

PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE

Pardubice, 18. – 19. března 2026

rank.cz



RANK 20 let

RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN

Měníme molekulární diagnostiku

GeneProof[™]
part of NuVinkaDx

myCROBE[®] přináší flexibilitu,
rychlost a efektivní využití
ekonomických zdrojů.



Oslavujeme preciznost,
spolehlivost a inovace
v molekulární diagnostice.



Plně automatizované řešení od vzorku po výsledek

Kompaktní stolní provedení

Flexibilní výběr testů s unikátním
à la carte multiplexem

Až 8 testů na vzorek, až 90 výsledků v jednom běhu

www.geneproof.com

GeneProof a.s. Výrobce a globální distributor

www.geneproof.com | +420 543 211 679 | sales@geneproof.com

©2026. Všechna práva vyhrazena.
Tento materiál ani jeho část nesmí být
reprodukovány ani jinak používány
bez výslovného písemného souhlasu
společnosti GeneProof. Je určeno výhradně
pro odborníky ve zdravotnictví.



ZJIŠTĚT VÍCE



PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE RANK 2026

RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN
MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝMI
TECHNIKAMI

18. – 19. března 2026
v prostorách ABC klubu Pardubice



ISBN 978-80-87436-25-7

OBSAH

Zajištění konference	4
Pořadatelé.....	4

PROGRAM KONFERENCE

Celkový program konference.....	7
---------------------------------	---

SBORNÍK

Abstrakty přednášek	14
Abstrakty posterů	56
Firemní inzerce	71

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

Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA

VĚDECKÝ VÝBOR

Prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.

RNDr. Pavel Hložek

RNDr. Martin Kašný, Ph.D.

Prof. RNDr. Martin Pešta, Ph.D.

Mgr. Jan Richter, Ph.D.

ORGANIZAČNÍ VÝBOR

Ing. Šárka Vondrová – předsedkyně

Ing. František Štumor, Ph.D. – tajemník

Ing. Petra Štochllová

Ján Korecký

Mgr. Ondřej Morávek

Ing. Hana Skalická

Ladislava Štefčková

Ing. Barbara Štumrová

Ing. Michael Němec

GENERÁLNÍ PARTNER

GeneProof a. s.

Videňská 101/119, 619 00 Brno

geneproof.com

GeneProof[®]
part of **NuvinkaDx**

HLAVNÍ PARTNER

BioTech a. s.

Kramolínská 955, Letňany, 199 00 Praha 9

ibiotech.cz

bioTech
innovative

PARTNEŘI

ELISABETH PHARMACON, spol. s r. o.

Rokycanova 4437/5, 615 00 Brno

elisabeth.cz

 **Elisabeth**[®]
Pharmacon

STAPRO s. r. o.

Pernštýnské nám. 51, 530 02 Pardubice

stapro.cz

 **STAPRO**

VYSTAVOVATELÉ

Allgene s. r. o.

ASCO-MED, spol. s r. o.

BIOMEDICA ČR, s. r. o.

BioVendor – Laboratorní medicína a. s.

Carolina Biosystems, s. r. o.

DISPOLAB, spol.s. r. o.

DYNEX TECHNOLOGIES, spol. s r. o.

East Port Praha s. r. o.

GENERI BIOTECH s. r. o.

I.T.A.-Intertact s. r. o.

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

Medihelix

MEDISTA spol. s r. o.

SVEN BioLabs, s. r. o.

PROGRAM KONFERENCE

Středa 18. 3.

11:00 – 12:30	Registrace	90 min.
13:00 – 13:15	Zahájení, Ing. František Šturm, Ph.D.	15 min.

WORKSHOP

13:00 – 13:15	Formování budoucnosti digitálního PCR: od inovace k rutinní praxi BioTech a. s.	20 min.
---------------	--	---------

POKROK NEZASTAVÍŠ

předsedající: Ing. František Šturm, Ph.D.

13:15 – 14:15	Úžasných 100 let cesty matematické biologie: od popisné statistiky k řízení zdravotní péče Prof. RNDr. Ladislav Dušek, Ph.D.	60 min.
14:15 – 14:30	Přestávka	15 min.

HUMÁNNÍ GENOM 1 – když se v buňce něco pokazí

předsedající: Prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.

14:30 – 14:45	CNV analýza: metodické přístupy k robustní detekci v klinické bioinformatice Ing. Petr Brož	15 min.
14:45 – 15:00	Optické mapování genomu (OGM) jako pokročilý nástroj pro analýzu kryptických chromosomových variant u nemocných s myelodysplastickými syndromy (MDS) doc. RNDr. Zuzana Zemanová, CSc.	15 min.
15:00 – 15:15	Sekvenování s dlouhým čtením: nové možnosti pro diagnostiku vzácných onemocnění Mgr. Lukáš Strych, Ph.D.	15 min.
15:15 – 15:30	The dual role of the PATZ1 transcription factor in tumour biology Mgr. Ema Ruzsová, Ph.D.	15 min.
15:30 – 15:45	Přestávka	15 min.

HUMÁNNÍ GENOM 2 – Cirkulující DNA

předsedající: RNDr. Martin Kašný, Ph.D.

15:45 – 16:00	Detekce mutací genu BRAF metodou ddPCR v cirkulující nádorové DNA u pacientů s nemetastatickým melanomem Prof. RNDr. Martin Pešta, Ph.D.	15 min.
16:00 – 16:15	Využití digitálního PCR v neinvazivní diagnostice chromozomálních aneuploidii Mgr. Pavel Šenkyřík	15 min.
16:15 – 16:30	Využití technologie digitální polymerázové řetězové reakce pro genotypizaci klíčových variant s potenciálem pro klinické uplatnění Ing. Lucie Heczko	15 min.
16:30 – 16:45	Přestávka	15 min.

miRNA – malí velcí hráči

předsedající: RNDr. Pavel Hložek

16:45 – 17:00	MikroRNA jako možný diagnostický cíl chrupavčitých nádorů (NGS analýza expresního profilu mikroRNA u chondrosarkomů) Mgr. Kateřina Zettlová	15 min.
17:00 – 17:15	miRNA v tekutých biopsiích: proč preanalytika rozhoduje Mgr. Veronika Boušková, Ph.D.	15 min.
17:15 – 17:30	Prvotrimestrální prediktivní diagnostika závažných těhotenských komplikací pomocí miRNA Prof. RNDr. Ilona Hromadníková, Ph.D.	15 min.
17:30 – 17:45	Přestávka	15 min.

EXTRAHUMÁNNÍ GENOM 1 – Viry v nás a kolem nás

předsedající: RNDr. Pavel Hložek

17:45 – 18:00	Taxonomie rotavirů, různé způsoby jejich přenosu a změny v epidemiologii v souvislosti s vakcinací Mgr. Romana Moutelíková, Ph.D.	15 min.
18:00 – 18:15	Sledování výskytu vybraných virů ve vodním prostředí se zaměřením na MPXV, rotaviry a adenoviry Ing. Kamila Zdeňková Ph.D.	15 min.

18:15 – 18:30	Zkušenosti z monitoringu DNA i RNA virových původců gastroenteritid v povrchových vodách a procesech úpravy vody Ing. Anna Košinová	15 min.
---------------	--	---------

WORKSHOP

18:30 – 18:50	Formování budoucnosti digitálního PCR: od inovace k rutinní praxi BioTech a. s.	20 min.
---------------	--	---------

Společenský večer

19:30 – 23:00	Společenský večer	
21:00 – 22:30	Prezentace a diskuze u posterů	

Čtvrtek 19. 3.

BEZPEČNOST POTRAVIN

předsedající: Prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.

08:30 – 08:45	Pořaditelnost absolutní kvantifikace DNA jednotlivých složek v masných výrobcích doc. Mgr. Petr Králík, Ph.D.	15 min.
08:45 – 09:00	Stanovení procentuálního zastoupení jednotlivých komponent živočišného původu v mletém mase a masných polotovarech Mgr. Martin Klanica	15 min.
09:00 – 09:15	Patogeny jedlého hmyzu jako nová výzva ve veterinární diagnostice RNDr. Jana Prodělalová, Ph.D.	15 min.
09:15 – 09:30	Geny antibiotické rezistence detekované u hmyzu z tuzemské obchodní sítě Mgr. Petra Straková, Ph.D.	15 min.
09:30 – 09:50	Přestávka	20 min.

WORKSHOP

09:30 – 09:50	Formování budoucnosti digitálního PCR: od inovace k rutinní praxi BioTech a. s.	20 min.
---------------	--	---------

EXTRAHUMÁNNÍ GENOM 2 – Naši souputníci a potíživost

předsedající: RNDr. Martin Kašný, Ph.D.

09:50 – 10:05	Záškrť! Praktický průvodce (nejen) PCR diagnostikou Mgr. Veronika Kašná	15 min.
10:05 – 10:20	Co nám prozradila celogenomová sekvenace o kmenech <i>Bordetella pertussis</i> izolovaných v letech 2019 – 2024 v České republice Mgr. Jana Zavadilová	15 min.
10:20 – 10:35	PCR detekce komplexu <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (TBC) v klinických vzorcích pacientů Fakultní nemocnice Brno Ing. Maria Kaevska, Ph.D.	15 min.
10:35 – 10:55	Přestávka	20 min.

WORKSHOP

10:35 – 10:55	Formování budoucnosti digitálního PCR: od inovace k rutinní praxi BioTech a. s.	20 min.
---------------	---	---------

EXTRAHUMÁNNÍ GENOM 3 – Naši souputníci a potíživost

předsedající: Mgr. Jan Richter, Ph.D.

10:55 – 11:10	Využití molekulárních metod v diagnostice a surveillance invazivního meningokokového onemocnění v České republice Mgr. Zuzana Okonji	15 min.
11:10 – 11:25	Profilování lidského střevního mikrobiomu s využitím analýzy 16S a metagenomických NGS dat a inovativních přístupů k jejich interpretaci Jan Kotrys	15 min.
11:25 – 11:40	Využití cubeDX při detekcích sepse a jiných infekcí Mgr. Pavel Sauer, Ph.D.	15 min.
11:10 – 11:55	Vysoce citlivá PCR platforma pro detekci původců sepse z plné krve Mgr. Radim Svačina, Ph.D.	
11:55 – 12:05	Přestávka	10 min.

VYHLÁŠENÍ SOUTĚŽE MLADÝCH AUTORŮ O CENU Dalibora Novotného

12:05 – 12:30

prof. Ing. Kateřina Demnerová, CSc.

25 min.

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. Vítěze určí hodnotící komise a jako odměnu obdrží věcnou cenu i symbolickou Cenu Dalibora Novotného. Tato cena je udělována od r. 2016 na počest Ing. Dalibora Novotného, Ph.D., významného odborníka v laboratorní medicíně a od počátku spoluorganizátora konference RANK, který tragicky zahynul v r. 2015.

Hodnotící komise soutěže mladých autorů

Prof. Ing. Kateřina Demnerová, CSc.

Doc. Ing. Jarmila Vytřasová, CSc.

Ing. František Štumor, Ph.D.

Nominovaní autoři – postery

Ing. Andrea Heřtová

Bc. Kamila Klementová

Ing. Kristýna Kliková

Ing. Henrietta Ottová

Mgr. Kateřina Sapáková

Přednášky

Mgr. Martin Klanica

Ing. Anna Košinová

Jan Kotrys

Mgr. Lukáš Strych, Ph.D.

Mgr. Radim Svačina, Ph.D.

Mgr. Pavel Šenkyřík

Mgr. Kateřina Zettlová



ABSTRAKTY PŘEDNÁŠEK

ABSTRAKTY PŘEDNÁŠEK

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

ABSTRAKTY PŘEDNÁŠEK

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

SEZNAM PŘEDNÁŠKOVÝCH BLOKŮ

1. Úvodní sdělení – Pokrok nezastavíš
2. HUMÁNNÍ GENOM 1 – když se v buňce něco pokazí
3. HUMÁNNÍ GENOM 2 – Cirkulující DNA
4. miRNA – malí velcí hráči
5. EXTRAHUMÁNNÍ GENOM 1 – Viry v nás a kolem nás
6. Bezpečnost potravin
7. EXTRAHUMÁNNÍ GENOM 2 – Naši soupeřníci a potížisté
8. EXTRAHUMÁNNÍ GENOM 3 – Naši soupeřníci a potížisté

Prof. RNDr. Ladislav Dušek, Ph.D.

Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR
Palackého nám. 375/4, P. O. BOX 60, 128 00 Praha 2

tel: +420 224 972 869

e-mail: ladislav.dusek@uzis.cz

Úžasných 100 let cesty matematické biologie: od popisné statistiky k řízení zdravotní péče

Dušek L.

Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR

Přednáška mapuje fascinující stoletou evoluci matematické biologie – oboru, který se z okrajové disciplíny zaměřené na popis přírodních jevů stal pilířem moderního, daty řízeného zdravotnictví. Autor nás provede cestou od raných biostatistických metod a sčítání lidu až po éru personalizované medicíny a prediktivního modelování.

Ing. Petr Brož

Bioxsys s. r. o.

Na Kopečku 3439/15, Severní Terasa, 400 11 Ústí nad Labem

tel: +420 604 799 725

e-mail: broz@bioxsys.cz

CNV analýza – metodické přístupy k robustní detekci v klinické bioinformatice

Brož P., Zembol F. Šuhajová S., Fil V., Steiger J.

Bioxsys

Analýza změn počtu kopií (Copy Number Variations, CNV) představuje klíčovou součást moderní molekulární diagnostiky, zejména v oblasti vzácných genetických onemocnění, onkologie a prenatální diagnostiky. CNV zahrnují delece a duplikace genomových úseků různých velikostí, které mohou zásadním způsobem ovlivňovat genovou expresi a funkci, a tím přispívat k rozvoji onemocnění. Spolehlivá detekce těchto strukturálních změn je proto nezbytná pro správnou interpretaci genomových dat a klinické rozhodování.

V současné klinické bioinformatice se pro detekci CNV využívá několik komplementárních metodických přístupů založených na datech z masivního paralelního sekvenování (NGS). Nejčastěji používanou metodou je analýza hloubky pokrytí (read depth, read depth of coverage), která vychází z porovnání počtu sekvenačních čtení mapujících se do jednotlivých genomových regionů s referenčním vzorkem nebo souborem kontrol. Tento přístup je dobře škálovatelný a efektivní zejména pro detekci větších delecí a duplikací v cílených panelech, exomech i celogenomových datech. Jeho limity však spočívají v citlivosti na technické artefakty, nerovnoměrné pokrytí a obtížné detekci menších nebo komplexních přestaveb. Další významnou skupinu metod představují přístupy založené na analýze nesouladů v mapování čtení, zejména split reads a discordant paired-end reads. Metody split reads využívají skutečnosti, že jedno sekvenační čtení může být rozděleno a mapováno do dvou odlišných genomových pozic, což umožňuje přesné určení zlomových bodů strukturálních variant. Analýza párových čtení pak sleduje neobvyklé vzdálenosti nebo orientace mezi páry čtení, které indikují přítomnost delecí, duplikací či inverzí. Tyto přístupy poskytují vysoké rozlišení a jsou zvláště přínosné pro identifikaci menších nebo komplexních CNV, avšak jejich účinnost závisí na kvalitě mapování a hloubce sekvenování.

V klinické praxi je robustní CNV analýza založena na kombinaci více metodických přístupů a jejich vzájemné validaci. Integrace signálů z analýzy hloubky pokrytí, split reads a párových čtení významně zvyšuje spolehlivost detekce a snižuje riziko falešně pozitivních i falešně negativních nálezů. Neméně důležitou součástí je následná normalizace

dat, filtrace technických artefaktů a anotace detekovaných CNV s ohledem na genový obsah, klinickou relevanci a dostupné databáze patogenních variant.

CNV analýza má v diagnostice zásadní význam, protože řada klinicky významných onemocnění je způsobena právě změnami počtu kopií genů nebo regulačních oblastí, které nelze spolehlivě zachytit standardní analýzou bodových variant. Systematické zavádění robustních bioinformatických workflow pro CNV detekci tak představuje klíčový krok ke zvýšení diagnostické výtěžnosti, přesnosti interpretace genomových dat a jejich efektivnímu využití v rutinní klinické praxi.

Doc. RNDr. Zuzana Zemanová, Csc.

Všeobecná fakultní nemocnice a 1. LF UK v Praze,
Centrum nádorové cytogenomiky ÚLBLDNa
U Nemocnice 499/2, 120 00 Praha 2

tel: +420 224 962 935

e-mail: zuze@vfn.cz

Optické mapování genomu (OGM) jako pokročilý nástroj pro analýzu kryptických chromosomových variant u nemocných s myelodysplastickými syndromy (MDS)

¹Zemanová Z., ¹Lizcová L., ²Bezděková Fillerová R., ¹Pavlišťová L., ¹Vondráčková Z.,
¹Lhotská H., ¹Hodaňová L., ¹Kabešová M., ³Sotáková S., ³Jonášová A.

