a vozítek Spirit, Opportunity a Curiosity, která zkoumala povrch Marsu in situ.

Nejnovější objevy kapalných oceánů pod povrchem některých velkých měsíců Jupiteru a Saturnu však obnovily naději, že by na některém z těchto těles mohl být jednoduchý život, ale solidní důkaz o něčem takovém ještě dlouho mít nebudeme.

Od r. 1995 však astronomové objevují planety u cizích hvězd zvané exoplanety. Dnes již známe několik tisíc exoplanet, ale jen malý zlomek z nich se podobá Zemi svými rozměry a vhodnými vzdálenostmi od mateřské hvězdy. Ujal se pojem ekosfér, což jsou virtuální prostory kolem mateřské hvězdy, omezené dvěma virtuálními povrchy koulí. Vnitřní koule definuje minimální vzdálenost od hvězdy, v níž může trvale existovat tekutá voda a vnější koule definuje sněžnou čáru, čili vzdálenost, v níž veškerá voda zmrzne na led.

Mezitím se začal formovat nový obor – astrobiologie, jenž se věnuje schopnostem mikroorganismů na Zemi přizpůsobit se nepříznivým vlivům na život (extrémní teploty, tlaky, kyselost či zásaditost prostředí, radioaktivita, přetížení atd.). I když jsou schopnosti extrémofilních organismů překvapivě široké, přece jen se zdá, že i jednoduchý život je ve vesmí-

ru nejspíš vzácný. Samostatnou kapitolu pak představují pokusy o komunikaci s údajnými mimozemšťany pomocí silných astronomických radarů, ale též projekty hledání umělých rádiových signálů, jež případní mimozemšťané sami vysílají. Narážíme však přitom na tzv. Fermiho paradox z r. 1950. Slavný fyzik Enrico Fermi argumentoval, že pokud je vývoj života na exoplanetách v ekosférách standardní, měly by na Zemi už dlouho přistávat koráby mimozemšťanů, protože velké množství hvězd v naší Galaxii je až o miliardy let starších než naše Slunce. To nutně znamená, že pokud tam existují civilizace, tak jsou nutně technicky o miliardy let před námi. Technický pokrok na Zemi se viditelně zrychluje už teď, takže ty starší civilizace už jistě mají prostředky, jak inteligentní život na Zemi odhalit a vypravit sem své expedice. Podle Fermiho bychom měli být na Zemi svědky soubojů četných mimozemských civilizací, které se budou handrkovat, které z nich Země patří díky prvním objevitelům. Ve skutečnosti se ale nic takového neděje.

### **Literatura:**

Stephen Webb: Kde tedy všichni jsou? Paseka, Praha 2007.

Jiří Grygar, Marcel Grün, Stanislava Ramešová: Trialog o mimozemšťanech, Paseka, Praha 2006.

Marcel Grün, Jiří Grygar, Stanislava Ramešová: Trialog o životě ve vesmíru. Eminent, Praha 2001.

**mjr. MUDr. Vojtěch Hanulík, Ph.D.**

Agentura vojenského zdravotnictví  
7. polní nemocnice, AČR  
500 05 Hradec Králové

Tel: +420 777 613 549  
e-mail: hanulik.vojtech@seznam.cz

## **Principy a specifika detekce a identifikace biologických agens potenciálně zneužitelných při terorismu a válečných konfliktech**

Hanulík V.

*Agentura vojenského zdravotnictví, 7. polní nemocnice, AČR*

Biologické zbraně patří mezi zbraně hromadného ničení. Jedná se o viry, bakterie, plísňe nebo jejich toxiny potenciálně zneužitelné ve válečných konfliktech či při teroristických činech. Použití biologických zbraní je sice z hlediska mezinárodních úmluv zakázáno, nicméně riziko použití je stále reálné. Příslušné složky armády České republiky jsou proto cvičeny v časně identifikaci případného použití biologických zbraní s působností na území České republiky i mimo ni. K tomuto účelu slouží především výjezdové laboratoře (biosafety level 3 a 4), dekontaminační prostředky a zabezpečené prostory pro izolaci postižených.

Účinek biologických zbraní je nejenom v onemocnění nebo smrti vojáků, civilistů či zvířat, ale především v jejich psychologickém efektu. Nicméně, velká technická a odborná náročnost použití limituje pravděpodobnost i úspěšnost použití biologických zbraní. Mezi onemocnění, která připadají nejvíce v úvahu, patří zejména plicní forma antraxu a moru, variola, skupina hemoragických horeček (např. virus Ebola či Lassa), plicní forma tularémie, brucela, břišní tyfus, cholera a otravy toxiny (stafylokokový enterotoxin B, ricinový toxin a botulotoxiny).

Práce s vysoce nebezpečnými agens má svá specifika. Vyžaduje nácvik použití speciálních ochranných pracovních pomůcek, dril pracovních postupů, správné odebírání vzorků, jejich zpracování a přípravu pro identifikaci. Samozřejmostí je i specifické technické vybavení.

**mjr. RNDr. Petr PAJER, Ph.D.**

Vojenský zdravotní ústav, Praha

Tel: +420 724 006 099

e-mail: [pajer@img.cas.cz](mailto:pajer@img.cas.cz)

## **Detekce, identifikace a charakterizace patogenních organismů zneužitelných v boji a bioterorismu metodami analýzy nukleových kyselin**

**Pajer P.**

*Vojenský zdravotní ústav, Praha*

Pro detekci a identifikaci vysoce patogenních organismů je analýza nukleových kyselin klíčovou metodou. Pro analýzu nukleových kyselin lze použít celé spektrum metod a jejich kombinací s různým zaměřením, citlivostí a výpovědní hodnotou. Zcela klíčovým primárním krokem je správný odběr vzorků a efektivní izolace nukleové kyseliny. Následujícím rozhodnutím je, zda bude vzorek analyzován jako DNA či jako RNA a zda použijeme specifickou nebo generickou detekční metodu. V neposlední řadě se můžeme ptát, zda izolovaná DNA ve vzorku pochází ze živého nebo mrtvého organismu.

V této prezentaci rozebereme hlavní metody (PCR, LAMP, mikročipy, NGS) v detekci vysoce patogenních biologických agens, jejich modifikace a kombinace používané pro detekci a charakterizaci nukleových kyselin, přednosti, specifika a jejich omezení. Prezentovány budou také méně běžné aplikace jako odlišení živých a mrtvých bakterií pomocí PCR, kombinace PCR a mikrofluidních technologií a alternativní přístupy v metodikách NGS.



**RNDr. Alena Myslivcová Fučíková, Ph.D.**

Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Hradec Králové

Tel: +420 604 479 150

e-mail: alena.myslivcovafucikova@unob.cz

## **Detekce a identifikace proteinových toxinů zneužitelných v boji a bioterorismu pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie**

**Myslivcová Fučíková A.**

*Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Hradec Králové*

U proteinových toxinů lze rovněž využít analýzy genetické informace zdroje, avšak jedná se o důkaz nepřímý. Pro přímý důkaz je nezbytné prokázání samotného toxinu, nejčastěji pomocí přístupu ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Standardně využívané metody přímé identifikace se vyznačují buď omezenou specifitou a selektivitou (ELISA) nebo technickou a finanční náročností provedení (testování na myších). Tandemová hmotnostní spektrometrie představuje sice technicky náročnější alternativu, ale umožňuje nezpochybnitelnou identifikaci vyznačující se rovněž vysokou specifitou a selektivitou. Techniku tandemové hmotnostní spektrometrie lze využít pro identifikaci celé řady proteinových toxinů. Na pracovišti Vojenského zdravotního ústavu a dalších spolupracujících institucí byly vyvinuty techniky pro průkaz jak rostlinných (ricin, abrin), tak pro celou řadu toxinů bakteriálních (botulotoxiny skupin A, B, E a F), stafylokokový enterotoxin B, tetanický toxin a toxiny *Clostridium difficile*. Všechny tyto techniky byly rovněž ověřeny na nativním materiálu a prokázaly tak jejich možnou klinickou i environmentální aplikovatelnost.

**MUDr. Vlastimil Kulda**

Ústav lékařské chemie a biochemie, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni  
 Karlovarská 48  
 301 66 Plzeň

tel: +420 377 593 280  
 e-mail: vlastimil.kulda@lfp.cuni.cz

## **Vyšetření lymfatických uzlin pacientů s plicními nádory pro zařazení do TNM klasifikace metodami H&E, IHC CK19 a OSNA**

<sup>1</sup>Vodička J., <sup>2</sup>Mukenšnabl P., <sup>1</sup>Vejvodová Š., <sup>1</sup>Špidlen V., <sup>3</sup>Kulda V., <sup>4</sup>Topolčan O.  
<sup>5</sup>Pešta M.

<sup>1</sup>*Chirurgická klinika, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni, Fakultní nemocnice Plzeň*

<sup>2</sup>*Šiklův ústav patologie, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni, Fakultní nemocnice Plzeň*

<sup>3</sup>*Ústav lékařské chemie a biochemie, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni*

<sup>4</sup>*Oddělení nukleární medicíny FN Plzeň a Centrální izotopové laboratoře, Lékařská fakulta v Plzni*

<sup>5</sup>*Ústav biologie, Univerzita Karlova, 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:** Hlavním cílem studie bylo porovnání výsledného zařazení pacientů do TNM klasifikace při použití různých metod detekce (H&E, IHC CK19, OSNA) nádorových buněk v hilových a mediastinálních lymfatických uzlinách primárních (nemalobuněčných) a sekundárních (metastázy kolorektálního karcinomu a karcinomu prsu) nádorů plic.

**Soubor pacientů:** 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 51 pacientů, u každého, pokud to bylo možné, bylo stanovení provedeno v pěti skupinách lymfatických uzlin. Celkem bylo vyšetřeno 255 skupin uzlin, zahrnujících celkem 686 jednotlivých uzlin, v průměru 13,5 na pacienta.

**Výsledky:** Shodné výsledky vyšetření metodami H&E, IHC a OSNA byly zaznamenány u 222 skupin lymfatických uzlin (87,1 %). Pozitivní průkaz nádorových buněk metodou OSNA při negativitě H&E vyšetření byl zaznamenán u 26 skupin uzlin (10,2 %). V sedmi případech (2,7 %) byla pozitivní metoda H&E, zatímco výsledek získaný metodou OSNA byl negativní. Výsledky vyšetření IHC CK19 až na jednu skupinu uzlin odpovídaly vyšetření H&E.

**Závěr:** Zatímco výsledky vyšetření lymfatických uzlin metodou IHC CK19 nevedly k téměř žádné změně v zařazení do pTNM klasifikace v porovnání s vyšetřením H&E, vyšetření metodou OSNA vedlo k zařazení 12 (23,5%) pacientů do vyšší kategorie pTNM. Klinický význam zůstává předmětem navazujícího výzkumu.

