



RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN



PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE

Pardubice, 29. - 30. března 2023

www.rank.cz



RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN

PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE RANK 2023

RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN
MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝMI TECHNIKAMI

29. a 30. března 2023
v prostorách hotelu Zlatá Štika, Pardubice

ISBN 978-80-87436-20-2

OBSAH

Zajištění konference 4

Partneři konference 5

PROGRAM KONFERENCE

Celkový program konference 7

SBORNÍK

Abstrakty přednášek 13

Abstrakty posterů 39

Firemní inzerce 47



ZAJIŠTĚNÍ KONFERENCE

POŘADATELÉ

Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP

MeDiLa spol. s r.o., Štrossova 1931, 530 03 Pardubice

SPOLUPRÁCE

Univerzita Pardubice, FChT, Katedra biologických a biochemických věd

ODBORNÝ GARANT KONFERENCE

Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA

ORGANIZAČNÍ VÝBOR KONFERENCE

Ing. František Štumor, Ph.D. - předseda

Mgr. Martina Sittová, Ph.D.

RNDr. Pavel Hložek

Doc. RNDr. Martin Pešta, Ph.D.

Prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.

RNDr. Jaroslav König

Ing. Barbara Štumrová

Ing. Hana Skalická

Šárka Štěpánková

GENERÁLNÍ PARTNER KONFERENCE



DIANA Biotechnologies s.r.o.

Nad Safinou II 366
252 50 Vestec

PARTNEŘI KONFERENCE



DYNEX TECHNOLOGIES, spol. s r. o.

Lidická 977
273 43 Buštěhrad



ELISABETH PHARMACON, spol. s r. o.

Rokycanova 4437/5
615 00 Brno

VYSTAVOVATELÉ

Abbott Laboratories, s.r.o.

Allgene s.r.o.

BAG Diagnostics GmbH

BioTech a.s.

Carolina Biosystems, s.r.o.

DiaSorin Czech s.r.o.

Dispolab spol. s r.o.

East Port Praha s.r.o.

GeneProof a.s.

GENERI BIOTECH s.r.o.

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

KRD - obchodní společnost s.r.o.

LABOSERV s.r.o.

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

MEDISTA spol. s r. o.

Sven Biolabs s.r.o.

PROGRAM KONFERENCE

STŘEDA 29. BŘEZNA 2023

10:00 – 12:30	Registrace	
13:00 – 13:15	Zahájení	
13:15 – 14:15	Úvodní sdělení Prof. RNDr. Václav Hořejší, CSc. Jak imunitní systém pomáhá ale i škodí	(60 min)
14:15 – 14:30	Přestávka	
14:30 – 15:20	Novinky v detekci respiračních virů Mgr. Václav Navrátil, Ph.D. Multiplexní detekce respiračních virů ze slin bez nutnosti izolace RNA	(25 min)
	Mgr. Petr Králík, Ph.D. Komplexní systém pro vzorkování a následnou detekci virových původců respiračních onemocnění ze vzduchu	(25 min)
15:20 – 15:35	Přestávka	
15:35 – 16:50	Kde všude SARS-CoV-2? Mgr. Radka Dziedzinská, Ph.D. Pokles množství SARS-CoV-2 RNA u fixovaných těl určených pro anatomické účely	(25 min)
	Mgr. Petra Vašíčková, Ph.D. Virová agens v odpadních vodách – od odběru vzorků po interpretaci výsledků	(25 min)
	Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D. Monitoring výskytu RNA SARS-CoV-2 v pražských odpadních vodách a kalech	(25 min)
16:50 – 17:05	Přestávka	
17:05 – 18:30	Mikrobiom realisticky ... Mgr. Michal Kraus Na stopě mikrobiomu: Opravdu může za všechny naše neduhy?	(25 min)
	Mgr. Janet Ježková Využití metod sekvenace nové generace při analýze střevního mikrobiomu	(25 min)

RNDr. Petr Ryšávka, Ph.D.

Dvouramenná, dvojité zaslepená, randomizovaná, placebem kontrolovaná studie sledující účinnost probiotického doplňku stravy SmartProbio C při podpůrné suplementaci pacientů s komplikovaným průběhem infekce COVID-19 se zaměřením na sledování zmírnění průběhu infekce

(25 min)

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

ČTVRTEK 30. BŘEZNA 2023

8:30 – 9:15 **Úvodní sdělení**

Jaclyn Elizabeth Quin, Ph.D.

Genetic studies of the Fulani lead to identification of ADAR1 as a novel target for combating malaria (ENG 45 min)

9:15 – 10:05 **Od počátku genetiky po současnost**

Doc. RNDr. Martin Pešta, Ph.D.

Jak přemýšlel a postupoval Johann Gregor Mendel? (25 min)

Prof. RNDr. Omar Šerý, Ph.D.

DNA technologie v psychiatrickém výzkumu (25 min)

10:05 – 10:20 **Přestávka**

10:20 – 11:45 **Kam míří rutinní molekulární mikrobiologie?**

RNDr. Pavel Suchan, Ph.D.

Použití NxTAG technologie pro multiplexní syndromické testování (25 min)

Mgr. Pavel Trubač

Detekce bakteriálních infekcí z klinického materiálu pomocí analýzy 16S rRNA - patnáctileté zkušenosti (25 min)

RNDr. Radek Šíma, Ph.D.

Přednáška na houby aneb molekulární diagnostika mykologických agens (25 min)

11:45 – 12:00 **Přestávka**

12:00 – 13:00 **Varia**

Ing. Eliška Čermáková

Parvalbumin: alergen i genetický marker
pro identifikaci ryb

(20 min)

Ing. Lucie Michalcová

Účinek flukonazolu na směsné kultury patogenních
kvasinek *Candida albicans* a *Candida guilliermondii*

(20 min)

RNDr. Kateřina Sukačová, Ph.D.

Patogenní mikroorganismy přenášené klíšťaty
a molekulární diagnostika

(20 min)

13:00 – 13:30 **Vyhodnocení soutěží, předání cen, závěr**

CENA DALIBORA NOVOTNÉHO

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

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

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

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

ABSTRAKTY PŘEDNÁŠEK

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



SEZNAM PŘEDNÁŠKOVÝCH BLOKŮ

1. Úvodní sdělení I.	15
2. Novinky v detekci respiračních virů	17
3. Kde všude SARS-CoV-2 ?	20
4. Mikrobiom realisticky... ..	24
5. Úvodní sdělení II.	27
6. Od počátku genetiky po současnost	29
7. Kam míří rutinní molekulární mikrobiologie ?	30
8. Varia	32

Prof. RNDr. Václav Hořejší, CSc.

Ústav molekulární genetiky AV ČR, v. v. i.
Václavská 1083
142 20 Praha 4

tel: +420 241 062 465, 605 337 654

e-mail: vaclav.horejsi@img.cas.cz

Jak imunitní systém pomáhá ale i škodí

Hořejší V.

Úkolem imunitního systému je chránit nás před patogenními mikroorganismy a odstraňovat z organismu poškozené, abnormální (potenciálně nádorové) a odumřelé vlastní buňky. Mezi evolučně nejstarší zbraně imunitního systému patří „žravé buňky“ (fagocyty). Tento typ bílých krvinek pohlcuje bakterie podobně, jako když se prvoci měňavky zmocňují částic potravy.

Další, všeobecně známou imunitní zbraní jsou protilátky (imunoglobuliny), produkovány jiným typem bílých krvinek, tzv. B-lymfocyty. Tyto proteiny rozeznávají cizorodé struktury na povrchu patogenů, brání jim přisednout na naše buňky a poškodit nebo infikovat je. Protilátkami obalené („opsonizované“) mikroby jsou také mnohem „chutnější“ pro fagocyty. Protilátkové molekuly najdeme také na povrchu B-lymfocytů, které jejich prostřednictvím mohou být stimulovány k produkci sekretovaných protilátek. Protilátkový systém je založen na tom, že v lymfatických uzlinách, slezině a tělních tekutinách existují stovky milionů klonů B-lymfocytů, které produkují individuálně strukturně poněkud odlišné imunoglobulinové molekuly rozeznávající s vysokou specifitou cizorodé molekuly. Tento systém je tak připraven na setkání s prakticky jakoukoli cizorodou strukturou. Mechanismy vzniku takového systému jsou založeny na unikátních rekombinačních dějích genů kódujících imunoglobuliny. Protilátky jsou ale málo účinné proti vnitrobuněčným parazitům (např. viry, některé bakterie). Takto infikované buňky ale mohou být rozpoznány dalším typem bílých krvinek, tzv. cytotoxickými, resp. „zabíječskými“ T-lymfocyty (Tc), které mohou také likvidovat buňky nádorové. Ty rozpoznávají na povrchu infikovaných buněk fragmenty cizorodých proteinů pocházejících z vnitrobuněčného parazita a infikovanou buňku zabíjejí, aby se nestala zdrojem šíření infekce. Jiné, tzv. pomocné T-lymfocyty jsou nepostradatelné pro regulaci a koordinaci imunitních obranných reakcí. Imunitní systém samozřejmě musí umět správně rozlišovat molekuly a buňky organismu vlastní od těch cizorodých a potenciálně nebezpečných, tedy tolerovat složky organismu vlastní. To zajišťují selekční procesy v raných stádiích vývoje B- a T-lymfocytů a následně ještě tzv. regulační T-lymfocyty (Treg). Dalšími základními elementy imunitního systému jsou „imunitní hormony“ zvané cytokiny, kterých je více než 100. Patří mezi ně např. tzv. interferony, které brání šíření virových infekcí v organismu tím, že v ohrožených buňkách navozují „antivirový stav“. Pro praktické účely jsou mimořádně významné uměle vytvářené tzv. monoklonální protilátky, které mají široké diagnostické, terapeutické a biotechnologické využití.