¹Centrum nádorové cytogenomiky ÚLBLD, Všeobecná fakultní nemocnice a 1. LF UK v Praze

²Institute of Applied Biotechnologies, a. s., Olomouc

³1. interní klinika – klinika hematologie, Všeobecná fakultní nemocnice a 1. LF UK v Praze.

Myelodysplastické neoplazie (MDS) představují klinicky i geneticky heterogenní skupinu onemocnění, u nichž má zásadní význam přesná charakterizace genetických změn v buňkách kostní dřeně. Cytogenetické nálezy jsou klíčové pro upřesnění diagnózy a rizikovou stratifikaci, volbu terapie i hodnocení léčebné odpovědi. Přibližně u poloviny nemocných jsou při diagnóze detekovatelné chromozomové aberace s jasným prognostickým významem (např. izolovaná del(5q) spojená s příznivou prognózou nebo aberace chromozomu 7 a komplexní karyotypy spojené naopak s velmi nepříznivou prognózou). U přibližně 90 % nemocných s MDS jsou zároveň popisovány somatické genové mutace. Prognosticky významné genetické změny se proto staly součástí mezinárodních skórovacích systémů a klasifikací (IPSS-R, IPSS-M, WHO 2022, ICC). U části pacientů, zejména s normálním karyotypem, však může zůstat podstata genetických změn skrytá i přes dostupnost moderních sekvenačních technologií (NGS, next generation sequencing). Klinicky relevantní mohou být zejména kryptické strukturní varianty (SV), změny počtu kopií (CNV) a kopie-neutrální ztráty heterozygotnosti (cn-LOH) pod prahem detekce konvenčních metod. Proto je důležité využívat celogenomové přístupy, které umožní tyto typy aberací zachytit v jednom experimentu s vyšším rozlišením a citlivostí.

Jednou z těchto metod je optické mapování genomu (optical genome mapping, OGM), celogenomová technologie založená na zobrazení specificky fluorescenčně značené vysokomolekulární DNA pomocí nanofluidních čipů. OGM umožňuje současnou detekci SV, CNV i cnLOH v rozlišení nedosažitelném standardními cytogenomickými metodami. Analýza extrémně dlouhých molekul DNA (> 300 kb) navíc usnadňuje záchyt

kryptických genetických změn, které mohou unikat jak standardním cytogenomickým metodám, tak běžným NGS přístupům.

Vyšetřili jsme 20 diagnostických vzorků pacientů s MDS a normálním karyotypem s cílem identifikovat kryptické aberace s potenciálním klinickým významem. U všech nemocných jsme provedli standardní cytogenomické vyšetření, OGM analýzu s využitím přístroje Saphyr System a softwaru Bionano Access (Bionano Genomics) a dále cílenou NGS analýzu pomocí sekvenátoru NextSeq 2000 (Illumina) a panelu Archer Myeloid VariantPlex (Invitae), který zahrnuje 75 genů asociovaných s myeloidními malignitami.

MDS-asociované mutace byly prokázány u 17/20 pacientů; u 3/20 nebyla v rámci použitého NGS panelu detekována žádná z hodnocených variant. Metodou OGM jsme u všech 20 pacientů detekovali kryptické CNV (převážně delece) a u 7/20 také kryptické SV (intra – nebo interchromosomové přestavby). U dvou z těchto sedmi pacientů došlo v průběhu onemocnění ke klonálnímu vývoji a progresi. Ilustrativní je případ pacientky s MDS s prsténčitými sideroblasty (MDS-RS) s normálním karyotypem a mutací SF3B1 v době stanovení diagnózy, která byla dle IPSS-M zařazena do skupiny s velmi nízkým rizikem. Navzdory tomu u ní následně vznikl komplexní karyotyp a došlo k progresi do stadia MDS-EB2. Retrospektivně jsme v diagnostickém vzorku pomocí OGM zachytili kryptickou přestavbu genu MECOM, kterou jsme následně potvrdili ve velmi malém klonu i metodou I-FISH. Předpokládáme, že právě tato kryptická změna mohla přispět k následnému klonálnímu vývoji.

Naše výsledky potvrzují, že identifikace kryptických aberací může významně přispět ke zpřesnění diagnostiky a k lepšímu pochopení biologie MDS. OGM odhaluje kryptické genomové změny u pacientů s MDS a normálním karyotypem, které mohou zůstat skryty při použití standardních cytogenomických metod i cíleného NGS. Systematická detekce těchto aberací může zpřesnit rizikovou stratifikaci, podpořit časnější identifikaci pacientů se zvýšeným rizikem progresu do AML a přispět k individualizaci léčebné strategie (včetně zvážení intenzifikace léčby či včasné indikace alogenní transplantace).

Podpora projektu: RVO-VFN64165.

Mgr. Lukáš Strych, Ph.D.

Ústav lékařské genetiky, Lékařská fakulta v Plzni
Univerzita Karlova a Fakultní nemocnice Plzeň
Edvarda Beneše 1128/13, 301 00 Plzeň-Bory

tel: +420 377 402 810

e-mail: strychl@fnplzen.cz

Sekvenování s dlouhým čtením – nové možnosti pro diagnostiku vzácných onemocnění

¹Strych L., ¹Černá M., ¹Zavoral T., ²³Bitar I., ¹Šubrt I.

¹Ústav lékařské genetiky, Lékařská fakulta v Plzni

Univerzita Karlova a Fakultní nemocnice Plzeň

²Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

³Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

Vzácná onemocnění jsou heterogenní skupinou více jak 6000 onemocnění, která se vyskytují s nízkou prevalencí v populaci. Jelikož většina vzácných onemocnění má genetický původ, genetické testování je považováno za zlatý standard ke stanovení či k potvrzení přesné diagnózy. Identifikace molekulárně genetické příčiny vzácných onemocnění je důležitá i pro následné genetické poradenství rodinných příslušníků, kterým může být nabídnuto prekoncepční, prenatalní či preimplantační testování. Ne vždy je ale genetická příčina nalezena rutinními diagnostickými metodami, a je proto nutné pokračovat v hledání příčin dalšími metodami v rámci výzkumu.

V této přednášce bych chtěl ukázat užitečnost cíleného sekvenování s dlouhým čtením (T-LRS) na platformě PacBio na příkladu identifikace kauzální delecí u probanda s klinicky diagnostikovaným X-vázaným nefrogenním diabetes insipidus (NDI). X-vázaný NDI je vzácné genetické onemocnění ledvin způsobené patogenními variantami v genu AVPR2. Sekvenční varianty v genu AVPR2 jsou spolehlivě detekovány rutinním Sangerovým sekvenováním, avšak strukturální varianty zahrnující gen AVPR2 jsou obtížně identifikovatelné. Dříve publikované delecí genu AVPR2 byly detekovány pomocí pracného PCR mapování a Sangerova sekvenování obtížně sekvenovatelných oblastí. My jsme použili modernější metodu T-LRS, pomocí které jsme u probanda přesně identifikovali novou 7 526 bp delecí genu AVPR2. Na konkrétním případě jsme tak potvrdili, že T-LRS dokáže přesně identifikovat obtížně potvrditelné strukturální varianty a tím urychlit diagnostiku a výzkum vzácných genetických onemocnění.

Podpora projektu: MŠMT – LM2023067 a MŠMT – LX22NPO5103

Mgr. Ema Ruzsová, Ph.D.

Fakultní nemocnice Bulovka
Budínova 67/2, 181 00 Praha 8

tel: +420 604 445 212

e-mail: ema.ruszova@bulovka.cz

The dual role of the PATZ1 transcription factor in tumour biology

Ruzsová E., Khaznadar Z.

Laboratoř lékařské genetiky jako součást komplementu Centrálních laboratoří FN Bulovka

Transcription factor PATZ1 (POZ/BTB and AT hook containing zinc finger 1) is best known for its association with the maintenance of pluripotency [1], as it is a downstream target of Oct4 and a partner of Nanog. Loss of PATZ1 expression induces spontaneous differentiation of hESCs towards mesodermal and endodermal lineages, disrupting the pluripotency network. In addition, PATZ1 plays a key role in spermatogenesis, embryonic development, apoptosis, cell proliferation, cell senescence, lipid metabolism, immune response, glycolytic metabolism, and the DNA damage response. To this date, the function of PATZ1 in tumour biology is not clear, and its role depends on the cell line, TP53 status, the localization and expression level of the protein. On the one hand, there is strong evidence of its oncogenic role: whether by bypassing the G0 checkpoint and accelerating entry into S phase (CRC), by blocking the functionality of TP53 (thymus), or by its presence as a marker in the form of a fusion product (CNS sarcomas) [2].

Recent studies by a group of authors from the Department of Molecular Biology and Pathology at the University of Naples (Italy) have revealed a growing body of information about the dual role of PATZ1 and its ability to act as a tumour suppressor. My lecture will present its other role in the tissue surroundings of thyroid cancer, where ectopic expression of PATZ1 in thyroid cancer cells activates p53-dependent pathways that counteract epithelial-mesenchymal transition (EMT) and cell migration, thereby preventing invasiveness [3]. In addition to this, a negative correlation between PATZ1 and PD-L1 expression was observed in NSCLC, suggesting that PATZ1 may influence the efficacy of PD-L1 immunotherapy [4].

Collectively, new findings indicate that PATZ1 may serve not only as a prognostic marker but also as a potential target for developing region-specific intervention strategies. However, the dual role of PATZ1 presents limitations without prior clarification and construction of a clear regulatory network in the tumour metabolic environment.

Literature

- [1] Huang M, Liao X, Wang X, Qian Y, Zhang W, Chen G, Wu Q.: POZ/BTB and AT hook containing zinc finger 1 (PATZ1) suppresses differentiation and regulates metabolism in human embryonic stem cells. *Int J Biol Sci.* 2024 Jan 21; 20 (4): 1142 – 1159. doi: 10.7150/ijbs.83927. PMID: 38385086; PMCID: PMC10878140
- [2] Fedele M, Crescenzi E, Cerchia L.: The POZ/BTB and AT-Hook Containing Zinc Finger 1 (PATZ1) Transcription Regulator: Physiological Functions and Disease Involvement. *Int J Mol Sci.* 2017 Nov 24; 18 (12): 2524. doi: 10.3390/ijms18122524. PMID: 29186807; PMCID: PMC5751127
- [3] Chiappetta G, Valentino T, Vitiello M, Pasquinelli R, Monaco M, Palma G, Sepe R, Luciano A, Pallante P, Palmieri D, Aiello C, Rea D, Losito SN, Arra C, Fusco A, Fedele M.: PATZ1 acts as a tumor suppressor in thyroid cancer via targeting p53-dependent genes involved in EMT and cell migration. *Oncotarget.* 2015 Mar 10; 6 (7): 5310 – 23. doi: 10.18632/oncotarget.2776. PMID: 25595894; PMCID: PMC4467151.
- [4] Lucà S, Franco R, Napolitano A, Soria V, Ronchi A, Zito Marino F, Della Corte CM, Morgillo F, Fiorelli A, Luciano A, Palma G, Arra C, Battista S, Cerchia L, Fedele M.: PATZ1 in Non-Small Cell Lung Cancer: A New Biomarker That Negatively Correlates with PD-L1 Expression and Suppresses the Malignant Phenotype. *Cancers (Basel).* 2023 Apr 6; 15 (7): 2190. doi: 10.3390/cancers15072190. PMID: 37046851; PMCID: PMC10093756

Prof. RNDr. Martin Pešta, Ph.D.

Lékařská fakulta v Plzni, UK
alej Svobody 76, 301 00 Plzeň

tel: +420 377 593 261

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

Detekce mutací genu BRAF metodou ddPCR v cirkulující nádorové DNA u pacientů s nemetastatickým melanomem

¹Pešta M., ^{2,3}Polívka J., ¹Houfková K., ²A Gouda M., ²J Huang H., ⁴Windrichová J.,

⁵Třešková I., ⁵Woznica V., ⁶Pivovarčíková K., ⁷Fikrle T., ²Janků F.

¹Ústav biologie, Lékařská fakulta v Plzni, UK

²Department of investigational cancer therapeutics, MD Anderson Cancer Center, USA

³Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta v Plzni, UK

⁴Oddělení imunochemické diagnostiky

⁵Oddělení plastické chirurgie

⁶Šiklův ústav patologie

⁷Dermatovenerologická klinika, Fakultní nemocnice Plzeň

Úvod: Zavedení adjuvantní léčby u chirurgicky léčeného nemetastatického melanomu vedlo u části pacientů ke zlepšení léčebných výsledků. Adjuvantní terapie však může být spojena s rizikem toxicity. Cílem je proto přesněji identifikovat pacienty s vysokým rizikem recidivy on, pro které je adjuvantní terapie nejvhodnější.

Pacienti a metody: Metodou digitální droplet PCR (ddPCR) spojenou s preamplifikací (ultrasenzitivní detekcí) jsme stanovovali mutaci *BRAFV600E* jak v nádorové tkáni, tak krevních vzorků (detekce ctDNA) pacientů léčených pro melanom. Vzorky byly prospektivně odebírány před operací, 1 hodinu po operaci a následně sériově v průběhu sledování pacientů.

Výsledky: U 80 pacientů (stadium III) byla mutace *BRAFV600E* detekována ve 47,2 % nádorových tkání, ve 37,7 % vzorků ctDNA odebraných před operací a ve 25,9 % vzorků ctDNA odebraných 1 hodinu po operaci. Pacienti s detekovatelnou ctDNA v krvi odebrané 1 hodinu po operaci měli ve srovnání s pacienty bez detekovatelné ctDNA vyšší pravděpodobnost recidivy melanomu ($P < 0,001$), kratší medián přežití bez známek onemocnění ($P = 0,001$) i kratší celkové přežití ($P = 0,003$).

Závěr: Ultrasenzitivní metoda ddPCR umožňuje detekci ctDNA v předoperačních i pooperačních krevních vzorcích pacientů s resekovatelným melanomem. Přítomnost ctDNA v pooperačních vzorcích je spojena s horšími léčebnými výsledky.

Podpora projektu: Studie byla podpořena projektem LTAUSA19080 v rámci programu INTER-EXCELLENCE (podprogram INTER-ACTION) financovaného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (LTAUSA19080); grantem Ministerstva zdravotnictví České republiky – Koncepční rozvoj výzkumné organizace (Fakultní nemocnice Plzeň – FNPI, 00669806).

Mgr. Pavel Šenkyřík

Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN v Praze
Albertov 4, 128 00 Praha 2

tel: +420 733 233 486

e-mail: pavel.senkyrik@vfn.cz

Využití digitálního PCR v neinvazivní diagnostice chromozomálních aneuploidií

¹Šenkyřík P., ¹Hořínek A., ¹Doubková K., ¹Pazourková E., ²Calda P., ¹Korabečná M.

¹Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN v Praze

²Klinika gynekologie, porodnictví a neonatologie 1. LF UK a VFN v Praze

Cíl: Ověřit využitelnost digitální PCR (dPCR) jako alternativy neinvazivního prenatálního testování (NIPT) pro detekci aneuploidií chromosomů 13, 18, 21 a pohlavních chromosomů pomocí soupravy iSAFE NIPT-100QS (Atila BioSystems) na platformě QIAcuity (Qiagen) a optimalizovat preanalytické i analytické kroky včetně vyhodnocení.

Materiál a metody: Vzorkem byla plazma z periferní krve těhotných žen, z níž byla izolována cirkulující volná DNA (cfDNA). V roce 2025 bylo provedeno 158 dPCR měření u 129 vzorků plazmy (opakování zahrnovala došetření po nevyhovujícím QC nebo ověřovací měření). Na základě zkušeností z roku 2024 byl zvýšen vstupní objem plazmy pro izolaci cfDNA z 2 ml na 3 ml. Souprava iSAFE umožňuje výpočet fetální frakce dvěma přístupy – z počtu kopií chromosomu Y a pomocí univerzálních fetálních markerů. Výsledky byly vyhodnocovány dvěma způsoby: původním postupem (ruční odečet v QIAcuity Software Suite + výpočty poměrů v MS Excel) a softwarem ATILA NIPT-100QS od výrobce.