*Vznik práce byl podpořen projektem LFP UK SVV-2016-260283 a grantem Ministerstva zdravotnictví České republiky - Koncepční rozvoj výzkumných organizací (Fakultní nemocnice v Plzni - FNPL, 00669806).*

**Mgr. Kateřina Staňo Kozubík, Ph.D.**

Centrum molekulární medicíny, CEITEC MU  
Kamenice 753/5  
625 00 Brno

tel: +420 549 49 7947

e-mail: kstanokozubik@fnbrno.cz

## **Zkušenosti s neinvazivní prenatální diagnostikou – test Clarigo**

**Staňo Kozubík, K., Blaháková, I., Jedličková, J., Pospíšilová, Š., Tichý, B.**  
*CEITEC MU, FN Brno*

V České republice se dlouhodobě provádí screening vrozených vad plodu. Mezi nejčastější chromosomové vady patří Downův sy (trisomie chromosomu 21), Edwardsův sy (trisomie 18) a Patauův sy (trisomie 13). Podle doporučení České gynekologicko-porodnické společnosti by těhotná žena měla mít možnost podstoupit některé z vyšetření stanovujících individuální riziko Downova syndromu u plodu. Použitý test by měl mít falešnou pozitivitu nižší než 3 % a detekční účinnost vyšší než 90 % (Zásady dispenzární péče ve fyziologickém těhotenství. Čes. Gynek, 2012, 77, č. 3, s. 265–266.). Standardním screeningovým testem pro stanovení rizika vrozených vad je „triple test“ prováděný ve II. trimestru těhotenství (16.-18.t.g.). „Triple test“ je schopen určit riziko výskytu Downova syndromu (výjimečně i riziko Edwardsova nebo Smith-Lemli-Opitzova sy) a závažných poruch uzávěru neurální trubice. Senzitivita „triple testu“ je kolem 70 %, falešná pozitivita do 6 %. Pro ženy s pozitivním výsledkem screeningu musí být k dispozici spolehlivý diagnostický test. V současné době je standardním postupem stanovení karyotypu plodu z materiálu získaného invazivním vyšetřením (biopsií choria či amniocentézou). Invazivní metody vždy představují jisté riziko potratu plodu. Již v roce 1997 Denis Lo objevil přítomnost volné fetální DNA v krvi matky. Od roku 2011 se tohoto faktu využívá v klinické praxi při neinvazivním prenatálním testování (NIPT). NIPT je screeningovým testem pro detekci nejčastějších chromosomálních aneuploidií, příp. dalších chromosomálních aberací. Specifická a senzitivita NIPT pro detekci trisomie chromosomu 21 je > 99 %, falešná pozitivita 1-3 %. NIPT se provádí v 1. trimestru těhotenství (od 8. nebo 10.t.g.). Dnes existuje celá škála NIPT testů, většina z nich vyžaduje zaslání biologického materiálu do zahraničí, kde proběhne vlastní analýza. Na trhu jsou k dispozici také testy s certifikátem CE-IVD použitelné v tuzemských laboratořích. V naší laboratoři jsme vyšetřili několik stovek vzorků CE-IVD certifikovaným testem Clarigo firmy Multiplicom (v roce 2015 jsme se podíleli na validaci tohoto testu). Specifická a senzitivita kitu Clarigo pro nejčastější aneuploidie podle validační studie: Downův syndrom 100 % a 99.94 %, Edwardsův syndrom 95.00 % a 100 %, Patauův syndrom 100 % a 99.88 %. NIPT je v současnosti nejpresnější metodou pro stanovení rizika výskytu Downova syndromu u plodu kromě použití invazivní metody.

*Tento výzkum byl finančně podpořen Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR v rámci projektu CEITEC 2020 (LQ1601) a projektem MŠMT Výzkumná infrastruktura NCMG LM2015091.*

**Mgr. Pavel Flídr**

Generi Biotech s.r.o.  
Machkova 587  
500 11 Hradec Králové

tel: +420 495 056 394  
e-mail: pavel.flidr@generi-biotech.com

## **Využití analýzy křivek tání pro genotypizaci krátkých polymorfismů**

**Flídr P., Libra A., Krausová L., Vaňásek J.**

*Generi Biotech s.r.o., Hradec Králové*

Genotypizace jednonukleotidových polymorfismů (SNP) pomocí qPCR je dnes již rozšířenou metodou diagnostiky těchto mutací a na trhu je k dostání celá řada certifikovaných souprav pro klinickou diagnostiku. Úspěšně se zde využívá metoda alelické diskriminace, založená na použití duálně značených hydrolyzačních sond schopných specificky odlišit právě i jednonukleotidovou změnu v sekvenci templátu. Návrh takových sond je ale cenově nákladný a ne vždy úspěšný. Další možností diagnostiky SNP je analýza křivek tání s použitím různých typů hybridizačních sond nebo tzv. HRM analýza (High Resolution Melting) využívající saturačních interkalačních barviv.

Tento příspěvek představí různé metody detekce SNP pomocí analýzy křivek tání, s podrobnějším zaměřením na tzv. quenched FRET (Q-FRET). Tato metoda je nenáročná na návrh i optimalizaci a vykazuje dobré výsledky v řadě přístrojů různých výrobců. Systém je založený na analýze křivky tání duplexu templátu a fluorescenčně značené sondy, kde dochází po denaturaci k měřenému nárůstu fluorescence. Fluorescence sondy v hybridizovaném stavu může být uhlčována dalším oligonukleotidem nesoucím zhášec, nebo také pouze přítomností nukleotidů G na templátu. Takový systém lze mimo přístroje podporující FRET úspěšně využít také v přístrojích, které nedokáží zkombinovat excitační filtr donorového fluoroforu a emisní filtr akceptoru. Pomocí analýzy křivek tání sond typu Q-FRET byly na našem pracovišti optimalizovány nejen systémy pro detekci SNP, ale i náročnější systémy detekující dvě mutace pomocí jedné sondy nebo systémy pro detekci krátkých repetit. V rámci příspěvku budou také porovnána technologická specifika různých systémů využívajících analýzu křivek tání.

**prim. MUDr. Jana Janečková**

Litomyšlská nemocnice, Nemocnice Pardubického kraje, a.s., Odd. infekční diagnostiky  
J. E. Purkyně 652  
570 14 Litomyšl

tel: +420 461 655 410  
e-mail: jana.janeckova@nempk.cz

## **Etiologie infekčních onemocnění a rutinní infekční diagnostika včetně molekulárních testů.**

Janečková J., Podivínská H.  
*Litomyšlská nemocnice*

Co potřebuje lékař od mikrobiologické laboratoře? Odpověď na otázku příčiny infekčního onemocnění a jakou antiinfekční terapii zahájit.

Analýza výsledků u respirací v prodlouženém 1. Q. 2015 ukazuje, že teprve bakteriologie kultivační v kombinaci s molekulární genetikou atypických bakterií a virů objasňuje skutečnou etiologii. Vzorky byly současně vyšetřeny kultivačně i geneticky. Z horních dýchacích cest použity výtěry z krku, nosohltanu, z dolních dýchacích cest sputa, aspiráty, stěry z tracheostomie, BAL.

Z celkového počtu 766 vyšetření bylo metodou genetickou detekováno 402 pozitivních vzorků, tj. 52 %. Celkem 29x atypická bakterie: *Mycoplasma pneumoniae* 18x, *Chlamydo-philla pneumoniae* 1x, *Legionella pneumophila* 11x, dále 373x virové agens: Influenza A 129x, Influenza B 62x, rhinoviry 62x, Respirační syncytiální virus 60x, coronavirus 25x, adenovirus 18x, parainfluenza 6x, metapneumovirus 5x, enterovirus 4x, bocavirus 1x.

Respirační infekce jsou každodenním úkolem k řešení v ordinacích praktických lékařů, pneumologů a hospitalizovaných pacientů všech oddělení, ať již primárně anebo sekundárně jako komplikace jiného základního onemocnění. Diagnostikovat etiologické agens je klíčová otázka, je-li dobře zodpovězena, znamená to pro nemocného jednoznačně správnou cílenou terapii. V případě neznalosti jde pouze o empirické zkoušení léčby. Statistiky ukazují, že u 62 % respiračních infekcí se jedná o infekci monomikrobiální a ve 44 % polymikrobiální. Adekvátní terapie je pouze u 60 % nemocných a přitom neadekvátní terapie má 3x vyšší letalitu.

Kultivační metoda odhalí typické kultivovatelné bakterie, genetická metoda nekultivovatelné atypické bakterie a viry. Molekulární metody jsou nezbytnou součástí diagnostiky a každá mikrobiologická laboratoř by ji měla rutinně poskytovat.

**RNDr. Maria Müllerová, CSc.**

CITYLAB, spol. s r.o.,

Seydlerova 2451/8, 158 00 Praha 5 - Stodůlky

detašované pracoviště: Pod Marjánkou 1906/12, 169 00 Praha 6

tel: +420 773 759 514, + 420 602 204 434

e-mail: maria.mullerova@citylab.cz

## **Onemocnění tuberkulózou stále aktuální**

**Müllerová, M.**

*vedoucí laboratoře TBC, CITYLAB, spol. s r.o.*

Tuberkulóza (TB) patří k nejzávažnějšímu infekčnímu a zároveň i sociálnímu onemocnění na světě. *Mycobacterium tuberculosis* spolu s *M. leprae* a AIDS patří ke třem World Health Organisation (WHO) nejsledovanějším patogenům. Onemocnění TB postihuje populaci celého světa. Více než třetina světové populace je TB infikována. Je hlášeno 9,6 mil. nových případů TB ročně a až 1,5 mil. lidí ročně umírá (z toho 390 tis. lidí mělo současně TB i AIDS). 480 tis. případů bylo MDR-TB (multidrug-resistant), tedy rezistentních na INH+RIF. Na AIDS umírá 1,2 mil. lidí ročně. Z těchto závažných epidemiologických důvodů je TB WHO označena jako globální ohrožení a podléhá povinnému hlášení ohledně výskytu. V České republice je situace v počtu hlášených případů TB příznivá s nízkou incidencí (kolem 5). Celkový počet "TB dýchacího ústrojí + TB jiné" má trvalý trend: v roce 2012 - 611 (incidence 5,8), rok 2013 - 502 (4,8), rok 2014 - 512 (4,9), 2015 - 518 (4,9). Během posledních padesáti let se socioekonomická situace v naší zemi vylepšovala. Povinná plošná BCG vakcinace prováděná od roku 1953 až do 1. listopadu 2010 jistě přispěla k příznivé situaci v počtu nově hlášených případů. Nelze však podceňovat stále trvající rizika násobená polohou České republiky v Evropě, jako je import TB cizinci, včetně MDR formy a i extenzivně rezistentní (XDR). Tito cizinci jsou často i HIV pozitivní. Navíc v současné době sílí příliv cizinců. Cizinci představují 20 až 30 % nemocných TB. Pocházejí ze zemí s vysokou incidencí TB. Pro občany České republiky představují skrytou hrozbu. Pro rychlé zvládnutí léčby TB je důležitá včasná diagnóza, prevence šíření nemoci, efektivní léčba a zabránění vzniku lékové rezistence. Metody musí být rychlé, a to splňují urychlené metabolické metody a zejména metody molekulárně biologické. Z nich je na světě nejrychlejší GeneXpert MTB/RIF, kdy je výsledek znám za 2 hodiny a z jednoho vzorku je určeno *M.tbc* a citlivost nebo rezistence na rifampicin (RIF). Tento test jsme zavedli jako jeden z prvních v České republice. GeneXpert MTB/RIF test: Plně automatizovaný molekulární test pro detekci přímo z veškerého biologického materiálu pacienta, vyjma krve. Test probíhá v jednorázové plastové cartridgi, která obsahuje všechny reagenty pro bakteriální analýzu, extrakci nukleových kyselin (NK), amplifikaci a detekci amplikonu. Zahrnuje zpracování vzorku, PCR a analýzu PCR fragmentu. Jediný manuální krok je přidání lyzačního pufru do vzorku. Výsledek je automaticky generován jednotkou GeneXpert. Výhoda: Není potřeba specifické infrastruktury pracoviště. Systém je zcela uzavřený - zabránění kontaminace a zkřížené kontaminace a zajištění bezpečnosti laboratorní práce. Vzorky: Z materiálu plicního původu byli vyšetřeni pacienti pro subjektivní potíže jako horečka, kašel a úbytek na váze, dále kontakty a rizikové skupiny lidí. Materiál mimoplicního původu byl vyšetřován

