



RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN



# PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE

Pardubice, 5. - 6. února 2020

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





RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN

# PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE RANK 2020

RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN  
MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝMI TECHNIKAMI

5. a 6. února 2020  
v prostorách hotelu Zlatá Štika, Pardubice

**ISBN 978-80-87436-17-2**

# OBSAH

Zajištění konference ..... 4

Partneři konference ..... 5

## **PROGRAM KONFERENCE**

Celkový program konference ..... 7

## **SBORNÍK**

Abstrakty přednášek ..... 13

Abstrakty posterů ..... 35

Firemní inzerce ..... 55



# ZAJIŠTĚNÍ KONFERENCE

## POŘADATELÉ

Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP  
MeDiLa spol. s r.o., Štrossova 1931, 530 03 Pardubice

## SPOLUPRÁCE

Univerzita Pardubice, FChT, Katedra biologických a biochemických věd

## ODBORNÝ GARANT KONFERENCE

Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA

## ORGANIZAČNÍ VÝBOR KONFERENCE

Ing. František Štumor, Ph.D. - předseda

Prof. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D.

Prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.

Prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.

RNDr. Jaroslav König

Mgr. Martina Sittová, Ph.D.

Mgr. Margita Bartková

Ing. Barbara Štumrová

Ing. Hana Skalická

Mgr. Eliška Zelinková

Šárka Štěpánková

# GENERÁLNÍ SPONZOR KONFERENCE

# GeneProof®

**Molecular diagnostics for your routine**

**GeneProof a.s.**

Vídeňská 101/119

Dolní Heršpice

619 00 Brno

# HLAVNÍ SPONZOR KONFERENCE



**DYNEX TECHNOLOGIES, spol. s r. o.**

Lidická 977

273 43 Buštěhrad

# VYSTAVOVATELÉ

BAG Diagnostics GmbH

Beckman Coulter Česká republika s.r.o.

BIOMEDICA ČS, s.r.o.

BioVendor-Laboratorní medicína a.s.

Carolina Biosystems, s.r.o.

DiaSorin Czech s.r.o.

Dispolab, spol. s.r.o.

East Port Praha s.r.o.,

ELISABETH PHARMACON, spol. s r.o.

GENERI BIOTECH s.r.o.

HPST, s.r.o.

ITA – Intertact, s.r.o.

KRD - obchodní společnost s.r.o.

LABMARK a.s.

LABOSERV s.r.o.

M.G.P., spol. s r.o.

Roche s.r.o., Diagnostics Division

STAPRO s.r.o.

SVEN BioLabs s.r.o.

TATAA Biocenter s.r.o.

YBUX s.r.o.



# PROGRAM KONFERENCE



## STŘEDA 5. ÚNORA 2020

- 10:00 – 12:30 **Registrace**
- 13:00 – 13:15 **Zahájení**
- 13:15 – 14:15 **Úvodní sdělení**  
**Prof. Dr. Ron van Schaik**, NL, Erasmus MC University Medical Hospital, Rotterdam  
Pharmacogenetics: Do you have your DNA – passport?  
(ENG 60 min)
- 14:15 – 14:30 **Přestávka**
- 14:30 – 15:20 **Analýza humánního genomu**  
**RNDr. Michal Slaný, Ph.D.**, SANATORIUM Helios, spol. s r.o., Brno  
Současné trendy v preimplantačním genetickém testování embryí (25 min)  
**Doc. RNDr. Martin Pešta, Ph.D.**, LF FN Plzeň  
Identifikace nové mutace genu SCNN1B způsobující Liddleův syndrom (25 min)
- 15:20 – 15:35 **Přestávka**
- 15:35 – 16:30 **Legislativa a praxe**  
**Ing. Eva Orendášová, MBA**, Eva Orendášová Consulting, Nové Strašecí  
Jaký dopad bude mít nové Nařízení 2017/746/EU na home-made metody a IVD prostředky používané ve zdravotnických zařízeních? (30 min)  
**RNDr. Pavel Hložek**, GeneProof a.s., Brno  
Molekulárně mikrobiologická diagnostika, „Zkušenosti ze zahraničí“ (25 min)
- 16:30 – 16:45 **Přestávka**
- 16:45 – 18:00 **Mikrobiom**  
**Mgr. Petra Vídeňská, Ph.D.**, Masarykova univerzita Brno  
Střevní mikrobiom a lidské zdraví (25 min)  
**MUDr. et MUDr. Zdeněk Daněk, Ph.D.**, Fakultní nemocnice Brno  
Role orální mikrobioty v etiopatogenezi odontogenních cyst a nádorových onemocnění hlavy a krku (25 min)

**Ing. Diliara Jílková, VŠCHT Praha**  
Jídelníček budoucnosti: autentizace hmyzu pomocí  
analýzy DNA (25 min)

19:30 – 23:00 **Společenský večer a posterová sekce**

## **ČTVRTEK 6. ÚNORA 2020**

8:30 – 9:20 **Biobanking**  
**Prof. Dr. Christoph Brochhausen-Delius**, Institut  
für Pathologie, Universität Regensburg, Germany  
“To be or not to be” – the impact of quality  
on the value of a biobank specimen (ENG 25 min)

**Mgr. Zdenka Dudová, Ph.D.**, Masarykova univerzita Brno  
BBMRI-CZ as a Partner for Personalized Medicine  
and Translational Medical Research (25 min)

9:20 – 9:35 **Přestávka**

9:35 – 10:50 **Rutinní detekce patogenů**

**Mgr. Pavel Trubač**, Nemocnice České Budějovice, a.s.  
EBV – podceňovaný protivník? (25 min)

**Mgr. Jakub Mrázek**, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě  
Laboratorní diagnostika dermatofytóz s využitím  
přímé detekce metodou PCR (25 min)

**RNDr. Maria Müllerová, CSc.**, CITYLAB, spol. s r.o., Praha  
Tuberkulóza ve věznicích v České republice – kazuistiky (25 min)

10:50 – 11:05 **Přestávka**

11:05 – 12:10 **Varia**

**RNDr. Jana Prodělalová, Ph.D.**, Výzkumný ústav veterinárního  
lékařství, v.v.i., Brno  
Komplexní analýza humánních rotavirových infekcí  
v České republice (25 min)

**Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.**, VŠCHT Praha  
Využití MALDI-TOF MS pro analýzu DNA – případ detekce  
mutací v genech topoisomeras u bakterií čeledi  
Enterobacteriaceae (20 min)

**Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D., VŠCHT Praha**  
Parvalbumin jako genetický marker pro DNA  
identifikaci ryb

(20 min)

12:10 – 12:20

**Přestávka**

12:20 – 12:45

**Vyhodnocení soutěží, předání cen, závěr**

# CENA DALIBORA NOVOTNÉHO

Organizátoři konference vypisují tradiční soutěž o nejlepší práci mladých autorů, kteří v roce konání konference dovrší nebo jsou mladší 35 let.

Do soutěže zařazují organizátoři aktivní účastníky automaticky na základě sděleného roku narození.

Odborná komise vyhodnotí vítěze v kategoriích nejlepší poster a nejlepší přednáška, vítězní autoři obdrží věcné ceny. Komise určí i absolutního vítěze, který obdrží symbolickou Cenu Dalibora Novotného.

Tato cena je udělována od roku 2016 na počest Ing. Dalibora Novotného, Ph.D., významného odborníka v laboratorní medicíně a od počátku spoluorganizátora konference RANK, který tragicky zahynul v roce 2015.

# ÚVODNÍ SDĚLENÍ RANK 2020

Je nám velkou ctí, že můžeme na konferenci přivítat významného přednášejícího, který k nám zavítá až z Nizozemska. Prof. Dr. Ron van Schaik působí jako profesor farmakogenetiky na Department of Clinical Chemistry, Erasmus University Medical Center v Rotterdamu a je také ředitelem International Expert-center for Pharmacogenetics. Jeho hlavním zájmem je jak implementace farmakogenetiky do klinické praxe, tak farmakogenetický translační výzkum. Je prezidentem European Society for Pharmacogenetics and Personalized Therapy.



Nežádoucí účinky léčiv jsou v dnešní době jedním z hlavních problémů medicíny a zodpovídají za 5-7 % hospitalizací. Může za to rozdílnost mezi pacienty a jejich metabolismem. Stejná dávka léčiv způsobuje různou koncentraci v krvi, a proto i jiné výsledky léčby. Schopnost předvídat to, jak pacient bude na léky reagovat, je dána jejich DNA profilem. V Nizozemsku se podařilo vytvořit a zavést do praxe tzv. DNA pas, dle kterého má každý lékárník dostupné informace o alelách, jež jsou klíčové pro metabolismus léků pacienta. Na základě těchto informací může upravit dávku pacientovi přesně na míru pro více než 90 druhů léčiv.

To, co se zdálo ještě před pár lety nemožným, je dnes dostupným na dosah ruky. Snad se něčeho podobného dočkáme brzy i v České republice.

*Martina Sittová*

# ABSTRAKTY PŘEDNÁŠEK

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

# SEZNAM PŘEDNÁŠKOVÝCH BLOKŮ

1. Analýza humánního genomu
2. Legislativa a praxe
3. Mikrobiom
4. Biobanking
5. Rutinní detekce patogenů
6. Varia



**Prof. Dr. Ron HN van Schaik, Professor of Pharmacogenetics**

International Expert Center and IFCC Reference Center for Pharmacogenetics  
Dept. Clinical Chemistry, Erasmus MC University Medical Hospital  
Wytemaweg 80, 3015CN Rotterdam, The Netherlands

e-mail: [r.vanschaik@erasmusmc.nl](mailto:r.vanschaik@erasmusmc.nl)

web: [www6.erasmusmc.nl/farmacogenetica](http://www6.erasmusmc.nl/farmacogenetica), [www.eu-pic.net](http://www.eu-pic.net), [www.ESPTSociety.eu](http://www.ESPTSociety.eu)

**Pharmacogenetics: Do you have your DNA-Passport?**

HN van Schaik R.

*International Expert Center and IFCC Reference Center for Pharmacogenetics  
Dept. Clinical Chemistry, Erasmus MC University Medical Hospital*

Adverse drug reactions (ADRs) are a major problem in treating patients: they are responsible for 5-7% of hospitalizations. Interindividual variation in drug metabolism is part of this problem. DNA analysis can predict the drugs metabolizing capacity of each individual. Cytochrome P450 (CYP) enzymes are involved in the metabolism of 80% of all drugs. For example, CYP2D6 is involved in the metabolism of many drugs, covering psychiatry, oncology, cardiology and pain medication. Yet, 5-10% of the population is CYP2D6 deficient due to inheritance of two defective alleles, causing either side effects on standard therapy (e.g. psychiatric drugs) or ineffective treatment (tramadol, codeine). Such a deficiency can be tested for by a simple blood or cheekswab analysis, and drug therapy can be adjusted upfront: personalized medicine.

How far are we with implementing Pharmacogenetics in clinical practice in Europe? In the Netherlands, any patient can go with his/her DNA passport for medication to ANY pharmacy to obtain medication dosage adjusted on their genomic profile for over 90 drugs. With the increasing evidence on gene-drug interactions, the question becomes more and more relevant: "Do YOU already have your DNA passport"?

**RNDr. Michal Slaný, Ph.D.**

SANATORIUM Helios, spol. s r.o.  
Štefánikova 12  
602 00 Brno

e-mail: slany@sanatoriumhelios.cz

## **Současné trendy v preimplantačním genetickém testování embryí**

**Slaný M.**

*Laboratoř lékařské genetiky, SANATORIUM Helios, spol. s r.o.*

Preimplantační genetické testování (PGT) je na pomezí asistované reprodukce a klinické genetiky. PGT přechází prenatální diagnostiku, protože spočívá v biopsii několika buněk z embrya kultivovaného 5-6 dní. Následně provedené vyšetření molekulárními metodami umožní vyloučit geneticky nevhodná embrya ještě před jejich transferem zpátky do dělohy matky.

V rámci PGT, lze provádět screening náhodných aneuploidií (PGT-A), cílenou diagnostiku chromosomálních aberací (PGT-SR) nebo monogenních onemocnění (PGT-M). Preimplantační vyšetření jsou tedy vhodná nejen pro páry s obecnými reprodukčními problémy (např. vyšší maternální věk), ale také pro páry s genetickou zátěží v rodinné anamnéze.

Výskyt chromosomálních aberací u embrya je jedním z nejčastějších důvodů neúspěšného těhotenství. S ohledem na tuto skutečnost právě výběr embryí pomocí PGT významně zvyšuje úspěšnost IVF cyklu a šanci na donošení zdravého dítěte.

V letech 2018-2019 bylo v Sanatoriu Helios provedeno PGT chromosomálních aberací u 705 embryí (n=264, pacientek) pomocí masivně paralelního sekvenování na přístroji MiSeq. Průměrný věk našich klientek v době vyšetření byl 37,5 roku. Z výsledků vyšetření vyplývá, že se zvyšujícím se maternálním věkem pacientky významně stoupá četnost abnormálních embryí.

Účelem tohoto sdělení bude shrnutí současných metod v oblasti PGT detekce chromosomálních aberací, dále budou diskutovány naše vlastní výsledky s ohledem na možnost detekce embryí s chromosomální mozaikou.