Zásadně důležitou vlastností našeho imunitního systému je jeho „paměť“ - proděláme-li některá infekční onemocnění, jsme většinou dlouhodobě chráněni proti jejich opakování, protože protilátky vzniklé během první infekce, a tzv. paměťové B-lymfocyty, které je produkují (ale také specifické T-lymfocyty), v organismu dlouho přetrvávají. Na tomto fenoménu je založeno profylaktické očkování (vakcinace).

Od samého zrodu imunologie jako vědecké disciplíny bylo zřejmé, že imunitní zbraně mohou být také nebezpečné a organismus poškozovat. Každé použití imunitních zbraní při boji proti nebezpečným patogenům je vždy spojeno s určitým nebezpečím nežádoucích imunopatologických vedlejších účinků.

Ty jsou většinou relativně mírné a jsou jakousi daní za to, že se náš organismus vypořádá s nebezpečnou infekcí. Někdy jsou ovšem tyto „nezamýšlené“ vedlejší reakce ještě škodlivější než samotná infekce. Typickým příkladem jsou některé hepatitidy (virové záněty jater), u kterých jsou projevy choroby způsobeny především masivním „dobře míněným“ útokem cytotoxických T lymfocytů na infikované jaterní buňky. Také většina těžších případů covid-19 a úmrtí na tuto chorobu byla způsobena hlavně přehnaně intenzivní a špatně regulovanou imunitní odpovědí na infekci. Mnohem častější ale jsou autoimunitní choroby (např. roztroušená skleróza, revmatoidní artritida, juvenilní diabetes, chronické záněty různých orgánů) a alergie, tedy choroby způsobené špatnou regulací imunitních mechanismů a selhávání normální imunologické tolerance. Je trochu paradoxní, že přes obrovský pokrok základního imunologického výzkumu dodnes většinou neumíme do těchto porouchaných imunitních mechanismů dostatečně účinně terapeuticky zasáhnout a většinou ani nevíme, co jsou spouštěcí mechanismy těchto chorob a proč se projevují jen u některých jedinců. Ukazuje se, že imunopatologický původ mohou mít dokonce i některé psychiatrické poruchy, nebo že autoprotilátky se mohou podílet na predispozici k mužské homosexualitě. Velkým problémem samozřejmě také je, když některá komponenta imunitního systému chybí nebo málo funguje – pak hovoříme o imunodeficiencích. Ty mohou být buď vrozené (geneticky dané), nebo mnohem častěji získané vlivem vnějších podmínek (ionizační záření, některé léky, některé virové infekce, podvýživa, chronický stres). Poznatky základního imunologického výzkumu se v poslední dekádě stále výrazněji prosazují i v klinické praxi a je velmi pravděpodobné, že tento trend bude ještě dlouho pokračovat. Dá se říci, že imunoterapie se brzy stanou podobně důležité jako třeba antibiotika.

Více informací o tom, jak funguje (a někdy nefunguje) imunitní systém, je možno získat např. ze série mých popularizačních článků v časopise Vesmír, které naleznete v seznamu na stránkách https://people.img.cas.cz/vaclav-horejsi/#popularizacni_publicace (položky 74 – 84).

Mgr. Václav Navrátil, Ph.D.

DIANA Biotechnologies s.r.o.
Nad Safinou II 366
25250 Vestec

tel: +420 608 371 211

e-mail: vaclav.navratil@dianabiotech.com

Multiplexní detekce respiračních virů ze slin bez nutnosti izolace RNA

Navrátil, V.¹, Tykvart, J.^{1,2}, Schimer, J.^{1,2}, Zemanová, J.¹, Tománková, S.¹, Hejdánek, J.¹, Malinová, A.¹, Kalasová, I.¹, Křiváková G.¹, Jakubec, D.¹, Pačes, O.³ a kolektiv.

¹DIANA Biotechnologies, s.r.o., ²DIANA Lab, s.r.o., ³DIANA Engineering, s.r.o.

Diagnostika respiračních virů se tradičně provádí pomocí RT-PCR z nukleových kyselin izolovaných z nosohltanových stěrů. Avšak extrakce nukleových kyselin složitá a časově náročná a nosohltanové stěry nejsou vhodné pro samoodběry.

Česká výzkumná firma DIANA Biotechnologies proto vyvinula a zavedla do praxe automatizované RT-PCR testy na SARS-CoV-2. Ty jako první přinesly testování ze slin, a navíc bez nutnosti izolace RNA (soupravy DBdirect™). Tyto testy ze slin jsou nyní dostupné i pro současnou detekci SARS-CoV-2, chřipky A i B a RSV a umožňují tak diferenciální diagnostiku těchto infekcí.

Detekce ze slin se dříve nepoužívala kvůli obavám z toho, že se jedná o složitou matici pro detekci nukleových kyselin a zřejmě v důsledku nedostatečně kvalitní chemie také panují obavy o to, zda se viry ve slinách vyskytují v dostatečném množství. DIANA Biotechnologies proto se svými soupravami provádí rozsáhlé validace, které zahrnují: určení analytické účinnosti detekce ve slinách, studie párově odebraných vzorků slin a nosohltanových stěrů, opakované odběry slin v průběhu infekce ale také statistickou analýzu velkého počtu měření (např. pro SARS-CoV-2 ze stovek tisíc měření).

V průběhu epidemie SARS-CoV-2 tak bylo jednoznačně ukázáno, že detekce ze slin je přinejmenším shodně citlivá jako detekce z nosohltanových stěrů a nyní jsou sbírána data pro prokázání účinnosti detekce virů chřipky a RSV ze slin. Výsledky těchto studií budou ukázány v přednášce.

Mgr. Petr Králík, Ph.D.

Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v. v. i.
Rumburská 89
277 21 Liběchov

tel: +420 723 764 704

e-mail: kralik@iapg.cas.cz

Komplexní systém pro vzorkování a následnou detekci virových původců respiračních onemocnění ze vzduchu

Králík P.¹, Dziedzinská R.¹, Fiala P.², Čáp M.², Szabó Z.², Pavliš O.³, Šerý O.¹

¹Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v. v. i.; ²Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Vysoké učení technické v Brně; ³Vojenský zdravotní ústav

Proběhlá epidemie koronaviru ukázala, že znalosti o šíření infekce jsou nezbytné pro aplikaci efektivní opatření, která omezí šíření infekce bez zásadních plošných restrikcí. V rámci projektu Bezpečnostního výzkumu probíhalo testování různých technických řešení pro vzorkování vzduchu v uzavřených prostorech s vysokou koncentrací osob a následného stanovení množství virových částic v prostředí.

Byly navrženy modely vzorkovačů vzduchu založených na různých principech (filtrace, konzervace v tekutině, koncentrace pomocí náboje apod.). Pro potřeby testování technických řešení jednotlivých vzorkovačů byl vytvořen unikátní systém založený na kabinetu, který byl napojen na existující vyvíječ aerosolových částic. Suspenze použité pro generování aerosolu obsahovala modelový koronavirus FIPV a indikátorový organismus *B. subtilis*, který lze snadno kultivovat. Vzorky z jednotlivých vzorkovačů byly vždy přechovávány v protektivním roztoku, aby bylo zaručeno, že nedojde k degradaci nukleových kyselin. Efektivita jednotlivých vzorkovačů v zachycování virů a bakterií byla stanovována pomocí qPCR analýzy cílené na průkaz obou mikroorganismů ve vzorcích přímo ze vzorkovačů a stěrů z prostředí komory. Použitá izolace nukleových kyselin byla vytvořena tak, aby byla schopna postihnout DNA i RNA a zároveň, aby ji bylo možné použít na vzorky ze vzorkovačů vzduchu a stěry.

Byly zjištěny významné rozdíly mezi jednotlivými postupy sběru vzorků. V případě použití konzervačních kapalin je významným faktor ředící efekt, který snižuje pravděpodobnost detekce. Mezi nejvýznamnější zjištění patří fakt, že náboj aerosolové částice hraje zásadní roli v úspěšném zachycení ve vzorkovači.

Z těchto důvodů byl vytvořen vzorkovač, který byl založen na principu testování různého napětí na elektrodách, na kterých docházelo ke koncentraci aerosolových částic. Princip spočíval ve využití záchytné sítky, na které byl vytvořen náboj a pomocí kterého docházelo k zachycení a koncentraci části na povrchu sítky.

Tento vzorkovač využívající zachyt částic na plastovou sítku byl následně použit v reálných podmínkách při vzorkování vzduchu v prostorech s vysokým pohybem lidí. Vzorkování probíhalo na konci listopadu a začátku prosince 2022, kdy v české populaci narůstal počet jedinců s respiračními infekcemi. Ve dvou vzorcích z celkem 11 byl detekován původce SARS-CoV-2.

Tento experiment byl zopakován ve větším rozsahu v prostorách nákupního centra, kterým v daný den prošlo více než 10 000 lidí. Celkem bylo shromážděno celkem 6 vzorků především od pokladen a dále pak od informačního centra. Čtyři vzorky byly pozitivní na přítomnost SARS-CoV-2, přičemž jeden z nich byl navíc pozitivní i na přítomnost viru chřipky.

Výsledky vznikly v rámci řešení projektu Bezpečnostního výzkumu Ministerstva vnitra „Systém pro vzorkování a detekci koronaviru a dalších původců respiračních onemocnění ze vzduchu“, VI04000071.

Mgr. Radka Dziedzinská, Ph.D.