od pacientů pro nespecifické projevy: Nezdůvodněná únava a slabost u pacientů chodících na dialýzu. Léčené nehojící se abscesy v různých místech těla (podkolenní jamka, hnis z abscesu na krku, abscesy v sakrální a vertebální oblasti), na které nezabírala žádná antibiotika. Výsledky: Rok 2014 - 65 vzorků, převážně sput, 2 pozitivní (3,76 %), z toho 1 MDR. Rok 2015 - 290 vzorků, z toho 247 plicních a 43 mimoplicních. Z plicních bylo pozitivních 8, tj. 3,23 % a z mimoplicních 7, tj. 16,28 %. Uvádíme krátké kazuistiky, kdy M.tbc bylo ihned diagnostikováno na základě pozitivních výsledků v systému GeneXpert MTB/RIF a byla zahájena léčba. Materiál plicního původu: sputum (2x). Materiál mimoplicního původu: moč, hnis s tkání z podkolenní jamky, hnis z abscesu na krku a z píštěle ze sakrální oblasti. V současné době, když je nízká incidence TB, nesmíme zapomínat, že se vyskytuje nejen jako plicní forma, ale zejména mimoplicní, tam se na její výskyt většinou nepomýšlí. Zde pomáhá rychlá laboratorní diagnostika TB systémem GeneXpert MTB/RIF. Přednosti testu: výsledek je znám za 2 hodiny - rychlost, dva výsledky (M.tbc a resistance/citlivost na RIF) za jednu cenu. Pacient vyšetřován ambulantně, nestačí odejít a nakazit ostatní. O přínosu pro oddělení JIP a ARO nemluvě - snížení rizika kontaktů pro ostatní. Využití: Test je nenahraditelný u statimových vyšetření. Využití ve všech případech suspektní TB. Před zahájením biologické léčby. K rozlišení latentní či aktivní TB u pacientů s QFN pos. Doporučení: V současné době je test doporučován u transplantace pevných orgánů, jak u dárců tak u příjemců. U dialyzovaných pacientů. U pacientů s CHOPN. Závěry: WHO doporučuje EU tento test jako standardní při stanovení M.tbc ze všech vzorků, vyjma krve, zejména mimoplicních, což naše výsledky potvrzují.



**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

## **Různé postupy v detekci rotaviru A v humánních vzorcích a srovnání citlivosti použitých metod**

Prodělalová, J.<sup>a</sup>, Moutelíková, R.<sup>a</sup>, Dvořáková – Heroldová, M.<sup>b</sup>, Sauer, P.<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

<sup>b</sup>Mikrobiologický ústav LF MU a FNUSA, Brno

<sup>c</sup>Ústav mikrobiologie FNOL a LF UP, Olomouc

Rotavirové infekce jsou celosvětově jednou z hlavních příčin průjemových onemocnění virového původu u mláďat savců. Nejlépe prozkoumanou skupinou rotavirů jsou zástupci skupiny A (RVA), které jsou každoročně zodpovědné za více než 400 000 úmrtí dětí mladších 5 let, což je 5 % všech dětských úmrtí pod 5 let. Většina rotavirových gastroenteritid s fatálním koncem se vyskytuje v zemích Asie a Afriky, nicméně i ve vyspělých zemích jsou rotavirové infekce příčinou mnoha hospitalizací dětí i dospělých. V České republice bylo v roce 2015 hlášeno celkem 18 858 případů gastroenteritidy virové etiologie, což je dvojnásobný nárůst oproti předchozímu roku. V rámci námi řešeného projektu se zabýváme výskytem rotaviru A v české populaci včetně méně častých a atypických kmenů. V roce 2016 jsme v období od dubna do listopadu různými metodami vyšetřili soubor 266 vzorků stolice dětských a dospělých pacientů. Zvolili jsme běžně používané rychlé imunochromatografické testy - Immunoquick® NoRotAdeno (výrobce Biosynex, France) a VIKIA® RotaAdeno (výrobce bioMérieux); a ELISA test RIDASCREEN® Rotavirus (výrobce R-Biopharm AG). Pro detekci rotavirů jsme dále využili reverzní transkripční PCR ve standardním (RT-PCR) i kvantifikačním (RT – qPCR) formátu zacílené na konzervované oblasti rotavirového genomu (geny pro strukturní protein VP6 a nestrukturní protein NSP4). Jako nejcitlivější byla vyhodnocena metoda RT – qPCR, avšak v analýzách a zejména podrobné charakterizaci cirkulujících rotavirů A a dalších lidských rotavirů (RVB, RVC) budeme pokračovat i v letech 2017 a 2018.

*Finanční podpora: Ministerstvo zdravotnictví ČR, AZV, projekt č. 16-29937A.*

**Mgr. Romana Moutelíková, Ph.D.**

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

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

## **Zavedení metody celogenomového sekvenování (NGS) pro charakterizaci humánních rotavirů A.**

Moutelíková R.<sup>1</sup>, Prodělalová J.<sup>1</sup>, Sauer P.<sup>2</sup>, Dvořáková Heroldová M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno

<sup>2</sup>Ústav mikrobiologie FNOL a LF UP Olomouc

<sup>3</sup>Mikrobiologický ústav LF MU a FNUSA, Brno

Rotaviry (RV) jsou neobalené viry z čeledi *Reoviridae* s poměrně složitou morfologií. Kompletní virion je tvořen jádrem se segmentovanou dsRNA, která kóduje šest strukturních proteinů (VP1-VP4, VP6 a VP7) a šest nestrukturních proteinů (NSP1-NSP6). Vzhledem k segmentované struktuře genomu může u RV docházet k přeskupování genetického materiálu, dojde-li k infekci jednoho organismu dvěma různými kmeny viru (tzv. genetický shift), vznikají tak nové kmeny. Tyto nově vzniklé kmeny přispívají k rozšiřování genetické a zároveň antigenní rozmanitosti RV a mohou vést ke snížení účinnosti již používaných vakcín. Tato obrovská variabilita RV vedla ke vzniku klasifikačního systému založeného na sekvenční podobnosti jednotlivých segmentů, které jsou popsány pomocí písmen a čísel. Zatímco 95 % všech rotavirových infekcí je způsobeno pěti nejdůležitějšími G-genotypy rotaviru A (RVA), celkový počet genotypů RVA cirkulujících v Evropě dosahuje počtu 44. Analýza evoluce různých genotypů v průběhu času ukazuje, že dominance jednotlivých genotypů v různých zemích se může meziročně velmi lišit. Podle doporučení pracovní skupiny pro klasifikaci rotavirů (RCWG - Rotavirus Classification Working Group) by měly být jednotlivé kmeny RVA charakterizovány kompletně na základě sekvencí celých genomových segmentů. Jedním z možných postupů je využití metody NGS (next-generation sequencing), které navíc umožní popis nových a/nebo netypizovatelných rotavirových kmenů a navíc identifikaci dalších enterálních patogenů přítomných ve vzorku.

Pro účely této podrobné typizace kmenů jsme připravili metodiku přípravy vzorků pro NGS a ve spolupráci s komerční firmou osekvenovali první celý genom RVA (použitý systém Ion Proton™). Vzhledem k charakteru genomu RV, kterým je dvouřetězcová RNA, bylo nutné běžně používané protokoly přípravy vzorků pro NGS značně modifikovat.

V dalším průběhu projektu chceme tímto způsobem charakterizovat nejméně 50 kmenů RVA, čímž získáme poměrně přesnou představu o zastoupení jednotlivých genotypů RVA a také o jejich evolučních mechanismech.

*Tato práce je prováděna s podporou AZV Ministerstva zdravotnictví ČR, grant č. 16-29937A.*

RNDr. Martin Pospíšek, Ph.D.

Biologicals s.r.o.  
Šrámkova 315  
251 01 Říčany

tel: +420-274776731  
e-mail: info@biologicals.cz

## Vývoj qPCR metody pro identifikaci toxigenních kmenů *Vibrio cholerae*

Pospíšková M.<sup>1</sup>, Vaněk D.<sup>2</sup>, Kročová Z.<sup>3</sup>, Schmidt M.<sup>3</sup> a Pospíšek M.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Biologicals s.r.o., <sup>2</sup>Forenzní DNA servis, s.r.o., <sup>3</sup>Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, <sup>4</sup>Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova

Cholera je akutní průjemové onemocnění, které je způsobeno toxigenními kmeny *Vibrio cholerae* a neléčeno může končit smrtí během několika hodin od propuknutí nemoci. Podle odhadů Světové zdravotnické organizace (WHO) se počet případů cholery pohybuje mezi 1,3 a 4,0 miliony ročně, přičemž přibližně 95 tisíc pacientů této chorobě každý rok podlehne. Cholera provází lidstvo od pradávna a nové epidemie hrozí vždy, když dojde k nahromadění lidí v místech s nedostatečným přístupem k čisté pitné vodě a omezenými možnostmi pro dodržování hygienických pravidel tak, jak je tomu v místech živelných pohrom, válečných konfliktů a ve velmi zalidněných oblastech s vysokou úrovní chudoby. I když to může znít překvapivě, na diagnostických postupech pro detekci infekčního původce cholery je stále co zlepšovat. Přednášející se pokusí provést posluchače vývojem diagnostické metody pro detekci toxigenních kmenů *Vibrio cholerae* pomocí qPCR včetně uvedení některých praktických detailů.

Podpořeno projektem: *Nové technologie a typizace biologických agens, MV ČR VF20122015024.*

**Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.**

VŠCHT Praha  
Technická 5  
166 28 Praha 6

tel: +420 774 228 923  
e-mail: kamila.zdenkova@vscht.cz

## **Autentizace komerčně významných druhů masa pomocí analýzy DNA**

**Zdeňková K., Akhatová D., Sýkorová H. a Demnerová K.**  
*VŠCHT Praha a VÚPP*

Molekulárně-biologické metody založené na detekci deoxyribonukleové kyseliny (DNA) či ribonukleové kyseliny (RNA) patří vzhledem ke své vysoké citlivosti a specifitě mezi techniky používané při analýze složek potravin. Cílem této práce bylo navrhnout a ověřit PCR metodiky pro autentizaci komerčně významných druhů masa. Postup zahrnuje izolaci deoxyribonukleové kyseliny ze vzorků masa a masných výrobků, protokoly PCR pro kontrolu biologického původu vzorku a kvantifikaci podílu DNA hovězího, vepřového a kuřecího masa.

K izolaci deoxyribonukleové kyseliny byl vybrán a experimentálně ověřen protokol definovaný v normě ČSN EN ISO 21571 využívající ionogenní detergent cetyltrimetylamonium bromid. Při návrhu metodiky bylo přihlédnuto k faktu, že jednotlivé živočišné druhy mají odlišnou sekvenci mitochondriální DNA v genu pro cytochrom b. K druhové identifikaci DNA prasete, skotu, kuřete a koně byla použita multiplexní PCR amplifikující úseky kódující cytochrom b. Pro kvantifikaci vybraných živočišných druhů byla použita metoda kvantitativní PCR s fluorescenční detekcí v reálném čase (qPCR). Byla provedena relativní kvantifikace s primery a sondami specificky rozpoznávající sekvence cílových DNA vepřového beta aktinu, hovězí cGMP fosfodiesterázy, kuřecího prekurzoru interleukinu IL-2 a genu kódujícímu myostatin savců a drůbeže. Kvantifikace cílových úseků byly prováděny simultánně, efektivita procesů byla ověřena prostřednictvím DNA různé koncentrace.

Autentizace masa v potravinách prostřednictvím PCR je relativně jednoduchá a vysoce efektivní metoda, která umožňuje rychlé provedení rozboru i s velmi malým množstvím výchozí DNA.