Výsledky: Navýšení vstupního objemu plazmy na 3 ml vedlo k výraznému zlepšení plnění kritérií kontroly kvality stanovených výrobcem (60 000 – 160 000 kopií cílových chromosomů 21, 18, 13 a X): QC nesplnil 1 vzorek ze 119 izolovaných ze 3 ml, zatímco při izolaci ze 2 ml nevyhovělo 6 vzorků z 56. Referenční soubor euploidních těhotenství byl rozšířen o 48 euploidních vzorků (3 ml) na celkových 89, což vedlo ke snížení směrodatné odchylky referenčních poměrů. V paralelním režimu s rutinní diagnostikou bylo testováno 81 vzorků (54 euploidních a 27 aneuploidních; T21 n = 16, T18 n = 5, X0 n = 5, T13 n = 1). Porovnání vyhodnocení ukázalo vyšší záchyt při použití softwaru ATILA oproti výpočtům v MS Excel: senzitivita/specifita dosáhla 96,2 %/94,6 % (ATILA) vs. 73,1 %/98,9 % (Excel). Opakované měření u původně falešně negativního vzorku vedlo ke správné klasifikaci. V druhé polovině roku byla porovnána izolace cfDNA na instrumentu EZ2 Connect (Qiagen) s manuálním kitem QIAamp MinElute ccfDNA (Qiagen); instrument poskytoval srovnatelné výtěžky při přínosu standardizace a zrychlení procesu.

Závěr: dPCR se soupravou iSAFE NIPT-100QS na platformě QIAcuity vykazuje slibný potenciál jako rychlá, flexibilní a potenciálně levnější alternativa ke standardnímu NIPT. Navýšení vstupního objemu plazmy zlepšilo úspěšnost QC a rozšíření referenční kohorty stabilizovalo referenční poměry. Automatizované vyhodnocení softwarem ATILA významně zvyšuje senzitivitu a je vhodné jako primární způsob interpretace. Další práce bude zaměřena na finalizaci referenčního souboru, standardizaci izolace (včetně implementace EZ2 Connect) a hodnocení vlivu preanalytických faktorů na výtěžnost cfDNA a diagnostickou výkonnost.

Podpora projektu: MZ ČR – RVO VFN64165

Ing. Lucie Heczko

Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova
alej Svobody 76, 301 00 Plzeň

tel: +420 377 593 840

e-mail: lucie.heczko@lfp.cuni.cz

Využití technologie digitální polymerázové řetězové reakce pro genotypizaci klíčových variant s potenciálem pro klinické uplatnění

¹Heczko L., ^{1,2}Václavíková R., ^{1,2}Boušková V., ^{1,2}Šeborová K., ¹Al Obeed Allah M. M. K., ¹Mahmoud E. S. A., ¹Ambrozkiwicz, ³Hruda M., ³Rob L., ⁴Mrhalová M., ⁵Bartáková A., ⁵Bouda J., ⁵Smoligová V., ^{1,2}Souček P.

¹Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, 323 000 Plzeň

²Oddělení toxikogenomiky, Státní zdravotní ústav, 100 42 Praha

³Gynekologicko porodnická klinika, 3. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Univerzita Karlova, Praha

⁴Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice Motol, Univerzita Karlova, Praha

⁵Klinika gynekologie a porodnictví, Lékařská fakulta a fakultní nemocnice v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň

Metodika digitální polymerázové řetězové reakce (dPCR) umožňuje díky rozdělení vzorků do tisíců mikroreakcí dosažení vysoké citlivosti při kvantifikaci požadovaných templátů, stanovení počtu kopií nebo detekci vzácných variant. dPCR disponuje velkým potenciálem pro aplikaci v onkologii, kde je vhodná pro sledování minimální reziduální nemoci nebo genetických variant ve vzorcích tekutých biopsií. Tato práce byla zaměřena na optimalizaci postupů pro detekci variant *TP53* a *KRAS* ve vzorcích epiteliálního ovariálního karcinomu (EOC), které byly ve vzorcích identifikované pomocí celoexomového sekvenování. Pro experimentální práci byl využit přístroj QIAcuity Digital PCR Systém (Qiagen) a mutační eseje využívající uzamčené nukleové kyseliny (LNA). Uzamčené nukleové kyseliny představují analogy nukleových kyselin, které obsahují 2'-O, 4'-C methylenový můstek, který uzavírá ribofuranózu v konformaci 3'-endo, což vede ke zvýšení afinity a specifity oligonukletidů (prób i primerů). Pro optimalizaci metodiky bylo vybráno 48 vzorků plazmy pacientů a 5 vzorků kontrolní plazmy, ze kterých byla cfDNA izolována pomocí soupravy QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit (Qiagen). Eseje pro sledování somatických variant *TP53* (p. Tyr220Cys a p. Arg273His) a somatických variant *KRAS* (p. Gly12Val a p. Gln61His) by zakoupeny u firmy Qiagen tak, aby bylo možné využít multiplexing pro simultánní detekci jedné varianty v *TP53* i *KRAS*. Součástí

optimalizace bylo také porovnání množství izolované cfDNA mezi fialovými vakutainery obsahujícími K2EDTA a modrými vakutainery pro izolaci cfDNA. Procesem optimalizace se nám podařilo najít podmínky vhodné pro potřebnou genotypizaci, která zároveň potvrdila výsledky získané celoexomovým sekvenováním. Tato práce byla podpořena projektem SVV Univerzity Karlovy č. 264773 (udělený R. V.) a projektem Agentury pro zdravotnický výzkum ČR č. NW25J-08-00050 (udělený V. B.).

Mgr. Kateřina Zettlová

Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Pekařská, 664/53, 602 00 Brno

tel: +420 606 233 013

e-mail: katerina.zettlova@fnusa.cz

MikroRNA jako možný diagnostický cíl chrupavčitých nádorů

(NGS analýza expresního profilu mikroRNA u chondrosarkomů)

¹Zettlová K., ^{1,2}Vrbský J., ¹Dvořáčková M., ¹Tesařová L., ¹Mátlová E.,

³Apostolopoulos V.

¹Mikrobiologický ústav – Laboratoř molekulárně genetické diagnostiky, FN u sv. Anny v Brně

²Mezinárodní centrum klinického výzkumu, FN u sv. Anny v Brně

³I. Ortopedická klinika, FN u sv. Anny v Brně

Chondrosarkom je maligní nádor chrupavčité tkáně představující druhý nejčastější primární kostní nádor. MikroRNA (miRNA) jsou krátké nekódující RNA molekuly regulující genovou expresi na post-transkripční úrovni a hrají klíčovou roli v patogenezi nádorových onemocnění, včetně chondrosarkomů. Publikované studie identifikovaly v chondrosarkomech, oproti normálním chondrocytům, specifické změny v expresi miRNA (Yoshitaka et al. 2013. FEBS Open Bio), které prokázaly downregulaci tumor-supresorových miRNA, včetně let-7a, miR-100, miR-136, miR-222, miR-335, miR-376a, a upregulaci miR-181a (Mutlu et al., 2015. Int J Oncol). Funkční studie prokázaly, že miR-100 působí jako tumor-supresor prostřednictvím inhibice signální dráhy mTOR (Galoian et al., 2014, Tumour Biol). Zvýšená exprese miR-125b dále zvyšuje citlivost chondrosarkomových buněk k doxorubicinu cílením na ErbB2 a downstream regulaci glukózového metabolismu (HK II, PDK1 a LDHA). Cluster miR-143/145 vykazuje inverzní korelaci s gradem tumoru, cirkulující miR-145 je považována za slibný diagnostický biomarker s potenciálem neinvazivní detekce v plazmě pacientů (Sun et al., 2020. J Cell Mol Med). Recentní NGS profilování (Nicolini et al., 2020. Cell Death Discov) identifikovalo miR-140-3p jako nejzastoupenější miRNA v chondrosarkomech grade II (47,5 %) a grade III (23,4 %), přičemž spolu s ostatními top 20 miRNA reprezentuje více než 80 % všech detekovaných molekul.

Metodika: Vzorky nádorové tkáně byly zpracovány pomocí QIAseq miRNA Library Kit a sekvenovány na platformě MiSeq i100 (Illumina). Bioinformatická analýza zahrnovala trimování adaptérů, mapování na reference z databáze miRBase v22 (Bowtie) a kvantifikaci exprese. Normalizace dat byla provedena metodou DESeq2.

Cílem naší pilotní studie je stanovit expresní profil miRNA z více než 500 signifikantně detekovaných miRNA v chondrosarkomech (grade I-III) pomocí NGS.

V rámci pokračující studie probíhá rozšíření souboru o další vzorky chondrosarkomů různých gradů a o kontrolní vzorky normální chrupavky, což umožní statistické hodnocení diferenciální exprese a validaci identifikovaných expresních profilů. Toto rozšíření je klíčové pro posouzení diagnostického a prognostického potenciálu jednotlivých miRNA a korelaci s publikovanými daty, poukazujícími na downregulaci tumor-supresorových miRNA (let-7, miR-100, miR-143/145) v chondrosarkomech, oproti normálním chondrocytům.

Mgr. Veronika Boušková, Ph.D.

Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Plzni,
Biomedicínské centrum, Laboratoř farmakogenomiky
alej Svobody 1655/76, 323 00 Plzeň – Severní Předměstí

tel: +420 377 593 840, +420 607 743 585

e-mail: Veronika.Bouskova@lfp.cuni.cz

miRNA v tekutých biopsiích: proč preanalytika rozhoduje

¹2Boušková V., ¹2Hříbková N., ¹Rao B.H., ¹3Vyčítal O., ¹4Fiala O., ¹4Šorejs O.,

¹2Hlaváč V., ¹2Souček P.

¹Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika;

²Oddělení toxikogenomiky, Státní zdravotní ústav, Praha, Česká republika;

³Chirurgická klinika, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika;

⁴Onkologická a radioterapeutická klinika, Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika

MicroRNA (miRNA) jsou malé nekódující RNA, které post-transkripčně regulují genovou expresi a mohou ovlivňovat celé buněčné dráhy prostřednictvím vazby na široké spektrum cílových genů. Jejich dysregulace má rozsáhlý vliv téměř na všechny biologické procesy a podílí se na celé řadě patologických změn, včetně nádorové transformace buněk, jejich progresu a vzniku metastáz. MiRNA detekovatelné v krevní plazmě, séru či jiných tělních tekutinách představují slibné neinvazivní biomarkery, především v onkologii, kde mohou odrážet molekulární charakter nádoru a terapeutickou odpověď. Analytická spolehlivost měření miRNA je však výrazně ovlivněna preanalytickými faktory, jako je typ vzorku, doba a podmínky zpracování, hemolýza či skladování, které mohou mít na výslednou koncentraci a detekovatelnost miRNA větší vliv než samotná volba analytické metody.

Cílem přednášky je upozornit na všechny klíčové složky procesu zpracování RNA, které jsou důležité pro reprodukovatelné měření miRNA v tekutých biopsiích, včetně popisu preanalytických proměnných, kontroly kvality RNA s využitím spike-in kontrol (od izolace po přípravu NGS knihoven), strategií normalizace a přehledu výhod a limitů aktuálně používaných analytických platform. Jednotlivé kroky budou diskutovány z pohledu naší reálné laboratorní praxe při sledování hladin miRNA u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem.

Podpora projektu: Agentura pro zdravotnický výzkum České republiky, projekt č. NW25J-08-00050 a Grantovou agenturou Univerzity Karlovy v Praze, projekt č. 183424.

Prof. RNDr. Ilona Hromadníková, PhD.

Gynekologicko-porodnická klinika, Ústav pro péči o matku a dítě, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

Podolské nábřeží 157, 147 00 Praha 4

tel: +420 602 272 986

e-mail: ilona.hromadnikova@lf3.cuni.cz

Prvotrimestrální prediktivní diagnostika závažných těhotenských komplikací pomocí miRNA

Hromadníková I., Kotlabová K., Krofta L.

Gynekologicko-porodnická klinika, Ústav pro péči o matku a dítě, 3. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

Představujeme nové prediktivní modely pro gestační hypertenzi (GH), preeklampsii (PE), fetální růstovou restrikci (FGR), plody konstitučně malé vzhledem k danému gestačnímu věku (SGA), předčasný porod (PP), gestační *diabetes mellitus* (GDM), a těhotenské ztráty na bázi miRNA biomarkerů, a případně dalších maternálních rizikových faktorů. Vyšetření se provádí z plně periferní žilní krve matky (2 ml) a je koncipováno jako součást prvotrimestrálního skríninku mezi 10. – 13. gestačním týdnem. Pro vyšetření jsou využity miRNA molekuly, které se podílejí na řízení kardiovaskulárního systému, a které se rovněž podílejí na rozvoji kardiovaskulárních a cerebrovaskulárních onemocnění. Tyto nové technologie je možné aplikovat jak bez znalosti klinických dat pacientky, tak v kombinaci s maternálními rizikovými faktory. Oba přístupy poskytují vysokou senzitivitu a specificitu. Vyšetření je možné provádět v běžné genetické laboratoři využívající široce dostupnou technologii PCR v reálném čase. Vyšetření významně vylepšuje stávající výsledky prvotrimestrálního skríninku pro PE a FGR. Nově predikuje pozdější výskyt celé řady dalších závažných těhotenských komplikací, jež nejsou v rámci stávajícího prvotrimestrálního skríninku dostupné. Jedná se o unikátní technologie, které byly patentovány (ochrana duševního vlastnictví prostřednictvím Úřadu průmyslového vlastnictví) a jenž byly licencovány dceřinnou společností Univerzity Karlovy GeneSpector Innovations k uvedení na trh. Za vývoj těchto technologií bylo uděleno ocenění Česká hlava, cena Lorem.

Podpora projektu: Cooperatio vědecký program Univerzity Karlovy „Péče o matku a dítě“ č. 207035.

Mgr. Romana Moutelíková, Ph.D.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.
Hudcova 296/70, 62100 Brno

tel: +420 533 331 101

e-mail: romana.moutelikova@vri.cz

Taxonomie rotavirů, různé způsoby jejich přenosu a změny v epidemiologii v souvislosti s vakcinací

Moutelíková R., Prodělalová J.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství

V roce 2022 dle zprávy ICTV byla původní čeleď *Reoviridae* nahrazena řádem *Reovirales*, který obsahuje dvě čeledi – *Sedoreoviridae* (kam patří i rod *Rotavirus*) a *Spinareoviridae*. Jsou to neobalené viry s trojvrstevnou kapsidou a genomem tvořeným 11 segmenty dvouvláknové RNA, z nichž každý segment kóduje až na výjimky jeden protein. Taxonomie rotavirů je založena především na antigenních a genetických vlastnostech vnitřního kapsidového proteinu VP6, podle jehož sekvence jsou rotaviry zařazovány do druhů označovaných písmeny abecedy. Doposud bylo popsáno 11 druhů (také nazývaných skupin), označených jako Rotavirus A–D, F–L. Jednotný klasifikační a nomenklaturní systém založený na nukleotidových identitách 11 segmentů genomu rotaviru a fylogenetické podobnosti byl vytvořen pracovní skupinou pro klasifikaci rotaviru A [1, 2]. Tento klasifikační systém v současné době zahrnuje 42 G-typů (VP7), 58 P-typů (VP4), 32 I-typů (VP6), 28 R-typů (VP1), 24 C-typů (VP2), 24 M-typů (VP3), 39 A-typů (NSP1), 28 N-typů (NSP2), 28 T-typů (NSP3), 32 E-typů (NSP4) a 28 H-typů (NSP5/6) [3]. Podobný klasifikační systém byl vytvořen pro rotaviry B a C [4, 5]. Pro člověka má zásadní význam zejména druh Rotavirus A (RVA), který je hlavní příčinou těžkých průjmů u kojenců a malých dětí, zatímco ostatní druhy infikují převážně zvířata, případně vzácně člověka (RVB, RVC, RVH). Další taxonomické členění vychází ze sekvence genů pro povrchové proteiny VP7 (G-typ) a VP4 (P-typ), které určují genotypy. Sledování kombinace G a P typů umožňuje detailní klasifikaci kmenů, hodnocení jejich evoluce a epidemiologie a je také zásadní pro vývoj vakcín a zjišťování jejich účinnosti. Rotaviry se přenášejí především fekálně-orální cestou, tedy požitím viru z kontaminovaných rukou, povrchů, předmětů nebo potravin. Rotaviry jsou nejčastěji prokazovány ve stolici, ale byly opakovaně zjištěny i v jiných biologických vzorcích. U části pacientů byla detekována virémie, tedy přítomnost rotavirové RNA v krvi (séru nebo plazmě), zejména u kojenců s těžším průběhem onemocnění. Rotavirová RNA nebo antigeny byly dále nalezeny v mozkomíšním moku, což souvisí s popsávanými neurologickými komplikacemi (např. křeče). Virus byl prokázán také v respiračních vzorcích (nosohltanové výtěry, sliny), i když význam tohoto nálezu pro přenos není zcela objasněn. Ojedinele byly rotaviry detekovány v moči.