Přírodovědecká fakulta MU
Kamenice 753/5
625 00 Brno

tel: +420 773 749 191
e-mail: 53300@mail.muni.cz

Pokles množství SARS-CoV-2 RNA u fixovaných těl určených pro anatomické účely

Dziedzinská R.¹, Vymazalová K.², Šerý O.^{1,3,4}, Kralík P.³, Musilová Z.², Frišhons J.², Vojtíšek T.⁴, Joukal M.²

¹ *Laboratoř neurobiologie a molekulární psychiatrie, Ústav biochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno*

² *Anatomický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno*

³ *Laboratoř neurobiologie a patologické fyziologie, Ústav živočišné fyziologie a genetiky, AV ČR, v.v.i., Brno*

⁴ *Ústav soudního lékařství, Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno*

Pro výuku budoucích lékařů jsou nezbytné anatomické znalosti stavby lidského těla. K tomuto účelu jsou využívána těla a preparáty získané od dobrovolných dárců. S nástupem pandemie COVID-19 však vyvstal s klasickými programy dárcovství těl pro anatomické účely, vědu a výzkum, problém. Jako zcela zásadní se jevila otázka, zda mohou být na anatomická oddělení přijímána těla osob, které zemřely na COVID-19 nebo byly infikovány SARS-CoV-2 a zda existuje riziko přenosu infekce na zaměstnance anatomických ústavů nebo studenty lékařských oborů.

Cílem studie bylo, v průběhu času, zjistit míru eliminace SARS-CoV-2 viru v tělech zemřelých osob po aplikaci fixačních prostředků a následných postfixačních lázní, standardně používaných na anatomickém ústavu ke konzervování těl. Současně byly provedeny in vitro experimenty s RNA získanou z COVID-19 pozitivních pacientů s cílem stanovit míru její degradace při krátkodobém a dlouhodobém působení složek obsažených v těchto fixačních roztocích. Přítomnost virové RNA ve stěrech z vybraných tkání byla stanovována pomocí standardizovaného rutinního protokolu izolace RNA a následné real-time PCR analýzy.

Fixace těl pomocí konzervačních roztoků obsahujících fenol, formaldehyd, glycerol a etanol vedla k velmi výraznému poklesu SARS-CoV-2 RNA ve sledovaných tkáních. Další významný pokles RNA byl zaznamenán po konzervaci těl v post-fixačních lázních obsahujících 60-70 % ethanol. In vitro experimenty prokázaly významný vliv formaldehydu na SARS-CoV-2 RNA, zatímco fenol a etanol měly pouze zanedbatelné účinky.

Z výsledků studie vyplývá, že těla ošetřená těmito fixačními postupy by neměla představovat významné riziko z hlediska infekce SARS-CoV-2 a jsou tedy vhodná pro běžné anatomické pitvy a výuku studentů.

Práce byla podpořena Bezpečnostním výzkumem České republiky (VI04000071).

Mgr. Petra Vašíčková, Ph.D.

Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR
Rumburská 89
277 21 Liběchov

tel: +420 777 729 700
e-mail: 23506@mail.muni.cz

Virová agens v odpadních vodách – od odběru vzorků po interpretaci výsledků

Vašíčková P.

Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR

Komunální odpadní vody jsou vzhledem k jejich původu zdrojem chemických látek či mikroorganismů reflektujících chování lidské populace a jejího zdravotního stavu, přičemž řada takovýchto agens je vylučována exkrementy postižených osob ještě před projevem samotných klinických příznaků onemocnění. Analýzy odpadních vod lze proto využít při predikci potenciálního šíření infekcí a bližší charakterizaci patogenních agens v lidské populaci. Jedná se o tzv. epidemiologický přístup k odpadním vodám (WBE – wastewater based epidemiology), který je v současné době diskutován zejména s výskytem onemocnění covid-19. Nicméně v odpadních vodách byla prokázána celá řada virových agens, která jsou v prostředí vysoce stabilní, jejichž sledování není legislativou vyžadováno a tak je často opomíjeno. I přes pokroky v technologiích pro zpracování odpadní i pitné vody a řadu opatření v podobě možných ošetření chemickými prostředky, teplem či ozařováním jsou virové infekce spojené s kontaminovanou vodou častým onemocněním vyskytujícím se jak v rozvinutých, tak vyspělých částech světa. Částečná nefunkčnost zavedených technologií je dána zejména odlišnými vlastnostmi agens bakteriálního a virového původu. Má za následek, že za významné zdroje kontaminací prostředí lze v současné době považovat nedostatečně čištěné odpadní vody. Kontaminace virovými agens jsou tak prokazovány v různých typech vod, ve vodách pro zavlažování, v odpadních vodách, ve vodách pro rekreační účely, v povrchových i podzemních vodách, a dokonce i ve vodách pitných. Cílem referátu je seznámit posluchače nejen s vhodnými postupy analýz odpadních vod a interpretací získaných dat, ale také s možnostmi molekulárně epidemiologických studií v souvislosti s vodními zdroji ČR.

Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

VŠCHT Praha
Technická 5
166 28, Praha 6

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

Monitoring výskytu RNA SARS-CoV-2 v pražských odpadních vodách a kalech

Zdeňková K.¹, Bartáčková J.², Dostálková A.³, Čermáková E.¹, Marco Lopez², Kouba V.², Chmel M.^{5,6}, Bartoš O.⁵, Dresler J.⁵, Vavrušková L.⁴, Sýkora P.⁴, Pajer P.⁵, Demnerová K.¹, Rumlová M.³, Bartáček J.²

¹ VŠCHT Praha, Ústav biochemie a mikrobiologie, Technická 5, 166 28 Praha 6 - Dejvice

² VŠCHT Praha, Ústav technologie vody a prostředí, Technická 5, 166 28 Praha 6 - Dejvice

³ VŠCHT Praha, Ústav biotechnologie, Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice

⁴ Pražské vodovody a kanalizace, a.s., Ke Kablu 971, 102 00 Praha 10

⁵ Vojenský zdravotní ústav, U Vojenské nemocnice 1200, 160 01 Praha 6

⁶ Klinika infekčních nemocí 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Ústřední vojenské nemocnice, Kateřinská 1660/32, 121 08 Praha 2

Možnost detekce přítomnosti SARS-CoV-2 v odpadních vodách v Nizozemsku byla publikována již krátce po vypuknutí pandemie COVID-19 v roce 2020. Od té doby byly publikovány stovky zpráv a článků popisujících korelaci mezi vývojem pandemie COVID-19 a množstvím virové RNA v odpadních vodách. Fragmenty RNA SARS-CoV-2 byly detekovány v odpadních vodách i ve městech, kde se počty nakažených pohybovaly na úrovni odpovídající pouze cca 25 pozitivních případů na 1000 osob.

V našem projektu byla od srpna 2020 do května 2022 monitorována přítomnost RNA SARS-CoV-2 v odpadních vodách na vybraných místech pražské stokové sítě s využitím RT-mqPCR. Od března 2021 byly navíc sledovány čtyři pražské kmenové stoky a od podzimu roku 2021 pak řada pražských základních a mateřských škol, domovů důchodců a vysokoškolských kolejí. Od května 2022 pokračují v monitoringu pražských odpadních vod laboratoře PVK.

Naše výsledky prokázaly dobrou korelaci mezi koncentrací virové RNA v odpadních vodách a daty z klinického testování především pro obytné oblasti s více než 7000 registrovanými obyvateli a pro kmenové stoky. Z důvodu optimalizace protiepidemických opatření byly ve spolupráci s radnicí Prahy 9 a s Hygienickou stanicí Hl. M. Prahy sledovány také pražské základních školy a domovy důchodců. Kromě samotného monitoringu výskytu jsme během roku 2021 stanovovali přítomnost převažujících variant viru SARS-CoV-2 pomocí nanoporového sekvenování v pozitivních vzorcích odebraných z pražské stokové sítě. I zde se ukázala velmi dobrá korelace mezi variantami přítomnými v odpadní vodě a v klinických vzorcích.

Jak jsme se přesvědčili v posledních letech, monitorování virových genomů v odpadních vodách má smysl. Celosvětově využívaný způsob sledování epidemie COVID-19 může být využit pro včasné varování před novou vlnou onemocnění, při identifikaci ohnisek nákazy i jako nástroj pro sledování cirkulace SARS-CoV-2 v populaci.

Poděkování

Tato práce byla možná pouze s finanční podporou Technologické agentury ČR (grant TAČR SS01020112 Prostředí pro život). Dále děkujeme za finanční podporu společnosti Pražské vodovody a kanalizace, a.s. a městské části Praha 9 (především Mgr. Tomáši Portlíkovi). Za spolupráci děkujeme také Hygienické stanici hl. m. Prahy (zvláště MUDr. Martině Marešové a MUDr. Zdeňce Jágrové).

Mgr. Michal Kraus

Mikrobiologický ústav Akademie věd České republiky, v. v. i.
 Vídeňská 1083
 142 20 Praha 4 – Krč

Tel.: +420 296 442 158
 e-mail: michal.kraus@biomed.cas.cz

Na stopě mikrobiomu: Opravdu může za všechny naše neduhy?

Kraus M.

Mikrobiologický ústav Akademie věd České republiky, v. v. i.

Téma střevního mikrobiomu, ekosystému sestávajícího z tisíců druhů bakterií, ale i řady archeí, kvasinek a virů, se v posledních desetiletích dostalo do popředí v mnoha výzkumných oblastech. Věda tak začala odhalovat, že se konkrétní obyvatelé našeho střeva vyskytují nápadně častěji, nebo naopak úplně chybí, u některých pacientů. Tím se střevní mikroorganismy staly potenciálními viníky mnohých nemocí a potíží.

Změny ve složení nebo funkci mikrobiomu (tzv. dysbióza) opravdu mohou být spjaté s rozvojem některých nemocí, především poruch zažívacího traktu a zánětlivých onemocnění střev. Možný vliv střevní mikrobioty ale nachází výzkum i u dalších nemocí, včetně nádorových, autoimunitních, nebo dokonce duševních. Otázkou však zůstává, zda jsou změny mikrobiomu doopravdy příčinou, jedním z více faktorů, nebo spíše následkem daných onemocnění.