Doc. RNDr. Martin Pešta, Ph.D.

Univerzita Karlova  
Lékařská fakulta v Plzni, Ústav biologie  
Alej Svobody 76, 323 00 Plzeň

e-mail: martin.pesta@lfp.cuni.cz

## Identifikace nové mutace genu SCNN1B způsobující Liddleův syndrom

Pešta M.<sup>1</sup>, Mareš Š.<sup>2</sup>, Hrabák J.<sup>3</sup>, Vlková K.<sup>3</sup>, Černá V.<sup>1</sup>, Kulda V.<sup>4</sup>, Kučerová A.<sup>1</sup>, Filipovský J.<sup>2</sup>

Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni

<sup>1</sup>Ústav biologie

<sup>2</sup>II. Interní klinika

<sup>3</sup>Biomedicínské centrum

<sup>4</sup>Ústav lékařské chemie a biochemie

Liddleův syndrom je vzácné autozomálně dominantně dědičné onemocnění. Jedná se o formu hereditární hypertenze způsobené mutacemi v genech kódujících podjednotky epiteliálního sodíkového kanálu (ENaC). Prevalence v České republice není vysoká. Liddleův syndrom je diagnostikován maximálně u desetin procent z celkového počtu hypertoniků. Tento údaj je však pravděpodobně podhodnocen, protože většina pacientů s tímto syndromem nikdy nepodstoupí genetické vyšetření a jsou vedeni jako hypertonici rezistentní na léčbu. U Liddleova syndromu dochází ke zvýšené funkci epiteliálního sodíkového kanálu v ledvinách, což vede k nadměrnému vstřebávání Na<sup>+</sup> zpět do krve, následné volumexpanzi a arteriální hypertenzi. Dalšími projevy bývají hypokalémie a nízká hladina aldosteronu. Tyto znaky však nejsou vždy vyjádřeny a navíc bývají ovlivněny léčbou, což dále ztěžuje diagnostiku. Protože nástup hypertenze je již v časném věku, dochází během života pacienta k brzkému orgánovému poškození a je tedy nutné začít co nejdříve s účinnou antihypertenzní léčbou. Tou je inhibitor epiteliálního sodíkového kanálu – amilorid. U většiny pacientů stačí ke kontrole vysokého krevního tlaku pouze monoterapie tímto lékem. Pro hypertenzi rezistentní na léčbu byla geneticky vyšetřena babička a její dcera. Následně byli vyšetřeni členové třech generací rodiny. Celkově jsme vyšetřili 13 probandů. U 7 jsme identifikovali dosud nepopsanou mutaci v genu SCNN1B způsobující vznik stop kodonu (Tyr604\*). U 4 nejmladších asymptomatických členů rodiny potvrzení diagnózy Liddleova syndromu umožňuje zařazení do dispenzární péče a předejití následkům postupně se rozvíjející hypertenze.

*Práce byla podpořena projektem Lékařské fakulty v Plzni Univerzity Karlovy Progres Q39.*

Ing. Eva Orendášová, MBA

Eva Orendášová Consulting  
Nové Strašecí ev. č. 23, 271 01 Nové Strašecí

e-mail: eva.orendasova@eo-c.cz

## **Jaký dopad bude mít nové Nařízení 2017/746/EU na home-made metody a IVD prostředky používané ve zdravotnických zařízeních?**

Orendášová E.

*Eva Orendášová Consulting*

Dne 26. května 2017 vstoupilo v platnost nové nařízení Evropské unie 2017/746/EU o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro (IVDR), v účinnost vstupuje dnem 26. května 2022. Dotkne se všech hospodářských subjektů, tedy výrobce, distributora, zmocněného zástupce a dovozce, na které jsou kladeny nové nebo přísnější požadavky než doposud. Přísné požadavky jsou kladeny na oznámené subjekty (podle současné směrnice 98/79/ES takzvané „notifikované osoby“), které pokud budou chtít pokračovat ve své činnosti, budou muset podstoupit tzv. Joint assessment orgánů státní správy ČR a Evropské komise v omnoho náročnějším procesu. Nově se budou muset IVD registrovat v Evropské databázi zdravotnických prostředků Eudamed a budou označeny jedinečnou identifikací UDI, sloužící k vysledovatelnosti IVD a taktéž v boji proti padělkům. Významné změny u IVD jsou zejména definice, např. genetické testy, doprovodná diagnostika; re-klasifikace IVD z nižší do vyšší rizikové třídy; spoluúčast oznámených subjektů v posouzení shody – oproti současným cca 20% IVD bude muset postoupit posouzení shody s oznámeným subjektem cca 80% IVD; sběr klinických dat; referenční laboratoře a panel odborníků pro nejvyšší rizikovou třídu D. Ze strany Evropské komise je velmi důležité dobře načasovat a vytvořit všechny potřebné implementační akty k IVDR, zajistit včasné fungování Eudamedu, referenčních laboratoří a splnit další důležité aspekty IVDR. Velký důraz bude kladený na klinická data, následné klinické sledování po uvedení na trh, řízení rizik a další.

Dopady nového IVDR pocítí i zdravotnická zařízení, co se týče tzv. home-made IVD, tedy IVD vyráběných a používaných v rámci jednoho zdravotnického zařízení, a požadavků stanovených na taková zdravotnická zařízení. To znamená vhodný systém řízení kvality, splnění obecných požadavků na bezpečnost a funkční způsobilost s důrazem na snižování rizik, zachovávání vlastností IVD po celou dobu jejich použitelnosti a taktéž klinické sledování po uvedení na trh, tzv. „Post-market-clinical follow-up“ (PMCF). U IVD rizikové třídy D musí zdravotnické zařízení navíc vypracovat dokumentaci, která umožní porozumět výrobě, údajům o návrhu a funkční způsobilosti IVD, včetně určeného účelu. Podle IVDR budou mít kontrolní orgány ČR možnost vstupovat do zdravotnických zařízení, které home-made IVD vyrábějí.

I když se jeví být přechodné období IVDR jako velmi dlouhá doba, budeme rádi, když všichni zainteresovaní hráči v této sféře maximálně využijí 5 let pro adaptaci se na nový legislativní režim v IVD.

RNDr. Pavel Hložek

GeneProof a.s.  
Václavská 101/119  
619 00 Brno

e-mail: [pavel.hlozek@geneproof.com](mailto:pavel.hlozek@geneproof.com)

## **Molekulárně mikrobiologická diagnostika - „Zkušenosti ze zahraničí“**

Hložek P.  
*GeneProof a.s.*

Jsme obklopeni křesťanskou kulturou s jejími morálními standardy, které zcela přirozeně považujeme za správné. Ale svět kolem nás je nekonečně pestrý. Možná i díky tomu je pro nás někdy obtížné posoudit z pohledu diagnostiky standardy jiných kultur bez odsudku, racionálně.

Mnoho z nás si uvědomuje, že jsme součástí velmi bohaté západní Evropy s nejvyšší úrovní zdravotní péče na světě. A mnoho z nás možná žije s představou, že velká část světové populace této úrovně nedosahuje. Jaká je ale skutečnost?

**Mgr. Petra Vídeňská, Ph.D**

Masarykova univerzita  
Kamenice 753/5, pavilon A29  
625 00 Brno

e-mail: [petra.videnska@recetox.muni.cz](mailto:petra.videnska@recetox.muni.cz)

## **Střevní mikrobiom a lidské zdraví**

**Vídeňská P.**

*Masarykova univerzita Brno*

Naše těla jsou osídlena bilióny bakterií. Jejich počet převyšuje počet našich vlastních buněk a ukazuje se, že bakterie žijící na i v našich tělech mají velký vliv na naše zdraví. Bakterie pomáhají v našich střevech trávit potravu a podílí se na tvorbě některých vitamínů. Právě díky bakteriím se v po narození správně vyvíjí imunitní systém a chrání nás před mnohými infekčními chorobami. Nejvíce osídlené tlusté střevo je domovem pro více než tisíc druhů bakterií. Lidé, kteří trpí např. Crohnovou chorobou, cukrovkou, obezitou nebo i depresí, mají ve střevech bakteriálních druhů méně, než zdraví lidé.

Ke studiu faktorů vedoucí ke vzniku výše jmenovaných i dalších chorob byl spuštěn společný projekt Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice Brno - CELSPAC (Central European Longitudinal Studies of Parents and Children / Středoevropské studie rodičů a dětí). Díky studii složení mikrobiomu v průběhu života dětí bude možné nejenom popsat rozdíly mezi nemocnými a zdravými, ale hlavně stav před vypuknutím onemocnění, což může zlepšit prevenci i diagnostiku jednotlivých onemocnění. V první fázi byl popsán ústní a střevní mikrobiom dětí po narození.

*Podpořeno grantem CETOCOEN PLUS: CZ.02.1.01/0.0/0.0/15\_003/0000469*

**MUDr. et MUDr. Zdeněk Daněk, Ph.D.**

Fakultní nemocnice Brno  
Klinika ústní, čelistní a obličejové chirurgie  
Jihlavská 340/20, 625 00 Brno

e-mail: danek002@seznam.cz

## **Role orální mikrobioty v etiopatogenezi odontogenních cyst a nádorových onemocnění hlavy a krku**

Daněk Z.<sup>1</sup>, Izakovičová Hollá L.<sup>2</sup>, Bulik O.<sup>1</sup>, Bořilová Linhartová P.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Klinika ústní, čelistní a obličejové chirurgie, Fakultní nemocnice Brno-Bohunice, Jihlavská 340/20, 625 00 Brno

<sup>2</sup>Stomatologická klinika, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice u sv. Anny, Pekařská 664/53, 656 91 Brno

<sup>3</sup>Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta MU, Kamenice 5, 62500 Brno

Mikroorganismy osidlující lidské tělo, jako jsou viry, archea, bakterie i eukaryota, jsou označovány pojmem mikrobiota. Při narušení homeostázy a disrupci fyziologického stavu vedoucího k dysbiotickému stavu může dojít k patologii. Nemoc tedy může být důsledkem ztráty prospěšných funkcí, nárůstu mikroorganismů s patogenním potenciálem, nebo zavedení maladaptivních funkcí po infekci patogeny. V současné době je orální mikrobiom (virom, bakteriom i mykobiom) intenzivně studován, a to například v kontextu odontogenních cyst (OC) či nádorových onemocnění hlavy a krku.

Mezi nejčastěji se vyskytující zánětlivou OC se řadí radikulární cysta (RC), která se může vyvinout na podkladě chronického zánětu v periodonciu. V pilotní studii byly v RC upregulovány metabolické dráhy související s biosyntézou lipopolysacharidů, čehož by mohlo být využito jako subklinického prozánětlivého markeru. Analýza orálního mikrobiomu v profilu kořenového kanálku u pacientů s apikální periodontitidou může být prospěšná při léčbě pacientů a mohla by být ukazatelem míry rizika vzniku RC.

Spinocelulární karcinom ústní dutiny (OSCC) je nejčastěji se vyskytující malignita v dané oblasti. Navzdory pokrokům v léčbě má toto onemocnění špatnou prognózu a je často detekováno v pozdním stádiu. K překonání těchto výzev jsou hledány včasné diagnostické a prognostické biomarkery. Patogeneze spinocelulárního karcinomu ústní dutiny je komplikovaná, dosud nebyly stanoveny všechny relevantní faktory, které mohou hrát roli při jejím vzniku a progresi. Zejména úloha mikrobioty není dostatečně známa. Mezi rizikové faktory se řadí užívání tabáku, alkoholu a malhygienu, což může změnit složení mikrobioty v dutině ústní. Bakteriální produkty a jejich metabolické vedlejší produkty mohou vyvolat trvalé genetické změny v epiteliálních buňkách hostitele a ovlivnit proliferaci a/nebo přežití epitelových buněk.

V recentní studii (2019) byl navržen koncepční model, ve kterém je komenzální orální mikrobiota selektována do mikroprostředí tumoru a vzniká tzv. „intra-tumorová mikrobiota“, která podporuje progresi onemocnění.

Jelikož se mezi faktory ovlivňujícími orální mikrobiotu řadí i stav imunitního systému hostitele a jeho genom, je k problematice výzkumu etiopatogeneze multifaktoriálních onemocnění dutiny ústní nutné přistupovat komplexně a zabývat se i vzájemnými vztahy mezi orální mikrobiotou a hostitelem. Sledování změn v orální mikrobiotě má potenciální využití jako diagnostický i prediktivní nástroj, může najít uplatnění i v rámci personalizovaných terapeutických přístupů.

*Tato studie byla podpořena grantem NV17-30439A, projektem MUNI/A/1546/2018 a z prostředků poskytnutých Lékařskou fakultou MU juniorskému výzkumníkovi Petře Bořilové Linhartové.*



Ing. Diliara Jílková

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

e-mail: diliara.akhatova@vscht.cz

## Jídelníček budoucnosti: autentizace hmyzu pomocí analýzy DNA

Jílková D.<sup>1,2</sup>, Zdeňková K.<sup>1</sup>, Debode F.<sup>3</sup>, Demnerová K.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

<sup>2</sup>Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.