Tyto nálezy potvrzují, že rotavirová infekce může mít systémový charakter a že virus je schopen přežívat a cirkulovat i mimo gastrointestinální trakt. Mimo klinické vzorky člověka se rotaviry často nacházejí v odpadních vodách, povrchové a pitné vodě, kde slouží jako indikátory fekální kontaminace. Vakcinace proti rotavirům je postupně zaváděna od roku 2006. V důsledku očkování došlo k poklesu počtu úmrtí v důsledku GE u dětí mladších 5 let o 36 % a ke snížení počtu hospitalizací souvisejících s RV gastroenteritidou o 40 – 70 %. Ačkoli RVA vakcíny prokázaly významný vliv na snížení dětské úmrtnosti obzvláště v rozvíjejících se ekonomikách, jejich účinnost je nižší vůči onemocněním způsobeným jinými než vakcinačními genotypy, což platí obzvláště pro monovalentní vakcínu Rotarix obsahující antigeny G1 a P [8]. Zatímco před zavedením vakcinace byly převládajícími genotypy ve většině světa s výjimkou afrického kontinentu G1P [8] a G9P [8] (více než 45 % typizovaných vzorků), v postvakcinačních studiích se ve větší míře uplatňovaly genotypy G2P [4], G3P [8] a G12P [8] (48 %). Posuny ve výskytu převládajících genotypů se nicméně v menší míře objevují i v zemích, kde je pokrytí vakcínami minimální. Aby bylo možné určit, zda jsou tyto změny výsledkem selektivního tlaku vakcín nebo přirozených časových výkyvů, je nutný robustní globální sběr a analýza dat v průběhu delšího časového úseku.

Tato studie byla finančně podpořena projektem NaCeBiVet Technologické agentury České republiky (č. TN02000017) a projektem Koncepce VaVal Ministerstva zemědělství (č. RO0523).

Literatura

- [1] Matthijssens J, Ciarlet M, Rahman M et al.: Recommendations for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments. Arch Virol 2008. doi: 10.1007/s00705-008-0155-1
- [2] Matthijssens J, Ciarlet M, McDonald SM et al.: Uniformity of Rotavirus Strain Nomenclature Proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWF). Arch Virol 2011. doi: 10.1007/s00705-011-1006-z
- [3] rega.kuleuven.be/cev/viralmetagenomics/virus-classification/rcwg
- [4] Shepherd FK, Herrera-Ibata DM, Porter E et al.: Whole Genome Classification and Phylogenetic Analyses of Rotavirus B strains from the United States. Pathogens 2018. doi: 10.3390/pathogens7020044
- [5] Suzuki T, Hasebe A.: A provisional complete genome-based genotyping system for rotavirus species C from terrestrial mammals. J Gen Virol 2017. doi: 10.1099/jgv.0.000953
- [6] Amin AB, Cates JE, Liu Z et al.: Rotavirus Genotypes in the Postvaccine Era: A Systematic Review and Meta-analysis of Global, Regional, and Temporal Trends by Rotavirus Vaccine Introduction. J Inf Dis 2024. doi:10.1093/infdis/jiad403

Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

VŠCHT Praha

Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice

tel: +420 220 445 196

e-mail: Kamila.Zdenkova@vscht.cz

Sledování výskytu vybraných virů ve vodním prostředí se zaměřením na MPXV, rotaviry a adenoviry

¹Klementová K., ¹Ledinský T., ¹Čermáková E., ²Košinová A., ³Tomi V., ³Kvaček R.,
²Bartáčková J., ²Bartáček J., ²Kouba V.

¹VŠCHT Praha, *Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Ústav biochemie a mikrobiologie*

²VŠCHT Praha, *Fakulta technologie ochrany prostředí, Ústav technologie vody a prostředí*

³Pražské vodovody a kanalizace, a. s.

Epidemiologie založená na analýze odpadních vod (WBE) umožňuje sledovat výskyt infekčních agens v populaci pomocí biomarkerů, identifikovat epidemiologické trendy a včas detekovat vznikající epidemie, přičemž dokáže zachytit i asymptomatické případy. V monitoringu virových agens se v současnosti převážně využívají metody založené na detekci a kvantifikaci nukleových kyselin, které mohou sloužit také k hodnocení účinnosti procesů úprav vody. Rutinní analýzy nukleových kyselin proto představují nezastupitelnou součást přístupů využívaných v rámci WBE.

V rámci analýz DNA virů ve vzorcích vod se naše práce zaměřila na virus opičích neštovic (MPXV), který se v roce 2022 stal globální hrozbou pro veřejné zdraví. Byla zavedena metodika pro monitorování MPXV v odpadních vodách a analyzovány vzorky pražských odpadních vod odebrané v období od srpna do října 2022, kdy bylo hlášeno pouze 29 kumulativních případů. Pražské odpadní vody byly pozitivní na MPXV (celkem devět pozitivních vzorků v obdobích s 1 – 9 novými případy týdně, což odpovídalo týdenní incidenci 0,07 – 0,64 na 100 000 obyvatel). Kromě qPCR byla provedena semi-nested PCR a Sangerovo sekvenování; postup byl validován na pozitivních kontrolách včetně inaktivovaných částic MPXV a MPXV-pozitivních odpadních vod z Nizozemska [1]. Vývoj metodiky pokračoval i po ukončení této pilotní studie, byla vyvinuta multiplexní qPCR metoda pro simultánní amplifikaci MPXV, adenovirů A–F, crAssphage a interní (syntetické) kontroly. Protokol byl ověřen analýzou inaktivovaných virionů MPOX a vzorků odpadních vod [2].

Po pandemii COVID-19 jsme se v rámci analýz RNA virů zaměřili na další relevantní RNA viry. Cílem naší práce je vývoj rychlé a citlivé multiplexní RT-qPCR metody pro sledování RNA rotavirů, zejména séroskupiny A. V rámci řešení byla navržena syntetická sekvence dsDNA, která slouží jako kontrolní a standardizační materiál pro vyvíjenou metodu. Současně byla sledována její stabilita v roztocích za účelem zajištění přesné

kvantifikace. Následně bylo pomocí standardů a reálných vzorků testováno nastavení multiplexních reakcí a navržen systém pro paralelní detekci a kvantifikaci séro skupin lidských rotavirů A, B a C, který je nyní experimentálně ověřován. Aplikace vyvinutých protokolů na vzorky odpadních vod potvrdila jejich funkčnost a umožnila detekci rotavirů i dalších markerů, jako jsou noroviry, bakteriofág MS2 a virus mírné skvrnitosti paprik (PMMoV). Vzhledem k nízkým koncentracím rotavirů ve vzorcích bude práce dále směřovat k vývoji a validaci metody dPCR.

Podpořeno projekty: TA ČR SS07020223 a A1_FTOP_2025_002.

Literatura

[1] Bartáčková et al.: Monitoring of monkeypox viral DNA in Prague wastewater. STOTEN 2023, 902: 166110.

[2] Ledinský T.: Molekulárně-biologické stanovení DNA viru Mpox. BP, VŠCHT Praha, 2025.

Ing. Anna Košinová

VŠCHT Praha

Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice

tel: +420 220 445 225

e-mail: kosinova@vscht.cz

Zkušenosti z monitoringu DNA i RNA virových původců gastroenteritid v povrchových vodách a procesech úpravy vody

¹Košinová A., ¹Řezáčová M., ¹Buková E., ¹Lopez Marin M. A., ¹Baumruková L.,
³Porubová L., ^{1 2}Kvaček R., ¹Zdeňková K., ¹Bartáčková J., ¹Bartáček J.,
¹Říhová Ambrožová J., ¹Kouba V.

¹Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav technologie vody a prostředí,
Technická 5, 166 28 Praha

²Pražské vodovody a kanalizace, a.s., Ke Kablu 971/1, Hostivař, 102 00 Praha

³Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Partyzánské náměstí 2633/7, Moravská Ostrava,
702 00 Ostrava

Viry pocházející z lidské stolice se spolu s odlehčenou nebo vyčištěnou odpadní vodou dostávají do povrchových vod, jež jsou následně využívány jako zdroj surové vody pro řadu úpraven pitné vody. Mikrobiologické rozборы vody určené k úpravě na pitnou vodu zahrnují kultivaci bakterií indikujících fekální znečištění a v odůvodněných případech rovněž kultivaci somatických kolifágů, které slouží jako ukazatel účinnosti odstranění virů během úpravy vody (viz Vyhláška č. 252/2004 Sb.). Výskyt těchto indikátorů však nemusí korelovat s výskytem patogenních virů ve vodě. V naší práci jsme se proto zaměřili na monitoring především patogenních enterických virů v povrchových vodách a v technologických procesech úpravy vody. Konkrétně jsme provedli výběr a optimalizaci metod pro zakoncentrování virových částic (s použitím bakteriofágů MS2, ϕ X174, inaktivovaných částic adenoviru a nízkopatogenního kmene viru ptačí chřipky) a detekci vybraných enterických virů a virů indikujících fekální znečištění pomocí (RT-)qPCR. Tyto metody momentálně používáme při dlouhodobém monitoringu vybraných původců virové gastroenteritidy (noroviry genoskupin I a II, adenovirus 40/41, rotavirus A) v surové vodě dvou úpraven vody. Zároveň sledujeme dva indikátory fekálního znečištění: pepper mild mottle virus (rostlinný virus přítomný v lidské stolici díky konzumaci paprik) a crAssphage (bakteriofág přítomný v lidském trávicím traktu). Pro DNA cíle crAssphage a adenovirus 40/41 byla úspěšně navržena multiplex qPCR, ale RNA cíle jsou detekovány zvláště z důvodu snížení citlivosti v multiplexu a nízkým koncentracím virové RNA ve vzorcích vody. Kromě pravidelných odběrů probíhaly navíc také odběry během

silných dešťů, aby byl podchycen případný vliv odlehčované odpadní vody. Indikátory crAssphage a pepper mild mottle virus byly detekovány ve vysoké koncentraci ve všech doposud analyzovaných vzorcích. Koncentrace virů během silných dešťů byly poměrně variabilní. Z patogenních virů byl nejčastěji detekován norovirus genoskupiny II. Metodu dále využíváme pro posouzení účinnosti odstranění virů v procesech úpravy vody.

Tento příspěvek byl vytvořen v rámci projektu SS07020223 „Metody nové generace pro vysoce citlivou a rychlou detekci fekálního znečištění a antibiotické rezistence pro podporu oběhového vodního hospodářství“. Tento projekt je financován se státní podporou Technologické agentury ČR v rámci Programu Prostředí pro život. Tento projekt byl financován v rámci Národního plánu obnovy z evropského Nástroje pro oživení a odolnost.

Tento příspěvek byl vytvořen v rámci projektu AVIFLU QL24010383 „Včasné odhalení zdrojů nákazy ptačí chřipky pomocí detekce virových částic v environmentálních vzorcích“.

Děkujeme Státnímu veterinárnímu ústavu Praha, Laboratoři molekulární biologie, za poskytnutí inaktivovaných částic nízkopatogenního kmene viru ptačí chřipky.

doc. Mgr. Petr Králík, Ph.D.

Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie,
Veterinární univerzita Brno
Palackého 1946/1, 61200 Brno

tel: +420 723 764 704

e-mail: kralikp@vfu.cz

Pořaditelnost absolutní kvantifikace DNA jednotlivých složek v masných výrobcích

Králík P., Dziedzinská R.

*Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie,
Veterinární univerzita Brno*

Absolutní kvantifikace DNA pomocí qPCR je dnes v laboratořích tak běžná, že by se dala zařadit mezi základní životní funkce jakéhokoliv pracovníka laboratoře. Klasický přístup využívá kalibrační křivku vytvořenou ze standardní DNA, z níž se jednoduše odečte množství DNA ze vzorku. V praxi je to ovšem o něco méně jednoduché, protože už jen samotný DNA standard může být zdrojem nemalých nejistot, zejména pokud není zcela jasné, co standard přesně obsahuje a jak v něm bylo stanoveno množství DNA. Vedle tohoto klasického postupu se nabízí i alternativní strategie, které se obejdou bez kalibrační křivky. Tyto přístupy jsou využívány relativně okrajově, protože jsou primárně určeny pro jiné typy kvantifikací. To ovšem nikterak nesnižuje jejich aplikovatelnost v praxi při absolutní kvantifikaci DNA. V rámci přednášky se zaměříme na výhody i úskalí různých přístupů k absolutní kvantifikaci DNA, zejména v souvislosti s analýzou masných produktů, tedy oblastí, kde qPCR hraje hlavní roli v odhalování podílů jednotlivých živočišných komponent. Analýza masných produktů zahrnuje celou řadu specifik, která nemají v jiných oborech svůj protějšek. Do hry totiž vstupují faktory jako složení výrobku, tepelná úprava, obsah tuku, přítomnost dalších surovin, což má zásadní vliv na kvalitu a překvapivě také zastoupení DNA jednotlivých komponent. Každý z těchto parametrů může zásadně ovlivnit nejen výsledek kvantifikace, ale i následnou interpretaci dat. Zvláštní kapitolou je pak přepočítání množství DNA na procentuální zastoupení složek, což je proces, který v praxi umí vygenerovat velmi přesné číslo naprosto dokonale neodpovídající realitě. Přednáška tak poodhalí temná zákoutí qPCR analýz masných produktů, od teoretických základů přes praktické limity až po lidovou slovesnost v interpretaci výsledků. Ale hlavně se dozvíte, jak umí prasata zprasit qPCR.

Tato přednáška vychází z výsledků projektu Ministerstva zemědělství QL25020035.

Mgr. Martin Klanica

Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie
Veterinární univerzita Brno
Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

tel: +420 739 365 720

e-mail: klanicam@vfu.cz

Stanovení procentuálního zastoupení jednotlivých komponent živočišného původu v mletém masě a masných polotovarech

¹Klanica M., ¹Kameník J., ¹Svobodová I., ¹Ježek F., ¹Dziedzinská R., ¹Nesvadbová M.,
¹Králík P., ²Honzlová A., ²Šimek B.

¹Veterinární univerzita Brno

²Státní veterinární ústav Jihlava

V posledních desetiletích dochází k výraznému nárůstu spotřeby masa, přičemž mezi nejčastěji konzumované produkty patří mleté maso, zejména směsi hovězího a vepřového. Přestože evropská i národní legislativa jasně definuje požadavky na složení mletého masa a masných polotovarů, v praxi zůstává ověřování deklarovaného druhového složení problematické, a to zejména z důvodu variability vstupní suroviny, technologického zpracování a nejistot analytických metod. Projekt se zaměřuje na systematické hodnocení faktorů ovlivňujících interpretaci výsledků DNA analýz při stanovení druhového složení mletého masa a masných výrobků. Pozornost je věnována zejména vlivu podílu svalové, tukové a pojivové tkáně, technologického zpracování a kombinace analytických postupů na výsledky kvantitativní PCR (qPCR). V rámci projektu jsou připravovány modelové vzorky směsí hovězího a vepřového masa v definovaných poměrech (10 : 90 až 90 : 10 %) a s různým obsahem tuku, které pokrývají reálně se vyskytující kombinace surovin. Tyto laboratorní modely budou následně doplněny vzorky z reálné výroby získanými od producentů mletého masa a tepelně opracovaných masných polotovarů. Analýzy jsou prováděny pomocí akreditované komerční qPCR metody a alternativní metodiky umožňující kvantifikaci i vícedruhových směsí, přičemž výsledky jsou validovány stanovením celkového obsahu masa a chemickými metodami dle platné metodiky Ministerstva zemědělství. Projekt je uskutečněn s podporou Ministerstva zemědělství NAZV QL25020035 a jeho cílem je vytvoření statistického modelu umožňujícího jednotnou a spolehlivou interpretaci výsledků druhové analýzy masa s ohledem na všechny relevantní nejistoty. Výsledky přispějí ke zvýšení objektivity úředních kontrol a mají potenciál k širšímu uplatnění v mezinárodním kontextu. Tato přednáška se zaměřuje na popis výroby modelových vzorků mixů hovězího a vepřového masa, následnou DNA analýzu, její výsledky a statistické zpracování.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.

Hudcova 70, 621 00 Brno

tel: +420 777 786 321

e-mail: jana.prodelalova@vri.cz

Patogeny jedlého hmyzu jako nová výzva ve veterinární diagnostice

Straková, P., Moutelíková, R., Juřicová, H., Kořená, K.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.