K osvětlení klasického problému „Co bylo dřív – slepice, nebo vejce?“ jsou nevhodnější klinické studie, které jsou ovšem z technických, finančních nebo etických důvodů často nemožné. Částečnou náhradou jsou tak experimentální zvířata, k tomu nám nejnovější nástroje přináší možnost mikroby studovat na úrovni druhů a kmenů nebo zkoumat jejich metabolismus. Ale stačí to? Můžeme vůbec u některého onemocnění tvrdit, že za něj může špatné složení mikrobioty?

Navic, i kdyby se nám u některých zdravotních potíží podařilo odkrýt onu kauzalitu, jak má vlastně vypadat „zdravý“ mikrobiom? A jak lze ten „nemocný“ nasměrovat tím „zdravým“ směrem? Terapie cílená na střevní mikrobiotu, ať už dietním opatřením nebo probiotickým preparátem, představuje lákavou cestu, na plošné využití v praxi si však budeme muset ještě počkat.

Práce byla podpořena Akademií věd České republiky (program Lumina Quaeruntur číslo LQ200202105).

Mgr. Janet Ježková

Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.
Václavská 1083
142 20 Praha 4 - Krč

Tel: +420 777 347 999
e-mail: janet.jezkova@biomed.cas.cz

Využití metod sekvenace nové generace při analýze střevního mikrobiomu

Ježková J., Procházková P., Kovářová T., Roubalová R.

Laboratoř buněčné a molekulární imunologie

V současné době jsou pro analýzu střevního mikrobiomu nejvíce používané metody sekvenování nové generace (next generation sequencing - NGS), které umožňují paralelní sekvenování milionů fragmentů DNA najednou. Pro stanovení zastoupení střevních bakterií je nejvíce používaná metoda amplikonového sekvenování bakteriálního 16S rRNA genu. V rámci přednášky bude blíže představen princip NGS metod s důrazem na 16S rRNA sekvenování, příprava amplikonových knihoven a vyhodnocování sekvenačních dat.

Využití NGS bude demonstrováno na klinických datech týkajících se složení střevního mikrobiomu patientek trpících mentální anorexií. Mentální anorexie (MA) je porucha příjmu potravy charakterizovaná extrémní restrikcí jídla, která vyúsťuje ve velmi nízkou tělesnou váhu. MA postihuje především dívky a mladé ženy. Patofyziologie MA ještě není zcela pochopena, ale pravděpodobně se na jejím vývoji podílí i dysbióza střevního mikrobiomu. Pacienty trpící MA lze rozdělit podle délky trvání a tíže nemoci na pacienty akutní a chronické. Během studie zabývající se 30 pacientkami s akutní MA, 30 pacientkami s chronickou MA a 30 zdravými kontrolami jsme odhalili, že akutní pacientky mají odlišné složení mikrobioty oproti pacientkám chronickým. Dále jsme zjistili, že pacientky trpící MA mají oproti zdravým kontrolám sníženou mikrobiální diverzitu. Pacientky mají také snížené zastoupení bakterií produkujících butyrát a zvýšené zastoupení bakterií rodu *Alistipes* a *Christensenella*. Popis střevního mikrobiomu pacientů s MA pomáhá objasňovat jeho účast na rozvoji této choroby a také může ukázat nové směry v terapii tohoto závažného onemocnění.

Podpořeno grantem AZV NU22-04-00010.

RNDr. Petr Ryšávka, Ph.D.

Medi Pharma Vision, s.r.o.
Dobrovského 1310/64
612 00 Brno

tel.: +420 770 132 996
e-mail: rysavka.petr@seznam.cz

Dvouramenná, dvojité zaslepená, randomizovaná, placebem kontrolovaná studie sledující účinnost probiotického doplňku stravy SmartProbio C při podpůrné suplementaci pacientů s komplikovaným průběhem infekce COVID-19 se zaměřením na sledování zmírnění průběhu infekce

Ryšávka P., Netušil R., Novotná K., Konečná J., Hanáčková M., Pospíšilová E.
Medi Pharma Vision, s.r.o.

COVID-19 je infekční onemocnění způsobené virem SARS-CoV-2. Většina infikovaných lidí má mírné až středně závažné potíže a zotaví se, aniž by potřebovali zvláštní lékařskou péči. U pacientů z tzv. rizikových skupin (starší věk, CHOPN, kardiovaskulární onemocnění, cukrovka, rakovina apod.), existuje vyšší pravděpodobnost závažnějšího průběhu infekce. Cílem studie bylo sledování účinnosti probiotického doplňku stravy a délky hospitalizace u pacientů se závažným průběhem onemocnění COVID-19. Pacienti byli náhodně rozděleni do skupin užívajících verum (směs ve složení: probiotické kmeny, inulin, maltodextrin) nebo placebo (maltodextrin) a zařazeni do předem specifikovaných podskupin dle čtyř kritérií: dle věku (18 až 64 let nebo ≥ 65 let), sérové koncentrace CRP (<100 , ≥ 100 mg/l), BMI (<30 , ≥ 30) a ne/přítomnosti jakéhokoli chronického plicního onemocnění. Před zahájením suplementace a na konci hospitalizace (nejpozději 14. den) byl proveden hluboký rektální výtěr. Vzorek byl podroben analýze a byla sledována změna mikrobiomu v průběhu suplementace. Ke statisticky významnému zkrácení délky hospitalizace došlo u skupiny pacientů s BMI nižším než 30 a s CRP vyšším než 100 mg/l (v den screeningu). Ve skupině suplementované probiotiky byla délka hospitalizace kratší než ve skupině s placebem (BMI <30 medián 9,5 dne vs. 12 dní, $p=0,04$; u CRP ≥ 100 medián 17 dní vs. 10 dní, $p=0,003$; Mann-Whitney U-test). Výsledky zkrácení délky hospitalizace u pacientů s BMI <30 byly potvrzeny také aplikací Kaplan-Meierovy křivky.

Jaclyn Quin Ph.D.

CEITEC Masaryk University
Kamenice 753/5
625 00 Brno

tel: +420 549 498 505
e-mail: jaclyn.quin@ceitec.muni.cz

Genetic studies of the Fulani lead to identification of ADAR1 as a novel target for combating malaria.

Quin, Jaclyn¹; Kopel, Eli²; Gawish, Riem³; Vukić, Dragana¹; Musilová, Pavla¹; Melicherová, Janka¹; Sinigaglia, Ketty¹; Ghodrati, Sajjad⁴; Arama, Charles⁵; Nébié, Issa⁶; Vukić, Dragana¹; Troye-Blomberg, Marita⁷; Sverremark-Ekström, Eva⁷; Modry, David⁴; Östlund Farrants, Ann-Kristin⁷; Levanon, Erez²; Keegan, Liam¹; O'Connell, Mary¹.

¹ CEITEC Masaryk University, Kamenice 735/5, A35, Brno, CZ 62500, Czech Republic.

² The Mina and Everard Goodman Faculty of Life Sciences, Bar-Ilan University, Ramat Gan, 5290002, Israel.

³ Department of Medicine, Medical University Vienna, Vienna, Austria.

⁴ Department of Botany and Zoology, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic.

⁵ Malaria Research and Training Centre, Department of Epidemiology of Parasitic Diseases, International Center of Excellence in Research, University of Sciences, Technique and Technology of Bamako, Bamako, Mali.

⁶ Groupe de Recherche Action en Santé, Burkina Faso.

⁷ Department of Molecular Biosciences, The Wenner-Gren Institute, Stockholm University, Stockholm, Sweden.

The Fulani ethnic group of West Africa are protected from *Plasmodium falciparum* malaria, however the underlying basis of this protection has not been identified.

We observed reduced rates of A-to-I RNA editing in innate immune cells following infection in the Fulani compared to a control unprotected ethnic group. Therefore, we have investigated whether reduction in A-to-I RNA editing during infection with the *Plasmodium* parasite can confer protection against malaria.

Adenosine-to-Inosine deamination of RNA by ADAR1 is essential to prevent activation of innate immune pathways by 'self' dsRNAs. In line with this, recent publications have shown that targeting ADAR1 can be utilized to reactivate immune responses in cancer. Currently, there is significant interest in developing inhibitors of ADAR1 for use in cancer immunotherapy. However, whether ADAR1 can also be targeted to provide protection from infectious diseases is less clear.

Analysis of publicly available RNA-sequencing data from different malaria models show transient but significant changes in levels of A-to-I RNA editing in individuals following *Plasmodium* infection. Reduced A-to-I editing levels are associated with protection from malaria. Strikingly,

Adar1 mutant mice (Adar+/-) are protected from malaria, with significantly reduced parasitemia during blood stage infection with rodent malaria parasite *P.yoelii*. Collectively our data support a model where ADAR1 activity and levels of A-to-I RNA editing are transiently reduced in innate immune cells in response to *Plasmodium* infection. And, reduced levels of ADAR1 activity contribute to protection from parasitemia during malaria. Interestingly, this hints that ADAR1 inhibitors may have future utility in the treatment or prevention of some infectious diseases.

This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No. 867470.

Doc. 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

Jak přemýšlel a postupoval Johann Gregor Mendel?

Doc. RNDr. Martin Pešta, Ph.D.