<sup>3</sup>CRA-W - Le Centre wallon de Recherches agronomiques, Belgique

V roce 2050 by počet obyvatel na Zemi mohl dosáhnout 10 miliard, proto organizace spojených národů (OSN) předpovídá, že produkce potravin se bude muset zvýšit až o 70 %. Hlavně se zvětší poptávka na potraviny s vysokým obsahem bílkovin - maso, vejce a mléčné výrobky. V budoucnu se může stát alternativní zdrojem proteinů i hmyz. Ten je hodnocen výborně skoro z každého úhlu pohledu: je bohatý na proteiny, zdravé tuky a jeho chování zanechává menší ekologickou stopu. Podle výzkumu provedeného Organizací pro výživu a zemědělství (FAO) dnes hmyz tvoří součást tradičního jídelníčku 2 miliard lidí a 1900 druhů hmyzu je využíváno ke stravě. V současné době hmyz a potravinové výrobky na bázi hmyzu vstoupily na evropský trh. Toto přináší s sebou nové otázky bezpečnosti a potřebu zřízení nového právního rámce.

Od 1. 1. 2018 v Evropské unii platí nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2283/2015 o nových potravinách, které definuje hmyz a výrobky z hmyzu taktéž jako novou potravinou. Než je určitý druh hmyzu uveden na trh, měl by projít schvalovacím procesem. Zároveň, na základě národních výjimek, bylo dočasně uvedeno na trh několik druhů hmyzu.

Nedávné nařízení EU 2017/893, umožnilo zařazení sedmi druhů hmyzu do seznamu krmiv povolených v akvakultuře. Než vstoupilo v platnost toto nařízení, mohla být krmiva zkontrolována na přítomnost kontaminace hmyzem pouze pomocí mikroskopie a hledáním malých částí těla hmyzu, jako jsou křídla nebo končetiny. Vzhledem k tomu, že existují tisíce druhů hmyzu, ale pouze sedm je povoleno pro krmné účely, je nezbytná metoda, která umožní přesné rozlišení jak mezi geneticky vzdálenými, tak i velmi blízkými druhy. Metody molekulární biologie, využívající analýzu DNA patří vzhledem ke své vysoké citlivosti a specifitě mezi techniky vhodné pro detekci a případnou identifikaci povolených či nepovolených hmyzích druhů.

V předkládané práci byla vyvinuta metoda používající kvantitativní qPCR pro specifickou detekci cvrčka domácího (*Acheta domestica*). Navržený protokol je založen na amplifikaci fragmentu mitochondriálního genu kódujícího cytochrom b. Specifita navrhaného systému byla potvrzena na panelu 45 hmyzích druhů, 7 druhů rostlin a 15 vybraných druhů živočichů.

Poděkování: Práce byla podpořena grantem EU FARMYNG projekt (GAP-837750).

**Prof. Dr. Christoph Brochhausen**

University Regensburg  
Institute of Pathology  
Franz-Josef-Strauss-Allee 11, 93053 Regensburg, Germany

e-mail: christoph.brochhausen@ukr.de

**„To be or not to be“ – the impact of quality on the value of a biobank specimen**

Brochhausen Ch.

*Institute of Pathology, University Regensburg, Regensburg, Germany*

Background: Biobanking represents a pivotal prerequisite for further developments in personalized medicine. However, the value of a biobank specimen for research purposes is highly dependent on its biological quality, especially after long-term storing.

Study aim: The aim is to identify critical issues within the biobanking work-flow influencing the biological quality of tissue samples. Furthermore, we compared morphological and molecular parameters of long-term stored mamma carcinoma biobank specimens in -80°C and in the gas phase of nitrogen.

Material and Methods: We reviewed potential influence factors on the quality of biobank specimens during the work-flow. In addition, we analysed mamma carcinoma tissue specimens from the same patient stored for 10 years in -80°C and in the gas phase of nitrogen with view to staining behaviour for histochemical as well as immunohistochemical stainings and the quality of DNA and RNA.

Results: Important influences on tissue quality are not only the warm and cold ischemia, but also thawing and ice crystal formation during storing. Specimens stored for 10 years und -80°C showed significant tissue shrinking and changes in the staining behaviour of cell nuclei, which are relevant for its histopathological interpretation. Furthermore, relevant differences in the quality of DNA and RNA could be detected.

Conclusions: The work-flow and storage have significant influence on the quality of tissue biobank specimens. Therefore, biological quality should be analysed, documented and monitored regularly to preserve the value of biobank specimens for research purposes.

**Mgr. Zdenka Dudová, Ph.D.**

Masarykova univerzita  
Ústav výpočetní techniky  
Botanická 554/68a, 602 00 Brno

e-mail: dudova@ics.muni.cz

## **BBMRI-CZ as a Partner for Personalized Medicine and Translational Medical Research**

Dudová Z.<sup>1,2</sup>, Hálová A.<sup>2</sup>, Holub P.<sup>1,3</sup>, Valík D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Computer Science, Masaryk University, Brno*

<sup>2</sup>*Department of Laboratory Medicine, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno*

<sup>3</sup>*BBMRI-ERIC, Graz*

The Czech national research biobanking infrastructure, BBMRI-CZ, was established to set up a network of biobanks supporting medical research in the Czech Republic. The purpose of biobanks is to collect and store patient data along with relevant biological patient-derived material. Such a material would be permanently lost for future biological and medical research unless properly conserved and stored in professionally organized biorepositories.

To put in contact researchers in the need for biological material of appropriate characteristics with the biobank(s) possessing relevant biospecimen collections is the main goal of online tools made by BBMRI-ERIC consortium. BBMRI-ERIC Directory (<https://directory.bbmri-eric.eu>) is a unified interface for researchers via which is possible to browse more than 600 European biobanks at the same time. BBMRI-ERIC Negotiator (<https://negotiator.bbmri-eric.eu/>) is closely connected with the BBMRI-ERIC Directory providing together an efficient communication platform for biobanks and researchers requesting data/sample sets. These tools simplify the communication steps that are necessary to obtain information on the availability of relevant samples/data, particularly if the researchers need to communicate with multiple candidate biobanks.

We present the system of medical research-focused biobanks by an on-line demonstration of BBMRI-ERIC tools because these are practical example of how the biobanks become a useful tool for enhancing the translational research. There are uniquely designed studies collecting tissue material or longitudinal strings of sera enabling access to patient-derived material during the whole patient treatment, thus reflecting pathophysiological and treatment-induced changes in the course of various diseases.

**Mgr. Pavel Trubač**

Nemocnice České Budějovice, a.s.  
B. Němcové 54, České Budějovice

te-mail: trubac@nemcb.cz

**EBV - podceňovaný protivník?**

Trubač P.<sup>1</sup>, Piskunova N.<sup>1</sup>, Scheinostová J.<sup>2</sup>

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

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

Virus Epstein-Baarové je jistě jedním z nejrozšířenějších původců herpesvirových infekcí. Asi nejnámější klinickou manifestací je infekční mononukleóza. Ta je typická zejména pro adolescenty (i když se stále častěji objevuje u populace okolo 25 let). Primoinfekce u malých dětí probíhá často asymptomaticky, či pod obrazem „nachlazení“. Vzhledem k jeho poměrně složitému životnímu cyklu a těsnou interakcí s imunitním systémem dochází k jeho reaktivaci při jiných infekcích nebo stresu organismu. Diagnostika se opírá stále zejména o serologii protilátek, v menší míře o PCR diagnostiku.

V naší přednášce prezentujeme dlouhodobé statistické zhodnocení přímé detekce pomocí real-time PCR. Na vybraných kazuistikách se pokusíme demonstrovat, že v mnohých případech pozitivního nálezu EBV se nejednalo o nahodilý záchyt latentního viru, ale o závažné klinické stavy zapříčiněné infekcí EBV.

**Mgr. Jakub Mrázek**

Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě  
Partyzánské náměstí 2633/7, 702 00 Ostrava

e-mail: jakub.mrazek@zuova.cz

## **Laboratorní diagnostika dermatofytóz s využitím přímé detekce metodou PCR**

Mrázek J.<sup>1</sup>, Kantorová M.<sup>1</sup>, Jaworská P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Oddělení molekulární biologie

<sup>2</sup>Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Oddělení bakteriologie a mykologie

Infekce kůže a kožních adnex vyvolané dermatofyty patří mezi jedno z nejrozšířenějších onemocnění v populaci. Celosvětová prevalence dermatomykóz se pohybuje mezi 20-25%. Nejčastější formou dermatofytóz je tinea unguium, tedy mykotické poškození nehtových plotének, popř. nehtových lůžek. V evropské populaci se toto onemocnění týká více než 10% obyvatelstva, přičemž ve vyšších věkových skupinách dosahuje až 50%.

V laboratorní mykologické diagnostice se běžně využívá přímé mikroskopie a identifikace narostlých kultur mikro a makromorfologicky. Nevýhodou těchto přístupů je velká časová náročnost (2-4 týdny) a nízká senzitivita (50-70%). Využití metod umožňující detekci původců dermatofytóz na úrovni DNA nabízí účinné řešení jak rychlosti, tak citlivosti této diagnostiky.

Pro efektivní molekulárně biologickou diagnostiku dermatofytóz je nicméně nutné vyřešit několik úskalí. Za prvé efektivní izolaci DNA ze vzorků kůže, kožních šupin a nehtů. Za druhé pokrytí širokého spektra možných původců. V ČR patří mezi dominantní druhy dermatofytů *Trichophyton rubrum* (79%), *Trichophyton benhamiae* (7%), *Trichophyton interdigitale* (7%) a *Microsporum canis* (4%). Zároveň je třeba udržet snadnou technickou realizovatelnost molekulárně biologického průkazu a přijatelné náklady.

Za tímto účelem jsme v roce 2017 zavedli detekci původců dermatofytóz metodou PCR v kombinaci s následnou analýzou křivek tání s vysokým rozlišením (PCR-HRMA) a sérii druhově specifických real-time PCR metod pro vybrané původce. PCR-HRMA využívá primerů cílených do oblasti ITS1-5,8S-ITS2, které umožňují amplifikaci širokého spektra dermatofytů a zároveň odlišení některých z nich.

Předběžné výsledky ukazují, že kombinaci klasických metod a PCR lze nejen významně zkrátit dobu potřebnou k získání výsledku (z týdnů na dny), ale také významně zvýšit úspěšnost detekce původců dermatofytóz (cca na dvojnásobek při srovnání kultivace a PCR). Především druhová identifikace je významnou pomocí při řešení zdravotního stavu pacienta, jeho léčbě i nastavení hygienických opatření.

**RNDr. Maria Müllerová, CSc.**

CITYLAB s.r.o.  
Seydlerova 2451/8, 158 00 Praha 5

e-mail: maria.mullerova@citylab.cz

## **Tuberkulóza ve věznicích v České republice – Kauzistiky**

**Müllerová, M.**

*Oddělení bakteriologie, CITYLAB s.r.o.*

Onemocnění tuberkulózou (TB) provází lidstvo od nepaměti, optimistické prognózy ohledně eradikace TB se zatím nesplnily. Onemocnění TB v současné době málem spadlo do skupiny opomíjených nemocí, ale není tomu tak. Mezi deseti nejčastějšími příčinami úmrtí na světě je TB na prvním místě. Počet TB úmrtí předstihl HIV/AIDS a malárii. V Africe se TB říká „okřídlená ebola“. Téměř jedna třetina populace světa je infikována TB, což představuje obrovský rezervoár tuberkulózní infekce (2,5 mld. lidí). TB je stále v zájmu pozornosti World Health Organisation (WHO) a podléhá povinnému hlášení ohledně výskytu a představuje globální ohrožení. Probíhá většinou latentně, ale u 5-10 % dojde k manifestaci onemocnění. Zavedení biologické léčby vedle benefitů přináší i skryté nebezpečí prolomení imunity a manifestace aktivní TB z latentní. V České republice (ČR) je situace ohledně hlášení TB příznivá s incidencí pod 5/100 000 obyvatel: rok 2016 – TB celkem 515 (incidence 4,9), 2017 – 505 (4,8), 2018 – 444 (4,2). ČR je cestou migrace lidí ze zemí s vysokou incidencí TB, včetně MDR a XDR formy. Cizinci dnes v ČR již představují více než 33 % případů TB. Představují skrytou hrozbu, kdy může dojít ke změně incidence TB. Pro rychlé zvládnutí léčby TB a mykobakterióz je nutná rychlá diagnóza, prevence šíření nemoci, efektivní léčba a zabránění vzniku lékové rezistence. Metody musí být rychlé. To splňují molekulárně biologické metody. Z nich je na světě nejrychlejší GeneXpert MTB/RIF, kdy je výsledek znám za 1,5 hodiny a z 1 vzorku určeno M.tbcc i citlivost nebo rezistence na rifampicin. Metoda je používána ve všech kontinentech světa. The European Centre for Diseases Control (ECDC) determined 13 priority infectious diseases of which MDR-TB occupies first place. V naší laboratoři jsme vyšetřovali vzorky od pacientů vězňů ze 4 věznic (HS, R, P, O). Uvádíme kauzistiky těchto pacientů – vězňů. Ve věznicích jde speciálně o rychlost určení infekčního agens (TB), o izolaci vězně, zabránění šíření infekce a snížení rizika kontaktů. Toto splňuje metoda GeneXpert MTB/RIF s vysokou specificitou a citlivostí. Vězni jsou v uzavřených prostorách (společné ložnice, pracovní místnosti), stres, možnost prolomení latentní TB v aktivní. To vše podmiňuje rychlé šíření infekce. Pacienti na TB byli vyšetřováni z důvodů: váhový úbytek, teplota, kašel, rtg snímek, přímý kontakt s TB nemocným. Všichni vězni byli vyšetřováni: mikroskopicky, kulturačně, v BACTECu, metodou GeneXpert MTB/RIF, byl prováděn Quantiferon (QFN). Ve věznici HS nebyl žádný z vyšetřovaných pacientů pozitivní. Ve věznicích R a P byly zachycené pozitivní nálezy TB bez rošíření infekce (rychlá diagnóza, odvoz pacientů do věznice Brno). Ve věznici O byly v průběhu kontrolního vyšetření pacientů u osob, které byly v kontaktu s pozitivním pacientem zachyceny pozitivní výsledky těchto osob. Naštěstí žádný tento záchyt nebyl MDR-TB. Výskyt TB ve věznicích s sebou nese zvýšené ekonomické náklady. Při záchytu positivity pacienta a rozšíření

na další kontakty s onemocněným TB jsou vyšetřováni všichni zaměstnanci věznic, kteří s pozitivním vězněm přišli do kontaktu stejnými metodami jako vězni. Rychlost záchytu TB metodou GeneXpert MTB/RIF tyto náklady snižuje. V uzavřených prostorech se TB šíří jako „okřídlená ebola“ (aerosol). GeneXpert MTB/RIF: Nenahraditelný u statimových vyšetření (nejen vězni), u pacientů před začátkem biologické léčby, u pacientů s pozitivním výsledkem QFN testu k rozlišení aktivní nebo latentní TB, dialyzovaní pacienti. V současné době je vhodné provádět test GeneXpert MTB/RIF současně s QFN testem před transplantací solidních orgánů a kostní dřeně u příjemců. WHO doporučuje GeneXpert MTB/RIF systém jako standardní test v Evropské unii k určení M.tbc ve všech biologických vzorcích kromě krve.