Hmyz je stejně jako jiná hospodářská zvířata napadán mnoha patogeny a parazity. Nejprozkoumanější jsou z tohoto hlediska včela medonosná (*Apis mellifera*) a bourec morušový (*Bombix mori*). V našich podmínkách, pomineme-li oblast včelařství, přicházejí v úvahu následující druhy hmyzu: cvrček domácí (*Acheta domestica*), potěmník stájový (*Alphitobius diaperinus*), saranče stěhovavá (*Locusta migratoria*), potěmník moučný (*Tenebrio molitor*). Jedná se o druhy hmyzu, které je možné uvádět na trh EU na základě Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/2283, o nových potravinách, a které zároveň prošly hodnocením bezpečnosti a schvalovacím procesem Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA). Ve schvalovacím procesu EFSA jsou momentálně i dva doposud neschválené hmyzí druhy, trubčí plod včely medonosné a larvy mouchy *Hermetia illucens*. Dostupných informací o patogenech výše uvedených druhů hmyzu není v současnosti mnoho. Viry hmyzu se vyznačují vysokou mírou hostitelské specifity a onemocnění často vede ke značným ekonomickým ztrátám, protože viry jsou schopny velmi rychle chov zcela zlikvidovat. Ve velkochovu dochází k přenosu virů a následnému propuknutí virózy snadněji než v přirozeném prostředí. Přispívá k tomu mnoho faktorů, jako jsou teplota a relativní vlhkost, koncentrace CO₂, výživa, hustota populace, přítomnost toxinů nebo koinfekce. Mezi nejvýznamnější DNA viry způsobující onemocnění hmyzu patří iridoviry, parvoviry; z mnoha RNA virů lze zmínit cripaviry. Iridoviry (rod *Iridovirus*) jsou velké viry s dvouřetězcovou DNA. Iridescentní virus bezobratlých způsobuje fatální onemocnění larev potěmníka moučného, kdy dochází k úhynům tmavě zbarvených a paralyzovaných larev; v některých případech k typické modré iridescenci. Ze skupiny parvovirů je nutné zmínit zástupce podčeledi *Densovirina* s jednovláčkovou DNA, kteří jsou schopni zdecimovat chovy potěmníků (*T. m. densovirus*) i cvrčků (*A. d. densovirus*). Zástupce rodu *Cripavirus*, virus obrny cvrčků, s jednořetězcovou RNA, byl izolován z uhynulých cvrčků s příznaky obrny zadních nohou a ztráty koordinace. Oproti virům mají entomopatogenní bakterie širší hostitelské spektrum. Jedná se zejména zástupce rodů *Bacillus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Photorhabdus*, *Proteus* a *Xenorhabdus*. Významným intracelulárním parazitem je *Rickettsiella grylli*. Do chovu

se mohou dostat kontaminovaným krmivem, podestýlkou nebo mechanickými vektory. Vnímavost hmyzu k onemocnění zvyšuje environmentální stres, zejména špatná hygiena chovu. Pro diagnostiku virů, entomopatogenních bakterií i genů rezistence je metodou volby využití PCR. V případě bakterií využíváme zejména sekvenaci genu pro 16S rDNA. V doposud analyzovaných více než 60 vzorcích krmného hmyzu bez známek zjevného onemocnění a o druhovém složení odpovídajícím schváleným druhům jedlého hmyzu byly detekovány tři druhy DNA virů (densovirus, iridovirus, volvovirus) a jeden druh RNA virů (iflavirus). Abundance nejvíce zastoupených bakteriálních kmenů se u jednotlivých druhů hmyzu významně lišila. Zajímavostí je doposud nepopsaná skupina kmene *Proteobacteria*, která se v procentuálním zastoupení 23 % objevuje u sarančat. Zástupci kmene *Firmicutes* byli detekováni ve všech analyzovaných vzorcích hmyzu s přibližně stejnou abundancí, avšak složení bakteriálních druhů/rodů se mezi druhy hmyzu liší. Nejčtenější je rod *Weissella* detekovaný výhradně u sarančat.

Výzkum je financován projektem NAZV QL24010336.

Mgr. Petra Straková, Ph.D.

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

tel: +420 731 514 785

e-mail: petra.strakova@vri.cz

Geny antibiotické rezistence detekované u hmyzu z tuzemské obchodní sítě

Straková P., Moutelíková R., Prodělalová J.

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Oddělení infekčních chorob a preventivní medicíny, Brno

Antibiotická rezistence představuje globální problém veřejného zdraví. Geny antibiotické rezistence (AR) jsou rozšířené v různých složkách životního prostředí. Byly detekovány např. v povrchových a odpadních vodách, v půdě, sedimentech, v hospodářských zvířatech a jejich exkrementech, ale také v potravinách živočišného i rostlinného původu. Velkým rezervoárem těchto genů jsou např. nemocnice a zemědělské provozy. V našem projektu jsme se zabývali otázkou, jakou roli v šíření/výskytu genů AR může hrát jedlý/krmný hmyz. Dle literatury byl volně žijící hmyz, jedlý i krmný hmyz potvrzen jako rezervoár genů antibiotické rezistence. Mezi nejčastěji detekované geny AR patří geny pro rezistenci k tetracyklinu, makrolidům, betalaktamům, vankomycinu apod. Jako hlavní zdroj genů AR u jedlého/krmného hmyzu byl určen substrát (krmná směs) a chovné prostředí. V našem projektu jsme se zaměřili na detekci genů AR v homogenátech z testovaného hmyzu pomocí molekulárních metod (PCR). U jedlého hmyzu získaného z tuzemské obchodní sítě jsme detekovali geny rezistence k tetracyklinu a vankomycinu. Dalším cílem této části projektu je zaměřit se na detekci genů AR v jednotlivých částech chovného procesu (krmivo, chovné prostředí, různá stádia hmyzu, odpad).

Práce byla finančně podpořena projektem NAZV QL24010336.

Literatura

Rawat, N.A., Shreyata, B.B., Jamwal, R. et al.: Understanding the role of insects in acquisition and transmission of antibiotic resistance. *Sci Total Environ* 2023; 858: 159805.

Milanovic, V., Osimani, A., Pasquini, M. et al.: Getting insight into the prevalence of antibiotic resistance genes in specimens of marketed edible insects. *Int J Food Microbiol*. 2016; 227: 22 – 28.

Roncolini, A., Cardinali, F., Aquilanti, L. et al.: Investigating antibiotic resistance genes in marketed ready-to-eat small crickets (*Acheta domesticus*). *J Food Sci* 2019; 84 (11): 3222 – 3232.

Mgr. Veronika Kašná

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

tel: +420 734 185 028

e-mail: veronika.kasna@zuova.cz

Záškrť! Praktický průvodce (nejen) PCR diagnostikou

¹Kašná V., ¹Mrázek J., ¹Homolová M., ²Pohludková K.

¹Centrum klinických laboratoří, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

²Klinika infekčního lékařství, Fakultní nemocnice Ostrava

Záškrť (difterie) je závažné infekční onemocnění způsobené bakterií *Corynebacterium diphtheriae*, která produkuje vysoce účinný toxin vedoucí k poškození tkání a systémovým komplikacím. Onemocnění postihuje především horní cesty dýchací, kde se projevuje tvorbou typických šedobílých povlaků, ale může mít i kožní formu. Přestože je záškrť v rozvinutých zemích díky plošnému očkování vzácný, jeho výskyt zůstává významným rizikem v oblastech s nízkou proočkovaností a v souvislosti s migrací obyvatelstva. Včasná a přesná laboratorní diagnostika je klíčová pro zahájení adekvátní léčby a prevenci dalšího šíření infekce.

Detekce záškrťu je založena na kombinaci klinického hodnocení a laboratorních metod. Základní diagnostický postup zahrnuje kultivaci vzorků z postižených míst a následnou identifikaci bakterie pomocí MALDI-TOF MS. Pro potvrzení toxigenity kmene se využívá Elekův test, který detekuje produkci difterického toxinu. Moderní molekulárně-biologické metody, zejména polymerázová řetězová reakce (PCR), umožňují rychlou a citlivou detekci genu pro toxin (*tox gen*). Tyto metody významně přispívají ke zrychlení diagnostiky a zlepšení kontroly onemocnění. Kombinace klasických a moderních přístupů představuje současný standard v detekci záškrťu.

V České republice dle dat NRL bylo v roce 2025 potvrzeno celkem 11 pozitivních případů *C. diphtheriae*, stejně jako v roce 2024. V roce 2023 bylo potvrzeno 7 případů a v roce 2022 5 případů. V letech 2018 až 2021 nebyl potvrzen žádný případ. V Evropě jsme dle ECDC (2022 – 2025) společně s Norskem s 14 záchyty na 6. místě ve výskytu záškrťu po Německu (292), Francii (70), Rakousku (65), Belgii (43) a Nizozemsku (23). Nejméně případů (1) je zachyceno v Lucembursku.

V roce 2025 jsme v naší laboratoři zavedli komerční real-time PCR testování pro kvalitativní detekci *C. diphtheriae* (*rpo B gen*) vč. genů kódujících toxinu *C. diphtheriae* a *C. ulcerans*. V období 11/2025 jsme touto metodou otestovali 18 vzorků (stěry z krku, nosohltanu, morf a hemokultury) s nálezem 3 pozitivních pacientů. Jednalo se o roční neočkované dítě a jeho rodiče s následným testováním kontaktů. Dítě bylo PCR pozitivní s detekcí *C. diphtheriae* vč. genu pro toxin ze stěru nosohltanu, morfy i hemokultury.

Matka byla PCR pozitivní ze stěru z morfy na *C. diphtheriae* vč. genu pro toxin. Otec byl rovněž PCR pozitivní z výtěru z nosohltanu na *C. diphtheriae* vč. genu pro toxin.

Jedinou možností prevence proti záškrtu je očkování. V ČR se očkují děti do 11 let. Dále WHO a ECDC doporučují přeočkování proti záškrtu každých 10 let kvůli vyvanutí imunity v dospělosti.

Mgr. Jana Zavadilová

Státní zdravotní ústav
Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10

tel: +420 267 082 225

e-mail: jana.zavadilova@szu.gov.cz

Co nám prozradila celogenomová sekvenace o kmenech *Bordetella pertussis* izolovaných v letech 2019 – 2024 v České republice

Zavadilová J., Musílek M., Hoskus M.

NRL pro pertusi a difterii, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav

NRL pro meningokokové nákazy, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav

Cílem celogenomové sekvenace (WGS) kmenů *Bordetella pertussis* bylo vzájemné porovnání genomů, charakterizace genů vakcinačních antigenů a genů makrolidové rezistence. Byly porovnávány izolované kmeny *B. pertussis* z let 2019 – 2024 z České republiky.

WGS byla provedena na platformě Illumina MiSeq. WGS data byla upravena pomocí softwaru Velvet de novo Assembler s využitím skriptu Velvet-Optimiser a výsledné genomy byly poslány do mezinárodní databáze Pasteurova Institutu BIGSdb-Pasteur obsahující alelové a genomové údaje kmenů rodu *Bordetella*. Pro analýzu a vzájemné porovnání genomů byl použit program Genome Comparator, který je součástí databáze BIGSdb-Pasteur.

Pomocí WGS dat bylo možné rozlišit homogenní populaci českých izolátů *B. pertussis* a prokázat, že izoláty z roku 2024, které způsobily na našem území epidemii, jsou geneticky odlišné od izolátů *B. pertussis* z let 2019 – 2020.

Podpořeno grantem EU Genomic surveillance of selected infectious diseases in the Czech Republic (projekt 101113387-HERA2CZEU4H-2022-DGA-MS-IBA-1).

Ing. Marija Kaevska, Ph.D.

FN Brno

Jihlavská 20, 625 00 Brno

tel: +420 774 215 856

e-mail: Kaevska.marija@fnbrno.cz

PCR detekce komplexu *Mycobacterium tuberculosis* (TBC) v klinických vzorcích pacientů Fakultní nemocnice Brno

¹Kaevska M., ^{1,2}Hykelová V., ¹Koumalová S., ³Svobodová J., ³Adámková I., ¹Mrkvicová M.

¹Ústav Laboratorní medicíny, Fakultní nemocnice Brno

²Ústav veřejného zdraví, Lékařská fakulta, Masaryková Univerzita

³IFCOR – KLINICKÉ LABORATOŘE, s.r.o

Diagnostika mykobakterií, zejména komplexu *Mycobacterium tuberculosis* jako původce tuberkulózy, zahrnuje kombinaci klinického vyšetření, zobrazovacích metod (RTG plic), tuberkulinového kožního testu a laboratorního průkazu mykobakterií vč. IGRA testů. Přímý průkaz mykobakterií v klinickém materiálu se provádí mikroskopicky, kulti-vačně a pomocí molekulárně-biologických metod, zejména real-time PCR, která hraje klíčovou roli v rychlé a specifické detekci mykobakterií i identifikaci lékové rezistence.

V laboratořích Ústavu laboratorní medicíny FN Brno byl sestaven protokol pro izolaci DNA mykobakterií z respiračních vzorků i dalších typů klinického materiálu, následova-ný PCR detekcí mykobakterií komplexu *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* komplexu a ostatních netuberkulózních mykobakterií. U všech vzorků s pozitiv-ním záchytem *Mycobacterium tuberculosis* komplexu byl protokol dále rozšířen o ana-lyzu přítomnosti mutací v genech souvisejících s rezistencí mykobakterií k rifampicinu a isoniazidu

V příspěvku prezentujeme výsledky rutinních laboratorních vyšetření z let 2023 – 2025, včetně zkušeností s různými komerčně dostupnými soupravami pro izolaci a detekci mykobakterií a mutací v genech vedoucích k jejich rezistenci.

Během sledovaného období bylo na Oddělení klinické mikrobiologie a imunolo-gie ÚLM FN Brno vyšetřeno celkem 2 057 vzorků od 1 667 pacientů. *Mycobacterium tuberculosis* komplex byl detekován v 87 vzorcích pocházejících od 61 pacientům. U 15 vzorků byla prokázána DNA netuberkulózních mykobakterií, nejčastěji zástupců komplexu *Mycobacterium avium*. Mutace genomu podmiňující rezistenci k rifampici-nu nebo isoniazidu byly detekovány ve vzorcích pocházejících od 6 pacientů. Získané výsledky byly následně porovnány s výsledky kulturačního a mikroskopického vyšetření prováděného v laboratoři IFCOR.

Přestože kultivace zůstává základní a nepostradatelnou součástí diagnostiky mykobak-teriálních infekcí, má metoda PCR nesporný význam v rutinní diagnostice, především

díky možnosti rychlé a specifické detekce komplexu *Mycobacterium tuberculosis* přímo z klinického materiálu. Zároveň umožňuje včasnou identifikaci mutací v genomu mykobakterií, které jsou spojeny s rezistencí k základním antituberkulotikům, rifampicinu a isoniazidu. Tyto informace jsou klíčové pro včasné zahájení cílené a efektivní léčby pacienta a omezení neúčinné terapie a mohou tak významně přispět ke zlepšení klinického výsledku i omezení šíření rezistentních kmenů.

Podpořeno projektem MZ ČR – koncepční rozvoj výzkumné organizace (FNBr, 65269705).



Mgr. Zuzana Okonji

NRL pro meningokokové nákazy, Státní zdravotní ústav, Praha
Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10

tel: +420 702 209 122

e-mail: zuzana.okonji@szu.gov.cz

Využití molekulárních metod v diagnostice a surveillance invazivního meningokokového onemocnění v České republice

Okonji Z.

NRL pro meningokokové nákazy, Státní zdravotní ústav, Praha

Invazivní meningokokové onemocnění (IMO) představuje velice závažnou perakutně probíhající bakteriální infekci způsobenou *Neisseria meningitidis* s vysokou smrtností (průměrně 10 %, u hypervirulentních meningokoků až 25 %) a až 30 % rizikem trvalých následků u přeživších. Z tohoto důvodu je třeba zajistit kvalitní a rychlou laboratorní diagnostiku a surveillance IMO. Zlatým standardem laboratorní diagnostiky je stále kulti-vace, nicméně u IMO představují velkou část diagnostiky a typizace molekulární metody. Využití molekulárních metod v Národní referenční laboratoři pro meningokokové nákazy SZÚ (NRL MEN) je široké: významně zlepšují možnost včasné detekce IMO, umožňují diagnostiku *Neisseria meningitidis* u kultivačně negativních vzorků, detailní charakterizaci kmenů *N. meningitidis*, hledání příbuzenských vztahů *N. meningitidis*, řešení epidemií i outbreaků, sledování importů a přeshraničních hrozeb, zjišťování antibiotické rezistence, sledování pokrytí kolujících kmenů dostupnými vakcínami, monitoring průlomových infekcí. Nejčastěji využívanými metodami jsou PCR v nejrůznějších modifikacích (především real-time PCR), Sangerovo sekvenování metodou MLST (Multilocus Sequence Typing) a celogenomová sekvenace (Whole Genome Sequencing, WGS). Prezentovány budou aktuální analýzy NRL MEN zaměřené především na fylogenetickou cgMLST analýzu invazivního meningokokového onemocnění v ČR, analýzu změn populace meningokoků průběhu covidového a post-covidového období, či sledování pokrytí kolujících kmenů dostupnými vakcínami.