*Poděkování: Práce byla podpořena grantem MZe (NAZV) QJ1530272: Komplexní strategie pro efektivní odhalování falšování potravin v řetězci (prvo)výroba – spotřebitel.*

**Ing. Veronika Kýrová, Ph.D.**

Státní zdravotní ústav v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin v Brně  
Palackého 3a  
612 42 Brno

tel: +420 515 577 525

e-mail: kyrova@chpr.szu.cz

## **Analýza GMO v potravinách a potravinářských surovinách s využitím rutinních DNA metod**

<sup>1</sup>Kýrová, V., <sup>2</sup>Zdeňková, K.

<sup>1</sup>*Státní zdravotní ústav v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin, Brno*

<sup>2</sup>*Vysoká škola chemicko-technologická, Praha*

Geneticky modifikovanou potravinou a krmivem je potravina a krmivo, která je vyrobena, sestává se nebo obsahuje geneticky modifikovaný organismus (GMO). Na evropský trh je v současné době povoleno uvádět pouze 55 GM rostlin (kukuřice, sója, bavlník, řepka a cukrovka) jako potravinu či krmivo. Všechny povolené GMO a produkty z nich vyrobené, které obsahují více než 0,9 % GMO, musí být označeny dle evropského nařízení č. 1829/2003. Na evropském trhu však také dochází k záchytu i nepovolených GMO (např. rýže). Nutné je tedy sledování i těchto GMO. Pro tyto GMO platí nulová tolerance. Geneticky modifikovaní živočišové (např. losos) nejsou zatím povoleny k uvádění na evropský trh.

Významnou roli ve vývoji, harmonizaci a standardizaci metod pro detekci, identifikaci a kvantifikaci GMO má Evropská síť laboratoří pro identifikaci GMO (ENGL – European Network of GMO Laboratories). Členy této sítě jsou i laboratoře z ČR (SZÚ Brno, VŠCHT Praha, ÚRV, v.v.i. Praha a SVÚ Jihlava). ENGL také pomáhá činnosti referenční laboratoře Evropské unie (EURL – European Union Reference Laboratory for GM Food and Feed). EURL jsou předávány k validaci metody, které jsou součástí žádostí o uvolnění nových GMO do oběhu spolu s kontrolním materiálem. Po ověření metody jsou vybrány laboratoře, které se účastní validační studie. Po vyhodnocení zpět zaslaných výsledků vydává EURL stanovisko, zda tyto metody odpovídají kritériím přijatým v rámci ENGL.

Analytické metody umožňující detekci (kvalitativní určení ano/ne a identifikaci přítomného GMO) a kvantifikaci (určení množství) GMO lze rozdělit do dvou kategorií: proteinová analýza (ELISA) a analýza DNA detekující specifický transgen nebo element. K tomu se využívají metody polymerázové řetězové reakce (PCR). Schopnost detekovat GMO v potravinách a potravinářských surovinách je důležitou součástí jejich označování a sledovatelnosti. Vzhledem k tomu, že řada potravin a potravinářských surovin je připravena způsoby, které vedou ke zničení přirozené struktury proteinů, využívají se nejčastěji metody stanovující DNA.

Nejběžnější procedury zahrnující GMO detekci, identifikaci a kvantifikaci začínají vzorkováním, jsou následovány DNA extrakcí, screeningem, detekcí a identifikací GMO (kvalitativní a kvantitativní). Účelem screeningové reakce je určení, zda vzorek obsahuje GMO. Odrůdově specifická nebo konstrukt specifická identifikace určí, o jaké GMO se jedná. Kvantifikace umožňuje určení množství každého GMO přítomného ve vzorku. Standardními metodami pro detekci a identifikaci GMO v současné době je PCR nebo real-time PCR.

Dále se k analýze GMO začínají využívat nově se vyvíjející amplifikační technologie, zejména next generation sequencing (NGS), izotermální amplifikace zprostředkovaná smyčkou (loop-mediated isothermal amplification - LAMP) a digitální PCR (dPCR).

Na SZÚ-CZVP v Brně probíhá již několik let monitoring GMO na trhu jako dílčí část monitorování dietární expozice v rámci „Monitoringu zdravotního stavu obyvatelstva“. V posledních letech je zaměřen na sledování nepovolené GM rýže. Její výskyt v potravinách ve sledovaném období klesá.

*Tato práce je podpořena MZ ČR – RVO (Státní zdravotní ústav – SZÚ, 75010330).*

**Internetové odkazy:**

[http://ec.europa.eu/food/dyna/gm\\_register/index\\_en.cfm](http://ec.europa.eu/food/dyna/gm_register/index_en.cfm)

<http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/ENGL/ENGL.html>

**MUDr. Luděk Raida, Ph.D.**

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

I. P. Pavlova 6

775 20 Olomouc

tel: +420 588 442 880

e-mail: raida@fnol.cz

## **Význam vyšetřování virových nukleových kyselin (NK) v biotovaných tkáních u nemocných se symptomy akutní nemoci štěpu proti hostiteli (aGVHD) po alogenní transplantaci krvetvorných buněk (alloSCT)**

Raida L.<sup>1</sup>, Bartková M.<sup>2</sup>, Kuba A.<sup>1</sup>, Szotkowská R.<sup>1</sup>, Rusiňáková Z.<sup>1</sup>, Faber E.<sup>1</sup>, Skoumalová I.<sup>1</sup>, Brychtová S.<sup>3</sup>, Fürst T.<sup>4</sup>, Fürstová J.<sup>4</sup>, Langová K.<sup>5</sup>, Papajík T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup>Oddělení klinické biochemie FN Olomouc

<sup>3</sup>Ústav klinické a molekulární patologie LF UP a FN Olomouc

<sup>4</sup>Katedra matematické analýzy a aplikované matematiky PŘF UP v Olomouci

<sup>5</sup>Ústav lékařské biofyziky LF UP v Olomouci

AGVHD představuje závažnou a potenciálně život ohrožující imunologickou komplikaci alloSCT způsobenou imunokompetentními buňkami dárce. Může se manifestovat ve třech orgánech/systémech, a to v kůži, játrech a trávicím traktu (GIT). K faktorům, které mohou vyvolat obdobné histopatologické změny, včetně klinického obrazu, patří virové infekce. Významnou roli hrají zejména oportunní reaktivace herpetických, ale i jiných virů, přičemž absence jejich NK v plné krvi nebo plazmě nevylučuje aktivní infekci. Od roku 2012 bylo ve spolupráci s Oddělením klinické biochemie (OKB) FN Olomouc zahájeno vyšetřování přítomnosti NK vybraných virů v biotovaném biologickém materiálu (nejčastěji kůži a sliznici GIT) nemocných se symptomy aGVHD. Do panelu byly zařazeny tyto viry: cytomegalovirus (CMV), Epstein-Baarové virus (EBV), humánní herpesvirus 6 (HHV6), parvovirus B19 (PB19) a adenovirus (ADV). Izolace NK z tkáně je provedena pomocí soupravy QIAamp DNA Mini Kit (QiaGen) za použití izolačního protokolu. K amplifikaci virových NK je použita souprava RealStar PCR kit (Altona) s detekčním systémem CFX 96 (Biorad). Od ledna 2012 do října 2016 rozvinulo 52 nemocných symptomy možné aGVHD. U všech byla provedena biopsie aspoň jednoho postiženého orgánu nebo tkáně a materiál byl vyšetřen na přítomnost NK uvedených virů. V kohortě se kožní, jaterní a GIT symptomy manifestovaly u 81 %, resp. 54 % a 79 % nemocných. Projevy odpovídající aGVHD stupně III/IV se rozvinuly u 65 % pacientů a byly významně spojeny jak s TRM (100 % vs. 47%;  $p=0.001$ ), tak s celkovou mortalitou (84 % vs. 48%;  $p=0.009$ ). Aspoň jeden z vyšetřovaných virů byl detekován v plazmě nebo biotované tkáni u 69 %, resp. 88 % nemocných. Rezistence na imunosupresiva byla pozorována u 50 % léčených příjemců. 10 pacientů (19 %) nebylo imunosupresivy vůbec léčeno. Všichni žijí a virové NK byly u nich detekovány ve tkáních (90 %) a/nebo plazmě (80 %), ale symptomy stupně III/IV se objevily pouze ve dvou případech (20 %). Ve vzta-

hu k potransplantační prognóze byla absence relapsu základního onemocnění spojena s častějším záchytem HHV6 a PB19 ve tkáních (81 % vs. 44 %;  $p=0.04$ , resp. 67 % vs. 22 %;  $p=0.03$ ). Vyšší pravděpodobnost úmrtí byla provázena častější detekcí HHV6 v GIT (93 % vs. 59 %;  $p=0.04$ ). Vyšetřování virových NK v bioptovaných tkáních u nemocných se symptomy aGVHD může ovlivnit přístupy v diagnostice, stážování a léčbě, s dopadem na další průběh a prognózu.

*Podpořeno grantem IGA-LF-2016-001 Univerzity Palackého v Olomouci.*



**Mgr. Pavel Trubač**

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

tel: +420 387873021

e-mail: trubac@nemcb.cz

## **Analýza rezistencí v genech NS3 a NS5A viru hepatitidy C při léčbě přímo působícími antiviroty (DAA)**

Trubač P.<sup>1</sup>, Piskunova N.<sup>1</sup>, Scheinost O.<sup>1</sup>, Chmelík V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoř molekulární biologie a genetiky, Nemocnice České Budějovice, a.s.

<sup>2</sup>Infekční oddělení, Nemocnice České Budějovice, a.s.

Zavedení léčby přímo působícími antiviroty (directly acting antivirals - DAA) do klinické praxe je zásadním průlomem v léčbě virové hepatitidy C (VHC). V současné době se stává legitimním požadavkem vyšší než 95% úspěšnost léčby napříč celým spektrem pacientů s VHC genotypu 1 (GT1). Varianty spojené s rezistencí (resistance associated variant - RAV) u viru hepatitidy C jsou spojeny s vyšší pravděpodobností selhání léčby, což má dopad jak na pacienta (progrese jaterního onemocnění, nutnost opakování léčby), tak i na zdravotnický systém (celkově menší počet vyléčených pacientů při využití daného objemu finančních prostředků v rámci rozpočtu na léčbu VHC). Proteázové inhibitory byly prvními léky ze skupiny DAA na trhu a jsou také velice zranitelnou skupinou vůči primární i během léčby vznikající rezistenci. V současné době je známa řada kauzálních mutací ovlivňujících léčbu proteázovými inhibitory. Jedná se o varianty v oblasti NS3 (asi nejlépe je popsána Q80K spojená s rezistencí na simeprevir). Další skupinou DAA jsou přípravky zacílené na virový protein NS5A, který se podílí na replikaci viru. Zde jsou asi nejznámější varianty na aminokyselinových pozicích 31 a 93.

Vyšetření provádíme sekvenováním cílených oblastí virů s využitím PCR (polymerase chain reaction – polymerázové řetězové reakce). Procesem reverzní transkripce je přepsána virová RNA do komplementární DNA a za použití specifických primerů je amplifikován gen pro virovou proteázu NS3 a pro protein NS5A. PCR produkty jsou poté sekvenovány a hodnoceny na přítomnost jednotlivých variant. Celkem jsme vyšetřili několik desítek pacientů s VHC genotypem 1 v oblasti NS3 a NS5A. Naše nálezy RAV jsou porovnatelné s nálezy v Evropě a ve světě, nicméně zdá se, že frekvence výskytu jednotlivých variant jsou specifické pro daný region (stát).