RNDr. Jana Prodělalová, Ph.D.

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

e-mail: prodelalova@vri.cz

## Komplexní analýza humánních rotavirových infekcí v České republice

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

<sup>1</sup>Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno

<sup>2</sup>Mikrobiologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno

<sup>3</sup>Ústav mikrobiologie Fakultní nemocnice Olomouc a Lékařské fakulty Univerzity Palackého, Olomouc

Akutní průjmová onemocnění patří mezi nejčastější příčinu úmrtí u dětí do 5 let na celém světě a současně způsobují výrazné úhyny u mláďat hospodářských i zájmově chovaných zvířat. Kromě bakteriálních původců gastroenteritid jsou závažné průjmy způsobovány virovými agens, především rotaviry a dále také adenoviry, enteroviry či astroviry. Průměrná incidence rotavirových nákaz je v ČR 34,9/100 000 obyvatel. Reálně však lze předpokládat incidenci podstatně vyšší, protože ne všechny osoby postižené akutní gastroenteritidou vyhledají lékařskou pomoc, a hlášené případy vycházejí především z laboratorních výsledků.

Laboratorní diagnostika rotavirových gastroenteritid spočívá v přímém průkazu infekčního agens ve stolici. Rutinně se provádí průkaz rotavirového antigenu ve stolici imunochromatografickým testem nebo imunoenzymatickou reakcí (EIA). Stále častěji se používá i metoda kvantitativní reverzně transkripční polymerázové řetězové reakce (RT-qPCR). Bližší charakterizace rotavirových kmenů je založená na sekvenci genů pro dva povrchové antigeny (virové proteiny VP7 a VP4), které v organismu hostitele vyvolávají tvorbu neutralizačních protilátek. Sekvence VP7 a VP4 umožňuje zařazení rotavirů do G a P genotypů. Genotypizace rotavirů je prováděna především pro výzkumné účely, nicméně přináší velmi cenné informace o zastoupení jednotlivých typů RVA v populaci, o změnách poměru genotypů v závislosti na prováděné vakcinaci a následně o účinnosti používaných vakcín a také o možné introdukci zoonotických kmenů rotavirů.

Cílem projektu bylo zjistit druhy rotavirů vyskytujících se v ČR, tyto pozitivní vzorky podrobně charakterizovat pomocí sekvenace a na základě zjištěných údajů připravit metody pro detekci méně častých typů rotavirů.

Přítomnost rotaviru A (RVA) byla zjištěna v 214 z celkového počtu 1566 vzorků, tj. 13,7 %. Pozitivita v jednotlivých letech studie byla 38 z 305 (12,5 %) v r. 2016, 116 ze 798 (14,5 %) v r. 2017 a 60 ze 463 (13,0 %) v r. 2018. Procento positivity se pohybovalo u různých věkových skupin od 1 % do 33 %. Nejvíce pozitivních pacientů patřilo do věkové skupiny 0–5 let (171 ze 716 testovaných, tj. 23,9 %). Ve věkové skupině 0–1 rok bylo pozitivních 67 vzorků z 387 (17,3 %), ve skupině 2–3 roky 74 z 237 (31,2 %) a ve skupině 4–5 let 30 z 92



(32,6 %). Ve vyšších věkových skupinách bylo vyšetřeno 756 vzorků a jenom 23 bylo pozitivních (3,04 %). Nejnižší procento positivity bylo u pacientů ve věku 40–59 let (1 %). U 214 RVA pozitivních vzorků byla provedena genotypizace. Převládajícími genotypy byly G1P[8] (42.7%), G3P[8] (11.1%), G9P[8] (9.8%), G2P[4] (4.4%), G4P[8] (1.3%), G12P[8] (1.3%) a překvapivě G8P[8] (9.3%), který byl dosud detekován téměř výlučně v zemích jihovýchovní Asie či v Africe a vznikl přeskupením genomových segmentů mezi lidskými a bovinními RVA.

V průběhu projektu byla zjišťována pomocí RT-qPCR i přítomnost rotaviru B a C (RVB, RVC), což jsou další druhy rotavirů, které mohou způsobit akutní gastroenteritidu u lidí. Lidský RVB nebyl prokázán, přítomnost RVC byla potvrzena ve vzorcích odpadních vod odebraných na dvou městských čističkách v opakovaných odběrech v letech 2017 a 2018.

Získané výsledky ukazují, že výskyt rotavirových nákaz v ČR je i přes možnost očkování stále vysoký zvláště u malých dětí. Kromě genotypů RVA běžných v Evropě byly detekovány i některé neobvyklé kmeny, které pocházejí z rotavirů vyskytujících se u domácích zvířat.

*Práce vznikla s finanční podporou z projektu AZV 16-29937A.*

Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.

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

e-mail: Sabina.Purkrťova@vscht.cz

## Využití MALDI-TOF MS pro analýzu DNA – případ detekce mutací v genech topoisomeras u bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*

Purkrťová S., Plochá Š., Suková M., Junková P., Demnerová K.  
VŠCHT Praha

Hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF (hmotnostní spektrometrie s průletovým analyzátozem a ionizační laserovou desorcí v přítomnosti matrice) je vysoce výkonná analytická technika, jež byla primárně vyvinuta jako proteomický nástroj pro analýzu peptidů a proteinů. Postupem času se využití MALDI-TOF MS rozšířilo i do oblasti genomického výzkumu, cíleného na sekvenaci DNA, kdy separace a detekce DNA fragmentů pomocí MALDI-TOF MS byly zavedeny jako alternativní metoda k běžně používaným, avšak ne tak rychlým elektroforetickým metodám. Nejběžnější aplikací MALDI-TOF MS v oblasti genomického výzkumu je detekce přítomnosti SNP ve známých pozicích DNA. Spojení PCR amplifikace cílové oblasti následované extenzí primeru v přítomnosti dideoxynukleotidů a MALDI-TOF MS separace a detekce vzniklých jednořetězcových fragmentů DNA pak umožňuje rychlou, přesnou a cenově výhodnou analýzu. Dalším možným způsobem analýzy sekvencí DNA pomocí MALDI-TOF je využití specifického štěpení hybridu RNA-DNA, do kterého je sekvence DNA přepsána.

*Enterobacteriaceae* je čeleď gramnegativních bakterií, jejíž zástupci jsou častými původci řady závažných, život ohrožujících infekcí. Rezistence těchto bakterií k antibiotikům se proto stává velkým globálním problémem a vyvolává potřebu vývoje rychlých a spolehlivých detekčních metod. Chinolony patří mezi významná a široce užívaná antibiotika. Mechanismus jejich působení spočívá ve schopnosti vázat se na topoisomerasy typu II a IV, čímž inhibují replikaci DNA. Rezistence k chinolonům je proto často způsobena právě mutacemi v genech těchto topoisomeras, konkrétně mutacemi v tzv. QRDR oblasti určující chinolonovou rezistenci.

Cílem této práce bylo proto zavedení a optimalizace jednoduchého a rychlého protokolu pro MALDI-TOF MS detekci mutací, které nejčastěji způsobují rezistenci k chinolonům u čeledi *Enterobacteriaceae*, a to konkrétně mutací genu *gyrA* pro A podjednotku gyrasy (mutace v kodonu 83) a genu *parC* (mutace v kodonu 57), který kóduje podjednotku C topoisomerasy IV. Optimalizace protokolu byla provedena pro *Salmonella enterica* sérotyp Enteritidis CCM 7189, kdy byly navrženy vhodné primery, byl testován vliv metody izolace DNA a nutnost purifikace DNA fragmentů v jednotlivých krocích protokolu a zaveden postup pro analýzu získaných spekter. Optimalizovaný protokol byl úspěšně verifikován na dalších kmenech *Salmonella spp.* (senzitivních nebo rezistentních ke kyselině nalidixové), kde se získané výsledky shodovaly s výsledky Sangerova sekvenování pomocí automatického sekvenátoru. Kritickým parametrem pro využití optimalizovaného protokolu u dalších druhů čeledi *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*) byla míra komplementarity a degenerovanosti použitých primerů.

Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

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

e-mail: kamila.zdenkova@vscht.cz

## Parvalbumin jako genetický marker pro DNA identifikaci ryb

<sup>1</sup>Zdeňková K., <sup>1</sup>Čermáková E., <sup>1,2</sup>Jílková D., <sup>1</sup>Lencová S. a <sup>1</sup>Demnerová K.

<sup>1</sup>Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

<sup>2</sup>Výzkumný ústav potravinářský Praha, v. v. i

Diskutovaným tématem v oblasti analýzy potravin je jejich falšování, většina obyvatel se s falšovanými potravinami setkává, aniž by o tom věděla. Mezi nejčastěji falšované potraviny se mimo jiné řadí i ryby a rybí výrobky. Jeden z možných způsobů falšování je vědomá záměna dražších druhů za levnější. Jelikož je pro konzumenta v mnohých případech téměř nemožné jednotlivé druhy ryb identifikovat, vzniká zde pro výrobce velký prostor pro klamání spotřebitele a finanční zisk. Správné označování je důležité i z hlediska dopadu na zdraví; někteří lidé mohou, s ohledem na jejich alergii, konzumovat pouze určité ryby.

Nejčastější stanovení druhů ryb je založeno na morfologických rysech. Tento přístup nelze aplikovat u zpracovaného rybího masa a/nebo složitých jídel. S touto celosvětově rozšířenou problematikou souvisí potřeba vývoje nových metod pro identifikaci ryb a odhalení jejich falšování. Správné určení rybího druhu je důležité vzhledem k jejich vysoké alergenicitě i ze zdravotního hlediska. Za hlavní rybí alergen je považován parvalbumin. Gen kódující tento protein je možné využívat jako marker pro druhovou identifikaci ryb. V současné době je k těmto účelům nejčastěji využívána polymerasová řetězová reakce (PCR), objevují se ale i jiné metody identifikace jako např. LAMP (angl. Loop-mediated isothermal amplification). Cílem naší práce je navrhnout a experimentálně ověřit protokoly PCR a LAMP pro identifikaci makrelly obecné (*Scomber scombrus*) pomocí amplifikace úseku druhého intronu parvalbuminového genu. Byly vyvinuty rovněž PCR protokoly, analyzující parvalbumin, pro diferenciaci mořana tmavého (*Spondyliosa cantharus*), pangasa spodnookého (*Pangasianodon hypophthalmus*) a ďase mořského (*Lophius piscatorius*). DNA byla izolována metodou extrakce založenou na použití tenzidu cetyltrimethylamoniumbromid (CTAB), postup byl převzat a upraven dle normy ČSN EN ISO 21571 (2007). Specifita všech použitých protokolů byla experimentálně ověřována se vzorky DNA izolované ze svaloviny a dalších tkání více než 16 druhů ryb, analyzovány byly také vzorky rybích výrobků.