Ústav biologie, Lékařská fakulta v Plzni, UK

Johann Gregor Mendel je bezesporu nejvýznamnější vědec, který žil na území České republiky a jehož zásadní objevy byly učiněny právě zde v Brně. Koncept elementů dědičnosti, jejich nezávislé segregace a vztahu dominance a recesivity, byl na svou dobu o to pozoruhodnější, že experimenty, kterými jej prokázal, zahrnovaly předpoklad náhody a tomu byly i uzpůsobeny. Přestože význam a důležitost jeho objevů byla rozpoznána až o více než tři desítky let později, důvody, které přiměly J.G. Mendela k bádání, nemůžeme vůbec považovat za takřikajíc odtržené od „reality všedního dne“. Zemědělství a sním spojené šlechtění, byly pro ekonomiku Moravy velice důležité. A právě způsob uvažování J.G. Mendela bych chtěl, ve svém sdělení, nastínit.

Prof. RNDr. Omar Šerý, Ph.D.

Přírodovědecká fakulta , Masarykova univerzita
Kamenice 5
625 00 Brno

tel: +420 549 497 312
e-mail: omarsery@sci.muni.cz

DNA technologie v psychiatrickém výzkumu

Šerý O., Lochman J.

Laboratoř neurobiologie a molekulární psychiatrie, Ústav biochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Laboratoř neurobiologie a patologické fyziologie, Ústav živočišné fyziologie a genetiky, AV ČR, v.v.i., Brno

Obor Molekulární psychiatrie vznikl v posledním desetiletí 20. století. Výzkum v tomto oboru je zaměřen především na objasňování příčin psychických poruch na molekulární úrovni. DNA technologie tvoří nejpodstatnější část výzkumných metod v Molekulární psychiatrii. Začátky tohoto oboru jsou přímo spojeny se zavedením metod PCR do výzkumu v letech 1985 až 1990. První molekulárně – psychiatrická práce byla publikována v roce 1990 (Blum et al., 1990). Tato práce byla zaměřena na výzkum genetické podmíněnosti alkoholizmu. Na tuto průkopnickou práci pak navázaly další práce, které metodou PCR a restrikčních analýz nebo analýz délkových polymorfizmů s detekcí na agarózových nebo polyakrylamidových gelech hledaly vztahy mezi polymorfizmy nebo mutacemi a psychickými poruchami. Využívaly se především takzvané asociační studie (case-control). Mezi nejstudovanější psychické poruchy patří dodnes Alzheimerova choroba a schizofrenie, méně studovanými jsou například hyperkinetická porucha, alkoholizmus a jiné závislosti, afektivní poruchy atd. V prvním desetiletí 21. století byly do výzkumu zavedeny metody RealTime PCR a DNA čipová technologie, které výraznou měrou urychlily výzkum a umožnily studovat velké soubory osob. K nejvýznamnějším biotechnologickým průkopníkům patřily společnosti Affymetrix a Illumina, jejichž přístroje umožňovaly studovat miliony polymorfizmů u stovek lidí v průběhu dnů. Výzkumný přístup se změnil z dřívějšího studia kandidátních genů, kdy se hledaly souvislosti mezi polymorfizmy známých genů zapojených nějakým způsobem do patofyziologie dané psychické poruchy na bezcílné hledání mezi miliony polymorfizmů. Při těchto postupech bylo objeveno mnoho zajímavých genů zapojených v patogenezi psychických poruch, ale vzniklo také mnoho chyb a bylo publikováno mnoho nesmyslných výsledků. Navíc se ukázalo, a o tom se dnes mnoho nemluví, že DNA čipové technologie samy o sobě nebyly moc přesné a vnášely do výzkumu mnoho chyb. Ve druhém desetiletí 21. století byly uvedeny do výzkumu metody NGS sekvenování. Ty pak zcela vytlačily nepřesné a ve srovnání s NGS sekvenováním drahé DNA čipové technologie. V dnešní době máme pro výzkum v Molekulární psychiatrii k dispozici přístroje pro přesné NGS sekvenování, kdy jsme schopni sekvenovat buď soubory celých vybraných genů, celé exomy nebo i celé genomy. Výzkum v Molekulární psychiatrii za 30 let svého trvání přinesl obrovské množství dat a umožnil pochopení principů vzniku a vývoje psychických poruch, především těch geneticky podmíněných. U některých psychických poruch, především u

Alzheimerovy choroby, získané poznatky umožňují provádění prediktivního testování, tedy testování dispozic k dané psychické poruše. Je jen otázkou času, kdy získané informace budou běžně zpracovávány pomocí umělé inteligence, která umožní lepší interpretaci dat a lepší predikce. Jinými slovy, v současné době je na řadě spíše vývoj strojového učení, který umožní složité analýzy dat získávaných z NGS sekvenování. Podpořeno projektem AZV ČR č. NU20-09-00437.

RNDr. Pavel Suchan, Ph.D.

DiaSorin Czech s.r.o.
K Hájbům 2606/2b
155 00 Praha 5

tel: +420 608 993 539
e-mail: pavel.suchan@diasorin.cz

Použití NxTAG technologie pro multiplexní syndromické testování

RNDr. Pavel Suchan, Ph.D.

DiaSorin Czech s.r.o.

Systémy založené na použití fluorescenčně kódovaných mikrokuliček/mikrosfér jsou rutinně používány pro multiplexní detekci jak proteinů, tak nukleových kyselin. V praxi je možné v rámci jedné analýzy použít až 500 různých typů mikrosfér, každý označený a definovaným poměrem dvou fluorescenčních látek. Mikrosféry jsou také pokryty cílovými molekulami, které se zapojují do fluorescenční detekce požadovaných analytů. V případě aplikací určených pro detekci nukleových kyselin se jedná o sekvenci, která umožňuje amplifikaci pomocí PCR a hybridizaci, souhrnně nazývanou jako NxTAG technologie. Laboratorní postup takové detekce se skládá z následujících kroků: 1) extrakce DNA/RNA ze vzorku 2) end-point amplifikace pomocí PCR 3) detekce signálu pomocí analyzátoru s vysokou multiplexní kapacitou. V praxi je možné tuto metodu použít např. pro syndromické testování zaměřené na větší množství respiračních nebo gastrointestinální patogenů, a to v celkovém počtu 23 resp. 16 patogenů v rámci jednoho panelu. Na rozdíl od některých platforem dostupných na trhu poskytuje NxTAG řešení vysokou průchodnost a ekonomičnost provozu.

Mgr. Pavel Trubač

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

tel: +420 387 873 021

e-mail: trubac@nemcb.cz

Detekce bakteriálních infekcí z klinického materiálu pomocí analýzy 16 S rRNA – patnáctileté zkušenosti.

Trubač P., Piskunova N., Scheinost O.

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

Sekvenace bakteriální 16S rRNA je dnes již rutinně používanou diagnostickou metodou při identifikaci infekčních agens. Její univerzálnost – možnost zachytu DNA většiny bakterií – je velice přínosná v případě neznámého či nečekaného původce infekce. Volba cíleného PCR vyšetření na konkrétní agens je velice ztížena zejména u pacientů s nejasným či složitým klinickým obrazem, kde vyvolavatelem onemocnění může být celá řada patogenů. Amplifikace a sekvenace části podjednotky 16S rRNA se tak stává mocným a mnohdy jediným diagnostickým nástrojem.

V našem příspěvku jsme se zaměřili na několik aspektů spojených s touto metodou. Zabýváme se vhodností použití této metody – zejména z hlediska výběru klinického materiálu, metodických přístupů (izolace), interpretace „nepatogenních“ nálezů.

Na základě dat z více než 10 000 vyšetřených materiálů jsme se pokusili vytvořit obecné závěry při použití metody „univerzální“ diagnostiky bakteriální DNA. Ze statistického zhodnocení vyplývá, že téměř čtvrtina zpracovaných vzorků byla pozitivních. Nejzajímavější nálezy prezentujeme v krátkých kazuistikách.

RNDr. Radek Šíma, Ph.D.

Bioptická laboratoř s.r.o.
Mikulášské náměstí 4
326 00 Plzeň

tel: +420 737 220 457

e-mail: sima@biopticka.cz

Přednáška na houby aneb molekulární diagnostika mykologických agens

Černá K., Němcová J., Šteiner P., Šíma R.

Bioptická laboratoř s.r.o. Plzeň

Mykotické infekce mohou být závažnou komplikací nejen u imunosuprimovaných pacientů (jedinci s AIDS, autoimunitním onemocněním, po orgánové transplantaci, pacienti v léčbě nádorového onemocnění), ale také u dlouhodobě hospitalizovaných pacientů, nebo u pacientů po náročných chirurgických zákrocích. Invazivní mykotické infekce bývají spojeny s vysokou mortalitou a jejich incidence v posledních letech stoupá. I přesto zůstává detekce mykologických agens poněkud opomíjenou disciplínou, a to zejména v porovnání s diagnostikou infekcí bakteriálního a virového původu. Diagnostika houbových infekcí totiž přináší řadu specifických výzev. Patří mezi ně příprava vzorků, která je obvykle obtížnější než u bakteriálních a virových agens, dále je to podstatně chudší nabídka komerčně dostupných diagnostických souprav a v neposlední řadě také správná interpretace získaných výsledků.

V této přednášce se podělíme o naše dlouhodobé zkušenosti s molekulárně biologickou diagnostikou houbových infekcí z fixovaného materiálu v Bioptické laboratoři Plzeň a představíme několik zajímavých klinických případů u kterých byla správná identifikace mykotické infekce rozhodující pro osud pacienta.