Sekvence genu pro proteázu NS3 a proteinu NS5 viru hepatitidy C umožňuje identifikovat varianty spojené s rezistencí (sníženou účinností léčby) a individualizovat tak pacientovu terapii. Je podáván takový preparát, u kterého můžeme očekávat vysokou úspěšnost dosažení setrvalé virologické odpovědi (SVR). Zvyšuje se tím komfort a kvalita života pacientů s virovou hepatitidou C a vzhledem k vysoké finanční náročnosti léčby umožňuje toto vyšetření i maximalizovat nákladovou účinnost.

**RNDr. Jana Kašpírková, Ph.D.**

Bioptická laboratoř, s.r.o.

Mikulášské nám. 4

326 00 Plzeň

tel: +420737220433

e-mail: kaspirkova@biopticka.cz

## **Mikrobiom urologických pacientů – srovnání kultivačního a Next-Generation Sequencing přístupu – pilotní studie**

Kašpírková J.<sup>1,2</sup>, Gomolčáková B.<sup>1</sup>, Martínek P.<sup>1</sup>, Černá K.<sup>1</sup>, Šedivcová M.<sup>1</sup>, Tesař P.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Bioptická laboratoř*

<sup>2</sup>*FN Plzeň, ŠÚP, UK*

<sup>3</sup>*Urologie JM, s.r.o.*

**Úvod:** Kultivační detekce mikrobiálních agens z moči je běžným diagnostickým prostředkem pro urologické pacienty. Umožňuje kvalitativní a kvantitativní detekci infekčního agens, včetně stanovení citlivosti detekce na antibiotickou léčbu při podezření na infekci močových cest (IMC). Mezi hlavní nevýhody kultivačního stanovení patří potřeba zachování viability mikroorganismů od odběru po nasazení kultivace, nutnost použití různých kultivačních podmínek pro detekci širokého spektra mikroorganismů, rychlost získání výsledků a možný neúspěch analýzy při kontaminaci vzorků nebo kultivačních půd. Nové molekulárně genetické přístupy by mohly pomoci překonat nevýhody kultivačního stanovení. Slibně se jeví zejména využití metody Next-Generation sequencing (NGS) pro polymikrobiální detekci, která má vysokou citlivost a zároveň lze výsledky částečně kvantifikovat. Nicméně srovnání získaných dat z NGS s klasickou kultivací je důležité pro stanovení klinického významu nálezu.

**Metodika:** Pro pilotní studii projektu jsme srovnávali výsledky kultivačního přístupu mikrobiologické detekce a NGS polymikrobiální detekce u vzorků moči 12 pacientů urologické kliniky s různými symptomy IMC a kontrolní vzorky moči od asymptomatických jedinců. U každého vzorku byla provedena aerobní, anaerobní a mikroaerofilní kultivace a NGS za použití Ion 16S™ Metagenomics Kitu a Ion Torrent™ sekvenační technologie. Sekvenační kit obsahuje dvě směsi primerů, které selektivně amplifikují odpovídající hypervariabilní úseky 16S bakteriálního genomu. Finální analýza výsledků byla provedena softwarem Ion Reporter™.

**Výsledky:** NGS přístup ve většině případů detekoval širší spektrum mikrobiálních agens. U symptomatických pacientů byly kultivační nálezy patogenních bakterií potvrzeny NGS analýzou. V některých případech NGS analýza detekovala mikroby pouze do kategorie čeledí. Kultivačně negativní nález nevylučoval NGS pozitivitu.

**Závěr:** NGS přístup je vhodným nástrojem pro stanovení mikrobiomu z různých klinických materiálů. Je však třeba pečlivě optimalizovat vstupní množství DNA, stejně jako cut-off detekce. Zejména rychlost stanovení širokého spektra infekčních agens, která při použití

16S™ Metagenomics Kitu je cca tři dny, je velkou výhodou NGS. Stanovení antibiotické citlivosti a minimální inhibiční koncentrace zatím zůstává v mezích kultivačního přístupu, nicméně geneticky dané resistance patogenů na antibiotickou léčbu lze již nyní molekulárně geneticky prokázat např. klasickou sekvenací nebo jinou SNP analýzou. Předmětem následného projektu bude ověření klinické závažnosti nálezu kultivačně nepotvrzených agens na větším počtu symptomatických i asymptomatických jedinců.

**Mgr. Eva Jansová, Ph.D.**

GeneProof a.s.  
Vídeňská 119  
619 00 Brno

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

## **EHK panely - opravdu vždy potvrzují kvalitu naší práce? Aneb „nic na světě není stoprocentní“**

Jansová E., Švástová P., Janda P., Dendis M.

*GeneProof a.s., Brno*

EHK je součástí procesů zajištění kvality diagnostického procesu. Principem EHK je provádění mezilaboratorního srovnání a stanovení míry kvality použitého diagnostika. Vyhodnocení výsledků v rámci EHK umožňují účastníkům identifikaci a odstranění případných neočekávaných zdrojů chyb/nejistot a vedou ke zlepšování kvality. Účast v EHK je také jedním z povinných požadavků norem ISO 15189 a ISO 17025. V současné době jsou dostupné jak národní EHK panely pořádané referenčními laboratořemi, tak mezinárodní EHK panely jako jsou INSTAND a QCMD.

Cílem mezinárodních EQA panelů je tlak na srovnatelnost výsledků mezi laboratořemi. Otázkou však je, zda to není někdy spíš tlak na přizpůsobení se jednomu výrobci daného diagnostika. V současné době dochází v rámci EQA panelů pro molekulární biologii resp. real-time PCR diagnostiku ke snaze snížit variabilitu výsledků. Z vyhodnocení EQA panelů se ukazuje, že variabilita u otevřených platforem se pohybuje  $SD \pm 0,5 \log 10$  a u uzavřených platforem, resp. automatických systémů, je  $SD \pm 0,2 \log 10$ .

Téma, které je stále poměrně živě diskutováno poskytovateli EQA panelů, je relevance zařazení jednotlivých vzorků do panelů. Jaké klinické vzorky zařadit do panelu, pro jaké patogeny a jaké koncentrace vzorku jsou stále klinicky relevantní. Příkladem může být např. chřipka nebo BK/JC. Mají být v rámci tzv. „Educational samples“ zařazeny i nepatogenní kmeny? Otázkou je zařazení „Educational samples“ do EQA panelů. Nepoškodí tyto vzorky laboratoře, které kvalitně pracují? Systém kontroly kvality v některých zemích má vysoké požadavky na scoring v EQA panelu a nepočítá s tímto typem vzorků v panelech. Jedním z mnoha dalších diskutovaných problémů je také nedostatek WHO standardů pro řadu patogenů a vhodného kvantifikovaného materiálu. S tímto problémem se například potýkají EQA panely pro HPV.

Jak se tedy stavět k výsledkům EQA panelu? Jsou opravdu vždy odrazem kvality naší práce, nebo jen upozorní na případný problém nebo na vhodnost nastavení parametrů pro kontrolu kvality?

**MUDr. Hana Zákoucká**

Státní zdravotní ústav, NRL pro syfilis, NRL pro chlamydie  
Šrobárova 48  
100 42 Praha 10

tel: +420 267 082 795  
e-mail: hana.zakoucka@szu.cz

## Detekce nukleových kyselin v diagnostice STI

Zákoucká H.

*Státní zdravotní ústav, NRL pro chlamydie, Praha*

Detekce nukleových kyselin (NAAT) v případě sexuálně přenosných infekcí hraje nezanedbatelnou, ale velmi individuální roli. Majoritní metodou je jistě polymerázová řetězová reakce (PCR), která se využívá jak při detekci DNA, tak i RNA. Váha PCR vyšetření je velmi variabilní a kolísá od role „testu volby“ (průkaz *Chlamydia trachomatis*) až po super konzi-liární spíše výzkumné vyšetření (průkaz *Treponema pallidum*). Základní mírou úspěšnosti NAAT testů v oblasti STI je znalost biologie infekce a dostupnosti etiologického agens ve zpracovatelném biologickém materiálu – první porce moče, výtěr z urethry, výtěr z cervixu, stěr z erozivního projevu, stěr ze spojivkového vaku, výtěr z krku, výtěr z rektu, plasma, plná nesrážlivá krev, liquor, biopsie apod.

Zatímco pro infekce HIV, VHB, případně VHC je vyšetření virové nálože z periferní plasmy jedním z možných diagnostických postupů zkracujících imunologické okno, v případě bakteriálních infekcí je třeba racionálně zvážit pozitivní a negativní prediktivní hodnotu testu.

*Chlamydia trachomatis* – PCR vyšetření první porce moči, výtěru z urethry nebo výtěru z cervixu je testem volby pro svou vysokou citlivost ve srovnání s klasickými diagnostickými přístupy (kultivace na buněčných liniích, přímá imunofluorescence, přímá ELISA, imunochromatografické rychlé testy). Důraz je nutné klást zejména na kvalitu odběru – vždy první porce moče resp. první výtěr z urethry po nejméně 2hodinovém nemočení, první výtěr z cervixu po odstranění hlenové zátky. Ostatní druhy biologického materiálu mohou být problematické z hlediska kvality odběru a většina komerčních testů na ně není validována. Přesto je vyšetření možné zejména při dodržení vnitřní kontroly inhibice PCR reakce.

*Neisseria gonorrhoeae* – PCR vyšetření má výhodu zvláště s ohledem na citlivost při zpracování vzorků s nízkým počtem patogenních buněk, pod clonou antibiotik a při nemožnosti dodržení náročné preanalytické fáze nezbytné pro úspěšnou kultivaci gonokoka in vitro. Nevýhodou je nemožnost rutinního testování citlivosti na antibiotika u takto diagnostikovaných kmenů. Také je třeba zvážit riziko falešně pozitivního výsledku reakce v souvislosti s přítomností nepatogenních neisserií ve vzorku.

*Treponema pallidum* – v případě původce syfilis je největší obtíží zajištění vzorku biologického materiálu, který obsahuje dostatečné množství treponemat. Vyšetření je tedy naprosto nevhodné pro sérum, plasmu, a to zejména v pozdním latentním stadiu syfilis. V současné době se uplatňuje jako doplňkový test u manifestní časný syfilis (I. a II. stadium) a případně při vyšetření plně nesrážlivé krve u případů syfilis I., syfilis II., syfilis latens recens.

Z výše uvedených příkladů je zřejmá zejména potřeba dobré znalosti klinického průběhu STI a limitů detekce nukleových kyselin. Významnou výhodou NAAT vyšetření je však také možnost multiplexní detekce různých patogenů vzhledem k tomu, že koinfekce (i multiplifikační) jsou pro STI typické.

**Mgr. Michaela Kantorová**

Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě  
Partyzánské náměstí 7  
702 00 Ostrava

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

**Laboratorní diagnostika infekce virem Zika**

Kantorová M.<sup>1</sup>, Mrázek J.<sup>1</sup>, Zelená H.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Centrum klinických laboratoří, Oddělení molekulární biologie*

<sup>2</sup>*Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Centrum klinických laboratoří, Oddělení virologie*

Virus Zika vyvolal v roce 2016 celosvětovou paniku. Tento virus, patří do čeledi *Flaviviridae*, je přenášen především komáry rodu *Aedes aegypti* a *Aedes albopictus*. Infekce způsobená tímto virem není pro člověka životu nebezpečná a má relativně mírný průběh. Nejdůležitější rizikovou skupinou jsou však těhotné ženy, neboť infekce virem Zika v těhotenství je spojována s poškozením centrálního nervového systému, vrozenými malformacemi a úmrtím plodu.