*Poděkování: Práce byla podpořena grantem MZe (NAZV) QK1910231: Nové přístupy k průkazu falšování rybího masa pomocí genomové DNA.*



# ABSTRAKTY POSTERŮ

## SEZNAM PŘIHLÁŠENÝCH POSTERŮ

1. **Babel M.**, Institute of Pathology, University Regensburg, Germany  
Are your Biobank samples future proof? A morphological comparison between two different storage conditions
2. **Barsch F.**, Institute of Pathology, University Regensburg, Germany  
Digital Image Analyses – an innovative method to quantify morphological changes
3. **Branyšová T. et al**, VŠCHT Praha  
Optimalizace přípravy 16S rRNA a ITS amplikonů pro metagenomickou analýzu mikrobiálních populací
4. **Čermáková E. et al**, VŠCHT Praha  
Autentizace máku setého (*Papaver somniferum L.*) s využitím DNA analýzy
5. **Gančarčíková M. et al**, Laboratoř lékařské genetiky s.r.o.  
Vzácná vrozená onemocnění v komplexní cytogenetické a molekulárně genetické analýze
6. **Hricová K. et al**, Univerzita Palackého, Olomouc  
Výskyt vankomycin-rezistentních enterokoků na hemato-onkologickém oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci a jejich genetická analýza
7. **Koželuhová K.**, Masarykova univerzita Brno  
Orální mikrobiom dětí po narození
8. **Kyralová B. et al**, KBBV, Univerzita Pardubice  
Identifikace plísní rodu *Fusarium*
9. **Majtnerová P. et al**, KBBV, Univerzita Pardubice  
Kometová metoda jako nástroj pro testování genotoxicity nanomateriálů
10. **Mezerová K. et al**, Univerzita Palackého, Olomouc  
Markery genotoxicity bakterií *Escherichia coli* a *Bacteroides fragilis* u pacientů s nově diagnostikovaným kolorektálním karcinomem (CRC)
11. **Morzelewski J.**, Institute of Pathology, University Regensburg, Germany  
Implementation of the new biobank-ISO norm for high quality biobank specimens
12. **Petira F. et al**, KBBV, Univerzita Pardubice  
Optimalizace polymerázové řetězové reakce pro detekci *Caulobacter vibrioides*
13. **Sittová M. et al**, GeneProof a.s., Brno  
The clinical validation of GeneProof Cytomegalovirus (CMV) PCR Kit
14. **Valin Lay et al**, KBBV, Univerzita Pardubice  
Extracellular proteases of pathogenic yeasts *Magnusiomyces capitatus* and *Magnusiomyces ingens*

**Maximilian Babel**

University Regensburg  
Institute of Pathology  
Franz-Josef-Strauss-Allee 11, 93053 Regensburg, Germany

e-mail: Maximilian.Babel@stud.uni-regensburg.de

## **Are your Biobank samples future proof? A morphological comparison between two different storage conditions**

Babel M.<sup>1</sup>, Seitz S.<sup>2</sup>, Niedermair T.<sup>1</sup>, Ortmann O.<sup>2</sup>, Brochhausen Ch.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Pathology, University Regensburg, Germany*

<sup>2</sup>*Departement of Gynecology and Obstetrics, St Joseph Hospital, University Clinic, Regensburg, Germany*

Background: Biobanking is a pillar for personalized medicine. However, there is no consensus, which storage temperature will preserve biobank samples in the best way. Furthermore, there are only few studies investigating the influence of the temperature on classical histomorphological and new, upcoming methods like RNA sequencing.

Study aim: The aim was to investigate the influence of the storage temperature on morphological and ultrastructural parameters in long-time stored breast cancer samples.

Material and Methods: We used breast-cancer samples, that were stored for at least 10 years (2007-2009). These samples originated from the same tumour but were divided into two parts. One part was stored at a Biobank that conserves samples at -80°C. The other part of the same tumour was stored at another Biobank, that stores samples in the gas-phase of liquid nitrogen at about -186°C.

Results: Histomorphologically, we found more compromised structures in the samples that were stored at -80°C. For example, there were more shrinking artefacts and abnormal stained nuclei. In electronmicroscopy we could confirm these findings. Additionally, we also found that cell-cell contacts and structures like desmosomes were better preserved in the samples stored in the gas-phase of liquid nitrogen.

Conclusions: The study indicated, that there are morphological differences as a consequence of the different storage conditions. The influence of these findings on clinical diagnostics and new methods like RNA-sequencing needs to be investigated in further studies.

**Friedrich Barsch**

University Regensburg  
Institute of Pathology  
Franz-Josef-Strauss-Allee 11, 93053 Regensburg, Germany

e-mail: [friedrich.barsch@web.de](mailto:friedrich.barsch@web.de)

**Digital Image Analyses – an innovative method to quantify morphological changes**

Barsch F., Niedermair T., Brochhausen Ch.  
*Institute of Pathology, University Regensburg, Germany*

Background: Tissue Fibrosis as a major pathophysiological reaction of injured organs still confronts us with major clinical and economic challenges. It promotes tissue deformation and restricts the affected organs in their proper functions. The pathological interrelations between morphological changes and tissue dysfunctions are from exhaustive scientific and clinical relevance. In this context, the technical and digital developments regarding histopathological fields provide new strategies to perform morphometric analyses on digital images of specimens.

Study aim: The histopathological evaluation of fibrosis is one of the topics, that could benefit of the digital evolution in pathology. Aim of the present study was to find out whether digital image analyses (DIA) could provide useful methods to quantify fibrotic tissue reactions. Furthermore, we wanted to clear-up whether digital evaluation methods could be useful to implement in daily work. Finally, we wanted to gain insights in morphometric information about fibrotic growth patterns regarding various issues.

Material and Methods: Based on whole slide imaging, we tested our workflow with different slide scanners and different staining methods. We measured the collagen proportionate area in digital images of slides from dermal and cardiac tissue. We performed the analysis procedures with the corresponding slide scanner software and the open source software ImageJ (version 1.52a, NIH, USA).

Results: With our performed DIA methods we found an easily applicable procedure to adequately detect even slight differences of fibrotic remodelling. By using open source software, the method generates comparable data and is applicable to different slide scanners and to different staining methods. Furthermore, the work flow made it possible to process many images at once, which was time saving, resources saving and thus, beneficial for daily work.

Conclusions: Virtual pathology and digital image analyses provide new strategies to capture fibrotic reactions in a more differentiated way. The digitalization of histopathological slides enables the possibility to quantify morphological changes regarding a variety of tissues. Future studies in the fields of fibrosis and organ remodelling could benefit from this development.



**Ing. Tereza Branyšová**

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze  
Ústav biochemie a mikrobiologie  
Technická 1903/3, 166 28 Praha 6 - Dejvice

e-mail: branysot@vscht.cz

## **Optimalizace přípravy 16S rRNA a ITS amplikonů pro metagenomickou analýzu mikrobiálních populací**

Branyšová T., Teplá B., Kračmarová M., Demnerová K., Stiborová H.  
*Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha*

Památky kulturního dědictví běžně podléhají biodeterioraci. Jedná se o nežádoucí změny materiálu, které mohou být způsobeny činností mikroorganismů. Materiály tak mohou podléhat různým změnám, jako jsou barevná stálost, změna struktury nebo mohou zcela degradovat. Z těchto důvodů je důležité zabránit mikrobiální kontaminaci a zachovat tak památky kulturního dědictví i pro další generace. Cílem práce je identifikovat mikroorganismy, které se vyskytují na fotografiích, filmech i v ovzduší archivních depozitářů, pozorovat vliv a účinnost dezinfekce a navrhnout metody prevence.

Pro naše účely optimalizace byl vybrán Státní okresní archiv Mladá Boleslav. Zde bylo odebráno 3000 l ovzduší pomocí aeroskopu MAS-100, a to v 6 opakováních. Pro vzorkování pomocí stěrů byly využity polyuretanové stěrovky, které jsou ke zkoumaným materiálům šetrné. Provedeno bylo 18 stěrů z fotografií a filmů s rozdílnými typy světločivé vrstvy, a to albuminu, želatiny nebo matného či lesklého kolodia. Vzorky byly poté extrahovány do fyziologického roztoku a metagenomová DNA byla izolována komerční soupravou (Quiagen PowerWater Kit). Následně byla připravena DNA knihovna pro 16S rRNA gen a ITS region pomocí dvoustupňové PCR a specifických primerů. Vzhledem k velmi nízkým výtěžkům DNA z těchto materiálů bylo nutné optimalizovat přípravu amplikonů v první PCR reakci, kdy produkty byly zakoncentrovány z 8 PCR reakcí. Následovalo druhé PCR za použití adaptérů s vnitřními tagy, které slouží ke specifickému označení každého vzorku. Vzorky byly poté přečištěny pomocí SPRI magnetických částic a odeslány na sekvenaci pomocí Illumina Miseq. Získané výsledky budou statisticky vyhodnoceny a bude zjištěn vliv kontaminace ovzduší archivních depozitářů a typ světločivé vrstvy fotografických materiálů na složení mikrobiálních populací.

*Tato práce vznikla za finanční podpory Ministerstva kultury České republiky grant č. DG-18P02OW062.*

Ing. Eliška Čermáková

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

e-mail: fialovae@vscht.cz

## **Autentizace máku setého (*Papaver somniferum L.*) s využitím DNA analýzy**

Čermáková E., Zdeňková K., Demnerová K.  
VŠCHT Praha

Mák setý (*Papaver somniferum L.*) je důležitá olejovina používaná v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. V české republice má kultivace máku setého dlouhou tradici. Semena českého máku mají dobré nutriční a senzorycké vlastnosti a nízký obsah opiátů. Díky tomu jsou důležitou složkou v potravinách nejen v České republice, ale i v mnoho dalších státech střední a východní Evropy. Využívají se pro přípravu pečiva, jako jsou koláče či buchty. V poslední době bylo u makových semen zaznamenáno několik případů falšování. Semena potravinářských odrůd máku byla smíchána s levnějšími semeny z farmaceutických odrůd máku, které obsahují vyšší množství alkaloidů a mají horší senzorycké vlastnosti. V této práci jsme testovali možnost odlišení máku setého a jeho variet pomocí DNA analýzy genů důležitých pro biosyntetickou dráhu opiových alkaloidů, jako jsou kodeinon reduktasa (COR) či retikulín epimerasa (REPI). Pro DNA analýzu byla využita polymerasová řetězová reakce (PCR). Vybrané sekvence COR genu umožňují odlišit mák setý od ostatních testovaných máků a rostlin. REPI gen se jeví jako vhodný pro odlišení variet máku setého s nízkým a vysokým obsahem opiových alkaloidů.

*Poděkování: Práce byla podpořena granty MZe (NAZV) QK1720263: „PAPAVER - Diagnostické metody pro laboratorní kontrolu pravosti máku setého“.*

**Mgr. Markéta Gančarčíková**

Laboratoře lékařské genetiky s.r.o.  
Masarykovo nám. 2667, 530 02 Pardubice

e-mail: gancarcikova@genetikapardubice.cz

## **Vzácná vrozená onemocnění v komplexní cytogenetické a molekulárně genetické analýze**

Gančarčíková M.<sup>1</sup>, Štuller V.<sup>1</sup>, Světlíková I.<sup>1</sup>, Tomčová P.<sup>1,2</sup>, Šenkeříková M.<sup>1</sup>, Štávová A.<sup>1</sup>, Panchártek D.<sup>1</sup>, Krulišova V.<sup>2</sup>, Michalovská R.<sup>2</sup>, Vlčková Z.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoře lékařské genetiky s.r.o., Pardubice

<sup>2</sup>GHC Genetics, s.r.o., Praha

Úvod: Vzácná hereditární onemocnění jsou klinicky heterogenní, převážně multisystémová onemocnění s nízkou prevalencí a se závažným dopadem na kvalitu života pacienta. Vzácnost je definována s prahem prevalence nejvýše 5 postižených osob na 10.000 (nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1411/2000). Je odhadováno, že přibližně 80 % vzácných chorob je geneticky podmíněna, přesto u některých pacientů zůstává příčina onemocnění neznámá. Vhodnou kombinací vyšetřovacích metod je možné objasnit příčinu abnormálního fenotypu či poruchy chování jedince s cílem poskytnout vhodnou následnou péči postiženému, tak i dalším členům rodiny.

Metodika: V případě první kazuistiky u holčičky narozené v roce 2017, které v novorozeneckém screeningu byla zjištěna kongenitální hypotyreóza (nyní na substituci). Dále ve 3 měsících byla hospitalizovaná pro neprospívání a byla zjištěna laryngomalacie. Neurologický vývoj děvčátka je hodnocen jako mírně opožděný disharmonický vývoj (lehká CKP). Klinickým genetikem byl popsán dysmorfický obličej. U holčičky bylo provedeno vyšetření metodou array CGH (SurePrint G3 CGH ISCA 8x60K, Agilent). Konfirmace nálezu byla provedena pomocí metody MLPA (MRC-Holland) s pomocí probemixu P245 Microdeletion Syndromes.

V případě druhé kazuistiky u chlapce narozeného v roce 2007, který byl od kojeneckého věku sledován pro neprospívání, mikrocefalii, zvýšenou nemocnost, malý vzrůst a opakovaný výskyt kožních lézí v oblasti obličeje v letních měsících, byla klinicko-genetickým vyšetřením zjištěna dolichocefalie, úzký obličej, prominující nos a uši, přítomnost hypo a hyperpigmentací po těle. Rodina probanda byla ze strany matky vyšetřena z důvodů výskytu nádorových onemocnění. Vzhledem k prokázané patogenní mutaci v heterozygotním stavu v genu BLM metodou MPS pomocí panelu SeqCap EZ Custom design (Roche) u matky, bylo u chlapce provedeno prediktivní testování a zároveň vyšetření celé kódující sekvence genu BLM. Dále byla provedena detekce sesterských chromatidových výměn (SCE) periferních lymfocytů technikou FPG (Fluorescence Plus Giemsa). Lymfocyty byly kultivovány v přítomnosti BrdU (5-Bromo-2'-deoxyuridin) s následnou expozicí UV záření spolu s užitím fluorescenčního barviva Hoechst 33258 (bis-Benzimid). Vyšetření spontánních chromozomových aberací bylo provedeno standardními cytogenetickými postupy.