Ing. Eliška Čermáková

VŠCHT Praha
Technická 5
166 28 Praha 6

tel: +420 737 465 034
e-mail: fialovae@vscht.cz

Parvalbumin: alergen i genetický marker pro identifikaci ryb

Čermáková E.^{1,2}, Mukherjee S.^{2,3}, Šnábl J.¹, Zdeňková K.¹, Demnerová K.¹

¹ VŠCHT Praha, Ústav biochemie a mikrobiologie, Technická 5, 166 28 Praha

² Výzkumný ústav potravinářský Praha, Radiová 1285/7, 102 00 Praha

³ Karlova univerzita, Ústav pro životní prostředí, Benátská 2, 128 00 Praha

Parvalbumin (PVALB) je nízkomolekulární protein vázající vápník. Podílí se tak na řízení mnoha důležitých fyziologických procesů, například svalové kontrakci. I přes svou důležitost je však vnímán spíše negativně, neboť je prokázáno, že více než 95 % všech potravinových alergií vyvolaných rybami je u lidí způsobeno právě proteiny PVALB, které tak jsou považovány za hlavní alergen ryb. PVALB je obsažen ve svalovině velkého množství běžně konzumovaných rybích druhů. Přítomnost ryb v potravinách tak pro citlivého konzumenta představuje určitou míru zdravotního rizika. Vývoj metodik pro spolehlivou detekci ryb ve výrobku, ale i pro ověřování pravosti deklarovaných druhů, je proto nezbytný. Jako vhodný marker se pro tento účel jeví parvalbuminový gen, který umožňuje detekci a identifikaci rybí DNA i ve zpracovaných výrobcích. Příspěvek shrnuje stručný přehled diverzity PVALB genu i jeho potenciální použití jako forenzního markeru pro odhalování nedeklarované přítomnosti nebo druhové záměny ryb v potravinách.

Práce byla finančně podpořena grantem Ministerstva zemědělství ČR (Národní agenturou pro zemědělský výzkum - NAZV): grant QK1910231.

Ing. Lucie Michalcová

Univerzita Pardubice, Fak. chemicko-technologická, Katedra biol. a biochemických věd
Studentská 95
532 10 Pardubice

Tel: +420 466 037 791

Email: lucie.michalcova@upce.cz

Využití PCR v reálném čase při kvantifikaci patogenních kvasinek *Candida albicans* a *Candida guilliermondii* ve směsných vzorcích

Michalcová L.¹, Majtnerová P.¹, Pryszcz L.², Heidingsfeld O.^{3,4}

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

² *International Institute of Molecular and Cell Biology, 4 Ks. Trojdena Street 02-109 Warsaw, Poland*

³ *Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6*

⁴ *Univerzita Karlova Praha, Fakulta přírodovědecká, Katedra biochemie, Hlavova 2030/8, Praha 2*

Patogenní kvasinky rodu *Candida* představují hrozbu pro jedince s oslabenou imunitou. U zdravých lidí mohou být tyto kvasinky součástí běžné mikroflóry, ale oslabení organismu může vést ke vzniku endogenní, nebo exogenní infekce. Infekce, které způsobuje kvasinka *C. albicans*, jsou častější, ale dají se lépe léčit běžnými antimykotiky. Naopak infekce způsobené *C. guilliermondii* se běžně nevyskytují, ale pokud se tato infekce objeví, tak se běžným antimykotikem, což je například flukonazol, těžko odstraňuje. Je to způsobeno tím, že je k tomuto antimykotiku méně senzitivní. Směsné kultury *C. albicans* a *C. guilliermondii* jsou v literatuře zmiňovány vzácně. To může být způsobeno nejen jejich řídkým výskytem, ale i obtížnou diagnostikou a obtížným rozlišením jednotlivých druhů v mikrobiálním společenstvu. Pro tento účel jsme navrhli druhově specifické primery, které nám pomohly dané kvasinky od sebe odlišit pomocí kvantitativní PCR (qPCR). Metodu pro stanovení *C. albicans* a *C. guilliermondii* ve směsných vzorcích jsme využili pro analýzu umělé evoluce jejich kokultur. Tyto kokultury jsme za definovaných podmínek pasážovali po 12 kol, a to buď samotné, nebo v přítomnosti subinhibičních koncentrací antimykotika flukonazolu. Po tomto pasážování jsme provedli kvantifikaci obou kvasinek pomocí qPCR s druhově specifickými primery. Zjistili jsme, že jednotlivé kvasinky nebyly ve výsledných vzorcích zastoupeny rovnoměrně. V kulturách, které neobsahovaly flukonazol, převládala *C. albicans*. Naopak ve vzorcích s flukonazolem převládala *C. guilliermondii*. Tyto výsledky svědčí o nižší senzitivitě *C. guilliermondii* vůči flukonazolu ve srovnání s *C. albicans*.

RNDr. Kateřina Sukačová, Ph.D.

ELISABETH PHARMACON, spol. s r. o.
Rokycanova 4437/5
615 00 Brno

tel: +420 602 941 978

e-mail: ksukacova@elisabeth.cz

Patogenní mikroorganismy přenášené klíšťaty a molekulární diagnostika

Sukačová K.

ELISABETH PHARMACON, spol. s r. o.

Klíšťata přenášejí celou řadu patogenů ovlivňujících lidské zdraví. V Evropě, zvláště pak v oblasti západní, střední a východní Evropy, jsou nejčastěji přenášeny patogeny virus klíšťové encefalitidy (TBEV), patogenní druhy borélií (*Borrelia spielmanii*, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. valaisiana*, *B. burgdorferi* s. s.) a *Anaplasma phagocytophylum*. Méně často jsou přenášeny patogenní bakterie rodu *Rickettsia* spp., *Neoehrlichia* sp nebo prvok rodu *Babesia*. Přednáška se bude zabývat problematikou patogenních mikroorganismů přenášených klíšťaty a metodami využití molekulární diagnostiky pro přímou detekci nejčastěji se vyskytujících patogenních mikroorganismů v klíštětech v České republice.

ABSTRAKTY POSTERŮ

SEZNAM PŘIHLÁŠENÝCH POSTERŮ

1. **RNDr. Jan Křístek, CSc.**, Karlovarské imunologické centrum Lab In
Covid – 19 je stále aktuální
2. **Prof. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D. et al**, Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec Králové
RANK pomocí real-time PCR z heparinizované krve
3. **Mgr. Kristýna Hricová**, Fakultní nemocnice Olomouc
Genetická analýza vankomycin rezistentních enterokoků v covidové době u pacientů s kritickou fází Covid-19
4. **Ing. Květa Koryčanová, Ph.D.**, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice
Detekce Capnocytophaga canimorsus – původce zoonotických infekcí

RNDr. Jan Křístek, CSc.

Karlovarské imunologické centrum s.r.o.
Bezručova 1098/10
360 01 Karlovy Vary

tel.: +420 607 743 405

e-mail: j.kristek@email.cz

Covid – 19 je stále aktuální

Křístek J.

Karlovarské imunologické centrum s.r.o.

Nový přístup k terapii infekcí vyvolaných Covid - 19.

Sangerovo sekvenování, ev. antivirotikum se širokým spektrem - dvě alternativy využití.

V této práci prezentuji zcela nový přístup pro eliminaci viru Covid-19, který je založen na podobném principu jako je Sangerovo sekvenování.

V terapii infekcí vyvolaných RNA virem, včetně Covidu 19 dominují stále vakcíny a jako pomocná, doprovodná léčba antivirotika. Antivirotika mají rychlý nástup účinku a umožňují mimo jiné překlenout dobu, než vakcína vyvolá účinnou adaptivní imunitu. V případě Covid-19 byl např. aplikován Remdesivir, který pomohl zachránit pacienta s těžkým průběhem onemocnění. V souvislosti s nástupem omikronu a jeho nových variant ztrácí vakcinační terapie účinnost. Kromě toho, nové varianty Koronaviru ve srovnání s virem z Wuchanu se šíří v populaci mnohem rychleji, než se stačí vyrobit nová a účinnější vakcína. Navíc, vlivem mutagenese dochází k vytváření nových klonů, které se často antigenně odlišují od původního Wuchanského viru. Terapie antivirotiky se tak stává nikoli pomocným, ale minimálně rovnocenným postupem k potlačení či eliminaci viru Covid-19.

Až dosud terapie infekcí vyvolaných Covid-19 byla zaměřena na blokádu vazby tohoto RNA viru na Spike protein. Ve zcela novém, originálním postupu se viru nebrání ve vazbě na Spike protein a také v transkripci jednovláknové mRNA, s pozitivní polaritou, která slouží jako messenger RNA. Spolu s RNA dependentní RNA polymerázou, RdRp, NTázou a helikázou je virová RNA transportována do hostitelské buňky. Zde dochází k transkripci virové RNA a k syntéze proteinů. Zhruba 2/3 genomu obsahuje geny nezbytné pro replikaci viru. S použitím reakční směsi (master mix), která obsahuje pufr, Mg²⁺ ionty, deoxyribonukleotid fosfáty dA, dU, dC, dG a dideoxyribonukleotid fosfáty ddA, ddU, ddC a ddG bude syntéza RNA a syntéza virových proteinů přerušena kdykoli RNA polymeráza „dosáhne“ na dideoxyribonukleotid. Při aplikaci této směsi dojde k vytvoření nefunkčních štěpů RNA Covidu, které však budou mít zároveň vakcinační efekt. Na základě metody obdobné Sangerovu sekvenaci a při použití dalších 4 zkumavek pro detekci je možno stanovit všechny RNA viry, které jsou aktuálně přítomny v těle pacienta – např. Britskou, Jihoafrickou, Brazilskou a rovněž mutaci Delta a zaměřit se tak na účinnou terapii.

Tuto metodu je možno rozšířit i na ostatní RNA viry, jako je virus hepatitidy C a na Ortomyxoviry, jako je např. virus chřipky. V tomto případě je nutné postup adaptovat na zmíněnou skupinu virů v souladu s jejich životním cyklem.

New approach to treatment Covid-19 infection - antiviral with broad spectrum based on Sanger sequencing method. Two alternative of using.