Laboratorní diagnostika viru Zika je založena na sérologickém vyšetření a molekulárně biologické metodě PCR (polymerázová řetězová reakce). Příímý průkaz RNA metodou PCR je velmi citlivý, ale lze jej použít jen v prvních dnech projevu onemocnění. Z důvodu krátké virémie (5-7 dní) a urémie (2-3 týdny) je nutno diagnostiku infekce virem Zika doplňovat sérologickým vyšetřením. Používají se ELISA metody k průkazu protilátek ve třídě IgG a IgM. Metody založené na detekci protilátek proti nativnímu antigenu nebo E proteinu se vyznačují vysokou citlivostí, ale vykazují vysokou míru zkřížených reakcí s jinými flaviviry. Naproti tomu soupravy založené na NS-1 antigenu mají výrazně zredukovanou zkříženou reaktivitu s jinými flaviviry, ovšem za cenu nižší citlivosti. Z uvedených důvodů je pro co nejpresnější výsledky nutno provést u všech vzorků i konfirmační vyšetření virus neutralizačním testem (VNT), který je nejspecifičtější a současně velmi citlivou sérologickou metodou. V příspěvku budou zmíněny naše zkušenosti s diagnostikou viru Zika.

**Mgr. Martina Sittová**

GeneProof a.s.  
Vídeňská 119  
619 00 Brno

tel: +420 776575271  
e-mail: sittova@geneproof.com

**Mikroskopičtí souložníci aneb co nového v STI?**

Sittová M.<sup>1,2</sup>, Jansová E.<sup>1</sup>, Dendis M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>GeneProof a.s.

<sup>2</sup>Mikrobiologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

Problematika pohlavně přenosných infekcí (STI) je stará jako lidstvo samo. Ačkoliv to zdánlivě vypadá, že pohlavně přenosné choroby se již nevyskytují, opak je pravdou. Antibiotická rezistence dorazila i do této oblasti a selhání terapie není nic výjimečného. V současné době je často diskutována hlavně rezistence *Neisseria gonorrhoeae* a *Mycoplasma genitalium*. To dává vzniknout komerčně dostupným, molekulárně-biologickým testům pro detekci rezistence. V roce 2016 byly zveřejněny nové evropské guidelines pro management negonokokové uretritidy, ve kterých je doporučeno testovat makrolidovou rezistenci u *M. genitalium*.

Na rozdíl od ostatních STI, u kterých terapie selhává, léčba a potažmo profylaxe HIV zažívá v Evropě revoluční rok. V srpnu 2016 schválila Evropská komise použití PrEP (pre-expoziciční profylaxi). Jedná se o lék Truvada, který spolehlivě brání přenosu viru HIV u rizikových skupin pacientů. Tato profylaxe ale nebrání proti riziku přenosu ostatních pohlavně přenosných chorob.

V oblasti HPV je na vzestupu testování samoodběrovými systémy, které poskytují srovnatelné výsledky jako odběr lékařem. V roce 2015 byly schváleny nové evropské guidelines, které doporučují zahrnutí PCR detekce high-risk HPV do primárního screeningu rakoviny děložního čípku. V rámci prevence jsou doporučeny vakcinační programy.

Na jedné straně stojí neomezené možnosti diagnostiky a šikovní bakterie nebo virus na straně druhé. Jak se postavit k léčbě a diagnostice pohlavně přenosných chorob v 21. století?



# ABSTRAKTY POSTERŮ



## SEZNAM PŘIHLÁŠENÝCH POSTERŮ

1. **Ing. Diliara Akhatova**, VŠCHT Praha  
Autentizace ryb pomocí molekulárně-biologických přístupů
2. **Mgr. Jana Bednaříková**, OKB, FN Olomouc  
Detekce BKV DNA a CMV DNA u pacientů po transplantaci ledvin
3. **Ing. Martina Boháčová**, VŠCHT Praha  
Kvantitativní analýza extracelulární DNA biofilmů u vybraných potravinářských patogenů
4. **Mgr. Hana Hamplová**, OKM, Nemocnice Pardubice  
Detekce gastrointestinálních patogenů pomocí multiplex PCR
5. **Mgr. Pavlína Majtnerová**, Univerzita Pardubice  
Metody PCR a RT-PCR jako nástroje pro identifikaci kvasinek *Candida albicans* a *Candida guilliermondii* ve směsných vzorcích
6. **Bc. Lucie Michalcová**, Univerzita Pardubice  
Využití genových manipulací pro studium interakce oportunních patogenů *Candida albicans* a *Pseudomonas aeruginosa*
7. **Mgr. Zuzana Uhlířová**, ÚKM FN Hradec Králové  
Orální mikrobiom – první výsledky z naší laboratoře

**Ing. Diliara Akhatova**

VŠCHT Praha a VÚPP

Technická 5

166 28 Praha 6

tel: +420 776513245

e-mail: diliara.akhatova@vscht.cz

## **Autentizace ryb pomocí molekulárně-biologických přístupů**

**Akhatova D., Hanák P., Laknerová I., Zdeňková K. a Demnerová K.**

*VŠCHT Praha a VÚPP*

Určování druhu ryby je běžně založeno na morfologických znacích. S rostoucí mírou zpracování ryb do produktů potravinářského průmyslu nebo komplexnějších pokrmů v rámci gastronomie však možnost takového určení zásadním způsobem klesá. Rovněž dovoz mořských ryb do vnitrozemských států, jakým je i ČR, se ve velké míře realizuje formou zmrazených bloků komprimovaného a často již částečně opracovaného rybího masa. Morfologické znaky k rozlišení jednotlivých druhů ryb ani v tomto případě tedy nelze použít. Dostupnost metody umožňující druhové určení rybího masa ve vzorku, bez ohledu na jeho velikost, intaktnost či zpracování, je nezbytné.

Molekulárně-biologické metody založené na PCR patří vzhledem ke své vysoké citlivosti a specifitě mezi techniky vhodné pro druhové určení syrových i technologicky opracovaných ryb a to i v komplexní potravíně. Analýza je prováděna prostřednictvím amplifikace jaderného genu kódujícího významný rybí alergen, parvalbumin. V předkládané práci byly v rámci kvantitativní qPCR navrženy a otestovány primery spolu s fluorescenčně značenou sondou komplementární k druhému intronu genu kódujícímu parvalbumin pražmy zpěvné (*Spondyliosoma cantharus*). Specifita navrhaného systému byla potvrzena na panelu 19 ryb zahrnujícím nejvýznamnější část spektra obchodovaných a nabízených druhů, například: kapr (*Cyprinus carpio*), lín (*Tinca tinca*), tilapie (*Oreochromis niloticus*) atd. Efektivita qPCR byla zjištěna sestrojením kalibrační křivky s využitím DNA různé koncentrace. Bylo potvrzeno, že qPCR je vhodná a vysoce efektivní metoda pro druhovou identifikaci pražmy zpěvné.

*Poděkování: Práce byla podpořena grantem MZe RO0316.*

**Mgr. Jana Bednaříková**

Oddělení klinické biochemie, FN Olomouc

I. P. Pavlova 6

775 20 Olomouc

tel: +420 588 444 236

e-mail: jana.bednarikova@fnol.cz

## **Detekce BKV DNA a CMV DNA u pacientů po transplantaci ledvin**

Bednaříková J.<sup>1</sup>, Bartková M.<sup>1</sup>, Krejčí K.<sup>2</sup>, Nečesaná I.<sup>1</sup>, Pjajková D.<sup>1</sup>,  
Vočková S.<sup>1</sup>, Zrníková L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Oddělení klinické biochemie FN Olomouc

<sup>2</sup>III. interní klinika – nefrologická, revmatologická a endokrinologická FN Olomouc

U pacientů po transplantaci ledvin může docházet vlivem působení patogenů k závažným až fatálním komplikacím. Z virových patogenů hraje nejvýznamnější roli BKV. Vlivem imunosuprese může dojít k jeho reaktivaci a rozvoji komplikací, z nichž nejzávažnější je polyomavirová nefropatie (PVAN) s progresivním zhoršováním funkce štěpu. Incidence se pohybuje přibližně kolem 5 %, přičemž PVAN v pokročilém stádiu může vést až k rejekci štěpu.

Dalším významným patogenem vyvolávajícím posttransplantační komplikace (febrilní pancytopenie, pneumonitis, hepatitis, gastroenteritis, retinitis, encefalitis, zánětlivé polyneuritidy, rejekce štěpu, GVHD) je CMV.

V laboratoři provádíme u pacientů po transplantaci ledvin monitorování BKV DNA. Jedná se převážně o párové vzorky - moč, plazma. V případě pozitivního záchytu vyhodnocujeme kvantitu virové nálože. Monitoruje se také CMV DNA v plazmě, opět s kvantitativním vyhodnocením v případě positivity. Ostatní herpetické viry jsou sledovány pouze serologicky. Během období 1/2013 – 6/2016 jsme vyšetřili 3212 vzorků od 472 pacientů na přítomnost BKV DNA a 917 vzorků u 299 pacientů na přítomnost CMV DNA.

Stanovení virurie a virémie je používáno pro určení včasné diagnózy a předcházení rozvoji případných komplikací způsobených těmito patogeny, monitorování průběhu terapie imunosupresivy, popř. monitorování odezvy na jiná léčebná opatření.

Cílem sdělení je vyhodnocení efektivity monitorování vybraných patogenů molekulárně biologickými metodami u pacientů po transplantaci ledvin.

**Ing. Martina Boháčová**

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze  
Technická 5  
166 28 Praha 6

tel: (+420) 220 44-5204  
e-mail: martina.bohacova@vscht.cz

## **Kvantitativní analýza extracelulární DNA biofilmů u vybraných potravinářských patogenů**

**Fuchsová V., Švehláková T., Demnerová, Pazlarová J.**

*Vysoká škola chemicko-technologická v Praze*

Tvorba problematicky odstranitelného biofilmu v potravinářství i v medicíně vyžaduje hlubší porozumění jeho matrici, která chrání buňky tvořící biofilm. Velice významnou složkou matrice biofilmu je eDNA účastnící se adheze, redukce penetrace a zároveň slouží i jako rezervoár pro transfer genů. Z těchto důvodů jsme kvantifikovali množství eDNA pro dohromady 19 kmenů těchto významných patogenů *Staphylococcus aureus* a *Listeria monocytogenes* s ohledem na jejich původ i zdroj izolace za různých kultivačních podmínek. Na začátku byly jejich biofilmy pozorovány pomocí CLSM při podmínkách simulujících situaci v potravinářství a při teplotě lidského těla. Množství eDNA bylo kvantifikováno dvěma na fluorescenci založenými metodami, fluorimetricky fluoroforem picogreen a zároveň pomocí obrazové analýzy založené na konfokální laserové skenovací mikroskopii na základě objemu biomasy. Data z obou analýz byla statisticky vyhodnocena. Množství eDNA se významně lišilo mezi *S. aureus* a *L. monocytogenes* při 22°C i při 4°C ne však při 37°C. Za těchto podmínek bylo množství eDNA vyšší u *S. aureus*. Příslušnost k určitému kmeni měla významný vliv na množství kvantifikované eDNA při všech sledovaných podmínkách. Na závěr byla struktura eDNA biofilmu *L. monocytogenes* narušena působením DNasy. Analýza eDNA prohloubí porozumění o struktuře biofilmu a o jejím narušení.

*Poděkování: Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20-SVV/2016) LD-COST 14-097, GAČR 14-23597-S*

**Mgr. Hana Hamplová**

Nemocnice Pardubického kraje, a.s., Pardubická nemocnice,  
Oddělení klinické mikrobiologie  
Kyjevská 44, 532 03 Pardubice

tel: +420 466 013 202

e-mail: hana.hamplova@nemocnice-pardubice.cz

## **Detekce gastrointestinálních patogenů pomocí multiplex PCR**

Hamplová H., Zálabská E., Bareková L.

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

V České republice je ročně hlášeno do systému EPIDAT 50 až 70 tisíc akutních průjmových onemocnění. Předpokládá se, že toto číslo je ve skutečnosti výrazně vyšší, protože většina nemocných s akutním průjmovým onemocněním lékaře vůbec nevyhledá.