Závěr: V obou případech byla stanovena diagnóza. U dvouleté holčičky byl prokázán mikroduplikační syndrom 22q11.21 o velikosti 3,1 Mb. U dvanáctiletého chlapce byla stanovena velmi vzácná diagnóza Bloomova syndromu.

Individuálním přístupem a kombinací technik laboratorního vyšetření je možné získat komplexní výsledek pro pacienta a může být pacientovi i jeho rodině poskytnuta adekvátní péče s cílem zvýšení kvality života, vypracování léčebné strategie a doporučení preventivní péče.

**Mgr. Kristýna Hricová**

Univerzita Palackého v Olomouci, Lékařská fakulta  
Ústav mikrobiologie  
Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc

e-mail: hricova.k@email.cz

## **Výskyt vankomycin-rezistentních enterokoků na Hemato-onkologické klinice Fakultní nemocnice v Olomouci a jejich genetická analýza**

Hricová K., Štosová T.

*Univerzita Palackého v Olomouci, Lékařská fakulta, Ústav mikrobiologie*

Enterokoky jsou primárně důležitými zástupci mikrobiomu gastrointestinálního traktu (GIT) lidí i většiny teplokrevných zvířat. Mohou způsobovat infekce močových cest či měkkých tkání, endokarditidy, sepse či meningitidy. Pro léčbu enterokokových infekcí u lidí se používají ampiciliny a aminoglykosidy. V případě rezistence na tyto antimikrobiální látky jsou další volbou vankomycin a teikoplanin. Některé bakteriální kmeny ovšem začaly vykazovat rezistenci i k vankomycinu.

U pacientů na Hemato-onkologické klinice Fakultní nemocnice v Olomouci je již několik let prováděn aktivní bakteriologický screening pro vyhledávání vankomycin-rezistentních enterokoků (VRE) v jejich gastrointestinálním traktu. K jejich detekci jsou využívány chromogenní selektivní půdy Brilliance VRE agar (Oxoid). Druhá identifikace izolátů je prováděna za použití MALDI-TOF MS (Biotyper Microflex, Bruker Daltonics) a citlivost k antibiotikům je testována diluční mikrometodou dle doporučení EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Antimicrobial susceptibility testing, available from: <http://www.eucast.org>).

Pomocí metod molekulární biologie je prováděna i genetická analýza takto získaných izolátů. Genetická podmíněnost rezistence k vankomycinu je prokazována polymerázovou řetězovou reakcí (PCR) detekováním van genů (vanA, vanB, vanC-1, vanC2/C3). Faktory virulence, kterými mohou některé kmeny disponovat a jejichž produkce může významně napomáhat vzniku infekcí, ať už v adhezi enterokoků či následné kolonizaci těmito potenciálními patogeny, jsou detekovány za použití metody multiplex PCR. Pomocí ní je zjišťována přítomnost genů kódujících vybrané faktory virulence: želatinázu (gelE), agregační substanci (asa1), hyaluronidázu (hyl), cytolyzin (cylA) a enterokokový povrchový protein (esp). U vybraných vankomycin-rezistentních kmenů je prováděna také molekulární typizace metodou pulzní gelové elektroforézy (PFGE). Výsledkem je zjištění míry příbuznosti jednotlivých izolátů a následné epidemiologické posouzení jejich šíření.

VRE jsou významnými nozokomiálními patogeny, a to i z hlediska schopnosti enterokoků dlouhou dobu přežívat na různých površích, ať už na rámech postelí, na toaletách, na klikách apod.. Dlouhodobá hospitalizace, selekční tlak antibiotik v kombinaci s chemoterapeutickou léčbou či oslabená imunita onkologického pacienta může, v kombinaci se zvýšenou schopností enterokoků přežívat ve vnějším prostředí, vést až k možnosti gastrointestinální kolonizace. Tyto rezistentní bakterie pak mohou být komplikujícím faktorem

možných následných infekcí, zejména disponují-li i některým z faktorů virulence. Je proto vhodné u pacientů s hemato-onkologickým onemocněním provádět screening k získání informací o prevalenci těchto rezistentních kmenů.

*Podpořeno projektem AZV ČR č. NV18-05-00340.*

**Bc. Kristýna Koželuhová**

Masarykova univerzita  
Kamenice 753/5, pavilon A29, 625 00 Brno  
e-mail: 451829@mail.muni.cz

**Orální mikrobiom dětí po narození**

Koželuhová K.

*Masarykova univerzita Brno*

Ústa jsou hlavním vstupem do lidského těla. Dochází zde ke smísení rozmělněné potravy se slinami, která následně pokračuje dále do zažívacího traktu. Dutina ústní je také po střevě druhým mikroorganismy nejvíce osídleným místem lidského těla. Ačkoliv se metagenomické studie věnovaly převážně střevnímu mikrobiomu, postupně se více zkoumá i mikrobiom orální a jeho případný vliv na rozvoj některých onemocnění.

Složení orálního mikrobiomu novorozenců je ovlivněno zejména způsobem porodu. Podobně má taky významný vliv způsob výživy, tedy zda je dítě krmeno mateřským mlékem, nebo umělou výživou. Poporodní kolonizace dítěte je ovlivněna v neposlední řadě také matkou, která je významným zdrojem bakteriálního osídlení. Během života je orální mikrobiom dále ovlivňován celou řadou faktorů, jako je např. geografie, etnická příslušnost, genetika, strava, hygiena, ortodontická léčba, užívání antibiotik či probiotik a v neposlední řadě konzumace alkoholu a kouření.

Pokud je narušena homeostáza a nastane dysbióza v orálním mikrobiomu, tak může dojít k rozvoji řady onemocnění. Nejznámější a nejčastější nemoci dutiny ústní jsou zubní kaz a periodontitida. Kromě toho se ale může narušený orální mikrobiom podílet též na rozvoji onemocnění systémových, jako jsou kardiovaskulární onemocnění, Diabetes mellitus, rakovina či pneumonie.

V subkohortě studie CELSPAC: TNG byl porovnáván orální mikrobiom 49 párů matek a dětí v prvních dnech po porodu.

*Podpořeno grantem GAČR 17-24592Y.*

**Ing. Blanka Kyrálová**

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

e-mail: blanka.kyrálova@student.upce.cz

## **Identifikace plísni rodu *Fusarium***

**Kyrálová B., Brožková I.**

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

Plísně rodu *Fusarium* (*F.*) jsou všudypřítomné mikroskopické houby se schopností růstu na široké škále substrátů. Způsobují onemocnění zvané fuzarióza klasů (*Fusarium* head blight), které postihuje běžně pěstované polní plodiny, jako je pšenice, ječmen, rýže, oves, triticale a kukuřice. Zejména pěstování pšenice a ječmene je vlivem tohoto onemocnění zatíženo značnými ekonomickými ztrátami. V evropských zemích je nejčastěji zapříčiněno druhy *F. graminearum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, a také *F. poae*, *F. tricinctum*, *F. equiseti* a *F. langsethiae*. Většina z nich je mimo jiné schopna produkce mykotoxinů, které po kontaminaci obilovin vstupují do potravinového řetězce.

Cílem práce bylo optimalizovat multiplexní metodu polymerázové řetězové reakce (PCR) pro specifickou detekci plísni rodu *Fusarium* spolu s průkazem Tri5 genu, klíčového pro produkci trichothecenových mykotoxinů. Práce byla dále věnována druhové identifikaci plísni rodu *Fusarium* a to jednak pomocí mikroskopických znaků, tak i pomocí PCR za použití druhově-specifických primerů. Byla provedena optimalizace podmínek pro detekci *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. langsethiae* a *F. tricinctum* species komplex. Mikroskopické a makroskopické znaky byly sledovány na bramboro-glukózovém agaru (PDA), speciálně-nutričně chudém agaru (SNA) a karafiátovém agaru (CLA). Metody byly ověřeny na kulturách plísni pocházejících ze sbírek mikroorganismů České republiky a dále na vlastních kmenech, izolovaných ze vzorků ječmene.

*Poděkování: Tato práce vznikla za podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy jako účelová podpora na specifický vysokoškolský výzkum (SGFChT 006/2019).*



**Mgr. Pavlína Majtnerová**

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

e-mail: pavlina.majtnerova@upce.cz

## **Kometová metoda jako nástroj pro testování genotoxicity nanomateriálů**

Majtnerová P.<sup>1</sup>, Báčová J.<sup>1</sup>, Macák J.<sup>2</sup>, Roušar T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Katedra biologických a biochemických věd, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Studentská 573, 532 10 Pardubice, Česká republika.*

<sup>2</sup>*Centrum materiálů a nanotechnologií CEMNAT, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Nám. Čs. Legií 565, 530 02 Pardubice, Česká republika.*

Kometová metoda patří mezi molekulárně-biologické metody a využívá se především k testování potencionální genotoxicity biologických nebo chemických agens, včetně nanomateriálů. Vlivem těchto faktorů může docházet k poškození DNA a vzniku tzv. DNA zlomů, které jsme schopni pomocí Kometové metody detekovat.

Detekce probíhá na úrovni jednotlivých buněk, kdy jsou buňky nejprve fixovány na mikroskopické podložním skle v agarózovém gelu a následně lyzovány. DNA je poté vystavena vysokému pH, aby došlo k rozvolnění nadšroubovicového vinutí a je elektroforeticky rozdělena, kdy využíváme její přirozeně záporný náboj. Rychlost migrace DNA je pak závislá na počtu vzniklých DNA zlomů. Výsledkem elektroforetického dělení jednotlivých jader buněk s poškozenou DNA je charakteristický tvar připomínající kometu.

V rámci naší studie jsme otestovali pomocí Kometové metody působení modelových nanomateriálů různého tvaru i původu na lidské plicní buněčné linii A549 pocházející z alveolárního adenokarcinomu. Nanomateriály jsou často využívány jako tkáňové nosiče pro buněčný růst, poskytují vhodné prostředí pro dělení a proliferaci buněk, tudíž se předpokládá jejich nulová, nebo zanedbatelná cytotoxicita.

Otestovali jsme komerčně dostupné nanočástice TiO<sub>2</sub> P25 (Sigma-Aldrich), či de novo připravená nanovlákna TiO<sub>2</sub> a SiO<sub>2</sub>. Jako pozitivní kontrola byl využit terciální butylhydroperoxid, který způsobuje oxidační poškození buněk. K barvení jader jsme použili fluorescenční barvu Hoechst 33258, která patří do skupiny interkalačních barviv.

*Tato práce byla podpořena projektem OP VVV "Posilování mezioborové spolupráce ve výzkumu nanomateriálů a při studiu jejich účinku na živé organismy", reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/17\_048/0007421.*

Mgr. Kristýna Mezerová

Univerzita Palackého v Olomouci, Lékařská fakulta  
Ústav mikrobiologie  
Hněvotínská 3, 775 15 Olomouc

te-mail: mezerovak12@gmail.com

## Markery genotoxicity bakterií *Escherichia coli* a *Bacteroides fragilis* u pacientů s nově diagnostikovaným kolorektálním karcinomem (CRC)

Mezerová K.<sup>1</sup>, Raclavský V.<sup>1</sup>, Starý L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Univerzita Palackého v Olomouci, Lékařská fakulta, Ústav mikrobiologie

<sup>2</sup>1. chirurgická klinika FN Olomouc

Střevní mikrobiota prokazatelně patří mezi heterogenní faktory, které se uplatňují při etiopatogenezi sporadického CRC. Existuje také mnoho výzkumů popisujících pozitivní asociaci bakteriálních genotoxinů s vývojem tohoto onemocnění. Stanovení rizikových bakteriálních druhů a genových markerů sporadického CRC patřilo mezi primární cíle naší studie.

Vzorky byly odebírány metodou výtěru z rektu. V rámci probíhající studie byla oslovena také kontrolní skupina pacientů pro porovnání střevního kulturomu. Odebrané vzorky byly podrobeny bakteriologické kultivaci, poté byla provedena subkultivace každé morfologicky odlišné kolonie a následně byly izoláty identifikovány pomocí MALDI TOF hmotnostní spektrometrií (MS). Všechny izoláty *E. coli* byly testovány na přítomnost genu kódujícího toxin kolibaktin, u kterého byl popsán proonkogenní vliv. U všech testovaných izolátů *E. coli* byla sledována také hemolytická aktivita. Zároveň byla otestována schopnost dekarboxylace ornithinu na putrescin, který je spojován s mikrobiálním kažením masa a může být považován za další faktor virulence. Soubor kolibaktin-pozitivních izolátů byl otestován na příslušnost k vysoce virulentní fyloskupině B2. Dále byly otestovány izoláty druhu *B. fragilis* metodou PCR na přítomnost genů kódujících tři typy enterotoxinů. Enterotoxické kmeny *B. fragilis* produkují toxin ze skupiny metaloproteáz, který narušuje spojení střevních epitelálních buněk štěpením transmembránového proteinu E-cadherinu, což vede k jejich zvýšené proliferaci a může tak přispívat ke vzniku sporadického CRC.