In my work I present new procedure for killing Covid-19 and other RNA viruses, based on Sanger sequencing

To kill Covid-19: don't block binding virus to ACE2 receptor. On the contrary enable the entrance the virus to the cell. Then offer to virus cocktail of deoxyribonucleotides dA, dU, dG dC and dideoxy ribonucleotides – ddA, ddU, ddC and ddG, buffer and Mg²⁺ ions. This „poison mixture“ interrupts synthesis of new positive and negative sense subgenomic RNA, whenever RNA polymerase reaches dideoxynucleotide. In additional 4 tubes it is also possible to perform modified Sanger sequencing. Such method would be very effective weapon for elimination of Covid-19 and other RNA viruses for example virus hepatitis C, or Orthomyxoviruses. In such cases it is necessary to adapt to group of other viruses. In such case it is possible to stop several synthesis of RNA simultaneously, for example British, South African and Brazil mutations and Delta mutation and perform effective therapy.

Prof. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky, FN Hradec Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové

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

RANK pomocí real-time PCR z heparinizované krve

Beránek M., Hegerová J., Koblížek V., Dulíček P., Palička V.

ÚKBD, Fakultní nemocnice Hradec Králové

V naší studii jsme porovnávali účinnost real-time PCR analýzy trombofilních mutací c. 20210G>A FII a c.1691G>A FV (Leidenská mutace) ve vzorcích periferní krve s různými antikoagulancii (soli EDTA, heparin, NaF/oxalát) a ve vzorcích srážlivé krve. Celkem bylo zpracováno 100 anonymizovaných vzorků DNA získaných standardní extrakcí (MagCore, RBC, Taiwan). Při genotypizaci pomocí real-time PCR (Generi Biotech, ČR) byly porovnávány dosažené hodnoty cycle threshold (Ct). Mediány Ct při analýze c.20210G>A pro EDTA, heparin, NaF/oxalát, krev srážlivou a krev srážlivou s inertním polymerem byly následující: 19,3; 18,5; 18,9; 20,5 a 20,6. Pro mutaci c.1691G>A byly získány tyto hodnoty: 18,7; 18,0; 18,5; 20,5 a 20,6. Naše výsledky ukazují, že analýza trombofilních mutací pomocí real-time PCR není ovlivněna žádnou antikoagulační přísadou (tedy ani solemi heparinu), a je proveditelná i ze vzorků srážlivé krve. Pracovní postup pro real-time PCR je možné aplikovat bez jakýchkoliv úprav pracovního protokolu výrobce použitých IVD souprav.

Tato studie byla finančně podpořena prostředky MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906), ČR.

Mgr. Kristýna Hricová

Ústav mikrobiologie, Fakultní nemocnice Olomouc
Hněvotínská 3
775 15 Olomouc

Tel: +420 585 639 505
E-mail: kristyna.hricova@upol.cz

Molekulárně-biologická analýza vankomycin rezistentních enterokoků v covidové době u pacientů s kritickou fází COVID-19

Hricová K., Pudová V.

Ústav mikrobiologie, Fakultní nemocnice Olomouc

Pandemie COVID-19 měla za následek příliv velkého počtu kriticky nemocných pacientů do zdravotnických zařízení a zvýšila tak nároky na udržení dlouhodobě zavedených opatření pro kontrolu infekcí, a to včetně prevence infekcí spojených se zdravotní péčí a možného nárůstu nozokomiálních nákaz. Jednou z bakterií, které mohou být hlavní příčinou život ohrožujících infekcí a šířit se zdravotnickými zařízeními jsou vankomycin rezistentní enterokoky (VRE).

V časovém období od ledna do května roku 2021 bylo od pacientů hospitalizovaných na Klinice anesteziologie a resuscitace a intenzivní medicíny ve Fakultní nemocnici Olomouc s kritickou fází COVID-19 získáno z různých biologických materiálů 50 izolátů VRE. Ve všech případech se jednalo o *Enterococcus faecium*. Pomocí pulsní gelové elektroforézy (PFGE) byla provedena epidemiologická analýza pro stanovení potenciálního klonálního šíření. Získané izoláty byly následně podrobeny genetickým analýzám pro identifikaci genů rezistence k vybraným antimikrobiálním látkám (vankomycin, tetracykliny, makrolidy, aminoglykosidy).

Výsledkem PFGE byl dendrogram, který rozdělil 44 ze získaných 50 izolátů do 7 klonálních skupin (tolerance 1,5; cut-off, 95-100 %), čítajících 3-12 izolátů. Celková klonalita tedy činila 88 %. Časový interval výskytů jednotlivých klonálních skupin se pohyboval mezi 2-3 měsíci. Zbývajících 6 izolátů (12 %) vykazovalo jedinečný restrikční profil.

Rezistence k vankomycinu byla podmíněna přítomností *vanA* genu u všech testovaných kmenů VRE. Při identifikaci genů kódujících rezistenci k tetracyklům byly zachyceny geny *tetM*, *tetL* a *tetS*, a to u 14 izolátů v různém zastoupení mezi jednotlivými izoláty VRE. Z genů asociovaných s rezistencí k makrolidům byl detekován pouze gen *erm(B)* u 44 izolátů. Geny kódující enzymy modifikující aminoglykosidy byly identifikovány u 49 testovaných izolátů. Nejčastěji byla zachycena kombinace genů *aac(6)-Ie-aph(2')-Ia* a *aph(3')-IIIa*, a to v 42 případech. Gen *aac(6)-Ie-aph(2')-Ia* byl samostatně detekován u 6 izolátů a gen *aph(3')-IIIa* jen u 1.

U všech kmenů VRE byla zjišťována také přítomnost vybraných faktorů virulence (agregační substance (*agg/asa1*), cytolysin (*cyl*), želatináza (*gelE*), enterokokový povrchový protein (*esp*) a hyaluronidáza (*hyl*), jejichž produkce může významně napomáhat vzniku infekcí. Z 5 testovaných genů byl zachycen pouze jeden, a to gen pro *esp* u všech testovaných VRE.

Zachycené geny rezistence a zastoupení zjištěných faktorů virulence odpovídají výsledkům studií z nekovidových období, není viditelný znatelný rozdíl. Epidemiologická analýza poukázala na velmi pravděpodobné klonální šíření a přenos VRE mezi pacienty, způsobené velkým počtem kriticky nemocných pacientů, vysokou poptávkou po lůžkách v kombinaci s vyčerpáním zdravotnického personálu a nedostatkem osobních ochranných prostředků. Podpořeno grantem AZV ČR č. NU22-B-112.

Ing. Květa Koryčanová, Ph.D.

Univerzita Pardubice
Studentská 95
532 10 Pardubice

tel: +420 466 037 702
e-mail: kveta.korycanova@upce.cz

Detekce *Capnocytophaga canimorsus* – bakteriální původce zoonotických infekcí

Koryčanová K., Jankovičová L., Lejsková M.

Katedra biologických a biochemických věd, Univerzita Pardubice

Bakterie rodu *Capnocytophaga* jsou komenzální gramnegativní tyčinky běžně se vyskytující v orální mikroflóře savců. Hlavní zástupce a oportunní patogen *C. canimorsus*, původce nebezpečných zoonóz ohrožujících na životě především imunodeficientní osoby, se vyskytuje převážně v dutině ústní psů a koček. Je to obtížně kultivovatelný mikroorganismus rostoucí po 2 – 5 dnech na Columbia krevním agaru s 10 % beraní krve a gentamycinem v prostředí s 5 – 10 % CO₂ atmosféry při 37°C. Díky této nesnadné kultivaci jsou pro detekci a identifikaci přednostně využívány molekulárně biologické metody. Cílem této práce je monitoring výskytu *C. canimorsus* a *C. cynodegmi* (původce lokalizovaných infekcí) v České republice metodami PCR a RT-PCR a další mikrobiologická analýza. Celkem bylo analyzováno 374 vzorků, z toho 237 psů a 137 koček. Věk zvířat byl v rozmezí 9 měsíců – 15 let. Do studie byla zařazena zvířata zdravá i nemocná, pobývajících jak doma, tak ve venkovním prostředí. *C. canimorsus* byla identifikována u 64 % psů a 55 % koček. *C. cynodegmi* se vyskytovala až u 81 % psů a 95 % koček. Izoláty *C. canimorsus* byly dále podrobeny genotypovým analýzám metodou RFLP-PCR za použití restrikčních enzymů MseI a Styl. Rovněž byl u izolátů stanoven sérotyp amplifikací specifických kapsulárních genu PCR metodou. První výsledky potvrzují, že jen velmi malé procento psů pozitivních na přítomnost *C. canimorsus* ve svém orálním mikrobiomu obsahuje pro člověka patogenní sérovar této bakterie. Přesto je nutné brát na zřetel, že počet domácích mazlíčků stále stoupá a stejně tak stoupá i náš věk a rovněž počet případů infekce bakterií *C. canimorsus*.

FIREMNÍ INZERCE



DIANA Biotechnologies - Advancing in vitro diagnostics

DIANA Biotechnologies je česká inovativní biotechnologická společnost zabývající se vývojem léčiv a vysoce citlivých diagnostických metod.

Byla založena v roce 2018 a rozvíjí zejména aplikace kolem patentované technologie DIANA (DNA - linked Inhibitor Antibody Assay), kterou vynalezl CEO a vědecký ředitel firmy Václav Navrátil během svého působení na Ústavu organické chemie a biochemie Akademie věd. Technologie DIANA usnadňuje vývoj léčiv a urychluje diagnostiku nemocí.

Portfolio firmy je ale nyní již výrazně širší. Kromě vývoje nových léčiv a diagnostických metod pro detekci nových biomarkerů se zaměřuje také například na vývoj monoklonálních protilátek pro diagnostiku a do budoucna i pro terapii.