V našich podmínkách jsou nejčastějšími původci infekčních průjmů *Salmonella sp.*, *Campylobacter sp.*, rotaviry, střevní adenoviry a caliciviry (norovirus). Mezi významné původce onemocnění střevního traktu patří rovněž *Clostridium difficile*, původce infekcí spojených se zdravotní péčí.

Cílem naší práce je srovnat metody používané v Pardubické nemocnici pro detekci nejčastějších původců průjmových onemocnění. Srovnávanými metodami u virových agens jsou PCR v reálném čase (Seegene Allplex GI- Virus Assay) a imunochemická detekce antigenů.

U bakterií rodu *Salmonella* a *Campylobacter* je srovnáváno PCR v reálném čase (Seegene Allplex GI- Bacteria (I) Assay) a kultivační vyšetření. U *Clostridium difficile* je porovnáváno PCR v reálném čase (Seegene Allplex GI- Bacteria (I) Assay) s imunoenzymatickou detekcí glutamátdehydrogenázy.

Přítomnost *Salmonella sp.* byla vyšetřována u 264 vzorků. Kultivačně byla zachycena u 34 vzorků, pomocí PCR byla detekována u 28 vzorků.

225 vzorků bylo vyšetřeno na přítomnost *Campylobacter sp.* Kultivačně byl zachycen u 11 vzorků, pomocí PCR byl detekován u 34 z nich.

Na virová agens bylo vyšetřeno 151 vzorků stolice. Pomocí PCR byl 21x detekován norovirus a 6x rotavirus. Rychlým imunochemickým testem byl norovirus detekován v jednom a rotavirus v šesti vzorcích.

Ve 170 vzorcích bylo provedeno vyšetření na přítomnost *Clostridium difficile*. DNA tohoto patogenu byla detekována ve 27 vzorcích. Glutamátdehydrogenáza byla imunoenzymaticky detekována ve 26 případech.

Ve sdělení budou prezentovány výsledky porovnání metod využívaných k diagnostice těchto patogenů v Pardubické nemocnici.

**Mgr. Pavlína Majtnerová**

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

e-mail: pavlina.majtnerova@upce.cz

## **Metody PCR a RT-PCR jako nástroje pro identifikaci kvasinek *Candida albicans* a *Candida guilliermondii* ve směsných vzorcích**

Majtnerová P.<sup>1</sup>, Kadlecová Ž.<sup>1</sup>, Pryszcz L.<sup>2</sup>, Heidingsfeld O.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd

<sup>2</sup>International Institute of Molecular and Cell Biology, 4 Ks. Trojdena Street 02-109 Warsaw, Poland

<sup>3</sup>Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6

*Candida albicans* a *Candida guilliermondii* patří mezi oportunní patogeny, které způsobují onemocnění u imunokompromitovaných pacientů. Oba tyto druhy se přirozeně vyskytují jako saprofyty na lidské kůži a mohou být izolovány ze sliznice ústní dutiny či pohlavního traktu. Ačkoliv onemocnění způsobená *C. guilliermondii* nejsou tak běžná, její nižší senzitivita k běžně používaným antimykotikům, např. flukonazolu, je problémem při léčbě samostatných i směsných infekcí.

Přestože existují kazuistiky, kdy se obě kvasinky vyskytují pohromadě, v literatuře je velice obtížné najít účinný nástroj pro jejich odlišení. Proto jsme se k tomuto účelu rozhodli využít metody PCR a RT-PCR a vyvinout tak postup, umožňující rutinní odlišení a kvantifikaci těchto kvasinkových druhů ve směsných vzorcích. Jelikož je třeba rozlišit dva eukaryotické genomy, je design primerů klíčovým krokem při zavádění nového protokolu. Navrhli jsme pro každou kvasinku tři dvojice primerů tak, aby byly umístěny v konzervativních, ale zároveň druhově specifických částech genomu. Jednu nejvhodnější dvojici pro *C. albicans* a jednu pro *C. guilliermondii* jsme potom vybrali na základě experimentů s klasickou PCR. Testovali jsme pět vzorků *C. albicans*, o kterých jsme chtěli zjistit, zda obsahují i *C. guilliermondii* a případně určit vzájemný poměr obou druhů ve směsi. U vzorků, kde PCR ukázala výskyt *C. albicans* i *C. guilliermondii*, jsme provedli jejich kvantifikaci pomocí RT-PCR. Zjistili jsme, že při správném designu primerů a pečlivé úpravě podmínek cyklování je PCR dobře použitelná pro kvalitativní odlišení a RT-PCR pro určení kvantity obou patogenů ve směsných kulturách.

*Tato práce vznikla za finanční podpory Fakulty chemicko-technologické Univerzity Pardubice, studentský projekt SGS\_2016\_004.*

**Bc. Lucie Michalcová**

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

tel: +420 466 037 779

e-mail: st38503@student.upce.cz

## **Využití genových manipulací pro studium interakce oportunních patogenů *Candida albicans* a *Pseudomonas aeruginosa***

Michalcová L.<sup>1</sup>, Nešporová R.<sup>1</sup>, Majtnerová P.<sup>1</sup>, Heidingsfeld O.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd

<sup>2</sup>Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6

Kvasinka *Candida albicans* a bakterie *Pseudomonas aeruginosa* jsou známy jako oportunní patogeny, které představují vážnou hrozbu pro jedince s imunitním deficitem, ačkoli u zdravých lidí se často vyskytují jako součást přirozené mikroflóry. *P. aeruginosa* je vůči mnoha mikroorganismům antagonistická. Důvody nejsou podrobně prozkoumány, je však známo, že tato bakterie sekretuje celé spektrum molekul, které jsou pro mikroorganismy v okolí nepříjemné. Jde například o pyocyanin, který způsobuje oxidativní stres. *C. albicans* přesto dokáže s *P. aeruginosa* koexistovat a vytvářet směsná společenstva například v plích pacientů s cystickou fibrózou. Abychom se dověděli více o molekulárních mechanismech umožňujících kvasince soužití s bakterií, snažíme se zavést či optimalizovat využití mutantních kmenů *C. albicans* pro studium vzájemných interakcí těchto organismů.

Použili jsme sérii mutantních kmenů *C. albicans*, kterým chyběl některý z genů regulujících získávání železa z okolního prostředí, protože soutěž o získání železa je jedním z faktorů určujících schopnost mikroorganismu přežít v rámci mikrobiomu hostitele. Tyto kmeny nám poskytl profesor Chung-Yu Lan z National Tsing Hua University na Tchaj-wanu. Všechny deleční mutanty dokázaly koexistovat s *P. aeruginosa* v planktonické kultuře. Nejvýraznější fenotyp v přítomnosti bakterie měl kmen Δrhb1, postrádající malou GTPázu Rhb1p, kterému se nyní věnujeme více. Zároveň jsme připravili kmen *C. albicans*, který obsahuje gen pro zelený fluorescenční protein pod aktinovým promotorem a který poslouží pro další sérii analýz.

*Tato práce vznikla za finanční podpory Fakulty chemicko-technologické Univerzity Pardubice, studentský projekt SGS\_2016\_004.*



**Mgr. Zuzana Uhlířová**

Ústav klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové  
Sokolská 581  
500 05 Hradec Králové

tel: +420 495 833 554  
e-mail: zuzana.uhlirova@fnhk.cz

## **Orální mikrobiom – první výsledky z naší laboratoře**

Uhlířová Z.<sup>1</sup>, Plíšková L.<sup>2</sup>, Bolehovská R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultní nemocnice Hradec Králové, Ústav klinické mikrobiologie

<sup>2</sup>Fakultní nemocnice Hradec Králové, Ústav klinické biochemie a diagnostiky – úsek molekulární biologie

Orálním mikrobiomem rozumíme společenství velkého množství mikroorganismů, až 1500 genomů různých druhů bakterií, virů, plísní, kvasinek a hub. U každého člověka je poměr a množství jednotlivých druhů jedinečný, záleží na věku, zdravotním stavu, stravě, kouření a úrovni ústní hygieny.

Vedle mikrobů neškodných či dokonce prospěšných jsou v těle také druhy patogenní, které jsou s lidským organismem v symbióze, ale při oslabení imunity mohou způsobit zánět. V dutině ústní se může jednat o zubní kaz a parodontitidu, při které se ve vážnějších případech dostávají bakterie do krevního oběhu a touto cestou i do orgánů v lidském těle (např. do srdečních chlopní, cévních stěn).

K získání informací mikrobiomu jsme zavedli metodu sekvenování nové generace (NGS) na přístroji MiSeq Illumina s primery z oblastí V3/V4 a V4/V5 genů 16S rRNA. U souboru 30 pacientek jsme porovnali výsledky orálního mikrobiomu obou analyzovaných oblastí.



# FIREMNÍ INZERCE



# GeneProof

Molecular diagnostics for your routine



## MOLECULAR DIAGNOSTICS

### MICROBIOLOGICAL DIAGNOSTICS



BLOOD STREAM INFECTIONS



SEXUALLY TRANSMITTED INFECTIONS



GASTROINTESTINAL INFECTIONS



TRANSPLANTATION INFECTIONS



RESPIRATORY INFECTIONS



FUNGAL INFECTIONS



ANTIBIOTIC RESISTANCE



TROPICAL INFECTIONS & ZOOSES

### GENETIC DIAGNOSTICS



THROMBOTIC MUTATION



PHARMACOGENETICS



ONCOGENETIC DIAGNOSTICS



PRENATAL DIAGNOSTICS

### NUCLEIC ACID EXTRACTIONS



DNA EXTRACTIONS



RNA EXTRACTIONS

## INSTRUMENTS



### croBEE



croBEE NA



croBEE RT

# 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](http://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-quantitativní 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](mailto:prague_marketing.propagace@roche-diagnostics.cz).

**cobas®**  
*Life needs answers*



# Abbott

**Abbott Laboratories, s.r.o.  
Diagnostics Division**

Evropská 2591/33d  
160 00 Praha 6  
Czech Republic

**Mgr. Petr Jamrož**

Key Account Manager CZ/SK/HU  
Telefon: +420 606 099 086  
e-mail: petr.jamroz@abbott.com



DISTRIBUCE ZDRAVOTNICKÝCH PROSTŘEDKŮ



**OPEGEN A OLIGOGEN**

pro detekci humánního a extrahumánního genomu  
CeliaStrip, LactoStrip, B27 OligoGen, STDStrip



**INNO-LiPA**

CFTR , HPV, HBV-genotypizace a testování citlivostí,



**Agellgene** pro fragmentovou analýzu

**GenVinSet** pro Real Time PCR



**GenoFlow** průtoková hybridizace  
**PURO**

[www.ascomed.cz](http://www.ascomed.cz)

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

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

O této i další nabídce firmy naleznete více informací na našich webových stránkách

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](mailto:info@bag-healthcare.cz)  
[www.bag-healthcare.cz](http://www.bag-healthcare.cz)



O kompletně automatickém analyzátoru nukleových kyselin RT PCR, který je uživatelsky konfigurovatelný, už nemusíte jen snít....



**Úplná automatizace**

- Automatická extrakce
- RT-PCR amplifikace
- Analýza výsledků

**Bezkonkurenční flexibilita**

- Paralelní zpracování 1-12 vzorků různých vzorkových matic
- Simultánně v běhu využití různých reagentů a odlišných termálních profilů



...rádi Vám představíme analyzátor InGenius, jakož i další převratné analyzátoři nukleových kyselin světových výrobců.



# HIGH PLEX 384 SYSTEM™

UZAVŘENÝ AUTOMATIZOVANÝ SYSTÉM VČETNĚ SOFTWARE. MOŽNOST BEZPLATNÉ INSTALACE.