Institute of Applied Biotechnologies a. s.
Kramolínská 955, 199 00 Praha

tel: +420 731 385 869

e-mail: jan.kotrys01@upol.cz | honza.kotrys@seznam.cz

Profilování lidského střevního mikrobiomu s využitím analýzy 16S a metagenomických NGS dat a inovativních přístupů k jejich interpretaci

¹Kašný M., ¹Hladíková E., ¹Ambrozová L., ¹Stivínová K., ¹Hamplová A., ¹Mičúchová A., ¹Tomko N., ¹Mertová I., ^{1,3}Kotrys J., ¹Bezděková-Fillerová R., ¹Halmová D., ¹Budiš J., ¹Kvapil P.

¹*Institute of Applied Biotechnologies, Kramolínská 955, Letňany, 199 00 Prague, Czech Republic*

²*Geneton s.r.o., Ilkovičova 8, 841 04 Bratislava, Slovakia*

³*Palacký University Olomouc, Faculty of Science, Department of Biochemistry, 17. listopadu 12, 771 46 Olomouc, Czech Republic*

Analýza mikrobiálních společenstev lidského střeva je nezbytným předpokladem pro odhalení komplexních taxonomických a funkčních aspektů, které by mohly pomoci formulovat hypotézy týkající se role mikrobioty v lidských stravovacích návycích a následně i ve zdraví a nemocech. Zavedení technologií sekvenování nové generace (NGS) pro analýzu lidského střevního mikrobiomu umožňuje generování relevantních a robustních dat, a tím vysvětluje klíčové parametry mikrobiální dynamiky.

Cílem naší studie je poskytnout standardní postup pro analýzu lidského střevního mikrobiomu na základě dat NGS – genu 16S rRNA (16S) a celého metagenomového shotgun sekvenování (WMGS) s využitím dostupných molekulárně-biologických aplikací a různých bioinformatických postupů.

Vzorky byly odebrány ze stolice od 10 dárců bez klinického podezření na jakékoli onemocnění. Knihovny 16S NGS byly připraveny pomocí sady 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Kit (Illumina) a knihovny WMGS pomocí QIAseq FX DNA Library Core Kit (QIAGEN). Ekvimolárně poolované knihovny NGS byly sekvenovány na platformách Illumina, knihovny 16S na MiSeq v režimu 2x300 a knihovny WMGS na NovaSeq X Plus v režimu 2x150. Pro charakterizaci mikrobiálního taxonomického složení byly testovány bioinformatické postupy, přizpůsobené specifickým laboratorním pracovním postupům.

Podle našich zjištění nabízí sekvenování 16S rRNA z ekonomického hlediska efektivní a výpočetně méně náročný přístup, ačkoli výsledky jsou omezeny taxonomickým rozlišením pouze bakteriální složky bioty a na úrovni rodu. WMGS data poskytují

komplexnější výstupy, které umožňují identifikaci až na úroveň druhu, a zahrnují i detekci nebakteriálních organismů, jako jsou viry, houby a paraziti.

Volba mezi 16S a WMGS by se měla řídit dostupnými finančními zdroji, cíli studie a požadovanou úrovní rozlišení. Zatímco 16S zůstává vhodným nástrojem pro rychlé a cenově efektivní taxonomické profilování, WMGS přístup je výhodný zejména ve spojení s robustními automatizovanými výpočetními nástroji, umožňuje komplexní a více-rozměrný průzkum mikrobioty a jejího funkčního významu pro zdraví a onemocnění člověka. WMGS analýza navíc umožňuje funkční charakterizaci mikrobiálních společenstev identifikací genů souvisejících s metabolickými dráhami, rezistencí na antibiotika a patogenním potenciálem.

Podle stanoviska českých odborných mikrobiologických společností je analýza střevního mikrobiomu v současnosti primárně výzkumným nástrojem, jehož klinická interpretace musí být prováděna s opatrností. Vzhledem k vysoké interindividuální variabilitě mikrobioty, absenci referenčních hodnot a omezené kauzální interpretovatelnosti nelze metagenomická data považovat za samostatný diagnostický podklad a jejich hodnocení musí být vždy zasazeno do širšího klinického kontextu.

Poděkování: Tato studie byla spolufinancována Evropskou unií, projekt CZ.01.01.01/01/24_063/0006804 BiDi-Me

Mgr. Pavel Sauer, Ph.D.

Fakultní nemocnice Olomouc
Zdravotníků 248/7, 779 00 Olomouc

tel: +420 585 639 515

e-mail: pavel.sauer@fnol.cz

Využití cubeDX při detekcích sepse a jiných infekcí

^{1,2}Štosová T., ^{1,2}Pudová V.

¹Ústav mikrobiologie, Fakultní nemocnice Olomouc

²Lékařská fakulta Univerzity Palackého, Olomouc

Sepse představuje kritický stav charakterizovaný život ohrožující orgánovou dysfunkcí vyvolanou infekcí, kde každá hodina prodlení v zahájení adekvátní terapie zvyšuje mortalitu. Přímá molekulární detekce patogenů z krve bez nutnosti kultivace zásadně zkracuje čas do zahájení cílené terapie. Její hlavní překážkou je extrémně nízká koncentrace mikrobů v krvi a obrovský nadbytek lidské DNA. Úspěch detekce tak závisí především na preanalytické fázi a zvolené technologické platformě. Sdělení shrnuje praktické zkušenosti s nasazením systému CubeDx v rutinní mikrobiologické diagnostice nejen u patientských vzorků s podezřením na sepsi, ale i u jiných typů vzorků z primárně sterilních lokalit.

Podpora: TAČR – FW10010005 „Vývoj PCR testů pro rychlou diagnostiku sepse“ a IGA_LF_2026_021.

Mgr. Radim Svačina, Ph.D.

DIANA Biotechnologies, a. s.
Průmyslová 596, 252 50 Vestec

tel: +420 734 229 964

e-mail: radim.svacina@dianabiotech.com

Vysoce citlivá PCR platforma pro detekci původců sepse z plné krve

¹Svačina R., ¹Tykvart J., ¹Řehoř I., ¹Strnadová K., ²Dřevínek P., ³Sauer P., ²Kantor J., ¹Navrátil V., ²Krylová D., ²Antušková M., ³Štosová T., ³Pudová V., ¹Dienstbier M.

¹DIANA Biotechnologies, a. s., Průmyslová 596, 252 50 Vestec

²Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

³Ústav mikrobiologie FNOL a LF UP Olomouc, Hněvotínská 3, 779 00 Olomouc

Sepse představuje jednu z nejčastějších příčin úmrtí na celém světě. Jde o život ohrožující stav vznikající v důsledku nepřiměřené imunitní odpovědi organismu na infekci, která často vede k selhání orgánů a vysoké mortalitě. Celosvětově postihuje desítky milionů pacientů ročně a podílí se přibližně na pětině všech úmrtí, přičemž významnou zátěž představuje i v Evropě a Severní Americe. Klíčovým faktorem ovlivňujícím přežití pacientů je časné zahájení cílené antibiotické léčby, pro které je nezbytná rychlá identifikace původce sepse. Přes vysokou klinickou i ekonomickou zátěž zůstává diagnostika sepse významnou výzvou dnešní medicíny.

Současným zlatým standardem diagnostiky původců sepse je hemokultura, která má však řadu omezení. Některé patogeny nelze kultivovat, růst mikroorganismů je často potlačen předchozí antibiotickou léčbou, vyšetření je časově náročné a vyžaduje velké objemy krve. Tyto faktory vedou k nízké citlivosti, falešně negativním výsledkům a dlouhé době do získání výsledku.

Přímá detekce DNA patogenních mikroorganismů v plné krvi pomocí PCR představuje atraktivní alternativu, naráží však na zásadní překážky, zejména velmi nízkou bakteriální nálož v klinických vzorcích a přítomnost inhibitorů PCR pocházejících z krve. Tyto problémy dosud bránily širšímu zavedení spolehlivé PCR platformy pro přímou diagnostiku sepse z plné krve.

V rámci vývoje metody jsme tato omezení minimalizovali a vyvinuli jednoduchou, vysoce citlivou PCR platformu pro rychlou detekci (cca 2 hodiny) běžných původců sepse přímo z plné krve, použitelnou na standardním laboratorním vybavení i na existujících integrovaných PCR systémech. Vyvinutá technologie kombinuje poloautomatizovanou izolaci nukleových kyselin z malých objemů krve s multiplexním RT-PCR testem, pomocí kterého dochází k detekci patogenních nukleových kyselin. Test využívá vlastní PCR chemii a interně vyvinuté enzymy, které poskytují výrazně vyšší citlivost ve srovnání

s konvenčními PCR mixy. Na základě těchto aspektů bylo dosaženo mnohem vyšší citlivosti oproti stávajícím testům.

Aktuálně probíhá pilotní klinické hodnocení realizované ve spolupráci se třemi českými nemocnicemi, kdy je metoda srovnána s hemokultivací a u některých vzorků navíc se dvěma komerčními PCR metodami pro diagnostiku původců sepse. Validace metody na klinických vzorcích probíhá, doposud bylo analyzováno přes 200 vzorků plné krve od pacientů s podezřením na sepsi. Z testovaných molekulárních technik vykazuje vyvíjená metoda nejvyšší diagnostickou citlivost oproti hemokulturám.

Vyvinuli jsme jednoduchou, rychlou a vysoce citlivou PCR metodu pro přímou detekci nejčastějších původců sepse z plné krve. Test vyžaduje minimální přípravu vzorku, je kompatibilní se standardním laboratorním vybavením, umožňuje vysoký stupeň multiplexace a lze jej přizpůsobit i velmi rychlým analytickým protokolům. Po potvrzení výsledků ve větším klinickém hodnocení a po převedení do finálního IVD formátu má tato platforma potenciál významně posunout diagnostiku sepse a umožnit dřívější a přesnější zahájení cílené léčby.

Tento projekt probíhá za spolufinancování od TAČR, Program FW – TREND, PID: FW10010005.

ABSTRAKTY POSTERŮ



SEZNAM PŘIHLÁŠENÝCH POSTERŮ

1. Ing. Regina Bezděková Fillerová, Ph.D.

Vidět víc, reagovat dřív: role molekulárních metod v prevenci šíření nozokomiálních infekcí

2. Ing. Andrea Heřtová

Vliv PFAS na mikrobiální komunity v systému půda-rostlina a možnosti snížení jejich přestupu do nadzemní biomasy

3. Mgr. Michal Honskus

Analýza vlivu pandemie covid-19 v České republice na teoretické pokrytí MenB vakcínami u *Neisseria meningitidis* metodou celogenomové sekvenace

4. Mgr. Vladimíra Hykelová

Zkušenosti s PCR detekcí netuberkulózních mykobakterií u pacientů FN Brno

5. Bc. Kamila Klementová

Vývoj a ověření multiplexní RT-qPCR pro detekci a kvantifikaci rotavirů ve vodách

6. Ing. Kristýna Kliková

Od stavebních materiálů k přírodním ekosystémům: využití mikrobiálních komunit z Koněpruských jeskyní

7. Ing. Henrietta Ottová

Kdo přežije na peři? Bakterie z Koněpruských jeskyní

8. Mgr. Kateřina Sapáková

Flexible, automated sample-to-result opportunistic virus monitoring for transplant care: implementation and multi-matrix validation of a broad PCR menu with per-sample assay selection on the myCROBE system

9. Ing. Gabriela Štorkánová, Ph.D.

Gen RPGR, ORF15: kde NGS nemůže, zlatý Sanger pomůže!

10. Ing. Renáta Veselá

Molekulární charakterizace kmenů *Streptococcus pyogenes* získaných v 90. letech 20. století od pacientů s invazivním onemocněním

Ing. Regina Bezděková Fillerová, Ph.D.

Institute of Applied Biotechnologies
Šlechtitelů 19, 783 71 Olomouc

tel: +420 731 127 718

e-mail: fillerova@iabio.eu

Vidět víc, reagovat dřív: role molekulárních metod v prevenci šíření nozokomiálních infekcí

²Raclavský V., ¹Nováková A., ¹Kašný M., ⁴Budiš J., ³Štosová T., ¹Kvapil P.

¹*Institute of Applied Biotechnologies, Olomouc*

²*Ústav mikrobiologie LF UP Olomouc*

³*Ústav mikrobiologie FN Olomouc*

⁴*Geneton, Bratislava*

Infekce spojené se zdravotní péčí (HAI) představují trvalou zátěž zdravotnických zařízení, přičemž kontaminace nemocničního prostředí patří mezi významné faktory jejich šíření. Povrchy v bezprostředním okolí pacienta mohou být kontaminovány nozokomiálními patogeny včetně multirezistentních kmenů, a jejich systematický monitoring je proto důležitou součástí preventivních opatření. Rutinně používané kultivační metody však mohou skutečný rozsah kontaminace podhodnocovat, zejména z důvodu omezené citlivosti při nízké mikrobiální zátěži. Cílem práce bylo ověřit, zda mohou molekulární metody doplnit nebo rozšířit stávající přístupy v epidemiologickém dohledu. Optimalizovali jsme pokročilé molekulární metody (multiplex RT-PCR a sekvenování celého metagenomu (WMGS)) pro rychlou a simultánní detekci širokého spektra nozokomiálních patogenů. Do studie bylo zařazeno 50 stěrů odebraných z různých povrchů v pokojích pacientů s prokázanou kolonizací nebo infekcí nozokomiálními patogeny. Vzorky byly analyzovány paralelně pomocí multiplexní RT-PCR, WMGS a standardní kultivační metodou, přičemž izolované mikroorganismy byly identifikovány pomocí MALDI-TOF MS.

Vyvinutá multiplexní RT-PCR umožnila detekci DNA 24 nejčastějších původců HAI včetně genů spojených s antibiotickou rezistencí. Při srovnání s kultivací byla dosažena 85% shoda v identifikaci dominantních patogenů, a to v daleko kratším čase v řádu hodin. WMGS navíc odhalila přítomnost dalších patogenů a mobilních genů rezistence, které nebyly kultivačně zachyceny a poskytla detailní charakteristiku mikrobiálních společenstev.

RT-PCR představuje rychlý a citlivý nástroj pro podporu epidemiologického dohledu nad kontaminací nemocničního prostředí. WMGS umožňuje komplexní detekci bakterií, virů i kvasinek včetně genů rezistence a nabízí potenciál pro detailní mapování šíření HAI, čímž přispívá k efektivnímu řízení prevence a kontroly infekcí.

Práce vznikla za podpory projektu BiomGuard CZ.01.01.01/01/22_002/0000715.

Ing. Andrea Heřtová

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Technická 1903/3, 166 28 Praha 6 – Dejvice

tel: +420 774 378 752

e-mail: hertovaa@vscht.cz

Vliv PFAS na mikrobiální komunity v systému půda-rostlina a možnosti snížení jejich přestupu do nadzemní biomasy

Heřtová A., Ottová H., Mercl F., Stiborová H.

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav biochemie a mikrobiologie

Česká zemědělská univerzita v Praze, Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin

Per- a polyfluorované alkylové látky (PFAS) představují skupinu vysoce perzistentních mikropolutantů životního prostředí. Kvůli prokázaným rizikům pro ekosystémy a lidské zdraví jsou jejich regulace stále zpříšňovány. V reakci na tato omezení průmyslová produkce postupně přechází na nové alternativy. Mezi nejvýznamnější zástupce patří PFAS s etherovou funkční skupinou (např. GenX), které původně byly navrženy jako ekologicky šetrnější. Dnes jsou tyto látky detekovány po celém světě v půdě, vodě či organismech. Aktuální studie naznačují, že etherové alternativy vykazují podobné vlastnosti jako jejich předchůdci a jejich environmentální dopady mohou být srovnatelné. V této práci jsou porovnávány tradiční PFAS (PFOA, PFOS) a jejich etherové alternativy (HFPO-DA neboli GenX, HFPO-TA, HFPO TeA). V systému půda-rostlina byl sledován přestup polutantů ze závlahové vody do rostlin cuket (*Cucurbita pepo* L.) a také jejich vliv na strukturu a diverzitu půdních a endofytních mikrobiálních komunit. Analýza polutantů metodou HPLC MS/MS ukázala nejvyšší akumulaci v nadzemní biomase a v plodech u látky GenX. Amplikony makrorevových genů (16S rRNA gen pro identifikaci prokaryot a ITS region pro identifikaci hub) byly připraveny z DNA izolované z půdy a z kořenů. Takto připravená DNA knihovna byla sekvenována metodou Illumina MiSeq. Mezi běžné strategie ke snížení kontaminace plodin rostoucích ve znečištěných lokalitách patří aplikace biocharu, který imobilizuje řadu polutantů v půdě. V rámci tohoto experimentu přidavek biocharu nesnížil přestup PFAS do cuket. Z toho důvodu bude otestována možnost biologické ochrany nadzemních částí plodin pomocí symbiózy s arbuskulárními mykorhizními hubami. V předběžném experimentu jsme ověřovali schopnost kolonizace dvou druhů těchto hub u deseti plodin.