Od roku 2020 se také specializuje na PCR diagnostiku virových onemocnění. Když v březnu propukla koronavirová krize i v České republice, firma v reakci na výpadky dodávek technologií ze zahraničí vyvinula vlastní inovativní řešení PCR testů na covid-19, včetně automatizace zpracování vzorků a zavedla v Česku jejich vysokokapacitní výrobu. V letech 2020 a 2021 dodala firma laboratořím přes šest milionů PCR testů, pokryla tak 40 procent českého trhu a stala se jeho lídrem. V roce 2022 společnost své portfolio PCR testů rozšířila o multiplexní testovací sady, které odhalí tři druhy respiračních onemocnění, konkrétně covid-19, chřipku A i B a respirační syncytiální virus (RSV).

Primárním cílem DIANA Biotechnologies je stát se farmaceutickou a diagnostickou společností založenou na špičkovém výzkumu a vývoji, která se prosadí na globální úrovni. Třemi hlavními pilíři výzkumné činnosti DIANA Biotechnologies jsou:

- 1) vývoj vysoce citlivé molekulární diagnostiky,
- 2) vývoj protilátek pro diagnostiku i pro terapii,
- 3) vývoj originálních nízkomolekulárních léčiv.

Firma staví na týmu špičkových vědců s unikátní expertízou v molekulární biologii, biochemii, organické a medicíně chemii, farmakologii a laboratorní automatizaci. DIANA Biotechnologies má téměř stovku zaměstnanců a sídlí ve Vestci u Prahy.

V roce 2021 dosáhla zatím rekordního obrátu 926,8 milionů korun s konsolidovaným čistým ziskem 580,3 milionů korun. V následujících letech plánuje DIANA Biotechnologies půlmiliardové investice do dalšího výzkumu i do zahraniční expanze. Během roku 2021 se rozrostla o dvě dceřiné společnosti: DIANA Lab, s.r.o., akreditovanou mikrobiologickou diagnostickou laboratoř, a DIANA Engineering, s.r.o., zabývající se vývojem a výrobou specializovaného plastiku a vývojem laboratorních přístrojů.

Pozici CEO společnosti zastává Václav Navrátil, Ph.D., který i nadále vede výzkumné a vývojové aktivity firmy. Neméně důležitou osobou je spoluzakladatel Martin Dienstbier, Ph.D., který je finančním a obchodním ředitelem firmy.

V roce 2021 uvedla DIANA Biotechnologies dceřinou laboratoř DIANA Lab. Jedná se o zdravotnické zařízení a akreditovanou mikrobiologickou laboratoř s povolením testovat covid-19 a další virové infekce pomocí metody PCR.

Je první laboratoř v Česku, která se specializuje na automatizované vyhodnocování vysoce citlivých PCR testů ze slin. Na jedné sadě přístrojů je laboratoř schopna zpracovat až 1 500 vzorků za hodinu. Aktuálně je laboratoř v Praze 4 jedním z největších testovacích zařízení v zemi. Její kapacita činí více než 10 tisíc vzorků denně. Laboratoř využívá neinvazivní diagnostické testy ze slin, které vyvinula mateřská společnost DIANA Biotechnologies. Testy dokážou detekovat, nejen zda v sobě člověk virus má, ale i určit jeho koncentraci a rozpoznat, o jaké mutace viru se jedná. Při pravidelném testování je díky vysoké citlivosti testů možné odhalit nakažené již několik dní před vypuknutím prvních příznaků, tedy často dříve, než mohou nemoc šířit. Cílem společnosti DIANA Lab je zvyšovat dostupnost PCR testování v České republice.

V roce 2022 uvedla DIANA na trh Guardiania PCR testy ze slin, jedná se o přímé PCR testy bez nutnosti izolace RNA, které využívají vzorek slin. Pacient může vzorek odebrat sám plivnutím do zkumavky, která putuje přímo do laboratoře. Diagnostika probíhá na jakémkoliv běžném PCR přístroji a výsledek je k dispozici během několika hodin. Představují neinvazivní a jednodušší variantu současných PCR testů střem z nosohltanu, přitom jsou dokonce citlivější. V současné době dokážou testovací sady Guardiania rozeznat i další typy infekcí, jako je chřipka nebo RSV. Na webu společnosti www.guardiana.cz se dají objednat s doručením na adresu, aby se lidé mohli otestovat sami doma či na pracovišti. Akreditované laboratoře vzorky vyhodnotí ještě v den testu.

Více o DIANA Biotechnologies:

Web společnosti: <https://www.dianabiotech.com/>

Web Guardiania testy: <https://www.guardiana.cz>

LinkedIn: <https://www.linkedin.com/company/diana-biotechnologies/>

FB: <https://www.facebook.com/DIANABiotechnologies>

Twitter: <https://twitter.com/dianabiotech?lang=cs>

Instagram: <https://www.instagram.com/dianabiotech/>

YouTube: <https://www.youtube.com/channel/UC9TbUznwph1g37P4vBg86-A>

RT-PCR panel pro diagnostiku respiračních virů



Klíčové parametry



**Souběžná detekce
SARS-CoV-2, Influenza A,
Influenza B, RSV**



**Manuální i automatizované
zpracování vzorků**



Ultracitlivá analýza
(LOD podle subtypu
viry 2 až 10 kopií)

- Návrh zohledňující nejnovější sekvence virů
- Testováno pro nosohltanové výtěry a sliny
- Standardní RT-PCR verze a DBdirect™ verze (přímý RT-PCR bez nutnosti izolace RNA)

Parametry detekce

Virus	Detekované geny	Detekované kmeny/subtypy	Fluorescenční kanál	
			DB-1250 DB-1251	DB-1252 DB-1253
SARS-CoV-2	EndoRNase a Spike	Vše (včetně α, β, γ, δ, o)	FAM	FAM
Influenza A	Matrix protein 1 (M1), segment 7	H1N1, H1N1-pdm, H3N2, H5N1 i H7N9, H2N2, H1N2, H5N6 a H9N2	HEX	HEX
Influenza B	Nonstructural protein 1 (NS-1), segment 8	Victoria a Yamagata	TEX	
RSV	oblast RdRp	RSV-A, RSV-B	Cy5.5	TEX
Izolační kontrola */Externí kontrola **			Cy5	Cy5

*syntetická RNA, která se přidává do izolace testovaného vzorku, nebo přímo do RT-PCR reakce v soupravách DB-1250 a DB 1252

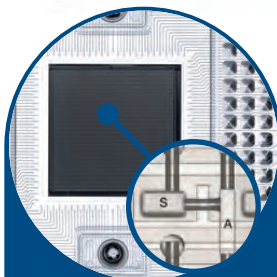
**syntetická RNA, která se přidává ke vzorku do RT-PCR reakce v soupravách DB-1251 a DB-1253

X9

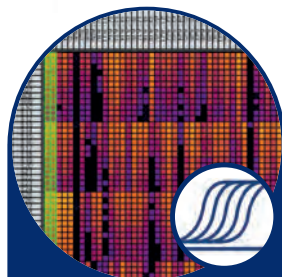
Nová generace PCR na mikrofluidním čipu



Srdcem je mikrofluidní
čip až pro 96 vzorků
a 96 esejí v mikrolitrových
objemech



Příprava reakcí
propojením každého
vzorku s každou esejí
(až 96² reakčních směsí)



Real-Time PCR přímo
na čipu; celý proces
od vzorku po výsledek
bez manuálního zásahu

**Extrémně nízká
spotřeba reagentů**

**Obrovské množství
výsledků do 3 hodin
a „bez práce“**

**Možnost využití
i pro automatizovanou
přípravu NGS knihoven**



DYNEX - VÝHRADNÍ DISTRIBUTOR PRO ČR A SR
Česká republika: Lidická 977, 273 43 Buštěhrad
Tel.: +420 220 303 600, email: office@dynex.cz
Slovensko: Nové Kalište 17, 974 04 Banská Bystrica
Tel.: +421 484 155 045, email: dynex@isternet.sk
www.dynex.cz



DYNEX



ELISABETH PHARMACON

Přední biotechnologická firma, výrobce IVD zdravotnických prostředků a přístrojů a také distributor světově známých značek a produktů pro klinické a výzkumné laboratoře.

(:) Česká firma

(:) Český vývoj a výroba

(:) Vlastní výzkumný tým složený z akademických pracovníků, molekulárních biologů a mikrobiologů

Novinka

EliGene® Tick-borne diseases RT (CE-IVD)

RealTime PCR souprava **EliGene® Tick-borne diseases RT** slouží k DNA diagnostice patogenních druhů **borélií** (*Borrelia spielmanii*, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. valaisiana*, *B. burgdorferi* s. s.), dále bakterie **Anaplasma phagocytophilum** a viru **klíšťové encefalitidy** (TBEV) z izolované nukleové kyseliny.

Kat. číslo

90091-RT

Název kitu

EliGene® Tick-borne diseases RT

Počet reakcí

50 reakcí



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 žádank
Zajištění požadované dostupnosti systému a snadná správa IS



www.stapro.cz

Držitel certifikátu systému řízení kvality dle ISO 9001, ochrany životního prostředí dle ISO 14001, bezpečnosti informací dle ISO 27001 a managementu efektivního hospodaření s energií dle ISO 5001.

POZNÁMKY:

POZNÁMKY:





RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN

PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE RANK 2023

Vydalo STAPRO s. r. o., Pernštýnské nám. 51, 530 02 Pardubice
jako doprovodnou publikaci konference RANK 2023.

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

Foto na titulce: © Can Stock Photo / ccat82



Adresa pořádající organizace:

MeDiLa spol. s r.o.
Štrossova 1931
530 03 Pardubice
IČ: 632 17 767

e-mail: pcr.lab@medila.cz
tel: +420 602 431 809

www.rank.cz