Byla provedena genetická analýza z celkového počtu 400 izolátů druhu *E. coli*. U 117 izolátů byl detekován genomický ostrov pks kódující toxin kolibaktin. Při charakterizaci vybraného souboru pks-pozitivních bakterií byl u 63 detekován gen pro cytotoxický nekrotizující faktor (cnf1) a u 10 gen pro cytoletální faktor (cdt). Na základě provedené biotypizace bylo 115 z testovaných 117 izolátů kategorizováno do fylogenetické skupiny B2, která se vyznačuje vysokou mírou virulence. Schopnost produkce enzymu ornithindekarboxylasa byla prokázána u 241 bakterií druhu *E. coli* z celkových 400 izolátů. Zároveň byl tento enzym detekován u 101 kmenů ze 117 bakterií pozitivních na gen kódující kolibaktin. Ze striktně anaerobních 37 izolátů *B. fragilis* byla u 5 zjištěna přítomnost genu kódujícího „bacteroides fragilis toxin“ typu 1. Tento typ je dle řady publikací nejčastěji spojován s CRC. V naší studii pocházely 4 pozitivní izoláty od pacientů s CRC. Nicméně pro statistické vyhodnocení se jedná o malý soubor izolátů.

Přestože kolibaktin produkující *E. coli* jsou dle řady publikací pozitivně asociovány s intestinální progresí tumorů, v naší studii nebyla potvrzena tato souvislost. Otestovaný soubor izolátů disponujících genem kódující tento toxin byl rovnoměrně zastoupen u jedinců s CRC a u kontrolní skupiny pacientů. Pro vyvození závěru z výsledků enterotoxických kmenů *B. fragilis* stále pracujeme na rozšíření souboru izolátů.

Oproti metagenomickým studiím je metoda kultivace a následná identifikace pomocí MALDI TOF MS finančně dostupná, zároveň vhodná pro standardizaci a tedy použitelná pro populační screening. Pokud by screening provedený naší metodou zachytil rizikové biomarkery CRC, bylo by pacientovi indikováno další vyšetření a pravděpodobnost včasného záchytu CRC by se tak zvýšila.

**Julia Morzelewski**

University Regensburg  
Institute of Pathology  
Franz-Josef-Strauss-Allee 11, 93053 Regensburg, Germany

e-mail: j\_morzelewski@web.de

## **Implementation of the new biobank-ISO norm for high quality biobank specimens**

**Morzelewski J., Feustel M., Niedermair T., Brochhausen Ch.**

*Institute of Pathology, University Regensburg, Regensburg, Germany*

**Background:** The implementation of the new ISO norm on biobanking from 2019 is an important and inevitable process for making biobanking specimens valid and reliable. The Central Biobank Regensburg met this challenge and begun to integrate the new requirements into the workflow.

**Study aim:** The aim is to compare existent standard operating procedures (SOP) with the new ISO norm for biobanking and to classify necessary changes for the best preservation of the biological quality of a biobank specimen.

**Material and Methods:** We revised already existing SOPs (= Standard Operating Procedures) on the basis of the norm and modified these according to new requirements. We subsequently investigated if it is possible to apply the needed adaptations during ongoing operation of the biobank.

**Results:** We identified important issues in the ISO, which should be implemented in the local SOP's. These are mainly related to monitoring of the quality management, internal and external audits, the management of non-conforming results and procedures. In addition, the management of chances and pitfalls of the biobank should be implemented in the organization of the Central Biobank Regensburg. Furthermore, we implemented a backup plan for the case of emergency and continuously worked on improving recorded data for important factors influencing the samples. We were able to show that it is possible to implement the new ISO norm during ongoing biobank operation. It turned out that it will take some time to actually put all innovations into practice. Particularly modifications in the process of acquisition, processing and distribution of samples need to be implemented in accordance with cooperating hospitals and partners.

**Conclusions:** The implementation of the ISO norm in local SOP'S will be critical for the best quality of biobank specimens bey recording and monitoring critical issues for DNA and RNA quality.

Mgr. Filip Petira

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

e-mail: st38518@student.upce.cz

## Optimalizace polymerázové řetězové reakce pro detekci *Caulobacter vibrioides*

Petira F., Majtnerová P., Brožková I., Roušar T.

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

*Caulobacter vibrioides* je Gram-negativní aerobní tyčinkovitá bakterie vyskytující se ve stojatých sladkých vodách. Hlavní živinou podporující růst bakterie *Caulobacter vibrioides* ve vodním prostředí je dostatečný obsah fosforu. Tato bakterie je modelovým organismem pro studium regulace buněčného cyklu, asymetrického dělení a buněčné diferenciaci. Při buněčném dělení se bakterie dělí vždy asymetricky a produktem jsou dceřiné buňky lišící se jak svou strukturou, tak i funkcí.

Metoda detekce bakterie *Caulobacter vibrioides* pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) byla vytvořena pro screening potenciální kontaminace vzorků vody, laboratorních povrchů a růstových médií pro savčí buněčné kultury. Byly navrženy čtyři dvojice primerů se specifitou pro bakterii *Caulobacter vibrioides*, konkrétně pro její gen *podJ*, který poskytuje informace pro lokalizaci polárních organel. Testování probíhalo se vzorky obsahujícími DNA sbírkového kmene CCM3597 *Caulobacter vibrioides* a s dalšími vzorky (tj. DNA savčích buněk, směs DNA savčích buněk a bakterií *Caulobacter vibrioides*, DNA kvasinky *Candida albicans* SC 5314) pro potvrzení specifity vazby primerů na cílový gen bakterie *Caulobacter vibrioides* a pro odhalení potenciální kontaminace savčí kultury. Provedeno bylo také testování komerčně dodávaného PCR mixu a PCR mixu míchaného z jednotlivých komponent.

*Výzkumná práce byla financována z prostředků projektu FCHT Univerzity Pardubice SG-FCHT07/2020.*

**Mgr. Martina Sittová, Ph.D.**

GeneProof a.s.

Vídeňská 101/119, 619 00 Brno

e-mail: [martina.sittova@geneproof.com](mailto:martina.sittova@geneproof.com)

## **The clinical validation of GeneProof Cytomegalovirus (CMV) PCR Kit**

**Sittová M., Janda P., Jansová E.**

*GeneProof a.s.*

The CDC estimates that CMV infects between 50%-80% of people in the United States by age 40. Some estimates have predicted >90% prevalence among adults in the developing world. Cytomegalovirus is the leading cause of congenital infections worldwide. Twenty percent of those born with CMV infection will develop permanent complications including developmental disabilities and neurocognitive deficits. There is a 5% mortality rate among symptomatic newborns. With an establishment of WHO genomic standard for CMV in 2011, PCR methods became the gold standard of CMV diagnostics in many laboratories worldwide.

The aim of the study was to set clinical performance characteristics of the GeneProof Cytomegalovirus (CMV) PCR Kit intended for diagnosis of CMV infection from clinical samples. The clinical validation included 90 whole blood samples.

The CMV positivity status of clinical samples was characterized by CMV R-GENE® (BioMérieux) within routine diagnostics by the Centre of Molecular Biology and Gene Therapy, University Hospital Brno. Retrospectively, DNA from the anonymized blood samples was purified by the automatic extractor croBEE NA16 Nucleic Acid Extraction System (GeneProof) and analyzed by GeneProof Cytomegalovirus (CMV) PCR Kit.

The statistical evaluation of GeneProof Cytomegalovirus (CMV) PCR Kit demonstrated 92.86% diagnostic sensitivity and 90.67% diagnostic specificity compared to samples tested by diagnostic kit CMV R-GENE® (BioMérieux). Seven samples were determined as positive by GeneProof Cytomegalovirus (CMV) PCR Kit and negative by CMV R-GENE®. However, these results are probably caused by a higher sensitivity of GeneProof Cytomegalovirus (CMV) PCR kit.

The results of the clinical performance study demonstrate premium sensitivity and excellent diagnostic parameters of the GeneProof assay. The GeneProof Cytomegalovirus (CMV) PCR Kit has proved to be a convenient diagnostic tool for CMV testing in routine laboratory service.

**Valin Lay**

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

e-mail: valin.lay@student.upce.cz

## **Extracellular proteases of pathogenic yeasts *Magnusiomyces capitatus* and *Magnusiomyces ingens***

Valin Lay<sup>1</sup>, Ellena Rogoulenko<sup>2</sup>, Gil Shoham<sup>2</sup>, Jozef Nosek<sup>3</sup>  
and Olga Heidingsfeld<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Department of Biological and Biochemical Sciences, Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice, 532 10 Pardubice, Czech Republic

<sup>2</sup>Institute of Chemistry, The Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem 91904, Israel

<sup>3</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University in Bratislava, Bratislava, Slovak Republic.

<sup>4</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University, 128 00, Prague 2, Czech Republic

<sup>5</sup>Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Czech Academy of Sciences, 166 10, Prague 6, Czech Republic

*Magnusiomyces capitatus* and *Magnusiomyces ingens* are human pathogenic yeasts that can cause opportunistic infections in immunocompromised patients. While these infections are not so frequent, the mortality related to them is quite high. The genomes of *M. capitatus* and *M. ingens* have recently been sequenced, and according to analysis of the genome sequences of both species has revealed that the both species do contain gene families potentially encoding secreted aspartic proteases. This type of enzymes appears e.g. in pathogenic *Candida* species, which have been characterized more extensively than *Magnusiomyces*, and significantly contribute to virulence. We cultivated *M. capitatus* and *M. ingens* under a series of conditions inspired by *Candida* protocols and analysed culture supernatants, in order to examine whether these yeast species actually produce extracellular proteolytic enzymes. We found the conditions under which the both *Magnusiomyces* species hydrolysed and utilised bovine serum albumin added to the cultivation medium. Moreover, we also confirmed that protease(s) present in culture supernatants cleaved hemoglobin. Prediction of three-dimensional structures of potential *Magnusiomyces* secreted proteases revealed, that some of the isoenzymes may display unusual architecture, which might be unique within the family of aspartic proteases. In order to confirm this assumption, we selected potential protease of *M. ingens* encoded by the gene MIA\_05579\_1 and expressed it in *Escherichia coli*. In ongoing work we aim at further characterisation and preparation of sufficient amounts of this protein, which would enable its crystallization and structural analysis.





# FIREMNÍ INZERCE



# Plně automatické řešení molekulární diagnostiky

SAMPLE-TO-RESULT SOLUTION

 SAMPLE →  RESULT



Unikátní řešení pro malé a středně velké laboratoře  
Vyvinuto společností GeneProof<sup>®</sup> a.s.  
Vyrobeno v České republice  
CE IVD certifikovaný diagnostický systém

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

**GeneProof a.s.**

Vídeňská 101/119 / Dolní Heršpice / 619 00 Brno / Česká republika  
+420 543 211 679 / [info@geneproof.com](mailto:info@geneproof.com)

# NeuMoDx 96

Skutečně plná automatizace real-time PCR testování

Výkon  
až 144 vzorků  
za 8 hodin

Kontinuální  
vkládání  
i statimové  
zpracování

Možnost  
zisku izolátu,  
délka izolace  
10 min

Čas do prvního  
výsledku  
DNA cca 60 min  
RNA cca 80 min



Reagencie  
mohou zůstat  
v přístroji až  
10 dní

Suchá chemie  
- uchování  
reagenci při  
pokojové teplotě  
více než rok

Generuje  
minimální  
množství  
odpadu

Otevřený  
systém - možnost  
vlastních esejí



DYNEX - jediný autorizovaný distributor produktů QIAGEN pro ČR a SR

ČR: DYNEX TECHNOLOGIES, spol. s r.o.  
tel.: +420 220 303 600, e-mail: office@dynex.cz

SR: DYNEX Servis, spol. s r.o.  
tel.: +421 484 155 045, e-mail: dynex@isternet.sk

www.dynex.cz



# \* FON SOPENLIMS

## ŘÍZENÁ DOKUMENTACE

Laboratorní informační systém FONS Openlims (dále FOL) byl doplněn o modul „Řízení dokumentace“. Modul byl navržen jako samostatná webová aplikace, která je plně integrovaná do prostředí FOL. Umožňuje správu a vedení veškeré řízené dokumentace laboratoře podle normy ISO 15189.



## WEBOVÁ I MOBILNÍ APLIKACE V JEDNOM

Při vývoji nového modulu FOL byly použity nejnovější technologické postupy a technologie. Aplikace byla vytvářena za pomoci webových technologií a již od počátku byla koncipována jako responzivní. Responzivní aplikace jsou tvořeny tak, aby byly použitelné na široké paletě zařízení zároveň. Uživatel může do aplikace přistoupit z počítače, tabletu a dokonce i mobilního telefonu. Navíc díky tomu, že uživatel pracuje s jednou aplikací, má vždy k dispozici veškerou funkcionalitu, kterou k práci potřebuje, a aplikace se chová a ovládá stále stejně.