Výzkum je podpořen GAČR (č. projektu 25-17492S).

Mgr. Michal Honskus

Státní zdravotní ústav
Šrobárova 49/48, 100 00 Praha

tel: +420 267 082 239

e-mail: michal.honskus@szu.gov.cz

Analýza vlivu pandemie covid-19 v České republice na teoretické pokrytí MenB vakcínami u *Neisseria meningitidis* metodou celogenomové sekvenace

Honskus M., Křížová P., Musílek M., Okonji Z.

Národní referenční laboratoř pro meningokokové nákazy, Státní zdravotní ústav, Praha

Cílem studie byla analýza vlivu pandemie covid-19 na molekulární charakteristiky izolátů *Neisseria meningitidis* z invazivního meningokokového onemocnění (IMO) v České republice a s tím spojené teoretické pokrytí izolátů MenB vakcínami dostupnými v ČR (MenB-4C Bexsero a MenB-FHbp Trumenba).

Metodou celogenomové sekvenace byly analyzovány všechny dostupné izoláty *N. meningitidis* z IMO, které byly zachyceny na území ČR mezi lety 2018 – 2024. Tento časový úsek byl pro analýzu vlivu pandemie covid-19 rozdělen na pre-covidové období (2018 – 2019), období pandemie covid-19 (2020 – 2022) a post-covidové období (2023 – 2024). Na základě alelového profilu MLST genů byly izoláty přiřazeny k sekvenančnímu typu a příslušnému klonálnímu komplexu. Pomocí indexu MenDeVAR, který je založen na přítomnosti peptidových variant vakcinačních antigenů a jejich citlivosti na protilátky v baktericidním testu, byl u všech studovaných MenB izolátů definován předpokládaný funkční účinek MenB vakcín.

U izolátů MenC, MenW a MenY byl pozorován kontinuální pokles celkové heterogenity a zároveň výrazná redukce izolátů MenC, cc11, oproti tomu u izolátů MenB došlo nejdříve k nárůstu celkové heterogenity během období pandemie covid-19 a její opětovnou redukcí na celkově nejnižší hodnoty v post-covidovém období. Index MenDeVAR, který je mezinárodně uznáván a doporučen jako indikátor teoretického pokrytí MenB vakcínami, dokumentoval u českých MenB izolátů pokles tohoto pokrytí u obou MenB vakcín spojený s prokázanou změnou populace meningokoků na území ČR v průběhu pandemie covid-19. Přesto je toto pokrytí MenB stále vyhovující a očkování oběma MenB vakcínami je doporučeno v zahraničí i v ČR.

Analýza izolátů *N. meningitidis* metodou celogenomové sekvenace prokázala, že v průběhu covidového a post-covidového období došlo k postupné změně populace meningokoků, které působí IMO v ČR.

Mgr. Vladimíra Hykelová

Ústav laboratorní medicíny - Úsek molekulární mikrobiologie
Fakultní nemocnice Brno, Jihlavská 340/20, 625 00 Brno

tel: +420 532 232 685

email: hykelova.vladimira@fnbrno.cz

Zkušenosti s PCR detekcí netuberkulózních mykobakterií u pacientů FN Brno

¹Vladimíra Hykelová, ¹Marija Kaevska, ³Martin Sihlovec, ¹Martina Mrkvicová

¹Ústav Laboratorní medicíny FN Brno

²Ústav veřejného zdraví LF MU Brno

³Klinika dětských infekčních nemocí FN Brno

V roce 2010 byla vyhláškou č. 299/2010 Sb. zrušena povinná kalmetizace novorozenců, s výjimkou dětí z definovaných rizikových skupin. Ačkoli byla vakcína BCG primárně zaměřena na prevenci infekce *Mycobacterium tuberculosis*, dostupná literatura uvádí, že poskytovala i částečnou zkříženou imunitní ochranu proti netuberkulózním mykobakteriím (NTM). Po ukončení plošné kalmetizace nedošlo dle dat SZÚ/ÚZIS k nárůstu incidence tuberkulózy, nicméně je jednoznačně popsán vzestup případů jednostranné krční lymfadenitidy způsobené NTM, především *Mycobacterium avium* complex (MAC), nejčastěji u dětí ve věku 1 – 5 let [1, 2].

Retrospektivně jsme analyzovali děti vyšetřené ve Fakultní nemocnici Brno v letech 2020 – 2025 s diagnózou L04.0 – akutní lymfadenitida obličejce, hlavy a krku. Cílem bylo zhodnotit etiologii lymfadenitid v dětském věku s důrazem na výskyt netuberkulózních mykobakterií a jejich laboratorní průkaz. Součástí diagnostického procesu byly mikrobiologické metody včetně PCR detekce mykobakterií a kultivačního vyšetření zaměřeného na NTM.

V uvedeném období bylo vyšetřeno 408 dětí ve věku do 10 let. Prezentujeme souhrnné výsledky laboratorních vyšetření a dále uvádíme kazuistiku pacientky s jednoznačně prokázanou infekcí *M. avium*.

Podpořeno projektem MZ ČR – koncepční rozvoj výzkumné organizace (FNBr, 65269705).

Literatura

[1] uzis.cz/res/f/008462/tbc2024-cz.pdf

[2] Doležalová K, Göpfertová D.: Ten years' experience with the discontinuation of the bacillus Calmette-Guérin vaccination in the Czech Republic. *Int J Mycobacteriol* 2021; 10 (2): 193 – 8.

Bc. Kamila Klementová

VŠCHT Praha

Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice

tel: +420 608 078 301

e-mail: klementm@vscht.cz

Vývoj a ověření multiplexní RT-qPCR pro detekci a kvantifikaci rotavirů ve vodách

¹Klementová K., ²Kouba V., ²Košinová A., ¹Zdeňková K.

¹VŠCHT Praha, *Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Ústav biochemie a mikrobiologie*

²VŠCHT Praha, *Fakulta technologie ochrany prostředí, Ústav technologie vody a prostředí*

Epidemiologie založená na odpadních vodách využívá biomarkery ke sledování trendů infekcí v komunitách a k varování před vznikem epidemie. Detekce a kvantifikace virů může sloužit i k hodnocení procesů úprav vody a rizik přenosu nemocí. Rotaviry jsou patogenní viry způsobující akutní gastroenteritidy a jejich RNA představuje vhodné markery pro monitoring vodního prostředí. Cílem práce byl vývoj rychlé a citlivé multiplexní RT-qPCR metody pro sledování RNA rotavirů především séroskupiny A. V rámci řešení byla navržena syntetická sekvence dsDNA určená jako kontrolní a standardní materiál pro vyvíjenou metodu. Dále byla sledována její stabilita v roztocích s cílem zajistit přesnou kvantifikaci. Následně bylo pomocí standardů a reálných vzorků provedeno testování konfigurací multiplexních reakcí zaměřených na detekci rotaviru A a dalších virových markerů, včetně testování avirulentních částic rotaviru A. Dále byl navržen a testován multiplexní systém pro paralelní detekci a kvantifikaci i ostatních séroskupin lidských rotavirů. Tím byla potvrzena funkčnost vyvinutých protokolů. Vzhledem k nízkým koncentracím rotavirů ve vzorcích byla pro stanovení jejich absolutní koncentrace provedena také RT-dPCR v single i multiplexním uspořádání.

Práce byla podpořena projektem TA ČR SS07020223.

Ing. Kristýna Kliková

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

tel: +420 774 777 988

e-mail: klikovak@vscht.cz

Od stavebních materiálů k přírodním ekosystémům: využití mikrobiálních komunit z Koněpruských jeskyní

¹Kliková, K., ¹Ottová, H., ¹Branyšová, T., ²Holeček, P., ²Koňáková, D., ²Nežerka, V.,
¹Demnerová, K., ¹Stiborová, H.

¹Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářské a biochemické technologie,
VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6

²Katedra fyziky, Fakulta stavební, ČVUT v Praze, Thákurova 2077/7, 166 29 Praha 6

Stavební průmysl patří dlouhodobě mezi významné producenty emisí CO₂. Z tohoto důvodu se stále více rozvíjejí snahy o recyklaci a znovuvyužití odpadních stavebních materiálů. Jednou z perspektivních možností je jejich využití prostřednictvím technologie mikrobiálně indukovaného srážení uhličitánu vápenatého (MICP). Jedná se o biomineralizační proces, při kterém mikroorganismy na základě své enzymatické aktivity indukují tvorbu uhličitánu vápenatého (CaCO₃). Tento proces se s výhodou uplatňuje například při recyklaci písku, demoliční drti nebo jemně drceného odpadního betonu (waste concrete fines, WCF). V současnosti jsou pro MICP nejčastěji využívány sbírkové bakteriální kmeny, jako například *Sporosarcina pasteurii* a *Sutcliffeiella cohnii* (dříve *Bacillus cohnii*). Jejich kultivace je však finančně náročná a vyžaduje specifické podmínky. Udržitelnější alternativou mohou být oligotrofní mikroorganismy z vápencových jeskyní, přirozeně adaptované na prostředí s nízkou dostupností živin a se schopností srážet CaCO₃. Z tohoto důvodu byla provedena analýza mikrobiálních komunit ve vápencových Koněpruských jeskyních (Česká republika), kde byly odebrány čtyři z povrchu krasových útvarů. Z takto získaných vzorků byla pomocí polyuretanových houbiček izolována DNA (všechny přítomné mikroorganismy) a RNA (metabolicky aktivní mikroorganismy). Amplikony pro sekvenování na platformě Illumina MiSeq byly připraveny dvoukrokovou PCR s využitím specifických primerů (515F-BAF, 926R-BAF) pro gen 16S rRNA. Získané sekvence byly přiřazeny k mikrobiálním druhům a data byla statisticky vyhodnocena. Pro zajištění komplexní analýzy mikrobiální diverzity byly výsledky izolace DNA a RNA porovnány. Veškeré poznatky by měly být do budoucna využity k cílené izolaci mikroorganismů z přírodních prostředí (jeskyní) tak, aby mohly nahradit dosud používané sbírkové kmeny, a podílet se tak na zlepšení mechanických vlastností kompozitních vzorků z recyklovaného odpadního betonu (WCF).

Tato práce vznikla za finanční podpory projektu Grantové agentury ČR 25-16403S.

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

tel: +420 220 445 204

e-mail: ottovah@vscht.cz

Kdo přežije na peří? Bakterie z Koněpruských jeskyní

¹Ottová H., ¹Kliková K., ²Nežerka V., ¹Stiborová H.

¹Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Ústav biochemie a mikrobiologie

²České vysoké učení technické, Fakulta stavební, Katedra fyziky

V roce 2024 byla produkce odpadu v České republice dle Českého statistického úřadu přes 40 milionů tun, což je o 6 % více než v roce předešlém. Největší část (57,2 %) tvořily minerální odpady, kam patří i stavební a demoliční odpad. Až 40 % z těchto odpadů, jemná frakce do 1 mm, nemá žádné další využití kvůli své prachovosti či velkému měrnému povrchu a i dle legislativy musí být skládkována. Tato frakce ale může být recyklována pomocí mikrobiálně indukovaného srážení uhlíčitanu vápenatého (MICP), jehož krystaly fungují jako pojivo pro částice jemné frakce. Ty jsou takto zpevněny a vzniká biokompozitní vzorek, který svými parametry vyhovuje požadavkům pro některé stavební aplikace, např. do podkladních vrstev chodníků. Aby tato technologie mohla být užívána ve větším měřítku, je nezbytné snížit náklady, z nichž až 60 % tvoří cena kultačního média. Proto jsme provedli jsme odběry v oligotrofním prostředí vápencových Koněpruských jeskyních, kde byl předpokládán výskyt bakterií s nízkými nároky na živiny. Bakterie pak byly nabohaceny na hydrolyzátu peří se zdrojem vápníku, aby byly selektovány pouze ty, které je možné kultivovat na hydrolyzátu peří a jsou schopné MICP. Pro selekci bakterií využívajících různé metabolické dráhy vedoucí k MICP byl do nabohacovacího média přidán buď laktát vápenatý, pro nabohacení mikroorganismů s dráhou oxidace organických sloučenin, nebo močovina s chloridem vápenatým, pro nabohacení ureolytických mikroorganismů. Nabohacení proběhlo ve čtyřech krocích, přičemž složení mikroorganismů v každém kroku bylo analyzováno pomocí sekvenace genu pro 16S rRNA pomocí Illumina MiSeq. Po nabohacení byly izolovány jednotlivé kmény, které byly identifikovány pomocí Sangerova sekvenování genu pro 16S rRNA. Momentálně je ověřována a měřena schopnost precipitace CaCO₃. S vybranými kmény pak budou připraveny biokompozitní vzorky, které budou analyzovány ve spolupráci s Fakultou stavební ČVUT pomocí skenovací elektronové mikroskopie, rentgenové difrakce či mechanických zkoušek.

Tento výzkum je podpořen projektem TAČR TN02000044 „Biorafinace a cirkulární ekonomika pro udržitelnost“ a je spolufinancován se státní podporou Technologické

agentury ČR v rámci programu Národního centra kompetence, a rovněž podpořen z finančních prostředků EU v rámci Národního plánu obnovy (Nástroje pro užití a odolnost / Recovery and Resilience Facility).



Mgr. Kateřina Sapáková

GeneProof a. s.

Vídeňská 101/119, 619 00 Brno

tel: +420 543 211 679

e-mail: sales@geneproof.com

Flexible, automated sample-to-result opportunistic virus monitoring for transplant care: implementation and multi-matrix validation of a broad PCR menu with per-sample assay selection on the myCROBE system

Sapáková, K., Skopalová, N., Pořízková K., Horlitz M.

Geneproof a. s., Brno, Czech Republic

Background: Immunocompromised patients, including solid organ and hematopoietic stem cell transplant recipients, are at high risk for opportunistic viral infections, with severe courses associated with substantial morbidity and reported mortality up to 40 %. Serial molecular monitoring supports early detection, timely treatment decisions, and longitudinal management. However, many sample-to-result systems offer limited viral breadth and do not support flexible, patient-specific target selection within a single automated workflow. We implemented and validated a broad opportunistic virus PCR menu on the myCROBE fully automated sample-to-result platform, enabling per-sample assay selection without changing the overall workflow.

Methods: Assays for *cytomegalovirus* (CMV), *Epstein-Barr virus* (EBV), *varicella-zoster virus* (VZV), *herpes simplex virus* 1 and 2 (HSV-1, HSV-2), *human herpesvirus* 6 and 7 (HHV-6, HHV-7), *human herpesvirus* 8 (HHV-8), *BK virus* (BKV), and *JC virus* (JCV) were configured on the myCROBE system. Analytical and workflow validation was performed using plasma, whole blood, cerebrospinal fluid, urine, and swabs. Studies included: (1) total system failure testing, linear range assessment, and matrix material validation across all matrices; (2) interference testing in plasma, whole blood, cerebrospinal fluid, and swabs; and (3) probit-based limit of detection estimation in whole blood. Predefined acceptance criteria were applied per study type.

Results: All assays met predefined acceptance criteria and were successfully validated within a fully automated sample-to-result workflow. Across five clinically relevant matrices, performance characterization demonstrated workflow robustness (system failure), quantitative behavior over the measured range (linear range), matrix suitability (material validation), resistance to common interferents, and analytical sensitivity estimation (probit in whole blood). The platform enabled flexible per-sample selection of viral targets,

allowing laboratories to align testing with individual patient risk profiles and local monitoring strategies without altering the automated process.

Conclusion: The myCROBE system supports broad, flexible, automated opportunistic virus PCR monitoring with multi-matrix validation. This approach can help close current workflow gaps in transplant virology by combining automation with patient-tailored target selection.

Regulatory disclaimer: For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

Ing. Gabriela Štorkánová, Ph.D.

1. LF UK a VFN v Praze
Ke Karlovu 455/2, 128 08 Praha 2

tel: +420 224 967 705

e-mail: Gabriela.Storkanova@vfn.cz

Gen RPGR, ORF15: kde NGS nemůže, zlatý Sanger pomůže!