**PATOGEN JIŽ OD 48 Kč !! JIŽ ŽÁDNÉ DRAHÉ SONDY !!**

**Výrobce:** AusDiagnostics ➤ **Země původu:** Austrálie

- Automatizovaný systém k provádění vysoce multiplexních reakcí pro detekci patogenů z různých klinických vzorků patentovanou technologií **Multiplex Tandem PCR (MT-PCR)**
- K dispozici široká škála „ready to use“ souprav nebo možnost vytvoření vlastního panelu patogenů.
- Systém High-Plex umožňuje analyzovat najednou až 24 vzorků, které mají být testovány na přítomnost široké škály různých patogenů.
- High-Plex systém je certifikován CE/IVD.



## ŠIROKÝ VÝBĚR PANELŮ

**RESPIRAČNÍ, GASTROINTESTINÁLNÍ, STI, MENINGITIDY, ENCEFALITIDY, SEPSÉ, PARAZITÁRNÍ INFEKCE, BAKTERIÁLNÍ REZISTENCE, HPV, INFEKČNÍ KONTROLA**

**BioVendor – Laboratorní medicína a.s.**

Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika

Tel.: +420 549 124 111, Fax: +420 549 211 465

Email: info@biovendor.cz · www.biovendor.cz



## NextGENe® Next Generation Sequencing Software for Biologists

**Biologist Friendly  
Windows® interface:**

**Application driven**

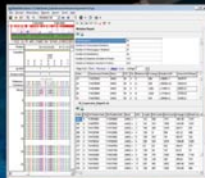
Automated inspection of input files  
to set analysis parameters  
Requires no scripting,  
Reduces bioinformatics requirements

**Application Modules for:**

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

Compatible with:

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



CarolinaBiosystems

## Produkty a služby pro molekulární biologii

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

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

Carolina Biosystems, s.r.o.

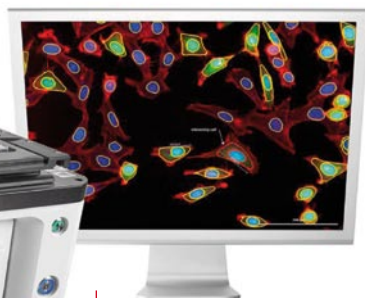
Drnovská 1112/60

161 00 Praha 6

[www.carolinabiosystems.com](http://www.carolinabiosystems.com)

**SOFTGENETICS®**  
Software PowerTools for Genetic Analysis





Think Possible

**BioTek®**

**Dialab spol. s r.o.**

Nám. Osvoboditelů 1

153 00 Praha 5 – Radotín

tel./fax.: 257 910255, 260, 263

e-mail: office@dialab.cz

Automatické snímání obrazu buněk, včetně záznamu videa a možností anotací.

Čtyři módy zobrazení – brightfield – průzračný, barevný, fázový kontrast a fluorescenční

Automatická nastavitelná analýza snímaného obrazu (počty částic, velikosti apod.) pomocí SW GEN 5

Kompaktní rozměry



**Dispolab s.r.o.**

Jugoslávská 123

613 00 Brno

Telefon: 545 212 162, 545 242 223

Fax: 545 210 521

Mobil: 724 347 765

e-mail: info@dispolab.cz

# 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



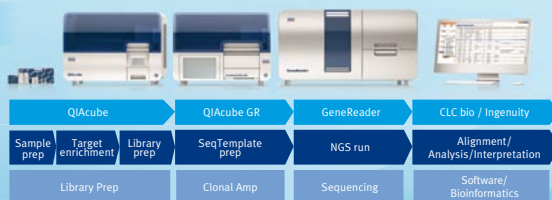
## Služby

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



## NGS řešení od QIAGEN

- ♦ Univerzální reagencie pro platformy Illumina a PGM - sekvenujte jednoduše, rychle, efektivně a pohodlně
- ♦ Univerzální software pro zpracování sekvenčních dat a jejich detailní interpretaci - přístup k databázím HGMD, POSSUM web
- ♦ GeneReader - nejen sekvenční platforma, ale především kompletní řešení pro klinické laboratoře (od vzorku po interpretaci)



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



**Soupravy EliGene® pro DNA diagnostiku | Soupravy pro izolaci DNA / RNA | Polymerázy, mastermixy a enzymy EliZyme™ | ZEPHYRUS® PCR Box**

Soupravy značek MO BIO a Perkin Elmer pro izolaci DNA / RNA | Syntéza oligonukleotidů a sond | Sekvenování DNA | Spotřební materiál pro laboratoře (rukavice, plast aj.)

Více na: [www.elisabeth.cz](http://www.elisabeth.cz) | [www.eligene.com](http://www.eligene.com) | [www.elizyme.com](http://www.elizyme.com)



## Real-time PCR soupravy s citem pro každý detail

IVD soupravy pro:

-  **trombofilní mutace**
-  **farmakogenetiku**
-  **genetiku**
-  **onkologii**
-  **detekci a kvantifikaci patogenů**

### NOVÉ

**gb PHARM Warfarin** (CYP2C9\*2, CYP2C9\*3, VKORC1 (G1639A))

**gb GENETIC Gilbert** (6A/7A)

**gb PHARM TPMT** (TPMT\*2, TPMT\*3A, TPMT\*3B, TPMT\*3C)

**gb HEMO ECPR** (G4678C)

**generi biotech**

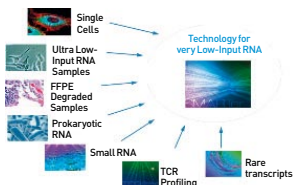
# NGS Solutions

**TaKaRa**  **Clontech**

## SMARTer® way for challenging samples

Clontech / TaKaRa introduce the unparalleled sensitivity of SMARTer® technology offering exceptional sensitivity and reproducibility of NGS. Although SMART technology has been positioned as a leading solution for ultra-low input RNA-sequencing it can also provide highly sensitive approach to analyze targeted RNA sequences or ChIP preselected DNA.

Switching  
Mechanism  
At 5' end of  
RNA  
Template



SMART-Seq™ v4 Ultra™ Low Input RNA Kit  
SMART-Seq™ v4 for the Fluidigm C1™ System  
SMARTer® Stranded RNA-Seq Kit  
SMARTer® Stranded Total RNA-Seq Kit - Pico Input  
SMARTer® smRNA-Seq Kit  
SMARTer® Target RNA Capture  
DNA SMART™ ChIP-Seq Kit

 **IDT**  
INTEGRATED DNA TECHNOLOGIES

## IDT xGen®

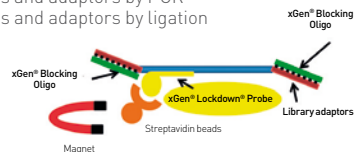
IDT brings xGen® target capture products for greater sensitivity and higher sample throughput for targeted NGS, offers gene panels focusing on relevant genomic regions or transcripts. xGen Lockdown Probes (oligos), xGen Lockdown Panels (for targeted NGS), xGen Lockdown Reagents and Universal Blocking Oligos deliver deep, even coverage of captured targets.

### Library preparation

Incorporation of barcodes and adaptors by PCR  
Incorporation of barcodes and adaptors by ligation  
TruGrade™ processing.

### Target enrichment (capture probes)

xGen® Universal Blocking Oligos  
xGen® Lockdown® Probes  
xGen® Lockdown® Panels  
xGen® Predesigned Gene Capture Pools



 **KRD**  
solutions for life science



## MyGo Mini

### KOMPAKTNÍ qPCR TERMOCYKLER BEZ POHYBLIVÝCH ČÁSTÍ

- 16 pozic
- 2 kanály
- HRM analýza
- genotypovací analýza

[www.labmark.cz](http://www.labmark.cz)

[labmark@labmark.cz](mailto:labmark@labmark.cz)

Společnost LABOSERV s.r.o. se již dvacátým 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.



### Výběr z nabídky Real-Time PCR

#### MULTIPLEX pro detekci mikrobiálního genomu

##### Respirační infekce:

- bakteriální – *M. pneumoniae* / *Ch. pneumoniae*
- virové – **ARVI screen** (13 patogenů: Rhinovirus (hRv) RNA; Adenovirus B, C, E (hAdv) DNA; Respiračně-sycytiální virus (hRSV) RNA; Coronavirus (hCov) RNA: OC43, E229, NL63, HKUI; Parainfluenza virus 1 – 4 (hPiv) RNA; Metapneumovirus (hMpV) RNA; Bocavirus (hBov) DNA)

##### Neuroinfekce:

- **TBEV** / *B. burgdorferi* / *A. phagocytophilum* / *E. chaffeensis* / *E. muris*

##### Sexuálně přenosné infekce:

- *Ch. trachomatis* / *Ureaplasma* / *M. genitalium* / *M. hominis*



LABOSERV s.r.o.

Tuřanka 1222/115 627 00 Brno

[www.laboserv.cz](http://www.laboserv.cz) [www.lshop.cz](http://www.lshop.cz)

[objednavky@laboserv.cz](mailto:objednavky@laboserv.cz)







**Špičky  
Zkumavky**

**S T A R  
L A B**

**Malé laboratorní přístroje**



**PCR produkty  
Real time PCR  
Lyofilizované kity  
Nukleotidy  
Purifikace nukleových kyselin  
Elektroforéza**

**biotechrabbit**  
leap and lead



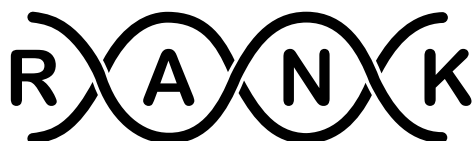
**SERVIS PRO  
SEKVENÁTORY  
A REAL-TIME PCR  
PŘÍSTROJE  
APPLIED  
BIOSYSTEMS®**

Applied Biosystems je registrovaná obchodní známka společnosti Life Technologies.

**SEQme**  
SEQ & QPCR  
COMPANY

[www.seqme.eu](http://www.seqme.eu)

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



RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN

# **PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE RANK 2017**

Vydalo STAPRO s. r. o., Pernštýnské nám. 51, 530 02 Pardubice  
jako doprovodnou publikaci konference RANK 2017.

Vytiskla tiskárna Studio Press s.r.o.,  
V Kapslovně 2770, 130 00 Praha 3.



## UCELENÉ ŘEŠENÍ PRO LABORATORNÍ KOMPLEMENT

- ▶ Zvýšení efektivity laboratorního provozu
- ▶ Integrace všech laboratorních odborností v jednom systému
- ▶ Kompletní podpora všech laboratorních procesů
- ▶ Splnění požadavků SUKL a ISO 15189
- ▶ Propojení s nejmodernějšími laboratorními technologiemi
- ▶ Řešení pro řetězce laboratoří a detašovaná pracoviště
- ▶ Dokonalé sledování nákladů a nadstandardní statistiky
- ▶ Flexibilní přizpůsobení provozním zvyklostem
- ▶ Automatizace centrálního příjmu včetně skladu žadanek
- ▶ Zajištění požadované dostupnosti systému a snadná správa IS

---

**STAPRO s. r. o.** | Pernštýnské nám. 51, 530 02 Pardubice | tel.: +420 467 003 111  
fax: +420 467 003 119 | e-mail: [stapro@stapro.cz](mailto:stapro@stapro.cz) | [www.stapro.cz](http://www.stapro.cz)



Adresa pořádající organizace:

MeDiLa spol. s r.o.  
Štrossova 239  
530 03 Pardubice  
IČ: 632 17 767

e-mail: [pcr.lab@medila.cz](mailto:pcr.lab@medila.cz)  
tel: +420 602 431 809

**[www.rank.cz](http://www.rank.cz)**