Pro vývojový tým to znamená, že pracuje pouze na jediné aplikaci namísto udržování tří různých aplikací (modul ve FOL, webová aplikace, mobilní aplikace), jejichž činnost a funkce by byly shodné a překrývaly se. Vývojáři tak mají více prostoru soustředit se na vlastní vývoj, kvalitu zpracování a samozřejmě také na přidávání nových funkcí, které je tak nepoměrně rychlejší.

Modul řízené dokumentace je samostatnou aplikací, která byla od prvopočátku navržena pro centrální použití a správu řízené dokumentace pro laboratoře s více datovými centry. Není tak problém spravovat řízenou dokumentaci několika laboratoří s několika datovými centry z jednoho místa.

## MOCNÝ NÁSTROJ SE SNADNÝM OVLÁDÁNÍM

Cílem bylo vytvoření nástroje, který umožní pracovníkům laboratoře snadné a pohodlné vedení řízené dokumentace. Precizně zpracovaná koncepce nástroje umožňuje spravovat veškeré elektronické dokumenty laboratoře a to včetně dokumentů externích.

Každý dokument obsahuje informace o svém autorovi, datu a čase svého vzniku a historii stavů dokumentu. Díky nově vytvořenému modulu FOL lze využívat **následující funkce**:



Je možné snadno zobrazit, kdy byl dokument vytvořen a kdy byla schválena jeho konkrétní verze.



Lze vkládat poznámky k jednotlivým souborům nebo k řízenému dokumentu jako celku.



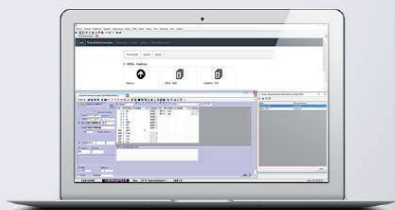
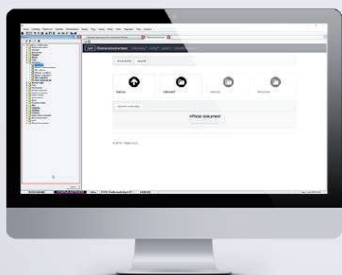
Dokumenty lze organizovat do přehledných stromových struktur.

# ŘÍZENÁ DOKUMENTACE

Další přidanou hodnotou aplikace je také možnost nastavit dokumentu platnost do konkrétního data a času. V případě, že má dokument platnost do konkrétního data nastavenou, je jeho autor v předstihu informován o vypršení této platnosti. Aplikace rovněž umí zobrazit dokumenty ve filtrovatelném seznamu, kde jsou přehledně zobrazeny základní údaje o každém z dokumentů (autor, datum platnosti, poslední změna dokumentu atd.). V seznamu

je také možné vyhledávat, takže zobrazení všech dokumentů jednoho autora je otázkou několika málo sekund.

Autor dokumentu může snadno přiřadit schválené dokumenty k přečtení konkrétním pracovníkům laboratoře, kterým jsou následně rozeslány upozornění (notifikace) o novém dokumentu. Je tak jasná evidence o tom, kdo se s dokumentem již seznámil.



## INTEGRACE S FOL

Přínosem je integrace modulu Řízené dokumentace do prostředí FOL. Dokumenty lze otevírat přímo v oknech FOL, takže odpadá nutnost otevřeného prohlížeče a přepínání mezi dvěma okny. Mezi další výhody patří synchronizace entit z FOL přímo do Řízené dokumentace. Může se jednat o metody, analyzátoři nebo pracoviště. Řízená dokumentace také dokáže synchronizovat uživatele, takže není nutné zabývat se zakládáním nových uživatelských účtů. Jakmile se uživatel přihlásí do

FOL a má povolen přístup k řízené dokumentaci, může okamžitě začít pracovat s dokumenty.

Přímo ve FOL je možné zobrazovat dokumenty týkající se konkrétní metody, analyzátoru či skladové karty. Je také možné přiřazovat dokumenty k různým provozním celkům laboratoře nebo celé laboratoři. Pro snazší a rychlejší přístup k dokumentaci je možné otevírat řízené dokumenty přímo ze žádankového formuláře, kumulativního výsledkového nálezu pacienta nebo z přehledu výsledků po metodách.

## ZÁVĚREM

Veřejíme, že modul řízené dokumentace ve FOL bude přínosným nástrojem pro všechny uživatele FOL, kteří chtějí mít

o svých dokumentech přehlednou evidenci. Další rozvoj modulu budou určovat zejména připomínky z reálného provozu v laboratořích.

## OBCHODNÍ ZASTOUPENÍ

STAPRO s. r. o. | Pernštýnské nám. 51, 530 02 Pardubice  
www.stapro.cz

## GeneProof

### Již 15 let Váš partner pro *in vitro* diagnostiku

GeneProof je biotechnologická společnost zabývající se již od roku 2005 molekulární *in vitro* diagnostikou závažných infekčních a genetických onemocnění. Věnuje se vývoji, výrobě a distribuci technologicky vyspělých a vysoce kvalitních produktů v oblasti mikrobiologické, genetické, onkogenetické a prenatalní diagnostiky založené na metodě polymerázové řetězové reakce.

GeneProof je úspěšná česká společnost, která v současné době distribuuje více než 50 vlastních produktů do 60 zemí světa. Jak to všechno začalo? Jaké cesty vedly k myšlence jejího založení a na čem jsou postaveny její hodnoty a cíle?

Není náhoda, že právě zakladatelé společnosti GeneProof RNDr. Radek Horváth, PhD. a RNDr. Miloš Dendis přispěli k zavedení metody polymerázové řetězové reakce (PCR) do rutinní klinické praxe v České republice již v době, kdy se tato metoda teprve dostávala z oblasti čistě výzkumné do klinické praxe. V roce 1995 provedli první PCR detekci *Mycobacterium tuberculosis* v klinickém vzorku. Využitím PCR metody přispěli rovněž k eliminaci úmrtnosti v důsledku CMV nemoci u pacientů po transplantaci pevných orgánů v Centru kardiovaskulární a transplantační chirurgie v Brně v roce 1997. Dalším významným úspěchem byla eliminace úmrtnosti v důsledku systémové mykotické infekce u dětských onkologických pacientů zavedením univerzální mykotické DNA detekce v roce 1998.

A právě úspěchy v klinické praxi, potřeba zjednodušení a standardizace práce spolu s touhou reagovat na potřeby zákazníků vedla k založení malého start-upu v roce 2005. Dnes má společnost na 70 zaměstnanců, v portfoliu cca padesát produktů a 90 % produkce vyváží do zahraničí. Do vlastního výzkumu a vývoje putují každoročně částky v řádech desítek milionů korun. „Za uplynulých 15 let se nám podařilo vybudovat perfektní tým složený z opravdových odborníků v oboru a skvělých osobností. A dá se to říct o každém z nás bez výjimky. Snažíme se vytvářet příjemné a motivační prostředí a myslíme, že se nám to daří,“ říká Radek Horváth, ředitel společnosti.

Produktové portfolio společnosti GeneProof tvoří technologicky vyspělé produkty, které v průběhu výrobního cyklu projdou prakticky celou firmou. Prioritní snahou je vyvíjet takové produkty, které jsou na trhu opravdu potřeba. Jejich design vzniká v oddělení výzkumu a vývoje, poté projdou fází testování a validací na oddělení QA/QC a přechází do produkce, kde jsou vyráběny na moderních automatických výrobních linkách. Poté jsou všechny šarže pečlivě kontrolovány a uvolňovány v souladu s požadovanou regulací týkající se výrobků pro *in vitro* diagnostiku. Prostřednictvím koordinované práce marketingu, technické podpory a obchodu se výrobky dostávají až ke koncovým zákazníkům – do klinických diagnostických laboratoří. Tím ale práce společnosti GeneProof nekončí, nadále jsou totiž s uživateli svých produktů v kontaktu, monitorují zpětnou vazbu a sbírají připomínky. V neposlední řadě reagují na nejnovější pokroky ve vědě a inovacemi se pak snaží produkty vylepšovat tak, aby byl jejich užitek pro laboratoře i pacienty co nejvyšší.

„Snažíme se reagovat na aktuální trendy v diagnostice a nabízíme produkty v produktových skupinách. Chceme, aby naše produktové skupiny byly co nejširší, a umožňovaly tak laboratořím provádět maximum možných vyšetření v rámci klinických skupin nebo symptomů. Máme velmi úspěšné a komplexní skupiny produktů pro diagnostiku infekcí imunosuprimovaných pacientů po transplantacích, disponujeme kompletním portfoliem produktů pro detekci původců pohlavně přenosných chorob, nabízíme i nejnáročnější produkty ve skupině „blood borne“ – HCV, HBV, HIV. Máme také velmi úspěšné produkty ve skupinách určených pro diagnostiku trombotických mutací, respiračních infekcí, neuroinfekcí a jině,“ upřesňuje Horváth.

Součástí prověřování kvality produktů je také účast na mezinárodních panelech externího hodnocení kvality QCMD a INSTAND e.V., v České republice je to pak program externího hodnocení kvality SZÚ. Vysoká úspěšnost v těchto panelech je více než relevantním potvrzením kvality produktů v prostředí evropského trhu.

GeneProof je držitelem certifikátu systému managementu kvality dle norem ČSN EN ISO 13485:2016, je pravidelně auditován notifikovanou osobou pro CE IVD produkty a pečlivě se také připravuje na plynulý přechod na novou legislativu IVDR, která vstoupí v platnost v roce 2022. Tato nová regulace EU pro *in vitro* diagnostiku je jednoznačně nejzásadnějším předělem v evropské historii molekulární diagnostiky a má obrovský dopad nejen na výrobce diagnostik, ale také na samotné klinické diagnostické laboratoře. GeneProof situaci monitoruje a na tyto změny se systematicky připravuje již několik let.

Klíčovou novinkou v historii společnosti GeneProof je přístroj myCROBE zajišťující plně automatické řešení pro molekulární diagnostiku. Přístroj nabízí hned několik významných výhod. Zahrnuje všechny fáze testování v jednom jediném kroku – od extrakce NA přes PCR setup, PCR amplifikaci až po automatické vyhodnocení výsledků. Během jednoho čtyřhodinového cyklu lze tedy vyšetřit až 36 vzorků a provést až 90 různých testů. Vše probíhá v plně automatickém provozu, chyby lidského faktoru jsou tak eliminovány. Další nezměrnou výhodou automatu myCROBE jsou pak jeho kompaktní rozměry. Lze jej bez nadsázky označit jako „plně automatickou laboratoř na stole“. Součástí tohoto automatizovaného diagnostického řešení je extrakční kit pro izolaci DNA/RNA a zejména velmi široká nabídka PCR kitů. Přístroj i diagnostické kity jsou výsledkem mnohaletého výzkumu a vývoje společnosti GeneProof a jsou vyráběny v České republice. Řešení se zaměřuje zejména na diferenciální diagnostiku a představuje ideální řešení pro středně velké laboratoře. Na trh bude myCROBE uveden v průběhu roku 2020.

„Systém myCROBE byl poprvé oficiálně představen na podzim loňského roku na Evropském meetingu molekulární diagnostiky EMMD v Nizozemsku. Tímto způsobem jsme myCROBE prezentovali na jednom z nejnáročnějších trhů na světě a jsme velmi hrdí na to, že ihned vyvolal obrovský zájem a přinesl naší společnosti velké uznání. Pozitivní ohlasy z řad účastníků kongresu i všech našich partnerů po celém světě nám potvrzují, že jdeme správnou cestou a přicházíme na trh s nabídkou jedinečného produktu pro molekulární diagnostiku. Nyní máme tu čest systém myCROBE uvést také v domácím prostředí před našimi váženými partnery z českých a slovenských laboratoří,“ dodává Horváth.

Když se zakladatelé společnosti zamýšlí nad jejím dosavadním vývojem, vždy si uvědomí, na čem její úspěch stojí. Je to jednoduché. Od založení firmy až dosud se řídí jen několika základními principy, ze kterých se snaží neuhýbat. Slogan společnosti GeneProof se už od roku 2005 nemění: „molecular diagnostics for your routine“. A právě tento slogan je hlavním mottem, k němuž směřuje dlouholeté úsilí celého týmu. Držet se vytyčeného cíle přinést laboratořím uživatelsky vstřícná řešení pro běžné rutinní použití v klinické diagnostice. Zní to sice jednoduše, ale úplně jednoduché to není.

„Již při založení firmy jsme si vyjasnili, na jakých základních hodnotách mají naše produkty stát. Jsou čtyři a všechny jsou stejně důležité: nejvyšší možná kvalita a uživatelská jednoduchost, přijatelná cena, kvalitní a vstřícná technická podpora a v neposlední řadě striktní dodržení podmínek certifikací a regulace *in vitro* diagnostického trhu. Na těchto několika pilířích naše produkty i celá společnost stojí. A jsme přesvědčeni, že pokud na nich dokážeme trvat, budeme i nadále moci našim zákazníkům poskytovat ta nejlepší možná řešení pro jejich rutinní diagnostickou praxi,“ uzavírá ředitel společnosti.

**Poznámky:**



**Poznámky:**





RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN

# **PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE RANK 2020**

Vydalo STAPRO s. r. o., Pernštýnské nám. 51, 530 02 Pardubice  
jako doprovodnou publikaci konference RANK 2020.

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





Adresa pořádající organizace:

MeDiLa spol. s r.o.  
Štrossova 1931  
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)