Štorkánová G., Vlášková H., Hnízdová Boučková M., Ďudáková L., Lišková P., Pešková K.
KPDPM, 1. LF UK a VFN v Praze: Laboratoř DNA diagnostiky, Laboratoř oční genetiky

Ve spolupráci s Centrem klinické oční genetiky Oční kliniky 1. LF UK a VFN jsme v roce 2024 zavedli diagnostiku variant v genu *RPGR* a také v jeho obtížně sekvenovatelné části ORF15. Mutace v tomto genu jsou nejčastější příčinou X-vázané *retinitis pigmentosa* (XLRP, MIM *603937). Většina mutací genu *RPGR* se nachází v oblasti ORF15 tj. alternativně sestřiženém exonu 15, který je prodloužen i o část intronu 15. V těchto místech je sekvence nejen A-G bohatá, ale i vysoce repetitivní, což prakticky znemožňuje NGS analýzu. Analýzu mutací ORF15 začínáme přípravou long-PCR (Takara LA Taq), následuje Sangerovo sekvenování za použití 2 sekvenčních kitů (dGTP BigDye™ Terminator v3.0 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit, BigDye Terminator® v3.1 Cycle Sequencing, přečištění sekvenační reakce Kit BigDye XTerminator® Purification Kit), specifických vnitřních sekvenačních primerů a různých podmínek vlastní sekvenační reakce. Tímto způsobem jsme ověřili přítomnost mutace u 7 probandů. Ve všech případech se jednalo o malé delece (c. 2476_2477del, c. 2522del, c. 2845del, c. 2905_2909del, c. 2944del, c. 2964_2965del, c. 3096_3097del). U žen komplikuje analýzu častý výskyt polymorfismů-malých delecí. Ověření přítomnosti mutací nalezených u probandů bylo úspěšné u všech vyšetřovaných rodinných příslušnic, bylo detekováno 6 přenašeček. V jedné rodině jsme našli pomocí analýzy celé oblasti ORF15 mutaci c.2405_2406del u sestry probanda, jehož vzorek nebyl dostupný. Byla také provedena jedna prenatální diagnostika s heterozygotním výsledkem pro bodovou mutaci c.2173C > T (p. Gln725*).

Podpora projektu: MZ ČR – RVO-VFN 64165.

SZÚ

Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10

tel: +420 605 154 816

e-mail: renata.vesela@szu.gov.cz

Molekulární charakterizace kmenů *Streptococcus pyogenes* získaných v 90. letech 20. století od pacientů s invazivním onemocněním

¹Veselá R., ^{1,2}Vohrnová S., ¹Kozáková J., ¹Křížová P.

¹Státní zdravotní ústav, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Národní referenční laboratoř pro streptokokové nákazy

^{2,3}Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

Streptococcus pyogenes (streptokok skupiny A, Group A *Streptococcus*, GAS) je významným lidským patogenem, který vyvolává běžná infekční onemocnění horních cest dýchacích a kůže, může však být původcem i invazivních onemocnění se závažným průběhem a vysokou smrtností. Invazivní onemocnění způsobená *S. pyogenes* jsou často charakterizována náhlými vzestupy incidence nebo výskytem epidemických vln. V průběhu 90. let 20. století byl v několika zemích zaznamenán zvýšený výskyt nekrotizující fasciitidy vyvolané tímto patogenem, spojený s vysokou smrtností a závažnými klinickými projevy. Cílem této studie bylo charakterizovat izoláty *S. pyogenes* získané od pacientů s invazivním onemocněním ve vybraných státech Evropy v 90. letech 20. století pomocí sekvenace celého genomu (whole genome sequencing, WGS) a následné analýzy sekvenačních dat. Do studie byly zahrnuty kmeny pocházející z potvrzených případů invazivního onemocnění, u nichž byl průkaz *S. pyogenes* proveden z primárně sterilního klinického materiálu. U všech izolátů byla provedena celogenomová sekvenace na platformě Illumina MiSeq. Získaná genomová data byla analyzována s cílem identifikovat jednonukleotidové polymorfismy (SNP), sestavit fylogenetické stromy a posoudit vzájemnou příbuznost jednotlivých izolátů. Současně byl u invazivních izolátů sledován a porovnáván výskyt genů vybraných faktorů virulence, které mohou souviset se zvýšenou patogenitou a invazivním potenciálem kmenů. Předběžné výsledky naznačují možnou příbuznost části historických izolátů se sublinií M1DK, která byla poprvé popsána v Dánsku v srpnu 2022 a v roce 2023 zde tvořila přibližně 30 % sekvenovaných případů invazivního onemocnění způsobeného *S. pyogenes*. Zpracování a analýza WGS dat invazivních izolátů *S. pyogenes* z 90. let 20. století a jejich následné uložení do mezinárodních databází přispějí k hlubšímu pochopení dlouhodobého šíření vysoce virulentních sublinií tohoto patogenu

v České republice i v dalších evropských zemích a umožní lepší interpretaci současných epidemiologických trendů.

Práce byla podpořena programovým projektem Ministerstva zdravotnictví České republiky s registračním číslem NW25-09-00190.

FIREMNÍ INZERCE



GeneProof je globální biotechnologická společnost se sídlem v Brně, která se od roku 2005 zabývá molekulární *in vitro* diagnostikou závažných infekčních a genetických onemocnění. Společnost se věnuje vývoji, výrobě a distribuci technologicky vyspělých, vysoce kvalitních a uživatelsky přívětivých produktů.

Portfolio GeneProof zahrnuje nejen širokou škálu RT-PCR diagnostických testů, ale také přístrojové vybavení a řešení pro extrakci a automatizaci procesů, včetně plně automatizovaného systému myCROBE.

GeneProof je součástí skupiny Nuvinka Dx, která sdružuje odborné společnosti s cílem poskytovat komplexní diagnostická řešení pro moderní laboratorní medicínu.

Nové pojetí molekulární diagnostiky

Platforma myCROBE od české společnosti GeneProof přináší flexibilnější, rychlejší a ekonomičtější řešení do moderních laboratoří.

V dnešní klinické praxi jsou laboratoře vystaveny tlaku na zvyšování počtu molekulárně diagnostických vyšetření při současném zajištění vysoké analytické přesnosti a rychlé dostupnosti výsledků. To vše v kontextu omezených rozpočtů a dlouhodobého nedostatku personálu. Společnost GeneProof, globální lídr v molekulární diagnostice, reagovala na tyto výzvy vývojem platformy myCROBE. Ta byla navržena podle reálných laboratorních procesů, nikoli pouze podle možností přístrojové techniky. myCROBE je plně automatizovaná PCR platforma, která snižuje plýtvání, zvyšuje flexibilitu testování a umožňuje poskytovat výsledky odpovídající specifickým potřebám jednotlivých pacientů.



Kde standardní PCR panely narážejí na své limity

Většina PCR systémů dostupných na trhu je založena na fixních multiplexních panelech. Přestože jsou tyto systémy technicky vyspělé, často nejsou plně v souladu s klinickými požadavky. Panely rutinně analyzují všechny cíle bez ohledu na to, zda jsou v daný moment pro pacienta klinicky relevantní, což vede ke zvýšeným nákladům a neefektivní spotřebě reagentů. POCT platformy navíc generují další provozní náklady a rigidita předdefinovaných panelů omezuje schopnost laboratoří flexibilně reagovat na měnící se objemy vzorků nebo specifické diagnostické indikace.

Moderní laboratoře proto stále častěji hledají flexibilní diagnostická řešení, která jsou klinicky přesná, provozně efektivní a zároveň plně odpovídají jejich diagnostickým potřebám.

Automatizace přizpůsobená reálným potřebám laboratorní praxe

Systém myCROBE byl navržen lidmi, kteří znají každodenní výzvy klinické laboratoře a ví, čemu laboratorní pracovníci denně čelí. Podstatou inovace myCROBE je jedinečný koncept à la carte multiplexing, který umožňuje individuální konfiguraci každého vzorku bez nutnosti použití předdefinovaného panelu. Laboratorní pracovník jednoduše vloží vzorek, zvolí požadované testy a platforma myCROBE automaticky zajistí celý analytický proces. Automatizací rutinních činností systém dovoluje specialistům efektivněji využít odborný čas v laboratoři.

Klíčové výhody

- plná automatizace od extrakce po výsledek
- à la carte multiplexing umožňující flexibilní výběr testů
- až 8 testů na vzorek, až 90 výsledků v jednom běhu
- navyšování kapacity podle potřeby: 1 – 36 vzorků v jednom běhu
- automatické vyhodnocení výsledků

Multiplexování à la carte



Komplexní portfolio PCR testů

GeneProof nabízí ucelené portfolio plně automatizovaných diagnostických testů pro platformu myCROBE:

- **Immunocompromised/Transplant:**
 - společnost GeneProof uvádí na trh široké portfolio kvantitativních PCR testů určených k podpoře kliniků při stanovení diagnózy a monitorování imonokompromitovaných pacientů a pacientů po transplantaci
 - Široká nabídka testů zahrnuje CMV, EBV, BKV, VZV a další
- **Sexually Transmitted Infections:**
 - široká nabídka testů pro diagnostiku sexuálně přenosných nemocí zahrnující CT, NG a mnoho dalších
- **Thrombotic Mutations:**
 - nejširší portfolio plně automatizovaných PCR testů pro detekci trombotických mutací na trhu zahrnující FII, FV a další.



Vysoká přesnost bez kompromisů

Testy GeneProof jsou všeobecně uznávány pro svou spolehlivost a robustnost a platforma myCROBE tento standard udržuje prostřednictvím efektivní extrakce, přesné manipulace s reagensy, minimalizace rizika kontaminace a pečlivě kontrolovaného PCR procesu.

Platforma myCROBE je zároveň koncipována tak, aby odpovídala provozním potřebám laboratoří různých velikostí. V laboratořích s nízkými počty vzorků umožňuje zpracování bez zbytečné spotřeby reagentů, zatímco ve vysokokapacitních laboratořích lze dosáhnout až 270 výsledků na jednu pracovní směnu.

myCROBE
GeneProof

Plynulé zařazení automatizace do laboratorního provozu

Platforma myCROBE umožňuje hladkou integraci do zavedených laboratorních prostor. Kombinace kompaktního stolního provedení, integrovaného uživatelského rozhraní a konektivity s LIS zajišťuje rychlou a efektivní implementaci automatizace bez nutnosti zásadních zásahů do laboratorní infrastruktury.

Zhlédněte naše ukázkové video



geneproof.com

Výrobce a globální distributor

+420 543 211 697

sales@geneproof.com

Vídeňská 101/119, Dolní Heršpice, 619 00 Brno, Czechia



BioTech a. s.

Váš spolehlivý partner pro moderní laboratorní diagnostiku

Společnost BioTech a. s. patří mezi zavedené dodavatele řešení pro klinické, výzkumné a diagnostické laboratoře v České republice, na Slovensku a v Maďarsku. Naším cílem je přinášet nejnovější biotechnologické inovace do každodenní laboratorní praxe a trvale podporovat profesionalizaci laboratorního provozu.

Klademe důraz na vysokou kvalitu dodávaných technologií, odborné poradenství a dlouhodobou spolupráci se zákazníky. Silnou součástí našeho portfolia je molekulární diagnostika, ve které nabízíme špičkové přístrojové systémy a reagenzie od renomovaných světových výrobců.

Portfolio BioTech a. s. zahrnuje moderní technologie, včetně digitální PCR a pokročilých automatizovaných systémů pro přípravu vzorků. Tyto nástroje umožňují laboratořím dosahovat vyšší citlivosti, přesnosti a reprodukovatelnosti výsledků na přič širokým spektrem aplikací.

Nejsme pouze distributorem. Zákazníkům poskytujeme přidanou hodnotu formou odborné podpory – od konzultací při zavádění nových metod, přes pomoc s validačními procesy až po školení laboratorního personálu. Díky individuálnímu přístupu dokážeme navrhnout řešení přesně odpovídající potřebám každé laboratoře, ať už jde o rutinní diagnostiku nebo náročné výzkumné projekty.

Aktivní spolupráce s odbornou komunitou, účast na konferencích a nepřetržité sledování technologických trendů nám umožňují přispívat k rozvoji moderní laboratorní diagnostiky v regionu. Jako součást silné skupiny Circulos Group s. r. o. jsme dlouhodobým a důvěryhodným partnerem, na kterého se lze spolehnout i v době rychlého technologického vývoje

αPlasticTM

Labware ELISABETH PHARMACON

Elisabeth[®]
Pharmacon

Objevte komplexní portfolio **ELISABETH PHARMACON**

- PCR mikrozkušavky
- Mikrocentrifugační **zkumavky se zavíráním Safe-Lock**
- Centrifugační zkumavky
- **Šroubovací** skladovací zkumavky
- **Kryogenní** zkumavky
- PCR/qPCR 8místné stripky
- PCR/qPCR 96jamkové destičky
- Těsnicí fólie, silikonové fólie
- Pipetovací špičky **s filtrem /bez filtru**
- Otvírák na zkumavky

ELISABETH PHARMACON, spol. s r.o.
Rokycanova 4437/5
615 00 BRNO-Židenice, Česká republika
tel.: +420 542 213 851

obchod@elisabeth.cz

NOVINKY



elisabeth.cz

 **EliGene**[®]
DNA DIAGNOSTICS

 **EliZyme**TM

αPlasticTM
Labware ELISABETH PHARMACON

We help discover the world.

Ucelené řešení pro laboratorní komplement

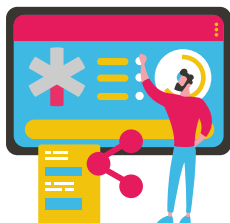
- Zvýšení efektivity laboratorního provozu
- Integrace všech laboratorních odborností v jednom systému
- Kompletní podpora všech laboratorních procesů
- Splnění požadavků ISO 15189, ÚZIS a SUKL
- Zabezpečení podle GDPR i Zákona o kybernetické bezpečnosti
- Propojení s nejmodernějšími laboratorními technologiemi
- Řešení pro řetězce laboratoří a detašovaná pracoviště
- Dokonalé sledování nákladů a nadstandardní statistiky
- Flexibilní přizpůsobení provozním zvyklostem
- Automatizace centrálního příjmu včetně skladu žádanek
- Automatizovaná AI asistence pro validaci a kontrolu výsledků



FONSOPENLIMS



FONS Openlims se stal standardem pro řízení laboratorních provozů.



FONS Openlims je každý den používán na více než 6 000 stanicích a je k němu on-line připojeno více než 5 000 analyzátorů.



FONS Openlims používá ho největší laboratorní řetězec v ČR a SR s centrální databází hostovanou v Německu.

FONS Openlims je sofistikovaný systém s mnoha interními i externími vazbami. Rozsahem ho lze srovnat s klinickým nebo ekonomickým systémem. Data uložená v laboratorním systému jsou jedna z nejcennějších ve zdravotnickém zařízení. Nároky na laboratorní systém jsou proto vysoké a jeho spolehlivost musí být stoprocentní. Data, která zpracovává, mají cenu lidského života.

FONS Openlims je třetí generací laboratorního systému společnosti STAPRO s. r. o. Vznikl na základě dlouholeté zkušenosti autorského týmu a ve spolupráci s mnoha laboratorními pracovišti. Základní analýza systému začala v roce 2003, vývoj probíhá od roku 2004.

Další výhody FONS Openlims:



STAPRO je stabilní firma a laboratorní systém je jedním z jejich hlavních produktů.



STAPRO je dodavatelem komplexního informačního systému pro zdravotnická zařízení, jehož důležitou součástí je laboratorní systém.



Laboratorní informační systém společnosti STAPRO si vybralo 50% laboratoří v ČR, SR a Litvě.



STAPRO má největší tým zabezpečující vývoj a implementaci systému (40 lidí).



Velké zkušenosti autorského týmu jsou důležité pro vývoj laboratorního SW (30 let zkušeností s laboratorními provozy).



Podpora laboratorních procesů je v souladu s normou ČSN EN ISO 15189 a ČSN EN ISO 20387



Splňuje požadavky GDPR a požadavky zákona č.184/2014 Sb., o kybernetické bezpečnosti.



Použití nejnovějších vícevrstvých technologií při vývoji garantuje dlouhý životní cyklus systému.

POZNÁMKY





PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE RANK 2026

Vydalo: STAPRO s. r. o.
Pernštýnské nám. 51, 530 02 Pardubice
jako doprovodnou publikaci konference RANK 2026

Vytiskl: PRINT-SHOP.cz, s. r. o.
Erno Košťála 968, 530 12 Pardubice



Spolehlivý partner pro vaši laboratoř

Kompletní řešení, na která se můžete spolehnout.



Přístroje pro Life Science



Diagnostická řešení



Spotřební materiál



Reagencie

Služby:

- Aplikační a technická podpora
- Instalace
- Školení
- Servis



Telefon: +420 210 323 411 **E-mail:** info@ibiotech.cz www.ibiotech.cz



RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN

PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE RANK 2026



Adresa pořadající organizace:

MEDILA spol. s r. o.

Štrossova 1931

530 03 Pardubice

IČ: 632 17 767

tel: +420 608 351 755

e-mail: pcr.lab@medila.cz

rank.cz